

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
KATEDRA EKOLOGIE

**VARIABILITA VE SKVRNITOSTI VAJEC
ČEJKY ČERNOPRSÉ (*VANELLUS INDICUS*)**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí práce: prof. Dr. Mgr. Miroslav Šálek

Diplomant: Bc. Michaela Žabková

2023

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Michaela Žabková

Inženýrská ekologie
Ochrana přírody

Název práce

Variabilita ve skvrnitosti vajec čejky černoprsé (*Vanellus indicus*)

Název anglicky

Variability in the egg maculation of red wattled lapwing (*Vanellus indicus*)

Cíle práce

Cílem této práce je zjistit míru vnitrodruhové variability v pigmentaci vajec čejky černoprsé na úrovni vnitrosníškové, vnitrosezónní a mezisezónní pro konkrétní samice. To vše za pomoci stanovení procentuální skvrnitosti získané z barevných snímků jednotlivých vajec, které byly pořizovány v hnízdních sezónách 2018-2021 ve Spojených arabských emirátech. Práce si dává za cíl také zhodnotit možné faktory, které za případnou variabilitou v pigmentaci stojí na základě literární rešerše na dané téma.

Metodika

V rámci praktické části bude spočítáno procentuální zastoupení skvrn na skořápce vajec čejky černoprsé. Fotografie pro výpočet budou použity z dat za roky 2018 až 2021 z terénního průzkumu v rezervaci Al Marmoom Desert Conservation Reserve ve Spojených arabských emirátech. Výpočty skvrnitosti budou použity pro analýzu vývoje makulace vajec v rámci jednotlivých snůšek, sezón a meziočnů pro konkrétní samice. Na závěr budou zhodnoceny faktory, které mohou hrát roli ve vývoji změn procentuálního zastoupení skvrnitosti vajec u tohoto ptačího druhu.

Doporučený rozsah práce
cca 40 stran

Klíčová slova

čejka černoprsá, skvrnitost vajec, variabilita, pigmentace skořápek

Doporučené zdroje informací

- CASSEY, P., THOMAS, G. H., PORTUGAL, S. J., MAURER, G., HAUBER, M. E., GRIM, T., LOVELL, P. G. & MIKŠÍK, I. (2012). Why are birds' eggs colourful? Eggshell pigments co-vary with life-history and nesting ecology among British breeding non-passerine birds. *Biological Journal of the Linnean Society*, 106(3), 657-672.
- ELHASSAN, E., SLÁDEČEK, M., BADAAM, S., BRYNYCHOVÁ, K., CHAJMA, P., FIRLOVÁ, V., ... & ŠÁLEK, M. (2021). An artificial lakes system intended for human recreation supports a vital breeding population of Red-wattled Lapwing in the Arabian Desert. *Avian Conservation and Ecology*, 16(2).
- KILNER, R.M. (2006). The evolution of egg colour and patterning in birds. *Biological Reviews*, 81.
- PIKE, T. W. (2019). Quantifying the maculation of avian eggs using eggshell geometry. *Ibis*, 161(3), 686-693.

Předběžný termín obhajoby
2022/23 LS – FŽP

Vedoucí práce

prof. Dr. Mgr. Miroslav Šálek

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Elektronicky schváleno dne 2. 3. 2023

prof. Mgr. Bohumil Mandák, Ph.D.

vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 3. 3. 2023

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 14. 03. 2023

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou/závěrečnou práci na téma: Variabilita ve skvrnitosti vajec čejky černoprsé (*Vallenus indicus*) vypracovala samostatně a citovala jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použila a které jsem rovněž uvedla na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů.

Jsem si vědoma, že na moji diplomovou/závěrečnou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a to i bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Svým podpisem rovněž prohlašuji, že elektronická verze práce je totožná s verzí tištěnou a že s údaji uvedenými v práci bylo nakládáno v souvislosti s GDPR.

V..... dne.....

.....

(podpis autora práce)

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě bych ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce prof. Dr. Mgr. Miroslavu Šálkovi, za odborné vedení a rady během zpracování této práce. Dále bych ráda poděkovala týmu, který se věnoval sběru terénních dat, ve složení Mr.sc. Esmat Elhassan, MSc., Mgr. Martin Sládeček, Ph.D., Ing. Kateřina Brynychová, Ing. Petr Chajma, Ph.D., Ing. Veronika Kolečková, Ing. Veronika Janatová, Vojtěch Kubelka, Mgr. Lucie Pešková a Ing. Eva Petrusová Vozabulová.

Velké díky patří mé rodině, která mě během celé doby mého studia velice podporovala. Zvláštní poděkování patří mému příteli Samovi. Ten mi byl nejen psychickou oporou, ale především plnil roli technického konzultanta během vývoje postupu zpracování dat a jehož skvělé nápady byly ku prospěchu této práci.

Abstrakt

Pigmentace vaječných skořápek je v ptačí říši velice různorodá. Dva hlavní pigmenty, které za touto variabilitou stojí, jsou protoporfyrin a biliverdin. Jejich intenzita, rozsah i samotný výskyt je odlišný napříč ptačími druhy, ale často se liší i v rámci samotného druhu. Mezi vysvětlující hypotézy tohoto jevu patří sexuálně signalizační hypotéza, která tvrdí, že výskyt a intenzita barev je nástrojem samic pro získání pozornosti opačného pohlaví, samcům naopak napovídá o kvalitách jejich partnerky. Dle mechanické hypotézy pak skvrnitost skořápky slouží k jejímu zesílení ve chvílích, kdy v prostředí není dostatečné množství vápníku. Další studie uvádějí kryptický význam zbarvení pro ochranu snůšky před predátory, jiné naopak tvrdí, že jde o součást závodů ve zbrojení mezi hnízdními parazity a jejich kořistí. Do těchto hypotéz se dále přidávají názory, které předkládají praktičtější významy pigmentace jakožto biologickou odpověď na podmínky prostředí nebo způsob, jakým se samice vypořádávají se stresem.

Tyto hypotézy byly testovány na různých ptačích druzích po celém světě a výsledky studií často poskytly protichůdné závěry. Podle toho se zdá, že význam pigmentace může být odlišný v závislosti na ptačím druhu. Cílem této práce bylo zjistit variabilitu ve skvrnitosti vajec čejky černoprsé a testovat výše zmíněné hypotézy u druhu, který obývá horké a suché klima Arabské pouště ve Spojených arabských emirátech.

Během čtyř let výzkumu bylo pozorováno 98 individuálně značených samic, které dohromady snesly 210 snůšek čítající 716 vajec. Zkoumána byla variabilita v rámci snůšky, dále vnitrosezónní i mezisezónní variabilita. Výsledky odhalily vnitrosnůškovou variabilitu, stoupající procento skvrnitosti v rámci sezóny a relativní meziroční stabilitu. Vnitrosnůškový a vnitrosezónní nárůst pigmentace je pravděpodobně odrazem zátěže, kterou na organismus samice působí narůstající počet vajec ve snůšce a množství snůšek v sezóně. Ukládání většího množství protoporfyrinu do skořápky tak lze interpretovat jako snahu samic snížit koncentraci tohoto prooxidantu v těle a tedy způsob, jak se vypořádat s rizikem oxidativního stresu v náročném prostředí horkého klimatu s dlouhou reprodukční sezónou. Pokles skvrnitosti na začátku nové sezóny oproti konci té předchozí implikuje schopnost samic zregenerovat v období reprodukčního klidu.

Klíčová slova: čejka černoprsá, skvrnitost vajec, variabilita, pigmentace skořápek

Summary

Pigmentation of avian eggshells is a diverse phenomenon. The two main pigments behind this variability are protoporphyrin and biliverdin. Their intensity, extent, or the sheer occurrence are different across bird species, but often also varies within species itself. Hypotheses explaining this phenomenon include the sexual signalling hypothesis, which claims that the intensity and occurrence of colours is a tool for females to gain the attention of the opposite sex by showcasing qualities to a male partner. According to the mechanical hypothesis, the maculation of the eggshell serves to strengthen it at times when there is not enough calcium in the environment for its formation. Other studies cite the cryptic significance of the coloration to protect the clutch from predators, while others argue that it is part of an arms race between nest parasites and their prey. Further adding to these hypotheses are views that posit more practical meanings of pigmentation as a biological response to environmental conditions or the way how females deal with stress.

These hypotheses have been tested on different bird species around the world, and the results led conflicting conclusions. Accordingly, it appears that the meaning of pigmentation may vary depending on the bird species. The aim of this work was to determine the variability in the egg spottiness of the red-wattled lapwing and to test the hypotheses on a species that inhabit the hot and dry climate of the Arabian Desert in the United Arab Emirates.

For four years, 98 females were observed, which together laid 210 clutches of 716 eggs. Variability within the clutch was investigated, as well as intra- and inter-seasonal variability. The results revealed intra-litter variability, an increasing percentage of spottiness within a season and a stability between years. The intra-lay and intra-seasonal increase in pigmentation is probably a result of the load placed on the female organism by the increasing number of eggs in the clutch and the number of clutches in the season. Storing a larger amount of protoporphyrin in the shell can be interpreted as an attempt by females to reduce the concentration of this prooxidant in the body and thus a way how to deal with the risk of oxidative stress in the demanding environment of a hot climate with a long reproductive season. A decrease in spotting at the beginning of the new season compared to the end of the previous one implies the ability of females to regenerate during the period of reproductive dormancy.

Key words: red-wattled lapwing, egg maculation, variability, eggshell pigmentation

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Typy skořápečných pigmentů	2
3. Význam pigmentace ptačí skořápky	3
3.1. Ochrana před predátory	3
3.2. Boj s hnízdním parazitismem	5
3.3. Sexuální signalizace	7
3.4. Mechanické zesílení skořápky.....	10
4. Faktory ovlivňující skvrnitost	12
4.1. Teplota prostředí.....	12
4.2. Dostupnost potravy.....	14
4.3. Dostupnost vápníku	16
4.4. Fyziologické faktory.....	17
4.4.1. Pigmentace ovlivněná věkem.....	17
4.4.2. Oxidativní stres	18
4.4.3. Pohlavní hormony	20
5. Vnitrodruhová variabilita v pigmentaci	21
6. Cíle práce	23
7. Modelový druh čejka černoprsá	23
8. Metodika	24
8.1. Studijní lokalita	24
8.2. Sběr a úprava dat	24
8.3. Zpracování získaných dat	26
8.4. Statistické analýzy	29
9. Výsledky	30
9.1. Variabilita v rámci snůšky.....	31
9.2. Variabilita vnitrosezónní	32
9.3. Variabilita mezisezónní	35
10. Diskuse.....	37
11. Závěr	42
12. Použitá literatura	44
13. Přílohy.....	50

1. Úvod

Ptáci (*Aves*) jsou teplokrevní živočichové, které řadíme z taxonomického hlediska mezi blanaté obratlovce (*Amniota*). Jednou z charakteristických vlastností pro tuto fylogenetickou skupinu je vznik extraembryonálních obalů, které chrání embryo před vysycháním bez nutnosti vývinu ve vodním prostředí. Právě tyto obaly jsou jedním z důvodů, díky kterým mohli ptáci úspěšně osídlit téměř celý svět. Kromě zárodečných obalů je u ptáků plod dále chráněn vaječnými obaly, mezi které patří bílek, papírová blána a skořápka, která vápenatí. Díky vápenaté skořápce mohou ptačí vejce opustit tělo matky ještě před ukončením embryonálního vývoje a jsou chráněna před podmínkami vnějšího prostředí (Gaisler & Zima 2007).

Vejce v sobě akumulují velké množství látek důležitých pro výživu plodu v podobě žloutku a bílkovinného materiálu. Vaječná skořápka tvoří 9 až 12 % celkové hmotnosti vejce. Skládá se z 94 % z uhličitanu vápenatého, z 1 % uhličitanu hořečnatého a stejně tak fosforečnanu vápenatého. Zbylá procenta patří organické hmotě, zejména bílkovinám (Stadelman & Cotterill 1973). Skořápka, kromě ochrany zárodku před vlivy z vnějšího prostředí, pomáhá díky pórovité struktuře zajišťovat výměnu plynů s okolím, a tak i metabolické procesy ptačího embrya (Mikhailov & Michailov 1997).

Mezi podobami ptačích vajec panuje značná mezidruhová i vnitrodruhová variabilita, ať už se jedná o hmotnost, množství zásobních látek, tvar, velikost či zbarvení skořápky. Jednotlivé parametry vejce jsou závislé na fylogenezi, genotypu rodičů, způsobu hnízdění a mnohém dalším (Hrnčár et al. 2014). Jedním z nich je pigmentace skořápky, která je hlavním tématem této diplomové práce.

Napříč ptačí říší se setkáváme s výraznými barvami, vzorováním, ale i jednoduchými a nenápadnými podobami vajec. Nabízí se tedy otázka, zda se v rámci evoluce nestalo zbarvení i něčím víc, než pouhým maskováním či odrazem prostředí, ve kterém daný druh žije. Může jít o součást vnitrodruhové komunikace mezi jednotlivými jedinci či partnery stejného druhu, nebo dokonce součást mezidruhové komunikace. Stejně tak může být odrazem fyziologického stavu samice a stát se tak možnou alternativou k invazivním metodám výzkumu.

Výše zmíněné hypotézy jsou již dlouhou dobu předmětem intenzivní výzkumné činnosti. V současné době je z výsledků studií provedených na různých ptačích druzích zřejmé, že odpověď nebude pro všechny identická. Tato práce tak navazuje

na řadu zajímavých výzkumů s analýzou významu zbarvení skořápky na dalším ptačím druhu, subtropické čejce černoprsé (*Vanellus indicus*).

2. Typy skořápečných pigmentů

Za výsledným vzhledem vajec stojí tzv. skořápečné pigmenty. Jsou syntetizovány skořápkovou žlázou v uteru samice a následně přenášeny přes epiteliální buňky do skořápky několik málo hodin před samotným snesením vejce (Baird et al. 1975; Burley 1989; Zhao 2006). Z toho důvodu jsou obsaženy primárně ve vnější vápenité části skořápky a v její kutikule (Poole 1965).

Jedním ze dvou hlavních pigmentů, které se vyskytují ve vaječných skořápkách, je protoporfyrin. Vytváří hnědou barvu včetně skvrn a při kontaktu s UV zářením září jasně červeně (De Coster et al. 2013). Jde o přímý prekurzor hemu, který je součástí mj. hemoglobinu, a vzniká během jeho biosyntézy. Jakožto chemická látka vyvolává při zvýšené akumulaci v játrech oxidativní stres a zvyšuje aktivitu antioxidantních enzymů (Afonso et al. 1999). Většina protoporfyrinu (80 – 87 %) se vyskytuje v povrchové vápenité části skořápky a má mimo jiné za následek vznik velkých skvrn či pruhování. Zbýlých 13 – 20 % z celkového množství je obsaženo v kutikule a vytváří drobné oddělené skvrny (Samiullah & Roberts 2013).

Druhým pigmentem v ptačích skořápkách je biliverdin. Ten způsobuje jejich modrou a zelenou barvu. Na rozdíl od protoporfyrinu vzniká až po degradaci hemu v játrech, kdy během jeho odbourávání dochází k přerušení porfyrinového cyklu. Oba pigmenty jsou tak součástí biosyntézy krve (Wang et al. 2009) a je docela dobře možné, že protoporfyrin je zároveň prekurzorem biliverdinu. To by mohlo znamenat, že pokles v koncentraci jednoho, vede ke zvýšení koncentrace druhého pigmentu (Cassey et al. 2012). Avšak faktickým rozdílem mezi oběma látkami je jejich funkce v organismu. Biliverdin totiž na rozdíl od protoporfyrinu funguje jako antioxidant a jeho vyšší koncentrace v těle tak může poukazovat na fyziologické kvality daného jedince (Kaur et al. 2003).

Jedním z možných vysvětlení, proč se pigmentace vajec napříč ptačími druhy liší, ať už v rámci vyskytujícího se pigmentu nebo jeho koncentrace, je životní styl zapříčiněný evolučním vývojem jejich nositelů. Preferované zbarvení totiž může napovídat například o způsobu hnízdění. Druhy, které obývají dutiny či hnízdí na zemi, častěji vykazují přítomnost protoporfyrinu ve skořápce. Naopak biliverdin byl

prokázán více u druhů s otevřeným typem hnízd, které neleží na zemi (Cassey et al. 2012). Barevnost ptačích skořápek však v sobě nejspíše skrývá daleko více informací, než může být na první pohled patrné.

3. Význam pigmentace ptačí skořápky

A. R. Wallace ve své knize *Darwinism* předkládá hypotézu, že původní ptačí vejce měla jednotně bílou barvu. Ta je však velice nápadná a umožňuje predátorům snáze odhalit lokaci snůšky. Dnešní kryptická zbarvení tak dle hypotézy mají být výsledkem evoluční koexistence ptáků jako kořisti a jejich predátorů, a zastávat ochranou funkci (Cassey et al. 2012). Bílá barva by se na vejcích měla nadále vyskytovat u druhů, kde jsou rodiče schopni své snůšky během inkubace efektivně chránit (Wallace 1889). Je potřeba zmínit, že nápadnost vajec neurčuje pouze samotná barva, ale i podklad, okolní prostředí či odrazivost světla. Důležitý je tedy výsledný kontrast a zrak pozorovatele (Endler 1990).

3.1. Ochrana před predátory

Pravděpodobně nejlepším způsobem, jak ochránit snůšku před zraky predátorů, je uložit ji na bezpečné a nenápadné místo, jakým jsou např. hnízdní dutiny. Pokud jsou vejce nakladena do dutiny stromu, neměla by být nutná jejich další mimetická ochrana v podobě zbarvení skořápky. Z toho důvodu jsou vejce dutinových ptáků, mezi které řadíme zástupce šplhaviců (*Piciformes*) či sov (*Strigiformes*), často bílá. Přesto se najdou dutinová ptáci, kteří mají vejce skvrnitá, jako zástupci sýkorovitých (*Paridae*). Pravým opakem jsou pak někteří papoušci (*Psittaciformes*) s otevřenými hnízdy a bílými skořápkami. V obou případech se může jednat o projev evolučních dějů, kdy si taxony primárně hnízdící v dutinách stále zachovávají bílá vejce, a naopak u druhů, které v dutinách hnízdí sekundárně, zatím nedošlo ke ztrátě zbarvení skořápky (von Haartman 1957).

Zástupci z řádu měkkozobých (*Columbiformes*), kteří rovněž kladou bílá vejce, ale nehnízdí v dutinách, využívají jako ochranný mechanismus permanentní sezení na hnízdě. V případě, kdy ptáci snůšku opustí, se prudce zvyšuje riziko odhalení vajec predátory. V experimentu, kdy byla část holubí snůšky natřena hnědou barvou, se po opuštění hnízda rodiči prokázala vyšší míra predace na bílých nenatřených vejcích

(Westmoreland & Best 1976). Podobný pokus na podporu Wallaceovy hypotézy proběhl na africkém pštrosu dvouprstém (*Struthio camelus*). Snůška bílých vajec je v africké savaně nápadnou kořistí, nicméně samci pštrosů jsou hnízdu stále nablízku, aby jej chránili. Po naklazení prvních vajec nebvávají hnízda hlídaná ani zakrytá vegetací, protože do nich postupně kladou vejce další samice. Stejně tak v okamžiku, kdy hlídající samec odejde za potravou. Hnízda se v tu chvíli stávají snadnou kořistí predátorů. V tomto experimentu byla část vajec obdobně natřena nahnědo a několik dalších na jasně oranžovo. Výsledná data ukázala, že nenápadná hnědá vejce měla o 38 % nižší predaci než původní bílá a oranžová. To naznačuje nejen problém s bílými vejci, ale s jakoukoliv barvou, která je ve výrazném kontrastu s okolním prostředím (Bertram & Burger 1981).

Pokusů založených na Wallaceově hypotéze evolučních závodů ve zbrojení mezi predátory a jejich ptačí kořistí bylo vytvořeno mnoho, nicméně ne vždy se jednalo o zjištění podporující tuto hypotézu. Na absenci vazby mezi predací a zbarvením vajec poukazuje Weidinger (2001) v případě zpěvných ptáků nebo Montevecchi (1975) u divokých racků či v zajetí chovaném kuru domácím. Příčinou výsledků těchto experimentů, které nepodporují hypotézu, může být do značné míry i forma metodiky pokusů založená na aplikaci umělého nátěru. Člověk totiž vnímá barvy jinak než ptáci, z důvodu existence čtvrtého čípku v ptačí sítnici. Díky tomu můžeme u ptáků hovořit o tetrachromatickém vidění, kdy pro ně viditelné barevné spektrum zahrnuje i oblast ultrafialového záření. Ptáci tedy vnímají světlo s vlnovou délkou přibližně od 300 do 700 nm, kdežto člověk s trichromatickým viděním vnímá světlo jako viditelné až od 400 nm. Shrneme-li tyto informace, tak lze říci, že barva není danou vlastností objektu, ale produktem mozku organismu, který se na objekt dívá. Vejce, které je dle člověka natřené stejnou barvou, jakou má výstelka, může být pro ptačí predátory nadále velice dobře rozeznatelné (Montevecchi 1975; Bennett et al. 1994).

Pozorování kolonií rybáka jihoamerického (*Sterna hirundinacea*) v přítomnosti pouze ptačích predátorů přineslo zjištění, že vyšší šanci na úspěšné vyvedení mláďat mají ty snůšky, kde vejce více splývají s podkladem hnízd (Blanco & Bertellotti 2002). Podobná ochranná strategie byla sledována u křepelek japonských (*Coturnix japonica*). Během experimentu byl samicím při budování hnízda nabídnut různý typ substrátu. Zjistilo se, že samičky volí podkladový substrát podle toho, jak výraznou skvrnitost mají jejich vejce. Ty, které měly výrazněji skvrnitá vejce, využily jiný substrát, než samice s jemnou skvrnitostí, což naznačuje, že samice vědí, jaký barevný

vzor jejich vejce mají. Pravděpodobně by se tak neměl měnit ani mezi roky, a tudíž existuje možnost, že je kódován geneticky (Lovell et al. 2013).

Stepokuři jihoafričtí (*Pterocles namaqua*) zase při výběru místa pro hnízdo zohledňují vzdálenost a množství volně ležících objektů v okolí. Původně se myslelo, že se snaží svá hnízda chránit před slunečními paprsky jejich umístěním do stínu kamenů. Při detailnějším prozkoumání se ukázalo, že vzdálenosti hnízd od objektů nevykazují jednoznačný vzor a neplní tak funkci ochrany před sluncem či větrem. Význam tohoto počínání tak nejspíše tkví ve využití okolního prostředí ke kamufláži hnízd. To podporuje i zjištění, že neuniformně skvrnitě snůšky v diverzifikovanějším prostředí častěji unikly pozornosti predátorů (Lloyd et al. 2000). Hypotézu ochranné funkce kryptického zbarvení snůšky podporuje i analýza pozemních hnízd kulíka horského (*Charadrius montanus*). I zde výrazné rozdíly v barvě vajec a jejich podkladu usnadnily predátorům nalezení kořisti (Skrade & Dinsmore 2013).

Na základě předchozích studií je tedy pravděpodobné, že využívání kryptického zbarvení vajec skutečně dává rodičům větší šanci na vyvedení mláďat a je tak výsledkem evolučních dějů.

3.2. Boj s hnízdním parazitismem

Běh evoluce hraje důležitou roli i v případě hnízdního parazitismu. Jde o jev, kdy určité druhy ptáků kladou svá vejce do cizích hnízd. Jsou známé dva typy, obligátní a fakultativní. Během obligátního parazitismu ptáci využívají péče nepříbuzných druhů k odchování svého vlastního mláděte. Parazité postupně přizpůsobili vzhled svých vajec podobě vajec hostitelského druhu a je velmi pravděpodobné, že vývoj pigmentace vlivem koevoluce stále probíhá. Fakultativní parazité naopak kladou vejce do hnízd svého vlastního druhu, i když jsou péče o potomstvo sami schopni. Někdy dokonce mají souběžně i snůšku ve svém vlastním hnízdě (Davies 2000; Yom-Tov 2001). Pro parazita je to výhodná strategie, jelikož po naklazení vajec do cizího hnízda již do takového potomstva nemusí investovat žádnou další energii, na rozdíl od parazitů vybraných pěstounů. Zvláště při obligátním parazitismu jsou náklady na výchovu nevlastního mláděte neúměrně vysoké a dochází ke snižování fitness hostitelských druhů. Řada z nich se tak snaží proti parazitismu bránit, k čemuž jim napomáhá i vizuální kontrola hnízda. Pokud rodiče ve vlastní snůšce odhalí

podezřelé vejce, ať již jinou velikostí nebo barvou, mohou se rozhodnout jej z hnízda odstranit či opustí celou parazitovanou snůšku (Davies 2000).

Jedním z parametrů, který se ukázal jako podstatný při rozpoznávání cizích vajec ve snůšce, je odrazivost UV záření od povrchu skořápky. Při studování vztahu mezi parazitickou kukačkou obecnou (*Cuculuc canorus*) a hostitelem rákosníkem obecným (*Acrocephalus scirpaceus*), kdy oba tyto druhy kladou velice podobná skvrnitá vejce, byla odhalena vyšší odrazivost UV záření skořápky vajec kukaček. Během prvních experimentů byla do hnízd rákosníků vložena vejce stejného druhu či dokonce stejné samice, nicméně natřená UV blokátorem, který značně snižuje odraz ultrafialového světla. Navzdory změnám v UV odrazivosti vejce, samice na něj nereagovaly odmítavě. Přístup se změnil během dalších pokusů, kdy byla do hnízd položena čistě bílá vejce, avšak část s vyšší mírou odrazivosti UV záření (UV+) než je pro rákosníky běžné a druhá skupina s nižší (UV-). Dle předpokladu bílá vejce samice identifikovaly jako cizí, nicméně daleko rychleji k tomu došlo u vajec natřených UV+. Na základě výsledků se však nedá hovořit o tom, že by UV záření bylo jediným potřebným vodítkem k odhalení parazita a to především proto, že prokazatelný výsledek byl sledován pouze u vajec, která nebyla podobná vejcím hostitele (Šulc et al. 2016).

Ve vztahu mezi hnízdním parazitem a hostitelem tak nejspíše hraje roli více parametrů. UV záření je jistě jedním z nich, stejně důležitá se ale ukázala i míra skvrnitosti či celkový odstín skořápky. U drozdců bělobrvých (*Mimus saturninus*) se během pokusů manipulovalo s těmito třemi výše zmíněnými charakteristikami skořápky, ve kterých byla odhalena rozdílnost oproti vejcím parazitujícího druhu vlhovce modrolesklého (*Molothrus bonariensis*). Dle očekávání nejnižší míra odmítnutí vajec samicí nastala v případě, kdy byly všechny tři atributy nastrčených vajec shodné s přirozeným vzhledem snůšky. S každým pozměněným prvkem pak počty odmítnutí přibývaly. Nejvyšší pravděpodobnost odmítnutí způsobilo zvýšení světlosti skořápky, naopak v případě manipulace se skvrnitostí byla vejce daleko častěji nerozpoznána. To nejspíše způsobil fakt, že vlhovci kladou často převážně bílá vejce a makulace není sledovaným jevem pro odhalení parazita (de la Colina et al. 2012). Právě s ohledem na to je nutné brát v potaz, že v jiných parazitických vztazích mohou být důležité jiné atributy.

3.3. Sexuální signalizace

Nápadnost vajec v hnízdě může mít svůj význam i v rámci vztahu hnízdícího páru. Proč například samice přirozeně kladou výrazná modrá či zelená vejce, když se jedná o hazard s odhalením snůšky predátorovi? Jednou z možných odpovědí je sexuální signál pro opačné pohlaví. V ptačí říši se setkáváme, především u samců, se sekundárními pohlavními znaky, které mnohdy nekorelují s pravděpodobností dlouhého přežívání jedince. Zmínit lze notoricky známá pestrobarevná pera svrchních ocasních krovek páva korunkatého (*Pavo cristatus*) nebo různé barevné variace a prodloužená pera na hlavě, ocasu či křídlech u rajkovitých ptáků (*Paradisaeidae*). Tyto handicap mají samicím prezentovat dostatečnou fyzickou zdatnost a dobrý zdravotní stav jejich nositele. U samic se s barevným peřím tak často nesetkáme, a ani literatura se jejich případným sekundárním sexuálním znakům dlouho nevěnovala natolik, jako je tomu v případě samců (Amundsen 2000). Podle některých vědců však mohou hrát podobnou signalizační roli jako peří právě výrazně zbarvená vejce.

V roce 2003 byla vědeckým duem Moreno a Osorno uvedena tzv. sexuální signalizační hypotéza, která tvrdí, že důkazem genetické i fyzické kvality samice je její depozice pigmentu do vaječné skořápky. Jak bylo již zmíněno, pigment biliverdin funguje v ptačím těle jako antioxidant a pouze kvalitní samice si tak může dovolit jej v době rozmnožování investovat větší množství do snůšky (Kaur et al. 2003). Hypotéza tedy poukazuje na možnost, že čím zelenější/modřejší vejce, tím kvalitnější samička je. To bylo podloženo i experimentem na lejsku černohlavém (*Ficedula hypoleuca*), kdy samice, kterým bylo před snášením uměle podáváno větší množství potravy, snášely těžší a intenzivněji zbarvená vejce než kontrolní vzorek (Moreno et al. 2006a). Dle autorů si tuto skutečnost samci ověřují během péče o snůšku. Na základě svých pozorování pak usuzují, kolik energie mají vkládat do potomstva s příslušnou samicí (Moreno & Osorno 2003). Obzvláště důležité je to nejspíše u ptačích druhů, které jsou polygamní. Samice musí do signalizace investovat více energie než u monogamních druhů, jelikož nemá jistého partnera jak pro starost o současnou snůšku, tak pro další hnízdění (Soler et al. 2005).

Takovéto obhlížení snůšky bylo pozorováno u polygynního lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*). Samice snášejí vajíčka do dutinového hnízda postupně a s každým dalším vejcem se snižuje množství biliverdinu ve skořápce, čímž se stávají bledší. To by podporovalo hypotézu, že je proces ukládání pigmentu do skořápky pro

samici náročný a čím více vajec má, tím méně do nich investuje – pokud ovšem není ve vyloženě dobré kondici. Zároveň pozorované návštěvy samce před započítím inkubace naznačují jeho zájem o samičí kvality, které se projevují skrze pigmentaci snůšky (Moreno et al. 2005). Při dalším experimentu na stejném druhu byla vajíčka promíchána mezi hnízdy za účelem zjistit, zda samci reagují na sytost pigmentu zvýšenou starostí o snůšku. Navzdory očekávání, samčí péče nevzrůstala s průměrnou barevností snůšky, ale důležité bylo pouze nejsytěji zbarvené vejce. Stačilo tak jedno výrazné vejce a samčí péče vzrostla v porovnání s ostatními snůškami i přes její nižší průměrnou sytost (Moreno et al. 2006b). Tyto výsledky naznačují i možnost platnosti podobné hypotézy vydírání založené na komunikaci mezi hnízdními partnery, ovšem opačným způsobem. Dle té samička klade barevnější vejce, aby podpořila samcovu aktivitu během hnízdění. Ten by se měl snažit o dostatečné zásobení samice potravou během inkubace, aby nemusela snůšku opouštět a vystavovat ji tak nebezpečí spatření predátorem (Hanley et al. 2010).

V roce 2009 byla provedena komplexní studie za účelem prokázání sexuální signalizační hypotézy. Největší možnost pro porovnávání kvalit svých partnerek mají samci, kteří žijí i vychovávají mladé v ptačích koloniích. Takovým druhem je i racek delawarský (*Larus delawarensis*), který se stal modelovým druhem této studie. Stanoveny byly čtyři předpoklady, ze kterých nakonec ani jeden nebyl jednoznačně zamítnut či potvrzen. Samci nepečovali o snůšky s barevnějšími vejci prokazatelně více a ani se z barevnějších vajec nelíhlo kvalitnější potomstvo. Stejně tak množství biliverdinu průkazně nekorelovalo s kvalitami samic, či se pro ně neukázalo být limitujícím faktorem, což by naznačovalo postupné zesvětlování skořápek dle pořadí ve snůšce. Byla sice prokázána vazba mezi pořadím nakladených vajec a mírou pigmentace, nicméně nejvíce pigmentované se překvapivě ukázalo být druhé snesené vejce, ačkoliv se od ostatních vajec ve snůšce příliš nelišilo (Hanley & Doucet 2009).

Podobně skepticky se k hypotéze signalizace samičích kvalit sytostí modrozeleného zbarvení skořáčky staví i výzkum na kosu černém (*Turdus merula*) a příbuzném drozdu zpěvném (*Turdus philomelos*). Během výzkumu byla sledována kromě barevnosti skořáčky i koncentrace karotenoidních látek ve vaječném žloutku, která je často považována za projev kvality samice pozitivně provázaný s velikostí vajec. Korelace těchto hodnot s množstvím biliverdinu ve skořápce by vedlo k podpoře signalizační hypotézy, provázanost těchto jevů však nebyla pozorována.

Daleko pravděpodobnější se autorům v tomto případě jeví projev vlivu vnějších přírodních podmínek na sytost barev vejce (Cassey et al. 2008).

Sexuálně signalizační hypotéza však nemusí být omezena pouze na biliverdin a jím způsobené modré zbarvení vajec. Zvláště když paternální péče byla prokázána častěji v řádu dlouhokřídlých (Charadriiformes), u kterých je výrazně více vajec pigmentováno protoporfyrinem (Kilner 2006). Podle jedné z možných interpretací může zvýšená makulace vajec odrážet proces odbourávání nadbytečného protoporfyrinu z jater a následné uložení do skořápky, čímž se ho tělo úspěšně zbaví a zabrání tak možnému oxidačnímu stresu. Zároveň by tak měla být prokázána vyšší fyziologická zdatnost samice, která povede ke zvýšené starostlivosti o skvrnitější snůšku ze strany samce. Další možná interpretace značí naopak zhoršenou kvalitu samice při vyšší míře skvrnitosti, jelikož její organismus není schopen protoporfyrin adekvátně zpracovat (Moreno & Osorno 2003).

Ke druhé zmiňované interpretaci se přiklání i studie provedená na sýkorách modřinkách (*Cyanistes caeruleus*). Skvrnitější vejce odrážela zhoršenou tělesnou kondici samic a vyšší koncentraci stresového proteinu v buňkách, což často poukazuje na napadení nespecifikovaným patogenem. Zároveň tyto samice byly spárovány se samci, u kterých byl zjištěn stejný zvýšený stav stresových proteinů. Naopak samice, které snášely těžší vejce, což bývá spojováno s jejich vyšší kvalitou (Parker 2002), produkovaly menší množství protoporfyrinu ve skořápkách (Martínez-de la Puente 2007). Vyšší koncentrace tohoto pigmentu v tělech samic korelovala s jejich zhoršeným fyzickým stavem i u křepelek japonských (*Coturnix japonica*). Naopak u rákosníků obecných (*Acrocephalus scirpaceus*) tomu tak nebylo. Zároveň nebyla jednoznačně potvrzena zvýšená paternální péče u méně skvrnitých vajec (Kilner 2006; Reynolds 2009)

Vzhledem k výše zmíněným pracím s různorodými závěry je pravděpodobné, že sexuální signalizace je odlišná napříč ptačími taxony, což je ostatně známo i u jiných druhotných sexuálních znaků. Nedá se říci, že by sexuální signalizační hypotéza byla neplatná, zároveň však nelze hovořit ani o její univerzální validitě. Je také možné, že má svou váhu pouze u některých druhů a u ostatních má skvrnitost a barevnost význam jiný. Zároveň je třeba zmínit, že navzdory výše popsaným hypotézám může být pigmentace pouze náhodným jevem nebo může mít jiný praktičtější význam, který by mohla popisovat jiná z následujících hypotéz.

3.4. Mechanické zesílení skořápky

Pigmentace na skořápkách obvykle nepokrývá povrch skořápky jednoduše, ale dochází k vytváření vzorování v podobě skvrn či čar. Tzv. mechanická hypotéza předkládá návrh, že skvrny na vejci způsobené tmavým pigmentem protoporphyrinem díky jeho molekulárním vlastnostem slouží k vytvoření pevnější vrstvy na povrchu skořápky. Tato myšlenka se rozšířila během studií populací v prostředí kontaminovaném insekticidem DDT. Ten je sice již řadu let v zemědělství zakázaný, ale v prostředí je dlouhodobě persistentní. Jeho nevyhnutelný výskyt v potravě ptáků v postižených lokalitách způsobuje blokaci vápníku v těle samic, který není následně deponován do vaječné žlázy a vyvolává ztenčení vaječné skořápky vedoucí k neúspěšnému hnízdění. Tento problém je nejčastěji skloňován s dravými ptáky, avšak i u samic sýkor koňader (*Parus major*), v jejichž organismu bylo odhaleno DDE (metabolit DDT), byla sledovaná jistá metabolická reakce na tuto látku. V oblastech skořápky ztenčených vlivem nedostatku vápníku byla zaznamenána vyšší koncentrace protoporphyrinových skvrn (Jagannath et al. 2008). Zároveň tmavší skvrna znamenala vyšší množství pigmentu na daném místě (Gosler et al. 2005).

Jistá souvislost mezi skvrnitostí a šířkou skořápky byla sledována i na příbuzném druhu, sýkorách modřinkách. Vajíčka s větším počtem více rozmístěných skvrn vykazovala v oblasti jejich výskytu tenčí skořápku. Naopak vejce s menším počtem větších a tmavších skvrn měly tlustší skořápku a byly také celkově těžší (Sanz & García-Navas 2009). Během dalšího výzkumu byla samicím v době hnízdění experimentálně podávána potrava bohatá na vápník. Navzdory očekáváním nedošlo ke změnám v intenzitě barevnosti skvrn ani k jejich zmenšení. Byla však prokázána vyšší distribuce skvrn a snížil se počet nakladených vajíček s poškozenou skořápkou (García-Navas & Sanz 2010). V tomto případě se tak nejedná přímo o důkaz mechanické hypotézy pigmentace, avšak je zde jasná spojitost mezi dostupností vápníku v potravě a kvalitou skořápky.

Rozporuplné výsledky přinesla pozorování na sýkorách koňadrách zpracována v rámci dlouholeté studie v oblasti Wytham Woods v Oxfordu. Po dobu dvaceti let se zde sledovala mimo jiné tloušťka skořápky a pigmentace v závislosti na klesajícím množství vápníku, pravděpodobně způsobeném konstantním výskytem kyselých dešťů na konci 20. století. Bylo sice zjištěno ztenčení skořápky až o 6,7 % z původní tloušťky v průběhu let, nicméně zároveň byl zaznamenán i výrazný pokles množství

pigmentu ve skořápce. Autoři zamítli možnost genetického zapříčinění, nepodpořili ani možnost mechanické funkce pigmentu (Gosler & Wilkin 2017).

Hypotéza však není omezena pouze na studie sýkorovitých ptáků, i když z důvodu jejich širokého rozšíření jsou častým experimentálním druhem. Dalším pozorovaným druhem je čejka chocholatá (*Vanellus vanellus*), která má rovněž díky protoporfyriu skvrnitá vejce. V rámci studie u těchto ptáků nebyl posuzován pouze možný strukturální vliv pigmentu, nýbrž kompletní přehled možných funkcí tohoto zbarvení. Jako vysoce pravděpodobná a podložená jinými studiemi byla brána varianta kryptického významu zbarvení, protože se jedná o druh hnízdící na zemi, často v zemědělské krajině. Co autoři výzkumu na základě vlastních zjištění nepodporují, je sexuálně signální význam zbarvení, jelikož nebyly pozorovány změny v chování samců v provázanosti s mírou skvrnitosti. Daleko více se přiklání k variantě mechanického vlivu skvrnění, ačkoliv nebyly zjištěny tak markantní rozdíly v tloušťce bílé a tmavé části skořápky. Velice zajímavě se ale jeví možnost provázání maskovací funkce zbarvení vajec s jejich mechanickou ochranou (Bulla et al. 2012).

Otazníky do problematiky mechanické funkce pigmentových skvrn vnáší další výzkum, tentokrát na estonských sýkorách koňadrách. Jedná se sice znovu o stejný druh jako v případě prvních uváděných studií, nicméně výsledky jsou odlišné. V tomto experimentu byly sledovány dvě skupiny sýkorek, kdy jedna se živila v listnatých lesích bohatých na vápník a druhá v chudších jehličnatých lesích. Závěrem studie bylo zjištění, že ačkoliv byla vejce v chudší oblasti menší a celkově s tenčí skořápkou, rozdíly ve skvrnitosti obou sledovaných skupin byly zanedbatelné (Mägi et al. 2012). Dalším příkladem studie s oponujícím závěrem může být práce s modelovým druhem rackem černohlavým (*Larus ridibundus*). U tohoto druhu byla sice zjištěna jistá korelace mezi výskytem ztenčených míst skořápky a skvrn, ale rozdíl oproti neposkvřené oblasti skořápky byl velice nízký. Mechanické opodstatnění výskytu pigmentových skvrn tak bylo v tomto případě zamítnuto (Maurer et al. 2011). Negativní korelace mezi množstvím vápníku v prostředí a skvrnitostí vajec pak byla prokázána i v případě sojek mexických (*Aphelocoma ultramarina*), které jsou známy zvýšenou mírou vnitrodruhové variability ve skvrnitosti (Berg et al. 2009).

Dle zmíněných studií je tedy pravděpodobné, že do modelu testování mechanické hypotézy je nutné zahrnout i jiné faktory, jako třeba tělesnou zdatnost rodičů, ale i druhovou příslušnost. Výše uvedené studie, které podporují zmiňovanou hypotézu, byly vesměs prováděny na drobných pěvcích, o kterých je známo, že jejich

kosterní soustava není schopna dlouhodobě uchovávat větší množství vápníku, jako je tomu třeba u ptáků hrabavých (Whitehead 2004). Stejně tak jejich strava není vždy natolik bohatá na vápník jako v případě jiných druhů, u kterých se rovněž vyskytují skvrnitá vejce. Je tedy možné, že mechanická hypotéza bude platná pouze pro určitou skupinu ptačích druhů, třeba právě pro zpěvné ptáky.

4. Faktory ovlivňující skvrnitost

Výše popsané hypotézy vysvětlující barevnost a skvrnitost vajec mají jistě minimálně částečný podíl na výsledném vzhledu vajec určitých druhů. Možné je i jejich vzájemné překrývání posilující či naopak oslabující vliv jedné či druhé z nich. Ať už je zamýšlený význam pro samce či samice jakýkoliv, ne vždy se může podařit jej dokonale realizovat. Je jisté, že na závěrečnou podobu má nakonec velký vliv i fyzická zdatnost samice podléhající stavu prostředí, ve kterém se vyskytuje. V následující kapitole jsou uvedeny faktory, které mohou nepatrně i enormně ovlivnit jakýkoliv evolučně zamýšlený význam zbarvení ptačích vajec.

4.1. Teplota prostředí

Zástupce ptačí říše nalezneme v nejrůznějších končinách naší planety. Často se musí vyrovnávat s extrémními podmínkami, mezi které patří i permanentní vysoké teploty. V komerční produkci vajec bylo prokázáno, že takovéto podmínky jsou hlavním negenetickým důvodem pro nižší nosnost slepic a špatnou kvalitu skořápek z důvodu nastolení hormonální nerovnováhy (Oguntunji & Alabi 2010). Ptáci žijící např. v oblasti rovníku jsou již na takové podmínky adaptovaní. Sezení na vejcích, které obecně slouží k udržování optimální teploty pro vývoj embrya naopak v teplých končinách slouží k zastínění vajec před přílišným žářem (Westmoreland et al. 2007). U čejek černoprsých (*Vanellus indicus*) žijících na Blízkém východě bylo pozorováno, že si během horkých letních dní chodí namáčet peří na prsou, čímž ochlazují sebe i vejce, na kterých následně sedí (Saxena & Saxena 2013).

Jako možná evoluční strategie pro boj s vysokými teplotami se jeví i zbarvení skořápky. To může svou pigmentací reflektovat teplotní podmínky prostředí, ve kterém daný ptačí druh hnízdí. Pokud vystavíme různě barevné povrchy slunečnímu

záření, jsou logicky choulostivější ty s vyšší koncentrací tmavých pigmentů. Při experimentálním natření přirozeně světlých slepičích a racčích vajec nahnědo, byla teplota u barevně pozměněných skořápek na přímém slunci o 3 °C vyšší, než u původního zbarvení (Montevecchi 1976). Rovněž u přebarvených pštrosích vajec byla teplota vyšší než u přirozeného bílého vzhledu. Na africkém slunci se vyšplhala až na 43,4 °C, což je o více jak stupeň překročení letální hranice pro embrya. Pro pštrosy je tak z evolučního hlediska výhodnější investovat více energie do ochrany vizuálně nápadných bílých vajec, než je vystavit riziku přehřátí z důvodu tmavší pigmentace (Bertram & Burger 1981). Tyto výsledky podporuje i srovnávací studie, která tvrdí, že tmavší barevný podklad vajec mají ptáci v lokalitách s menším přísunem sluneční radiace. Ti tak využívají tmavších barev k maximalizování přísunu tepla k vejším, což je výhodné obzvláště ve chvílích, kdy musejí rodiče opustit hnízdo za účelem obstarání potravy (Wisocki et al. 2020).

Při ověřování těchto hypotéz za pomoci experimentálního natírání vajec je však nutné vzít v potaz, že nátěr poškozuje přirozenou pórovitost vajec a narušuje tak výměnu plynů s okolím. I kvůli tomu může docházet k jejich rychlejšímu zahřívání (Cherry & Gosler 2010). Tomuto ovlivňování výsledků se lze vyvarovat porovnáním příbuzných ptačích druhů adaptovaných na stejné životní podmínky lišící se v barvě vajec. Takovým příkladem je vlhovec pospolitý (*Euphagus cyanocephalus*), červenokřídý (*Agelaius phoeniceus*) a žlutohlavý (*Xanthocephalus xanthocephalus*). Hnízda všech druhů byla rovnoměrně rozdělena do dvou skupin, z nichž jedna byla vystavena přímému slunci a druhá umístěna ve stínu. Vejce na slunci dle předpokladů zvýšila svou teplotu oproti zastíněným vejším, nicméně nebyl prokázán žádný rozdíl v teplotách v závislosti na barvách vajec (Westmoreland et al. 2007). Je však nutné poznamenat, že tyto zmíněné druhy obývají severoamerický kontinent, kde nepanují tak vysoké teploty a vejce nemusí vykazovat evoluční adaptace na teplotu jako je tomu u druhů z tropické Afriky.

Snovač zahradní (*Ploceus cucullatus*) na rozdíl od nich je africký pěvec obývající střední oblast kontinentu od východu po západ. Ačkoliv se jedná o přibližně stejnou zeměpisnou šířku, nepanují na celé ploše výskytu obdobné podmínky. Jižněji žijící populace snovače obývají chladnější lokality vlivem větší míry oblačnosti, a tudíž jejich hnízda nejsou vystavena takové dávce sluneční radiace, jako populace žijící na západě kontinentu. Jedná se sice o stejný druh, ale vejce populací vystavených

větší míře slunečního záření měly výrazněji modrozeleně pigmentované skořápky, což autor vysvětluje mimo jiné právě světelnými podmínkami (Lahti 2008).

Teploty ale mohou hrát roli i v oblastech mimo tropické kontinenty. U severoamerických vlhvců tento fakt sice prokázán nebyl, ale u evropského lejska černohlavého jistá spojitost mezi barvou a teplotou nalezena byla. Zkoumané populace tohoto druhu se nacházely od chladných oblastí Skandinávie až po subtropické Španělsko. Nebyla sice prokázána souvislost mezi geografickými údaji a zbarvením, zato ale byla odhalena korelace mezi teplotou, která panuje během kladení vajec a tloušťkou skořápky. Čím vyšší byla teplota při kladení, tím tlustší byly skořápky. Zároveň se zvýšila i koncentrace biliverdinu a díky tomu byla vejce barevnější (Morales et al. 2013). Jedním z možných vysvětlení, proč samice za chladu kladou vejce s tenčí skořápkou, je vyšší spotřeba energie pro udržení stálé tělesné teploty. Kladení vajec je samo o sobě fyzicky náročné a v kombinaci s potřebou udržení tělesné teploty již samice nemá tolik energie pro vytváření pevnější skořápky (Järvinen 1996). Jiným možným vysvětlením je naopak to, že vzrůstající teplota prostředí zvyšuje odpar a tlustší skořápka tak může sloužit jako ochrana před nadměrným odpařováním tekutin z vejce (Davis & Ackerman 1985).

Na základě výše uvedených prací je tedy pravděpodobné, že životní prostředí, zde prezentované okolní teplotou a slunečním zářením, může mít na barevnost vejce značný vliv. Ptáci na podmínky reagují buď evolucí ve vzhledu vajec, či se přizpůsobují podmínkám svým chováním. Je také možné, že adaptace na prostředí nemusí být prioritou. Ustupují tak jiným potřebám a plně se rozvinou jen v případě pomínutí hlavního problému. Dle toho pak také mohou být tyto teplotní adaptace hůře rozpoznatelné pro vědecké studie.

4.2. Dostupnost potravy

Životní prostředí každého druhu je důležité i z hlediska potravní nabídky. Jako samozřejmost lze brát fakt, že čím je vyšší nabídka potravy, tím kvalitnější život mají živočichové žijící na dané lokalitě. Nezáleží pouze na množství, ale i na jejím druhovém složení. Jedinci obývající prostředí bohaté na potravu mají lepší fyzickou zdatnost, a tudíž si mohou dovolit investovat více energie a zdrojů do rozmnožování. Zároveň v prostředí dostatečně saturovaném potravou samice zahajují snůšky dříve, než když je jí nedostatek (Schoech 1996). Dobrý fyzický stav vztažený k množství

stravy se může projevit i v pigmentaci skořápky. Zvýšená akumulace biliverdinu ve skořápce byla v této souvislosti zaznamenána u fyzicky zdatnějších samic salašníka modrého (*Sialia sialis*; Siefferman et al 2006).

Podpora pro tvrzení, že vyšší krmná dávka má dopad na kvalitu samice, se nejlépe získává při kontrole množství krmení v době hnízdění. K takovému pokusu došlo u sojky křovinné (*Aphelocoma coerulescens*), kdy bylo jeden rok před snášením samicím dodáváno krmivo bohaté na tuky a bílkoviny a druhý rok krmivo bohaté pouze na tuky. Samice příkrmované i bílkovinnou složkou zaznamenaly po prvním roce nárůst velikosti snůšky a vejce zároveň vykazovala větší hmotnost. Ukázalo se, že na rozdíl od samic z kontrolní skupiny obsahují jejich vejce větší množství vody, což je výhodné pro dobrý vývoj embrya (Reynolds et al. 2003). K podobným výsledkům došlo i u výše zmíněné studie sexuální signalizace lejsků černohlavých. Uměle dokrmované samičky lejsků produkovaly intenzivněji modře zbarvená vejce, než samice z kontrolních skupin, díky čemuž měly následně větší úspěch u samců (Moreno et al. 2006a).

Protiargument k této teorii představuje výzkum na poštolkách obecných (*Falco tinnunculus*). Samice poštolek snášejí vajíčka skvrnitá vlivem akumulace protoporfyrinu, což je změna oproti výše zmíněným druhům. Zároveň jsou během sezení na vejcích krmena svým partnerem a množství potravy které mají, je tak chováním samce značně ovlivněno. Během pozorování se nepotvrdilo, že s větším množstvím potravy stoupá fyzická zdatnost samic či se mění zbarvení vejce. Naopak zde hrála roli zdatnost daného samce. Samice, které se spářily se samcem s lepší kondicí, měly intenzivněji skvrnitá vejce. Lze namítnout, že lepší zdatnost samce implikuje větší množství donesené potravy a tudíž je tato hypotéza pravdivá. Nicméně autoři studie uvádějí, že suplementace krmivem z jejich strany se neprojevila jako zásadní a tudíž vliv množství potravy na pigmentaci zavrhuje (Martínez-Padilla et al. 2010). K podobným závěrům došla i práce na křepelkách japonských, kdy samice investovaly stejné množství energie do snůšky navzdory rozdílům ve fyzické kondici (Duval et al. 2013). V tomto případě však vyvstává otázka, zda tato energie následně samicím nechyběla v dalších životních fázích a neodrazila se v dlouhodobém horizontu třeba v době dožití.

4.3. Dostupnost vápníku

Důležité není pouze množství potravy v prostředí, ale i její složení. Velice podstatným prvkem pro všechny ptáky je vápník. Stejně jako množství potravy je i nadbytek či nedostatek vápníku spojován se změnami ve vzhledu vaječné skořápky. Již bylo zmíněno, že podle některých studií slouží protoporfyrinové skvrny, respektive pigment protoporfyrin, jako posilující prvek skořápky v místech, kde není dostatečně silná vrstva vápenaté složky. Jiné práce však tuto souvislost zamítají (viz kapitola 3.4. Mechanické zesílení skořápky). Tato kapitola se zaměřuje spíše na to, proč je zrovna vápník považován za tak důležitou položku v ptačí říši.

Vápník je esenciální prvek, který je potřebný pro správné fungování nervové soustavy a jeho nedostatek vede k odvápnování kostí a zhoršení jejich pevnosti. Ve většině ptačích kostí zároveň chybí kostní dřev. Díky tomu jsou jejich kosti lehké, jelikož vnitřní část není ničím vyplněna a je tedy tvořena dutinou, tzv. pneumatizovaná. Za tuto evoluční výhodu ptáci platí např. během doby rozmnožování. Vaječné skořápky jsou z drtivé většiny tvořeny právě vápníkem. V organismu samic ptáků a dříve i jejich dinosauřích předků, dochází před tvorbou vajec vlivem estrogenu ke vzniku tzv. medulární kosti (Patten 2007). Ta vzniká ve vzduchových kapsách uvnitř pneumatizovaných kostí v období hnízdění (u dálkových migrantů i týdny před ním) a slouží jako dočasný rezervoár vápníku pro tvorbu skořápek (Dacke et al. 1993).

Kapacita dřevové kosti je však omezená a u některých druhů zcela chybí, tudíž musí samice stále vápník aktivně vyhledávat. Je dokonce možné, že nedostatek vápníku v prostředí stojí i za menšími velikostmi snůšek v rámci geografické variability. Druhy žijící v tropech mají obecně menší snůšky, ať už se jedná o druhy příbuzné či nikoliv. Naopak čím vzdálenější jsou lokality od rovníku, tím větší bývají snůšky. To může souviset s vícero faktory, jako dostupností potravy, rizikem predace, ale právě i s nedostatečným množstvím vápníku v chudé tropické půdě (Patten 2007). Prostředí bohatá na půdní vápník jsou zároveň také bohatší na bezobratlé živočichy, ze kterých ptáci vápník získávají. V Nizozemsku během sledovaných čtyř let došlo k významnému nárůstu počtu samic sýkory koňadry, které kladly vejce s tenkou skořápkou, která jsou náchylnější k většímu výparu vody a snadněji se poškodí. Byla zjištěna provázanost s poklesem obsahu vápníku v půdě, který vedl i ke snížení množství plžů s vápenatou ulitou. Ti tvoří významnou složku potravy a zdroj vápníku pro hnízdící samice. Když byly samicím uměle dodány plži ulity a slepičí skořápky,

kvalita vajec se u takto podporované skupiny zlepšila. Dodané slepičí skořápky byly následně nacházeny i v jejich hnízdech (Graveland & Van Gijzen 1994).

Není však potřeba lidského zásahu, aby se ptáci s takovými situacemi vypořádali. V případě, že v jejich prostředí dojde ke ztrátě důležité složky potravy, jsou schopni se těmto podmínkám přizpůsobit. U výše zmíněných sýkor koňader došlo ke změně zdroje potravy, když při nedostatku plžů přešly na stonožky, rovněž cenný zdroj vápníku (Graveland & Van Gijzen 1994). V jiných případech mohou ptáci konkrétní lokalitu přímo opustit. Takový případ pak může mít za následek i neprůkaznost vlivu množství vápníku v půdě na skvrnitost vajec (viz např. Mägi et al. 2012).

4.4. Fyziologické faktory

Veškeré projevy okolního prostředí se odrážejí i ve fyzickém stavu každé samice. Ať už jde o teplotu prostředí, potravu, působení patogenů či jiné vnější podněty vyvolávající stresové situace, se kterými se organismus samic musí vypořádat. Nemusí však ani docházet k zásahům zvenčí, problémy mohou nastat v samotném organismu vlivem nemoci či geneticky vrozené vady. Jednotlivé druhy i jedinci mohou mít odlišné projevy ve snaze vypořádat se s určitými situacemi, a to i v závislosti na postupujícím věku. Všechny tyto procesy se mohou odrážet i v podobě pigmentace ptačí skořápky.

4.4.1. Pigmentace ovlivněná věkem

Fyzický stav samice je velice úzce spjat i s jejím věkem. Právě ten tak může hrát roli v případě pigmentace vaječné skořápky. Pravděpodobnost této hypotézy byla sledována hned v několika případech, kdy byly porovnávány skupiny samic během jejich prvního životního hnízdění s těmi zkušenějšími. U salašníků modrých mladší skupina samic snášela méně biliverdinem pigmentovaná vejce (Siefferman et al. 2006), opačný výsledek pak přineslo pozorování sýkor modřinek (Martínez-de la Puente et al. 2007). V případě protoporfyrinových skvrn pak skupina zkušenějších samic snášela vejce se světlejšími skvrnami u sýkor koňader (Gosler et al. 2005) a tmavší u poštolek obecných (Martínez-Padilla et al. 2010). Je otázkou, zda jde u mladých samic o projev nedostatku zkušeností nebo o souvislost s dobíhajícími

procesy dospívání, kdy je jejich vlastní vývoj stále podstatnější než předání co nejvíce energie do snůšky.

Studie na lejsku černohlavém, jehož samice kladou vejce pigmentované biliverdinem, nerozdělila samice pouze do dvou skupin, ale věnovala pozornost každé věkové kategorii. Díky podrobení vajec analýze pod spektrometrem se zjistilo, že stárnoucí samice kladou světlejší vejce než mladší samice (Moreno et al. 2005). Výsledky podpořila data z dlouhodobého pozorování vrabců domácích (*Passer domesticus*), kteří mají ve vaječné skořápce modrý podklad tvořený biliverdinem a na něm hnědé skvrny z protoporfyrinu. Tmavost obou pigmentů poklesla u samic s věkem nad čtyři roky, ale nedošlo k ovlivnění rozmístění skvrn. Zároveň šlo o populaci dlouhodobě chovanou v zajetí, tudíž nemohlo dojít k ovlivnění změnami v prostředí (López de Hierro & De Neve 2010).

U volně žijících živočichů je pravděpodobné, že většina z nich zahyne dříve, než kdyby umírali vlivem stáří. I proto mohou být výsledky výzkumu vlivu stáří na skvrnitost zavádějící. Je nutné brát v potaz fakt, že může v ptačích životech nastat bod zlomu, kdy už by výsledky studií byly jiné, ale ve volné přírodě k takové hranici nemusí dospět. Nicméně, při studiích dle věku rozdělených skupin slepic v produkčním chovu, u kterých je protoporfyrin obsažen rovnoměrně v celém vejci, byl zjištěn významný pokles pigmentu se zvyšujícím se stářím hejna (Samiullah et al. 2017).

4.4.2. Oxidativní stres

V rámci předchozích kapitol byl několikrát zmíněn pojem oxidativní stres. Jde o stav, kdy v těle není dostatečné množství antioxidantů, které by se spárovaly s volnými radikály. Ty při své zvýšené koncentraci v organismu vyvolávají řetězovou reakci a jejich množství stále narůstá. Napadají pak zdravé buňky, ničí buněčné struktury a tkáně. Oslabené tělo je náchylnější k různým nemocem a dochází i k předčasnému stárnutí jednotlivých orgánů. Příčinou vzniku tohoto stavu je např. znečištěné životní prostředí zvýšenou koncentrací chemických látek a těžkých kovů, nadměrný stres, vyčerpání nebo nedostatečný příjem správných druhů antioxidantů v potravě. Jedním z potřebných antioxidantů v ptačím těle je i biliverdin, který jako pigment způsobuje modrou/zelenou barvu vaječné skořápky. Jeho zvýšená koncentrace ve skořápce naznačuje velice dobrý fyziologický stav dané samice, jelikož je schopna se takto

důležité látky vzdát ve formě pigmentace vejce. Na základě toho je stavěna výše popisovaná sexuálně signalizační hypotéza, kdy samec ocení samici s modřejší (zelenější) snůškou, jelikož to svědčí o nízkém stavu oxidativního stresu a tím i její fyziologické kvalitě (Moreno & Osorno 2003).

Spojitosť mezi biliverdinem a oxidativním stresem byla experimentálně potvrzena na samicích lejska černohlavého. Před snášením vajec bylo hnízdícímu páru odstraněno hnízdo, čímž se jim uměle zvýšila míra stresu z důvodu nutnosti přípravy nového hnízda. U takto ovlivněných samic byla následně zaznamenána negativní korelace mezi hladinou antioxidantů v krevní plazmě a pigmentací vajec. To naznačuje, že samice je během hnízdění nucena učinit rozhodnutí o alokaci zdrojů buď do vaječné skořápky či je zachovat ve vlastním organismu pro boj s oxidativním stresem (Morales et al. 2008). Důležitost antioxidantů v organismu během doby hnízdění byla potvrzena i u kanárů divokých (*Serinus canaria*), kdy samičky, v jejichž potravě před snůškou byla zvýšená koncentrace antioxidantů, snášely modřejší vejce než kontrolní skupina. Podstatný tak nemusí být dlouhodobý stav samice, ale její aktuální stav během období hnízdění (Hargitai et al. 2016). Jedna z novějších hypotéz ohledně funkce biliverdinu ve skořápkách navrhuje, že tento pigment jakožto antioxidant může fungovat ve skořápce i jako ochrana embrya před patogeny snažící se proniknout skořápkou. Zároveň existují teorie, že biliverdin může být absorbován embryem ze skořápky a hrát tak důležitou roli během embryogeneze (Morales 2020).

S fyziologií samic je spojen i druhý skořápečný pigment - protoporfyrin. Ten je na rozdíl od biliverdinu klasifikován jako induktor možného oxidativního stresu. Skvrnitá vejce by tak měla znamenat horší tělesnou kondici a vyšší koncentraci stresových proteinů. Právě těchto výsledků bylo dosaženo při studii na sýkorách modřinkách (Martínez-de la Puente 2007). U experimentu s kanáry divokými byl rovněž sledován efekt tohoto druhého pigmentu, kdy se došlo k závěru, že více tmavších skvrn poukazuje na horší nutriční stav samice. Zde však byla zjištěna i mechanická funkce skvrn ve ztenčených oblastech skořápky (Hartigai et al. 2016).

Kromě skvrn může protoporfyrin vytvářet jednolitě hnědé vejce, jako je tomu u slepic. Vzhledem k jejich chovu z produkčních důvodů je možné u nich snáze sledovat efekt stresu. Během zjišťování optimálních podmínek pro jejich chov s co největším výnosem se zjistilo to, že při zvýšené míře stresu zadržují samice vejce uvnitř těla i dlouho poté, kdy mělo být sneseno. Z toho důvodu se na skořápce ukládá extrakutikulární vápník a vejce se tak jeví jako světlejší (Walker 1998). Nicméně

v tomto případě nebyl pozorován přímo vliv oxidativního stresu ani nebyla měřena množství pigmentu deponovaná do skořápky.

4.4.3. Pohlavní hormony

Proces ukládání pigmentů do skořápky probíhá v pohlavních orgánech každé samice. Samičí pohlavní buňka vzniká ve vaječníku, samotné vejce se následně začíná vytvářet ve vejcovodech, kde také vzniká jeho pigmentace (např. Zhao 2006). Všechny tyto procesy jsou ovlivňovány steroidními hormony, které vznikají, stejně jako pohlavní buňka, ve vaječnících. Steroidní hormony jsou odvozeny od cholesterolu a řadí se mezi ně téměř všechny pohlavní hormony včetně estrogenů, androgenu a progesteronu. Estrogeny během embryonálního vývoje svým působením zvětšují vejcovod samice a dále ovlivňují sekundární pohlavní znaky (Oguntunji & Alabi 2010). Společně s androgenem ovlivňují vývoj vaječníku a retenci vápníku. Oproti tomu v kombinaci s progesteronem regulují ovulační cyklus a uvolňování steroidních látek z endokrinních žláz (Reece 1998).

Kromě výše zmíněných funkcí mohou mít jednotlivé steroidní hormony vliv i na takové jevy, jako je právě pigmentace skořápky. Svým působením v určité míře narušují enzymatickou antioxidační ochranu a přímo tak navozují v těle oxidativní stres (Schantz et al. 1999). Je rovněž pravděpodobné, že hormon progesteron je stimulantem ke hromadění pigmentů ve skořápečné žláze. Křepelkám japonským bylo během experimentu v průběhu kladení vajec injekčně podáváno určité množství konkrétních steroidních hormonů. Ukázalo se, že hormony estradiol, řadící se mezi estrogeny, a testosteron, který je naopak hlavním samčím pohlavním hormonem (odvozeným z progesteronu), nemají při umělém navýšení v krvi vliv na kumulaci pigmentů. Nicméně u progesteronu byla tato návaznost pozorována (Soh & Koga 1994) a potvrzena byla i během následných experimentů, kdy progesteronové injekce rovněž prokazatelně navýšily množství pigmentu. V kombinaci s estradiolem byl efekt ještě větší, nicméně samotný estradiol znovu žádný vliv neprokázal (Soh & Koga 1997). To naznačuje, že kombinace těchto dvou hormonů může mít přímo za následek výsledné množství uvolněného pigmentu ze skořápečné žlázy (Moreno & Osorno 2003). Pokud tak samice trpí problémy s hormonální deponací, ať již z důvodu umělé manipulace při komerčním chovu či z přirozených důvodů, budou tyto důsledky patrné na její snůšce.

5. Vnitrodruhová variabilita v pigmentaci

Všechny výše zmíněné děje působící na samice i jejich vejce mají do značné míry vliv na variabilitu v pigmentaci. Ta může být jak mezidruhová, tak i vnitrodruhová. Mezidruhová variabilita je z velké části způsobena genetickou rozrůzněností a evoluční adaptací na určité životní podmínky. Je tedy logické, že vejce druhů patřících do různých rodů či čeledí budou odlišnější, než je tomu v rámci blízké příbuznosti. Naopak si ale budou podobná vejce druhů se stejným behaviorálním chováním, např. využívající stejný typ hnízda (Cassey et al. 2010). Daleko zajímavější je však variabilita v pigmentaci v rámci jednoho druhu či dokonce v rámci snůšky konkrétního jedince. I zde může hrát do značné míry roli genetický základ, ale větší váhu než v předchozím případě mohou mít aktuální děje v prostředí.

Variabilita mezi snůškami samic stejného druhu, i jejich odlišnost s každou další hnízdní sezónou, je přičítána z velké části boji s hnízdními parazity. U druhů, kde jsou si samice samy sobě parazitem/hostitelem, je jasný důvod snahy o diferenciaci. Hostitelská samice musí usilovat o to, aby mohla efektivně rozpoznat cizí vejce od svých. Je zde tedy teoretická snaha o vytvoření originality ve vzorování. Jistým signálem pro parazitující samice stejného druhu může být snesení výrazně světlejšího posledního vejce, jako je tomu u vrabců (*Passer* sp.). Hostitelská samice tím dává té parazitující najevo, že v hnízdě je již plný počet vajec a byla zahájena inkubace (Yom-Tov 1980). Snést vejce do takového hnízda je nevýhodné, jelikož se mu nedostane dostatečné energie pro správný vývoj. Pokud i navzdory tomu dojde k úspěšnému vylíhnutí mláděte, nebude konkurenčně schopné v boji o potravu mezi staršími a silnějšími mláďaty. Výhoda takového chování pro hostitelskou samici tkví v tom, že se snižuje pravděpodobnost parazitace její snůšky (Kilner 2006).

V případě, kdy je parazitem jiný ptačí druh, dává větší smysl uniformita ve vzhledu vajec ve snůšce. Jakmile jsou vejce stejná a objeví se mezi nimi jedno nápadné, je jasné, že se jedná o nastrčené vejce. Jak se s tímto parazitovaným druhem formou pigmentace vypořádávají mezi sezónami, bylo studováno u rákosníků velkých (*Acrocephalus arundinaceus*). Ti mají skvrnitá vejce s bílou podkladovou barvou. V rámci jedné snůšky byla sledována mírná opakovatelnost vzhledu skořápek. Naopak v průběhu jedné sezóny u první a případně další náhradní snůšky byla pouze nízká podobnost ve vzhledu, stejně tak v případě porovnání vždy prvních snůšek mezi roky (Honza et al. 2012). Tyto výsledky mohou poukazovat na snahu uniformního vzhledu

a tím i snadnějšího odhalení cizího vejce, stejně jako u fakultativního parazitismu. Nicméně větší mezisezónní než vnitrosnůšková variabilita byla popsána i u druhů, kde za příčinu nebylo možné považovat obranu proti parazitům. Tato pozorování na salašnicích modrých (Siefferman et al. 2006) či stepokurech jihoafrických (Lloyd et al. 2000) tak naznačují jiné zapříčinění tohoto jevu, např. i v návaznosti na nižší pravděpodobnost stejných podmínek pro hnízdění v jednotlivých letech.

Diferenciace vajec v rámci snůšky může souviset s velkou řadou faktorů, jako třeba s tělesnou kondicí samic. Jak již bylo zmíněno, pigmenty biliverdin a protoporfyrin hrají roli v obranyschopnosti organismu. Vzhledem k antioxidačním účinkům biliverdinu je logické, že by s přibývajícimi vejci měla klesat míra uložení pigmentu ve skořápkách. To potvrzují výsledky výzkumu na lejsku černohlavém (Moreno et al. 2005) nebo vrabci domácím (López de Hierro & De Neve 2010). Oponují tomu však data výzkumu u salašníka modrého, u kterého naopak pigmentace biliverdinem s každým dalším vejcem stoupala. Jednalo se nicméně o samice v dobré tělesné kondici, které tímto mohly soutěžit o pozornost samců před dalším zahnízděním (Siefferman et al. 2006). U protoporfyrinových skvrn pak byla pozitivní korelace mezi narůstajícím počtem vajec a tmavostí skvrn u sýkory koňadry (De Coster et al. 2013), kdežto komplexní blednutí všech barev u zmiňovaných vrabců domácích. Avšak i u nich byla shledána vyšší míra tmavosti skvrn na konci hnízdní sezóny (López de Hierro & De Neve 2010). V obou případech to tedy naznačuje možnost nedostatečných zásob vápníku v průběhu kladení, respektive celé hnízdní sezóny a nutnost zpevnění skořápek pomocí vyššího množství protoporfyrinu.

Z této i všech předchozích výše popsaných kapitol je patrné, že variabilitu v pigmentaci skořápky, její podobu i příčinu, není možné brát jako univerzálně platnou v celé ptačí říši. Rozdíly panují mezi pigmenty napříč ptačími druhy, zasahuje faktor náhody v podobě přírodních podmínek vybrané lokality i období výzkumu. V neposlední řadě je podstatná technika provedení studie i omezené množství studovaných druhů. A velmi důležité je i pravděpodobné vzájemné ovlivňování jednotlivých faktorů. V následujícím textu této práce již bude věnován prostor praktické části, během které budou uvedeny výsledky vývoje variability protoporfyrinové pigmentace vajec u subtropické čejky černoprsé.

6. Cíle práce

Cílem této práce je zjistit míru vnitrodruhové variability v pigmentaci vajec čejky černoprsé na úrovni vnitrosnůškové, vnitrosezónní a mezisezónní variability pro konkrétní samice. To vše za pomoci stanovení procentuální skvrnitosti získané z barevných snímků jednotlivých vajec, které byly pořizovány v hnízdních sezónách 2018 až 2021 ve Spojených arabských emirátech. Práce si dává za cíl rovněž zhodnotit možné faktory, které za případnou variabilitou v pigmentaci stojí na základě literární rešerše na dané téma.

7. Modelový druh čejka černoprsá

Čejka černoprsá (dále jen „čejka“) patří do čeledi kulíkovitých (*Charadriidae*) z řádu dlouhokřídlých (*Charadriiformes*). Je charakteristická svým štíhlým tělem s černým peřím na hlavě a krku, hnědými křídly, červeným rámováním kolem očí a dlouhýma žlutýma nohama. Známa je i pro svůj pronikavý hlas (Anil & Sharma 2011). Druh je rozšířen od jihovýchodní Asie po západní hranici asijského kontinentu. Pro hnízdění vyhledává otevřená prostranství v blízkosti zdrojů vody, ať už se jedná o přirozené mokřady či pouze zavlažované zemědělské pozemky (Ali & Ripley 1968).

Námluvy čejek probíhají od března do června. Po spárování již samec se samicí zůstávají monogamní. Při hájení teritoria se stávají agresivní vůči dalším jedincům svého druhu i jiným vlivům z okolí a navzájem si pomáhají při starosti o snůšku (Vyas 1997). Samička klade tři až čtyři vejce do hnízda, které je vytvořeno oběma rodiči v malé prohlubni v zemi. Hnízdo bývá vystláno i obklopeno oblázky či kusy tvrdé zeminy. Vejce jsou hruškovitého tvaru a po naklazení jsou naaranžována tak, aby se dotýkala špičatějšími konci a usnadnila tak inkubaci. Ta probíhá okolo 30 dní a ptáci se na vejcích střídají (Sládeček et al. 2021). Od dubna do září může mít pár i několik snůšek.

Čejčí vejce mají na délku v průměru 41 mm a na šířku 30 mm. Barevný základ je od prachově bílé až po světle zelenou a je po celém povrchu posetý různě velkými a různě tmavými hnědočernými skvrnami (Sangam et al. 2019). Toto zbarvení jim pravděpodobně slouží jako kamufláž, jelikož velice dobře splývá s výstelkou hnízda. Díky tomu jsou snůšky do jisté míry chráněny před predátory, mezi které patří krkavcovití ptáci či poblíž lidského obydlí i různá domácí zvířata (Sethi et al. 2014).

Vysvětlení pro zbarvení jejich vajec však může být různorodé. Protoporfyrinová skvrnitost je spojována kromě mimikry i se zvyšováním pevnosti skořápky v době nedostatku vápníku, obrany před hnízdním parazitismem, adaptací na přírodní podmínky či jistou formou komunikace mezi hnízdními partnery. Svou úlohu rovněž může hrát i genetika či aktuální fyziologický stav dané samice. Na otázku, které faktory z výše zmíněných mají své opodstatnění v rozmnožování čejek černoprsých, by mohla odpovědět datová analýza uveřejněná v této práci.

8. Metodika

8.1. Studijní lokalita

Data pro tuto práci byla sbírána ve Spojených arabských emirátech, 20 km od nejbližšího zastavěného území hlavního města Dubaj. Konkrétně se jednalo o lokalitu uměle vytvořeného jezerního ekosystému uprostřed jádrové zóny rezervace Al Marmoom Desert Conservation Reserve (24°50' s. š., 55°21' v. d.). Zmíněná rezervace se rozkládá v poušti Seih Alsalam na ploše 950 km² a jde o největší chráněnou přírodní oblast Dubajského emirátu. Původním záměrem pro vznik nového ekosystému bylo vytvoření rekreačního areálu pro turisty z nedaleké metropole (Elhassan et al. 2021).

8.2. Sběr a úprava dat

Data z monitoringu byla sbírána v letech 2018 až 2021. První rok výzkumu byla v rezervaci pomocí satelitních snímků z GPS vytipována síť lokalit vhodných pro hnízdění těchto čejek. Čejka si vybírá hnízdiště na otevřeném prostranství bez vegetace či s nízkou bylinnou či keřovou vegetací, což hnízda činí snadno dohledatelná i na větší vzdálenosti. Neokroužkovaní ptáci byli v průběhu sezóny na hnízdech odchyťováni a značeni unikátní barevnou kombinací kroužků. Díky tomuto identifikačnímu opatření je možné jednotlivce přiřazovat k dalším hnízdům v průběhu sezóny i mezi nimi. Zároveň je možné sledovat jejich párovou historii a úspěšnost při vyvádění mladých.

Během všech čtyř hnízdních sezón byla lokalita hnízdiště prohledávána za účelem nalezení hnízd. Nalezená hnízda byla označena pořadím nálezu za konkrétní

rok, datem nálezu a byla přiřazena konkrétním jedincům, pokud byli individuálně značeni. Následně byla hnízda navštěvována a dokumentován stav vajec. Maximální velikost snůšky jsou čtyři vejce, ale tato kapacita nemusela být z různých důvodů naplněna. V průběhu snášení byla snůška opakovaně monitorována a po snesení posledního vejce fotograficky zdokumentována. Pokud bylo možné během průběžných návštěv jednoznačně určit pořadí snesení vejce, bylo takové vejce označeno číslem. Docházelo k tomu však sporadicky a většinou se podařilo určit jen první či poslední vejce. Zaznamenáván byl hnízdní habitat (ostrov, pevnina, expozice na slunci nebo umístění ve stínu) a materiál využitý na stavbu hnízda. Vejce byla pro focení vyjmuta z hnízda a vyfocena na jednobarevné matné podložce s barevnou škálou. Po první fotografii byla vejce otočena o 180° podél nejdelší osy tak, aby mohla být pořízena fotografie i protilehlé strany vejce.

Fotografie byly roztříděny podle let, pořadí hnízda za daný rok a označeny identifikačním číslem samice. Rovněž bylo zaznamenáno, o kterou polovinu vajec se jedná pomocí písmen A nebo B. Z každé takto označené fotografie byla vejce po jednom vyříznuta v grafickém editoru GIMP nástrojem Ořez (Solomon 2009), ovšem spolu s pozadím vejce, z důvodu vyvarování se zásahu do jeho kontur. Takto byl vytvořen samostatný snímek každého vejce, aby bylo možné je jednotlivě analyzovat. Ke kódu celkové fotografie hnízda bylo u nově vzniklých snímků přiřazeno číslo od jedné do čtyř, v závislosti na počtu vajec ve snůšce. Tímto byl vytvořen unikátní identifikační kód každé poloviny vejce, aby bylo možné pokračovat v jejich analýze a vytvoření databáze.

Bohužel je nutné uvést, že ne všechna vejce byla během terénního sběru vyfocena z obou stran, jelikož původním záměrem pro fotografování hnízd nebyl výpočet skvrnitosti. U jiných vajec byly pořízeny nekvalitní fotografie, ať již z důvodu špatné manipulace s fotoaparátem, či kvůli nedostačujícím nebo zkreslujícím světelným podmínkám. Tyto fotografie bylo nutno z datasetu odstranit již v primární fázi jejich zpracování, u dalších se nedostatky odhalily až později během výpočtů skvrnitosti. To je dalším důvodem, proč nebylo možné u každého vejce stanovit celkový stav skvrnitosti a během statistických analýz bylo nutné tento fakt zohlednit, jak je popsáno v dalších kapitolách.

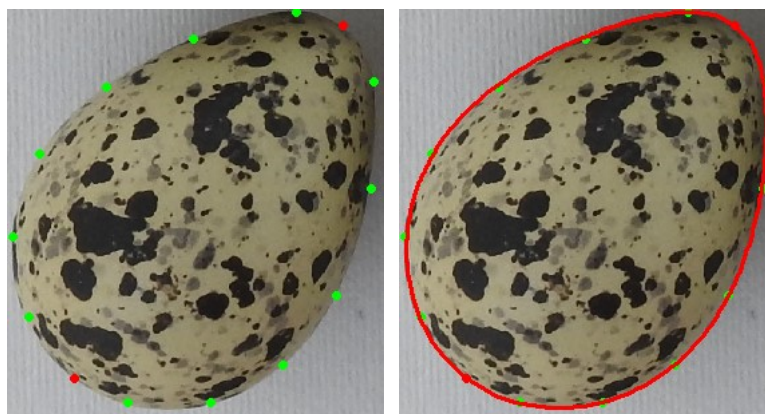
8.3. Zpracování získaných dat

Důležitou částí této práce je výpočet skvrnitosti každého vejce. Je známo, že povrch vajec je zaoblený, ale na fotografiích není možné zachovat trojrozměrný obraz. Skvrnitost vypočítaná pouze na základě fotodokumentace tak v mnoha postupech měření dává chybné výsledky. Plocha skvrn, které jsou na fotografii zachyceny na vrchní straně vejce, bude při výpočtu čistě z fotografie daleko větší, než plocha skvrn při stejném pohledu umístěné ze strany. Pokud by však došlo k jinému natočení vejce před fotografováním, poměry ploch by mohly být naprosto opačné. Tudíž dvě fotografie pořízené na stejném, byť jinak natočeném vejci dávají pokaždé jiné hodnoty. Na tuto problematiku upozorňuje i Thomas W. Pike (2019) ve své publikaci o kvantifikaci makulace ptačích skořápek. Výsledkem jeho práce na toto téma je balíček *eggs* ve statistickém softwaru R, který je volně stažitelný a byl využit i během zpracování dat pro tuto práci.

T. W. Pike během vytváření balíčku pracoval s faktem, že tvar vejce u ptačích druhů není jednoznačný. Stejně tak každá samička může mít trochu jinak zaoblená vejce a tak je toto další bod, se kterým je nutno během výpočtů pracovat. V balíčku *eggs* proto využívá Trosciankových geometrických výpočtů (Troscianko 2014), díky kterým je možno správně spočítat geometrii různorodých ptačích vajec. Po nahrání snímků vajec do R-Studia je pro správné stanovení výpočtu programu nutné označit oba vrcholy ptačího vejce, počínaje špičkou, čímž se stanoví linie Z . Předpokladem je, že vejce jsou podél této linie symetrická a je tak velice důležité její správné zaznačení. Dalším krokem je ruční vyznačení několika bodů po obvodu vejce. Podle předem zapracovaných geometrických výpočtů ohledně správného tvaru ptačích vajec a pomocných bodů vedených po okraji analyzovaného vejce program určil jeho tvar (obr. 1).

Pro stanovení zakřivení vejce a jeho vizualizace do prostoru je využívána geodetika. Jde o křivku, která spojuje nejkratším možným způsobem dva body v prostoru. Těmito body jsou v případě vajec linie vytvářející jeho obrys na fotografii. Spojením bodů dojde k vytvoření geodetického mnohoúhelníku po celém povrchu vejce. Jeho převedení do prostoru je realizováno za pomoci triangulace. Postupným vytvářením trojúhelníků, které jsou stále dál děleny na menší a menší trojúhelníky, se na povrchu vejce vytvoří jemná trojúhelníková síť a z fotografie se stane opticky plastický model. Trojúhelníková síť dále slouží ke stanovení souřadnic jednotlivých

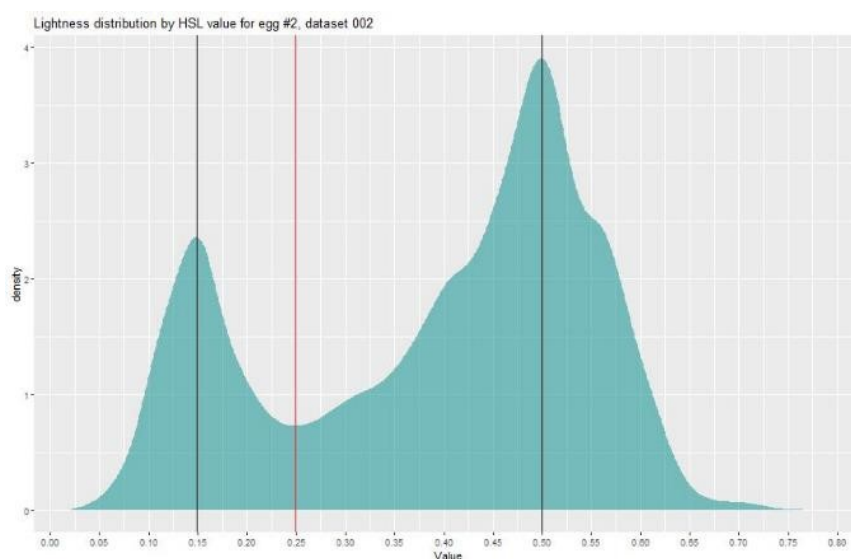
pixelů na povrchu vejce. Na základě této sítě je směrem od středu každému pixelu přiřítána vyšší váha. Tím se zamezí nadhodnocování skvrn, které se nacházejí přímo uprostřed fotografie, zatímco skvrny na boku jsou překlasifikovány do odpovídajících rozměrů v reálném prostoru.



Obrázek 1 - Ukázka stanovení obrysů vejce na fotografii. Červené body znázorňují označení vrcholů vejce, zelené body pomocné určení okrajů vejce. Na pravém snímku je vidět výsledné stanovení obrysu vejce.

S čím článek již dále nepracuje, je samotný výpočet procentuálního zastoupení skvrn na skořápce. Skript je tak třeba doplnit o navazující funkce. Prvně je nutné vyřešit problematiku odlišností v barevné škále skvrn, které se mohou lišit podle zastoupení množství pigmentu, nelze tedy určit pouze jednu hledanou barvu. Barvy jednotlivých pixelů je možné převést z modelu RGB spektra (*red-green-blue*, neboli červená-zelená-modrá), který se klasicky používá k míchání barev např. pro počítačové monitory, do formátu HSL (*hue-saturation-lightness*, neboli barevný tón-sytost-světlost), který funguje stejně jako RGB model, pouze je jinak vyjádřen. Dochází rovněž k míchání červené, zelené a modré, jen skrze jiné parametry. Ve své třetí zmíněné hodnotě model HSL přímo určuje světlost dané barvy na stupnici 0 – 255 (následně převedeno na procentuální rozmezí 0 – 1, respektive 0 – 100 %), kde nejnižší číselné hodnoty reprezentují nejtmaší barvu (Fairchild 2013). Díky tomuto převodu je možné spočítat rozložení jednotlivých světlostí v distribuční funkci a následně odhalit lokální maxima. Jelikož je předpokládána bimodální distribuce světlosti (dva zřetelně vystupující mody reprezentující podkladovou barvu vejce *versus* výrazné skvrny), vymezí se hranice pro nalezení prahu mezi prvním a posledním lokálním maximem v místě nejnižší hodnoty mezi těmito vrcholy, čímž se určí práh pro výpočet makulace.

Samotné procento skvrnitosti však není prezentováno hodnotou lokálního minima (červená linie na obr. 2), jelikož zde chybí započítání váhy každého pixelu podle jeho polohy na vejci. Tyto hodnoty však byly pixelům přiřazeny již dříve v rámci popsané triangulace. V tomto kroku tak dojde pouze k výpočtu celkové váhy pixelů, které se nachází v rozmezí od 0 do hodnoty bodu lokálního minima. Následně je jejich součet vydělen celkovou váhou všech pixelů ve vejci, čímž se získá výsledná hodnota procentuální skvrnitosti každé poloviny vejce. Skvrnitost celého vejce byla vypočítána aritmetickým průměrem z obou analyzovaných polovin.



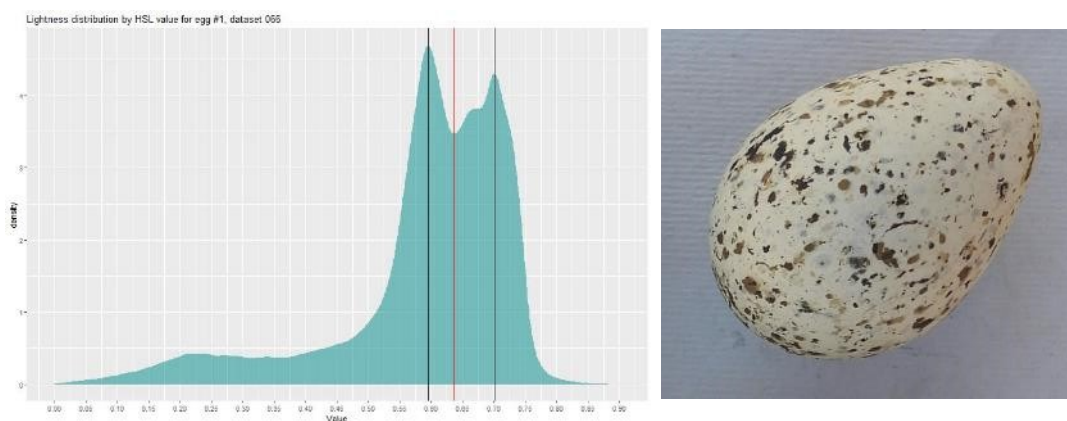
Obrázek 2 - Graf znázorňující rozložení barevných pixelů na fotografii vejce. Osa x znázorňuje škálu svělosti pixelů, kde na levé straně jsou nejtmaší a na pravé straně nejsvětější pixely. Osa y zaznamenává množství pixelů pro konkrétní hodnotu svělosti. Černé svislé linie ukazují lokální maxima a červená linie znázorňuje lokální minimum, neboli hranici mezi skvrnou a podkladovou barvou.

Po výpočetní proceduře pro každou polovinu vejce je nutná vizuální kontrola dat. Jak již bylo zmíněno, vejce nebyla focena v ideálních ani srovnatelných podmínkách, což v některých případech vedlo k selhání výpočtu skvrnitosti. Jedním z parametrů, které bylo nutné v takových případech zkontrolovat, bylo množství pixelů ve snímku. Jejich nízký počet vypovídá o nekvalitní fotografii z hlediska zaostření. V tu chvíli se slévají hranice skvrn a pozadí, a výsledky makulace tak nejsou objektivní. V případě, že nespočítaná fotografie měla méně než 50 000 pixelů, byla z analýzy vyřazena (pixelová škála viz příloha 1).

Dalším důležitým faktorem pro kontrolu i v případech, kdy výpočet proběhl bez problémů, byl počet vrcholů v distribuci svělosti. U ideální fotografie se zobrazí právě dva vrcholy. Ani větší počet nemusí představovat problém, nicméně je to signál pro kontrolu, jestli bylo lokální minimum určeno správně a případné ruční nastavení

hodnoty minima. Pokud došlo k nalezení pouze jednoho vrcholu, jedná se o neanalyzovatelnou fotografii, jelikož nelze určit rozdíl mezi pozadím a skvrnou. Tento problém je vyvolaný nízkým rozlišením fotografie či nedostatečnými světelnými podmínkami.

Stejně tak bylo třeba věnovat pozornost vejcím, u kterých bylo zaznamenáno extrémně vysoké nebo nízké procento skvrnitosti (na základě vyhodnocení prvních analyzovaných snůšek byla jako alarmující nastavena hodnota skvrnitosti pod 10 % a nad 80 % skvrnitosti). V případě, že bylo po vizuální kontrole odhaleno zapříčinění výskytu extrémních hodnot kvalitou fotografie či špatným stanovením hranic světlosti (obr.3), bylo nutné nechat analýzu proběhnout znovu s ručním nastavením lokálního minima podle grafického znázornění distribuce pixelů. Pokud ani tato úprava nevedla ke korektnímu výpočtu skvrnitosti, bylo nutné takovéto fotografie, a s nimi i danou polovinu vejce vyloučit z další analýzy.



Obrázek 3 - Ukázka špatně určeného lokálního minima. Zde došlo k chybnému určení rozdělojících vrcholů z důvodu malého množství tmavých pixelů, kvůli výskytu pouze drobných skvrn na skořápce.

8.4. Statistické analýzy

Všechna data, která prošla úvodním výběrem a byla u nich úspěšně spočítána skvrnitost, byla dále zpracovávána pomocí statistických balíčků a příkazů v software R-Studio ve verzi 4.0.3 (R Core Team 2020). Z důvodu většího množství vajec, u kterých byla správně spočtena pouze jedna jejich polovina, byl proveden test opakovatelnosti skvrnitosti mezi polovinami celých spočítaných vajec. K tomu posloužila funkce *rpt* z balíčku *rptR* (Stoffel et al. 2017), která byla dále použita i při výpočtu opakovatelnosti skvrnitosti vajec v rámci jednotlivých snůšek.

Pro výpočet smíšených modelů se závislými a náhodnými proměnnými byla použita funkce *lmer* z balíčku *lmerTest* (Bates et al. 2014). Jako vysvětlovaná proměnná v případě vnitrosnůškové a vnitrosezónní variability byla použita procentuální procentuální skvrnitost na povrchu vaječné skořápky, pro mezisezónní variabilitu pak průměrná skvrnitost každé samice za konkrétní rok. Při výpočtu modelu vlivu pořadí vejce ve snůšce v rámci vnitrosnůškové variability byla použita jako závislá proměnná příslušnost pořadí snesení vejce a identita snůšky jako náhodná proměnná. Pro výpočet vnitrosezónní variability bylo jako závislá proměnná použito pořadí dne nalezení snůšky v průběhu hnízdní sezóny, na základě kterého bylo určeno pořadí snůšek v roce konkrétní samice. Jako náhodné proměnné sloužily identita samice, identita snůšky a rok. V případě výpočtu mezisezónní variability byl vypočítán aritmetický průměr skvrnitosti vajec každé samice za daný rok. Hodnota roku byla převedena příkazem *as.numeric* na číselnou hodnotu, aby byl zachycen trend změny této proměnné. Právě rok byl pak v této analýze veden jako závislá proměnná a identita samice jako náhodná proměnná. Při výpočtu mezisezónní variability pro samice, u kterých byly zaznamenány snůšky během tří a více let, byly roky převedeny do formátu pořadí 1.-4. a toto pořadí se použilo jako závislá proměnná. Jako náhodná proměnná byla použita identita samice.

9. Výsledky

V průběhu čtyř let bylo zaznamenáno 98 samic s minimálně jednou snůškou za celé vymezené období. Během roku 2018 se povedlo spárovat se zdokumentovanou snůškou 33 samic, v roce 2019 šlo o 37 samic, v roce 2020 o 28 samic a poslední rok 2021 se povedlo zachytit 45 identifikovaných samic se snůškami (tab. 1). Dohromady bylo (po odebrání zavádějících dat, popsáno výše) do studie zařazeno 210 hnízd během čtyř let (podrobné rozepsání i s počtem hnízd za každý rok viz příloha 2). Snůšky sestávaly z jednoho až čtyř vajec. Skvrnitost celého vejce byla vypočítána u většiny vajec ze dvou analyzovaných polovin z barevných digitálních fotografií. U vajec, kde nebylo možné z různých důvodů použít fotografie obou polovin pro vytvoření celkového obrazu, se na základě výsledků testu opakovatelnosti skvrnitosti přistoupilo k začlenění samotné poloviny, jelikož výsledek dosahoval 67 %. Díky tomu bylo možné do studie zařadit 716 vajec (tab. 1).

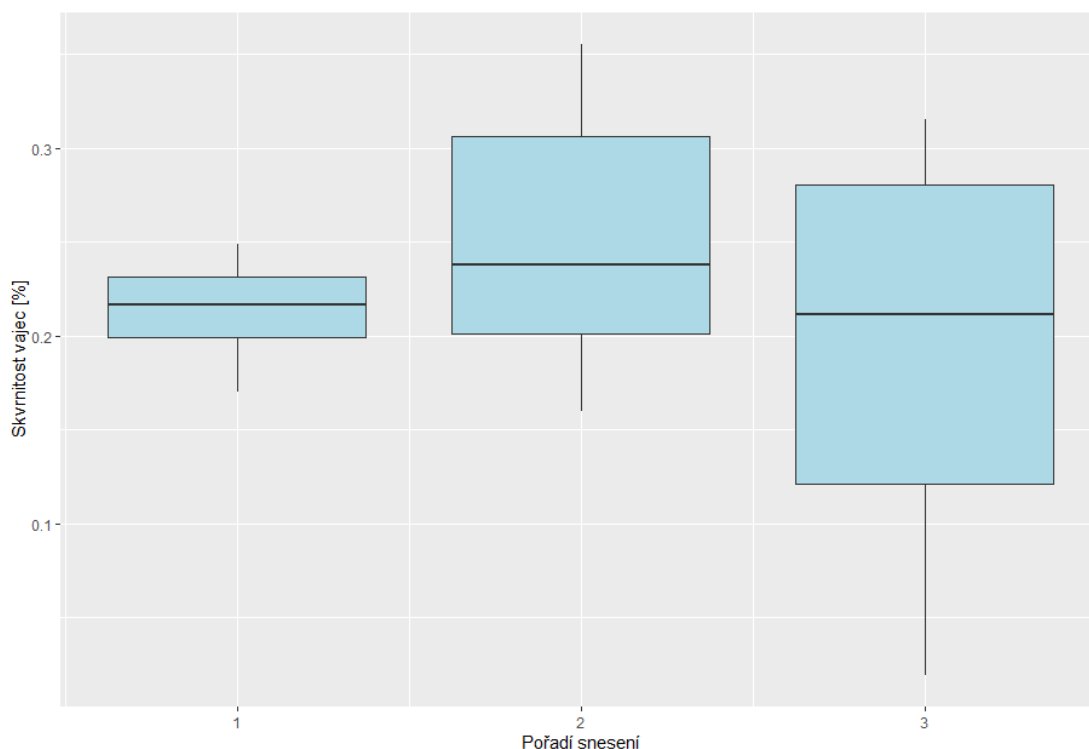
Roky	Samice	Snůšky	Vejce
2018	33	43	141
2019	37	54	184
2020	28	38	130
2021	45	75	261
Celkem	98	210	716

Tabulka 1 - Počty zaznamenaných dat během sezón. Poslední řádek shrnuje celkový počet během čtyř let u samic bez zaznamenání opakovaných nálezů.

9.1. Variabilita v rámci snůšky

V první řadě byla testována opakovatelnost skvrnitosti vajec v rámci jednotlivých snůšek, která dosáhla 52 %. Dále byl testován vliv pořadí vejce ve snůšce na jeho skvrnitost. Do tohoto testovacího modelu bylo zařazeno omezené množství vajec z důvodu malého vzorku dat. Z 210 snůšek byl záznam o jistém pořadí alespoň jednoho vejce ve snůšce pouze u 10 hnízd, avšak ani u jednoho hnízda nebylo zaznamenáno jisté pořadí všech snesených vajec. Nejčastěji se podařilo zjistit pořadí u prvního (7 snůšek) a posledního vejce (4 snůšky) a pouze ve dvou případech bylo možné určit zároveň první i poslední vejce. Vejce, u kterých nebylo možné určit jejich pořadí, byla zařazena do skupiny s ostatními neurčenými vejci. Kvůli tomu jsou ve výsledcích porovnávány pouze tři skupiny. První reprezentuje spolehlivě určená první snesená vejce a třetí skupina spolehlivě určená poslední vejce ve snůšce. Skupina „2“ zahrnuje druhá a třetí vejce. V případě snůšek pouze s jedním určeným vejcem jsou ostatní zařazena rovněž do druhé skupiny.

Dle grafického znázornění (obr. 4) není patrný žádný teoreticky předpokládaný lineární vývoj procentuální skvrnitosti se stoupajícím počtem vajec ve snůšce. Střední hodnota skvrnitosti u druhé skupiny vajec je o 2,29 % vyšší než první skupiny. Naopak střední hodnota třetí skupiny oproti oběma předchozím hodnotám klesá, konkrétně o 5,38 % oproti druhé skupině a o 3,09 % oproti první. Zároveň však dochází u posledních vajec k nárůstu variability ve skvrnitosti. Rozdíly ve skvrnitosti v závislosti na pořadí snesení nejsou vzhledem k nelineárnosti výsledků shledány statisticky signifikantní (tab. 2).



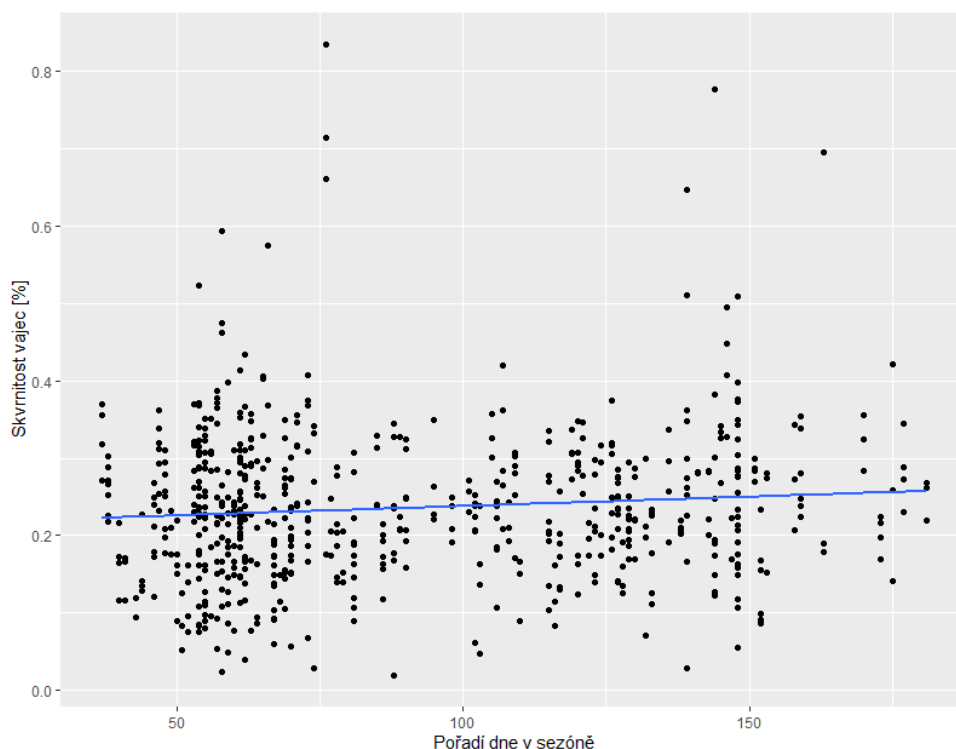
Obrázek 4 - Vývoj skvrnitosti v závislosti na pořadí sneseného vejce ve snůšce. Na ose x vyznačeno pořadí snesení dle skupin: (1) vejce prokazatelně snesená jako první, (2) vejce snesená jako prostřední, případně všechna ostatní vejce při určení pořadí pouze u jednoho vejce ve snůšce, (3) vejce prokazatelně snesená jako poslední. Skupina č. 2 zahrnuje všechna neurčená vejce ve snůškách, ve kterých bylo jistě označeno alespoň jedno vejce. Na ose y zaznačena procentuální skvrnitost. V grafu vyneseno medián, horní a dolní kvartil a intervalové pásmo.

Skupiny	Estimate	SE	df	t value	Pr(> t)	
Sk. 1 (Intercept)	0,22420	0,02450	31,45664	9,152	2,22·10 ⁻¹⁰	***
Sk. 2	0,02293	0,02406	27,55369	0,953	0,349	
Sk. 3	-0,05382	0,03720	30,35161	-1,447	0,158	

Tabulka 2 - Výsledky modelu vývoje skvrnitosti v závislosti na pořadí vejce ve snůšce. První sloupec označuje skupinu, kde intercept značí hodnotu, od které jsou ostatní hodnoty odvozeny. Estimate je odhad modelu, SE střední chyba průměru, df počet stupňů volnosti, t value rozdíl mezi odhadovanou hodnotou a střední hodnotou, Pr(>|t|) hladina významnosti. * značí signifikantní výsledek.

9.2. Variabilita vnitrosezónní

V této analýze byl sledován vývoj skvrnitosti vajec v rámci jednotlivých sezón. Samice v průběhu roku kladou většinou několik snůšek. Během čtyř let studie byl sledován ojedinělý výskyt pěti snůšek, dále pak v pár případech došlo k nálezům čtyř snůšek. Častěji však byla nacházena dvě či tři hnízda za sezónu na jednu samici. Hnízda byla označena dnem nálezů v probíhající sezóně, datující se od prvního nalezeného hnízda daný rok (hodnota *daynum*). Procento skvrnitosti vajec mírně narůstalo s postupujícím datem započítání snůšky v sezóně (obr. 5).

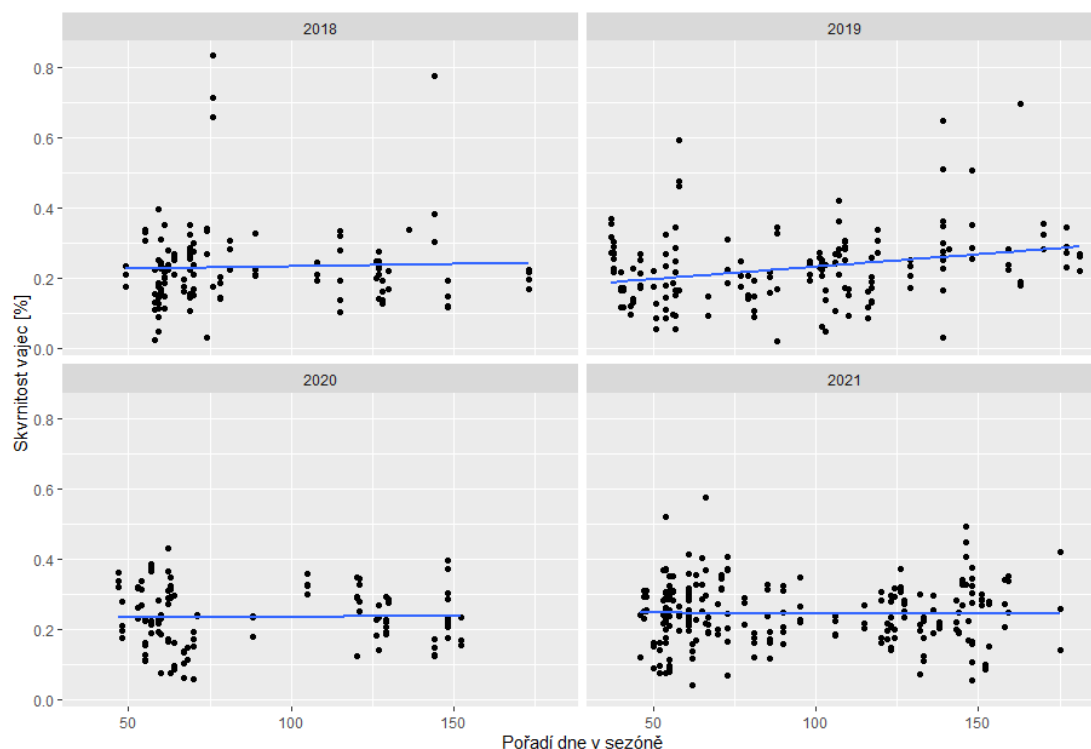


Obrázek 5 - Znárodnění rozložení zaznamenaných dat skvrnitosti na základě pořadí dne nalezení vejce v hníždě, počítáno od prvního nálezu v sezóně. Přímka znázorňuje nárůst procentuální skvrnitosti s navyšujícím se počtem dní v rámci sezóny.

Pokud se zaměříme na jednotlivé roky odděleně, data již tak jednoznačná nejsou. Během roku 2019 je stále patrný značný nárůst skvrnitosti s postupující sezónou, ale u let 2018 a 2020 je nárůst pouze mírný. U roku 2021 je dokonce viditelný velice mírný (neprůkazný) pokles (obr. 6). Za statisticky signifikantní výsledky lze podle výsledku p-hodnoty brát pouze rok 2019 a celkový soubor dat za všechny roky (tab. 3).

Rok	Intercept	Daynum	SE	p-value
2018	0,2184802	0,0001374	0,0003207	0,6692
2019	0,1604426	0,0007098	0,0001897	0,0003
2020	0,2317000	0,0000386	0,0002161	0,8585
2021	0,2482000	-0,0000285	0,0001447	0,8439
Všechny roky	0,2137488	0,0002407	0,0001008	0,0172

Tabulka 3 - Shrnutí výsledků vnitrosníškové variability. V prvním sloupci je označení roku, ve druhém intercept = výchozí hodnota skvrnitosti v první den sezóny, Daynum posun hodnoty skvrnitosti s každým dnem v rámci sezóny, SE odchylka od skutečné střední hodnoty, p-value hladina významnosti (tučně zvýrazněné signifikantní hodnoty).

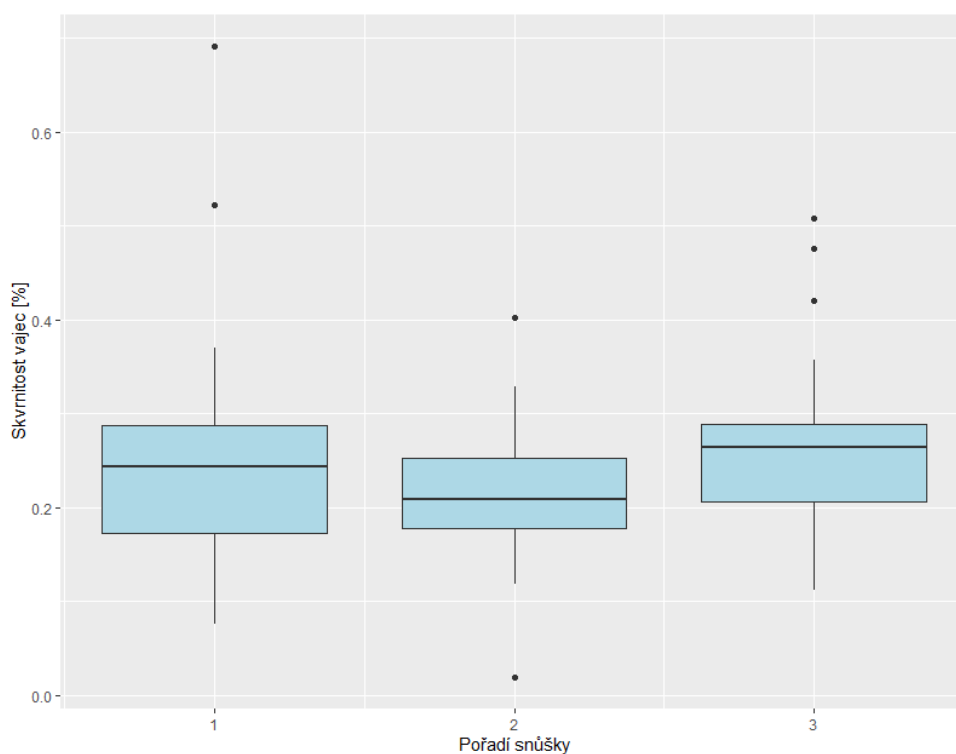


Obrázek 6 - Znárodnění vývoje procentuální skvrnitosti vajec v závislosti na narůstání počtu dní v konkrétní sezóně.

Vnitrosezónní vývoj skvrnitosti byl odděleně počítán i na samicích, u kterých byly v rámci jedné sezóny zaznamenány minimálně tři snůšky. V průběhu čtyř let bylo takto zaznamenáno 19 samic, ale pouze 12 z nich mohlo být využito do analýzy kvůli vyřazení neanalyzovatelných vajec (konkrétní roky a samice viz příloha 2, zvýrazněny žlutou a oranžovou barvou). Není patrný lineární vývoj skvrnitosti s přibývajícím počtem snůšek u jednotlivých samic (tab. 4, obr. 7), zato lze pozorovat nižší skvrnitost u prostředních snůšek. Pokud bychom se podívali pouze na rozdíly prvních a posledních snůšek, je zde viditelný nárůst.

Pořadí snůšky	Estimate	SE	df	t value	Pr(> t)	
1. (Intercept)	0,24676	0,02313	24,50705	10,667	$1,08 \cdot 10^{-10}$	***
2.	-0,02236	0,02538	20,75853	-0,881	0,388	
3.	0,01460	0,02557	21,35128	0,571	0,574	

Tabulka 4 - Výsledky modelu vývoje skvrnitosti v závislosti na pořadí snůšky v sezóně. První sloupec označuje pořadí, kdy intercept značí hodnotu, od které jsou ostatní hodnoty odvozeny. Druhý sloupec je odhad samotného modelu, třetí směrodatná chyba, čtvrtý stupně volnosti. Poslední tři sloupce slouží ke stanovení statistické významnosti, kde * značí signifikantní výsledek.



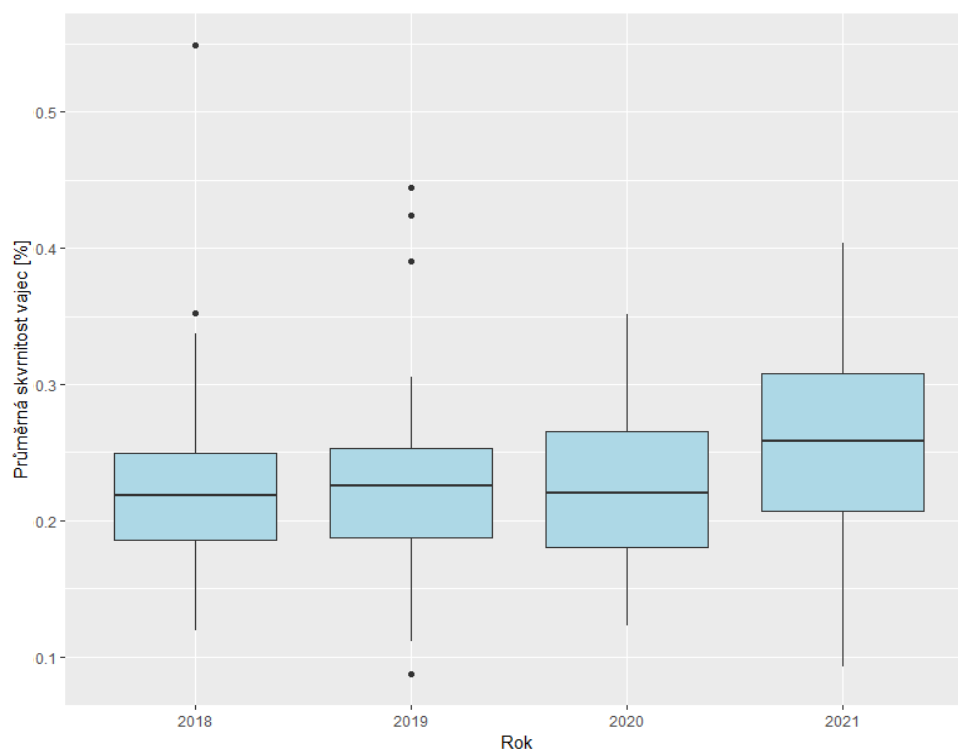
Obrázek 7 - Vývoj skvrnitosti v závislosti na pořadí snůšky v daném roce konkrétní samice. Na ose x jsou vyznačena pořadí snůšky, na ose y pak procentuální skvrnitost vajec. V grafu vyneseny medián, horní a dolní kvartil, intervalové pásmo a odlehlé (extrémní) hodnoty.

9.3 Variabilita mezisezónní

Jako poslední byla testována mezisezónní variabilita, kdy byly sledovány změny ve skvrnitosti mezi jednotlivými roky u značených samic. Pro tuto analýzu byl nejprve vytvořen průměr skvrnitosti pro každou samici ze všech jejích hnízd za každý rok, a tyto průměry pak byly porovnávány mezi sebou. Je patrné, že mezi prvními třemi roky docházelo pouze k mírným meziročním změnám a hodnoty kolísají v největším rozsahu pouze o 0,79 % skvrnitosti (obr. 8). V posledním roce došlo ke skokovému nárůstu ve skvrnitosti, konkrétně o 1,91 % oproti průměru předchozích tří let (tab. 5).

Roky	Estimate	SE	df	t value	Pr(> t)	
2018 (Intercept)	0,22730	0,01206	136,8	18,850	$<2 \cdot 10^{-16}$	***
2019	0,00066	0,01447	93,71	-0,046	0,964	
2020	-0,00725	0,01672	106,2	-0,434	0,665	
2021	0,01694	0,01494	118,2	1,134	0,259	

Tabulka 5 - Výsledky meziročního vývoje skvrnitosti vajec. První sloupec definuje rok, kdy první uvedený je veden jako intercept, neboli hodnota, od které jsou měřeny ostatní hodnoty. Druhý sloupec je odhad samotného modelu, třetí směrodatná chyba, čtvrtý stupně volnosti. Poslední tři sloupce slouží ke stanovení statistické významnosti, kde * značí signifikantní výsledek.

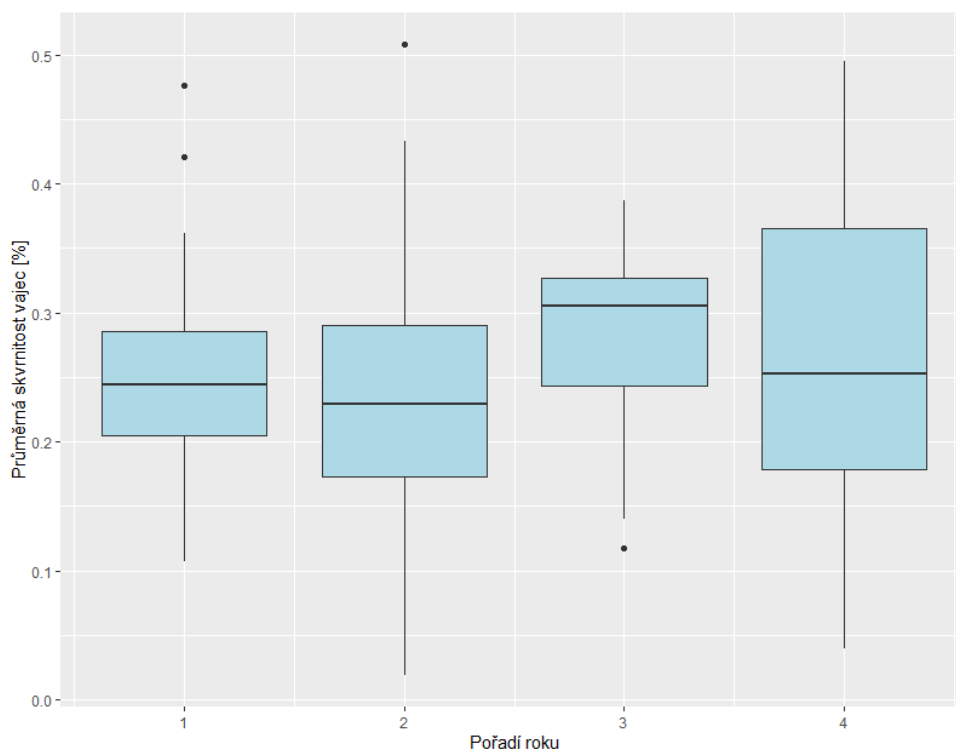


Obrázek 8 - Znáznornění vývoje průměrné skvrnitosti během čtyř let pozorování. Na ose x veden rok, na ose y průměrná skvrnitost vajec z celého roku. V grafu vyneseni medián, horní a dolní kvartil, intervalové pásmo a odlehlé (extrémní) hodnoty.

Vývoj skvrnitosti byl odděleně testován na samicích, u kterých byla evidována minimálně jedna snůška alespoň ve třech letech ze čtyřletého výzkumu (konkrétní samice a roky viz příloha 2, znázorněny červenou a oranžovou barvou). Do tohoto výpočtu bylo v závislosti na analyzovatelných datech zaznamenáno deset samic, u kterých byl jako první rok brán ten, během něhož byla nalezena jejich první snůška bez ohledu na to, zda byla nakonec zahrnuta do analyzovaného vzorku. Na rozdíl od analýzy celkových dat zde není vidět taková meziroční stabilita (obr. 9). U posledního čtvrtého roku je pak patrný velký rozptyl dat značící větší variabilitu v záznamech. Ani v tomto případě však rozdíly mezi roky nejsou statisticky významné, nejvíce se tomu blíží rozdíl mezi prvním a druhým rokem (tab. 6).

Roky	Estimate	SE	df	t value	Pr(> t)	
1. (Intercept)	0,261087	0,021794	12,986534	11,980	$2,16 \cdot 10^{-8}$	***
2.	-0,024051	0,014759	19,112073	-1,630	0,120	
3.	0,010524	0,015275	19,172310	0,689	0,499	
4.	0,004212	0,020877	19,715078	-0,202	0,842	

Tabulka 6 - Výsledky modelu vývoje průměrné skvrnitosti v závislosti na pořadí roku v průběhu studie. První sloupec označuje pořadí roku, kdy intercept značí hodnotu, od které jsou ostatní hodnoty odvozeny. Druhý sloupec je odhad samotného modelu, třetí směrodatná chyba, čtvrtý stupně volnosti. Poslední tři sloupce slouží ke stanovení statistické významnosti, kde * značí významný výsledek.



Obrázek 9 - Znáornění vývoje průměrné roční skvrnitosti u samic, u kterých bylo zaznamenáno alespoň jedno zahníždění během minimálně tří let ze čtyřletého výzkumu. Na ose x pořadí roku, na ose y průměrná roční skvrnitost vajec. V grafu vynesena medián, horní a dolní kvartil, intervalové pásmo a odlehlé (extrémní) hodnoty.

10. Diskuse

Data týkající se vnitrosněškové variability prokázala existenci poměrně vysoké míry variability mezi vejci v jedné snůšce, když odhalila 52% opakovatelnost skvrnitosti v rámci snůšky. Fakt, že skvrnitost vajec není v rámci snůšky uniformní, dává prostor pro možné uplatnění vlivu některé z výše zmiňovaných hypotéz a nelze ani vyloučit existenci dalších nezmíněných skutečností.

Pro vysvětlení vnitrosněškové variability byl záměr otestovat vliv pořadí sneseného vejce na koncentraci pigmentu ve skořápce, což bylo zaznamenáno např. u lejska černohlavého nebo racka delawarského a je spojováno se sexuálně signalizační hypotézou (Moreno 2005; Hanley & Doucet 2009). Vzhledem k malému množství údajů nebylo možné určit přesné pořadí všech vajec ve snůšce a ve většině případů došlo pouze k odlišení prvního či posledního vejce od zbytku snůšky. Výsledky ukazují nižší míru skvrnitosti u prvních vajec oproti zbytku snůšky. Nárůst množství pigmentu ve skořápkách pozdějších vajec naznačuje zvýšené ukládání protoporfyrinu do skořápky. Tento trend poukazuje na zvýšenou míru oxidativního stresu, který vede ke tvorbě protoporfyrinu v těle samice a vypovídá o náročnosti

procesu tvorby vajec (Martínez-de la Puente 2007, Hartigai et al. 2016). Samice se ukládáním této látky do vajec ve formě pigmentu snaží snížit její koncentraci ve svém organismu. Dle sexuálně signalizační hypotézy by měl nárůst pigmentace vajec ovlivňovat samce při výběru partnerky, jelikož forma vypořádání se s oxidativním stresem je jedním z aspektů, který vypovídá o její kvalitě (Moreno & Osorno 2003). Vzhledem k tomu, že čejčí páry si bývají věrné (Vyas 1997), zdá se, že zvýšená pigmentace vajec v jejich populaci neplní roli sexuální signalizace. To potvrzují i terénní data tohoto výzkumu, ve kterých jsou záznamy o změně partnera během let i sezóny zcela raritní.

Skupina jistě určených třetích vajec vykazuje oproti ostatním skupinám nižší procentuální skvrnitost a naopak zvýšenou variabilitu v datech. Jedná se o velice malý vzorek dat a tak lze výsledky brát spíše jako námět pro další výzkum. Při zpracovávání snímků snůšek z terénního průzkumu bylo zaznamenáno kolem deseti samic, v jejichž snůškách bylo v jednom i více případech nalezeno jedno výrazně světlejší vejce (fotodokumentace viz příloha 3). Mezi ptačími druhy se nejedná o ojedinělý případ. Většinou je méně zbarvené vejce kladeno jako poslední a je spojováno s obranou proti hnízdním parazitům (Yom-Tov 1980). Výskyt hnízdního parazitismu však dosud nebyl u čejek potvrzen (Grønstøl et al. 2006). Stejně tak neexistují údaje o tom, zda pozorovaná světlejší vejce samic v této práci jsou skutečně snesena jako poslední. Pro zjištění podstaty výskytu světlých vajec ve snůškách by bylo vhodné v příštích letech pokračovat v zaznamenávání pořadí snesení vajec, případně i sledování fyzického stavu konkrétních samic v průběhu snůšky.

Předpokládaným výsledkem vnitrosezónního vývoje variability bylo zaznamenání lineárního nárůstu skvrnitosti s rostoucím datem v hnízdni sezóně. Tento jev byl pozorován téměř ve všech letech, což je v souladu s výsledky získanými u jiných ptačích druhů se skvrnitými skořápkami (např. De Coster et al. 2013). Vysvětlením je, že kladení několika snůšek během jedné sezóny je pro samice fyzicky vyčerpávající. Stejně jako v případě vnitrosnůškové variability dochází ke vzniku oxidativního stresu a hromadění protoporfyrinu v tělech samic (Kilner 2006, Martínez-de la Puente 2007). Při pohledu na jednotlivé roky odděleně však nebyl zaznamenán signifikantní nárůst skvrnitosti u všech. Tyto výsledky mohou být u let 2018 a 2020 odůvodněny nedostatečným rozptylem dat. Rok 2018 byl ovlivněn výskytem většího množství neanalyzovatelných fotografií, což může být způsobeno

odlišným postupem sbírání dat na začátku studie. Do terénních prací v roce 2020 naopak zasáhla pandemie nemoci Covid-19, která znemožnila pohyb terénních pracovníků mezi státy a snížila tak množství návštěv na mapované lokalitě. Stejně tak mohl koronavirus nepřímo způsobit stabilitu skvrnitosti v sezóně 2021. Opětovné navýšení stavu turistů v Dubaji a přilehlém okolí (Newsroom TTG 2022), do kterého spadá i přírodní rezervace s výskytem čejek, mohlo způsobit zvýšenou míru stresu, která trvala v průběhu celé hnízdní sezóny. Propad k jejímu konci by indikoval snížení stavu návštěvníků vzhledem k nastoupení extrémních letních teplot. Tato interpretace by mohla být podpořena po přidání údajů o vývoji skvrnitosti spolu s návštěvností v další hnízdní sezóně. Vzhledem k tomu, že se podle výše uvedeného článku očekává zvyšující se nápor návštěvníků, mohla by i další sezóna vykazovat podobný trend s klesající skvrnitostí ke konci hnízdní sezóny. Stejně tak by si ptáci v populaci na zvýšený turismus mohli opět zvyknout a hodnoty by tak mohly opět vykazovat narůstající tendenci skvrnitosti s postupující sezónou. Která z těchto predikcí je blíže skutečnosti, bude nutné posoudit v následujících letech i v závislosti na průměrné roční skvrnitosti s ohledem na předchozí roky.

Stejně jako u modelu pro celou populaci byl při porovnání skvrnitosti v závislosti na pořadí snůšek samic se třemi a více snůškami za sezónu předpokládán postupný nárůst skvrnitosti. V tomto případě však došlo k poklesu hodnot u druhých snůšek, kdežto třetí snůšky již potvrdily očekávaný nárůst oproti oběma předchozím snůškám. Nepotvrzení předpokladu lineárního nárůstu mohlo nastat z důvodu malého množství dat, jelikož do studie bylo zařazeno pouze 12 samic. Zároveň některé samice snášely za jeden rok více než tři snůšky, avšak ne všechny snůšky byly analyzovatelné. Mohlo tak dojít k porovnávání první snůšky jedné samice se třetí snůškou jiné, ačkoliv obě byly vedeny jako první snůška konkrétní samice. Tato skutečnost tak mohla ovlivnit výsledné hodnoty. Pro objasnění těchto výsledků by bylo vhodné rozšířit dataset o záznamy z následujících let a věnovat se detailněji pořadí snůšek konkrétních samic.

V meziročním porovnání skvrnitosti vajec jednotlivých samic byla zjištěna relativní stabilita během prvních tří let s výrazným nárůstem ve čtvrtém roce. Stabilita v tomto případě naznačuje (s ohledem na sezónní vývoj), že výsledná vyšší skvrnitost na konci sezóny je vyrovnávána nižší skvrnitostí na začátku sezóny následující. To jen potvrzuje teorii energetické náročnosti průběhu hnízdní sezóny pro samice, kdy po

několikaměsíčním odpočinku vstupují do nové hnízdní sezóny v lepší fyzické kondici (Kilner 2006). V posledním čtvrtém roce však došlo k výraznému nárůstu skvrnitosti oproti všem předchozím rokům, u kterého není jasné logické vysvětlení. Mohlo by jít o reakci na vlivy z vnějšího prostředí. V roce 2021 byla zaznamenána vyšší průměrná teplota než v předchozích letech studie (Statista 2023). Nárůst však není nikterak markantní a zvýšená teplota by naopak měla vést k výskytu světlejších vajec, aby bylo zabráněno jejich přehřátí (Wisocki et al. 2020). Dle jiné teorie ale zvýšená teplota během kladení vede samice ke tvorbě tlustší skořápky, aby nedocházelo ke zvýšenému odparu tekutin z vejce (Davis & Ackerman 1985). Pro vytvoření tlustší skořápky bylo již dříve zaznamenáno použití protoporfyrinu, kvůli jeho chemickým vlastnostem vhodným pro vytváření pevnějších struktur (Jagannath et al. 2008). Pro ověření této teplotní hypotézy by bylo nutné v příštích letech do studie zahrnout i sběr skořápek vylihnutých vajec a zkoumat trend v jejich tloušťce v návaznosti na teplotě okolního prostředí.

Další příčinou nárůstu skvrnitosti v posledním roce mohlo být navýšení stresové zátěže pro celou populaci, kterou mohl takto z roku na rok způsobit větší nápor turistů na hnízdní a zároveň rekreační lokality. Ten vznikl jako důsledek zmírnění proticovidových opatření po utlumení pandemie koronaviru. V roce 2021 se čísla návštěvnosti dostala na úroveň před pandemií (Newsroom TTG 2022). Ačkoliv nejde o nadprůměrný nárůst turismu oproti předcovidovým rokům a je tedy nasnadě říci, že čejky by měly být na takovou návštěvnost zvyklé, je nutné poznamenat, že k nárůstu pravděpodobně došlo velice náhle a ptáci si museli na daný stav opět přivyknout. Turismus mohl rovněž způsobit vyrovnanost v datech celé poslední sezóny, jelikož samice byly pod zvýšenou stresovou zátěží již od jejího začátku. Statistické údaje jsou však platné pro oblast celé Dubaje a nejde tedy o přímý důkaz nárůstu návštěvnosti v samotné přírodní rezervaci. Trend ve skvrnitosti následující rok a sledování dalších výše zmíněných faktorů by mohl dohromady odhalit podstatu skokového nárůstu skvrnitosti v posledním roce studie.

Pokud se podíváme na výsledky porovnání deseti samic, které měly zaznamenanou alespoň jednu snůšku během tří až čtyř let, nejedná se již o tak vyrovnané výsledky jako v celkových datech. Nejvýraznější je pokles skvrnitosti v druhém roce, ostatní roky jsou již více konzistentní. To naznačuje, že věk samic nemá na skvrnitost jejich vajec minimálně v tomto čtyřletém rozmezí větší vliv. V posledním roce studie však dochází k nárůstu variability dat, což může naznačovat,

že poslední rok už může pro některé z nich být vzhledem k věku a fyzickému stavu kritičtějším (López de Hierro & De Neve 2010). Znovu je však nutné zopakovat, že samice, které byly zaznamenány během všech čtyř let jsou pouze tři a jedná se tak o malé množství dat pro analýzu. Zde sledovaný nárůst variability by mohl objasnit výzkum v dalších letech na konkrétních již dříve zaznamenaných starších samicích.

Vliv na výsledky analýz může mít i kvalita fotografií, která zde již byla několikrát zmíněna. Problém byl zvláště u fotografií pořizovaných na začátku studie, kdy ještě nebylo známo, na jaké výzkumy budou využity. Fotografování vajec venku v přirozeném prostředí přináší úskalí v podobě hry světla a stínu. V případě, že slunce během fotografování svítilo pod ostrým úhlem, na vejci se vytvořil postupný přechod, kdy jedna polovina byla výrazně více osvětlená, než ta druhá. Pokud je pak pro vypočítání procentuální skvrnitosti používán výše popsáný zautomatizovaný postup, zastíněná strana vejce zvyšuje zastoupení tmavých pigmentů a posouvá tak světlostní gradient. V extrémních případech může méně osvětlená část vytvořit iluzi dalších skvrn. Stejně tak problematické je fotografování ve stínu okolní vegetace. Na povrchu vejce se totiž může vytvořit světlostní mapa odrážející pokrývnost vegetace, tedy stíny větví a listů (fotodokumentace viz příloha 4).

Pokud bychom se chtěli výše zmíněnému problému vyhnout, nabízí se několik řešení. Prvním je stanovení rovných podmínek pro každé fotografování vejce, nejlépe stejným fotoaparátem a s umělým osvětlením. Je jasné, že tento postup bude hlavně v terénu náročné uskutečnit, ale ke zlepšení výsledných snímků by teoreticky mohla snadno posloužit obyčejná kartonová krabice jako přenosný ateliér. Dalším řešením by bylo využití jiného programu pro výpočet skvrnitosti. V obdobných pracích bylo využíváno množství různých postupů (souhrnně Pérez-Rodríguez et al. 2017). Častým negativním aspektem těchto metod je zanedbání zakřivení ptačího vejce a nezapočítání váhy jednotlivých skvrn dle geometrie povrchu. Pokud je však brána vizuální podoba a natočení vejce tak, jak jej vidí predátor v přirozeném prostředí, tento postup nemusí být nutně chybný (Pike 2019).

11. Závěr

Během čtyřletého výzkumu byla pozorována variabilita skvrnitosti vaječné skořápky v rámci populace subtropického druhu čejky černoprsé ve Spojených arabských emirátech. Při terénních pracích se podařilo získat analyzovatelná data od 98 samic, které dohromady založily 210 snůšek. Hnízda celkem čítala 714 vajec, vždy v počtech 1 až 4 vejce v každé snůšce. Zkoumána byla variabilita skvrnitosti na úrovni vnitrosnůškové, vnitrosezónní a mezisezónní.

Studie vnitrosnůškové variability odhalila 52% opakovatelnost míry skvrnitosti mezi vejci v rámci snůšky, což potvrzuje předpokládaný výskyt variability. Pro vysvětlení tohoto jevu byl sledován trend vývoje skvrnitosti v závislosti na pořadí snesených vajec. Nižší procento skvrnitosti u prvních vajec v porovnání se zbytkem snůšky svědčí o nárůstu oxidativního stresu v průběhu procesu kladení vajec, proti kterému se samice brání ukládáním protoporfyrinu do vaječných skořápek, aby tak odstranily tento škodlivý prooxidant ze svého organismu. Vyšší variabilita v datech posledních snesených vajec a odhalený výskyt jednoho výrazně světlejšího vejce ve snůškách několika samic naznačuje teoretický výskyt hnízdního parazitismu v čejčích populacích, pro který zatím ovšem neexistuje dostatek údajů.

Signifikantní nárůst vnitrosezónní skvrnitosti s postupující sezónou byl potvrzen na datech za celé čtyři roky. Vysvětlením těchto výsledků je pravděpodobně rovněž narůstající míra oxidativního stresu u samic se zvyšujícím se počtem snůšek během sezóny. Neprůkazný nárůst v letech 2018 a 2020 může být výsledkem menšího vzorku analyzovatelných dat z daných let. Mírný pokles v roce 2021 může být naopak zapříčiněn koronavirovou pandemií provázenou menší návštěvností hnízdišť rekreaty a tedy nižší mírou disturbance hnízdicí populace. Neprokázaný lineární vývoj skvrnitosti u samic se zaznamenanými třemi snůškami v jedné sezóně může být odrazem malého datasetu či zanesenou chybou vlivem absence dat z některých snůšek.

V rámci mezisezónního pozorování vývoje skvrnitosti byly zaznamenány pouze minimální výkyvy mezi prvními třemi roky studie. Tento trend podporuje hypotézu, že průměrná skvrnitost v jednotlivých letech je stabilní a není ovlivněna vnějšími vlivy. Zároveň je patrné, že vnitrosezónní nárůst skvrnitosti je na začátku nové sezóny vrácen na výchozí hodnotu. To značí, že samice jsou schopné po náročné sezóně zregenerovat do začátku nové sezóny. Jedinou výjimkou je čtvrtý rok studie, během kterého došlo k výraznému nárůstu průměrné skvrnitosti. Tento fakt je vysvětlován

opětovným nárůstem turismu ve zdejší lokalitě po ukončení opatření spojených se pandemií Covid-19. Zároveň nelze vyloučit ani faktor nárůstu průměrné roční teploty v posledním roce. Navýšení skvrnitosti vajec však není patrné na analýze deseti samic, u kterých byla zaznamenána alespoň jedna snůška během minimálně tří let. V datech je pouze patrná vyšší míra variability oproti předchozím rokům, což může naznačovat vliv postupujícího věku na fyzickou zdatnost některých samic.

Přínosem této práce je komplexní analýza vývoje skvrnitosti vajec jednotlivých samic v rámci populace čejky černoprsé, a to včetně námětů konkrétních hypotéz pro ověření v dalších letech studie. Zároveň byla vytvořena databáze obsahující údaje za čtyři roky studie v návaznosti na makulaci jejich vajec. Údaje v ní obsažené je možno doplňovat na základě pokračování výzkumu a mohou nadále vydávat zajímavé informace o problematice nejen barevnosti vajec tohoto druhu. Kromě této analýzy a vytvoření datasetu je cenným přínosem sestavení jednotného postupu a skriptu v softwaru R-Studio pro analyzování skvrnitosti skořápek. Ten je možné aplikovat v řadě dalších studií, ať již těch pokračujících na čejce černoprsé nebo i na jiných druzích se skvrnitými vejci.

12. Použitá literatura

- AFONSO, S., VANORE, G., & BATLLE, A. (1999). Protoporphyrin IX and oxidative stress. *Free Radical Research*, 31(3), 161-170.
- ALI, S., & RIPLEY, S. D. (1968). Handbook of the birds of India and Pakistan: together with those of Nepal, Sikkim, Bhutan and Ceylon (Vol. 1). *Oxford University Press*, USA.
- AMUNDSEN, T. (2000). Why are female birds ornamented?. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(4), 149-155.
- ANIL, K., & SHARMA, R. K. (2011). Observations on breeding behaviour and vocalizations in Red-wattled Lapwing, *Vanellus indicus* (Aves: Charadriidae) from Northern India. *Journal of Experimental Zoology, India*, 14(1), 333-338.
- BAIRD, T., SOLOMON, S. E., & TEDSTONE, D. R. (1975). Localisation and characterisation of egg shell porphyrins in several avian species. *British Poultry Science*, 16(2), 201-208.
- BATES, D., MÄCHLER, M., BOLKER, B., & WALKER, S. (2014). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *arXiv preprint arXiv:1406.5823*.
- BENNETT, A. T. D., CUTHILL, I.C. & NORRIS, K. J. (1994). Sexual selection and the mismeasure of colour. *American Naturalist* 144, 848–860.
- BERG, E. C., MCCORMACK, J. E., & SMITH, T. B. (2009). Test of an adaptive hypothesis for egg speckling along an elevational gradient in a population of Mexican jays *Aphelocoma ultramarina*. *Journal of Avian Biology*, 40(4), 448-452.
- BERTRAM, B.C.R. & BURGER, A. E. (1981). Are ostrich *Struthio camelus* eggs the wrong colour? *Ibis* 123, 207–210.
- BLANCO, G., & BERTELLOTTI, M. (2002). Differential predation by mammals and birds: implications for egg-colour polymorphism in a nomadic breeding seabird. *Biological Journal of the Linnean Society*, 75(2), 137-146.
- BULLA, M., ŠÁLEK, M., & GOSLER, A. G. (2012). Eggshell spotting does not predict male incubation but marks thinner areas of a shorebird's shells. *The Auk*, 129(1), 26-35.
- BURLEY, R. W. (1989). *The avian egg: chemistry and biology*.
- CASSEY, P., EWEN, J. G., BLACKBURN, T. M., HAUBER, M. E., VOROBYEV, M., & MARSHALL, N. J. (2008). Eggshell colour does not predict measures of maternal investment in eggs of *Turdus* thrushes. *Naturwissenschaften*, 95(8), 713-721.
- CASSEY, P., PORTUGAL, S. J., MAURER, G., EWEN, J. G., BOULTON, R. L., HAUBER, M. E., & BLACKBURN, T. M. (2010). Variability in avian eggshell colour: a comparative study of museum eggshells. *PLoS one*, 5(8), e12054.
- CASSEY, P., THOMAS, G. H., PORTUGAL, S. J., MAURER, G., HAUBER, M. E., GRIM, T., LOVELL, P. G. & MIKŠÍK, I. (2012). Why are birds' eggs colourful? Eggshell pigments covary with life-history and nesting ecology among British breeding non-passerine birds. *Biological Journal of the Linnean Society*, 106(3), 657-672.
- CHERRY, M. I., & GOSLER, A. G. (2010). Avian eggshell coloration: new perspectives on adaptive explanations. *Biological Journal of the Linnean Society*, 100(4), 753-762.
- DACKE, C. G., ARKLE, S., COOK, D. J., WORMSTONE, I. M., JONES, S., ZAIDI, M., & BASCAL, Z. A. (1993). Medullary bone and avian calcium regulation. *Journal of Experimental Biology*, 184(1), 63-88.

- DAVIES, N. (2010). Cuckoos, cowbirds and other cheats. *A&C Black*.
- DAVIS, T. A. & ACKERMAN, R. A. (1985). Adaptations of black tern (*Chlidonias niger*) eggs for waterloss in a moist nest. *Auk* 102: 640–643.
- DE COSTER, G., DE NEVE, L., & LENS, L. (2013). Intra-clutch variation in avian eggshell pigmentation covaries with female quality. *Journal of Ornithology*, 154(4), 1057-1065.
- DE LA COLINA, M. A., POMPILIO, L., HAUBER, M. E., REBORDA, J. C., & MAHLER, B. (2012). Different recognition cues reveal the decision rules used for egg rejection by hosts of a variably mimetic avian brood parasite. *Animal cognition*, 15(5), 881-889.
- DUVAL, C., CASSEY, P., MIKŠÍK, I., REYNOLDS, S. J., & SPENCER, K. A. (2013). Condition-dependent strategies of eggshell pigmentation: an experimental study of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Experimental Biology*, 216(4), 700-708.
- ELHASSAN, E., SLÁDEČEK, M., BADAAM, S., BRYNYCHOVÁ, K., CHAJMA, P., FIRLOVÁ, V., JANATOVÁ, V., PEŠKOVÁ, L., VOZABULOVÁ, E., ALMUHERY, A. & ŠÁLEK, M. (2021). An artificial lakes system intended for human recreation supports a vital breeding population of Red-wattled Lapwing in the Arabian Desert. *Avian Conservation and Ecology*, 16(2).
- ENDLER, J. A. (1990). On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. *Biological Journal of the Linnean Society*, 41(4), 315-352.
- FAIRCHILD, M. D. (2013). Color appearance models. *John Wiley & Sons*.
- GAISLER, J., & ZIMA, J. (2007). Zoologie obratlovců. Academia.
- GARCÍA-NAVAS, V., & SANZ, J. J. (2010). Flexibility in the foraging behavior of blue tits in response to short-term manipulations of brood size. *Ethology*, 116(8), 744-754.
- GOSLER, A. G., HIGHAM, J. P., & JAMES REYNOLDS, S. (2005). Why are birds' eggs speckled?. *Ecology Letters*, 8(10), 1105-1113.
- GOSLER, A. G., & WILKIN, T. A. (2017). Eggshell speckling in a passerine bird reveals chronic long-term decline in soil calcium. *Bird Study*, 64(2), 195-204.
- GRAVELAND, J., & VAN GIJZEN, T. (1994). Arthropods and seeds are not sufficient as calcium sources for shell formation and skeletal growth in passerines. *Ardea*, 55(1–2), 299-314.
- GRØNSTØL, G., BLOMQVIST, D., & WAGNER, R. H. (2006). The importance of genetic evidence for identifying intra-specific brood parasitism. *Journal of Avian Biology*, 37(2), 197-199.
- HANLEY, D., & DOUCET, S. M. (2009). Egg coloration in ring-billed gulls (*Larus delawarensis*): a test of the sexual signaling hypothesis. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 63(5), 719-729.
- HANLEY, D., DOUCET, S. M., & DEARBORN, D. C. (2010). A blackmail hypothesis for the evolution of conspicuous egg coloration in birds. *The Auk*, 127(2), 453-459.
- HARGITAI, R., BOROSS, N., NYIRI, Z., & EKE, Z. (2016). Biliverdin-and protoporphyrin-based eggshell pigmentation in relation to antioxidant supplementation, female characteristics and egg traits in the canary (*Serinus canaria*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 70, 2093-2110.
- HRNČÁR, C., HANUSOVÁ, E., HANUS, A. & BUJKO, J. (2014) Effect of genotype on egg quality characteristics of Japanese quail (*Coturnix Japonica*) *J. Anim. Sci.*, 47(1): 6-11.

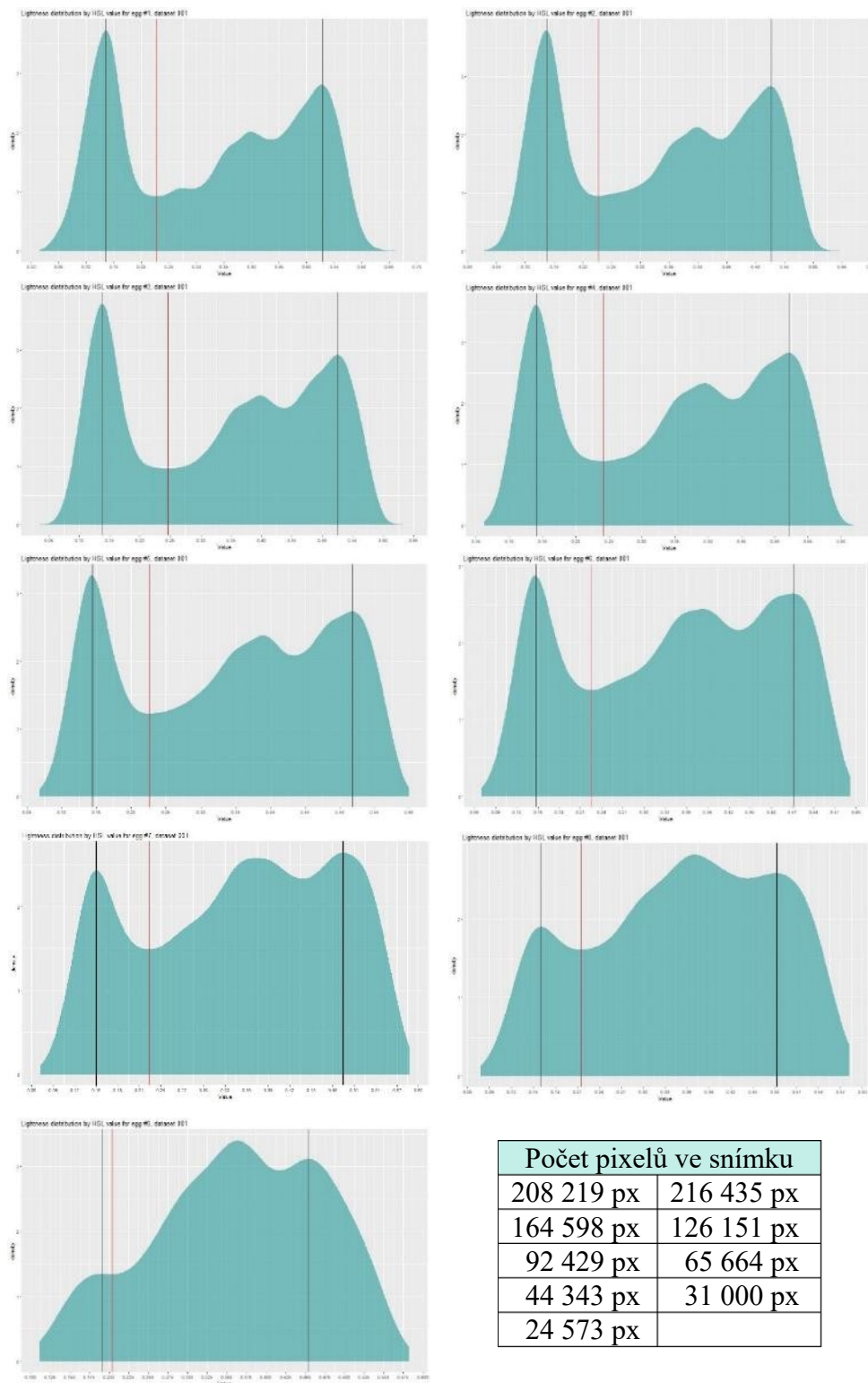
- JAGANNATH, A., SHORE, R. F., WALKER, L. A., FERNS, P. N., & GOSLER, A. G. (2008). Eggshell pigmentation indicates pesticide contamination. *Journal of Applied Ecology*, 45(1), 133-140.
- JÄRVINEN, A. (1996). Correlation between egg size and clutch size in the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca* in cold and warm summers. *Ibis* 138: 620–623.
- KAUR, H., HUGHES, M. N., GREEN, C. J., NAUGHTON, P., FORESTI, R., & MOTTERLINI, R. (2003). Interaction of bilirubin and biliverdin with reactive nitrogen species. *FEBS letters*, 543(1-3), 113-119.
- KILNER, R.M. (2006). The evolution of egg colour and patterning in birds. *Biological Reviews*, 81.
- LAHTI, D. C. (2008). Population differentiation and rapid evolution of egg color in accordance with solar radiation. *The Auk*, 125(4), 796-802.
- LLOYD, P., PLAGANYI, E., LEPAGE, D., LITTLE, R. M. & CROWE, T. M. (2000). Nest-site selection, egg pigmentation and clutch predation in the ground-nesting Namaqua Sandgrouse *Pterocles namaqua*. *Ibis* 142(1): 123-131.
- LÓPEZ DE HIERRO, M. D. G., & DE NEVE, L. (2010). Pigment limitation and female reproductive characteristics influence egg shell spottiness and ground colour variation in the house sparrow (*Passer domesticus*). *Journal of Ornithology*, 151, 833-840.
- LOVELL, P. G., RUXTON, G. D., LANGRIDGE, K. V., & SPENCER, K. A. (2013). Egg-laying substrate selection for optimal camouflage by quail. *Current Biology*, 23(3), 260-264.
- MARTÍNEZ-DE LA PUENTE, J., MERINO, S., MORENO, J., TOMÁS, G., MORALES, J., LOBATO, E., GARCÍA-FRAILE, S. & MARTÍNEZ, J. (2007). Are eggshell spottiness and colour indicators of health and condition in blue tits *Cyanistes caeruleus*?. *Journal of Avian Biology*, 38(3), 377-384.
- MARTÍNEZ-PADILLA, J., DIXON, H., VERGARA, P., PÉREZ-RODRÍGUEZ, L., & FARGALLO, J. A. (2010). Does egg colouration reflect male condition in birds?. *Naturwissenschaften*, 97(5), 469-477.
- MAURER, G., PORTUGAL, S. J., MIKŠÍK, I., & CASSEY, P. (2011). Speckles of cryptic black-headed gull eggs show no mechanical or conductance structural function. *Journal of Zoology*, 285(3), 194-204.
- MÄGI, M., MÄND, R., KONOVALOV, A., TILGAR, V., & REYNOLDS, S. J. (2012). Testing the structural–function hypothesis of eggshell maculation in the Great Tit: an experimental approach. *Journal of Ornithology*, 153(3), 645-652.
- MIKHAILOV, K. E., & MICHAÏLOV, K. E. (1997). Fossil and recent eggshell in amniotic vertebrates: fine structure, comparative morphology and classification (pp. 1-80). *Palaeontological Association*.
- MONTEVECCHI, W. A. (1976). Field experiments on the adaptive significance of avian eggshell pigmentation. *Behaviour* 58, 26–39.
- MORALES, J., VELANDO, A., & MORENO, J. (2008). Pigment allocation to eggs decreases plasma antioxidants in a songbird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 63, 227-233.
- MORALES, J., RUUSKANEN, S., LAAKSONEN, T., EEVA, T., MATEO, R., BELSKII, E., IVANKINA, E. V., JÄRVINEN, A., KERIMOV, A., KORPIMÄKI, E., KRAMS, I., MÄND, R., MOROSINOTTO, C., ORELL, M., QVARNSTRÖM, A., SIITARI, H., SLATER, F. M., TILGAR, V., VISSER, M. E., WINKEL, W., ZANG, H. & MORENO, J. (2013). Variation in eggshell traits between

- geographically distant populations of pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*. *Journal of Avian Biology*, 44(2), 111-120.
- MORALES, J. (2020). Eggshell biliverdin as an antioxidant maternal effect: biliverdin as an antioxidant resource in oviparous animals. *BioEssays*, 42(8), 2000010.
- MORENO, J., & OSORNO, J. L. (2003). Avian egg colour and sexual selection: does eggshell pigmentation reflect female condition and genetic quality?. *Ecology Letters*, 6(9), 803-806.
- MORENO, J., MORALES, J., LOBATO, E., MERINO, S., TOMÁS, G., & MARTÍNEZ-DE LA PUENTE, J. (2005). Evidence for the signaling function of egg color in the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca*. *Behavioral Ecology*, 16(5), 931-937.
- MORENO, J., LOBATO, E., MORALES, J., MERINO, S., TOMÁS, G., MARTÍNEZ-DE LA PUENTE, J., SANZ, J. J., MATEO, R. & SOLER, J. J. (2006a). Experimental evidence that egg color indicates female condition at laying in a songbird. *Behavioral Ecology*, 17(4), 651-655.
- MORENO, J., MORALES, J., LOBATO, E., MERINO, S., TOMÁS, G., & MARTÍNEZ-DE LA PUENTE, J. (2006b). More colourful eggs induce a higher relative paternal investment in the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca*: a cross-fostering experiment. *Journal of Avian Biology*, 37(6), 555-560.
- NEWSROOM TTG (2022). Dubaj předznamenává zotavení světového cestovního ruchu, v uplynulém roce přivítala 7,28 milionu turistů (online) [cit. 2023.03.25], dostupné z <<https://www.ttg.cz/dubaj-predznamenava-zotaveni-svetoveho-cestovniho-ruchu-v-uplynulem-roce-privitala-728-milionu-turistu/>>
- OGUNTUNJI, A. O., & ALABI, O. M. (2010). Influence of high environmental temperature on egg production and shell quality: a review. *World's poultry science journal*, 66(4), 739-750.
- PARKER, T. H. (2002). Maternal condition, reproductive investment, and offspring sex ratio in captive red junglefowl (*Gallus gallus*). *The Auk*, 119(3), 840-845.
- PATTEN, M. A. (2007). Geographic variation in calcium and clutch size. *Journal of Avian Biology*, 38(6), 637-643.
- PÉREZ-RODRÍGUEZ, L., JOVANI, R., & STEVENS, M. (2017). Shape matters: animal colour patterns as signals of individual quality. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1849), 20162446.
- PIKE, T. W. (2019). Quantifying the maculation of avian eggs using eggshell geometry. *Ibis*, 161(3), 686-693.
- POOLE, H. K. (1965). Spectrophotometric identification of eggshell pigments and timing of superficial pigment deposition in the Japanese quail. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 119(2), 547-551.
- R CORE TEAM (2020). R: a language and environment for statistical computing. Version 4.0.3. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Freely available at <https://www.r-project.org>.
- REECE, W. O. (1998). Fyziologie domácích zvířat. *Grada Publiing*.
- REYNOLDS, S. J., SCHOECH, S. J., & BOWMAN, R. (2003). Nutritional quality of prebreeding diet influences breeding performance of the Florida scrub-jay. *Oecologia*, 134(3), 308-316.
- REYNOLDS, S. J., MARTIN, G. R., & CASSEY, P. (2009). Is sexual selection blurring the functional significance of eggshell coloration hypotheses?. *Animal Behaviour*, 78(1), 209-215.

- SAMIULLAH, S., & ROBERTS, J. R. (2013). The location of protoporphyrin in the eggshell of brown-shelled eggs. *Poultry science*, 92(10), 2783-2788.
- SAMIULLAH, S., OMAR, A. S., ROBERTS, J., & CHOUSALKAR, K. (2017). Effect of production system and flock age on eggshell and egg internal quality measurements. *Poultry Science*, 96(1), 246-258.
- SANGAM, K., TANVEER, H., MAQSOOD, A., MUHAMMAD, R., MUHAMMAD, A., MUNEEB, K., MENAL, T., SAIMA, S., RANA, T. & IRFAN, A. (2019). Breeding biology of red wattled lapwing (*Vanellus Indicus*) from Southern Punjab, Pakistan. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 11(2), 78-84.
- SANZ, J. J., & GARCÍA-NAVAS, V. (2009). Eggshell pigmentation pattern in relation to breeding performance of blue tits *Cyanistes caeruleus*. *Journal of Animal Ecology*, 78(1), 31-41.
- SAXENA, V. L., & SAXENA, A. K. (2013). The study of nidification behavior in Red-wattled Lapwing, *Vanellus indicus*. *Asian J. Exp. Sci*, 27(2), 17-21.
- SCHANTZ, T. V., BENSCH, S., GRAHN, M., HASSELQUIST, D., & WITZELL, H. (1999). Good genes, oxidative stress and condition-dependent sexual signals. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 266(1414), 1-12.
- SCHOECH, S. J. (1996). The effect of supplemental food on body condition and the timing of reproduction in a cooperative breeder, the Florida scrub-jay. *The Condor*, 98(2), 234-244.
- SETHI, V.K., BHATT, D., KUMAR, A., & BHATT, A. (2014). The hatching success of ground- and roof-nesting Red-wattled Lapwing *Vanellus indicus* in Haridwar, India. *Forktail* 27: 7-10.
- SIEFFERMAN, L., NAVARA, K. J., & HILL, G. E. (2006). Egg coloration is correlated with female condition in eastern bluebirds (*Sialia sialis*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 59(5), 651-656.
- SKRADE, P. D., & DINSMORE, S. J. (2013). Egg crypsis in a ground-nesting shorebird influences nest survival. *Ecosphere*, 4(12), 1-9.
- SLÁDEČEK, M., BRYNYCHOVÁ, K., ELHASSAN, E., ŠÁLEK, M. E., JANATOVÁ, V., VOZABULOVÁ, E., CHAJMA, P., FIRLOVÁ, V., PEŠKOVÁ, L., ALMUHERY, A. & BULLA, M. (2021). Diel timing of nest predation changes across breeding season in a subtropical shorebird. *Ecology and Evolution*, 11(19), 13101-13117.
- SOH, T., & KOGA, O. (1994). The effects of sex steroid hormones on the pigment accumulation in the shell gland of Japanese quail. *Poultry science*, 73(1), 179-185.
- SOH, T., & KOGA, O. (1997). The effect of progesterone and estradiol-17 β on the pigment accumulation of the shell gland in Japanese quail pretreated with aminogluthethimide. *J. Fac. Agr. Kyushu U.* 42:147–150
- SOLER, J. J., MORENO, J., AVILES, J., & MOLLER, A. P. (2005). Blue and green egg-color intensity is associated with parental effort and matin system in passeriens: support for the sexual selection hypothesis. *Evolution*, 59(3), 636-644.
- SOLOMON, R. W. (2009). Free and open source software for the manipulation of digital images. *American Journal of Roentgenology*, 192(6), W330-W334.
- STADELMAN, W. J. & COTTERILL, O. J. (1973). Egg Science and Technology. *Westport Conn: Avi Pub*

- STATISTA ©2023. Average annual temperature of Dubai in the United Arab Emirates from 2013 to 2021 (in degrees Celsius) (online) [cit. 2023.03.25], dostupné z <<https://www.statista.com/statistics/633031/uae-dubai-average-annual-temperature/>>
- STOFFEL, M. A., NAKAGAWA, S., & SCHIELZETH, H. (2017). rptR: Repeatability estimation and variance decomposition by generalized linear mixed-effects models. *Methods in ecology and evolution*, 8(11), 1639-1644.
- ŠULC, M., PROCHÁZKA, P., CAPEK, M., & HONZA, M. (2016). Birds use eggshell UV reflectance when recognizing non-mimetic parasitic eggs. *Behavioral Ecology*, 27(2), 677-684.
- TROSCIANKO, J. (2014). A simple tool for calculating egg shape, volume and surface area from digital images. *Ibis*, 156(4), 874-878.
- VON HAARTMAN, L. (1957). Adaptation in hole-nesting birds. *Evolution*, 339-347.
- VYAS, R. (1997). Flocking and courtship display in Redwattled Lapwing (*Vanellus indicus*). *JOURNAL-BOMBAY NATURAL HISTORY SOCIETY*, 94, 406-406.
- WALKER, A. W. (1998). Egg shell colour is affected by laying cage design. *British poultry science*, 39(5), 696-699.
- WALLACE, A. R. (1889). Darwinism: An exposition of the theory of natural selection with some its applications. *Macmillan*, London, 213.
- WANG, X. T., ZHAO, C. J., LI, J. Y., XU, G. Y., LIAN, L. S., WU, C. X., & DENG, X. M. (2009). Comparison of the total amount of eggshell pigments in Dongxiang brown-shelled eggs and Dongxiang blue-shelled eggs. *Poultry Science*, 88(8), 1735-1739.
- WEIDINGER, K. (2001). Does egg colour affect predation rate on open passerine nests? *Behavioural Ecology and Sociobiology* 49, 456–464.
- WESTMORELAND, D. & BEST, L. B. (1976). Incubation continuity and the advantage of cryptic egg colouration to mourning doves. *Wilson Bulletin* 98, 297–300.
- WESTMORELAND, D., SCHMITZ, M., & BURNS, K. E. (2007). Egg color as an adaptation for thermoregulation. *Journal of Field Ornithology*, 78(2), 176-183.
- WHITEHEAD, C. C. (2004). Overview of bone biology in the egg-laying hen. *Poultry science*, 83(2), 193-199.
- WISOCKI, P. A., KENNELLY, P., ROJAS RIVERA, I., CASSEY, P., BURKEY, M. L., & HANLEY, D. (2020). The global distribution of avian eggshell colours suggest a thermoregulatory benefit of darker pigmentation. *Nature Ecology & Evolution*, 4(1), 148-155.
- YOM-TOV, Y. (1980). Intraspecific nest parasitism in birds. *Biological Reviews*, 55(1), 93-108.
- YOM-TOV, Y. (2001). An updated list and some comments on the occurrence of intraspecific nest parasitism in birds. *Ibis* 143, 133–143.
- ZHAO, R., G. Y. XU, Z. Z. LIU, J. Y. LI, AND N. YANG. 2006. “A Study on Eggshell Pigmentation.” *Poultry Science* 85 (3): 546–49.

13. Přílohy



Příloha 1 - Grafy znázorňující změnu světlostní distribuce pixelů pouze v závislosti na množství pixelů ve fotografii.

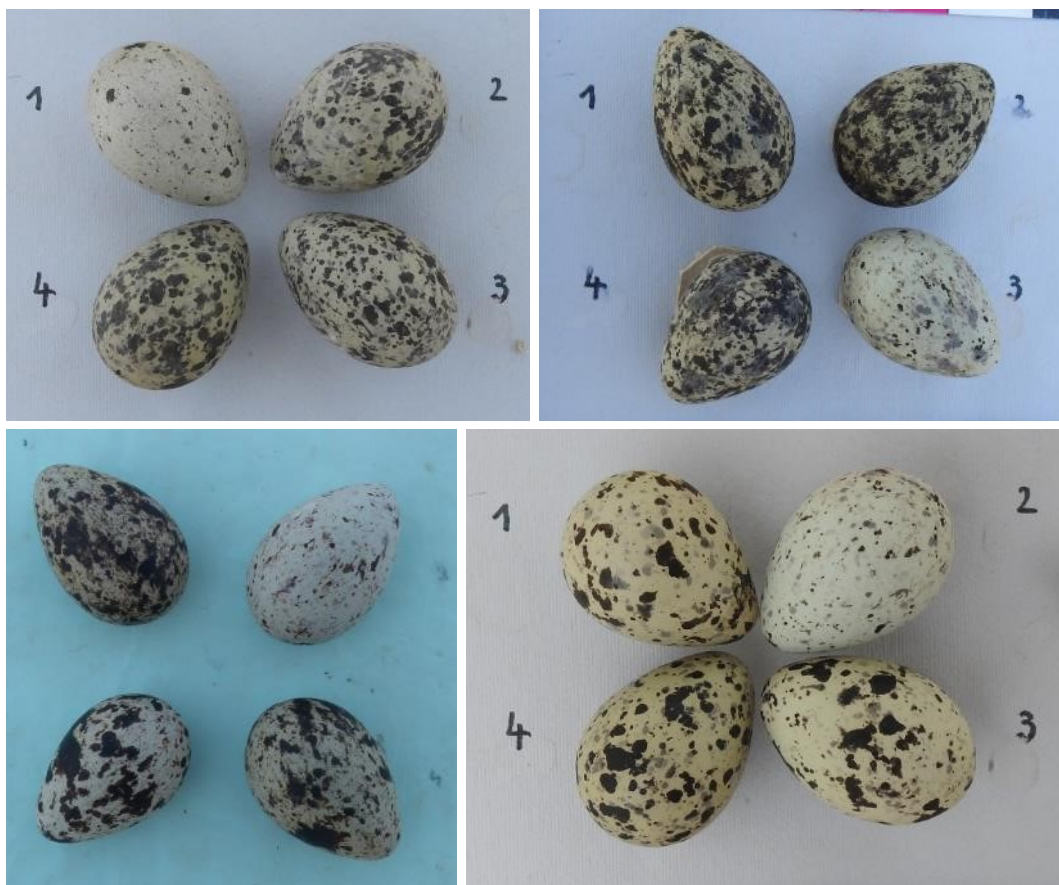
POČET ANALYZOVANÝCH HNÍZD JEDNOTLIVÝCH SAMIC V DANÉM ROCE

Samice	Rok			
	2018	2019	2020	2021
1_19		1		
1_21				1
10_20			1	
13_18	1			1
13_19		2	3	1
13_21				3
14_19		2		
149_18		1		
15_19		1	2	1
15_20			1	
15_21				1
16_21				1
17_19		1		1
17_20			1	
18_19		1		
19_18	1	2		
19_19		3	2	1
2_21				3
20_19		2	1	
203_18			1	3
21_18	1	1		
21_21				1
221_20			1	1
222_20			1	3
224_20			1	
23_21				2
24_21				2
26_21				1
27_17			1	
27_18	1	1		2
28_18	1			
28_19		1	2	1
29_18	1			
3_19		3		
30_18	2	2		
30_19		1		
30_21				2
31_18	2			
31_21				2
33_18	2			
33_19			1	3
33_21				2
34_18	1			

34_21				2
35_19		1		1
35_21				2
36_18	2	3		
36_21				2
37_19		2	1	
38_18	1			
39_19		1	1	
39_21				1
4_18	1	1		
40_19				1
41_18	1	2		
42_18	2			
43_18	1			
44_19		1		2
46_21				1
47_18	1	1	2	2
47_21				1
48_21				2
49_18	2			
49_19		1		
49_21				1
5_18	1			
5_19		2		
5_21				3
53_18	2			
53_19		1	1	2
56_18	1			
58_18	1			
59_18	1			
62_18	1			
63_19		1		
65_19		1		
66_18		1		
66_19		1		
67_18	1			
68_18	2			
69_18	2			
69_19		1		1
7_18	1			
7_19		1		
7_20			2	
7_21				2
72_19		1	2	1
74_19			1	
79_18	1	2		

8_18	1	1	2	1
8_21				3
80_19			2	2
81_19			2	
83_18	1			
86_18		3	2	1
89_18	2			
9_20			1	2
90_18	1			
Počet	43	54	38	75

Příloha 2 - Tabulka znázorňující počet analyzovaných hnízd v jednotlivých letech pro každou zaznamenanou samici.



Příloha 3 - Fotografie vybraného vzorku samic, u kterých bylo během jedné nebo několika snůšek zaznamenáno snesení výrazně méně pigmentovaného vejce oproti zbytku snůšky. Čísla na fotografiích neodpovídají pořadí vajec ve snůšce, slouží pouze k lepší orientaci v datech



***Příloha 4** – Odshora první řádek příklad problematiky nižší kvality fotografií. U takovýchto vajec není možné správně spočítat skvrnitost. Druhý řádek ukázka problematiky přechodů světla a stínu. Na první pohled je patrné, že stín vytváří na vejci pole tmavých pixelů, která nesouvisí se skvrnitostí, ale během analýzy tak mohou být chybně označena. Třetí řádek ukázka fotografování vajec pod zástínem vegetace, která vytváří na povrchu skořápky mapy světla a stínu, čímž dochází ke vzniku nestejných podmínek pro všechna vejce ve snůšce.*