

Univerzita Palackého v Olomouci  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra zoologie a ornitologická laboratoř  
Doktorský studijní program Biologie



**Interakce hnízdního parazita kukačky obecné (*Cuculus canorus*)  
s jeho jediným dutinovým hostitelem rehkem zahradním  
(*Phoenicurus phoenicurus*)**

Interactions of brood parasitic common cuckoo (*Cuculus canorus*) and its only cavity-nesting host, the common redstart (*Phoenicurus phoenicurus*)

**Mgr. Michal Kysučan**

Disertační práce

Obor: Zoologie

Vedoucí práce: prof. Ing. Stanislav Bureš, CSc.

Olomouc 2020

Univerzita Palackého v Olomouci  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra zoologie a ornitologická laboratoř  
17. listopadu 50  
Olomouc 771 46  
Česká republika

Vedoucí práce:

**prof. Ing. Stanislav Bureš, CSc.**

Univerzita Palackého v Olomouci  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra zoologie a ornitologická laboratoř  
17. listopadu 50  
Olomouc 771 46  
Česká republika

Konzultant:

**prof. RNDr. Tomáš Grim, Ph.D.**

Na Orátě 497, Hlubočky 783 61  
Česká republika

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto práci vyhotovil samostatně pod vedením prof. Ing. Stanislava Bureše, CSc. a na základě konzultací s prof. RNDr. Tomášem Grimem, Ph.D. a je tedy mým původním dílem. Rovněž prohlašuji, že jsem zde uvedl všechny použité zdroje, které řádně cituji. Mé zapojení do výzkumu prezentovaného v této práci je vyjádřeno pořadím autorství v zahrnutých publikacích a rukopisech. Žádnou část této práce jsem nepředložil k získání dalšího akademického titulu.

V Olomouci, 15. června 2020

.....  
Michal Kysučan

## **Poděkování**

Rád bych poděkoval Tomáši Grimovi za jeho důvěru, rady, pomoc, dohled, vedení a vůbec příležitost účastnit se unikátního a neskutečně zajímavého projektu, jehož částečným výsledkem je i tato práce.

Rovněž bych chtěl poděkovat svému současnému školiteli Stanislavu Burešovi, za jeho rady, vstřícnost, podporu a možnost dokončení doktorského studia.

Dále musím poděkovat všem spoluautorům přiložených prací za jejich vytrvalou a precizní práci a zejména Tomáši Grimovi, Peteru Samašovi, Zdeňku Tyllerovi a Jarkko Rutilovi za zasvěcení do studia hnízdního parazitismu a ornitologické vědy vůbec.

Jednotlivé výzkumy by nemohly být realizovány bez finanční podpory Grantové agentury České republiky (P506/12/2404 a 17-12262S), mezinárodního programu na podporu vědy: Human Frontier Science Program (RGY69/2007 a RGY83/2012), a Interní grantové agentury Univerzity Palackého (PrF\_2014\_018, PrF\_2015\_018, IGA\_PrF\_2016\_017 a IGA\_PrF\_2017\_023).

## OBSAH (CONTENT)

|  |    |
|--|----|
| BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE .....  | 6  |
| BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION .....   | 8  |
| SEZNAM PŘILOŽENÝCH PŘÍSPĚVKŮ (LIST OF ATTACHED CONTRIBUTIONS) .....  | 10 |
| 1 ÚVOD .....   | 11 |
| 1.1 Obligátní mezidruhový hnízdní parazitismus .....   | 12 |
| 1.2 Kukačka obecná ( <i>Cuculus canorus</i> Linnaeus, 1758) .....  | 14 |
| 1.2.1 Poddruhy kukačky obecné .....  | 23 |
| 1.2.2 Vznik a udržování kukaččích ekologických ras poddruhu <i>C. c. canorus</i> .....   | 24 |
| 1.2.3 Kukaččí ekologická rasa snášející modrá vejce a její výhradní hostitel .....   | 27 |
| 2 CÍLE PRÁCE .....   | 37 |
| 3 MATERIÁL A METODIKA .....  | 37 |
| 4 SHRNU TÍ JEDNOTLIVÝCH PŘÍSPĚVKŮ .....  | 48 |
| 4.1 Jakým způsobem klade samice kukačky obecné vejce do hnízd chráněných v dutinách? (Příspěvek I) .....   | 48 |
| 4.2 Jak moc je výchova kukaččího mláděte nákladná pro dutinového hostitele v porovnání s péčí o jeho vlastní potomky a co z toho plyne? (Příspěvek II) .....   | 52 |
| 4.3 Může nízká úroveň nákladnosti výchovy kukaččího mláděte pro rehků rodiče vysvětlovat nízkou úroveň hostitelské obrany u rehka zahradního? (Příspěvek III) .....  | 56 |
| 4.4 Jakým způsobem probíhá pohnízd ní interakce kukačky obecné s jejím jediným pravidelným dutinovým hostitelem a jak se do ní promítá specif ičnost této hnízdní strategie? (Příspěvek IV) .....              | 58 |
| 4.5 Jak probíhá pohnízd ní interakce mezi kukačkou obecnou a k rehkům sympatrickým hostitelem budujícím otevřená hnízda a jakým způsobem studovat pohnízd ní periodu u hnízdních parazitů? (Příspěvek V) ..... | 64 |
| 5 ZÁVĚR .....  | 67 |
| 4 LITERATURA .....   | 69 |
| PŘÍLOHY .....  | 81 |

## **BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE**

**Jméno a příjmení autora:** Mgr. Michal Kysučan

**Název práce:** Interakce hnízdního parazita kukačky obecné (*Cuculus canorus*) s jeho jediným dutinovým hostitelem rehkem zahradním (*Phoenicurus phoenicurus*)

**Typ práce:** Doktorská disertační práce

**Pracoviště:** Katedra zoologie a ornitologická laboratoř, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

**Vedoucí práce:** prof. Ing. Stanislav Bureš, CSc.

**Studijní program:** P1527 Biologie

**Studijní obor:** Zoologie

**Rok obhajoby práce:** 2020

### **Abstrakt**

Obligátní hnízdní parazitismus představuje alternativní reprodukční strategii, jejímž cílem je maximalizace biologické zdatnosti za současné minimalizace nákladů spojených s reprodukcí. Parazitický druh však touto cestou negativně ovlivňuje fitness svého hostitele, čímž u něj vyvolává selekci protiparazitických adaptací, kterým se musí následně sám přizpůsobit formou fixace nového znaku a naopak. Současný stav interakce obou druhů je proto výsledkem tzv. „závodů ve zbrojení“, ke kterým dochází v rámci jejich koevoluce. Studium paraziticko-hostitelských interakcí tak kromě snadnějšího pochopení evoluční historie, ekologie, bionomie a životních strategií sledovaných druhů poskytuje ideální podmínky k porozumění samotným mechanismům evoluce.

V předložené disertační práci se zabývám studiem interakce mezi obligátním hnízdním parazitem kukačkou obecnou (*Cuculus canorus*) a jeho hostitelem rehkem zahradním (*Phoenicurus phoenicurus*). Rehek zahradní je jediným pravidelným evropským hostitelem kukačky obecné, který hnízdní v dutinách a proto je zde hnízdní parazit vystaven unikátním podmínkám a selekčním tlakům, které v jiných paraziticko-hostitelských systémech pozorovat nemůžeme. Společně s kolegy jsem zkoumal opomíjené aspekty v rámci této interakce, které byly dosud obestřeny rouškou spekulací, fám (jak vyplývá z výsledků této práce) a nejistot. Konkrétně jsme se zaměřili na způsob kladení vajec kukačkou do dutinových hnízd rehků (**Příspěvek I**), na nákladnost výchovy parazita (včetně

inkubace vajec) pro rehčí rodiče (**Příspěvek II, Příspěvek III**) a na pohnízdni interakci v rámci kukačko-rehčího (**Příspěvek IV**) a k němu sympatrického kukačko-pěnkavího systému (**Příspěvek V**).

Jako vůbec první jsme zjistili, že kukačky kladou vejce do hnízdních budek rehků hned třemi různými metodami, které se navzájem liší nejen způsobem a rychlostí provedení, ale především úspěšností parazitace, včetně přesnosti zacílení vejce do hnízdní kotlinky a pravděpodobností jeho odmítnutí hostitelem (**Příspěvek I**). Dále jsme vůbec poprvé prokázali, že výchova parazitického mláděte není pro rehčí rodiče nákladnější než výchova jejich vlastní průměrné snůšky (**Příspěvek II**), což může být jednou z příčin poměrně slabých protiparazitických adaptací rehků, které v současnosti pozorujeme (**Příspěvek III**). Rovněž jsme jako první zdokumentovali, že neexistuje průkazný rozdíl ve výsledku pohnízdni fáze napříč různým složením snůšek a oběma interagujícími druhy v rámci kukačko-rehčího systému. To by mohlo vypovídat o mimořádné koevoluční stabilitě tohoto systému (**Příspěvek IV**). Navíc jsme podrobně zdokumentovali případ velmi dobře prosperujícího kukaččího mláděte v pohnízdni péči pěnkavy obecné (*Fringilla coelebs*; **Příspěvek V**). Kukačko-pěnkaví systém tak může být potenciálně podobně vhodný pro kukačku jako ten kukačko-rehčí, který je ovšem dosud mnohem lépe prostudovaný (**Příspěvek V**).

Tato komplexní studie tak mnoha svými výsledky buď přímo vyvrací, nebo upravuje dřívější představy o kukačko-hostitelské interakci. Navíc představuje některé zcela nové metodologické přístupy jako je například srovnání důsledků parazitace na úrovni dospělých ptáků i mláďat v rámci obou interagujících druhů. Rovněž použití velkého spektra technického vybavení a metodologických procedur nabízí inspiraci a otevírá nové možnosti pro podobné výzkumy napříč různými paraziticko-hostitelskými systémy, které jsou nezbytné pro meta-analýzu dat a tak pro objektivnější zhodnocení širších závěrů.

**Klíčová slova:** kukačka obecná, rehek zahradní, kladení vajec, smíšená snůška, nákladnost, pohnízdni péče, video, radiotelemetrie

**Počet stran:** 81

**Počet příloh:** 5

**Jazyk:** český, anglický

## BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION

**Author's first name and surname:** Mgr. Michal Kysučan

**Thesis title:** Interactions of brood parasitic common cuckoo (*Cuculus canorus*) and its only cavity-nesting host, the common redstart (*Phoenicurus phoenicurus*)

**Type of thesis:** Ph.D. thesis

**Department:** Department of Zoology and Laboratory of Ornithology, Faculty of Science, Palacký University Olomouc

**Supervisor:** prof. Ing. Stanislav Bureš, CSc.

**Study program:** P1527 Biology

**Field of study:** Zoology

**The year of presentation:** 2020

### Abstract

Obligatory brood parasitism is an alternative reproductive strategy that aims to maximize biological fitness while minimizing the costs associated with reproduction. The parasitic species negatively affects host fitness, facilitating the evolution of anti-parasitic adaptations in the host, and subsequently leading to counter-adaptations in the parasite. The long-term interaction of the parasite and host can thus lead to the "arms race", which occurs within their coevolution. The study of parasite-host interactions, in addition to insights into the evolutionary history, ecology, bionomy and life strategies, provides ideal conditions for understanding the fundamental evolutionary mechanisms.

In this dissertation, I studied interactions between an obligatory brood parasite, the common cuckoo (*Cuculus canorus*) and its host, the common redstart (*Phoenicurus phoenicurus*). The common redstart is the only regular European host of the common cuckoo that breeds in cavities, and thus the brood parasite is exposed to unique conditions and selection pressures we cannot observe in other parasite-host systems. Together with my colleagues, I have explored neglected aspects of this interaction, which have so far been shrouded in speculation, rumors (as the results of this dissertation suggest) and uncertainties. Specifically, we focused on the cuckoo strategy of egg-deposition into the redstart cavity nests (**Contribution I**), on the cost of raising a parasite (including egg incubation effort) for the redstart parents (**Contribution II, Contribution III**) and on the



post-fledging interaction within cuckoo-redstart (**Contribution IV**) and its sympatric cuckoo-chaffinch system (**Contribution V**).

We were the first who documented that cuckoos deposit eggs into the redstart nest by three distinctive modes, which differ not only in the manner and speed of execution, but especially in the success of parasitism, including the accuracy of targeting the egg into the nest cup and the probability of egg rejection by the host (**Contribution I**). Furthermore, we have shown for the first time that raising a parasitic offspring is not more costly for the redstart parents, than raising their own average clutch (**Contribution II**), which may be one of the causes of the relatively weak anti-parasitic adaptations in the redstart that we currently observe (**Contribution III**). Further, we for the first time documented that there is no significant difference in the cuckoo and host young performance at the end of post-fledging parental care even when controlling for the brood composition and other characteristics. This could indicate the extraordinary coevolutionary stability of this system (**Contribution IV**). In addition, we have documented in detail the post-fledging care of the common chaffinch (*Fringilla coelebs*) host about the cuckoo young (**Contribution V**). We propose that the cuckoo-chaffinch system may be potentially similarly suitable for the cuckoo as the cuckoo-redstart system, which is, however, much better studied so far (**Contribution V**).

This comprehensive study either directly refutes or modifies earlier notions of cuckoo-host interaction. In addition, it employed new methodological approaches for both interacting species at the level of both adult birds and chicks. Also, the use of a wide range of technical equipment and methodological procedures offers inspiration and opens up new possibilities for studying parasite–host interactions, which is necessary for the data meta-analysis and thus for better understanding this fascinating field of biology.

**Keywords:** common cuckoo, common redstart, egg-laying, mixed brood, cost, post-fledging care, video, radio-tracking

**Number of pages:** 81

**Number of appendices:** 5

**Language:** Czech, English

## SEZNAM PŘILOŽENÝCH PŘÍSPĚVKŮ (LIST OF ATTACHED CONTRIBUTIONS)

Jednotlivé příspěvky jsou řazeny podle jejich zaměření vzhledem k chronologické posloupnosti jednotlivých interakcí mezi kukačkou a rehkem v průběhu reprodukčního cyklu.

**I.** **Kysučan M.**, Tolvanen J., Samaš P., Miller R., Rutila J., Grim T. & Thomson R. L. Cuckoos exploit cavity-nesting hosts with alternative ways of egg-laying (manuscript).

**II.** Samaš P., Rutila J., Honza M., **Kysučan M.** & Grim T. 2018. Rearing a virulent common cuckoo is not extra costly for its only cavity-nesting host. *Proc. R. Soc. B* 285: 20181710.

**III.** Samaš P., **Kysučan M.**, Honza M. & Grim T. 2019. Multiple costs are relevant for evolution of host anti-parasite defences. Reply to Yang C *et al.* (2018). *Proc. R. Soc. B* 286: 20191690.

**IV.** **Kysučan, M.**, Samaš, P. & Grim, T. 2020. Post-fledging interactions between the Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity-nesting Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus* host. *Ibis* 162: 90–103.

**V.** Tyller, Z., **Kysučan, M.** & Grim, T. 2018. Post-fledging behavior of the Common Cuckoo (*Cuculus canorus*) attended by the Chaffinch (*Fringilla coelebs*): a comprehensive approach to study the least known stage of brood parasite–host coevolution. *Wilson J. Ornithol.* 130: 536–542.

## 1. ÚVOD

V této disertační práci se zabývám z evolučního hlediska neobyčejně zajímavou interakcí dvou ptačích druhů, kterou věda označuje jako obligátní mezidruhový hnízdní parazitismus. Parazitismus obecně je nejrozšířenější životní strategií organismů (Windsor 1998), kdy jeden organismus žije, či profituje na úkor jiného organismu a působí mu tím více či méně významnou újmu, čímž snižuje jeho biologickou zdatnost (*fitness*; Stearns 1992). Parazitické organismy tak vytvářejí jeden z nejsilnějších selekčních tlaků v přírodě, tzv. parazity zprostředkovanou přírodní selekci (*parasite-mediated natural selection*), zvýhodňující jedince s lepší schopností odolávat parazitům (Hamilton a Zuk 1982, Ridley 2003). Takto fixované hostitelské znaky, naopak negativně ovlivňují biologickou zdatnost parazita. Proto znovu zasahuje přírodní výběr, který vyselektuje adaptace k překonání nových úrovní hostitelské obrany a opět tak přenáší selekční tlak na hostitele (Dawkins a Krebs 1979).

Tento reciproční selekční tlak mezi parazitem a hostitelem má proto charakter tzv. „závodů ve zbrojení“ (Dawkins a Krebs 1979, Rothstein 1990) a je rovněž označován jako antagonistická koevoluce. Koevoluce představuje vzájemné ovlivňování populační evoluce mezi jedním či více druhy organismů (Ridley 2003). Koevoluci je možné studovat na základě detekce koadaptací u cílových druhů v souvislosti se znalostí jejich ekologie, bionomie a především jejich vzájemných interakcí. Zejména důsledky hnízdního parazitismu ze strany kukačky obecné (*Cuculus canorus*), kde parazitické mládě prostřednictvím svých vytlačovacích instinktů způsobuje zpravidla nulový reprodukční úspěch hostitele v rámci daného hnízdního pokusu (Øien a kol. 1995), vyvolávají u hostitelského druhu výrazné protiparazitické adaptace na různých úrovních jejich vzájemné interakce (Moksnes a kol. 2013).

Tato disertační práce popisuje interakci kukačky obecné s jejím jediným, evropským, dutinovým hostitelem rehkem zahradním (*Phoenicurus phoenicurus*; Samaš a kol. 2016, Grim a Rutila 2017). Hnízdní strategie tohoto hostitele, která je unikátní napříč pravidelnými kukaččími hostiteli, způsobuje vznik a tedy i možnost studia neobvyklých koevolučních jevů, jako je například způsob kladení parazitických vajec do hnízd ukrytých v dutinách (**Příspěvek I**), či existence smíšených snůšek a její důsledky pro parazita i hostitele (**Příspěvky II-IV**). Unikátní je rovněž komplexnost prezentovaného výzkumu, který mapuje interakci sledovaných druhů v rámci kompletního reprodukčního cyklu od kladení vajec (**Příspěvek I**) a jejich inkubace (**Příspěvky II a III**), přes výchovu mláďat v hnízdě (**Příspěvky II a III**) i během pohnízdni fáze až po jejich osamostatnění (**Příspěvky II-V**). V rámci jednotlivých fází interakce sledovaných druhů je mimo jiné

posuzována či diskutována funkce, efektivita a evoluční kontext příslušných adaptací a protiadaptací.

Předložená práce proto nabízí kromě analýzy současného stavu interakce a celé řady nových informací, také jedinečný pohled do koevoluční historie studovaných druhů (**Příspěvky I–IV**). Navíc je přiložena studie (**Příspěvek V**) mapující případ pohnízdni interakce další evropské ekologické rasy kukačky obecné s pěnkavou obecnou (*Fringilla coelebs*). Tento hostitelský druh na rozdíl od rehka zahradního buduje otevřená hnízda a v rámci oblasti, která zahrnuje naší studijní lokalitu, byl dosud považován za pouze příležitostného hostitele (Vikan a kol. 2010, 2011). Zahrnutí tohoto článku tak umožňuje komplexnější posouzení výsledků disertační práce a zároveň doplňuje metodologický přístup ke studiu pohnízdni fáze kukačko-hostitelských systémů. Ve výsledku tato práce významně doplňuje a upřesňuje dosavadní informace a zároveň poskytuje celou řadu absolutně nových poznatků hned o dvou sympatrických kukačko-hostitelských systémech.

V následujících částech úvodu se pokusím představit obligátní mezidruhový hnízdní parazitismus a dosavadní informace o hlavním modelovém druhu této práce v kontextu výsledků přiložených studií. Následně poskytnu přehled dosud zjištěných poddruhů kukačky obecné a nastíním problematiku vzniku a udržování kukaččích ekologických ras vzhledem k objasnění existence unikátní kukačko-rehčí ekologické rasy. V poslední části úvodu osvětlím podstatu výjimečnosti sledované kukačko-rehčí interakce a představím dosavadní informace o jejích jednotlivých fázích, které doplním o výsledky přiložených studií.

## 1.1 Obligátní mezidruhový hnízdní parazitismus

Mezidruhovým (interspecifickým) hnízdním parazitismem u ptáků nazýváme reprodukční strategii, kdy jeden druh (parazit) klade vejce do hnízd jiných druhů ptáků (hostitelů) a tím na ně přenáší náklady spojené s rodičovskou péčí a zároveň potenciálně zvyšuje svou reprodukční zdatnost (Davies 2000). Někteří parazité tuto strategii využívají pouze občas a jinak si staví svá vlastní hnízda a normálně pečují o své potomky. V takovém případě mluvíme o příležitostném (fakultativním) hnízdním parazitismu, který je běžný především u mnohých nekrmivých (nidifugních) druhů ptáků (Trnka a Grim 2014). Pokud ale parazit nikdy nestaví hnízdo, nepečuje o potomky a všechna svá vejce klade do hnízd jiných druhů, potom se jedná o obligátní (pravý) mezidruhový hnízdní parazitismus.

Obligátní hnízdní parazité tak přenechávají veškeré náklady spojené s výstavbou hnízd, inkubací, krměním, hygienou, obranou a celkovou péčí o mláďata na svých

hostitelských druzích (Davies 2000). Tato strategie jim patrně umožňuje ušetřit část životních sil spojených s reprodukcí a trávit tak více času krmením, námluvami či nomadickým způsobem života (Payne 2005). To vede k produkci většího počtu vajec potřebných k zajištění dostatečné reprodukční zdatnosti a tím ke kompenzaci ztrát zapříčiněných obranou hostitele a predačním tlakem (Wyllie 1981). Tato extrémní strategie se vyvinula patrně z příležitostného mezidruhového parazitismu a ten zase s největší pravděpodobností z parazitismu vnitrodruhového (intraspecifického; Wyllie 1981, Samaš a kol. 2014).

Vnitrodruhový parazitismus je znám u několika set ptačích druhů a v některých případech se vyznačuje podobnými aspekty jako parazitismus mezidruhový, např. odebíráním hostitelských vajec během parazitace (viz **Příspěvek I**) u špačka obecného (*Sturnus vulgaris*; Lombardo a kol. 1989) či vlaštovky pestré (*Petrochelidon pyrrhonota*; Brown a Brown 1988), nebo rozeznáváním a odmítáním parazitických vajec (Lyon 2003) a mláďat (Shizuka a Lyon 2010) u lysky americké (*Fulica americana*).

Mezi obligátní mezidruhové hnízdní parazity řadíme přibližně 100 druhů ptáků, což je asi 1 % všech ptačích druhů, dále některé zástupce blanokřídlého hmyzu (např. *Vespula austriaca*, *Psithyrus* spp. a přibližně 2 % mravenčích druhů) a několik druhů ryb (Wyllie 1981, Davies 2000). Z toho lze usuzovat, že vznik této reprodukční strategie je v kontextu evoluční historie velmi vzácný a přetrvávání parazitických druhů v čase značně omezené. Davies (2000) však předpokládá, že se obligátní mezidruhový hnízdní parazitismus vyvinul nezávisle u při nejmenším šesti skupin ptáků a to hned v několika částech planety.

Obligátní mezidruhové hnízdní parazity Nového světa reprezentuje nejméně pět druhů vlhovců (*Molothrus* spp.) z čeledi vlhovcovitých (Icteridae), čistě jihoamerická kachnice černohlavá (*Heteronetta atricapilla*) z čeledi kachnovitých (Anatidae) a tři druhy zemních kukaček (*Tapera naevia* a *Dromococcyx* spp.) z čeledi kukačkovitých (Cuculidae; Davies 2000). Mezidruhové obligátní hnízdní parazity Starého světa zastupuje nejméně 15 afrických druhů a dva asijské druhy medozvěstek (*Indicator* spp., *Melichneutes* spp., *Melignomon* spp. a *Prodotiscus* spp.) z čeledi medozvěstkovitých (Indicatoridae), 19 čistě afrických druhů vdovek (*Vidua* spp.) z čeledi vdovkovitých (Viduidae), rovněž africký přádelník kukaččí (*Anomalospiza imberbis*) z čeledi snovačovitých (Ploceidae) a 54 druhů kukaček (*Clamator* spp., *Pachycoccyx audeberti*, *Cuculus* spp., *Cercococcyx* spp., *Cacomantis* spp., *Chrysococcyx* spp., *Rhamphomantis megarhynchus*, *Surniculus* spp., *Caliechthrus leucolophus*, *Microdynamis parva*, *Eudynamis scolopaceus*, *Urodynamis taitensis* a *Scythrops novaehollandiae*) z čeledi kukačkovitých (Cuculidae) z nichž se většina vyskytuje v Africe, Asii a Austrálii a pouze tři druhy, kukačka obecná (*Cuculus canorus*), kukačka chocholatá

(*Clamator glandarius*) a kukačka Horsfieldova (*Cuculus optatus*) se pravidelně vyskytují a rozmnožují v Evropě (Davies 2000, Dickinson 2003, Svensson a kol. 2012).

Všech 54 druhů parazitických kukaček Starého světa je zahrnuto do podčeledi kukačkoví (Cuculinae) a společně se třemi parazitickými kukačkami Nového světa z podčeledi Neomorphinae (viz výše) tvoří přibližně 40 % ze 140 známých kukaččích druhů uváděných Daviesem (2000) a 141 uváděných Paynem (2005). Aktuálnější zdroje referují téměř 150 známých druhů kukaček, z nichž si většina staví hnízda, inkubuje vejce a vychovává svá vlastní mláďata (Mikulica a kol. 2017) a pouze 61 druhů uvádějí jako parazity (Trnka a Grim 2014). Z toho můžeme usuzovat, že se současné parazitické druhy kukaček rovněž vyvinuly z hnízdících předků a to nezávisle minimálně na dvou místech naší planety (Davies 2000).

## 1.2 Kukačka obecná (*Cuculus canorus* Linnaeus, 1758)

Ústředním modelovým druhem této disertační práce je mezidruhový obligátní hnízdní parazit kukačka obecná (*Cuculus canorus*) patřící do čeledi kukačkovitých (Cuculidae) u níž jsme zkoumali její reprodukční strategie a adaptace vzhledem k obranným protiadaptacím hostitele (**Příspěvky I–V**). V následujících řádcích se pokusím shrnout obecné znalosti o našem jediném střeoevropském obligátním mezidruhovém parazitovi v kontextu s jednotlivými tématy, výsledky a novými informacemi zjištěnými v rámci této práce.

Kukačku obecnou s jejími příbuznými z řádu kukaček (Cuculiformes) spojuje z anatomického hlediska kromě dlouhých křídel a ocasu především speciální stavba dolních končetin (Mikulica a kol. 2017). Všichni zástupci tohoto řádu jsou vybaveni tzv. zygodaktylní nohou (tj. noha s vratiprstem), která jim podobně jako u šplhavců usnadňuje život a především sběr potravy v korunách stromů, kde se nejvíce zdržují, a proto je řadíme mezi stromové ptáky (Mikulica a kol. 2017). Navíc, jak dokumentujeme v prvním přiloženém rukopise (**Příspěvek I**), může tato adaptace usnadňovat parazitickým druhům přístup a únik z velmi obtížně dosažitelných hnízd dutinových hostitelů. Podobnou funkci zygodaktylních nohou zaznamenal i Wyllie (1981) v případě parazitace hnízd rákosníka obecného (*Acrocephalus scirpaceus*), kde kukačkám umožňuje uchopení stébel rákosu a tím i možnost ukrytí a nenápadného pohybu v blízkosti hnízd hostitelů přímo v rákosovém porostu.

Kukačka obecnou řadíme mezi středně velké ptáky, v dospělosti váží 90–130 g (Mikulica a kol. 2017) a dorůstá 33 cm délky těla (Payne 2005, Mikulica a kol. 2017). Tyto proporce byly dříve považovány za neslučitelné s parazitací dutinových hnízd

prostřednictvím přímého kladení (*direct laying*; **Příspěvek I**), tedy v sedě jako jakýkoliv jiný pták. Tuto představu jsme však spolehlivě vyvrátili při nejmenším v případě hnízdnic budek rehků zahradních, kde touto metodou kladlo vejce přibližně 25 % (n = 63) kukaččích samic a některé z nich během této činnosti prokazovaly mimořádnou obratnost (**Příspěvek I**). Rovněž dlouhá a zašpičatělá křídla s rozpětím 54–60 cm (Svensson a kol. 2012) dělají z kukačky navzdory její relativní mohutnosti dobrého a obratného letce a to i na velké vzdálenosti (Mikulica a kol. 2017). Létá s dopředu mířícím zobákem a pravidelnými rázy křídel, křídly však většinou mává pod vodorovnou osou těla, čímž se výrazně odlišuje od podobně vypadajících ptáků (Svensson a kol. 2012). Svým výrazným pruhováním a celkovým vzezřením připomíná dravce, což je považováno za součást Batesovských mimikry, kterými se může chránit před ptačími predátory (Wyllie 1981), ale rovněž klamat ostatní ptačí druhy a především tak snižovat agresivitu hostitelů při obraně hnízd během parazitace (Trnka a Grim 2014, Liang a Møller 2015).

Dospělí samci mají vždy monotónně břidlicově šedou vrchní část těla včetně hrudi a bíle skvrnitý ocas, zato samice mohou kromě šedé nabývat také různých odstínů hnědé barvy až po kompletně rudo-hnědou (Mikulica a kol. 2017). Často potom mluvíme o samičím barevném dimorfismu a rozlišujeme tak šedou a hnědou kukaččí formu (Trnka a kol. 2015, Mikulica a kol. 2017). Podle Trnky a kol. (2015) by šedá kukaččí forma mohla svým vzhledem napodobovat krahujece obecného (*Accipiter nisus*), zatímco hnědé varianty jsou spíše projevem přetrvávání juvenilních znaků do dospělosti (tzv. neotenie) a mohou tak vést k dalšímu zmatení hostitele a snížení intenzity jeho hnízdní obrany. Tématem nenápadnosti kukaččích samic během parazitace hostitelských hnízd se částečně zabýváme v prvním rukopisu (**Příspěvek I**), kde mimo jiné hodnotíme vliv jednotlivých metod kladení použitých kukačkou při parazitaci na opouštění hnízd (*nest desertion*) rehků, pro které je hlavním podmětem k této reakci pravděpodobně spatření kukaččí samice v hnízdě a její identifikace jako parazitické hrozby.

Kukačka obecná se živí především housenkami motýlů a můr (Lepidoptera), které mohou být jakéhokoliv typu, tedy včetně (nikoliv výhradně) těch chlupatých (Wyllie 1981, Davies 2000). Méně často potom loví blanokřídlý (Hymenoptera), dvoukřídlý (Diptera) a rovnokřídlý (Orthoptera) hmyz a pavouky (Araneae). Prakticky identickou stravou jsou krmeny dospívající kukačky během pohnízdni péče pěnky obecné (**Příspěvek V**), což dokládá potenciálně mimořádnou vhodnost tohoto hostitele pro kukačku obecnou. Mezi další potvrzené složky kukaččí potravy však patří také polokřídlý (Hemiptera) hmyz, brouci (Coleoptera) a jejich larvy, vážky a motýlice (Odonata), jepice (Ephemeroptera), škvoři (Dermaptera), stonožky (Chilopoda) plži (Gastropoda), kroužkovci (Annelida) vzácněji i bobule, semena a pupeny rostlin (Wyllie 1981, Payne 2005).

Jak již bylo zmíněno výše, významnou složku kukaččí potravy tvoří chlupaté a jedovaté housenky několika druhů můr, které jsou pro své obranné mechanismy ignorovány většinou ptačích druhů a mohou při přemnožení poškozovat např. borovicové a dubové porosty (Mikulica a kol. 2017). Kukačky totiž dokáží pomocí zobáku a větví stromů vymačkat toxický a nestravitelný obsah housenčích vnitřností pocházející z listů rostlin (Payne 2005). Navíc se dokáží pomocí silné výstelky žaludku ubránit i nestravitelným a často jedovatým housenčím chloupkům, které nakonec vyloučí z těla v podobě vývržků (Payne 2005). V nezvyklých potravních biotopech, jako jsou například mokřady, se mohou kukačky živit dokonce i malými žabkami (Mikulica a kol. 2017) a velmi pravděpodobně i jinými drobnými obratlovci (viz Grim a kol. 2017). Kukaččí samice také pravidelně konzumují ptačí vejce (Wyllie 1981, Payne 2005), což jsme zdokumentovali i v případě dutinových hnízd rehků zahradních (**Příspěvek I**), či dokonce mlád'ata menších pěvců (Wyllie 1981, Payne 2005, Mikulica a kol. 2017).

Kukačka obecná se v době hnízdění jejích hostitelů vyskytuje napříč Palearktickou oblastí od Britských ostrovů a oblast Středozevního moře přes Blízký východ až po Indii, Jihovýchodní Asii, Japonsko a Kurilské ostrovy (Payne 2005). V rámci indického subkontinentu se kukačka obecná rozmnožuje především v oblasti Balúčistánu, severního Pákistánu, Himálaje a v oblasti severovýchodní Indie (Grimmett a kol. 1999). Některé asijské populace a poddruhy kukačky obecné pravidelně přezimují v Indii, Jihovýchodní Asii a Africe, ale mohou se za tímto účelem vyskytovat i na Maledivách, Srí Lance, Andamanských ostrovech či v Indonésii (Payne 2005).

Evropské populace kukačky obecné přilétají na svá rozmnožovací stanoviště v dubnu a zdržují se zde zpravidla do září (Svensson a kol. 2012). Už v červenci však mohou první dospělé kukačky migrovat na vzdálenost více než 3000 km přes oblast Středozevního moře a Sahary do zimovišť v rozlehlé oblasti subsaharské Afriky, včetně Jihoafrické republiky (Payne 2005), kde také přepeřují (Mikulica a kol. 2017). Mladé kukačky zůstávají v Evropě zpravidla o měsíc déle než jejich biologičtí rodiče (Payne 2005) a jak jsme zjistili během studia jejich pohnízdni fáze u rehků zahradních (**Příspěvek IV**), tak se i 20 dní po vylétnutí z hnízda vyskytují v jeho těsné blízkosti (tj. do vzdálenosti menší než 800 m). Dalších přibližně 20 dní se tyto finské (rehčí) kukačky pohybují v oblasti do 100 km od hnízda a teprve potom zahajují pravou migraci na africká zimoviště v Angole a na území obou Konžských republik (Vega a kol. 2016). Na základě výsledků satelitní telemetrie dnes víme, že kukačka obecná tráví migrací větší část každého roku svého života (Payne 2005, Vega a kol. 2016) a rovněž po zbytek času je neustále v pohybu s krátkými přestávkami na přepeření a rozmnožování a řadí se tak mezi potulné (nomadické) druhy (Mikulica a kol. 2017).



Evropští samci přilétají z afrických zimovišť koncem dubna, tedy asi o týden dříve než samičky a začínají si hájit svá několik desítek ha velká rozmnožovací teritoria (Nakamura a Miyazawa 1997, Nakamura a kol. 2005) specifickým dvouslabičným (při vyrušení i trojslabičným) voláním (tzv. „kukáním“) s důrazem na první slabiku (Svensson a kol. 2012). Tímto hlasovým projevem zároveň lákají samice, přičemž vyhledávají vyvýšená místa, na kterých posedávají se svěšenými křídly a mírně zdviženým ocasem (Svensson a kol. 2012). Samice si rovněž specifickým, rychlým, hlasitým bublavým trylkem tzv. „proubláváním“ (Svensson a kol. 2012) vymezují okrsky pro kladení vajec (Mikulica a kol. 2017), které mají podobnou rozlohu jako ty samčí a částečně se s nimi překrývají (Nakamura a Miyazawa 1997, Nakamura a kol. 2005). Poměrně nezvyklé chování z hlediska vokálních projevů kukaččích samic během a bezprostředně po parazitaci hostitelských hnízd jsme zaznamenali v **Příspěvku I**, kde také detailněji diskutujeme funkci a možný strategický význam těchto projevů.

Každý kukaččí jedinec má navíc striktně oddělenou oblast určenou pro rozmnožování od oblasti pro hledání potravy a nocování, které od sebe mohou být vzdálené i několik kilometrů (Nakamura a Miyazawa 1997, Nakamura a kol. 2005). Domovské okrsky celkové působnosti jednotlivců mohou mít ve výsledku několik km<sup>2</sup> a vzájemně se překrývají napříč oběma pohlavími. Z tohoto důvodu zde může docházet ke značné promiskuitě, přičemž ke kopulaci dochází zpravidla časně ráno a to v rámci rozmnožovacích okrsků samic (Nakamura a kol. 2005). V některých systémech proto rovněž dochází k častému kladení několika samic do jednoho hostitelského hnízda (Nakamura a Miyazawa 1997, Nakamura a kol. 2005, Mikulica a kol. 2017). Míra těchto překryvů je však dána hierarchií a dominancí v rámci obou pohlaví, takže někteří jedinci přispívají do genofondu populace více než jiní (Nakamura a kol. 2005). Parazitaci jednoho hostitelského hnízda hned několika kukačkami, ale i existenci samičích okrsků, jsme rovněž zdokumentovali u rehků zahradních, kde se navíc jednotlivé samice pravděpodobně lišily v používání pro ně specifického způsobu kladení vajec (**Příspěvek I**).

Pro kukaččí samici je během parazitace velice důležité, aby se trefila do správné fáze kladení vajec hostitelem, což je značně komplikováno tím, že čerstvě oplodněné vejce může být sneseno až následující den a to často po sérii neúspěšných parazitických pokusů odražených hostitelskou obranou (Chance 1922, Nakamura a kol. 2005, Payne 2005). Když totiž kukačka naklade vejce příliš brzo, tedy do prázdného hnízda, hostitel může snadněji zaznamenat hrozbu a vejce odmítnout (Davies 2000, **Příspěvek I**). Pokud však vhodnou dobu propásne a nestihne naklást před kompletací snůšky, mohlo by se její mládě vylíhnout později než mlád'ata hostitelů, což zpravidla znamená jeho uhynutí v důsledku přílišné

potravní konkurence, kterou už nedokáže eliminovat svým pozdě zahájeným vytlačovacím instinktem (**Příspěvky II a IV**).

Z tohoto důvodu samice monitoruje vhodná hnízda k parazitaci už v době jejich výstavby a to pozorováním aktivity jednotlivých hostitelských párů ze svých oblíbených stromů (Davies 2000, Honza a kol. 2002). Samice je tak schopna zmapovat většinu hostitelských hnízd na lokalitě, z nichž ale nakonec parazituje především ta nejvhodnější a nejlépe synchronizovaná (Nakamura a kol. 2015). V našem kukačko-rehčím systému jsme dokonce zaznamenali kladení kukaček (5 % případů) do naprosto prázdných hnízdních budek či nedostavěných rehčích hnízd (**Příspěvek I**), což mohlo být způsobeno právě momentálním nedostatkem vhodných hnízd pro parazitaci.

Během monitoringu hostitelských hnízd může kukačka rovněž regulovat počet hostitelských vajec a zároveň doplňovat potřebné živiny částečnou či kompletní predací hostitelských snůšek (Moksnes a kol. 2000; vlastní dosud nepublikovaná data). Kukaččí samice navíc během samotného procesu parazitace, obvykle odnese či přímo na místě zkonsumuje jedno až dvě hostitelská vejce (Wyllie 1981, Brooke a Davies 1988, Øien a kol. 1995, Moksnes a kol. 2000, Wang a kol. 2020, **Příspěvek I**), čímž patrně snižuje riziko rozpoznání změny počtu vajec hostitelem. Dalším vysvětlením může být snížení potravní konkurence ze strany hostitelských mlád'at (Šulc a kol. 2016), či redukce budoucího vytlačovacího úsilí kukaččího mláděte (*help to the parasitic chick hypothesis*; Grim a kol. 2009b, Wang a kol. 2020). Jiný pohled na toto chování nabízí příležitost doplnění vápníku, který kukaččí samice potřebuje pro tvorbu velkého množství parazitických vajec (*free meal hypothesis*; Šulc a kol. 2016).

Nicméně Wang a kol. (2020) zaznamenali odnášení hostitelských vajec z hnízda pouze u poloviny případů kukaččího kladení, přesto že většina kukaček v hnízdě hostitelova vejce uchopila, a proto tento jev pokládají spíše za vedlejší produkt urychlení samotné parazitace (*delivery hypothesis*). V dutinových hnízdech rehků zahradních jsme podobně zaznamenali, že pouze 19 % (n = 63) kukaček se pokusilo o odnesení jednoho hostitelova vejce během vlastního kladení a pouze 8 % z těchto 63 samic v této činnosti uspělo (**Příspěvek I**). V našem případě však podle okolností jednotlivých kladení šlo zcela jistě o důsledek obtížnosti parazitace dutinového hnízda (viz **Příspěvek I**).

Kukačka obecná nejčastěji parazituje hnízda ve stádiu jednoho či dvou hostitelských vajec a to především v odpoledních hodinách a obden (Chance 1940, Wyllie 1981, Davies a Brooke 1988, Moksnes a kol. 2000, Wang a kol. 2020), což jsme potvrdili i v případě našeho kukačko-rehčím systému (**Příspěvek I**). Samotný proces parazitace trvá zpravidla několik vteřin (Chance 1922, Wyllie 1981, Davis 1996, Payne 2005, Wang a kol. 2020) a to je výrazně méně než doba potřebná ke snesení vejce u většiny kukaččích hostitelů (tj. 20–60

minut; Davies 2000), kteří obvykle kladou svá vejce ráno (**Příspěvek I**). V některých kukačko-hostitelských systémech však může být doba parazitace prodloužena i na několik minut (Moksnes a kol. 2000, Andou a kol. 2005). Rovněž u rehků zahradních jsme u některých kukaččích samic zaznamenali velké komplikace během kladení do dutin a tím i několikanásobně delší pobyt v hnízdě v řádu minut, ale výjimečně i desítek minut až jedné hodiny (**Příspěvek I**). Jiné samice však byli schopny úspěšně naklásť vejce a opustit hnízdo během několika vteřin, kdy všechno záleželo na použité metodě kladení a zároveň na šikovnosti konkrétní samice (**Příspěvek I**). Co možná nejkratší doba kladení totiž snižuje pravděpodobnost spatření kukačky v hnízdě hostitelem a tak i riziko odmítnutí parazitického vejce (Davies a Brooke 1988, Moksnes a Røskoft 1989, **Příspěvek I**).

Kukaččí samice může během jedné reprodukční sezóny naklásť 8–25 vajec (Chance 1940, Wyllie 1981, Davies 2000, Nakamura a kol. 2005) v závislosti na její konkurenceschopnosti a dostupnosti hnízd (Chance 1940, Nakamura a kol. 2005, Payne 2005). Nicméně Schulze-Hagen a kol. (2009) ve své důkladné revizi znalostí o kukačce uvádějí mnohem střízlivější odhad vrozmezí 2–15 vajec, který odůvodňují především metodologickými chybami dřívějších prací. Obecně se má za to, že kukačka klade vejce klasickým přímým způsobem (*direct laying*; **Příspěvek I**) do otevřených hnízd, ale jak přesně dostává svá vejce do kotlinek, pro tento způsob kladení naprosto nepřístupných hnízd, bylo dosud zcela nejasné (Wyllie 1981, Davies 2000, Payne 2005, Schulze-Hagen a kol. 2009, **Příspěvek I**). Pomocí videokamer v hnízdních budkách rehků zahradních jsme však zaznamenali hned tři různé metody kladení vajec kukačkou (tzv. „*projecting*“, „*dropping*“ a „*direct laying*“), čímž jsme definitivně potvrdili existenci a funkčnost těchto strategií v prostředí dutinových hnízd (**Příspěvek I**).

Kukačka se řadí mezi tzv. „stanovištní generalisty“ (*habitat generalists*), její ekologická nika kopíruje potřeby hostitelů a proto je také vhodným bioindikátorem ztrát přirozených hnízdních biotopů pěvců (Mikulica a kol. 2017). V Evropě kukačky nejčastěji parazitují hnízda hostitelů v rozmezí května a června a kukaččí vejce zde bylo nalezeno v hnízdech více než 125 druhů pěvců, z nichž je ale pravidelně parazitována pouze malá část (Moksnes a Røskoft 1995a, Moksnes a kol. 2013). Příležitostní hostitelé (viz **Příspěvek V**) jsou pravděpodobně využíváni, především pokud dojde k vyčerpání lokálního zdroje dostupných hnízd obvyklého hostitele, pokud je konkrétní kukaččí samice vychována neobvyklým hostitelem dané kukaččí ekologické rasy, nebo pokud je tento neobvyklý hostitel nejrozšířenějším hnízdičem v daném kukaččím teritoriu (Wyllie 1981).

Obecně se jako nejvhodnější hostitelé pro kukačku jeví hmyzožraví pěvci, zatímco ti semenožraví jsou považováni za méně vhodné či přímo nevhodné (např. *Carduelinae*) z důvodu složení potravy, kterou krmí mlád'ata (Davies a Brooke 1989, Øien a kol. 1995).

Nicméně některé anatomické a fyzikální překážky jako jsou např. dutinová hnízda s příliš malými vchody pro únik dospívajících kukaččích mláďat (Liang a kol. 2016; viz také oddíl 3; **Příspěvek I**), umožňují svým uživatelům (např. Paridae) uniknout kukaččímu parazitismu i přesto, že by jinak mohli patřit mezi vhodné hostitele (Øien a kol. 1995, Grim a kol. 2014, Liang a kol. 2016). Podobně jsou na tom větší druhy pěvců, které disponují velkými vejci a hlubokými hnízdními kotlinkami (např. *Turdus* spp.). Kombinace těchto vlastností znemožňuje čerstvě vylíhnutým kukačkám zbavit se silné potravní konkurence v hnízdě a způsobuje tak jejich uhynutí (Moksnes a kol. 1991a, Grim a kol. 2011). Tyto fyzikální překážky jsou však na rozdíl od užívání dutinových hnízd považovány za přirozené a tak se obecně předpokládá, že tyto větší druhy pěvců nikdy neprošly koevoluční interakcí se samotným parazitem (Moksnes a kol. 1991a, Øien a kol. 1995). Každá kukaččí samice totiž parazituje pouze toho hostitele, u kterého se sama vylíhla a kterým byla vychována (Gibbs a kol. 2000, Payne 2005).

Frekvence parazitismu se u nejběžnějších kukaččích hostitelů v rámci Evropy významně liší napříč jednotlivými regiony (Wyllie 1981]. Například mezi nejčastěji parazitované druhy v České republice patří červenka obecná (*Erithacus rubecula*), rehek zahradní, konipas bílý (*Motacilla alba*), ťuhýk obecný (*Lanius collurio*), budníček lesní (*Phylloscopus sibilatrix*), pěnice slavíková (*Sylvia borin*) a rákosník obecný (*Acrocephalus scirpaceus*; Hudec 1983). Přičemž července, rehkovi a konipasovi náleží až 70 % ze všech nalezených parazitovaných hnízd (Davies 2000). Ve Finsku, tedy v oblasti zahrnující naši studijní lokalitu (viz oddíl 3), patřilo celkem 60 % z nalezených parazitovaných hnízd rehkovi zahradnímu, konipasovi bílému, pěnkavě jikavci (*Fringilla montifringilla*), budníčkovi většímu (*Phylloscopus trochilus*) a budníčkovi menšímu (*Phylloscopus collybita*; Davies 2000). Téměř všichni tito hlavní hostitelé mají otevřená hnízda a hnízdí v nízké vegetaci či na zemi s výjimkou konipasů bílých hnízdících ve výklencích a polodutinách a námi studovaných rehků zahradních (**Příspěvky I-IV**), kteří využívají širokou škálu dutin (viz oddíl 1.2.3; **Příspěvek I**).

Na základě kombinace dat pocházejících z pozorování ptáků a ptačích hnízd (*birding*) a ze sbírání ptačích vajec pro muzejní a vědecké účely (*egg collecting*) dospěl Davies (2000) k 29 nejvýznamnějším evropským hostitelům kukačky obecné, kterými jsou: rákosník obecný, rákosník velký (*Acrocephalus arundinaceus*), rákosník proužkovaný (*Acrocephalus schoenobaenus*), rákosník zpěvný (*Acrocephalus palustris*) a strnad rákosní (*Emberiza schoeniclus*) v mokřadech; linduška luční (*Anthus pratensis*), linduška lesní (*Anthus trivialis*) a bramborníček hnědý (*Saxicola rubetra*) na vřesovištích; konipas bílý, konipas luční (*Motacilla flava*) a strnad obecný (*Emberiza citrinella*) v zemědělské krajině; ťuhýk obecný, pěvuška modrá (*Prunella modularis*), střízlík obecný (*Troglodytes*

*troglydytes*), červenka obecná, rehek zahradní (**Příspěvky I-IV**), lejsek šedý (*Muscicapa striata*), konopka obecná (*Linaria cannabina*), zvonek zelený (*Carduelis chloris*), pěnkava obecná (*Fringilla coelebs*; **Příspěvek V**), pěnkava jikavec, pěnice slavíková, pěnice hnědokřídlá (*Sylvia communis*), pěnice černošedá (*Sylvia atricapilla*), pěnice pokřovní (*Sylvia curruca*), pěnice vlašská (*Sylvia nisoria*), budníček větší, budníček menší a budníček lesní v prostředí křovin, stromů a lesních porostů.

Samotná kukaččí vejce jsou vzhledem k velikosti těla tohoto ptačího druhu relativně malá a velikostí, tvarem, zbarvením a skvrnitostí se v důsledku koevoluce obvykle podobají vejším hostitele (Davies a Brooke 1988, Alvarez 2000). Napříč jednotlivými populacemi v rámci celého kukaččího rozšíření jsou tato vejce také výrazně polymorfní ve svém základním zbarvení (modrá, zelená, bělavá, růžová, hnědá) a komplikovanosti vzorů od čistých vajec, přes malé a řídké rozmístěné skvrnky, až po husté vzory a komplikované kresby (Davies 2000, Payne 2005). Celkem 77 % kukaččích vajec nalezených v hnízdech evropských pěvců v těchto faktorech věrně imitovalo hostitelská vejce (Payne 2005), což vedlo k podrobnějším výzkumům, na jejichž základě bylo rozlišeno 17–20 kukaččích ekologických ras (tzv. „gentes“; Fossøy a kol. 2011, Moksnes a kol. 2013) včetně té kukačko-rehčí snášejíci bledě modrá vejce beze skvrn (Fossøy a kol. 2016, **Příspěvky I-IV**). Jednotlivé kukaččí ekologické rasy jsou tak adaptovány k parazitaci konkrétního hostitele (Moksnes a Røskaft 1995b) či malého okruhu příbuzných druhů s podobnými vejci (Fossøy a kol. 2011). Výjimku v tomto schématu však představuje Asie. Například v Číně vytváří dutinový hostitel rehek mongolský (*Phoenicurus aureus*) polymorfní populaci, jejíž zástupci snášejí jak modrá tak i bílá vejce a kukačka obecná úspěšně parazituje jedince s oběma formami vajec přesto, že sama vytváří pouze modrou formu mimikry (Yang a kol. 2016). Naopak v Japonsku se kukaččí vejce zpravidla nikdy nepodobají vejším parazitovaných druhů (Higuchi 1998, Nakamura a kol. 1998, Payne 2005).

Další pozoruhodnou vlastností kukaččích vajec je silnější skořápka, která má navíc vyšší hustotu a obsah uhličitanu vápenatého než je obvyklé u hostitelských druhů (Honza a kol. 2001b). To může být výsledkem adaptace proti jejich rozbití během extrémně rychlého kladení (Soler a Martínez 2000, **Příspěvek I**), či naopak adaptace za účelem poškození některých hostitelských vajec (Ellison a kol. 2019) a tím buď redukce případné konkurence ze strany hostitelských mlád'at, nebo zvýšení pravděpodobnosti úspěšné inkubace parazitického vejce a vylíhnutí kukaččího mláděte (Soler a Martínez 2000, **Příspěvky I a II**). Nevýhodou této kukaččí adaptace je však větší množství energie potřebné k prolomení silné skořápky parazitickým mládětem během líhnutí (Honza a kol. 2001b). Dalším vysvětlením odolnosti kukaččího vejce může být obrana proti možnému rozklování hostitelem (*puncture ejection*; Davies a Brooke 1989). To je totiž vedle vyhození vejce z hnízda (*grasp ejection*), či

zastavení vejce novým hnízdním materiálem (*egg burial*; Guigueno a Sealy 2010), jednou z nejčastějších forem odmítnutí parazitického vejce po jeho rozpoznání hostitelem (Davies a Brooke 1989).

Ve většině z dosud známých kukačko-hostitelských systémů se úspěšný kukaččí parazitismus obvykle vyznačuje nulovým reprodukčním úspěchem majitelů zasažené hostitelské snůšky (Wyllie 1981). Takto enormní parazitický tlak vede k selekci obranných mechanismů u hostitelů, z nichž kromě výše uvedených (na úrovni vajec) patří také agresivní chování při obraně hnízda (*nest defence*; Welbergen a Davies 2009) a opuštění hnízda hostitelem (Davies a Brooke 1989; Moksnes a kol. 1991a,b, 2000, 2013; Røskaft a kol. 2002; Stokke a kol. 2002, **Příspěvek I**). Agresivita proti dospělým kukačkám představuje vůbec první linii hostitelské obrany proti hnízdnímu parazitismu (Grim a Rutila 2017). Nicméně pouze u dvou druhů (tuhýk obecný, rákosník velký) z pravidelných kukaččích hostitelů byla dosud zaznamenána schopnost kukačku skutečně zranit (Trnka a Grim 2013) či ji dokonce usmrtit (Šulc a kol. 2020) a tak ji i fyzicky zabránit v parazitaci hnízda. V našem kukačko-rehčím systému jsme zaznamenali pouze dezerci hnízd, která byla s největší pravděpodobností spouštěna spatřením kukačky v hnízdě během parazitace (**Příspěvek I**).

Inkubační doba kukaččího vejce se udává v rozmezí 12–14 dní (Wyllie 1981) a úspěšnost líhnutí kukaččích vajec nabývá například v kukačko-rehčím systému přibližně 80 % ( $n = 101$ ; Samaš a kol. 2016). Vzhledem k tomu, že jsou kukaččí vejce částečně předinkubována již v těle samice a kukačka tak snáší vejce s již částečně vyvinutím embryem, tak se parazitické mládě líhne zpravidla dříve než potomci hostitelů (Birkhead a kol. 2011, viz ale **Příspěvek II**).

Pro zdravý vývoj kukaččího mláděte je nezbytné, aby si uzurpovalo co největší množství potravy přinášeného pěstouny do hnízda (Šulc 2016). Proto můžeme u kukaček pozorovat tzv. „vytlačovací chování“ (*eviction behaviour*), které se u nich začíná projevovat již několik hodin po jejich vylíhnutí (Honza a kol. 2007). Malý parazit následně i několik dní tlačí proti všem předmětům v hnízdě, kterých se dotkne zády (Honza a kol. 2007) a u většiny hostitelů vytlačí z hnízda veškeré jejich potomstvo (Payne 2005). To ovšem neplatí v kukačko-rehčím systému, kde podmínky dutinového hnízda přibližně v 20 % případů způsobují vznik smíšených snůšek (*mixed broods*; Samaš a kol. 2016), ve kterých je kukaččí parazit sice znevýhodněn, ale přesto může přežít minimálně do osamostatnění (**Příspěvky II–IV**).

Dostatek potravy kukaččímu mláděti v těchto podmínkách zajišťuje především mimořádně intenzivní žadonění (*begging calls*), které je svou frekvencí a hlasitostí (viz také **Příspěvek V**) obvykle srovnatelné s celou hostitelskou snůškou (Davies a kol. 1998) a jinak

je prakticky k nerozeznání napříč různými kukačko-hostitelskými systémy (Butchart a kol. 2003). Bezprostředně po vylíhnutí se hmotnost kukaček (2,6 g, n = 16, Honza a kol. 2001b; 3,6 g, n = 70, vlastní dosud nepublikovaná data) řádově neliší od hmotnosti mlád'at jejich největších běžných hostitelů (rákosník velký: 2,1 g, n = 16; Honza a kol. 2001b) ani od mlád'at rehků zahradních (1,8 g, n = 509; vlastní dosud nepublikovaná data). Hmotnost kukačky v době jejího vyvedení z hnízda se však pohybuje v rozmezí 80–100 g (Payne 2005, **Příspěvek I**). Dospívající kukačka je tak zpravidla šestkrát těžší a mohutnější než její rehčí pěstoun (15,3 g, n = 43; **Příspěvek II**), či dospívající rehčí mládě (**Příspěvek IV**). Výchova takto obřího kukaččího mláděte je proto z energetického a časového hlediska obecně považována za mnohem náročnější pro hostitele než výchova jejich vlastních mlád'at (Trnka a Grim 2014). V případě kukačky obecné a rehka zahradního jsme však tento zažitý předpoklad vyvrátili (**Příspěvky II a III**).

Hnízdní perioda kukačky obecné trvá většinou 17–20 dní podle hostitele a zeměpisné šířky (Payne 2005), přičemž pohnízdni péče probíhá další 2–3 týdny (Wyllie 1981, Payne 2005), což je v souladu s našimi zjištěními u rehka zahradního (**Příspěvky II a IV**). Míra přežívání parazitických mlád'at nabývá různých hodnot napříč různými hostitelskými systémy (Payne 2005). Například míra přežívání kukaček na konci pohnízdni fáze u rákosníka obecného činí 22 % (n = 74 %; Wyllie 1981). Přežívání na konci hnízdní fáze u rehků zahradních nabývá hodnoty 83 % (n = 81; Samaš a kol. 2016) a na konci pohnízdni fáze 38 % (n = 29; **Příspěvek IV**). Nicméně Vega a kol. (2016) zaznamenali pouze 20 % (n = 5) míru přežívání kukaček v průběhu jejich první podzimní migrace. Další data však bohužel chybí a proto dosud nemůžeme spolehlivěji odhadnout reprodukční úspěch kukačky obecné u žádného dosud studovaného hostitele a tím ani predikovat vývoj jednotlivých populací (**Příspěvek IV**).

### 1.2.1 Poddruhy kukačky obecné

Latinský název kukačky obecné je odvozen z výrazu pro píseň či melodii (tj. *canorus*) a v rámci tohoto druhu literatura rozlišuje osm poddruhů (Wyllie 1981, Payne 2005). Z nichž *Cuculus canorus subtelephonus* Zarudny, 1914; *Cuculus canorus johanseni* von Tschusi, 1903; *Cuculus canorus bakeri* Hartert, 1912; *Cuculus canorus telephonus* Cabanis a Heine, 1863 a *Cuculus canorus fallax* Stresemann, 1930, jsou svým rozšířením omezeny čistě na Asijský kontinent a od našeho poddruhu *C. c. canorus* se odlišují zpravidla menším vzrůstem, jiným odstínem svrchní části těla a jinou šířkou a někdy i zbarvením tmavých proužků na jinak bílé spodině těla (Payne 2005).

Mezi podruhy s evropským výskytem řadíme *Cuculus canorus bangsi* Oberholser, 1919, který dorůstá menší velikosti než *C. c. canorus* a jádrem jeho výskytu je především Pyrenejský poloostrov, Bleárské ostrovy, Maroko, Alžírsko a Tunisko (Payne 2005). Wyllie (1981) uvádí jako samostatný poddruh také tmavěji zbarvenou *Cuculus canorus kleinschmidti* Schiebel, 1910, s výskytem omezeným pouze na Korsiku a Sardinii.

Poddruhem, kterým se zabývám v této disertační práci (**Příspěvky I-V**) je však *Cuculus canorus canorus* (Linnaeus, 1758), který se od ostatních odlišuje především největším vzrůstem, tmavě popelavě šedým zbarvením pláště a černo-bílým proužkováním spodiny těla o přibližně stejné šířce proužků obou barev. Tento poddruh se v rámci Evropy vyskytuje na západ od Pyrenejí, včetně Britských ostrovů, Skandinávie a oblasti Středozemního moře. V Asii dále obývá oblast od Blízkého východu přes Sibiř po Japonsko, Jižní Koreu a Čínu (Payne 2005).

### **1.2.2 Vznik a udržování kukaččích ekologických ras poddruhu *C. c. canorus***

Jak jsem již zmínil výše, vejce kukačky obecné byly v rámci Evropy nalezeny v hnízdech více než 125 ptačích druhů (Moksnes a Røskaft 1995a, Moksnes a kol. 2013), nicméně pravidelně parazitovaných je pouze 29 z nich (Davies 2000). V důsledku koevolučních závodů ve zbrojení mezi těmito nejčastěji parazitovanými druhy a kukačkou obecnou došlo k postupné specializaci kukaččích samic na konkrétní hostitele a tím k vytvoření přibližně 20 evropských ekologických ras (*gentes*; Moksnes a kol. 2013).

Na počátku této koevoluce můžeme předpokládat absenci, nebo nízkou úroveň obrany nově parazitovaného hostitele, tak jak to pozorujeme u některých současných populací pěvců, které nejsou parazitovány a s hnízdním parazitem pravděpodobně nikdy nepřišly v užší interakci (Davies a Brooke 1989, Briskie a kol. 1992, Grim a kol. 2011). Parazitismus je už z vlastní definice pro hostitele škodlivý a hnízdní parazitismus především u naivních hostitelů často způsobuje, že se během hnízdní sezóny vůbec nerozmnoží (Honza a kol. 2007, Spottiswoode a Koorevaar 2012). To vytváří enormní selekční tlak na hostitelský druh, u kterého se tak časem vyvine protiparazitická obrana a to nejčastěji v podobě rozeznávání a odmítání vajec odlišných od jejich vlastních (Avilés a kol. 2010, Spottiswoode a Stevens 2010). Přírodní výběr proto upřednostňoval parazitické jedince snázející co nejvíce podobná (mimetická) vejce těm hostitelským (Šulc 2016).

Z tohoto důvodu můžeme většinu kukaččích ekologických ras rozlišit na základě jejich vajec (*egg-mimicry races*; Gibbs a kol. 2000, Antonov a kol. 2010, Fossøy a kol. 2011), která mají specifickou a konstantní podobu (Moksnes a Røskaft 1995a, Moksnes a kol. 2013)



a která více či méně dokonale imitují vejce jejich cílového hostitele či úzké skupiny hostitelů (Chance 1940, Baker 1942, Moksnes a Røskaft 1995a, Davies 2000). Různé kukaččí rasy se mohou navzájem vyskytovat v sympatrii (Honza a kol. 2002; Antonov a kol. 2010, Fossøy a kol. 2011), ale mohou být také výrazně geograficky separovány (Davies 2000), nebo se vyskytují pouze v určitých částech celkového rozšíření jejich hostitele (Stokke a kol. 2007a, Vikan a kol. 2010, Moksnes a kol. 2013). Například nomadický druh pěnkava jikavec (*Fringilla montifringilla*) představuje jednoho z nejčastějších hostitelů kukačky obecné ve Finsku, zatímco její blízký příbuzný a usedlejší druh (*site fidelic species*) pěnkava obecná (*Fringilla coelebs*; **Příspěvek V**) je ve stejné oblasti parazitovaný pouze sporadicky nebo vůbec (Vikan a kol. 2010, 2011; viz ale **Příspěvek V**). Podle Avilése (2008) v jižním Finsku, tedy v oblasti našeho výzkumu (viz oddíl 3), koexistuje dokonce nejméně šest různých ekologických ras kukačky obecné a to konkrétně rehčí (*Phoenicurus*), pěnkaví (*Fringilla*), konipasí (*Motacilla*), linduščí (*Anthus*), lejsčí (*Muscicapa*) a pěničí (*Sylvia*). Nicméně kukačky specializující se na rehy zahradní (*Phoenicurus phoenicurus*) reprezentují díky svým čistě modrým vejcím, která dokonale imitují ta rehčí (Grim a Rutila 2017), jednu z nejsnáze rozlišitelných evropských kukaččích ras (Moksnes a kol. 1995b).

Asi nejvíce uznávaným teoretickým předpokladem vysvětlujícím existenci kukaččích ekologických ras je hypotéza preference hostitele (*host preference hypothesis*; Chance 1940, Baker 1942, Nakamura a Miyazawa 1997, Davies 2000, Gibbs a kol. 2000, Fossøy a kol. 2011). Podle této teorie se mimikry kukaččích vajec vyvinuly přirozenou selekcí v důsledku odmítání odlišně vypadajících vajec hostitelem (Moksnes a kol. 2013). Tyto mimikry jsou s největší pravděpodobností dále udržovány díky tomu, že se geny zodpovědné za podobu vajec nachází kompletně a výhradně na samičím pohlavním W-chromozomu a jsou tak děděny čistě po mateřské linii (Gibbs a kol. 2000, Fossøy a kol. 2016). Zbarvení a vzorování kukaččích vajec proto určuje pouze samičí genom a ani promiskuitní párování se samci o různé genetické příslušnosti nemůže zapříčinit narušení těchto mimikry (Gibbs a kol. 2000, Fossøy a kol. 2016). Pokud by existovala jakákoli paternální dědičnost (tj. přenášená samci) podílející se na fenotypu vajec, potom by se výrazně podepsala na narušení perfektního souladu mezi danou mitochondriální linií a specifickými adaptacemi na cílový hostitelský druh (Fossøy a kol. 2016). Křížení kukaččích samic se samci napříč různými kukaččími ekologickými rasami by naopak vysvětlovalo zachování integrity daného druhu (Marchetti a kol. 1998, Antonov a kol. 2010, Fossøy a kol. 2011). Otázkou ovšem zůstává, na základě jakých mechanismů dokáží kukaččí samice po návratu ze zimovišť identifikovat správného hostitele, aby jejich mimetická vejce nepozbyla svůj účel (Šulc 2016).

Tento problém je nejčastěji vysvětlován pomocí procesu tzv. vtištění identity pěstounů (*host imprinting*) a tedy i celého hostitelského druhu do paměti kukaččích mláďat,

kteřá se tak v dospělosti neomylně vracejí parazitovat stejný druh či dokonce stejnou populaci (Moksnes a kol. 2013). Přesné okolnosti dědičnosti zbarvení vajec a vtištění hostitelského druhu však stále nejsou dostatečně prostudovány (Gibbs a kol. 2000; Fossøy a kol. 2011, 2016).

Jiným vysvětlením by mohla být hypotéza hnízdního stanoviště (*nest site hypothesis*; Moksnes a Røskaft 1995a, viz také Honza a kol. 2001a), kde jednotlivé kukaččí ekologické rasy parazitují spíše celé skupiny hostitelských druhů s podobnými vejci a podobnými hnízdními stanovišti než pouze jeden konkrétní druh (Moksnes a kol. 2013). Podobné vysvětlení nabízí také hypotéza vtištění habitatu (*habitat imprinting hypothesis*; Teuschl a kol. 1998), podle níž si dospělé kukačky stanovují své domovské okrsky pro kladení vajec v habitatech pouze podobných těm, ve kterých se sami vylíhly (Moksnes a kol. 2013). Při hledání vhodných hostitelských hnízd v daném habitatu mají proto kukačky zvýšenou pravděpodobnost parazitace druhu v jehož hnízdě sami přišly na svět (Moksnes a kol. 2013).

Trošku jiné vysvětlení podává hypotéza věrnosti k rodnému stanovišti (*natal philopatry hypothesis*; Brooke a Davies 1991), která nalézá příčinu udržování mimikry vajec v náhodném hledání vhodných hnízd kukačkou přímo na jejím rodném stanovišti (Moksnes a kol. 2013). Pro úspěch této hypotézy je nezbytné, aby se původní hostitelský druh na domovském stanovišti kukačky vyskytoval v nejvyšších hnízdních hustotách, nebo aby byla jeho hnízda pro kukačku nejsnáze detekovatelná. Pokud totiž není většina parazitických vajec nakladena do hnízda jednoho druhu, potom nemůže docházet k dostatečně úzkému koevolučnímu vývoji pro vznik a udržení mimikry vajec (Moksnes a kol. 2013).

Všechny tyto hypotézy byly dosud asi nejkomplexněji studovány v rámci několika navazujících výzkumů zahrnujících hned několik kukaččích hostitelů hnízdicích v těsné sympatrii a to na jižní Moravě a v Bulharsku (Edwardsen a kol. 2001, Honza a kol. 2002, Skjelseth a kol. 2004, Antonov a kol. 2010, Fossøy a kol. 2011). Výše uvedené hypotézy zde byly testovány pomocí několika metod srovnávání vajec (Edwardsen a kol. 2001, Antonov a kol. 2010), telemetrické metody sledování kukaččích samic (Honza a kol. 2002) a analýzou jaderné a mitochondriální DNA kukaččích mlád'at (Skjelseth a kol. 2004, Fossøy a kol. 2011). Hlavním závěrem těchto prací byla podpora hypotézy vtištění identity pěstounů. Nicméně, Moksnes a kol. (2013) poukazují na nutnost uskutečnění komplexní telemetrické studie, která by důkladněji ověřila, zda se kukaččí mlád'ata v dospělosti skutečně vrací parazitovat hostitelský druh, kterým byla sama vychována.

### 1.2.3 Kukaččí ekologická rasa snášejí modrá vejce a její výhradní hostitel

Rehek zahradní (Obr. 1) je jediný pravidelný dutinový hostitel kukačky obecné v Evropě (Grim a Rutila 2017), zároveň však patří mezi 29 nejvýznamnějších evropských kukaččích hostitelů (Davies 2000; viz oddíl 1.2). Rehek zahradní je také považován za hlavního hostitele kukačky obecné ve Finsku (Haikola a Rutila 2008, Mikulica a kol. 2017) a rovněž na naší studijní lokalitě (poblíž obce Utula v jihovýchodním Finsku; viz oddíl 3) představuje tento druh nejhojnějšího (Samaš a kol. 2016) a pravděpodobně jediného pravidelného (Grim a kol. 2014) kukaččího hostitele (viz ale **Příspěvek V**). Z dvaceti dosud identifikovaných kukaččích ekologických ras na evropském kontinentu (Moksnes a kol. 1995a, 2013; viz oddíl 1.2.2) je kukačko-rehčí rasa snášejí modrá vejce jedinou ekologickou rasou, kterou lze kromě podoby vajec rovněž spolehlivě identifikovat na základě genetiky (Fossøy a kol. 2016).



**Obr. 1** Samec (vlevo) a samice rehka zahradního patřící do intenzivně parazitované populace hnízdící v okolí obce Utula v Jižní Karélii (foto: autor práce).

Dokonalé mimikry vajec a absence jejich odmítání hostitelem poukazují na velmi dlouhé koevoluční závody ve zbrojení mezi touto kukaččí ekologickou rasou a jejím rehčím hostitelem (Rutila 2004). Na základě genetické analýzy u 197 evropských kukaččích mlád'at byla délka této koevoluce odhadnuta na nejméně 2,6 milionů let (Fossøy a kol. 2016). Na přibližně toto období byla totiž podle pohlavních samičích W-chromozomů a mitochondriální DNA stanovena existence monofyletické mateřské linie snášejí modrá vejce (Fossøy a kol. 2016). Mitochondriální fylogeneze dále naznačuje původní místo vzniku modrých kukaččích vajec v Asii (Fossøy a kol. 2016, Yang a kol. 2016). Rozšíření analýzy DNA o asijské a africké vzorky totiž ukázalo blízkou příbuznost jedné z mitochondriálních linií poddruhu *Cuculus canorus canorus* zahrnující finskou kukačko-rehčí ekologickou rasu s asijským poddruhem kukačky obecné (*Cuculus canorus bakeri*; viz oddíl 1.2.1). Navíc se

ukázalo, že ostatní evropské kukačky, které kladou skvrnitá vejce, patří do samostatné a naprosto odlišné linie (Fossøy a kol. 2016).

Rehci zahradní krmí svá mláďata především bezobratlými živočichy, což je v kombinaci s jejich hojným výskytem a euroasijským areálem rozšíření hlavním předpokladem pro cílový druh kukaččí specializace (Grim a Rutila 2017). Na rozdíl od ostatních významných hostitelů kukačky obecné se však rehek zahradní vyznačuje hnízděním v dutinách (Samaš a kol. 2016). Druhy s touto hnízdní specializací nejsou považovány za vhodné kukaččí hostitele (Davies a Brooke 1989), protože hnízdní dutiny často znemožňují kukaččím samicím efektivní kladení vajec a mladým kukačkám zdárné vylétnutí z hnízda (Grim a Rutila 2017). Hnízdní dutiny s vchodem menším než 5 cm v průměru navíc způsobují uvěznění a smrt úspěšně vylíhnutých kukaček (Löhrl 1979). Rehci zahradní však využívají rozličné typy zemních nor a štěrbin, stejně jako stromových dutin a puklin (Obr. 2; **Příspěvky I a IV**), včetně těch s dostatečně velkými vchody pro kukaččí parazitaci (von Haartman 1969). To dělá rehka zahradního mnohem zranitelnějším druhem vůči kukaččímu parazitismu než jiné dutinové hnízdiče, kteří jsou věrní bezpečnějším dutinám s menšími vchody (von Haartman 1981, Grim a kol. 2014, Liang a kol. 2016).



**Obr. 2** Vnější a vnitřní pohled na přirozené stromové (nahore) a zemní (dole) dutinové hnízdo rehka zahradního v Utule (viz oddíl 3), přičemž zemní dutina je úspěšně parazitovaná (foto: autor práce).

Míra kukaččího parazitismu (tj. počet případů parazitace z celkového počtu kontrolovaných hnízd výzkumníkem) u rehka zahradního na naší studijní lokalitě v jihovýchodním Finsku činí 33 % (viz oddíl 3; Samaš a kol. 2016), což se velmi podobá parazitické zátěži zaznamenané na dalších intenzivně studovaných lokalitách ve východním (21 %; Rutila a kol. 2002) a severním Finsku (31 %; Thomson a kol. 2016). Takto podobná míra parazitismu na uvedených lokalitách je pravděpodobně dána homogenním hnízdním habitatem rehků zahradních ve Finsku (Grim a Rutila 2017), což je zpravidla otevřený obhospodařovaný jehličnatý les s dominantním druhem borovicí lesní (*Pinus sylvestris*) a velmi řídkým keřovým a nízkým bylinným patrem (Obr. 2, 6 a 10; Rutila a kol. 2002, Samaš a kol. 2016, Thomson a kol. 2016; **Příspěvky IV a V**).

Z 213 kukaččích vajec, které byly zaznamenány v hnízdních budkách rehků na naší studijní lokalitě v průběhu 11 hnízdních sezón (2006–2016), bylo pouze 36% zjištěno uvnitř hnízdních kotlinek (Samaš a kol. 2016). Zbytek kukaččích vajec byl nalezen buď na okraji hnízd (54 %), na zemi pod budkami (5 %), nebo v hnízdním materiálu nedokončených hnízd (5 %; Samaš a kol. 2016). Vzhledem k tomu, že rehci pečují pouze o obsah hnízdní kotlinky (**Příspěvky I–IV**), bylo celkem 64 % potenciálního kukaččího potomstva odsouzeno k záhubě už od samého počátku parazitace. Na základě videonahrávek bylo zjištěno (**Příspěvek I**), že tento kukaččí neúspěch není způsoben odstraňováním parazitických vajec z hnízda rehčími rodiči (Rutila a kol. 2002), tedy jak je to běžné u jiných hostitelů (Wyllie 1981, Davies 2000), nýbrž nesnáze spojenými s kladením do dutinových hnízd (Grim a Rutila 2017, **Příspěvek I**).

Efektivita přirozené obrany plynoucí z této hnízdní strategie se proto jeví být naprosto klíčovou, čemuž nasvědčuje i velmi slabá a neefektivní obrana hnízda (pouze 15 % rehčích rodičů varuje a nalétává na kukaččí atrapu či na parazitující samici; Grim a Rutila 2017, **Příspěvek I**) a absence rozlišování kukaččího vejce a jeho odmítání formou vyhazování z hnízda (Rutila 2004, Samaš a kol. 2016). Naopak bylo zjištěno, že jediným způsobem odmítání kukaččího vejce u rehků zahradních je opuštění hnízda (10 %, n = 63, **Příspěvek I**) a to spíše v reakci na spatření kladoucí kukaččí samice v hnízdní dutině (Grim a Rutila 2017, **Příspěvek I**), než na základě detekce parazitického vejce. Rehci zahradní sice standardně vkládají veškerou energii do jednoho zahrnutí, v případě hnízdní disturbance jsou však schopni zahájit nový hnízdní pokus (Grim a Rutila 2017). Samotná přítomnost dospělé kukačky v hnízdě tak pro rehky představuje varovný signál a může být spouštěcím podnětem k jeho opuštění (Samaš a kol. 2016, **Příspěvek I**). Nešikovné, či příliš dlouhé kladení vajec tak může způsobit, že veškerá kukaččí snaha, energie a evoluční vývoj dokonalých mimikry přijdou vniveč (**Příspěvek I**).

Rehčí kukačky se od většiny jiných kukaččích ekologických ras liší především tím, že nemají skvrnitá vejce (Fossøy a kol. 2016, viz ale Yang a kol. 2010). Vejce rehčích kukaček jsou čistě modrá a perfektně se podobají těm rehčím (Obr. 6; Grim a Rutila 2017) a to bez ohledu na různé přístupy hodnocení této podobnosti jako např. lidským zrakem (Moksnes a kol. 1995b), spektrometrií (Igic a kol. 2012) či modelováním perspektivy ptačího vidění (Avilés 2008). Otázkou však zůstává, jak se mohly vyvinout tak dokonalé mimikry kukaččích vajec přes pouze průměrnou míru (12 %; Hauber a kol. 2014) vyhazování zcela nemimetických vajec rehky zahradními (Rutila 2004).

Tento paradox je vysvětlován koevoluční historií obou interagujících druhů, kdy je současná úroveň mimikry vajec spíše výsledkem minulých úrovní vyhazování vajec než současným stavem hostitelské diskriminace (Davies 2000). Pokud si totiž parazit vyvinul dokonalé mimikry už v minulosti, potom pokusy o vyhození takovýchto vajec hostitelem nutně působily ztráty na jeho vlastních vejcích v důsledku obtížného rozlišování vajec obou druhů (Samaš a kol. 2014, Grim a Rutila 2017). Dřívější chybovost ve vyhazování dokonalé mimetických kukaččích vajec, tak u rehků zahradních mohla vést k nižší fitness alel vyhazujících jedinců, což následně vyústilo k postupnému snižování míry této protiparazitické adaptace až na úroveň současného stavu, tedy úplné akceptace parazitických vajec (Davies 2000, Avilés a kol. 2005). Nicméně občasný výskyt drobných rezavých skvrnek na některých rehčích vejcích (Obr. 3; viz také Fig. 16.1b v Grim a Rutila 2017) a tím se zvyšující vnitrosnůšková variabilita, naznačují vývoj nové úrovně obrany, která může vést ke složitějším vzorům a následně ke složitějším mimikry kukaččích vajec (viz např. Fig. 1 v Yang a kol. 2016).



**Obr. 3** Několik dní staré kukaččí mládě obklopené rehčími vejci, jejichž tradičně čistě modré zbarvení je narušeno výskytem drobných rezavých skvrnek (foto: autor práce).

V kukačko-rehčím systému jsou vejce parazita (průměr = 13,2 dní, n = 51) a hostitele (průměr = 13,7 dní, n = 51) ve stejných parazitovaných snůškách inkubována po velmi podobnou dobu (Samaš a kol. 2016, **Příspěvek II**), čímž se liší od jiných významných kukačko-hostitelských systémů, kde se kukaččí mlád'ata líhnou zpravidla o jeden až dva dny dříve než mlád'ata hostitelů (Davies 2000, Grim a Rutila 2017). Tento pro kukačky neobvyklý jev značně komplikuje úspěch jejich vytláčovacího instinktu, protože tak místo poměrně malých hostitelských vajec musí často vytláčet podobně vzrostlá a vzpírající se rehčí mlád'ata (viz Fig. 16.1c v Grim a Rutila 2017; oddíl 1.2).

Zatímco v systémech s otevřenými hnízdy je kukaččí mládě schopno poměrně rychle (tj. v řádu několika hodin) vytláčit všechna hostitelská vejce či mlád'ata přes okraj hnízda a zbavit se tak potenciální potravní konkurence (Honza a kol. 2007), v rehčích hnízdech (Obr. 4) v tomto smyslu selhává přibližně 20 % kukaččích mlád'at (Samaš a kol. 2016, Thomson a kol. 2016) a dochází tak ke vzniku smíšených snůšek (Grim a Rutila 2017, **Příspěvek II-IV**). Samotný proces vytláčování může být navíc prodloužen až na dobu 7 dní od vylíhnutí parazita, což může zpomalit nárůst hmotnosti kukaččího mláděte až o 25 % (Grim a kol. 2009b). Takto nezvykle dlouhá doba přetrvávání vytláčovacího instinktu však může být adaptací proti strmým stěnám hnízdních kotlinek a ohraničenému prostoru dutinových hnízd rehků, který často způsobuje opětovný návrat vytláčeného mláděte do hnízdní kotlinky (Grim a kol. 2009b, Grim a Rutila 2017).



**Obr. 4** Více než týden staré kukaččí mládě opanující hnízdní kotlinku poté, co se mu podařilo vytláčit a tím odsoudit k záhubě tři rehčí mlád'ata a dvě rehčí vejce (foto: autor práce).

Sdílení hnízda s rehčími mlád'aty má tak silně negativní dopad na růst kukaček, kdežto na vývin rehčích mlád'at nemá tato hnízdní situace významný efekt (Grim a kol. 2009a). Na druhou stranu může mít vliv na selekci zdatnějších a životaschopnějších rehčích mlád'at (Grim a Rutila 2017), která dokáží přežít nejenom kukaččí vytlačovací období, ale mohou být podobně úspěšná i v dalších úsecích svého života (**Příspěvek IV**). Například v naší studii vyskočilo ze smíšených snůšek v průměru 2,3 (n = 10 hnízd) rehčích mlád'at (Obr. 5) a z neparazitovaných hnízd průměrně 5,1 (n = 27 hnízd) rehčích potomků (**Příspěvek IV**), což odpovídá i dříve zaznamenaným výsledkům (Samaš a kol. 2016).



**Obr. 5** Čerstvě vyvedená smíšená snůška tvořená jednou kukačkou (19 dní starou) a celkem třemi rehky zahradními (všichni ve věku 18 dní; další dva jsou mimo záběr). Jedná se o velmi vzácný úkaz, protože rehčí mlád'ata ze smíšených snůšek opouštějí hnízdo zpravidla o týden dřív než kukačky (viz Příspěvek IV; foto: autor práce).

Přestože má vytlačovací chování negativní dopad na růst kukaččích mlád'at, dovedou kukačky kompenzovat tyto ztráty pravděpodobně pomocí intenzivnějšího žadonění o potravu během jejich zbývajících pobytu v hnízdě a opouští tak hnízdo v podobné kondici jako kukaččí mlád'ata experimentálně zbavená vytlačovací povinnosti (Grim a kol. 2009b, Grim a Rutila 2017). Nicméně i v kukačko-rehčím systému platí extrémně slabá konkurenceschopnost kukaččích mlád'at v získávání rodičovské péče v přítomnosti mlád'at hostitelů (Rutila a kol. 2002, Grim a kol. 2009a, Grim a kol. 2011, Grim a Rutila 2017). Kukačky ze smíšených snůšek vykazují o přibližně 25 % nižší hmotnost v době vyskakování



z hnízda než kukačky vyrůstající samostatně (Grim a kol. 2009a, **Příspěvek IV**). Opuštění hnízda nastává u kukaček ze smíšených snůšek rovněž později (o 15 % v Grim a kol. 2009a; o 3 % v **Příspěvku IV**) a také míra přežívání hnízdní fáze může být u těchto kukaček nižší (o 66 %) v porovnání s kukačkami, kterým se podařilo vytlačit všechna rehčí mlád'ata (Grim a kol. 2009a, Grim a Rutila 2017). Nicméně Samaš a kol. (2016) zaznamenali u kukaček ze smíšených snůšek 75% míru přežívání, která se v této studii signifikantně nelišila od 85% míry přežívání kukaček vyrůstajících bez konkurence rehčích mlád'at.

Na rozdíl od jiných kukačko-hostitelských systémů rehčí a kukaččí mlád'ata v hnízdech rehků nereagují na varovná volání (*alarm call*) dospělých rehků utlumením žadonění (*begging*) o potravu (Davies a kol. 2006). Důvodem pro tento rozpor je pravděpodobně mnohem lepší ochrana před predátory v dutinovém hnízdě v porovnání s otevřenými hnízdy jiných tradičních hostitelů (Grim a Rutila 2017).

Dominantní složky potravy, kterou rehčí rodiče krmí vlastní i parazitická mlád'ata, tvoří především hmyz a pavouci, čímž se rehek zahradní významně neliší od jiných pravidelných kukaččích hostitelů (Grim a kol. 2017; viz také oddíl 1.2; **Příspěvek V**). Nicméně Grim a kol. (2017) zaznamenali, že 11 % kukaček a 5 % rehčích snůšek bylo kromě tradiční bezobratlé složky potravy krmeno rovněž plody bobulovin. Přičemž ovocná složka v potravě kukaček byla do té doby zdokumentována pouze u jednoho hostitele a to pěvce ryšavého (*Cercotrichas galactotes*), který je častým hostitelem kukačky obecné na jihu Pyrenejského poloostrova (Martín-Gálvez a kol. 2005). Další netradiční složku potravy představovaly ještěrky, které byly zdokumentovány během krmení u 5 % kukaček a 7 % rehčích snůšek (Grim a kol. 2017). Ještěrky ani žádní další obratlovci nebyli zatím zaznamenáni v potravě mlád'at v žádném jiném kukačko-hostitelském systému (Grim a kol. 2017). Kukačky, které byly krmeny těmito netradičními složkami potravy, vykazovaly o 20 % nižší hmotnost na konci hnízdní fáze a o 20 % delší dobu strávenou v hnízdě než kukačky krmené bezobratlými živočichy (Grim a kol. 2017). Odlišné složky potravy však neměly žádný vliv na vývin rehčích mlád'at a rovněž neovlivňovaly úspěšnost vyskočení z hnízda u kukaček (Grim a kol. 2017).

Kukaččí mlád'ata u rehků zahradních, kterým se podaří vytlačit všechny rehčí potomky, obecně dosahují vyšší hmotnosti při vyskočení z hnízda (někdy i více než 120 g, Grim a kol. 2009a; **Příspěvek IV**: průměr = 98,7 g, variační rozpětí = 80–116, n = 19) než u jakéhokoli jiného kukaččího hostitele (Grim 2006, Grim a Rutila 2017). To může být opět vysvětleno stabilním prostředím dutinových hnízd, které chrání mlád'ata před nepříznivým počasím (Grim a Rutila 2017) a zároveň jim umožňuje prakticky bezrizikové prodloužení hnízdní fáze, což pravidelně pozorujeme především u kukaček ze smíšených snůšek (**Příspěvek IV**). Nicméně 20,3 dní trvající hnízdní perioda kukaččích mlád'at u rehka

zahradního (variační rozpětí = 16–28, n = 41 hnízd, **Příspěvek IV**; viz také Grim a Samaš 2016) spadá do rozmezí (18–22 dní) uváděného pro kukačky v rámci 14 dalších hostitelských druhů (Grim 2006, Grim a Samaš 2016, Grim a Rutila 2017).

Na rozdíl od jiných kukačko-hostitelských systémů (např. rákosníka obecného; viz Wyllie 1981) jsou však některé rehčí kukačky vyrůstající bez rehčí konkurence schopné prvního letu (30 %, n = 23, **Příspěvek IV**; viz také Grim a Rutila 2017) již v den jejich vyskočení z hnízda. To lze opět vysvětlit lepšími a stabilnějšími podmínkami pro vývin a dospívání kukaček v dutinových hnízdech rehků v porovnání s otevřenými hnízdy jiných hostitelů (Grim a Samaš 2016). Je totiž známo, že prodloužení hnízdní fáze vede u ptáků ke zvýšení jejich letové kapacity (**Příspěvek IV**). Nicméně většina rehčích kukaček (70 %, n = 23, **Příspěvek IV**; viz také Grim a Rutila 2017) podobně jako u rákosníka obecného (Wyllie 1981) bezprostředně po vyskočení z hnízda pouze poskakuje v bylinném patře (Grim a Rutila 2017). Kukačky vyrůstající bez rehčích konkurentů potom začínají létat v průměru 1,2 dne (variační rozpětí = 0–5, n = 25, **Příspěvek IV**) po vyskočení z hnízda, zatímco kukačky ze smíšených snůšek poprvé vzlétnou v průměru 2,5 dne (variační rozpětí = 2–3, n = 4, **Příspěvek IV**) po jeho opuštění.

Využití radiotelemetrie dále pomohlo odhalit, že mezi jednotlivými skupinami mlád'at (viz oddíl 3; **Příspěvek IV**) pocházejících z různých hnízdních situací (samotné kukačky, samotní rehci, smíšené snůšky) neexistuje významný rozdíl v pohnízdním přežívání a v délce a průběhu na rodičích závislé periody v rámci pohnízdní fáze (**Příspěvek IV**). Na rozdíl od hnízdní fáze (**Příspěvky II a IV**), však tentokrát vykazovaly o něco kratší dobu pohnízdní periody kukačky (průměr = 17,2, variační rozpětí = 14–22, n = 11 hnízd) v porovnání s vlastními mlád'aty rehků (průměr = 19,1, variační rozpětí = 16–28, n = 13 hnízd, **Příspěvek IV**; viz také Grim a Rutila 2017). Takto krátká doba pohnízdní péče by mohla odrážet selekční tlak na eliminaci rizika predace po opuštění relativně bezpečného dutinového hnízda (**Příspěvek IV**). Na druhou stranu, celková doba rehčí péče od vylíhnutí mlád'at po jejich osamostatnění byla přibližně o 6 dní kratší u rehčích mlád'at, proto může být toto zkrácení spíše způsobeno omezenou dobou celkového poskytování péče rehčími rodiči (**Příspěvek IV**).

Další výsledky detailního studia pohnízdní fáze kukačko-rehčího systému ukázaly, že celkem 38 % (n = 29) kukaččích a 36 % (n = 53) rehčích mlád'at přežívá pohnízdní fázi minimálně po úroveň jejich osamostatnění na rodičích (**Příspěvek IV**), což je v obou případech poměrně více, než bylo zjištěno u kukaček rákosníka obecného (22 %, Wyllie 1981). Obecně nejnižší schopnost přežívání v průběhu pohnízdní fáze byla zaznamenána u kukaček ze smíšených snůšek (18 %, n = 11 mlád'at) a překvapivě také u neparazitovaných rehků (24 %, n = 17 hnízd), zatímco celých 50 % (n = 18 mlád'at) kukaček vyrůstajících bez

rehčí konkurence a 42 % (n = 8 hnízd) rehků ze smíšených snůšek přežívá minimálně do osamostatnění (**Příspěvek IV**). Tyto výsledky napovídají, že by pravidelný výskyt smíšených snůšek v kukačko-rehčím systému, což je mezi kukaččími hostiteli naprosto unikátní jev, mohl být evolučně stabilním prvkem pro oba interagující druhy (**Příspěvky II a IV**).

Radiotelemetrie rovněž ukázala, že se kukaččí i rehčí mlád'ata pohybují po celou dobu pohnízdni péče rehčích rodičů nedaleko hnízd, ve kterých se vylíhla (**Příspěvek IV**). Kukačky tak dosáhly osamostatnění v průměrné vzdálenosti 401,9 m (range = 100–807, n = 11) a rehčí mlád'ata 425,1 m (68–1200, n = 13 hnízd) od hnízda, přičemž větší rozptyl vykazovaly vždy mlád'ata ze smíšených snůšek (**Příspěvek IV**). Na základě satelitní telemetrie bylo dále zjištěno, že dospívající rehčí kukačky zahajují svou první podzimní migraci (průměr ± SD = 14. srpna ± 24 dní, n = 5) přibližně měsíc po odletu svých biologických rodičů (průměr ± SD = 11. července ± 12 dní, n = 20; Vega a kol. 2016). Po opuštění hnízdních stanovišť nabíraly mladé kukačky v porovnání s dospělci finální směr migrace pomaleji a komplikovaněji (Vega a kol. 2016, Grim a Rutila 2017). Navzdory jinému nasměrování na počátku migrace doletěla jediná přeživší z mladých kukaček nezávisle na stejné zimoviště v Angole jako víceleté kukačky (Vega a kol. 2016). Výsledky telemetrického sledování rehčích kukaček tak potvrzují existenci vrozeného a na starších generacích nezávislého migračního programu u kukačky obecné (Vega a kol. 2016).

Pouze 43% (n = 63) efektivita kladení kukaččích vajec do kotlinky (**Příspěvek I**), 19% (n = 63) výskyt odebírání hostitelských vajec kukačkou během kladení (**Příspěvek I**) a 80% efektivita vytlačovacího chování (55–85% efektivita napříč rehčími populacemi; Grim a Rutila 2017) a její negativní důsledky pro kukačku (**Příspěvky II–IV**), dělají z dutinové hnízdní strategie rehků na první pohled fatální překážku pro kukaččí parazitismus (vzhledem k výskytu a efektivitě těchto kukaččích činností u hostitelů s otevřenými hnízdy; Wyllie 1981, Davies 2000). Ve skutečnosti se však reprodukční úspěch rehčích kukaček (tzn. počet mlád'at vyvedených z hnízda připadající na jedno snesené kukaččí vejce) z námi studované populace (0,16; Grim a Rutila 2017) přesně shoduje s hodnotou zjištěnou u kukaček vyrůstajících v otevřených hnízdech rákosníka obecného (0,16; Kleven a kol. 2004). Tento nesoulad může být opět vysvětlen výše zmíněnými výhodami dutinového hnízda pro kukačku a to především ochranou před rozmary počasí a predací v kombinaci s nízkou úrovní odmítání kukaččích vajec rehkem zahradním (Grim a Rutila 2017).

Pro celkovou představu o významu dutinové hnízdní strategie vzhledem ke kukaččímu parazitismu je však nezbytné srovnání dopadů parazitismu na rehka zahradního a na některého z pravidelných hostitelů využívajících otevřená hnízda. Z neparazitované rehčí snůšky totiž úspěšně vyskočí v průměru 0,84 rehčích mlád'at na jedno snesené vejce

(n = 87 hnízd), zatímco u smíšené snůšky činí tato hodnota 0,38 (n = 14 hnízd) a je tedy jen o přibližně polovinu nižší (Grim a Rutila 2017, viz také Samaš a kol. 2016, **Příspěvek IV**). Nicméně celková reprodukční zdatnost rehků napříč všemi parazitovanými snůškami (tzn. smíšené snůšky i případy vytlačení všech hostitelských mlád'at) činí pouze 0,1 vylétnuvších rehčích mlád'at na snesené rehčí vejce (n = 75 hnízd; Grim a Rutila 2017). Z toho lze odvodit v průměru 8,4krát vyšší reprodukční zdatnost rehků v neparazitovaných snůškách oproti těm parazitovaným (Grim a Rutila 2017).

Naproti tomu u rákosníka obecného vyskočí z neparazitovaného hnízda v průměru 0,48 mlád'at (n = 206 hnízd) na snesené vejce, zatímco u parazitovaných snůšek činí tato hodnota 0,05 (n = 58 hnízd; do výsledku se promítá fakt, že se některá kukaččí vejce nevylíhnou; Øien a kol. 1998). Proto má průměrné neparazitované hnízdo v tomto systému 9,6krát vyšší reprodukční zdatnost než průměrné parazitované hnízdo (Grim a Rutila 2017).

Na závěr této kapitoly lze tedy říct, že ačkoli je dopad dvou různých hnízdních strategií u pravidelných kukaččích hostitelů na reprodukční úspěch kukaček prakticky stejný, tak se může lišit vzhledem k reprodukčnímu úspěchu samotných hostitelů, což by mohlo společně s eliminací predačního tlaku představovat hlavní selekční mechanismus pro vznik dutinové hnízdní strategie u kukaččích hostitelů (vliv obou složek nebyl dosud testován, nicméně je diskutován v **Příspěvku III**). Tento předpoklad potvrzuje rovněž vyšší míra pozorovaného parazitického tlaku (29 %) napříč pravidelně parazitovanými populacemi rehka zahradního (n = 8, Samaš a kol. 2016) v porovnání s pravidelně parazitovanými populacemi rákosníka obecného (12%, n = 7; Stokke a kol. 2008).

Jediné dosud známé informace o přežívání rehků zahradních (36 %, n = 53; **Příspěvek IV**) a rehčích (38%, n = 29; **Příspěvek IV**) a rákosničích kukaček (22 %, n = 74; Wyllie 1981) v průběhu pohnízdni fáze navíc naznačují rozhodující projev důsledků obou hnízdních strategií teprve za hranicemi hnízdní fáze. Tento závěr dále potvrzují jediná dostupná data z podzimní migrace mladých rehčích kukaček, která ukazují pouze 20% míru přežívání během jejich cesty do Afriky (Vega a kol. 2016).

Výše uvedený přehled informací o kukačko-rehčím systému doplněný o výsledky prací prezentovaných v rámci této disertační práce (**Příspěvky I-IV**) však celkově poukazuje na mimořádnou koevoluční rovnováhu této unikátní paraziticko-hostitelské interakce.

## 2 CÍLE PRÁCE

V této disertační práci se zabývám dosud zcela opomíjenými úrovněmi kukačko-hostitelské interakce jako je kladení vajec parazitem do dutinových hnízd, míra nákladnosti péče o parazita pro dutinového hostitele a pohnízdni interakce kukačky obecné se dvěma finskými v sympatrii se vyskytujícími hostiteli. Konkrétně jsem se zaměřil na následující otázky:

- Jakým způsobem klade samice kukačky obecné vejce do hnízd chráněných v dutinách? (**Příspěvek I**)
- Jak moc je výchova kukaččího mláděte nákladná pro dutinového hostitele v porovnání s péčí o jeho vlastní potomky a co z toho plyne? (**Příspěvky II**)
- Může nízká úroveň nákladnosti výchovy kukaččího mláděte pro rehčí rodiče vysvětlovat nízkou úroveň hostitelské obrany u rehka zahradního? (**Příspěvek III**)
- Jakým způsobem probíhá pohnízdni interakce kukačky obecné s jejím jediným pravidelným dutinovým hostitelem a jak se do ní promítá specifičnost této hnízdni strategie? (**Příspěvek IV**)
- Jak probíhá pohnízdni interakce mezi kukačkou obecnou a k rehkům sympatrickým hostitelem budujícími otevřená hnízda a jakým způsobem studovat pohnízdni periodu u hnízdních parazitů? (**Příspěvek V**)

## 3 MATERIÁL A METODIKA

Sběr dat pro tuto práci probíhal především v jihovýchodním Finsku v okolí obce Utula (61°24'N, 28°37'E; viz Samaš a kol. 2016) a to vždy během hnízdni sezóny rehků tedy od května do srpna v letech 2012–2016. Do terénního výzkumu na této lokalitě jsem se zapojil v letech 2014–2016 s cílem zaznamenat chování kukaček během parazitace rehčích hnízd (**Příspěvek I**) a získat data ohledně pohnízdni fáze kukačko-rehčí interakce (**Příspěvky II–IV**).

Výzkum kukaččího kladení (**Příspěvek I**) byl realizován vždy v rozmezí května a června v letech 2013–2016 a kromě Utuly (kde tento výzkum započal až v roce 2014) současně probíhal na přibližně 300 km vzdálené a severněji položené lokalitě poblíž města Oulu (65°N, 25°50'E; viz Thomson a kol. 2016), kde pracovala finská část výzkumného týmu. Data pro studii nákladnosti výchovy kukaččích mlád'at pro rehčí pěstouny (**Příspěvky II a III**) byla získána v rozmezí května a srpna v letech 2012–2016 na lokalitě Utula, kde pracovala česká část týmu za pomoci Jarkka Rutily. Studium kukačko-rehčí pohnízdni interakce (**Příspěvek IV**) jsme realizovali vždy od června do srpna v letech 2014–2016

pouze na lokalitě Utula a rovněž kukačko-pěnkaví pohnízdni interakci (**Příspěvek V**) jsme zaznamenali a studovali od 18. července do 13. srpna 2014 v Utule.

Obě studijní lokality se nacházely v obhospodařovaných borovicových lesích s nízkým podrostem a byly vybaveny rozsáhlou soustavu hnízdních budek pravidelně obsazovaných především rehky zahradními (Obr. 6; Samaš a kol. 2016, Thomson a kol. 2016). Obě rehčí populace jsou dlouhodobě parazitovány kukačkou obecnou a to s 31% průměrnou mírou parazitismu v Oulu (n = 360 hnízd v rámci sedmi hnízdních sezón; Thomson a kol. 2016) a 33% průměrnou mírou parazitismu v Utule (n = 569 hnízd z 11 hnízdních sezón; Samaš a kol. 2016). Rehci a kukačky jsou v Utule studováni téměř 40 let (Samaš a kol. 2016) a především díky tomu jsme měli k dispozici přibližně 350 hnízdních budek (podobný počet byl využit v Oulu) speciálně designovaných jak pro hnízdění rehka zahradního tak pro případnou kukaččí parazitaci (Obr. 6; **Příspěvky I a IV**).



**Obr. 6** Kamera snímající vchod a obsah hnízdní budky den po neúspěšném kukaččím kladení (kukaččí vejce je nakladeno mimo hnízdní kotlinku; obrázek vlevo) a externí pohled na typickou budku vybavenou nahrávacím systémem v typickém prostředí lokality Utula (foto: vlevo autor práce, vpravo Tomáš Grim).

Soustavu budek jsme se rozhodli využít hlavně proto, že najít přirozená hnízda rehků v lesním prostředí, v dostatečném počtu a zároveň ve správném stádiu pro zachycení námi studovaných aspektů je prakticky nemožné (viz Obr. 2; **Příspěvky I a IV**). Nicméně námi využívané budky (Obr. 6) byly designovány tak, aby se rozměrově co možná nejvíce podobaly přirozeným dutinám rehků (Obr. 2; Avilés a kol. 2005). U 350 změřených budek (Utula a Oulu dohromady) činil průměrný vertikální průměr vchodu 7,2 cm, vnitřní šířka budky měla v průměru 11,7 cm, průměrná vnitřní hloubka budky byla 13,7 cm a výška byla standardizována na 35 cm (**Příspěvek I**). Minimální rozměr vchodu byl navržen tak, aby

umožnil mladým kukačkám opustit hnízdo (Grim a kol. 2009b, 2017; Samaš a kol. 2016; **Příspěvek I a IV**). Je totiž známo, že dutiny s vchodem o průměru menším než 5 cm zpravidla uvězní dospívající kukačku uvnitř a parazitace hnízd ukrytých v těchto dutinách tak nevyhnutelně vede k nulovému reprodukčnímu úspěchu kukaček (Löhr 1979, Rutila a kol. 2002).

Chování kukaček a hostitelů během kladení a inkubace vajec jsme monitorovali pomocí kontroly obsahu hnízd a video-nahráváním hnízdních budek (Obr. 6; **Příspěvky I a II**). Denní kontrola hnízd nám také umožnila přesné určení vývoje snůšky, včasné odhalení případné parazitace (**Příspěvek I**) a co nejpřesnější odhad data líhnutí vajec (tento odhad byl dále upřesňován pomocí prosvěcování vajec; **Příspěvek II**). Přičemž většina kukaččích vajec nalezených v Utule (52 z celkových 82) byla přenesena do jiných hnízd v rámci studijní lokality za účelem dalšího výzkumu (Samaš a kol. 2016, Grim a kol. 2017, **Příspěvek II**).

Hnízda rehků jsme monitorovali především pomocí systému infračervených mikrokamer (CCD Bird Box Camera 420TVL; SpyCameraCCTV, Bristol, UK; Obr. 6). Kamery byly propojeny s digitálním záznamníkem (Wireles 2,4 GHz 1 Channel D1 Mini DVR Recorder; SpyCamera CCTV), který jsme společně se zdrojem energie v podobě autobaterie ukryli v plastové nádobě v zemi pod budkou (viz také Samaš a kol. 2016, Grim a kol. 2017). Nahrávání bylo spouštěno pohybem a kamery jsme většinou umísťovali přímo pod strop budky, nebo do mobilních nadstavbových dřevěných boxů (Obr. 6). Zejména nadstavbové boxy umožňovaly snímat prakticky celý obsah budky včetně vchodu i hnízdní kotlinky (Obr. 6). V Utule jsme navíc používali čtyři fotopasti k zachycení kukaččí aktivity v nejbližším okolí hnízdní budky (**Příspěvek I**).

Z důvodu logistické a technické náročnosti odchyty kukaččích samic v lesním prostředí (Wyllie 1981, Samaš a kol. 2016; osobní komunikace s J. Hajkolou) jsme podobně jako v ostatních případech nahrávání kukaččího kladení (Chance 1922, Moksnes a kol. 2000, Andou a kol. 2005, Wang a kol. 2020) nebyli schopni označit jednotlivé kukaččí samice zachycené při kladení. Místo toho jsme se pokusili kukačky rozlišit dodatečně na základě individuálních rozdílů v jejich opeření a rovněž na základě některých specifických znaků v jejich chování, ale hlavně také podle času a lokace konkrétního kladení (**Příspěvek I**). Samice kukačky obecně totiž kladou vejce pouze obden (Wyllie 1981, Davies 2000, Schulze-Hagen a kol. 2009) a většinou v prostorově limitovaných areálech působnosti (Wyllie 1981, Honza a kol. 2002, Nakamura a kol. 2005). Na základě těchto specifik jsme každou hnízdní sezónu odhadli 14–23 různých kukaččích samic zaznamenaných na videích v Utule a 11–19 v Oulu (**Příspěvek I**).

Na základě videonahrávek jsme identifikovali celkem tři rozdílné metody kukaččího kladení, u kterých jsme analyzovali a srovnávali především jejich úspěšnost (tj. procento

vajec snesených do hnízdní kotlinky), celkový čas strávený kukačkou v budce během kladení (*duration of laying visit*; tj. interval mezi usednutím do vchodu a odletem z budky) a interval od vstupu kukačky do budky po okamžik snesení parazitického vejce (*laying latency*). Rovněž jsme analyzovali denní dobu kladení parazita i hostitele a aktivitu hostitelů během kukaččí návštěvy hnízda včetně jejich reakce na samotný parazitismus (**Příspěvek I**). Podle těchto a dalších zjištěných parametrů jsme nakonec jednotlivé kukaččí strategie srovnávali a diskutovali v širším ekologicko-etologickém a koevolučním kontextu (**Příspěvek I**).

Pro účely získání dat ke zhodnocení vlivu výchovy kukaččího mláděte na zdatnost rehčích pěstounů (**Příspěvek II**) jsme dvakrát během jednoho hnízdního pokusu odchyťovali a měřili rodiče z neparazitovaných snůšek a rodiče z parazitovaných hnízd celkem třikrát. K odchytu jsme používali buď gilotinové pasti umístěné přímo v budkách a ovládané ze vzdálenosti 10–80 m, nebo klasické nárazové sítě (**Příspěvek II**). Oba rodiče z jednoho hnízda, se nám podařilo opakovaně odchyťit u 30 z celkem 64 hnízd a u zbylých hnízd jsme získali data vždy alespoň od jednoho rodiče. Vzhledem k nižšímu výskytu smíšených snůšek (celkem osm hnízd) se nám podařilo dvakrát změřit pouze jednoho samce a čtyři samice a proto jsme pro tuto skupinu nebyli schopni provést dostatečně spolehlivé odhady parametrů. Ze 157 mlád'at a 67 dospělých rehků, kteří byli okroužkováni v prvním roce výzkumu (2012) se nám podařilo v následující hnízdní sezóně zaznamenat pouze jednoho z dospělých jedinců, což nám zabránilo v kvantifikaci tzv. „budoucích nákladů“ (*future cost*; projekce dopadů náročnosti výchovy mlád'at z jedné hnízdní sezóny do té následující) vyplývajících z výchovy parazita (**Příspěvek II**).

Rehčí rodiče jsme odchyťovali ve fázi počátku líhnutí mlád'at, následně desátý den od vylíhnutí prvního mláděte a v případě parazitovaných snůšek ještě osmnáctý den. Tyto intervaly umožňovaly srovnání stejných časových úseků u rehčích rodičů i kukaččích pěstounů a zároveň srovnání nákladnosti rodičovské péče před koncem hnízdní fáze (v době kdy mlád'ata dosahovala růstových asymptot) u obou skupin. Tento přístup nám umožnil snížit riziko zmeškání posledního měření z důvodu předčasného vylétnutí mlád'at z hnízda (**Příspěvek II**). Chycené rehky jsme okroužkovali, vzali jim krevní vzorky (20  $\mu$ l krve z křídelní žíly), zvážili je (s přesností na 0,1 g) a změřili délku jejich tarzu (s přesností 0,1 mm). Za účelem posouzení jejich kondice jsme použili standardizovaný hmotnostní index založený na tělesné hmotnosti a délce tarzu (Peig a Green 2009). Ke zhodnocení hladiny rodičovského stresu jsme použili poměr heterofilů a lymfocytů (dále: H/L poměr) v krevním vzorku. Jedná se o běžný fyziologický ukazatel prodlouženého stresového stavu (např. úsilí vynaložené na krmení mlád'at), se známým pozitivním vztahem mezi H/L poměrem a úrovní stresu (Davis a kol. 2008, **Příspěvek II**).



Náklady na inkubaci vajec jsme odvodili z celkového počtu dní stráveného touto činností v hnízdě (*incubation period length*) a získaná data jsme následně porovnali mezi parazitovanými a neparazitovanými snůškami (tj. *parasitism status*). První den inkubační periody byl stanoven jako den, kdy přibylo poslední vejce do snůšky a poslední den inkubace byl určen líhnutím kukačky či prvního mláděte hostitelů. Samotná úspěšnost líhnutí byla vzhledem k občasným případům odebrání vajec kukačkami při kladení, definována jako počet vylíhnutých hostitelských vajec vydělený počtem skutečně inkubovaných hostitelských vajec a vynásobený číslem 100 (**Příspěvek II**).

Dále jsme pomocí kamer Panasonic HDC-HS80 (Obr. 10) nahrávali krmné úsilí rehků pečujících o vlastní mlád'ata a těch vychovávajících kukačku napříč celou jejich hnízdní fází (**Příspěvek II**). Frekvenci krmení jsme kvantifikovali pro 60 minutový interval, který byl zahájen teprve po 30 minutách od instalace kamery z důvodu přivyknutí rehčích rodičů na změnu prostředí. Kamera (Obr. 10) byla podobně jako u nahrávání kukaččího kladení (**Příspěvek I**) připevněna do mobilní dřevěné nadstavbové části hnízdní budky (Obr. 6).

Náklady na inkubaci mlád'at byly kvantifikovány jako proporce času stráveného zahříváním mlád'at v rámci jednoho videozáznamu. Začátek tohoto záznamu byl stanoven na okamžik prvního navštívení hnízda rodičem a jeho konec byl určen momentální kapacitou baterie. Délka záznamu se tak pohybovala v rozmezí 0,5–5 h (medián = 2 h; **Příspěvek II**). Mlád'ata byla v den vylíhnutí rozlišena značkou na prstech nohy pomocí popisovače. Vážení mlád'at (s přesností na 0,1 g) jsme prováděli vždy po konci každého videonahrávání a jinak každé 2–3 dny od vylíhnutí napříč celou hnízdní fází. Rehčí mlád'ata byla měřena do věku 10–14 dnů podle stavu opeření a kukačky do okamžiku opuštění hnízda. Podobně jako v přechozích studiích (Grim a kol. 2009a, Grim a Samaš 2016) jsme nezaznamenali žádný vliv manipulace s mlád'aty na načasování jejich vyskakování z hnízda (**Příspěvek II**).

U jednotlivých snůšek jsme rovněž provedli odhad celkově metabolizované energie za jeden den (*daily metabolized energy*; dále DME), který jsme vypočítali podle vzorce:  $DME (kJ) = 5,86 \times \text{hmotnost}^{0,81}$ , kde „hmotnost“ představuje specifickou hmotnost mlád'at pro konkrétní věk (Weathers 1992). DME, jsme pomocí odhadů hmotnosti na základě růstových křivek získaných z naměřených hodnot, stanovili i pro ty věkové kategorie, u kterých nám chyběla měření (Grim 2007). DME, všech mlád'at z každé snůšky, jsme následně sečetli pro období mezi odchty jednotlivých rehčích rodičů. Takto jsme získali odhad celkově metabolizované energie (*total metabolized energy*, dále TME) konkrétní snůškou jako přímou úměru zátěže konkrétního rodiče, kterým byla tato snůška vychována (**Příspěvek II**).

Dále jsme za účelem formulování kvantitativních predikcí spočítali množství energie (součet jednotlivých DME) pro průměrnou rehčí snůšku (průměr  $\pm$  SD = 6,1  $\pm$  1,1 rehčích mlád'at, n = 143) a pro konkrétní hnízdni periodu: (i) 0–10 dní od vylíhnutí u rehků i kukaček a (ii) období ve kterém mlád'ata dosáhnou své růstové asymptoty (0–10 dní u rehků a 0–18 dní u kukaček). Na základě toho jsme odhadli, že během prvních deseti dnů od vylíhnutí byla výchova kukačky pro rehky 0,4krát méně energeticky náročná, než výchova průměrné rehčí snůšky. Naopak péče o kukačky v období dosažení jejich růstových asymptot byla odhadnuta jako 1,1krát náročnější než péče o průměrnou rehčí snůšku. Tyto odhady jsme dále použili k vysvětlení změn v kondici rehčích rodičů vzhledem k H/L poměru a krmnému úsilí.

Speciálně u krmného úsilí jsme dodatečně předpověděli, že výchova průměrné smíšené snůšky (tzn. jedné kukačky a dvou rehčích mlád'at; viz také **Příspěvek IV**) by měla být 0,5krát méně náročná v prvních deseti dnech od vylíhnutí a 1,2krát náročnější v období dosažení růstových asymptot mlád'at než v případě výchovy průměrné čistě rehčí snůšky. Bohužel jsme toto srovnání nemohli udělat i v případě H/L poměru, protože se nám nepodařilo odchytnout dostatečné množství rehčích rodičů od smíšených snůšek. Nakonec jsme prověřili možnou lineární závislost (kovarianci) mezi pohlavím rehčích rodičů, frekvencí krmení, H/L poměrem a změnou v tělesné kondici (**Příspěvek II**).

Poslední fází kukačko-hostitelské interakce, na kterou jsme se v rámci našeho výzkumu zaměřili, bylo období od vylétnutí mlád'at z hnízda po jejich osamostatnění na rodičích (**Příspěvky IV a V**). Pohnízdni periodu jsem se na rozdíl od podobných dřívějších výzkumů (Wyllie 1981, Vega a kol. 2016) rozhodli studovat do co největších detailů pomocí radiotelemetrie a prostřednictvím co možná nejčastějšího dohledávání mlád'at. Navíc jsme se na rozdíl od všech dosud uskutečněných telemetrických studií pohnízdni fáze u hnízdních parazitů (Soler a kol. 1994, 1995, 2014a,c; Vega a kol. 2016) zaměřili nejen na parazitická ale i na hostitelská mlád'ata (**Příspěvek IV**).

Během studia pohnízdni fáze kukačko-rehčího systému jsme vysílačkami (tzv. transmittery) vybavili a následně pomocí nich sledovali celkem 42 kukaččích mlád'at ze 41 snůšek (z jedné snůšky vyly vyvedeny dvě kukačky) a 159 rehčích mlád'at z 37 snůšek (**Příspěvek IV**). Z důvodu minimalizace vlivu sledovacího zařízení na fyziologii a chování mlád'at jsme zvolili dva typy vysílaček (Biotrack Ltd., Wareham, UK) o hmotnosti menší než je doporučená maximální hranice 5 % hmotnosti jejich nositelů (Barron a kol. 2010). Kukaččí mlád'ata jsme proto vybavili modelem PiP3 Ag393 o hmotnosti 2,1 g a dosahem 600 m a rehčí mlád'ata modelem PicoPip Ag376 o hmotnosti 0,7 g a dosahem 300 m (Obr. 7).

Vysílačky jsme pomocí akrylátového rychleschnoucího lepidla připevňovali na zastřižená a acetonem odmaštěná zádová pera (Diemer a kol. 2014). Upevnění transmitterů

jsme zároveň pojistili použitím bavlněných či nylonových smyček přetažených přes křídla (Anders a kol. 1997, Hill a kol. 1999). Vysílačky jsme instalovali 2–3 dny před odhadovaným datem vylétnutí mlád'at z hnízda (Samaš a kol. 2016) tak, abychom žádné mládě nezmeškali a zároveň aby měla mlád'ata dostatek času si na zařízení zvyknout (Soler a kol. 2014a). Během fixace transmitterů jsme mlád'ata rovněž měřili (viz dále) a okroužkovali číselnými i barevnými kroužky pro snadnější vnitrosnúškovou i mezisnúškovou identifikaci (Obr. 7).



**Obr. 7** Umístění dvou typů vysílaček od firmy Biotrack na mlád'atech obou interagujících druhů. Bílý štítek (sloužící k určení přesného času vyskočení rehčího mláděte z hnízda pomocí videozáznamu) byl z rehčího transmitteru odstraněn v rámci prvního měření po opuštění hnízda (foto: autor práce).

Celkem u 63 hnízd se nám pomocí CCTV kamerového systému (Obr. 6) a individuálního značení rehčích mlád'at (Obr. 7; viz také Porkert & Špinka 2004) podařilo zdokumentovat moment vyskočení jednotlivých mlád'at z hnízda a tak určit přesné datum počátku jejich pohnízdni fáze (**Příspěvek IV**). Od předpokládaného data vyvedení mlád'at z hnízda jsme prováděli jejich kontrolu nejméně jednou denně. Mlád'ata jsme začali sledovat hned, jak jsme zaznamenali jejich absenci v hnízdě a pokračovali jsme denně, dokud byl možný jejich odchyt pro účely měření. K radiotelemetrii (*radio-tracking*) jednotlivých mlád'at jsme použili mobilní tříprvkovou anténu (Lintec flexible three-element Yagi) připojenou na 4 MHz přijímač Sika (Biotrack Ltd.; **Příspěvky II, IV a V**). Poté co mlád'ata začala obstojně létat, jsme pokračovali v monitoringu každý třetí den až do jejich osamostatnění, predace či uhynutí. Následující parametry jsem z důvodu konzistence provedení jednotlivých úkonů a přesnosti měření zaznamenával pouze já.

Jakmile jsem během radiotelemetrie upozoroval sledované mládě, uložil jsem vždy jeho GPS pozici pomocí mobilní aplikace Locus Map Version 2.10.1 (s přesností 2–6 m) jako původní bod jeho výskytu (*original point*). Prostřednictvím této aplikace jsem následně určoval aktuální vzdálenost mláděte od hnízda (*nest distance*; tj. vzdálenost v metrech mezi

původním bodem výskytu a hnízdem) a denní rozptylovou vzdálenost (*daily dispersal distance*; tj. vzdálenost mezi původními body výskytu v rámci po sobě jdoucích dní). Po uložení GPS jsem začal opatrně přistupovat k mláděti. Pokud bylo mládě vyplašeno mou přítomností či pokusem o odchycení a bylo již schopno létat, zaznamenal jsem vždy délku jeho letu (*fleeing distance*; měřenou v metrech) z původního bodu výskytu (Hanley a kol. 2015). Dále jsem u těchto mlád'at zaznamenával počet jednotlivých přelétnutí za jednu hodinu (*number of flights per hour*; tj. počet přelétnutí během hodinového pozorování z úkrytu vytvořeného kamuflážní sítí za udržení nepřetržitého vizuálního kontaktu s mládětem; Soler a kol. 1994). U odchycených mlád'at jsem měřil jejich hmotnost pomocí digitální váhy s přesností na 0,1 g, délku křídla za použití ornitologického pravítka (podle Fig. 4.4 v Sutherland a kol. 2004) s přesností na 1 mm a délku tarzu prostřednictvím posuvného digitálního měřidla (podle Fig. 4.5a v Sutherland a kol. 2004) s přesností na 0,1 mm. Mlád'ata jsme považovali za samostatná (Obr. 8) teprve v okamžiku, když jsme zaznamenali absenci jejich žadonění (Davies 2000) současně s absencí krmení ze strany rodičů (Woodward 1983) a absencí varovného volání rodičů (**Příspěvky IV a V**).



**Obr. 8** Kukaččí mládě vyfocené v době osamostatňování na rehčích pěstounech, tedy přibližně 38 dní od vylíhnutí a 18 dní od vyskočení z hnízda (foto: autor práce).

Krmení mlád'at během pohnízní fáze jsme pozorovali pomocí dalekohledů a kamufláže a to ze vzdálenosti, která záležela na struktuře vegetace konkrétního stanoviště (obvykle 10–20 m). Frekvenci krmení jsme v 65 % případů zaznamenávali po dobu 60 minut a jinak v rozmezí 30–90 minut nebo do ztráty vizuálního kontaktu s pozorovaným mládětem (**Příspěvek II**).

V průběhu radiotelemetrie jsme také zaznamenali rozdělování snůšek rehčími rodiči (*brood division*) během pohnízdni fáze. Nejsnáze pozorovatelný byl tento jev u smíšených snůšek, kde jeden z rodičů vždy následoval dříve vylétnuvší rehčí část snůšky a druhý pečoval pouze o kukačku. U pohnízdni fáze jsme proto museli rozlišit hned čtyři skupiny mlád'at. Skupina samotných kukaček (*solitary cuckoos*, n= 31 kukaček/snůšek) zahrnovala kukaččí mlád'ata, kterým se podařilo usmrtit veškeré rehčí potomstvo a tak vyrůstala zcela osamoceně. Termín smíšené kukačky (*mixed cuckoos*, n = 11 kukaček z 10 snůšek) představoval kukaččí jedince, kteří byli méně úspěšní ve vytlačování a tak byli nuceni vyrůstat spolu s jedním či několika rehčími mlád'aty (*mixed redstarts*, průměr  $\pm$  SE = 2,3  $\pm$  0,3 rehčích mlád'at na snůšku, n = 22 rehčích mlád'at z 10 snůšek; **Příspěvek IV**). Do této skupiny jsme zařadili také dvě kukaččí mlád'ata, která přirozeně vyrostla vedle sebe bez rehčích „sourozenců“ v dvojnásobně parazitovaném hnízdě (Obr. 9). U této snůšky jsme totiž předpokládali podobnou vzájemnou konkurenci mlád'at jako u klasického kukačko-rehčího složení (viz **Příspěvek II**). Poslední skupinu tvořili samotní rehci (*solitary redstarts*, průměr  $\pm$  SE = 5,1  $\pm$  0,3 rehčích mlád'at na snůšku, n = 137 rehčích mlád'at z 27 snůšek; **Příspěvek IV**), kteří vyrůstali v neparazitovaných hnízdech a tedy bez kukaččí přítomnosti.



**Obr. 9** Dvě kukaččí mlád'ata zachycená před koncem hnízdni fáze. Tato hnízdni situace vznikla v důsledku přirozené dvojnásobné parazitace rehčího hnízda. Obě mlád'ata byla úspěšně vyvedena z hnízda a následně vychovávána každá jedním rehčím rodičem. Obě kukačky však byly predovány ještě před dosažením samostatnosti (foto: autor práce).

Pro porovnání vývoje těchto čtyř skupin jsme stanovili celkem pět kontrolních úrovní (*five pre-determined situations*) v průběhu pohnízdni fáze z nichž dvě odpovídaly stěžejním bodům ve vývoji mlád'at (den vyskočení z hnízda, den prvního letu) a zbylé tři představovaly možné výsledky pohnízdni periody (den predace, den vyhladovění a den dosažení samostatnosti; **Příspěvek IV**). U každé úrovně jsme kromě měření fyzických (hmotnost, délka křídla a tarzu) a behaviorálních parametrů (vzdálenost od hnízda, denní rozptyl, délka letu, počet přelétnutí) zaznamenali také počet dní od vylíhnutí mlád'at (*age from hatching*; den vylíhnutí = 0) a počet dní od jejich vyskočení z hnízda (*age from fledging*; den opuštění hnízda = 0; **Příspěvek IV**).

Naměřené pohnízdni parametry jsme následně porovnali mezi všemi skupinami mlád'at (tam kde to bylo relevantní) prostřednictvím dvou hlavních analýz. V první analýze jsme srovnávali změny parametrů v rámci postupných měření v průběhu pohnízdni fáze a ve druhé analýze jsme porovnávali pouze parametry naměřené v rámci pěti zájmových kontrolních úrovní (den vyskočení z hnízda, den prvního letu, den predace, den vyhladovění a den dosažení samostatnosti; **Příspěvek IV**). Veškeré analýzy uvedené v **Příspěvcích I-IV** byly provedeny prostřednictvím programu R 3.5.0 (R Core Team 2018) a STATISTICA 13 (TIBCO Software Inc. 2018).

Během dohledávání mlád'at v rámci studia pohnízdni interakce mezi kukačkou obecnou a rehkem zahradním (**Příspěvek IV**) jsme 18. července 2014 náhodou objevili mládě kukačky, které bylo navštěvováno a krmeno samcem pěnkavy obecné (**Příspěvek V**). Kukačka seděla přibližně 0,5 m nad zemí na 4 m vysokém smrku uprostřed vzrostlého borovicového lesa (61°22'N, 28°32'E; **Příspěvek V**). Kukačka ještě nebyla schopna letu, proto jsme ji snadno chytili a opatřili kroužkem Finské ornitologické společnosti stejně jako v případě sympatrických rehčích kukaček (**Příspěvek IV**). Následně jsme odebrali vzorek krve (15 µL) z křídelní žíly a uložili ho do 96% roztoku ethanolu k pozdější determinaci pohlaví (podle Griffiths a kol. 1998) a příslušné kukaččí ekologické rasy (Davies 2000) pomocí COI markeru (podle Fossøy a kol. 2016).

Mezi 18. a 23. červencem 2014 se nám podařilo kukačku jednou denně odchytit a změřit. Konkrétně jsme měřili hmotnost (digitální vahou s přesností na 0,1 g), délku křídla (s přesností na 1 mm podle Fig. 4.4 v Sutherland a kol. 2004), délku tarzu (maximální délku tarzu s přesností na 0,01 mm podle Fig. 4.5a v Sutherland a kol. 2004), délku zobáku (měřeno od špičky zobáku k nejvzdálenějšímu bodu kožního záhybu v jeho koutku s přesností na 0,01 mm; podle Grim a Honza 2001) a šířku zobáku (měřena vzdálenost mezi kožními záhyby obou koutků zobáku s přesností na 0,01 mm; podle Grim a Honza 2001; **Příspěvek V**).

Za účelem minimalizace rušení pěstouna při krmení a zaznamenání komplexního chování obou aktérů během tohoto procesu, jsme připevnili digitální HD videokameru (Panasonic HDC-HS80EP) ke kmeni vhodného stromu tak, aby zabírala kukačku a její nejbližší okolí. Kamera byla připevněna ke stromu pomocí mobilní dřevěné nadstavbové části budky a to v přibližně deseti metrové vzdálenosti od kukaččího mláděte (Obr. 10). Videonahrávání probíhalo od 18. do 26. července 2014 vždy po dobu přibližně 5 hodin v rámci každého dne. Z videonahrávek jsme získali frekvenci krmení jako počet jednotlivých zakrmení za hodinu (podle Soler a kol. 2014a) a složení hmyzí potravy na úrovni řádů (viz Grim a kol. 2014; **Příspěvek V**).



**Obr. 10** Kamera snímající frekvenci krmení kukaččího mláděte hostitelem nastavená tak, aby alespoň hodinu zabírala kukaččí mládě sedící na smrku uprostřed snímku (foto: autor práce).

Pomocí analýzy kukaččího volání v databázi Xeno-canto ([www.xeno-canto.org](http://www.xeno-canto.org)) jsme dále vytvořili dva odlišné sonogramy pro kukaččí žadonění za nepřítomnosti pěnkaviho samce (XC347199) a naopak v jeho přítomnosti (XC347200; **Příspěvek V**).

Pohyb kukačky jsme sledovali pomocí radiotelemetrie za použití naprosto stejného vybavení a metodologických postupů jako v případě rehčích kukaček (viz výše; **Příspěvek IV a V**). Rovněž jednotlivé lokace kukaččího mláděte jsme ukládali pomocí GPS a mobilní aplikace Locus Map Version 2.10.1. za účelem měření denního rozptylu (*daily movement distances*). Dále jsme zaznamenávali výšku a typ kukaččího úkrytu (vždy se jednalo o strom) a výšku pozice kukačky nad zemí s přesností na 0,5 m. V případě že jsme kukačku vyplašili

z její pozice, tak jsme rovněž zaznamenali způsob jejího pohybu (poskakování/let), případně i délku letu (s přesností na 1 m) a počet jednotlivých přeletů. Jelikož jsme neznali skutečný den vyskočení kukačky z hnízda, tak jsme určili den jejího objevení jako den 0 pohnízdni fáze. Kukačku jsme sledovali denně až do jejího osamostatnění (**Příspěvky IV a V**), které nastalo 2. srpna 2014 a potom ještě následujících deset dní až do našeho dříve naplánovaného odjezdu z lokality. Veškeré analýzy dat byly v **Příspěvku V** provedeny pomocí programu STATISTICA 12 (StatSoft Inc. 2013).

## 4 SHRUTÍ JEDNOTLIVÝCH PŘÍSPĚVKŮ

Vzhledem k tomu, že jsem se spolu se svými kolegy zabýval prakticky kompletním reprodukčním cyklem v rámci kukačko-hostitelského systému, jsou i jednotlivé příspěvky řazeny chronologicky podle jejich hlavního zaměření. **Příspěvek I** proto řeší problematiku kladení vajec kukačkou do dutinových hnízd. **Příspěvek II** se zabývá především nákladností inkubace vajec a výchovy mláďat v parazitovaných i neparazitovaných snůškách pro rehci rodiče. **Příspěvek III** dále rozvádí a diskutuje výsledky a závěry předchozího příspěvku. **Příspěvek IV** následně mapuje pohnízdni fázi kukačko-rehci interakce a **Příspěvek V** sleduje pohnízdni interakci v rámci kukačko-pěnkavího systému.

### 4.1 Jakým způsobem klade samice kukačky obecné vejce do hnízd chráněných v dutinách? (Příspěvek I)

Jediným dosud známým způsobem kladení vajec napříč veškerým ptačím spektrem, bylo tzv. „přímé kladení“ (*direct laying*) během kterého samice sedí přímo v hnízdni kotlince (del Hoyo a kol. 2020). Nálezy kukaččích vajec v dutinových hnízdech chráněných příliš malými vchody či příliš malými vnitřními prostory vzhledem k velikosti parazita, ovšem tento způsob kladení zdánlivě vylučovaly (Baker 1942, Wyllie 1981). Přírodovědci si tento jev vysvětlovali použitím alternativních strategií kladení parazitických vajec, mezi které nejčastěji řadili vložení vejce do dutiny pomocí zobáku (*beaking*), vyvrhnutí vejce do dutiny po jeho předešlém spolknutí (*regurgitating*), vytlačení vejce z kloaky během třepotání před vchodem do dutiny (*fluttering*), upuštění vejce z kloaky během sezení ve vchodu do dutiny (*dropping*) či vystřelení vejce z kloaky rovněž během sezení ve vchodu do dutiny (*projecting*; viz Extended Data Table 1 v **Příspěvku I**).



Z těchto alternativních strategií bylo dosud nejpůvodnější a dříve široce přijímanou metodou vkládání kukaččího vejce do hnízda zobákem (tj. *beaking*; Baker 1942, Wyllie 1981, Davies 2000, Schulze-Hagen a kol. 2009). Přesvědčení přírodovědců o používání těchto strategií kukačkami ovšem vycházelo pouze z hnízdních kontrol či nepřesných interpretací často náhodných a letmých pozorování (Chance 1940, Baker 1942, Wyllie 1981, Schulze-Hagen a kol. 2009). Rovněž variabilita v pozici kukaččích vajec bezprostředně po parazitaci (tj. v kotlince, mimo kotlinku, pod hnízdní budkou), dříve zdokumentovaná v našem kukačko-rehčím systému pomocí hnízdních kontrol, nasvědčovala buď používání některé alternativní metody kladení, nebo různé úrovně dovedností kukaččích samic (Rutila a kol. 2002, Samaš a kol. 2016, Thomson a kol. 2016).

K objasnění tohoto rébusu jsme se rozhodli nahrávat hnízda rehků zahradních (*Phoenicurus phoenicurus*) v období kladení vajec pomocí videokamer. Tato metoda se totiž ukázala jako velice efektivní u kukaččích hostitelů budujících otevřená hnízda, kde byla ve všech případech zjištěna pouze metoda přímého kladení (Chance 1922, Moksnes a kol. 2000, Andou a kol. 2005, Wang a kol. 2020). Se stejným výsledkem překvapivě dopadlo i nahrávání uzavřených kupolovitých hnízd hostitelů dalších kukaččích druhů, které rovněž používaly pouze strategii přímého kladení (Brooker a kol. 1988, Briskie 2007, Gloag a kol. 2014, Soler a kol. 2014b).

Jediná mírně odlišná metoda kladení vajec byla nedávno natočena u dvou druhů vlhovců: vlhovce hnědohlavého (*Molothrus ater*) a vlhovce modrolesklého (*M. bonariensis*); kteří kladli vejce jak do otevřených hnízd několika různých hostitelů, tak v případě vlhovce modrolesklého i do hnízdních budek střízlíků zahradních (*Troglodytes aedon*). Toto kladení probíhalo v podobě upuštění vejce z kloaky ze zhruba šesti centimetrové výšky nad dnem hnízdní kotlinky (Ellison a kol. 2019), což se podobalo do té doby hypotetické kukaččí strategii „*dropping*“ (Extended Data Table 1 v **Příspěvku I**). Tato vlhovčí metoda kladení však stále nevysvětlovala parazitaci hnízd ukrytých v pro kukačku nepřístupných dutinách, protože i zde vlhovci ve všech případech stáli přímo v hnízdě hostitele (Ellison a kol. 2019). Vzhledem k přibližně dvojnásobné velikosti těla kukačky obecné (viz také oddíl 1.2) oproti oběma druhům vlhovců (Ellison a kol. 2019), však byl v našem kukačko-rehčím systému větší předpoklad pro zdokumentování některé z metod kladení přímo z vchodu hnízdní budky (viz Extended Data Table 1 v **Příspěvku I**). K tomuto účelu jsme použili speciální kamery umístěné ve vtipovaných hnízdních budkách rehků zahradních a to v průběhu čtyř hnízdních sezón na dvou 400 km vzájemně vzdálených lokalitách (viz oddíl 3; **Methods v Příspěvku I**).

Celkem jsme takto monitorovali 255 rehčích hnízd v nichž se nám podařilo natočit 63 kukaččích kladení uskutečněných třemi jasně rozlišitelnými metodami. Nejpřekvapivější

pro nás byl záznam 17 případů vystřelení vejce z kloaky (*projecting*; Extended Data Table 1 v **Příspěvku I**) přímo ze vchodu hnízdní budky, za současné korekce jeho směru pomocí dvou předních prstů zygodaktylních nohou, s cílem zasáhnout hnízdní kotlinku. V okamžiku vystřelení vejce kukačky zaujímaly postoj, při němž bylo jejich tělo kromě hlavy kompletně vystrčeno ven z budky (tzv. *bow out position*).

Druhou metodu reprezentovalo celkem 30 případů upuštění vejce z kloaky (*dropping*; Extended Data Table 1 v **Příspěvku I**) a to rovněž při sezení ve vchodu. Tato metoda se však od předchozí lišila postojem kukaček v okamžiku kladení, kdy byly kladoucí samice nakloněny co nejvíce do vnitřního prostoru budky (*bow in position*) a vejce tak pouze upustily kolmo pod sebe.

Třetí metodu představovalo 16 případů přímého kladení (*direct laying*; Extended Data Table 1 v **Příspěvku I**), kdy kukačka vnikla do budky a po nakladení vejce se musela pracně a často s velkými problémy otočit o 180°. Během 12 těchto přímých kladení se kukaččí samice pokusila odebrat jedno rehčí vejce pomocí zobáku a vyletět s ním ven z budky, což se jí nakonec podařilo pouze v pěti případech. Obecně se způsob přímého kladení velmi podobal dříve zaznamenanému kukaččímu chování u hostitelů s otevřenými hnízdy (Chance 1922, Moksnes a kol. 2000, Andou a kol. 2005).

Jednotlivé metody kladení se kromě způsobu samotného provedení lišily svou úspěšností, tedy proporcí vajec snesených přímo do hnízdní kotlinky (*laying success*). Vejce snesená mimo kotlinku jsou totiž rehčími rodiči ignorována a nemají šanci se vylíhnout (viz také oddíl 1.2.3). V tomto ohledu bylo nejúspěšnější metodou přímé kladení, v jehož průběhu skončilo 15 z 16 (94 %) vajec v hnízdní kotlince. Druhou nejúspěšnější metodou bylo vystřelení vejce ze vchodu budky s celkem devíti vejci ze 17 (53 %) umístěnými v hnízdní kotlince. Nejméně úspěšnou metodou bylo tedy upuštění vejce ze vchodu budky, kdy pouze tři z 30 (10 %) vajec skončily v hnízdní kotlince rehků (Supplementary Results v **Příspěvku I**).

Jednotlivé strategie se dále lišily počtem případů, kdy kukačky uvízly v budkách po nakladení vejce (upuštění vejce: 4 případy; přímé kladení: 3 případy; vystřelení vejce: 0 případů), čímž vznikl rozdíl mezi jinak podobnou délkou celkové aktivity v hnízdní budce (*duration of laying visit*; viz oddíl 3; Methods v **Příspěvku I**). Včetně případů uvíznutí v budce bylo nejrychlejší metodou vystřelení vejce (medián = 38 s, n = 17) následované upuštěním vejce (55 s, n = 30) a přímým kladením (74 s, n = 16; Extended Data Table 2 v **Příspěvku I**). Vystřelení vejce však disponovalo nejkratším časem i po odstranění případů uvíznutí v budkách a bylo také jedinou metodou kladení, která dokonale eliminovala toto riziko. Pokud jsme ovšem porovnávali dobu od usednutí kukačky do vchodu budky po samotné snesení vejce (*latency to egg-deposition*; viz oddíl 3; Methods v **Příspěvku I**),

potom bylo nejkratšího průměrného času dosaženo pomocí přímého kladení (medián = 17 s, n = 16), následovaného vystřelením vejce (29 s, n = 17) a upuštěním vejce (37 s, n = 30; Extended Data Table 2 v **Příspěvku I**). Toto zjištění společně s největší úspěšností v pokládání vajec do kotlinek, poukazovalo na přímé kladení, jako na technicky nejméně náročnou metodu přinejmenším po okamžik naklazení vejce.

Přímé kladení však zároveň disponovalo nejdelší průměrnou (74 s) i maximální dobou (4300 s, n = 16; Extended Data Table 2 v **Příspěvku I**) strávenou parazitem v hnízdě, což je obecně spojováno s největším rizikem opuštění hnízda hostiteli (Davies a Brooke 1988, Moksnes a kol. 2000, Samaš a kol. 2016). Tento předpoklad se skutečně potvrdil, protože všech šest případů dezerce hnízd (tj. 10 % z 63 kukaččích kladení) během 24 hodin po parazitaci připadalo na pět přímých kladení a na jedno upuštění vejce. Zkombinováním úspěšnosti kladení a míry dezerce hnízd jsme získali 63% pravděpodobnost úspěšného vylíhnutí kukaččího vejce u přímého kladení (n = 16), 53% pravděpodobnost u vystřelení vejce (n = 17) a pouze 7% pravděpodobnost u upuštění vejce (n = 30).

Vzhledem k tomu, že jsme dále nezjistili žádný vliv jednotlivých strategií na růst mláďat v hnízdě ani na jejich pohnízdni parametry (Extended Data Fig. 2 v **Příspěvku I**), tak můžeme předpokládat nejvyšší reprodukční zdatnost u přímého kladení, o něco nižší zdatnost u metody vystřelení vejce, avšak velmi nízkou zdatnost u metody upuštění vejce. Proto se poměrně vysoké procentuální zastoupení (48 % z 63 kladení) metody upuštění vejce v našich budkách zdá být velmi překvapivé a pravděpodobně odráží probíhající koevoluční změnu, či vyšší reprodukční zdatnost a efektivitu této metody v podmínkách přirozených dutinových hnízd.

Strategii vystřelení vejce z kloaky jsme jako vůbec první zdokumentovali nejen pro třídu ptáků, ale dosud nebyla pravděpodobně známa u žádného příslušníka blanatých vejcorodých živočichů. Navíc jsme dokázali, že se podobně jako v případě přímého kladení jedná o progresivní metodu kladení vajec, která zvyšuje reprodukční zdatnost parazita. V prostředí velice rozmanitých a často i pro kukačku obtížněji dosažitelných přirozených dutin (v porovnání s našimi budkami) představuje tato metoda kladení pravděpodobně univerzální a z evolučního hlediska nejmladší proti-adaptaci k překonání nejvýznamnější linie rehcí obrany, tedy dutinového hnízda.

Z dalších hypotetických metod parazitace dutinových hnízd (viz Extended Data Table 1 v **Příspěvku I**) jsme potvrdili strategii upuštění vejce. Tato metoda se sice zdá být velmi neefektivní v hnízdních budkách, ale může být mnohem účinnější ve stromových dutinách či různých jiných šterbinách s užšími dny, které jsou často využívány rehy zahradními v přirozených podmínkách (viz oddíl 1.2.3; Methods v **Příspěvku I**). Rovněž se může jednat o přechodnou metodu mezi přímým kladením a vystřelením vejce, kterou tak

mohou používat především mladší či méně zkušené kukaččí samice. Příští studie na toto téma by se proto měla zaměřit na dokonalejší identifikaci jednotlivých kukaččích samic například pomocí analýzy jaderné a mitochondriální DNA kukaččích mlád'at vylíhnutých z nakladených vajec napříč jednotlivými metodami kladení (viz Skjelseth a kol. 2004, Fossøy a kol. 2011).

Přímé kladení, tedy třetí námi zaznamenaná strategie kladení kukaččích vajec do hnízdních budek rehků, jsme shledali jako nejefektivnější vzhledem k úspěšnosti parazitace a celkové reprodukční zdatnosti parazita, ale zároveň jako strategii zvyšující riziko opuštění hnízda hostitelem a riziko zranění či dokonce uvíznutí a následného uhynutí samotné parazitující samice.

Naše výsledky demonstrují stádium kladení vajec jako prostor pro intenzivní koevoluční závody ve zbrojení mezi parazity a jejich hostiteli. Naše výsledky dále potvrzují dutinovou hnízdní strategii rehků zahradních jako jejich hlavní adaptaci proti kukaččímu parazitismu. Budoucí zaměření na výzkum kladení parazitů do přirozených hnízd dutinových hostitelů napříč různými paraziticko-hostitelskými systémy má proto potenciál k objasnění dříve nečekané dynamiky paraziticko-hostitelské koevoluce.

## **4.2 Jak moc je výchova kukaččího mláděte nákladná pro dutinového hostitele v porovnání s péčí o jeho vlastní potomky a co z toho plyne? (Příspěvek II)**

Strategie hnízdního parazitismu umožňuje parazitům vyhnout se rodičovským povinnostem na úkor svých hostitelů (Davies 2000), u kterých naopak vyvolává úplnou či částečnou ztrátu potomstva a fyziologicky nákladnou péči o nepříbuzného jedince (viz také oddíl 1.1). Vyčíslení těchto nákladů napříč kompletní pěstounskou péčí, tedy od inkubace vejce až po osamostatnění parazita, je klíčové pro pochopení selekčních tlaků působících na evoluci proti-parazitické obrany u hostitele. Hostitelé některých mezidruhových hnízdních parazitů například často přichází o část snůšky, nebo dokonce o všechny potomky, kteří jsou zabiti buď parazitickou samicí při kladení (Wyllie 1981), nebo vytlačeni (Grim a kol. 2009b), usoupeřeni (Kilner a kol. 2004), či přímo zabiti (Spottiswoode a Koorevaar 2012) parazitickým mládětem (tzn. *lost progeny cost*). Ovšem hostitelé všech hnízdních parazitů, ať už mezidruhových (Soler 1990) či vnitrodruhových (Samaš a kol. 2014) jsou navíc nuceni doslova promrhat část životních sil a času péčí o geneticky nepříbuzná mlád'ata na úkor šíření svých vlastních genů, což vede k dodatečným újmám na jejich celkové biologické zdatnosti (*fitness*; viz oddíly 1 a 1.1).

Náklady hostitelů spojené s kukaččím parazitismem obvykle zahrnují jak ztrátu vlastního potomstva (*lost progeny costs*; Wyllie 1981, Kilner a kol. 2004, Grim a kol. 2009b, Spottiswoode a Koorevaar 2012) tak investici do výchovy parazita (*rearing costs*). Náklady spojené s výchovou parazita mohou být dále členěny na tzv. bezprostřední náklady (*immediate costs*), jako je zvýšená náročnost péče o parazita v porovnání s přirozenou úrovní péče o vlastní potomky (Hauber a Montenegro 2002, Mark a Rubenstein 2013) a na tzv. budoucí náklady (*future costs*). Přičemž budoucí náklady zahrnují nižší potenciál investic do budoucí reprodukce (Hauber 2006), sníženou schopnost přežívání dospělců (Hoover a Reetz 2006) či sníženou schopnost přežívání vlastních mlád'at během pohnízdni fáze (Payne a Payne 1998). Na základě teoretických modelů i empirických studií zde byl předpoklad, že všechny tyto náklady spojené s kukaččím parazitismem jsou pro hostitele vyšší než v případě přirozené péče o vlastní snůšku (Davies 2000, Stokke a kol. 2007b).

Úspěšná parazitace kukačkou obecnou znamená pro její hostitele zpravidla ztrátu všech potomků z infikované snůšky a následné převzetí nákladů spojených s výchovou parazitického mláděte (Wyllie 1981, Davies 2000; viz také oddíl 1.2). Jen několik málo studií se však zabývalo kvantifikací bezprostředních (Wyllie 1981, Moksnes a kol. 2000, Samaš a kol. 2016) a budoucích hostitelských nákladů (Koleček a kol. 2015) vyplývajících z péče o tohoto parazita. Navíc, všechny tyto studie kvantifikovaly bezprostřední náklady nekompletně a to pouze se zaměřením na fázi mlád'at v hnízdě a tedy s naprostým opomenutím pohnízdni periody. Pro teoretické modely je však nezbytné počítat s kompletními bezprostředními náklady parazitismu, bez kterých nelze realisticky modelovat a predikovat koevoluční dynamiku (Cressler a kol. 2016).

Z tohoto důvodu jsme se jako vůbec první zaměřili na měření a kvantifikaci bezprostředních nákladů výchovy kukaččích mlád'at pro rehčí pěstouny napříč všemi vývojovými stádii. Výsledky jsme následně porovnali s nákladností výchovy vlastních rehčích potomků. Pro vyhodnocení každého vývojového stádia jsme přitom využili hned několik zátěžových parametrů, jmenovitě: inkubační, zahřívací a krmné úsilí, délku rodičovské péče, tělesnou kondici rodičů, a heterofilní/lymfocytový poměr jako indikátor úrovně rodičovského stresu (viz oddíl 3; Materials and Methods v **Příspěvku II**).

Pro parazitované snůšky, jsme na základě dosud známých informací predikovali delší inkubační dobu vajec (Thomson a kol. 1998), delší dobu pobytu mlád'at v hnízdě (Grim a Samaš 2016), menší procento vylíhlých mlád'at (*hatching success*; Rutila a kol. 2002) a menší procento mlád'at opouštějících hnízdo (*fledging success*; Samaš a kol. 2016). V případě hnízdni fáze, jsme byli schopni stanovit poměrně přesné predikce na základě alometrických vztahů mezi růstovými parametry a energetickými procesy ptáků (viz oddíl 3; Materials and Methods v **Příspěvku II**). Na druhou stranu jsme neměli žádné indicie pro pohnízdni fázi,

protože ani jedna z dosud publikovaných studií zaměřujících se na toto stádium u kukaček neposkytla žádná data pro mlád'ata hostitelů (Wyllie 1981).

Inkubační doba rehčích vajec byla dle předpokladu o půl dne kratší v neparazitovaných snůškách (průměr  $\pm$  SE = 13,3  $\pm$  0,1 dní, n = 67 snůšek) než v těch parazitovaných (13,9  $\pm$  0,1 dní, n = 50). Podobně jako v jiných kukačko-hostitelských systémech (Schulz-Hagen et al. 2009), byla inkubační doba v rámci parazitované snůšky kratší u kukaččího vejce (13,2  $\pm$  0,2 dní, n = 50 vajec) než u rehčích vajec (13,7  $\pm$  0,2 dní, n = 50 snůšek) a to přibližně o půl dne. Procento vylíhnutých rehčích vajec bylo rovněž dle předpokladu o 20 % vyšší v neparazitovaných snůškách (n = 106 snůšek) než ve snůškách parazitovaných (n = 100 snůšek; viz Table 1 v **Příspěvku II**).

Během prvních deseti dní výchovy mlád'at nebyl žádný rozdíl ve změně kondice (hmotnosti; viz Figure 1a v **Příspěvku II**) mezi rodiči vychovávajícími samotnou kukačku (*solitary cuckoo*) a rodiči pečujícími o čistě rehčí snůšku (*redstart brood*; průměr  $\pm$  SD = 6,1  $\pm$  1,1 rehčích mlád'at, n = 143 hnízd). Přesto jsme zjistili průkazně větší pokles v kondici samic než u samců (Figure 1a v **Příspěvku II**). U obou pohlaví jsme také zaznamenali podobnou míru vzestupu stresových ukazatelů (H/L poměru; Figure 1b v **Příspěvku II**). Nicméně u rodičů pečujících o čistě rehčí mlád'ata jsme zaznamenali vyšší stres než u těch vychovávajících kukaččí mládě (Figure 1b v **Příspěvku II**). Pokud jsme ovšem srovnali celou hnízdní fázi mlád'at (tj. prvních 10 dní rehčího a 18 dní kukaččího života) potom jsme nezjistili žádný rozdíl ve stresových ukazatelích mezi rodiči vychovávajícími rehky a těmi kteří pečovali o kukaččí mládě (Table 1 v **Příspěvku II**).

Analýza frekvence krmení v prvních deseti dnech po vylíhnutí ukázala, že je čistě rehčí snůška krmena téměř dvakrát častěji (průměr  $\pm$  SE = 14,9  $\pm$  0,7 krmení h<sup>-1</sup>) než samotné kukaččí mládě (8,4  $\pm$  0,4 krmení h<sup>-1</sup>). Frekvence krmení u smíšených snůšek (*mixed brood*; 10,9  $\pm$  0,8 krmení h<sup>-1</sup>) vycházela mezi hodnoty obou výše uvedených skupin, přičemž se průkazně nelišila ani od jedné z nich. Ve srovnání celé hnízdní fáze mlád'at byly čistě rehčí snůšky krmeny přibližně jeden a půl krát častěji (průměr  $\pm$  SE = 16,8  $\pm$  0,6 krmení h<sup>-1</sup>) než obě zbývající skupiny (tj. smíšené snůšky: 11,8  $\pm$  0,7 krmení h<sup>-1</sup>; samotná kukačka: 11,5  $\pm$  0,4 krmení h<sup>-1</sup>), mezi nimiž opět nebyl signifikantní rozdíl (pro velikosti jednotlivých vzorků viz Figure 2 a Table 1 v **Příspěvku II**).

Průměrná hodnota celkové metabolizované energie snůškou (TME; viz oddíl 3; Materials and Methods v **Příspěvku II**) byla však u smíšených snůšek o přibližně 600 kJ vyšší (průměr  $\pm$  SE = 3289  $\pm$  127 kJ, n =13) než u čistě rehčích (2673  $\pm$  103 kJ, n =39) a kukaččích snůšek (2644  $\pm$  55 kJ, n =32), které se navzájem nelišily. Rehčí samice také trávily o 20 % méně času zahříváním čistě rehčích snůšek (průměr  $\pm$  SE = 33,4  $\pm$  2,9 %) než zahříváním samotných kukaček (52,0  $\pm$  1,6 %) a smíšených snůšek (52,0  $\pm$  3,6 %), kde se

procento potřebného času vzájemně nelišilo (Figure 3 v **Příspěvku II**). Rehčí páry které pečovaly o parazitovaná hnízda, tedy o samotné kukačky (průměr  $\pm$  SE = 20,1  $\pm$  0,3 dní, n = 55 snůšek) a smíšené snůšky (20,1  $\pm$  0,7 dní, n = 15 snůšek) byly nuceny prodloužit svou hnízdní péči přibližně o 6 dní v porovnání s rodiči neparazitovaných snůšek, které opouštěly hnízda 13,8  $\pm$  0,1 dní (průměr  $\pm$  SE, n = 97 snůšek) po vylíhnutí (Table 1 v **Příspěvku II**).

Počet rehčích mlád'at, které úspěšně opustily hnízdo, byl přibližně o 45 % vyšší v neparazitovaných snůškách (průměr  $\pm$  SE = 90,9  $\pm$  2,2 %, n = 112 snůšek) než ve snůškách smíšených (44,3  $\pm$  33,8 %, n = 15 snůšek; viz Table 1 v **Příspěvku II**). Po opuštění hnízda byla jednotlivá rehčí mlád'ata z neparazitovaných hnízd krmena signifikantně méně často (průměr  $\pm$  SE = 8,8  $\pm$  0,4 krmení h<sup>-1</sup>, n = 54 vzorků z 35 mlád'at z 15 snůšek) než samotné kukačky (12,9  $\pm$  0,8 krmení h<sup>-1</sup>, n = 76 vzorků z 27 mlád'at z 27 hnízd), ale podobně často jako kukačky (11,9  $\pm$  2,9 krmení h<sup>-1</sup>, n = 8 vzorků z šesti mlád'at z šesti hnízd) a rehci ze smíšených snůšek (10,1  $\pm$  0,8 krmení h<sup>-1</sup>, n = 7 vzorků ze sedmi mlád'at ze čtyř hnízd). Délka závislosti na rodičích po opuštění hnízda se statisticky nelišila napříč všemi čtyřmi skupinami mlád'at s nižšími hodnotami u samotných kukaček (průměr  $\pm$  SE = 16,8  $\pm$  0,7 dní, n = 9 mlád'at z devíti snůšek) a samotných rehků (*solitary redstarts*; 18,7  $\pm$  0,5 dní, n = 14 mlád'at z devíti snůšek) a vyššími hodnotami u kukaček (*mixed cuckoos*; 19,0  $\pm$  3,0 dní, n = 2 mlád'ata ze dvou snůšek) a rehků ze smíšených snůšek (*mixed redstarts*; 19,6  $\pm$  2,2 dní, n = 5 mlád'at ze čtyř snůšek).

Navzdory tradičním předpokladům (Davies 2000) nebyla výchova samotného parazitického mláděte spojena s celkově vyššími fyziologickými či fyzickými náklady pěstounů nad rámec přirozené úrovně dané úsilím potřebným k výchově jejich vlastní neparazitované snůšky. Naopak některé hnízdní ukazatele rodičovského úsilí (např. krmné úsilí a hladina stresových ukazatelů) byly dokonce významně vyšší při výchově vlastních mlád'at rehků než samotných kukaček. Konkrétně u krmného úsilí tento trend platil i v porovnání se smíšenými snůškami, kde kukačka sdílela hnízdo s několika rehčími mlád'aty. Tento jev se dal vysvětlit jedině tím, že ani kukačka v podmínkách smíšené snůšky nepředstavovala pro rehčí rodiče větší zátěž, než hostitelská mlád'ata, která se jí samotné podařilo vytlačit. Parazitování rehci tak mohou mít po hnízdní sezóně paradoxně vyšší pravděpodobnost přežití a úspěšné budoucí reprodukce, než rodiče, kteří byli nuceni investovat více sil do neparazitované snůšky.

V souladu s předpoklady znamenala přítomnost kukaččího mláděte v rehčím hnízdě menší počet vylíhnutých a hnízdo úspěšně opouštějících rehčích mlád'at, větší úsilí potřebné na zahřívání mlád'at a pět dní rodičovské péče navíc v průběhu kompletního rozmnožovacího cyklu. Na druhou stranu jsme nezaznamenali žádné rozdíly v kondici nebo v úrovni fyziologického stresu mezi rehčími rodiči vychovávajícími čistě rehčí snůšky,

smíšené snůšky a samotné kukačky v průběhu hnízdní fáze, což je v rozporu s dosavadními poznatky (Hauber a Montenegro 2002, Mark a Rubenstein 2013). Tento jev byl pravděpodobně způsoben nižší frekvencí krmení (přibližně o 2/3) u kukaččího mláděte v porovnání s hostitelskou snůškou o stejné hmotnosti, což je v naprostém kontrastu se znalostmi z jiných hostitelsko-parazitických systémů (Hoover a Reetz 2006). Kukačky ve smíšených snůškách byly krmeny podobně často jako samotné kukačky, což potvrzuje dřívější zjištění (Rutila a kol. 2002, Samaš a kol. 2016, Grim a Rutila 2017) a odporuje hypotéze o využívání mlád'at hostitelů k zintenzivnění pěstounské péče v kukačko-rehčím systému (viz Kilner a kol. 2004).

Během pohnízdí fáze obdržela kukačka přibližně o 34 % více krmných dávek za hodinu než jedno rehčí mládě. Vzhledem k tomu, že kukaččí mládě v průběhu pohnízdí fáze běžně váží přibližně šestkrát víc než rehčí potomek (viz Figure 1 v Grim a kol. 2017; **Příspěvek IV**), se tento rozdíl zdá být zanedbatelný. Z neparazitovaného rehčího hnízda navíc v průměru vylétne přibližně šest mlád'at (Samaš a kol. 2016), což nasvědčuje mnohem většímu celkovému krmnému úsilí než během pohnízdí péče o jedinou kukačku. Samotné kukaččí mládě dosáhlo nezávislosti na dospělých rehčích přibližně o dva dny dříve po vyskočení z hnízda než jejich vlastní potomci, přičemž si ale vyžádalo šest dní péče v hnízdě navíc.

Relativně nízké bezprostřední náklady spojené s výchovou parazita by mohly také částečně vysvětlovat nízkou úroveň dosud známé hostitelovy obrany v našem paraziticko-hostitelském systému, který se jinak vyznačuje neobvykle vysokou frekvencí parazitismu (Samaš a kol. 2016). Právě z důvodu objasnění podobných nesrovnalostí mohou být takto komplexní a dosud opomíjené studie naprosto nezbytné pro porozumění koevoluční dynamiky paraziticko-hostitelských systémů.

#### **4.3 Může nízká úroveň nákladnosti výchovy kukaččího mláděte pro rehčí rodiče vysvětlovat nízkou úroveň hostitelské obrany u rehka zahradního? (Příspěvek III)**

Hlavním obsahem tohoto příspěvku je reakce na článek Yanga a kol. (2019), který zpochybňoval jeden z našich vedlejších závěrů uvedených v práci o nákladnosti výchovy kukačky obecné pro rehky zahradní (**Příspěvek II**). Podle Yanga a kol. (2019) může podobná úroveň bezprostředních nákladů na výchovu kukačky a hostitelských mlád'at jen stěží vysvětlovat nízkou úroveň protiparazitické obrany u hostitelů (viz **Příspěvek II**), protože není dostatečně významným činitelem pro ovlivnění evoluce hostitelské obrany.



Yang a kol. (2019) argumentovali především tím, že jednotliví kukačkou parazitovaní hostitelé nepřispívají svými geny do následujících generací. Už jenom tento jev podle nich vytváří dostatečně silný selekční tlak na hostitele, zatímco nadměrná rodičovská péče o parazitické mládě může jen stěží ovlivnit vývoj protiparazitických adaptací u hostitelů. Yang a kol. (2019) dále uvedli, že i kdyby neexistovaly žádné bezprostřední náklady na výchovu kukaččích mlád'at, tak by parazitismus sám o sobě měl být dostatečným podnětem pro vývoj protiparazitické obrany u hostitelů.

V této naší reakci samozřejmě plně souhlasíme s tím, že ztráta potomstva vytváří nejsilnější selekční tlak pro vývoj protiparazitické obrany u hostitele. Rovněž souhlasíme s tvrzením, že ztráta potomků je sama o sobě dostatečným podnětem pro vývoj protiparazitických adaptací u hostitelů i přes potenciální absenci bezprostředních nákladů spojených s výchovou parazita (Yang a kol. 2019). V našem původním článku (**Příspěvek II**) ovšem tyto věci nezpochybňujeme a dokonce je vůbec neřešíme ani nezmiňujeme. Navíc žádný z argumentů, které Yang a kol. (2019) předložili, nevyvrací náš původní závěr, že se na vývoji hostitelské obrany může podílet vícero faktorů, tedy i různé formy nákladnosti kukaččího parazitismu pro hostitele.

Naše původní závěry (**Příspěvek II**) navíc potvrzuje skutečnost, že se ztráta potomstva v důsledku kukaččího parazitismu (tzv. *lost progeny cost*; tj. hlavní argument v Yang a kol. 2019) vyskytuje v prakticky totožné míře (tj. kukaččí mládě usmrtí všechna ostatní mlád'ata) u všech pravidelných hostitelů kukačky obecné (Davies 2000) s jedinou výjimkou a to právě námi studovaného rehka zahradního (**Příspěvek II**). Takto stejnorodé náklady způsobené totožnou ztrátou potomstva proto jednoduše nemohou vysvětlit ohromnou variabilitu v protiparazitické obraně napříč kukaččími hostiteli. Místo toho zde podrobněji rozebíráme, že právě vícero složek nákladnosti parazitismu (tj. nikoli pouze ztráta potomků) může hrát roli v evoluci protiparazitické obrany hostitelů a způsobovat tak její různou intenzitu.

Yang a kol. (2019) dále předpokládali, že všichni parazitovaní rehci musí nutně přijít o všechny své potomky a tím o možnost předat své geny do dalších generací. Tím ovšem zcela ignorovali fakt, že hnízdní strategie rehků významně snižuje negativní dopad (*virulence*) kukaččího parazitismu na tohoto hostitele. Jak naše (**Příspěvky II**) tak i další studie (Rutila a kol. 2002, Grim a Rutila 2017) totiž ukazují, že mnoho kukaček není schopno vytlačit všechna rehčí mlád'ata z hnízda. Tato mlád'ata jsou schopna vyrůst po boku kukačky v tzv. smíšených snůškách (*mixed broods*) a úspěšně vylétnout z hnízda navzdory kukaččímu parazitismu (Rutila a kol. 2002, Grim a Rutila 2017). Kukaččí mlád'ata ve smíšených snůškách naopak často nepřežijí ani hnízdní fázi (Grim a Rutila 2017).

V této práci rovněž zpochybňujeme argumenty Yanga a kol. (2019) ohledně srovnání parazitického a predančního tlaku a jejich vlivu na vývoj hostitelské obrany. Také vysvětlujeme proč je srovnání nákladnosti výchovy (tj. *rearing cost*) vlastních a nepříbuzných mlád'at relevantní pro hodnocení celkové nákladnosti parazitismu a jaký má tato nákladnost vliv na výslednou zdatnost hostitelů. Zabýváme se zde také významem jediné známé aktivní obrany rehků proti kukačkám v podobě opouštění hnízd (tj. *nest desertion*) vzhledem k jednotlivým složkám celkové nákladnosti parazitismu.

Výsledkem naší obhajoby je tedy konstatování, že variabilní úroveň protiparazitické obrany napříč pravidelnými hostitelskými druhy (kromě rehka zahradního; Grim a Rutila 2017) i jejich populacemi nemůže být vysvětlena pouze zamezením přenosu hostitelských genů (Yang a kol. 2019) a to z důvodu jednotné ztráty veškerého potomstva (Davies 2000). Dalším naším nejzásadnějším argumentem je neobjektivnost nadřazování některých důsledků parazitismu nad jinými. Relativně různá váha jednotlivých složek (např. ztráta potomstva vs. nákladnost výchovy parazita) celkové nákladnosti parazitismu neznamená, že pouze ta závažnější složka má vliv na evoluci hostitelské obrany (viz např. Martin 2014) a to bez ohledu na rozdíl v selekčním tlaku, kterým jednotlivé složky působí.

Na závěr souhlasíme s návrhem Yanga a kol. (2019), že k vysvětlení různé úrovně protiparazitické obrany u hostitelů je v budoucnu potřeba zahrnout vnitrodruhové i mezidruhové srovnání nákladů na výchovu parazita napříč různými populacemi. Teprve takto komplexní srovnávací studie by mohly odhalit, zda a do jaké míry jsou náklady spojené s kukaččím parazitismem korelovány s úrovní protiparazitické obrany u hostitelů.

#### **4.4 Jakým způsobem probíhá pohnízdni interakce kukačky obecné s jejím jediným pravidelným dutinovým hostitelem a jak se do ní promítá specifičnost této hnízdní strategie? (Příspěvek IV)**

V tomto příspěvku jsme se zaměřili na detailní studium pohnízdni periody v rámci kukačko-hostitelské interakce. Pohnízdni fáze představuje poslední etapu rodičovské péče (Anders a kol. 1997, Gruebler a Naef-Daenzer 2010, Cox a kol. 2014) a její výsledek je tak klíčový pro celkovou reprodukční a populační produktivitu (Anders a kol. 1997). Navzdory její potenciální důležitosti se však z výzkumného hlediska jedná o mimořádně opomíjenou fázi kukačko-hostitelské interakce (Davies 2000, Mikulica a kol. 2017). Studium pohnízdni periody kukačky obecné se dosud zabývaly pouze tři práce (Wyllie 1981, Vega a kol. 2016, **Příspěvek V**). Nicméně všechny tři studie byly zaměřeny čistě na potomky parazita a poskytovaly jen několik základních informací, jako je věk mlád'at při prvním letu, míra

přežívání mlád'at, délka pohnízdni fáze apod. (Wyllie 1981, Vega a kol. 2016, **Příspěvek V**). Ani jedna z těchto tří prací však neposkytla žádná data pro vlastní mlád'ata hostitelů.

Z tohoto důvodu jsme se pomocí radiotelemetrie pokusili získat vůbec první detailní informace o pohnízdni interakci kukačky obecné a jejího hostitele a rovněž první plně srovnatelná data pro parazitická i hostitelská mlád'ata. Bez kvantifikace reprodukčního výsledku na konci pohnízdni fáze a přirozené úrovně rodičovského úsilí v podobě péče o vlastní mlád'ata je totiž nemožné určit nákladnost celkové péče o parazita (Rasmussen a Sealy 2006, **Příspěvek II**). Míra této celkové zátěže vyvolává odpovídající selekční tlak na vývoj obranných mechanismů u hostitele a je tak klíčem k pochopení paraziticko-hostitelské koevoluce (Takasu a kol. 1993, Davies 2000, Soler 2017).

Podobně jako v předchozích studiích našeho paraziticko-hostitelského systému (Rutila a kol. 2002, Grim a kol. 2009b, Samaš a kol. 2016, Thomson a kol. 2016; **Příspěvek II**) jsme využili unikátní variabilitu ve složení rehčích snůšek. Tato variabilita nám umožnila porovnat kukaččí a rehčí mlád'ata vyrůstající samostatně (tj. v „*solitary broods*“; n = 58 snůšek), jako samotné kukačky („*solitary cuckoos*“; n = 31 kukaččích mlád'at z 31 snůšek) a jako samotní rehci („*solitary redstarts*“; n = 137 rehčích mlád'at z 27 snůšek), s mlád'aty vychovávanými společně ve smíšených snůškách (tj. v „*mixed broods*“; n = 10 snůšek), které jsme označily jako „*mixed cuckoos*“ (n = 11 kukaččích mlád'at z 10 snůšek) a „*mixed redstarts*“ (n = 22 rehčích mlád'at z 10 snůšek; viz oddíl 3; **Methods v Příspěvku IV**).

Na základě poznatků ze studia hnízdní periody kukačko-rehčího systému (Rutila a kol. 2002, Grim a kol. 2009b, Samaš a kol. 2016, Thomson a kol. 2016, Grima a kol. 2017), bylo naším hlavním předpokladem pro pohnízdni fázi znevýhodnění mlád'at (tj. horší kondice a nižší míra přežívání) ze smíšených snůšek oproti mlád'atům vyrůstajícím odděleně. Z důvodu odlišné fyziologie a anatomie obou interagujících druhů (Grim a kol. 2017) jsme dále předpokládali, znevýhodnění kukaččích mlád'at v porovnání s vlastními mlád'aty rehků během pohnízdni fáze. Rovněž jsme brali v úvahu možnost diskriminace kukaččích mlád'at ve smíšených snůškách rehčími rodiči na základě jejich značně odlišného vzhledu od rehčích potomků v průběhu pohnízdni fáze. K tomuto předpokladu nás vedly závěry některých prací založených na jiných paraziticko-hostitelských systémech (Fraga 1998; De Mársico a kol. 2012, 2017).

Tyto hypotézy jsme testovali pomocí srovnání pěti fyziologických (věk od vylíhnutí, věk od vyskočení z hnízda, hmotnost, délka křídla a délka tarzu) a čtyř behaviorálních parametrů (vzdálenost od hnízda, denní rozptyl, délka letu, počet přeletů za hodinu) změřených v průběhu pohnízdni fáze a v pěti referenčních bodech vývoje mlád'at (vyskočení z hnízda, první let, predace, vyhladovění, osamostatnění; viz Tabulka 1). U všech čtyř skupin mlád'at jsme rovněž provedli srovnání míry predace, vyhladovění a přežití. Celkem jsme tak

porovnali 29 parametrů odrážejících pohnízdni vývoj čtyř skupin mlád'at pocházejících ze tří různých hnízdni situací vznikajících v rámci kukačko-rehčí interakce (viz oddíl 3; Methods v **Příspěvku IV**).

Kukaččí mlád'ata vyrůstající ve smíšených snůškách překvapivě vyskočila z hnízda v podobném věku, tedy v podobném počtu dní od vylíhnutí (průměr  $\pm$  SE =  $21,2 \pm 0,8$  dní,  $n = 11$  mlád'at), jako kukačky vyrůstající bez konkurence dalších mlád'at ( $20,1 \pm 0,3$  dní,  $n = 31$  mlád'at; Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Samotné kukačky však podle předpokladu disponovaly v den vyskočení z hnízda vyšší hmotností, delšími křídly, větší délkou tarzu a začali létat v nižším věku než kukačky ze smíšených snůšek (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Nicméně dalších 25 parametrů měřených v pěti stěžejních úrovních a také v průběhu pohnízdni fáze se mezi samostatně vychovanými kukačkami a kukačkami ze smíšených snůšek signifikantně nelišilo (Tabulka 1; Figure 1–5 v **Příspěvku IV**). Kukačky ze smíšených snůšek tak dokázaly v průběhu pohnízdni fáze kompenzovat následky pro ně nepříznivé hnízdni periody a v době osamostatňování se již od samotných kukaček nelišily v žádném z měřených parametrů (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Z tohoto důvodu můžeme zamítnout hypotézu pohnízdni diskriminace kukaččích mlád'at ve smíšených snůškách rehčími pěstouny.

Rehčí mlád'ata vyrůstající samostatně v neparazitovaných snůškách se v žádném z měřených parametrů, s výjimkou začátku létání v nižším věku (průměr  $\pm$  SE =  $15,9 \pm 0,5$  dní,  $n = 23$  snůšek), významně nelišila od rehčích mlád'at ze smíšených snůšek (věk v den prvního letu:  $18,1 \pm 0,8$  dní,  $n = 9$  snůšek; Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Rehci ze smíšených snůšek tak dosáhli osamostatnění s podobnými parametry jako rehci, jejichž hnízda nebyla parazitována (Tabulka 1; Figure 1–5 v **Příspěvku IV**).

Samotné kukačky vyskočily z hnízda, začaly létat a dosáhly samostatnosti později od vylíhnutí než rehci z neparazitovaných hnízd (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Nicméně počet dnů od vyskočení z hnízda se v době osamostatnění mezi oběma skupinami nelišil (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Podobně i kukačky ze smíšených snůšek vyskočily z hnízda, začaly létat a dosáhly samostatnosti později od vylíhnutí než rehci ze stejného typu snůšek (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Nicméně počet dní od vyskočení z hnízda se u těchto skupin nelišil ani v době prvního letu ani při osamostatnění (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Mezi jednotlivými skupinami jsme překvapivě nezaznamenali signifikantní rozdíl v míře predace, vyhladování a v celkové míře přežití (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Na základě všech těchto zjištění lze konstatovat, že pravidelný výskyt smíšených snůšek v tomto paraziticko-hostitelském systému, který je napříč kukaččími hostiteli naprosto unikátní, může být evolučně stabilním jevem jak pro rehčí hostitele tak pro kukačku (viz také **Příspěvek II**).

Schopnost kukaček ze smíšených snůšek kompenzovat během pohnízdni fáze fyziologické a pohybové nedostatky, které je znevýhodňují především v prvních třech dnech po opuštění hnízda, může být vysvětlena rozdělováním snůšek rehčimi rodiči, což jsme v naší rehčí populaci zaznamenali jako naprosto běžný jev. Po rozdělení původně smíšených snůšek, ke kterému zpravidla dochází při vyskočení rehčích mlád'at z hnízda (rehčí mlád'ata vyskakují přibližně o týden dříve než kukačky; Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**), totiž kukačka přijímá veškerou potravu od svého výhradního pečovatele, což se zdá být pro ni výhodné. Naopak rehci ze smíšených snůšek, kterým se povedlo přežít vytlačování kukačkou (průměr  $\pm$  SE = 2,3  $\pm$  0,3 rehčích mlád'at na smíšenou snůšku, n = 22 mlád'at z 10 snůšek; Methods v **Příspěvku IV**), vyskočili z hnízda v překvapivě podobné kondici (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**) jako rehci z neparazitovaných hnízd (průměr  $\pm$  SE = 5,1  $\pm$  0,3 rehčích mlád'at na snůšku, n = 137 mlád'at z 27 snůšek; Methods v **Příspěvku IV**). Rehčí mládě v průměrné smíšené snůšce totiž vyrůstá pouze s jedním rehčím sourozencem a s kukačkou, která je během hnízdní fáze velmi slabým konkurentem (**Příspěvek II**). Proto se zdá být pravděpodobné, že rehčí mládě ve smíšených snůškách přijímá podobné či dokonce větší množství potravy než rehek vyrůstající s dalšími čtyřmi rehčími konkurenty v průměrné neparazitované snůšce (viz také **Příspěvek II**).

Tato práce podává první opravdu detailní náhled na pohnízdni periodu v rámci všech dosud realizovaných studií zabývajících se kukačko-hostitelskými systémy (viz Wyllie 1981, Vega a kol. 2016, **Příspěvek V**). Na základě porovnatelných dat vzhledem k těmto studiím jsme zjistili, že kukačky v rehčím systému mohou být vystaveny menší hrozbě predace než kukačky vychované u rákosníků obecných (viz Table 32 ve Wyllie 1981) a to z důvodu prodlouženého pobytu v chráněném dutinovém hnízdě a podobné či dokonce dřívější schopnosti letu po jejich vyskočení z hnízda (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Rovněž jsme upřesnili závěry výzkumu Vegy a kol. (2016), který předpokládal osamostatňování kukaček na rehčích rodičích ve vzdálenosti více než 20 km od hnízda. Naše výsledky ukazují maximální vzdálenost od hnízda v délce 655 m u samotných kukaček a 807 m u smíšených kukaček při dosažení samostatnosti na stejném hostiteli (viz také Tabulka 1). Tato studie rovněž odhalila, že navzdory o týden kratší hnízdní periodě u rehků než u kukaček, mají oba druhy překvapivě podobnou délku pohnízdni fáze (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). Samotné kukačky dokonce dosáhly osamostatnění o dva dny dříve od vyskočení z hnízda než samotní rehci (Tabulka 1; Figure 5 v **Příspěvku IV**). To dokazuje buď dokonalou adaptaci kukaček proti riziku predace po opuštění bezpečného hnízda rehků (Samaš a kol. 2016), ve kterém tráví více času než kukačky v jiných systémech (viz Wyllie 1981), nebo adaptaci na poměrně krátkou a tudíž limitovanou péči o mlád'ata u tohoto hostitele (Grim a Rutila 2017).

Míry predace, vyhladovění a přežití se v našem systému překvapivě nelišily mezi jednotlivými skupinami mlád'at. Pouze 14 % z 29 kukaččích mlád'at (s ověřeným osudem; viz Methods v **Příspěvku IV**), uhynulo v důsledku vyhladovění, což potvrzuje rehky zahradní jako velmi vhodné kukaččí hostitele (Grim a kol. 2017) rovněž vzhledem k výsledkům pěstounské péče během pohnízdni periody. Podobně pouze 17 % z 53 hostitelských mlád'at (s ověřeným osudem) vyhladovělo během pohnízdni fáze. Naše výsledky proto potvrzují dřívější zjištění, že predace (nikoli vyhladovění) je primárním původcem mortality mlád'at během pohnízdni fáze u pěvců (Sullivan 1989, Yackel-Adams a kol. 2006). V naší studii bylo totiž dalších 48 % kukaček predováno a tak pouze 38 % kukaček přežilo do osamostatnění (n = 29 mlád'at). Což se prakticky shoduje s 36% mírou přežívání u vlastních mlád'at rehků v této studii (n = 53 mlád'at) a jedná se o podstatně větší úspěšnost přežívání, než jakou zaznamenal Wyllie (1981) u kukaček vychovávaných rákosníky obecnými (tj. 22 %, n = 74 mlád'at). Míra pohnízdniho přežívání pod 40 % může však v kombinaci s nízkým mezisezónním přežíváním způsobovat významné poklesy populace (Cox a kol. 2014). Například Vega a kol. (2016) zjistili u samotných kukaček vychovávaných u rehků pouze 20% míru přežívání mezi osamostatněním a doletem na zimoviště. Stejně tak se může vliv kompenzačního růstu negativně projevit na zdatnosti kukaček ze smíšených snůšek až teprve v jejich pozdějším věku (Metcalf & Monaghan 2001).

K ověření takovýchto možností je zapotřebí dalších telemetrických studií kukačko-rehčí interakce za hranicemi pohnízdni periody. Absence podobně komplexních prací jako je ta naše bohužel neumožňuje srovnání napříč paraziticko-hostitelskými systémy. Proto by bylo užitečné přesměrovat část extrémní pozornosti věnované studiu hnízdni periody u hnízdni parazitů a jejich hostitelů také na prakticky neznámou pohnízdni fázi a to především v kontextu koevolučních závodů ve zbrojení.

**Tabulka 1** Srovnání 27 parametrů (průměr ± SE), měřených v pěti referenčních bodech vývoje mlád'at v průběhu pohnízdni fáze, mezi samotnými kukačkami ("*solitary cuckoo*", n = 31 mlád'at), smíšenými kukačkami ("*mixed cuckoo*", n = 11 mlád'at), samotnými rehky ("*solitary redstart*", n = 27 snůšek) a smíšenými rehky ("*mixed redstart*", n = 10 snůšek). Srovnání hodnot mezi jednotlivými skupinami mlád'at bylo provedeno pomocí Tukeyova testu (*post-hoc Tukey test*) a jeho výsledky jsou znázorněny prostřednictvím písmen (viz horní indexy: a, b, c, d), kde je referenční úroveň "samotných rehků" vždy označena písmenem "a". Míry predace, vyhladovění a přežití u rehčích skupin jsou rovněž počítány jako průměry na snůšku. Pro vysvětlení termínů a metodologických detailů viz Methods v **Příspěvku IV**.

| Parametr                        | Samotné/í                  |          |                           |          | Smíšené/í                  |          |                            |          |
|---------------------------------|----------------------------|----------|---------------------------|----------|----------------------------|----------|----------------------------|----------|
|                                 | Kukačky                    | <i>n</i> | Rehci                     | <i>n</i> | Kukačky                    | <i>n</i> | Rehci                      | <i>n</i> |
| <b>Vyskočení z hnízda</b>       |                            |          |                           |          |                            |          |                            |          |
| Věk od vylíhnutí (dny)          | 20.1 ± 0.3 <sup>b</sup>    | 31       | 13.3 ± 0.2 <sup>a</sup>   | 27       | 21.2 ± 0.8 <sup>b</sup>    | 11       | 15.0 ± 0.8 <sup>a</sup>    | 10       |
| Hmotnost (g)                    | 98.7 ± 2.5 <sup>c</sup>    | 19       | 15.5 ± 0.2 <sup>a</sup>   | 20       | 75.1 ± 6.3 <sup>b</sup>    | 5        | 15.8 ± 0.3 <sup>a</sup>    | 7        |
| Délka křídla (mm)               | 134.6 ± 2.0 <sup>c</sup>   | 19       | 54.5 ± 0.8 <sup>a</sup>   | 20       | 122.6 ± 3.3 <sup>b</sup>   | 5        | 52.2 ± 2.3 <sup>a</sup>    | 7        |
| Délka tarzu (mm)                | 27.1 ± 0.2 <sup>c</sup>    | 19       | 24.4 ± 0.2 <sup>a</sup>   | 20       | 26.0 ± 0.1 <sup>b</sup>    | 5        | 24.0 ± 0.3 <sup>a</sup>    | 7        |
| <b>První let</b>                |                            |          |                           |          |                            |          |                            |          |
| Věk od vylíhnutí (dny)          | 21.1 ± 0.3 <sup>c</sup>    | 25       | 15.9 ± 0.5 <sup>a</sup>   | 23       | 24.2 ± 1.0 <sup>d</sup>    | 5        | 18.1 ± 0.8 <sup>b</sup>    | 9        |
| Věk od vyskočení z hnízda (dny) | 1.2 ± 0.2 <sup>b</sup>     | 25       | 2.5 ± 0.4 <sup>a</sup>    | 23       | 2.6 ± 0.7 <sup>ab</sup>    | 5        | 3.7 ± 0.8 <sup>ab</sup>    | 9        |
| Ulétnutá vzdálenost (m)         | 41.2 ± 5.5 <sup>b</sup>    | 20       | 13.6 ± 1.6 <sup>a</sup>   | 20       | 20.0 ± 5.4 <sup>ab</sup>   | 4        | 12.7 ± 1.7 <sup>ab</sup>   | 9        |
| Vzdálenost od hnízda (m)        | 60.1 ± 8.5 <sup>b</sup>    | 25       | 117.3 ± 13.1 <sup>a</sup> | 23       | 77.0 ± 23.5 <sup>ab</sup>  | 5        | 112.0 ± 16.1 <sup>ab</sup> | 9        |
| Hmotnost (g)                    | 95.4 ± 2.7 <sup>b</sup>    | 14       | 15.4 ± 0.2 <sup>a</sup>   | 16       | 89.5 <sup>b</sup>          | 1        | 15.4 ± 0.4 <sup>a</sup>    | 8        |
| Délka křídla (mm)               | 136.9 ± 1.9 <sup>b</sup>   | 14       | 60.8 ± 1.3 <sup>a</sup>   | 16       | 140.0 <sup>b</sup>         | 1        | 63.0 ± 2.0 <sup>a</sup>    | 8        |
| Délka raru (mm)                 | 27.4 ± 0.2 <sup>b</sup>    | 14       | 24.3 ± 0.1 <sup>a</sup>   | 16       | 26.3 <sup>b</sup>          | 1        | 24.3 ± 0.2 <sup>a</sup>    | 8        |
| <b>Predace</b>                  |                            |          |                           |          |                            |          |                            |          |
| Věk od vylíhnutí (dny)          | 23.9 ± 1.4 <sup>a</sup>    | 7        | 22.0 ± 1.5 <sup>a</sup>   | 11       | 27.7 ± 2.3 <sup>a</sup>    | 7        | 23.1 ± 2.9 <sup>a</sup>    | 4        |
| Věk od vyskočení z hnízda (dny) | 4.0 ± 1.4 <sup>a</sup>     | 7        | 8.4 ± 1.3 <sup>a</sup>    | 11       | 5.9 ± 1.9 <sup>a</sup>     | 7        | 9.3 ± 2.7 <sup>a</sup>     | 4        |
| Vzdálenost od hnízda (m)        | 500.7 ± 276.5 <sup>a</sup> | 7        | 263.5 ± 67.0 <sup>a</sup> | 11       | 665.0 ± 249.0 <sup>a</sup> | 7        | 352.4 ± 93.0 <sup>a</sup>  | 4        |
| Míra predace (%)                | 38.9 <sup>a</sup>          | 18       | 50.7 <sup>a</sup>         | 17       | 63.6 <sup>a</sup>          | 11       | 31.3 <sup>a</sup>          | 8        |
| <b>Vyhľadování</b>              |                            |          |                           |          |                            |          |                            |          |
| Věk od vylíhnutí (dny)          | 31.5 ± 0.5 <sup>a</sup>    | 2        | 21.4 ± 3.4 <sup>a</sup>   | 5        | 20.0 ± 1.0 <sup>a</sup>    | 2        | 23.0 ± 2.0 <sup>a</sup>    | 2        |
| Věk od vyskočení z hnízda (dny) | 7.0 ± 4.0 <sup>a</sup>     | 2        | 7.6 ± 3.2 <sup>a</sup>    | 5        | 1.5 ± 1.5 <sup>a</sup>     | 2        | 6.0 ± 5.0 <sup>a</sup>     | 2        |
| Vzdálenost od hnízda (m)        | 139.5 ± 39.5 <sup>a</sup>  | 2        | 73.4 ± 14.0 <sup>a</sup>  | 5        | 71.5 ± 52.5 <sup>a</sup>   | 2        | 104.0 ± 33.0 <sup>a</sup>  | 2        |
| Hmotnost (g)                    | 52.8 ± 9.1 <sup>b</sup>    | 2        | 10.5 ± 0.8 <sup>a</sup>   | 5        | 63.7 ± 2.9 <sup>b</sup>    | 2        | 14.8 ± 1.2 <sup>a</sup>    | 2        |
| Délka křídla (mm)               | 164.0 ± 11.0 <sup>b</sup>  | 2        | 64.4 ± 4.2 <sup>a</sup>   | 5        | 125.5 ± 0.5 <sup>b</sup>   | 2        | 56.5 ± 15.5 <sup>a</sup>   | 2        |
| Délka tarzu (mm)                | 25.7 ± 0.1 <sup>a</sup>    | 2        | 24.1 ± 0.6 <sup>a</sup>   | 4        | 25.6 ± 0.3 <sup>a</sup>    | 2        | 23.2 ± 0.3 <sup>a</sup>    | 2        |
| Míra vyhledování (%)            | 11.1 <sup>a</sup>          | 18       | 20.8 <sup>a</sup>         | 17       | 18.2 <sup>a</sup>          | 11       | 24.9 <sup>a</sup>          | 8        |
| <b>Osamostatnění</b>            |                            |          |                           |          |                            |          |                            |          |
| Věk od vylíhnutí (dny)          | 36.8 ± 0.6 <sup>b</sup>    | 9        | 32.8 ± 0.6 <sup>a</sup>   | 8        | 39.5 ± 1.5 <sup>b</sup>    | 2        | 32.6 ± 2.2 <sup>a</sup>    | 5        |
| Věk od vyskočení z hnízda (dny) | 16.8 ± 0.7 <sup>a</sup>    | 9        | 18.9 ± 0.6 <sup>a</sup>   | 8        | 19.0 ± 3.0 <sup>a</sup>    | 2        | 19.5 ± 2.2 <sup>a</sup>    | 5        |
| Ulétnutá vzdálenost (m)         | 37.5 ± 4.9 <sup>a</sup>    | 8        | 22.9 ± 4.2 <sup>a</sup>   | 7        | 40.0 <sup>a</sup>          | 1        | 25.0 ± 2.2 <sup>a</sup>    | 5        |
| Vzdálenost od hnízda (m)        | 334.3 ± 57.2 <sup>a</sup>  | 9        | 367.8 ± 62.2 <sup>a</sup> | 8        | 706.0 ± 101.0 <sup>a</sup> | 2        | 516.9 ± 198.6 <sup>a</sup> | 5        |
| Míra přežití (%)                | 50.0 <sup>a</sup>          | 18       | 28.5 <sup>a</sup>         | 17       | 18.2 <sup>a</sup>          | 11       | 43.8 <sup>a</sup>          | 8        |

#### 4.5 Jak probíhá pohnízní interakce mezi kukačkou obecnou a k rehům sympatrickým hostitelem budujícím otevřená hnízda a jakým způsobem studovat pohnízní periodu u hnízdních parazitů? (Příspěvek V)

V této studii jsme se na základě detailního pozorování doplněného o molekulární, radiotelemetrickou, video- a audio-vizuální techniku pokusili co možná nejkomplexněji popsat chování mláděte kukačky obecné (*Cuculus canorus*) v pěstounské péči samce pěnkavy obecné (*Fringilla coelebs*) v průběhu pohnízní periody. Za současného stavu znalostí pohnízní fáze u hnízdních parazitů a jejich hostitelů totiž i takto ojedinělá pozorování mohou významně přispět k našemu porozumění kukačko-hostitelské koevoluce (viz Seel a Davis 1981, Knysh 2000, Grim 2008a).

Na základě excelentní schopnosti rozlišovat a odmítat kukaččí vejce existuje předpoklad intenzivní koevoluce mezi kukačkou obecnou a jejími pěnkavími hostiteli (Braa a kol. 1992, Moksnes a Røskaft 1995a, Stokke a kol. 2004, Vikan a kol. 2011). Na úrovni mlád'at bylo popsáno téměř 100 případů přítomnosti parazita u pěnkavího hostitele během hnízdní i pohnízní periody s výskytem od Ruska přes Velkou Británii až po Českou republiku (Šír 1883; Richter 1933; Kroutil 1965; Promptov 1941; Malchevsky 1960, 1987; Seel a Davis 1981; Knysh 2000). Všechny tyto případy ovšem představují pouze strohé záznamy jednotlivých pozorování a neposkytují žádné další informace o biologii kukačky obecné.

Kukaččí mládě jsme našli až během pohnízní fáze tudíž jsme nebyli schopni dohledat původně parazitované hnízdo a pravděpodobného hostitele jsme tak nejdříve určili na základě pozorování. Přesto, že jsme jako opatrovníka kukačky už v den jejího nálezu (tj. 18. července 2014) identifikovali samce pěnkavy obecné, tak nebylo zcela jisté, ke kterému kukaččímu poddruhu, respektive ke které ekologické rase mládě patří. Nicméně dodatečná analýza jaderné DNA určila příslušnost kukaččího mláděte ke kladu *Cuculus c. canorus/C. saturatus* a jelikož je výskyt kukačky prostřední (*C. saturatus*) striktně omezen na jihovýchodní Asii, mohli jsme kukaččí mládě bezpečně zařadit do evropského poddruhu kukačky obecné (*Cuculus c. canorus*; viz oddíl 1.2.1). Analýza jaderné DNA nám rovněž umožnila určit samčí pohlaví mláděte. Analýza mitochondriální DNA následně vyloučila možnou příslušnost kukaččího mláděte ke kukačko-rehčí rase snášející modrá vejce, tedy k jediné dosud známé ekologické rase, kterou lze spolehlivě identifikovat na základě genetiky (Fossøy a kol. 2016).

Toto zjištění definitivně potvrdilo náš předpoklad, že kukaččí mládě nemohlo pocházet z hnízda rehka zahradního, tedy nejhojnějšího (Samaš a kol. 2016) a jediného pravidelného (Grim a kol. 2014) kukaččího hostitele na naší lokalitě a nemohlo tak být



pouze adoptováno pěnkačím samcem. Podle našich zjištění je tato studie vůbec první prací kde byla potenciální adopce vyloučena na základě fylogenetické identifikace parazitického mláděte (viz Sealy a Lorenzana 1997). Naše další náhodné pozorování pohnízdni péče pěnkačy obecné o kukačku obecnou v roce 2016 by mohlo navzdory obecným předpokladům (viz oddíl 1.2.2) naznačovat, že se jedná o významného a možná i pravidelného hostitele kukačky obecné přinejmenším v oblasti naší studijní lokality.

Během prvního týdne pozorování, kdy jsme byli schopni kukačku denně chytit a měřit (viz oddíl 3; Methods v **Příspěvků V**), klesla její hmotnost ze 73,2 na 66,1 g, tedy přibližně o 10 % (průměr  $\pm$  SD = 68,7  $\pm$  2,85 g, n = 6). Naopak u délky křídla jsme zaznamenali 16% nárůst ze 122 na 142 mm (průměr  $\pm$  SD = 132,7  $\pm$  7,95 mm, n = 6). Délka tarzu, stejně jako šířka a délka zobáku se s přibývajícím věkem signifikantně neměnili. Pěnkačív samec krmil kukačku průměrně šestkrát za hodinu (průměr  $\pm$  SD = 6,0  $\pm$  4,0 krmení h<sup>-1</sup>, n = 29 h) po celou dobu našeho sledování. Pomocí statické kamery a videonahrávání chování kukaččího mláděte (viz oddíl 3; Methods v **Příspěvků V**) jsme zjistili, že se pěnkačívou poskytovaná potrava skládá především z hmyzích larev (viz Table 1 v **Příspěvků V**) a že se kukačka také často sama přikrmuje lišejníkem (n = 21 případů), který ozobává z větví stromů. Nejhojněji zaznamenanou složkou potravy byly v této studii larvy motýlů (Lepidoptera) a blanokřídlých (Hamenoptera), což plně odpovídá zjištěním z výzkumu potravního složení pohnízdni fáze kukačko-rehčího systému provedeného na stejné lokalitě (Grim a kol. 2017). Naše pozorování samo-přikrmování kukačky lišejníkem (tedy neživočišnou potravou) dosud ještě nebylo zdokumentováno.

Dále jsme zjistili, že v případě nepřítomnosti pěnkačívho samce vydávala kukačka tzv. absenční žadonění (*host-absent begging call*; Šicha a kol. 2007) o délce trvání 0,1 s a frekvenci 4–8 kHz při opakování 1 volání/s (Figure 1a v **Příspěvků V**). V přítomnosti pěnkačívho samce kukačka prokazatelně změnila strukturu volání na standardní žadonění (Grim 2008a) o délce trvání 0,1–0,2 s a o frekvenci 5–15 kHz při opakování 2 volání/s (Figure 1b v **Příspěvků V**). Rovněž jsme zaznamenali, že během krmení kukaččího mládě v 68 % případů (n = 144) mávalo tím křídlem, které bylo ve směru k přilétajícímu pěstounovi. Jednalo se o tzv. asymetrického mávání křídly v rámci žadonění o potravu (*asymmetrical wing-shake begging*; Grim 2008b). Ve zbylých 32 % případů (n = 144) se pěnkačív samec přibližoval ke kukačce zepředu a ta na to reagovala konstantním máváním obou křídel (Figure 2 v **Příspěvků V**).

Kukačku jsme poprvé viděli letět šestý den po jejím objevení, kdy jsme ji vyplašili z 3 m vysokého smrku, na kterém seděla v přibližně metrové výšce. Tento smrk se nacházel pouze 40 m od kukaččí pozice z předchozího dne, nicméně kukačka po vyplašení dokázala uletět dokonce větší vzdálenost (cca 50 m). Pomocí radiotelemetrie jsme zaznamenali denní

dispersal kukaččího mláděte v rozmezí 0–650 m (průměr  $\pm$  SD = 127,5  $\pm$  195,4 m, n = 14) průměr = 127,5 m, n = 14), který se signifikantně zvětšoval s věkem. Kukačka dosáhla samostatnosti na pěnkavím samci patnáctý den (2. srpna) od jejího objevení a vybavení transmitterem, ale její sledování jsme ukončili až o 10 dní později (viz oddíl 3; Methods v **Příspěvku IV**). Výška stromů (průměr  $\pm$  SD = 9,2  $\pm$  5,0 m, n = 15), které si kukačka vybírala za úkryt, se zvyšovala s věkem mláděte. Výška kukaččích pozic (průměr  $\pm$  SD = 4,5  $\pm$  4,1 m, n = 15) v rámci využívaných stromů pozitivně korelovala jak s věkem mláděte, tak i s výškou jednotlivých úkrytů. S věkem také pozitivně korelovala délka letu kukačky (průměr  $\pm$  SD = 61,4  $\pm$  47,1 m, n = 7), nicméně počet kukaččích přelétnutí během jednotlivých pozorování (průměr  $\pm$  SD = 3,6  $\pm$  1,8 přelétnutí, n = 7) zůstal přibližně konstantní po celou dobu jejího sledování.

Přesto, že se pěnkava obecná řadí mezi druhy s nejdokonalejší schopností rozlišování a odmítání vajec kukačky obecné (Braa a kol. 1992), naše a dřívější data (Šír 1883; Richter 1933; Kroutil 1965; Promptov 1941; Malchevsky 1960, 1987; Seel a Davis 1981; Knysh 2000) potvrzují, že je jinak velmi vhodným hostitelem tohoto parazita, pro kterého není problém vychovat kukačku do jejího osamostatnění. Navíc jsme v tomto manuskriptu zdokumentovali jev později potvrzený u kukačko-rehčího systému (viz **Příspěvek IV**), tedy rozdělování snůšek rodiči na počátku pohnízdni fáze, kdy se jeden z hostitelů stará vždy pouze o kukačku. Na základě poznatků ze studia jiných kukačko-hostitelských systémů (Wyllie 1981, Grim a Samaš 2016, **Příspěvek IV**) zde byl předpoklad, že jsme kukačku objevili v podobném věku, v jakém kukačky standardně opouštějí otevřená hnízda. Kukačka dosáhla osamostatnění na pěnkavím pěstounovi patnáctý den po jejím objevení. Podobnou délku (16 dní; table 32 ve Wyllie 1981) závislosti na pěstounech během pohnízdni fáze zdokumentoval rovněž Wyllie (1981).

Přesto, že je tato studie postavená pouze na pozorování jediného mláděte, žádná dřívější práce zabývající se pohnízdni periodou neposkytla podobně detailní data. Komplexnost našeho přístupu spočívá konkrétně v zahrnutí klasického pozorování, molekulární analýzy genetické příslušnosti, videonahrávání krmení pěstounem a žadonění, analýzy žadonění pomocí sonogramů, analýzy složení potravy, radiotelemetrie a analýzy pohybu, a vyhodnocení růstových parametrů kukaččího mláděte během pohnízdni fáze. Tato studie tak dokazuje, že je v současnosti na rozdíl od dřívějších prací (Wyllie 1981) metodologicky proveditelné získat velice detailní data o pohnízdni fázi kukačky obecné. Podobně komplexní studie napříč různými paraziticko-hostitelskými systémy by tak mohly umožnit potřebnou meta-analýzu a tím výrazně posunout naše vědomosti o koevolučních závodech ve zbrojení.

## 5 ZÁVĚR

V disertační práci jsem se zabýval mezidruhovým hnízdním parazitismem u ptáků a konkrétně interakcí kukačky obecné se dvěma navzájem sympatrickými a z hlediska protiparazitických adaptací velmi odlišnými hostiteli. Především se jednalo o studium kukaččí interakce s jejím pravidelným hostitelem rehkem zahradním, který se vyznačuje v tomto kontextu unikátní dutinovou hnízdní strategií, nízkou úrovní aktivní protiparazitické obrany a neobvykle vysokou mírou parazitismu. Tomuto hostitelskému systému jsem se se svými kolegy věnoval napříč kompletním reprodukčním cyklem. V rámci jednotlivých fází tohoto cyklu, jsme se zaměřili na klíčové a často neznámé či sporné otázky, jejichž objasněním (**Příspěvky I-IV**) jsme výrazně napomohli k pochopení mechanismů hostitelsko-parazitické koevoluce.

Dále jsme studovali případ pohnízdni péče pěnky obecné o námi náhodně nalezené kukaččí mládě (**Příspěvek V**). Pomocí širokého spektra metodologických přístupů jsme zjistili, že jsou otevřená hnízda tohoto v rámci naší studijní lokality příležitostného hostitele parazitována odlišnou kukaččí ekologickou rasou, než v případě rehků zahradních. Navíc jsme zaznamenali, že kukaččí mládě u tohoto příležitostného hostitele může prosperovat podobně, jako u nejvýznamnějšího finského hostitele kukačky obecné rehka zahradního.

V **Příspěvku I** jsme zdokumentovali tři různé strategie kladení vajec kukačkou obecnou do dutinových hnízd rehků zahradních, z toho dva způsoby kukaččího kladení byly dosud uváděny pouze v hypotetické rovině a teprve v této studii byly vůbec poprvé zdokumentovány pomocí videotechniky. Strategii vystřelení vejce z kloaky jsme navíc jako první zdokumentovali nejen pro třídu ptáků, ale dosud nebyla známa u žádného příslušníka blanatých vejcorodých živočichů. Navíc jsme dokázali, že se podobně jako v případě přímého kladení jedná o progresivní metodu kladení vajec, která zvyšuje fitness parazita. Jednotlivé metody kladení se totiž navzájem lišily v několika důležitých aspektech ovlivňujících celkovou úspěšnost parazitace a tak i parazitovu a hostitelovu reprodukční zdatnost. Ve výsledku tak dutinová hnízdní strategie rehků představuje spíše než maladaptaci vzhledem k predačnímu tlaku, velmi účinnou protiparazitickou adaptaci, která tak tlumí projev ostatních forem obrany známých u jiných kukaččích hostitelů.

**Příspěvek II** demonstruje, že výchova kukaččího mláděte nemusí být pro hostitele nutně nákladnější než výchova vlastních mláďat a zpochybňuje tak toto obecně tradované dogma. Studie navíc ukazuje, že výchova parazita je v rámci specifického kukačko-rehčího systému v některých aspektech dokonce méně náročná než péče o jejich vlastní průměrnou snůšku. Ani péče o smíšenou snůšku není ve většině zkoumaných aspektů pro rehčí rodiče

náročnější než péče o snůšku neparazitovanou. Poměrně nízké bezprostřední náklady spojené s výchovou parazita by tak mohly částečně vysvětlovat nízkou úroveň protiparazitické obrany u rehka zahradního i relativní koevoluční stabilitu tohoto paraziticko-hostitelského systému.

V **Příspěvku III** především řešíme a odpovídáme na kritiku jednoho z vedlejších závěrů našeho předešlého příspěvku (**Příspěvek II**). Hlavním argumentem této kritiky bylo, že samotná ztráta veškerého potomstva vytváří určující selekční tlak pro vývoj protiparazitické obrany hostitele a že podobná úroveň bezprostředních nákladů na výchovu kukačky a hostitelských mlád'at může jen stěží vysvětlovat nízkou úroveň této obrany. Hlavním argumentem naší obhajoby (**Příspěvek III**) je, že kdyby měla být určujícím faktorem úrovně hostitelské obrany jednotná ztráta veškerého potomstva, potom bychom nemohli pozorovat vysokou variabilitu v intenzitě protiparazitické obrany napříč různými hostiteli a jejich populacemi. Tím také potvrzujeme náš původní závěr, že se na vývoji hostitelské obrany může podílet vícero složek celkové nákladnosti kukaččího parazitismu a to bez ohledu na rozdíl v jejich relativním selekčním tlaku.

**Příspěvek IV** podává první detailní informace o průběhu pohnízdni fáze z hlediska parazitických i hostitelských mlád'at v rámci všech dosud provedených studií zabývajících se kukačko-hostitelskými systémy. Výsledky této studie navíc vyvrátily dosavadní přesvědčení o znevýhodnění mlád'at pocházejících ze smíšených snůšek během pohnízdni fáze v kukačko-rehčím systému. Navzdory rozdílům v některých parametrech na počátku pohnízdni fáze nebyl mezi mlád'aty z jednotlivých typů snůšek žádný průkazný rozdíl ve srovnávaných parametrech, včetně míry přežívání, v době jejich osamostatnění na rehčích rodičích. Pravidelný výskyt smíšených snůšek v hnízdech rehka zahradního proto může být evolučně stabilním jevem pro oba interagující druhy.

**Příspěvek V** sleduje pohnízdni chování a vývoj kukaččího mláděte v péči samce pěnkavy obecné. Pěnkava obecná se v rámci naší studijní lokality řadí mezi druhy pouze příležitostně parazitované kukačkou obecnou. Pozorování intenzity krmení, analýza složení přinášené potravy, růstu a chování mláděte navzdory tomu ukazují, že je v mnoha ohledech velmi vhodným hostitelem tohoto parazita, pro kterého není problém vychovat kukačku až do jejího osamostatnění. Navíc jsme v tomto manuskriptu zdokumentovali jev později potvrzený u kukačko-rehčím systému (viz **Příspěvek IV**), tedy rozdělování snůšek rodiči na počátku pohnízdni fáze, kdy jeden z hostitelů vždy pečuje pouze o kukačku. Tato práce tak podobně jako předchozí příspěvek představuje z metodologického hlediska dosud nejkompaktnější studii pohnízdni fáze v rámci kukačko-hostitelských systémů. Podobně komplexní studie napříč různými paraziticko-hostitelskými systémy by tak mohly umožnit

potřebnou meta-analýzu dat a tím výrazně posunout naše vědomosti o koevolučních závodech ve zbrojení za hranicí hnízdní periody.

## 6 LITERATURA

- Alvarez F. 2000. Response to common cuckoo *Cuculus canorus* model egg size by a parasitized population of rufous bush chat *Cercotrichas galactotes*. *Ibis* 142: 683–686.
- Anders A. D., Dearborn D. C., Faaborg J., Thompson F. R. 1997. Juvenile survival in a population of Neotropical migrant birds. *Conserv. Biol.* 11: 698–707.
- Andou D., Nakamura H., Oomori S., Higuchi H. 2005. Characteristics of brood parasitism by common cuckoos on azure-winged magpies, as illustrated by videorecordings. *Ornithol. Sci.* 4: 43–48.
- Antonov A., Stokke B. G., Vikan J. R., Fossøy F., Ranke P. S., Røskaft E., Moksnes A., Møller A. P., Shykoff, J. A. 2010. Egg phenotype differentiation in sympatric cuckoo *Cuculus canorus* gentes. *J. Evol. Biol.* 23: 1170–1182.
- Avilés J. M. 2008. Egg colour mimicry in the common cuckoo *Cuculus canorus* as revealed by modelling host retinal function. *Proc. R. Soc. B* 275: 2345–2352.
- Avilés J. M., Rutila J., Møller A. P. 2005. Should the redstart *Phoenicurus phoenicurus* accept or reject cuckoo *Cuculus canorus* eggs? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 58: 608–617.
- Avilés J. M., Vikan J. R., Fossøy F., Antonov A., Moksnes A., Røskaft E., Stokke B. G. 2010. Avian colour perception predicts behavioural responses to experimental brood parasitism in chaffinches. *J. Evol. Biol.* 23: 293–301.
- Baker E. C. S. 1942. *Cuckoo problems*. HF & G. Witherby Limited. London.
- Barron D. G., Brawn J. D., Weatherhead P. J. 2010. Meta-analysis of transmitter effects on avian behaviour and ecology. *Methods Ecol. Evol.* 1: 180–187.
- Birkhead T. R., Hemmings N., Spottiswoode C. N., Mikulica O., Moskát C., Bán M., Schulze-Hagen K. 2011. Internal incubation and early hatching in brood parasitic birds. *Proc. R. Soc. B* 278: 1019–1024.
- Braa A. T., Moksnes A., Røskaft E. 1992. Adaptations of Bramblings and Chaffinches towards parasitism by the Common Cuckoo. *Anim. Behav.* 43: 67–78.
- Briskie J. V. 2007. Direct observations of shining cuckoos (*Chrysococcyx lucidus*) parasitizing and depredating grey warbler (*Gerygone igata*) nests. *Notornis* 54: 15–19.
- Briskie J. V., Sealy S. G., Hobson K. A. 1992. Behavioral defenses against avian brood parasitism in sympatric and allopatric host populations. *Evolution* 46: 334–340.

- Brooke M. de L., Davies N. B. 1988. Egg mimicry by cuckoos *Cuculus canorus* in relation to discrimination by hosts. *Nature* 335: 630–632.
- Brooke M. de L., Davies N. B. 1991. A failure to demonstrate host imprinting in the cuckoo (*Cuculus canorus*) and alternative hypotheses for the maintenance of egg mimicry. *Ethology* 89: 154–166.
- Brooker M. G., Brooker L. C., Rowley I. 1988. Egg deposition by the bronze-cuckoos *Chrysococcyx basalis* and *Ch. lucidus*. *Emu* 88: 107–109.
- Brown C. R., Brown M. B. 1988. A new form of reproductive parasitism in cliff swallows. *Nature* 331: 66–68.
- Butchart S. H. M., Kilner R. M., Fuisz T., Davies N. B. 2003. Differences in the nestling begging calls of hosts and host-races of the Common Cuckoo, *Cuculus canorus*. *Anim. Behav.* 65: 345–354.
- Cox W. A., Thompson F. R., Cox A. S., Faaborg J. 2014. Post-fledging survival in passerine birds and the value of post-fledging studies to conservation. *J. Wildl. Manage.* 78: 183–193.
- Cressler C. E., McLeod D. V., Rozins C., Van Den Hoogen J., Day T. 2016. The adaptive evolution of virulence: a review of theoretical predictions and empirical tests. *Parasitology* 143: 915–930.
- Cuthill I. C., Partridge J. C., Bennett A. T. D., Church S. C., Hart N. S., Hunt S. 2000. Ultraviolet vision in birds. *Adv. Study Behav.* 29: 159–214.
- Davies N. B. 2000. *Cuckoos, cowbirds and other cheats*. T & A.D. Poyser, London.
- Davies N. B., Brooke M. de L. 1988. Cuckoos versus Reed Warblers: adaptations and counteradaptations. *Anim. Behav.* 36: 262–284.
- Davies N. B., Brooke M. de L. 1989. An experimental study of co-evolution between the Cuckoo, *Cuculus canorus*, and its hosts. I. Host egg discrimination. *J. Anim. Ecol.* 58: 207–224.
- Davies N. B., Kilner R. M., Noble D. G. 1998. Nestling cuckoos, *Cuculus canorus*, exploit hosts with begging calls that mimic a brood. *Proc. R. Soc. B* 265: 673–678.
- Davies N. B., Madden J. R., Butchart S. H. M., Rutila, J. 2006. A host-race of the cuckoo *Cuculus canorus* with nestlings attuned to the parental alarm calls of the host species. *Proc. R. Soc. B* 273: 693–699.
- Davis P. R. K. 1996. *The Cuckoo on Exmoor and its Meadow Pipit Host*. Exmoor Natural History Society, Minehead.
- Davis A. K., Maney D. L., Maerz J. C. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Funct. Ecol.* 22: 760–772.
- Dawkins R., Krebs J. R. 1979. Arms races between and within species. *Proc. R. Soc. B* 205: 489–511.

- del Hoyo J., Elliott A., Sargatal J., Christie D. A., de Juana E. 2020. *Handbook of the Birds of the world Alive* (Lynx Editions, Barcelona, 2015). <http://www.hbw.com/> on 2 January 2020
- De Mársico M. C., Gantchoff M. G., Reboreda J. C. 2012. Host–parasite coevolution beyond the nestling stage? Mimicry of host fledglings by the specialist screaming cowbird. *Proc. R. Soc. Lond. B* 279: 3401–3408.
- De Mársico M. C., Fiorini V. D., Tuero D. T., Gloag R., Ursino C. A., Reboreda J. C. 2017. Parasite adaptations during the nestling and fledgling stages. In Soler, M. (eds.) *Avian Brood Parasitism: Behaviour, Ecology, Evolution and Coevolution*. Cham: Springer.
- Dickinson E. C. 2003. *The Howard and Moore complete checklist of the birds of the World*. London, 1–1039.
- Diemer K. M., Wheeler H. E., Nocera J. J. 2014. Retention rates of glue-attached radio-transmitters on two small bird species with contrasting life histories. *Wilson J. Ornithol.* 126: 39–46.
- Edwardsen E., Moksnes A., Røskaft E., Øien I. J., Honza M. 2001. Egg mimicry in cuckoos parasitizing four sympatric species of *Acrocephalus warblers*. *Condor* 103: 829–837.
- Ellison K. S., Fiorini V. D., Gloag R., Sealy S. G. 2019. Video recordings of Brown-headed (*Molothrus ater*) and Shiny (*M. bonariensis*) cowbirds reveal oviposition from an elevated position: Implications for host–parasite coevolution. *Wilson J. Ornithol.* 131: 789–795.
- Fossøy F., Antonov A., Moksnes A., Røskaft E., Vikan J. R., Møller A. P., Shykoff J. A., Stokke B. G. 2011. Genetic differentiation among sympatric cuckoo host races: males matter. *Proc. R. Soc. B* 278: 1639–1645.
- Fossøy F., Sorenson M. D., Liang W., Ekrem T., Moksnes A., Møller A. P., Rutila J., Røskaft E., Takasu F., Yang C., Stokke B. G. 2016. Ancient origin and maternal inheritance of blue cuckoo eggs. *Nat. Commun.* 7: 1–6.
- Fraga R. M. 1998. Interactions of the parasitic Screaming and Shiny Cowbirds (*Molothrus rufoaxillaris* and *M. bonariensis*) with a shared host, the Bay-winged Cowbird (*M. badius*). In: Rothstein S.I. a Robinson S.K. (eds.) *Parasitic Birds and Their Hosts: Studies in Coevolution*. New York: Oxford University Press.
- Gibbs H. L., Sorenson M. D., Marchetti K., Brooke M. de L., Davies N. B., Nakamura H. 2000. Genetic evidence for female-specific races of the Common Cuckoo. *Nature* 407: 183–186.
- Gloag R., Keller L. A., Langmore, N. E. 2014. Cryptic cuckoo eggs hide from competing cuckoos. *Proc. R. Soc. B* 281: 20141014 doi: 10.1098/rspb.2014.1014.
- Griffiths R., Double M. C., Orr K., Dawson R. J. 1998. A DNA test to sex most birds. *Mol. Ecol.* 7: 1071–1075.

- Grim T. 2006. Cuckoo growth performance in parasitized and unused hosts: not only host size matters. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 60: 716–723.
- Grim T. 2007. Experimental evidence for chick discrimination without recognition in a brood parasite host. *Proc. R. Soc. B* 274: 373–381.
- Grim T. 2008a. Begging behavior of fledgling Rusty-breasted Cuckoo (*Cacomantis sepulcralis*). *Wilson J. Ornithol.* 120: 887–890.
- Grim T. 2008b. Wing-shaking and wing-patch as nestling begging strategies: their importance and evolutionary origins. *J. Ethol.* 26: 9–15.
- Grim, T., Honza, M. 2001. Does supernormal stimulus influence parental behaviour of the cuckoo's host? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 49: 322–329.
- Grim T., Rutila J., Cassey P., Hauber M. E. 2009a. Experimentally constrained virulence is costly for common cuckoo chicks. *Ethology* 115: 14–22.
- Grim T., Rutila J., Cassey P., Hauber M. E. 2009b. The cost of virulence: an experimental study of egg eviction by brood parasitic chicks. *Behav. Ecol.* 20: 1138–1146.
- Grim T., Rutila J. 2017. Cuckoo–host coevolutionary interactions across all breeding stages: unusual ecological setting of a cavity-nesting host. In *Avian Brood Parasitism: behaviour, ecology, evolution and coevolution* (ed. M. Soler), pp. 287–303. Springer, Cham.
- Grim T., Samaš P. 2016. Growth performance of nestling cuckoos *Cuculus canorus* in cavity nesting hosts. *Acta Ornithol.* 51: 175–188.
- Grim T., Samaš P., Moskát, C., Kleven, O., Honza, M., Moksnes, A., Røskft, E., Stokke, B. G. 2011. Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts? *J. Anim. Ecol.* 80: 508–518.
- Grim T., Samaš P., Procházka P., Rutila J. 2014. Are tits really unsuitable hosts for the Common Cuckoo? *Ornis Fenn.* 91: 166–177.
- Grim T., Tyller Z., Samaš P. 2017. Unusual diet of brood parasite nestlings and its fitness consequences. *Auk* 134: 732–750.
- Grimmett R., Inskipp C., Inskipp T. 1999. *A guide to the birds of India, Pakistan, Nepal, Bangladesh, Bhutan, Sri Lanka, and the Maldives*. Princeton University Press, Princeton.
- Grüebler M. U., Naef-Daenzer B. 2010. Survival benefits of post-fledging care: experimental approach to a critical part of avian reproductive strategies. *J. Anim. Ecol.* 79: 334–341.
- Guigueno M. F., Sealy S. G. 2010. Clutch abandonment by parasitized Yellow Warblers: Egg burial or nest desertion? *Condor* 112: 399–406.
- Haikola J., Rutila J. 2008. *Käki*. Otava, Helsinki.



- Hamilton W. D., Zuk M. 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* 218: 384–387.
- Hanley D., Samaš P., Heryán J., Hauber M. E., Grim T. 2015. Now you see it, now you don't: flushing hosts prior to experimentation can predict their responses to brood parasitism. *Sci. Rep.* 5: 9060.
- Hauber M. E. 2006. A future cost of misdirected parental care for brood parasitic young? *Folia Zool.* 55: 367–374.
- Hauber M. E., Montenegro K. 2002. What are the costs of raising a brood parasite? Comparing host parental care at parasitized and non-parasitized broods. *Etologia* 10: 1–9.
- Hauber M. E., Samaš P., Anderson M. G., Rutila J., Low J., Cassey P., Grim T. 2014. Life-history theory predicts host behavioural responses to experimental brood parasitism. *Ethol. Ecol. Evol.* 26: 349–364.
- Higuchi H. 1998. Host use and egg color of Japanese cuckoos. In *Parasitic birds and their hosts*, (eds. S. I. Rothstein and S. K. Robinson), pp. 80–93. Oxford University Press, Oxford.
- Hill I. F., Cresswell B. H., Kenward, R. E. 1999. Field-testing the suitability of a new back-pack harness for radio-tagging passerines. *J. Avian Biol.* 30: 135–142.
- Honza M., Moksnes A., Røskaft E., Stokke B. G. 2001a. How are different common cuckoo *Cuculus canorus* egg morphs maintained? An evaluation of different hypotheses. *Ardea* 89: 341–352.
- Honza M., Picman J., Grim T., Novák V., Čapek J. M., Mrlík V. 2001b. How to hatch from an egg of great structural strength. A study of the Common Cuckoo. *J. Avian Biol.* 32: 249–255.
- Honza M., Taborsky B., Taborsky M., Teuschl Y., Vogl W., Moksnes A., Røskaft E. 2002. Behaviour of female common cuckoos, *Cuculus canorus*, in the vicinity of host nests before and during egg laying: a radiotelemetry study. *Anim. Behav.* 64: 861–868.
- Honza M., Vošlajerová K., Moskát C. 2007. Eviction behaviour of the common cuckoo *Cuculus canorus* chicks. *J. Avian Biol.* 38: 385–389.
- Hoover J. P., Reetz M. J. 2006. Brood parasitism increases provisioning rate, and reduces offspring recruitment and adult return rates, in a cowbird host. *Oecologia* 149: 165–173.
- Hudec K. (eds.) 1983. Fauna ČR. Ptáci 3/I. Academia, Praha.
- Chance E. 1922. *The Cuckoo's Secret*. Sidgwick & Jackson Ltd., London.
- Chance E. 1940. *The truth about the cuckoo*. Country Life Ltd., London.

- Igic B., Cassey P., Grim T., Greenwood D. R., Moskat C., Rutila J., Hauber M. E. 2012. A shared chemical basis of avian host–parasite egg colour mimicry. *Proc. R. Soc. B* 279: 1068–1076.
- Kilner R. M., Madden J. R., Hauber M. E. 2004. Brood parasitic cowbird nestlings use host young to procure resources. *Science* 305: 877–879.
- Kleven O., Moksnes A., Røskaft E., Rudolfson G., Stokke B. G., Honza, M. 2004. Breeding success of common cuckoos *Cuculus canorus* parasitising four sympatric species of *Acrocephalus* warblers. *J. Avian. Biol.* 35: 394–398.
- Knysh N. P. 2000. The cuckoo and its host species in foreststeppe part of Sumy region. *Berkut* 9: 51–73.
- Koleček J., Jelínek V., Požgayová M., Trnka A., Baslerová P., Honza M., Procházka P. 2015. Breeding success and brood parasitism affect return rate and dispersal distances in the Great Reed Warbler. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 69: 1845–1853.
- Kroutil O. 1965. O kukačce – *Cuculus canorus* L. [On the cuckoo – *Cuculus canorus* L.]. *Živa* 13: 233–235.
- Liang W., Møller A. P. 2015. Hawk mimicry in cuckoos and anti-parasitic aggressive behavior of barn swallows in Denmark and China. *J. Avian Biol.* 46: 216–223.
- Liang W., Møller A. P., Stokke B. G., Yang C., Kovařík P., Wang H., Yao C.-T., Ding P., Lu X., Moksnes A., Røskaft E., Grim T. 2016. Geographic variation in egg ejection rate by great tits across 2 continents. *Behav. Ecol.* 27: 1405–1412.
- Lombardo M. P., Power H. W., Stouffer P. C., Romagnano L. C., Hoffenberg A. S. 1989. Egg removal and intraspecific brood parasitism in the European starling (*Sturnus vulgaris*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 24: 217–223.
- Löhr H. 1979. Untersuchungen am Kuckuck, *Cuculus canorus* (Biologie, Ethologie und Morphologie). *J. Ornithol.* 120: 139–173.
- Lyon B. E. 2003. Egg recognition and counting reduce costs of avian conspecific brood parasitism. *Nature* 422: 495–499.
- Malchevsky A. S. 1960. On the biological races of the Common Cuckoo, *Cuculus canorus* L. in the territory of European part of USSR. XII International Ornithological Congress, Helsinki. 1958: 464–470.
- Malchevsky A. S. 1987. *The cuckoo and its hosts*. Leningrad: Leningrad University.
- Marchetti K., Nakamura H., Gibbs H. L. 1998. Host-race formation in the common cuckoo. *Science* 282, 471–472.
- Mark M. M., Rubenstein D. R. 2013. Physiological costs and carry-over effects of avian interspecific brood parasitism influence reproductive tradeoffs. *Horm. Behav.* 63: 717–722.

- Martin T. E. 2014. A conceptual framework for clutch-size evolution in songbirds. *Am. Nat.* 183: 313–324.
- Martín-Gálvez D., Soler M., Soler J. J., Martín-Vivaldi M., Palomino J. J. 2005. Food acquisition by common cuckoo chicks in rufous bush robin nests and the advantage of eviction behaviour. *Anim. Behav.* 70: 1313–1321.
- Metcalf N. B., Monaghan P. 2001. Compensation for a bad start: grow now, pay later? *Trends Ecol. Evol.* 16: 254–260.
- Mikulica O., Grim T., Schulze-Hagen K., Stokke B. G. 2017. *The cuckoo: the uninvited guest*. Plymouth: Wild Nature Press.
- Moksnes A., Fossøy F., Røskaft E., Stokke B. G. 2013. Reviewing 30 years of studies on the Common Cuckoo: accumulated knowledge and future perspectives. *Chin. Birds* 4: 3–14.
- Moksnes A., Røskaft E. 1989. Adaptations of meadow pipits to parasitism by the common cuckoo. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 24: 25–30.
- Moksnes A., Røskaft E. R. 1995a. Egg-morphs and host preference in the common cuckoo (*Cuculus canorus*): an analysis of cuckoo and host eggs from European museum collections. *J. Zool.* 236: 625–648.
- Moksnes A., Røskaft E., Braa A. T. 1991b. Rejection behavior by common cuckoo hosts towards artificial brood parasite eggs. *Auk* 108: 348–354.
- Moksnes A., Røskaft E., Braa A. T., Korsnes L., Lampe H. M., Pedersen H. C. 1991a. Behavioural responses of potential hosts towards artificial cuckoo eggs and dummies. *Behaviour* 116: 64–89.
- Moksnes A., Røskaft E., Hagen L. G., Honza M., Mørk C., Olsen P. H. 2000. Common Cuckoo *Cuculus canorus* and host behaviour at Reed Warbler *Acrocephalus scirpaceus* nests. *Ibis* 142: 247–258.
- Moksnes A., Røskaft E., Tysse T. 1995b. On the evolution of blue cuckoo eggs in Europe. *J. Avian Biol.* 26, 13–19.
- Nakamura H., Kubota S., Suzuki R. 1998. Coevolution between the Common Cuckoo and its major hosts in Japan. In *Parasitic birds and their hosts*, (eds. S. I. Rothstein and S. K. Robinson), pp. 94–112. Oxford University Press, Oxford.
- Nakamura H., Miyazawa Y. 1997. Movements, space use and social organization of radio-tracked common cuckoos during the breeding season in Japan. *Jap. J. Ornithol.* 46: 23–54.
- Nakamura H., Miyazawa Y., Kashiwagi K. 2005 Behavior of radio-tracked Common Cuckoo females during the breeding season in Japan. *Ornithol. Sci.* 4: 31–41.

- Øien I. J., Moksnes A., Røskaft E. 1995. Evolution of variation in egg color and marking pattern in European passerines: adaptations in a coevolutionary arms race with the Cuckoo, *Cuculus canorus*. *Behav. Ecol.* 6: 166–174.
- Øien I. J., Moksnes A., Røskaft E., Honza, M. 1998. Costs of cuckoo *Cuculus canorus* parasitism to reed warblers *Acrocephalus scirpaceus*. *J. Avian. Biol.* 29: 209–215.
- Payne R. B. 2005. *The Cuckoos*. Oxford Univ Press, New York.
- Payne R. B., Payne L. L. 1998. Brood parasitism by cowbirds: risks and effects on reproductive success and survival in indigo buntings. *Behav. Ecol.* 9: 64–73.
- Peig J., Green A. J. 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos* 118: 1883–1891.
- Promptov A. N. 1941. The modern state of knowledge about bird nest parasitism. *Adv. Mod. Biol.* 14: 30–49.
- Rasmussen J. L., Sealy S. G. 2006. Hosts feeding only Brown-headed Cowbird fledglings: where are the host fledglings? *J. Field Ornithol.* 77: 269–279.
- R Core Team 2018. R: A Language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available at: <http://www.R-project.org/> (accessed 7 June 2018).
- Ridley M. 2003. *Evolution*. 3<sup>rd</sup> Edition. Blackwell Publishing.
- Richter K. 1933. Zur Fortpflanzungsbiologie unseres Kuckucks [The reproductive biology of our cuckoo]. *Ornithologischer Jahresbericht der Vogelwarte Lotos B. Leipa für das Jahr 1933*: 22–44.
- Røskaft E., Moksnes A., Meilvang D., Bícík V., Jemelíková J., Honza M. 2002. No evidence for recognition errors in *Acrocephalus* warblers. *J. Avian Biol.* 33: 31–38.
- Rothstein S. I. 1990. A model system for coevolution: avian brood parasitism. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21: 481–508.
- Rutila J. 2004. Brood parasitism in birds: coevolutionary adaptations in two cuckoo host systems. Dissertation, University of Joensuu.
- Rutila J., Latja R., Koskela K. 2002. The common cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity nesting host, the redstart *Phoenicurus phoenicurus*: a peculiar cuckoo-host system? *J. Avian Biol.* 33: 414–419.
- Samaš P., Hauber M. E., Cassey P., Grim T. 2014. Host responses to interspecific brood parasitism: a by-product of adaptations to conspecific parasitism? *Front. Zool.* 11: 34.
- Samaš P., Rutila J., Grim T. 2016. The Common Redstart as a suitable model to study cuckoo-host coevolution in a unique ecological context. *BMC Evol. Biol.* 16: 255.
- Sealy S. G., Lorenzana, J. C. 1997. Feeding of nestling and fledgling brood parasites by individuals other than the foster parents: a review. *Can. J. Zool.* 75: 1739–1752.

- Seel D. C., Davis P. R. K. 1981. Cuckoos reared by unusual hosts in Britain. *Bird Study* 28: 242–243.
- Shizuka D., Lyon B. E. 2010. Coots use hatch order to learn to recognize and reject conspecific brood parasitic chicks. *Nature* 463: 223–226.
- Schulze-Hagen K., Stokke B. G., Birkhead T. R. 2009. Reproductive biology of the European Cuckoo *Cuculus canorus*: early insights, persistent errors and the acquisition of knowledge. *J. Ornithol.* 150: 1–16.
- Skjelseth S., Moksnes A., Røskaft E., Gibbs H. L., Taborsky M., Taborsky B., Honza M., Kleven O. 2004. Parentage and host preference in the common cuckoo *Cuculus canorus*. *J. Avian Biol.* 35: 21–24.
- Soler M. 1990. Relationships between the great spotted cuckoo *Clamator glandarius* and its corvid hosts in a recently colonized area. *Ornis Scand.* 21: 212–223.
- Soler M. (eds.) 2017. *Avian Brood Parasitism: Behaviour, Ecology, Evolution and Coevolution*. Cham: Springer.
- Soler M., De Neve L., Roncalli G., Macías-Sánchez E., Ibáñez-Álamo J. D., Pérez-Contreras, T. 2014a. Great spotted cuckoo fledglings are disadvantaged by magpie host parents when reared together with magpie nestlings. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 68: 333–342.
- Soler M., Martínez J. G. 2000. Is egg-damaging behavior by great spotted cuckoos an accident or an adaptation? *Behav. Ecol.* 11: 495–501.
- Soler M., Palomino J. J., Martínez J. G., Soler J. J. 1994. Activity, survival, independence and migration of fledgling great spotted cuckoos. *Condor* 96: 802–805.
- Soler M., Palomino J. J., Martínez J. G., Soler, J. J. 1995. Communal parental care by monogamous magpie hosts of fledgling great spotted cuckoos. *Condor* 97: 804–810.
- Soler M., Pérez-Contreras T., de Neve L. 2014b. Great spotted cuckoos frequently lay their eggs while their magpie host is incubating. *Ethology* 120: 965–972.
- Soler M., Pérez-Contreras T., Ibáñez-Álamo J. D., Roncalli G., Macías-Sánchez E., De Neve L. 2014c. Great spotted cuckoo fledglings often receive feedings from other magpie adults than their foster parents: which magpies accept to feed foreign cuckoo fledglings? *PLoS One* 9: e107412.
- Spottiswoode C. N., Koorevaar J. 2012. A stab in the dark: chick killing by brood parasitic honeyguides. *Biol. Lett.* 8: 241–244.
- Spottiswoode C. N., Stevens M. 2010. Visual modeling shows that avian host parents use multiple visual cues in rejecting parasitic eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107: 8672–8676.
- StatSoft Inc. 2013. STATISTICA. Data analysis software system. Version 12. Tulsa (OK): Dell Statistica.
- Stearns S. C. 1992. *The evolution of life histories*. Oxford University Press, New York.

- Stokke B. G., Hafstad I., Rudolfson G., Bargain B., Beier J., Campas D. B., Dyrz A., Honza M., Leisler B., Pap P. L., Patapavičius R., Procházka P., Schulze-Hagen K., Thomas R., Moksnes A., Møller A. P., Røskft E., Soler M. 2007a. Host density predicts presence of cuckoo parasitism in Reed Warblers. *Oikos* 116: 913–922.
- Stokke B. G., Hafstad I., Rudolfson G., Moksnes A., Møller A. P., Røskft E., Soler, M. 2008. Predictors of resistance to brood parasitism within and among reed warbler populations. *Behav. Ecol.* 19: 612–620.
- Stokke B. G., Moskát C., Moksnes A., Bícík V., Røskft E. 2002. Aggression to dummy cuckoos by potential European cuckoo hosts. *Behaviour* 139: 613–628.
- Stokke B. G., Rudolfson G., Moksnes A., Røskft E. 2004. Rejection of conspecific eggs in Chaffinches: the effect of age and clutch characteristics. *Ethology* 110: 459–470.
- Stokke B. G., Takasu F., Moksnes A., Røskft E. 2007b. The importance of clutch characteristics and learning for antiparasite adaptations in hosts of avian brood parasites. *Evolution* 61: 2212–2228.
- Sullivan K. A. 1989. Predation and starvation: age-specific mortality in juvenile Juncos (*Junco phaeotus*). *J. Anim. Ecol.* 58: 275–286.
- Sutherland W. J., Newton I., Green R. 2004. *Bird ecology and conservation: a handbook of techniques*. Oxford: Oxford University Press.
- Svensson L., Mullarney K., Zetterström D., Grant P. J. 2012. *Ptáci Evropy, severní Afriky a Blízkého východu*. 2. vydání, Ševčík.
- Šicha V., Procházka P., Honza M. 2007. Hopeless solicitation? Host-absent vocalization in the Common Cuckoo has no effect on feeding rate of Reed Warblers. *J. Ethol.* 25: 147–152.
- Šír V. 1883. Kukačka [The cuckoo]. *Listy českého spolku pro ochranu ptactva v Praze* 3: 7–13, 17–25, 34–36.
- Šulc M. 2016. Zrakové podněty v koevoluci hnízdního parazita a jeho hostitelů. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze.
- Šulc M., Procházka P., Capek M., Honza M. 2016. Common cuckoo females are not choosy when removing an egg during parasitism. *Behav. Ecol.* 27: 1642–1649.
- Šulc M., Štětková G., Procházka P., Požgayová M., Sosnovcová K., Studecký, J., Honza, M. 2020. Caught on camera: circumstantial evidence for fatal mobbing of an avian brood parasite by a host. *J. Vertebr. Biol.* 69: 1–6.
- Takasu F., Kawasaki K., Nakamura H., Cohen, J. E., Shigesada, N. 1993. Modeling the population dynamics of a cuckoo-host association and the evolution of host defenses. *Am. Nat.* 142: 819–839.
- Teuschl Y., Taborsky B., Taborsky M. 1998. How do cuckoos find their hosts? The role of habitat imprinting. *Anim. Behav.* 56: 1425–1433.

- Thomson D. L., Monaghan P. A. T., Furness R. W. 1998. The demands of incubation and avian clutch size. *Biol. Rev.* 73: 293–304.
- Thomson R. L., Tolvanen J., Forsman J. T. 2016. Cuckoo parasitism in a cavity nesting host: near absent egg-rejection in a northern redstart population under heavy apparent (but low effective) brood parasitism. *J. Avian Biol.* 47: 363–370.
- TIBCO Software Inc. 2018. Statistica (data analysis software system), version 13. Available at: <http://statistica.io>
- Trnka A., Grim T. 2013. Color plumage polymorphism and predator mimicry in brood parasites. *Front. Zool.* 10: 25.
- Trnka A., Grim T. (eds.) 2014. *Ornitologická príručka*. Bratislava: Slovenská ornitologická spoločnosť/BirdLife Slovensko.
- Trnka A., Trnka M., Grim T. 2015. Do rufous common cuckoo females indeed mimic a predator? An experimental test. *Biol. J. Linn. Soc.* 116: 134–143.
- Vega M. L., Willemoes M., Thomson R. L., Tolvanen J., Rutila J., Samaš P., Strandberg R., Grim T., Fossøy F., Stokke B. G., Thorup K. 2016. First-time migration in juvenile Common Cuckoos documented by satellite tracking. *PLoS One* 11: e0168940.
- Vikan J. R., Fossøy F., Huhta E., Moksnes A., Røskaft E., Stokke B. G. 2011. Outcomes of brood parasite–host interactions mediated by egg matching: common cuckoos *Cuculus canorus* versus *Fringilla* finches. *PLoS One* 6: 1–13.
- Vikan J. R., Stokke B. G., Rutila J., Huhta E., Moksnes A., Røskaft E. 2010. Evolution of defences against cuckoo (*Cuculus canorus*) parasitism in bramblings (*Fringilla montifringilla*): a comparison of four populations in Fennoscandia. *Evol. Ecol.* 24: 1141–1157.
- von Haartman L. 1969. The nesting habits of Finnish birds. I. Passeriformes. *Soc. Scient. Fenn. Comm. Biologicae* 32: 1–187.
- von Haartman L. 1981. Coevolution of the cuckoo *Cuculus canorus* and a regular cuckoo host. *Ornis Fenn.* 58: 1–10.
- Wang L., Zhong G., He G., Zhang Y., Liang, W. 2020. Egg laying behavior of the common cuckoo (*Cuculus canorus*): Data based on field video-recordings. *Zool. Res.* 41: 1–7.
- Weathers W. W. 1992. Scaling nestling energy requirements. *Ibis* 134: 142–153.
- Welbergen J. A., Davies N. B. 2009. Strategic variation in mobbing as a front line of defense against brood parasitism. *Curr. Biol.* 19: 235–240.
- Windsor D. A. 1998. Controversies in parasitology, most of the species on earth are parasites. *Int. J. Parasitol.* 28: 1939–1941.
- Woodward P. W. 1983. Behavioral ecology of fledgling Brown-headed Cowbirds and their hosts. *Condor* 85: 151–163.

- Wyllie I. 1981. *The Cuckoo*. London: Batsford.
- Yackel-Adams A. A., Skagen S. K., Savidge J. A. 2006. Modeling post-fledging survival of Lark Buntings in response to ecological and biological factors. *Ecology* 87: 178–188.
- Yang C., Li Z., Zhang Y., Wang H., Liang W., Møller A. P. 2016. Egg polymorphism and egg discrimination in the Daurian Redstart *Phoenicurus auroreus*, a host of the Common Cuckoo *Cuculus canorus*. *Ornithol. Sci.* 15: 127–132.
- Yang C., Liang W., Cai Y., Shi S., Takasu F., Møller A. P., Antonov A., Fossøy F., Moksnes A., Røskaft E., Stokke B. G. 2010. Coevolution in action: disruptive selection on egg colour in an avian brood parasite and its host. *PLoS One* 5: e10816.
- Yang C., Liang W., Møller A. P. 2019 Similar immediate costs of raising cuckoo and host chicks can hardly explain low levels of antiparasite defence in hosts. *Proc. R. Soc. B* 286: 20182430.



## **PŘÍLOHY**

## Příspěvek I

### Cuckoos exploit cavity-nesting hosts with alternative egg-laying strategies



Kukačka obecná (*Cuculus canorus*) zachycená pomocí fotopastí a mikrokamer při užívání tří různých metod kladení vajec během parazitace dutinových hnízd rehka zahradního (*Phoenicurus phoenicurus*). Metoda přímého kladení (*direct laying*; nahoře), upuštění vejce (*dropping*; uprostřed) a vystřelení vejce (*projecting*; dole) je zde zobrazena v okamžiku vytlačení vejce z kloaky.

## Cuckoos exploit cavity-nesting hosts with alternative egg-laying strategies

(formátováno pro *Nature*)

Michal Kysučan<sup>1</sup>, Jere Tolvanen<sup>2</sup>, Peter Samaš<sup>3</sup>, Ryan Miller<sup>4</sup>, Jarkko Rutila<sup>5</sup>, Tomáš Grim<sup>1</sup>, Robert L. Thomson<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup> Department of Zoology and Laboratory of Ornithology, Palacký University, 17. listopadu 50, Olomouc CZ-77146, Czech Republic

<sup>2</sup> Department of Ecology and Genetics, University of Oulu, 90014 Oulu, Finland

<sup>3</sup> Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Květná 8, Brno CZ-60365, Czech Republic

<sup>4</sup> 12 Coltsfoot Way, Thetford, Norfolk, IP24 2WX, United Kingdom

<sup>5</sup> Näätäkarankatu 14 B 9, 53850 Lappeenranta, Finland

<sup>6</sup> Section of Ecology, Department of Biology, University of Turku, 20014 Turku, Finland

<sup>7</sup> FitzPatrick Institute of African Ornithology, DST-NRF Centre of Excellence, University of Cape Town, Rondebosch 7701, South Africa

**Almost all birds lay eggs directly into their own nests<sup>1</sup>. Avian obligate brood parasites, in contrast, never build nests, but deposit their eggs into host nests<sup>2</sup>. How exactly they achieve this has been one of the most discussed topics in natural history for centuries<sup>3–6</sup>. Here we explored for the first time a host-parasite system where alternative egg-deposition modes to direct egg laying were hypothesized (see Extended Data Table 1)<sup>7,8</sup>. We video-recorded alternative laying behaviour in the common cuckoo *Cuculus canorus* when parasitizing nests of its regular cavity-nesting host, the common redstart *Phoenicurus phoenicurus*<sup>9</sup>. About a quarter of cuckoos used the projecting strategy, when the female protruded her cloaca to the nest cavity while perching at the entrance and shot the egg which “flew” into the nest. This laying behaviour, unique among Amniotes, enhanced parasite’s fitness and may represent a pivotal adaptation in parasite-host co-evolution. About a half of females passively dropped their eggs from the cavity entrance with a great majority of eggs missing the nest cup. Such inefficient laying strategy may represent an intermediate evolutionary stage between egg-deposition modes. The remainder of cuckoos laying directly into the nest cup proved to be the most effective mode but was associated with higher risk of nest desertion and getting stuck inside the cavity.**

**After centuries of speculations we provide the first direct evidence that parasitic cuckoos use alternative egg-deposition modes and quantify fitness of alternative laying modes.**

The peculiar lifestyle of parasitic birds, especially of common cuckoos (hereafter “cuckoos”) has elicited vivid speculation about how exactly the cuckoo manages to deposit its egg into host nests<sup>3-6</sup>. In particular, findings of cuckoo eggs in nests seemingly inaccessible for large body-sized cuckoos have confused naturalists<sup>3,5</sup>. In his classic treatment, Baker<sup>3</sup> stated: “From the time of Pliny, Aristotle, and other classical authors, the earliest ornithologists were all of the opinion that the cuckoo generally, if not always, laid its eggs upon the ground ... and then transferred them to the [host] nests ...”. Literature describes six hypothesized laying modes for the parasitic cuckoos: *beaking*, *regurgitating*, *fluttering*, *dropping*, *projecting* and *direct laying* (see Extended Data Table 1).

Early debate about cuckoo laying modes was based on circumstantial eye-witnessed evidence<sup>2,5,6</sup>. Such observations are unreliable because parasitic cuckoos typically lay very quickly, in only a few *seconds*<sup>5,10-12</sup> in contrast to the >20 minutes in their passerine hosts<sup>13</sup>. Host nests are also often well concealed; for a human observer hidden nearby, it is challenging (open-cup nests) or impossible (hole nests) to see what laying procedure the cuckoo uses<sup>2,4,14</sup>.

Currently, only direct video-recording has the potential to resolve mysteries about cuckoo laying behaviour<sup>5</sup>. Indeed, the first and most famous documentation of the cuckoo laying procedure is provided by one of the oldest (1921) natural history films recorded<sup>13</sup>. However, even these recordings<sup>15</sup> are inconclusive because close inspection of the footage (own observations) still does not resolve whether the cuckoo laid directly or regurgitated the egg. In addition, all recordings of cuckoo and other parasitic species’ laying events were made mostly on open-cup nesting host species<sup>11,12,14,16,17</sup> or on species using domed nests<sup>18-21</sup>. To revive the question that has long confused naturalists: how do cuckoos deposit eggs into less accessible nests?

We focused on common redstarts (*Phoenicurus phoenicurus*; hereafter “redstarts”) parasitized by the “redstart-cuckoo”, a cuckoo gens that specialises on redstarts and lays uniquely plain blue eggs<sup>22</sup>. The redstart is the only documented regular host of the cuckoo that does not build open cup nests, but breeds in cavities<sup>2</sup>. Therefore, it provides the most suitable system available for testing the existence of alternative egg-deposition strategies that have been debated for centuries (Extended Data Table 1).

We collected data in Finland from the two nest box populations ca. 400 km apart, one near Utula<sup>9,23</sup> and another at Oulu<sup>8</sup>, during the breeding seasons 2013–2016 (see Methods). In total, we recorded 63 (40 in Utula and 23 in Oulu) cuckoo laying events from 255 monitored redstart nests. The majority of cuckoo laying events (70%) happened when the host clutch contained 1–3 eggs (Extended Data Fig. 1) and there was no overlap in laying times of the day (Extended Data Fig. 3), between hosts (mean  $\pm$  SE: 5:56  $\pm$  0:09 [hours:minutes], n = 58) and cuckoos (18:03  $\pm$  0:16, n = 63). When the cuckoo was about to lay, she landed at the nest box entrance, looked alternately inside and outside the nest box (Supplementary Videos 1, 2, 4, 5, 7–9) before starting the act of laying. Then, females used one of the three distinct egg-deposition modes.

Females laying via **projecting** (n = 17, Utula: nine cases, Oulu: eight cases; Fig. 1, Fig. 2a; Supplementary Videos 1–4) laid while perched at the nest box entrance. The cuckoo female first leaned into the nest box and except the head bowed the rest of her body out from the box. Then she protruded her cloaca to the nest entrance, but not beyond its inner edge, and shot the egg. Just before the shot, the cuckoo attempted to correct the egg fall trajectory with the two forward-pointing toes of her zygodactyl feet (Fig.1, Fig. 2a; Supplementary Videos 1–3). Nine out of 17 laying events were successful, i.e., the cuckoo egg ended up inside the nest cup (Supplementary Videos 1–3). In the eight unsuccessful cases the egg ended on the nest rim (Supplementary Video 4). In three out of 17 projecting events, the cuckoo could not see the nest cup and did not use her feet to correct egg fall trajectory (her head was outside of the nest box; Supplementary Video 4). All but one successfully projected cuckoo eggs typically landed onto the nest rim few centimetres from the front wall and subsequently rolled or ricocheted into the nest cup (Supplementary Videos 1, 3). The one remaining successfully projected egg landed directly into the nest cup and cracked two host eggs (Supplementary Video 2). Except this case, only one cuckoo egg and no host eggs cracked in another nest box (none of these two nests were deserted).

Females laying via **dropping** (n = 30, Utula: 16 cases, Oulu: 14 cases; Fig. 2b; Supplementary Videos 5–7) also laid while perched at the nest entrance. The cuckoo female typically leaned into the nest box, bowed large part of her body (except of wings and tail) in, and tried to protrude the cloaca as far as possible into the nest box. Subsequently, she attempted to drop the egg into the nest box. Female's position during dropping prevented the use of her feet to correct egg fall trajectory (Fig. 2b; Supplementary Videos 5–7). Dropped eggs ended outside the nest cup (25 cases;

Supplementary Video 5), inside the nest cup (three cases; Supplementary Video 6) or outside the box on the ground (two cases; Supplementary Video 7). Thus, only three of 30 droppings were successful (all the eggs of both species were undamaged).

Females depositing eggs via **direct laying** ( $n = 16$ , Utula: 15 cases, Oulu: one case; Fig. 2c; Supplementary Videos 8–10) proceeded inside the nest box and plunged headfirst into the nest cup. Almost all direct laying events were successful (15 out of 16; Supplementary Videos 8, 9), only one failed (Supplementary Video 10). Twelve out of the 16 females, grasped one host egg, laid their own and tried to leave the nest box with the host egg in their beaks; only five of these 12 cuckoos succeeded in egg removal (Supplementary Video 8). In the remaining seven cases the cuckoos struggled to turn around inside and exit the nest boxes, either dropping ( $n = 4$ , Supplementary Video 9), breaking ( $n = 2$ ) or swallowing ( $n = 1$ ) the host eggs (all the other eggs remained undamaged).

The cuckoos laying directly into the nest cup often had difficulties exiting the nest boxes (Supplementary Videos 9, 10). Three cuckoos even got trapped inside the boxes for six, 40 and 71 minutes after laying. In addition, four females that laid using the dropping mode “slipped” into the nest box from the entrance after laying and only managed to exit the box after four, seven, eight and 28 minutes. None of the projecting cuckoos entered “fell inside” the nest box. As a result, the overall duration of laying visits (i.e. from appearing of the cuckoo in entrance to leaving the nest box) in direct laying (median  $\pm$  SD =  $73.5 \pm 1171.9$  seconds,  $n = 16$ ) did not statistically differ from dropping ( $54.5 \pm 313.5$ ,  $n = 30$ ; Mann–Whitney U-test;  $U_{16,30} = 222$ ,  $p = 0.69$ ) and had a tendency to be longer than projecting ( $38.0 \pm 31.7$ ,  $n = 17$ ;  $U_{16,17} = 83.5$ ,  $p = 0.06$ ; Fig. 3; Extended Data Table 2). When the seven extraordinary long laying visits were omitted, the visit duration were similar between the direct laying ( $40.0 \pm 50.8$  seconds,  $n = 13$ ) and dropping ( $46.0 \pm 57.9$  seconds,  $n = 26$ ; Welch's  $t_{27.15} = -0.12$ ,  $p = 0.90$ ), and between dropping and projecting ( $38.0 \pm 31.7$  seconds,  $n = 17$ ; Welch's  $t_{40.04} = 1.73$ ,  $p = 0.09$ ; Fig. 3; Extended Data Table 2). Thus, in addition to the generally shortest duration, projecting was the only mode which prevented the cuckoos getting stuck in the nest boxes.

In contrast, the latency to egg-deposition (i.e. from appearing of the cuckoo in the nest entrance to noticing the cuckoo egg laid) was shorter during direct laying ( $16.5 \pm 9.4$  seconds,  $n = 16$ ) than for dropping ( $37.0 \pm 47.6$  seconds,  $n = 30$ ; Welch's  $t_{33.1} = -3.76$ ,  $p < 0.001$ ) or projecting ( $29.0 \pm 31.2$  seconds,  $n = 17$ ; Welch's  $t_{19.1} = -2.48$ ,  $p = 0.02$ ), but did not differ between dropping and projecting (Welch's  $t_{43.9} = 1.23$ ,  $p = 0.22$ ; Extended Data

Table 2, Fig. 3). This suggested direct laying as less technically demanding mode at least for to the moment of egg-deposition, than both entrance layings.

In overall, cuckoo laying success (proportion of eggs that landed in the host nest cup) was higher in direct laying (94%,  $n = 16$ ) compared to projecting (53%,  $n = 17$ ; GLM:  $\beta_{\text{Mode\_directLaying}} = 2.59 \pm 1.14$ ,  $\chi^2 = 7.68$ ,  $p = 0.006$ ) and also higher in projecting compared to dropping (10%,  $n = 30$ ; GLM:  $\beta_{\text{Mode\_projecting}} = 2.32 \pm 0.78$ ,  $\chi^2 = 10.39$ ,  $p = 0.001$ , Supplementary Results). Direct laying strategy also ensured event of shortest latency to egg-deposition (6 seconds), but the shortest duration of laying visit happened in one of the projectings (8 seconds; Extended Data Table 2). Similarly to longest overall duration of laying visits, direct laying was associated with the most prolonged stay (4300 seconds; Extended Data Table 2) and thus with highest risk of nest desertion by host parents<sup>9,16,24</sup> and in extreme circumstances even with the risk of starving to death (pers. obs.).

Indeed, in six out of 63 (10%) cuckoo laying events redstarts deserted the nest within 24 hours and five of these events were direct layings and one was dropping. Also all three cases with confirmed host presence out of six desertion events within 24 hours were direct layings. Desertion rates thus differed by the cuckoo laying location (direct laying 31%,  $n = 16$ ; entrance laying 2%,  $n = 47$ ; GLM:  $\beta_{\text{LayingLocation\_inside}} = 3.33 \pm 1.23$ ,  $\chi^2 = 10.97$ ,  $p = 0.001$ , Supplementary Results), but were similar between dropping (3%,  $n = 30$ ) and projecting (0%,  $n = 17$ ; Fisher's exact test  $p = 1.00$ ).

Finally, combining the laying success and desertion rates translated into similar cuckoo hatching success in direct laying (63% of laid eggs) and projecting (53%), but much lower in dropping (7%). Given that we found no differences of the egg-laying strategy on cuckoo chicks' growth and fledging parameters (Extended Data Fig. 2), the parasite fitness has been highest for direct laying, being closely followed by projecting, but very low for dropping. Thus, the high prevalence of dropping (48%,  $n = 63$ ) seems to be surprising and may reflect an ongoing evolutionary change or different dropping fitness prospect under natural condition.

For the first time in birds and even in oviparous amniotes, we documented projecting as an existing and similar to direct laying as fitness enhancing egg-deposition procedure. Contrary to traditional hypotheses in the literature, we obtained no evidence for beaking, regurgitating or fluttering egg-deposition modes. Instead, we confirmed dropping as an existing, but rather ineffective laying mode in nest boxes. Direct laying, the third egg-deposition mode we documented, has been the most effective in laying

success but at the same time a risky strategy increasing probability of nest desertion and being possibly dangerous even to the cuckoo female.

It has been suggested that redstarts originally nested on the ground<sup>25,26</sup> and later reduced strong parasitism pressure by nesting in ground cavities<sup>7,25,27</sup>. This suggests direct laying as the ancestral laying mode (see also Methods). Thus preference of tree hollows or crevices of redstarts for nesting could have been counter-adaptation to direct laying, which denied cuckoos the possibility to enter (or turn inside) the nest cavity. Such nesting strategy may have caused selection on cuckoos to evolve dropping as a modified direct laying mode (dropping behaviourally resembles the “getting inside” stage of some direct laying events, see Supplementary Video 10). Dropping can potentially prove efficient in these holes, because width of their nest cup rims is usually smaller<sup>28</sup> compared to those in our nest boxes (Methods). Dropping likely further evolved to projecting as a response to redstarts' use of deeper cavities with nest cups located further from entrances. Therefore, the projecting seems to be an universal and novel cuckoo counter-adaptation against a host cavity-nesting defence strategy. Finally, the use of tree cavities, with the entrances small enough to prevent cuckoo offspring fledge (see Methods) likely represents the latest step in redstart defence as it is also hypothesised in some other potential cuckoo hosts<sup>29</sup>.

Similarly to another recent study<sup>17</sup> (see Supplementary Discussion) our results demonstrate the egg-laying stage as the phase of intensive co-evolutionary arms race between the parasites and their hosts. Our results further confirmed cavity-nesting of redstarts as their main antiparasite adaptation<sup>7</sup>. Future focus on individuality (personality) of laying cuckoo females and cuckoo egg-deposition modes in natural redstart cavities and in other parasite-host systems has therefore the potential to reveal previously unexpected dynamics of parasite-host co-evolution.





**Figure 1** Projected cuckoo egg in flight.

**(a)**



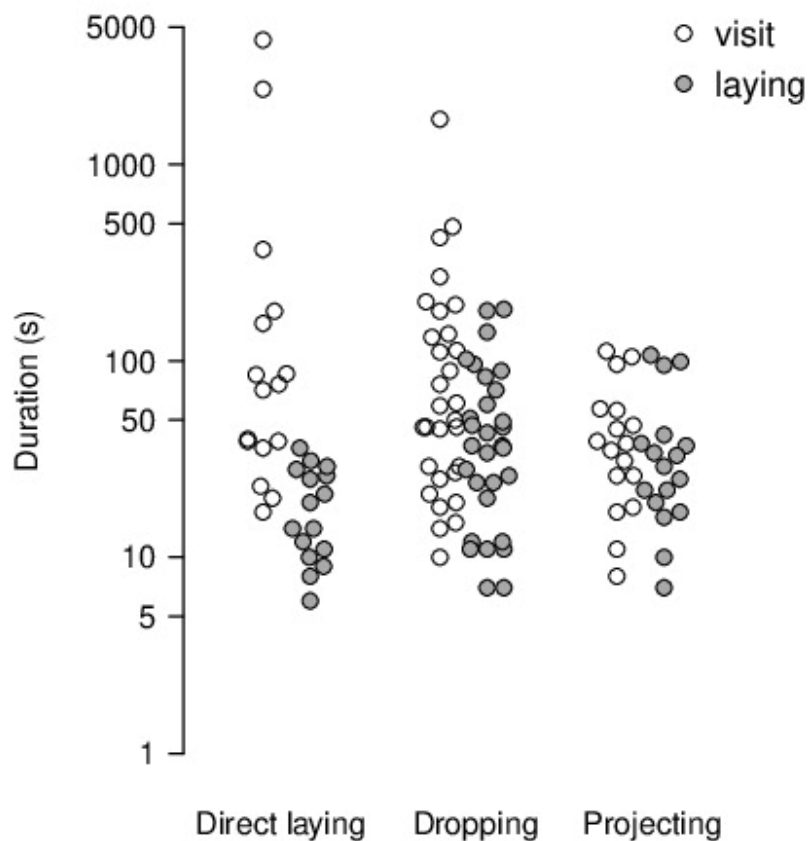
(b)



(c)



**Figure 2** Screenshots of three laying moments of the three distinctive egg-deposition modes used by at least two different cuckoos (based on laying dates) recorded in the same nest box (Utula site, nest box N8: vertical entrance diameter = 7.4 cm, horizontal entrance diameter = 7.2 cm, nest box width = 12.9 cm, nest box depth = 12.9 cm, nest box height = 35 cm): **(a)** Projecting (14. 6. 2016, 18 h 9 min), **(b)** Dropping (19. 6. 2015, 17 h 29 min), **(c)** Direct laying (20. 6. 2015, 17 h 7 min). In each screenshot, the egg is squeezed or dropped from cloaca and is visible on the screen in case of **(a)** and **(b)** respectively, or specific sound and body movement of laying moment is recognizable from video in case of **(c)** (see Methods).



**Figure 3** Nest box visit duration by cuckoos parasitizing host redstarts. In the panel, “visit” = whole period the cuckoo stayed at the nest from arrival till departure. To present all the data, including seven prolonged visits (three for direct laying and four for dropping), we used logarithmic scale. “Laying” = latency from arrival till the moment of egg laying.

## References

1. del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D. A. & de Juana, E. *Handbook of the Birds of the world Alive* (Lynx Editions, Barcelona, 2015). <http://www.hbw.com/> on 2 January 2020.
2. Davies, N. B. *Cuckoos, cowbirds and other cheats* (T & A.D. Poyser, London, 2000).
3. Baker, E. C. S. *Cuckoo Problems* (H.F. & G. Witherby Ltd., London, 1942).
4. Chance, E. *The truth about the cuckoo* (Country Life Ltd., London, 1940).
5. Wyllie, I. *The Cuckoo* (B. T. Batsford Ltd., London, 1981).
6. Schulze-Hagen, K., Stokke, B. G. & Birkhead, T. R. Reproductive biology of the European Cuckoo *Cuculus canorus*: early insights, persistent errors and the acquisition of knowledge. *J. Ornithol.* **150**, 1–16 (2009).
7. Rutila, J., Latja, R. & Koskela, K. The common cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity nesting host, the redstart *Phoenicurus phoenicurus*: a peculiar cuckoo-host system? *J. Avian Biol.* **33**, 414–419 (2002).
8. Thomson, R. L., Tolvanen, J. & Forsman, J. T. Cuckoo parasitism in a cavity nesting host: near absent egg-rejection in a northern redstart population under heavy apparent (but low effective) brood parasitism. *J. Avian Biol.* **47**, 363–370 (2016).
9. Samaš, P., Rutila, J. & Grim, T. The common redstart as a suitable model to study cuckoo-host coevolution in a unique ecological context. *BMC Evol. Biol.* **255**, 16–28 (2016).
10. Davis, P. R. K. *The Cuckoo on Exmoor and its Meadow Pipit Host* (Exmoor Natural History Society, Minehead, 1996).
11. Andou, D., Nakamura, H., Oomori, S. & Higuchi, H. Characteristics of brood parasitism by common cuckoos on azure-winged magpies, as illustrated by video recordings. *Ornithol. Sci.* **4**, 43–48 (2005).
12. Wang, L., Zhong, G., He, G., Zhang, Y., Liang, W. Egg laying behavior of the common cuckoo (*Cuculus canorus*): Data based on field video-recordings. *Zool. Res.* **41**, 1–7 (2020).
13. McMaster, D. G., Neudorf, D. L. H., Sealy S. G. & Pitcher, T. E. A comparative analysis of laying times in passerine birds. *J. Field Ornithol.* **75**, 113–122 (2004).
14. Chance, E. *The Cuckoo's Secret*. (Sidgwick & Jackson Ltd., London, 1922).

15. Chance E., Hawkins E., Pike O. The Home Wrecker (film). British Instructional Films Ltd. British Pathé: <https://www.youtube.com/watch?v=HxFO6OaDgeQ> (2020).
16. Moksnes, A. *et al.* Common Cuckoo *Cuculus canorus* and host behaviour at Reed Warbler *Acrocephalus scirpaceus* nests. *Ibis* **142**, 247–258 (2000).
17. Ellison, K. S., Fiorini, V. D., Gloag, R., & Sealy, S. G. Video recordings of Brown-headed (*Molothrus ater*) and Shiny (*M. bonariensis*) cowbirds reveal oviposition from an elevated position: Implications for host–parasite coevolution. *Wilson J. Ornithol.* **131**, 789–795 (2019).
18. Brooker, M. G., Brooker, L. C. & Rowley, I. Egg deposition by the bronze-cuckoos *Chrysococcyx basalis* and *Ch. lucidus*. *Emu* **88**, 107–109 (1988).
19. Briskie, J. V. Direct observations of shining cuckoos (*Chrysococcyx lucidus*) parasitizing and depredating grey warbler (*Gerygone igata*) nests. *Notornis* **54**, 15–19 (2007).
20. Gloag, R., Keller, L.-A. & Langmore, N. E. Cryptic cuckoo eggs hide from competing cuckoos. *Proc. R. Soc. B* **281**: 20141014 doi: 10.1098/rspb.2014.1014 (2014).
21. Soler, M., Pérez-Contreras, T. & de Neve, L. Great spotted cuckoos frequently lay their eggs while their magpie host is incubating. *Ethology* **120**, 965–972 (2014).
22. Fossøy, F. (eds.) Ancient origin and maternal inheritance of blue cuckoo eggs. *Nat. Commun.* **7**:10272 doi: 10.1038/ncomms10272 (2016).
23. Grim, T., Rutila, J., Cassey, P. & Hauber, M. E. The cost of virulence: an experimental study of egg eviction by brood parasitic chicks. *Behav. Ecol.* **20**, 1138–1146 (2009).
24. Davies, N. B. & Brooke, M. L. Cuckoos versus reed warblers: adaptations and counteradaptations. *Anim. Behav.* **36**, 262–284 (1988).
25. Siivonen, L. Über die ursprüngliche Nistweise des Gartenrotschwanzes, *Phoenicurus phoenicurus* (L.). *Ornis Fenn.* **13**, 89–99 (1935).
26. von Haartman, L. The nesting habits of Finnish birds. I. Passeriformes. *Soc. Sci. Fenn.* **32** (1969).
27. Avilés, J.M., Rutila, J. & Møller, A. P. Should the redstart *Phoenicurus phoenicurus* accept or reject cuckoo *Cuculus canorus* eggs? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **58**, 608–617 (2005).

28. Kosiński, Z. & Ksit, P. Nest holes of Great Spotted Woodpeckers *Dendrocopos major* and Middle Spotted Woodpeckers *D. medius*: Do they really differ in size? *Acta Ornithol.* **42**, 45–52 (2007).
29. Grim, T., Samaš, P., Procházka, P., & Rutila, J. Are tits really unsuitable hosts for the common cuckoo. *Ornis Fenn.* **91**: 166–177 (2014).

**Supplementary Information** is available for this paper.

**Acknowledgements** We are grateful to J. Haikola and Z. Tyller for help in the field and to T. Flower for comments, which greatly improved the paper. The study was supported by the Czech Science Foundation grant no. P506/12/2404 (to TG and PS), HFSP RGY83/2012 (to TG), student project of Palacký University no. 2014/013 (to MK and TG) and by the Academy of Finland grant (project #138049) and University of Turku Collegium for Science and Medicine grant (to RLT).

**Author Contributions** M.K., J.T., P.S., R.L.T. and T.G. collected the field data with assistance from R.M. and J.R.; M.K., J.T. and P.S. analysed the data; T.G. and R.L.T. supervised the project. All authors wrote (commented on) the manuscript.

## METHODS

**Study population and area.** We collected data in Finnish pine forests in two study populations ca. 400 km apart: in Oulu (65°N, 25°50'E)<sup>8</sup> and in Utula (61°24'N, 28°37'E)<sup>9,23</sup>. We followed cuckoo egg laying by checking redstart nest contents (2013–2016 in both sites) and by video-recording nests (2013–2016 in Oulu and 2014–2016 in Utula) during the breeding seasons.

Similarly to all previous studies of brood parasite-host interactions, including video-recording of the cuckoo-laying behaviour<sup>11,12,14,16</sup> the cuckoos were not individually marked due to logistical and technical difficulties of cuckoo female mist-netting<sup>5,9</sup>, which is especially difficult in a forest environment (J. Haikola pers. comm.). Nevertheless, based on plumage differences<sup>16</sup> and phenotypic similarities (see Supplementary Video 9) of filmed females and patterns of laying in space (cuckoo females lay in spatially limited

home ranges<sup>5,30,31</sup>) and time (cuckoos lay on alternate days only<sup>2,5,6</sup>) we estimate 14–23 different cuckoo females laying in Utula and 11–19 in Oulu for every breeding season separately. It is impossible to make estimation between years because of moulting<sup>5</sup>.

Video-recording in natural cavities is near impossible: redstarts are secretive during the egg laying period making natural nest cavities extremely difficult to find<sup>32</sup>, and the irregular shape and often various material strength of natural cavities would make camera placement challenging without damaging the cavity. Therefore, similarly to other studies (e.g., De Mársico et al.<sup>33</sup>) we studied host nest box populations.

**Nest box design.** Nest boxes at which we recorded cuckoo laying events were similar to natural cavities typically used by redstarts<sup>9,23</sup> and slightly varied in their dimensions: vertical diameter of round entrance 6.2–8.5 cm (mean 7.2 cm, n = 350), width (inside measure) 8.5–13.0 cm (11.7 cm, n = 350), depth (inside) 10.0–17.0 cm (13.7 cm, n = 350), height 35 cm (n = 350), bottom area 85.0–221.0 cm<sup>2</sup> (162.2 cm<sup>2</sup>, n = 350). The nest box entrances were designed to facilitate cuckoo chick fledging<sup>8,9,32</sup>. This is very important because the smallest cavity entrance for the cuckoo chick to fledge from is known to be 5.0 cm<sup>7,34</sup> (see also Supplementary Discussion). Thus laying into any smaller entrances would bias our estimates of both laying and reproductive success.

Our conclusions are not biased in favour of previously unrecorded projecting or dropping because entrance sizes are even smaller in natural redstart tree cavities (mean 5.3 cm, range 4.4–6.5 cm, n = 8, R.L.T. previously unpublished data), or generally in cavities made by the most abundant cavity excavator in the study areas, the great spotted woodpecker (*Dendrocopos major*), mean 4.9 cm, range 3.8–6.3 cm<sup>28</sup>.

In contrast, the nest boxes had smaller dimensions than successfully parasitized natural ground cavities used by redstarts (vertical entrance diameter 6.0–11.0 cm, horizontal entrance diameter 11–12 cm, inside width 20–25 cm, inside depth 15–25 cm, inside height 10–13 cm, n = 2) which we found at Utula site during the study (see also Kysučan et al.<sup>32</sup>). Therefore, similarly to our nest boxes, these natural ground cavities could have been parasitized by all three egg-deposition modes.

**Video-recording.** We recorded redstart nests during the complete egg laying period with motion-activated infrared microcameras (CCD Bird Box Camera 420TVL; SpyCameraCCTV, Bristol, UK) located inside nest boxes and connected to digital video-recorders (Wireless 2.4 GHz 1 Channel D1 Mini DVR Recorder; SpyCameraCCTV) hidden in boxes below the nest box and powered by car batteries<sup>9,35</sup>. The microcameras were focused mostly on the nest box entrance and were possible, also on the nest cup. In

addition to the nest box cameras we also used four external trail cameras in the Utula site to record activities around nest boxes (as was logistically possible); we managed to record eight laying events synchronously from inside and also from the outside view (Supplementary Videos 5, 7, 8).

**Data analysis.** We describe the cuckoo behaviour during laying and document laying success, i.e., whether the cuckoo egg ended inside or outside the host nest cup. Cuckoo eggs laid outside the nest cup are never retrieved by hosts into the nest cup<sup>7,8,9,23</sup> and are always ignored under natural conditions. In the present study we moved such eggs into other nests to address different research questions<sup>8,9,35,36</sup>. Further, we report duration of cuckoo visits and cuckoo laying latency. We quantified the duration of laying “visit” as the time from a cuckoo's arrival to the nest box entrance (i.e., cuckoo touched the entrance) to her departure (the end of her physical contact with entrance), and the “laying” latency as the time from a cuckoo's arrival to the nest box entrance to the moment she deposited her egg (i.e., the egg was visible on screen, or specific laying body movement of cuckoo female was recognizable).

We also present laying times of cuckoos and hosts (see Extended Data Figure 3). Laying time of host redstarts (n = 58) and cuckoos (n = 63) was determined from continuous video-recordings inside nest boxes (some redstart laying timing were not detectable due to camera placement). Data for redstarts include laying on the same day when the cuckoo laid in the same nest (n = 40) or next day (when camera was set on the day when cuckoo laid and we missed host laying on that day's morning, n = 16) or previous day (when the redstart did not lay the same or following day, n = 2). At two other nests the redstarts deserted, and at three nests the camera was removed immediately after the cuckoo laid and we had not recorded the host laying the day before.

Finally, we describe host activity during cuckoo laying. The presence and activity of hosts was assessed either from visual detection of redstarts on the footage or acoustically (the hosts always loudly alarm call when their nest is disturbed, own pers. obs.). Due to technical problems of some cameras we have not audio records for five out of 63 laying events, but we have simultaneous recordings from external trail cameras for two of these cases and documentation of first host post-parasitism inspection in nest box after more than an hour for other three cases. However, our desertion rate of 10% is similar to the 13% desertion rate which was previously documented for another Finnish nest box population<sup>7</sup>. Therefore, we suggest that our desertion rate was not underestimated.



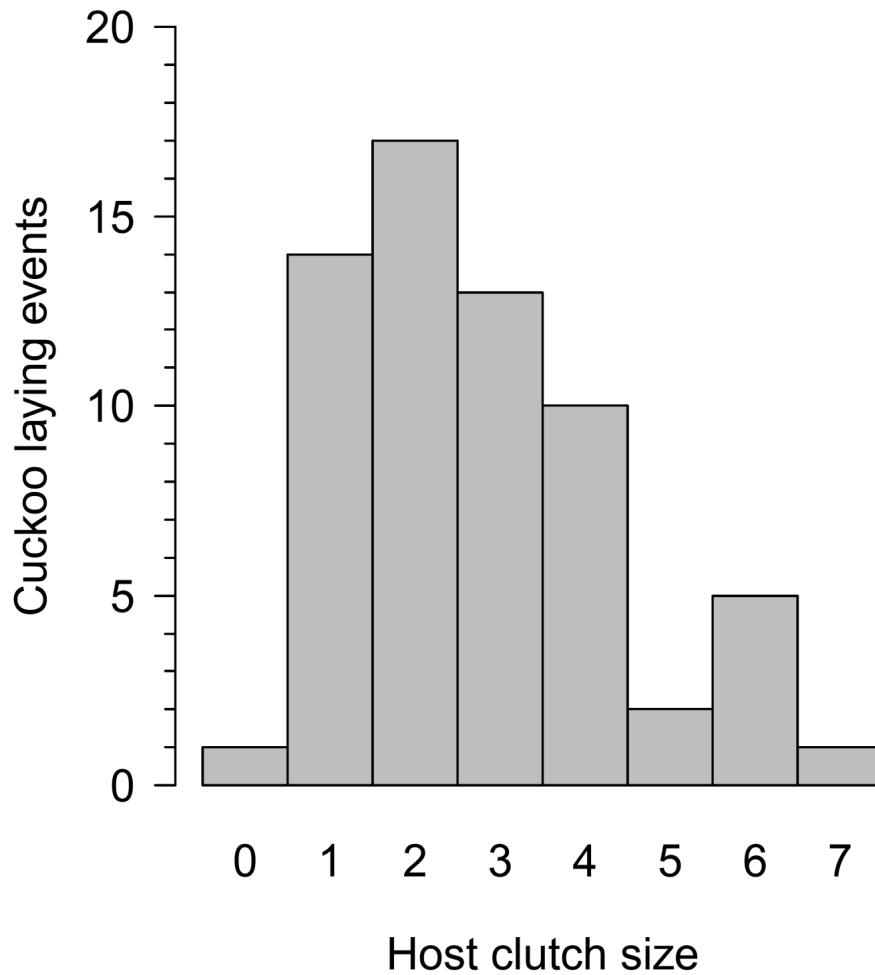
Results are presented as median  $\pm$  SD (unless stated otherwise). For comparisons of visit duration among particular laying modes, we used nonparametric Mann–Whitney U-tests, because of seven prolonged laying events (outliers) contained in this data set. In comparisons where these extraordinary long laying visits are omitted or in comparisons of latency to egg laying (where we detected no outliers), we used parametric Welch's t-test. For assessment of the laying success, desertion rates, camera presence and nest box design effects of particular laying modes, we used GLM (see Supplementary Methods, Results and Tables) or Fisher's exact test (one-tailed). All analyses were conducted with R 3.5.0<sup>37</sup> or STATISTICA 13<sup>38</sup>.

## References

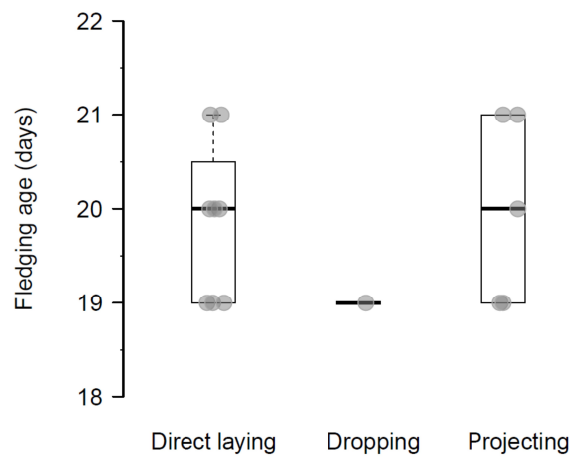
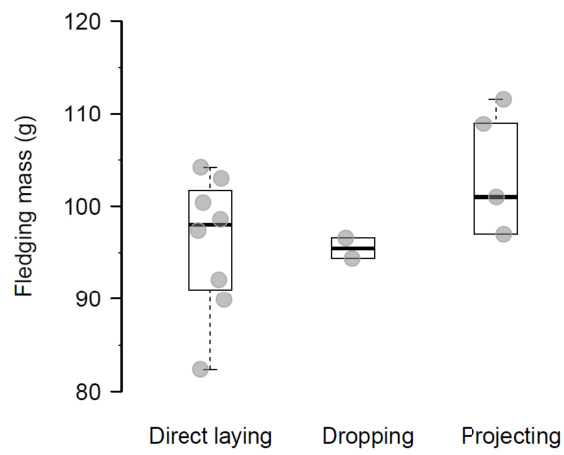
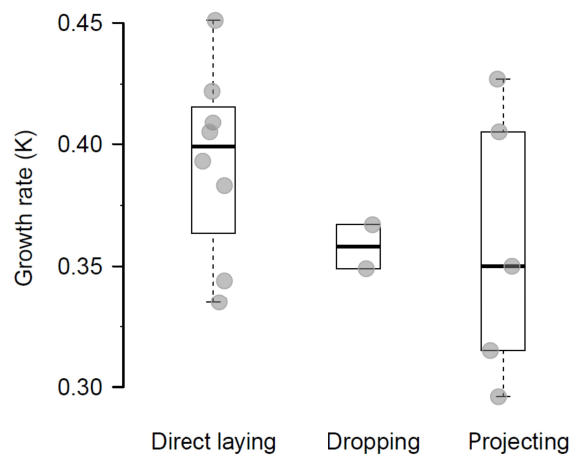
30. Honza, M., Taborsky, B., Taborsky, M., Teuschl, Y., Vogl, W., Moksnes, A. & Røskaft, E. Behaviour of female common cuckoos, *Cuculus canorus*, in the vicinity of host nests before and during egg laying: a radiotelemetry study. *Anim. Behav.* **64**, 861–868 (2002).
31. Nakamura, H., Miyazawa, Y. & Kashiwagi, K. Behavior of radio-tracked Common Cuckoo females during the breeding season in Japan. *Ornithol. Sci.* **4**, 31–41 (2005).
32. Kysučan, M., Samaš, P. & Grim, T. Post-fledging interactions between the Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity-nesting Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus* host. *Ibis* **162**, 90–103 (2020).
33. De Mársico, M. C., Gloag, R., Ursino, C. A. & Reboreda, J. C. A novel method of rejection of brood parasitic eggs reduces parasitism intensity in a cowbird host. *Biol. Lett.* **9**: 20130076 doi: 10.1098/rsbl.2013.0076 (2013).
34. Löhrl, H. Untersuchungen am Kuckuck, *Cuculus canorus* (Biologie, Ethologie und Morphologie). *J. Ornithol.* **120**, 139–173 (1979).
35. Grim, T., Tyller, Z., & Samaš, P. Unusual diet of brood parasitic nestlings and its fitness consequences. *Auk* **134**, 732–750 (2017).
36. Samaš, P., Rutila, J., Honza, M., Kysučan, M. & Grim, T. Rearing a virulent common cuckoo is not extra costly for its only cavity-nesting host. *Proc. R. Soc. B*, **285**: 20181710 (2018).
37. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R

Foundation for Statistical Computing (2018). <http://www.R-project.org/> (accessed 7 June 2018).

38. TIBCO Software Inc. Statistica (data analysis software system), version 13 (2018). <http://tibco.com>.

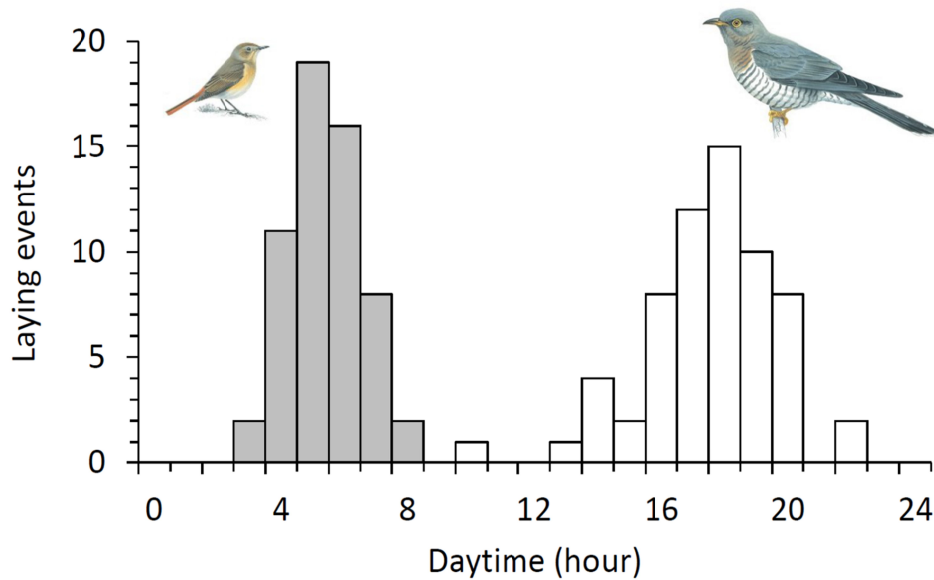


**Extended Data Figure 1** Number of cuckoo laying events ( $n = 63$ ) into the host nests with different clutch size (number of host eggs present in nest during cuckoo laying).



**Extended Data Figure 2** Growth rate, fledging mass and fledging age (mean  $\pm$  SE) comparison of 15 measured cuckoo chicks hatched from eggs successfully laid (ended

inside nest cup) by three distinctive laying modes: direct laying (n = 8), dropping (n = 2), projecting (n = 5).



**Extended Data Figure 3** Laying time of host redstarts (n = 58) and cuckoos (n = 63) as determined from continuous video-recordings inside nest boxes. The difference between sample sizes is caused by camera placement timing (as explained in Methods). Data for redstarts include laying on the same day when the cuckoo laid in the same nest (n = 40) or next day (when camera was set on the day when cuckoo laid and we missed host laying on that day morning, n = 16) or previous day (when host did not laid at the same and next day, n = 2).

**Extended Data Table 1** Distinctive modes of egg-laying by parasitic cuckoos into the host nests according to the literature. Historically, the prevailing opinion was that cuckoos deposit eggs by *beaking*. A similar broadly accepted mode was *regurgitating*. Documented parasitism in fragile hanging nests where the cuckoos presumably cannot get a stable foothold inspired *fluttering*. When laying to cavity nests, the cuckoos were supposed to lay their eggs by *dropping* (i.e., laying from entrance with body bowed in) or *projecting* (i.e., laying from entrance with body bowed out). Finally, although being questioned in case of cavities with too small entrances, cuckoos could lay their eggs just like any other bird by *direct laying*.

| Mode                 | Description   | References  |
|----------------------|---|---|
| <b>Beaking</b>       | Cuckoo lays her egg on the ground, grasps it with her beak, flies to the host nest where sits and inserts it into the nest cup.   | Bechstein (1791) <sup>39</sup> ; Naumann (1826) <sup>40</sup> ; Buckland et al. (1859) <sup>41</sup> ; Šír (1883) <sup>42</sup> ; Rey (1894) <sup>43</sup> ; Baker (1913) <sup>44</sup> , (1923) <sup>45</sup> , (1942) <sup>3</sup> ; Chance (1922) <sup>14</sup> , (1940) <sup>4</sup> ; Claudon (1955) <sup>46</sup> ; Harrison (1969) <sup>47</sup> ; Wyllie (1981) <sup>5</sup> ; Brooker et al. (1988) <sup>18</sup> ; Davies (2000) <sup>2</sup> ; Briskie (2007) <sup>19</sup> ; Schulze-Hagen et al. (2009) <sup>6</sup>   |
| <b>Regurgitating</b> | Cuckoo lays her egg on the ground, swallows it, stores it in her oesophagus, flies to the host nest and regurgitates her egg into the nest cup.   | Mudie (1835) <sup>48</sup> ; Meiklejohn (1900) <sup>49</sup> ; Chance (1940) <sup>4</sup> ; Wyllie (1981) <sup>5</sup> ; Davies (2000) <sup>2</sup> ; Schulze-Hagen et al. (2009) <sup>6</sup>  |
| <b>Fluttering</b>    | Cuckoo lays her egg in fragile hanging nest while hovering in front of the nest entrance, making as much use as possible of the support given by the nest and then project an egg or put it with her bill into the nest cup.                  | Baker (1942) <sup>3</sup> ; Wyllie (1981) <sup>5</sup>  |
| <b>Dropping</b>      | Cuckoo lays her egg in the cavity simply by placing her cloaca at the entrance and dropping the egg into the nest.  | Liversidge (1969) <sup>50</sup> ; Dunn (1985) <sup>51</sup> ; Davies (2000) <sup>2</sup> ; Rutila et al. (2002) <sup>7</sup> ; Krüger (2011) <sup>52</sup>  |
| <b>Projecting</b>    | Cuckoo lays her egg in the cavity too small for the cuckoo to enter, by pressing the cloaca as close as possible to the entrance while clinging to some external support and in correct position projecting the egg in direction of nest cup. | Chance (1940) <sup>4</sup> ; Baker (1942) <sup>3</sup> ; Wyllie (1981) <sup>5</sup> ; Davies (2000) <sup>2</sup> ; Payne (2005) <sup>53</sup> ; Schulze-Hagen et al. (2009) <sup>6</sup>  |
| <b>Direct laying</b> | Cuckoo female deposits her egg directly into the nest cup while sitting on the nest cup.  | Orphal (1805) <sup>54</sup> ; Naumann (1826) <sup>39</sup> ; Walter (1876) <sup>55</sup> ; Šír (1883) <sup>42</sup> ; Chance (1922) <sup>14</sup> , (1923) <sup>56</sup> , (1940) <sup>4</sup> ; Baker (1942) <sup>3</sup> ; Harrison (1969) <sup>47</sup> ; Wyllie (1981) <sup>5</sup> ; Brooker et al. (1988) <sup>18</sup> ; Davies (2000) <sup>2</sup> ; Moksnes et al. (2000) <sup>16</sup> ; Andou et al. (2005) <sup>11</sup> ; Payne (2005) <sup>53</sup> ; Briskie (2007) <sup>19</sup> ; Schulze-Hagen et al. (2009) <sup>6</sup> ; Soler et al. (2014) <sup>21</sup> |

## References

39. Bechstein, J. M. *Gemeinnützige Naturgeschichte Deutschlands* (Crusius Bd 2, Leipzig, 1791).
40. Naumann, J. F. *Naturgeschichte der Vögel Deutschlands* (Bearbeitet von J.F. Naumann, Fleischer Bd 5, Leipzig 1826).
41. Buckland, F. T., Martin, W. C. L. & Kidd, W. *Birds and bird life* (Religious Tract Society, London, 1859).
42. Šír, V. Kukačka. *Listy českého spolku pro ochranu ptactva v Praze* **3**, 7–13, 17–25, 34–36 (1883).
43. Rey, E. Beobachtungen über den Kuckuk bei Leipzig aus dem Jahre 1893. *Ornithol. Monatsschr.* **19**, 159–168 (1894).
44. Baker, E. C. S. The evolution of adaptation in parasitic cuckoos' eggs. *Ibis* **55**, 384–398 (1913). doi: 10.1111/j.1474-919X.1913.tb06559.x
45. Baker, E. C. S. Cuckoos' eggs and evolution. *Proc. Zool. Soc. Lond.* **93**, 277–294 (1923). doi: 10.1111/j.1096-3642.1923.tb02187.x
46. Claudon, C. Nouvelles observations sur *Cuculus c. canorus* Linné en Alsace. *LOiseaux* **25**, 44–49 (1955).
47. Harrison, C. J. O. A Reconsideration of Horsfield Bronze Cuckoo Depositing Its Eggs by Using the Bill. *Emu* **69**: 178–181 (1969). DOI: 10.1071/MU969175b
48. Mudie, R. *The British naturalist* (2nd edn., Orr and Smith, London, 1835).
49. Meiklejohn, A. H. How does the Cuckoo carry her Egg? *Zoologist* **4**, 262–264 (1900).
50. Liversidge, R. (1969). The biology of the Jacobin cuckoo *Clamator jacobinus*. *Ostrich* **40**, 117–137.
51. Dunn, E. K. Cuckoo: Social pattern and behaviour. – In: Cramp, S. (ed.). *The birds of the Western Palearctic* (Vol. IV. Oxford Univ. Press, Oxford, pp. 407–412, 1985).
52. Krüger, O. Brood parasitism selects for no defence in a cuckoo host. *Proc. R. Soc. B* **278**, 2777–2783 (2011).
53. Payne, R. B. *The Cuckoos*. Oxford Univ Press, New York (2005).
54. Orphal, W. C. *Ornithologisches Handbuch für Forstmänner und Gartenfreunde* (Keyser, Erfurt, 1805).
55. Walter, A. Beobachtungen aus dem Leben und Treiben des Kuckuks. *J. Ornithol.* **24**, 368–373 (1876).

56. Chance, E. The Cuckoo's egg laying. *Auk* **40**, 181–182 (1923).

**Extended Data Table 2** Duration (seconds) of cuckoos' activities (median, range) in common redstart nests during egg laying. Projecting = laying from entrance with body bowed out. Dropping = laying from entrance with body bowed in. Direct laying = inside nest box and nest cup. “Visit” = whole period the cuckoo stayed at the nest box from her arrival to the entrance till departure. “Laying” = latency from arrival to the nest box entrance to the moment and egg was deposited. Length of “Visit” strongly varied depending on the mode of cuckoo female departure: some females departed directly through the nest entrance (immediate departure) whereas other females fell inside the box after dropping or attempted to depart in wrong directions or struggled to turn around after direct laying and became trapped inside the nest boxes (prolonged departure).

| Cuckoo activity                                | N  | Visit (seconds) | N  | Laying (seconds) |
|--|----|-----------------|----|------------------|
| <b>Projecting</b>                              | 17 | 38 (8–112)      | 17 | 29 (7–107)       |
| - outside nest cup                             | 8  | 33 (11–112)     | 8  | 25.5 (10–107)    |
| - inside nest cup                              | 9  | 47 (8–105)      | 9  | 33 (7–99)        |
| <b>Dropping</b>                                | 30 | 54.5 (10–1698)  | 30 | 37 (7–183)       |
| - immediate departure                          | 26 | 46 (10–200)     | 26 | 35.5 (7–183)     |
| - prolonged departure                          | 4  | 453 (268–1698)  | 4  | 48 (36–60)       |
| - outside nest box                             | 2  | 146 (113–179)   | 2  | 121 (102–140)    |
| - inside nest box, outside nest cup            | 25 | 50 (14–1698)    | 25 | 36 (7–183)       |
| - immediate departure                          | 21 | 46 (14–200)     | 21 | 28 (7–183)       |
| - prolonged departure                          | 4  | 453 (268–1698)  | 4  | 48 (36–60)       |
| - inside nest box, inside nest cup             | 3  | 46 (10–111)     | 3  | 37 (7–43)        |
| <b>Entrance laying (dropping + projecting)</b> | 47 | 46 (8–1698)     | 47 | 34 (7–183)       |
| - immediate departure                          | 43 | 45 (8–200)      | 43 | 33 (7–183)       |
| - prolonged departure                          | 4  | 453 (268–1698)  | 4  | 48 (36–60)       |
| <b>Direct laying</b>                           | 16 | 73.5 (17–4300)  | 16 | 16.5 (6–36)      |
| - immediate departure                          | 13 | 40 (17–179)     | 13 | 19 (6–36)        |
| - prolonged departure                          | 3  | 2416 (369–4300) | 3  | 14 (12–31)       |
| Without egg removal                            | 4  | 167 (76–2416)   | 4  | 30 (25–36)       |
| - immediate departure                          | 3  | 155 (76–179)    | 3  | 29 (25–36)       |
| - prolonged departure                          | 1  | 2416            | 1  | 31               |
| With egg removal - unsuccessful                | 5  | 85 (20–4300)    | 5  | 10 (6–26)        |
| - immediate departure                          | 4  | 54 (20–86)      | 4  | 9.5 (6–26)       |
| - prolonged departure                          | 1  | 4300            | 1  | 14               |
| With egg removal - successful                  | 7  | 39 (17–369)     | 7  | 14 (8–28)        |

|                          |    |                  |    |              |
|--------------------------|----|------------------|----|--------------|
| - immediate departure    | 6  | 39 (17–71)       | 6  | 16.5 (8–28)  |
| - prolonged departure    | 1  | 369              | 1  | 12           |
| <b>All laying events</b> | 63 | 46 (8–4300)      | 63 | 28 (6–183)   |
| - immediate departure    | 56 | 45 (8–200)       | 56 | 26 (6–183)   |
| - prolonged departure    | 7  | 482 (268–4300)   | 7  | 36 (12–60)   |
| - host absent            | 53 | 50 (8–1698)      | 53 | 29 (6–183)   |
| - immediate departure    | 48 | 46 (8–200)       | 48 | 27 (6–183)   |
| - prolonged departure    | 5  | 424 (268–1698)   | 5  | 47 (12–60)   |
| - host present           | 10 | 38.5 (10–4300)   | 10 | 23.5 (7–37)  |
| - immediate departure    | 8  | 33.5 (10–76)     | 8  | 23.5 (7–37)  |
| - prolonged departure    | 2  | 3358 (2416–4300) | 2  | 22.5 (14–31) |

## Supplementary Methods

### GLM analysis

We analyzed data collected on cuckoo laying behaviour for the period 2013–2016 in Oulu and 2014–2016 in Utula (total  $n = 330$  laying events of which 63 were video-recorded). We used generalized linear models (GLM) with binomial error distribution and logit link function when analyzing binary response variables of cuckoo laying location (from entrance vs inside nest box), mode (from entrance by projecting vs dropping), success (cuckoo egg inside nest cup vs outside nest cup) and nest desertion by hosts within 24h after parasitism (yes or no). For the response of cuckoo laying location and mode we included predictors of “entrance diameter” (mm; continuous), “nest box bottom area” ( $\text{cm}^2$ ; continuous), “cuckoo laying date” (ordinal day number; continuous) (Supplementary Table 1). For the response of cuckoo laying success with all data included, we added predictors “camera presence” (yes or no; binary) to those mentioned above, and for the response of video-recorded cuckoo laying success only we added “host presence” during cuckoo laying (yes or no; binary) and “cuckoo laying mode” (projecting, dropping, entering; categorical) (Supplementary Table 2). The analysis of laying success for video-recorded cuckoo laying comprised only entrance layings (dropping and projecting) because almost all cuckoo entered nest box and laid inside were successful (cuckoo egg ended inside nest cup). For the response of nest desertion by hosts we included predictors of “host presence” during cuckoo laying (yes or no; binary), “cuckoo visit duration” (seconds; continuous), “cuckoo laying location” (from entrance or inside nest box; binary), “host clutch size” at the time of parasitism (continuous), “host



first egg laid” (ordinal day number; continuous) and its quadratic term to test for potential non-linear seasonal trend (Supplementary Table 3). We fitted models for response of nest desertion by both including ( $n = 63$ ) and excluding ( $n = 56$ ) laying events with cuckoos being trapped for prolonged time inside the nest boxes. We could not test the effect of camera presence on the specific cuckoo laying modes, because we did not know the laying mode for the nests where we did not have a camera. However, if camera presence affected the laying mode choice, it would be expected that also the laying success differed relative to the camera presence, because laying success clearly varied between the laying modes. The analysis of cuckoo laying success in relation to camera presence therefore also provides an indirect test of camera presence on cuckoo laying mode.

In all models, we centred continuous variables on their means (laying dates by mean within each year and study site). We checked for potential multicollinearity using variance inflation factors which was satisfactory for all predictors (all VIFs  $< 3.0$ )<sup>57</sup>. We ran all possible models for a given set of variables (starting by full model) and used  $AIC_c$  to rank the models. We report the outputs of the full and final (with the lowest  $AIC_c$ ) models. Overdispersion level in the final models (ratio of residual deviance to residual degrees of freedom) was less than 1.28 for all final models indicating acceptable levels of overdispersion.

## Supplementary Results

Cuckoos parasitized redstart nests mainly during the host egg-laying stage (61 out of 63 cuckoo layings). One host nest was parasitized in pre-laying stage (one day before the host laid its first egg), and one in incubation stage (one day after the sixth host egg was laid; Extended Fig. 3). Eleven of 63 parasitized and video-recorded redstart nests were parasitized twice and four nests three times. However, the previously laid cuckoo eggs (one egg in all instances) were present in host nests only during six cuckoo laying events (other previously laid eggs were moved into other nests for other study projects). Host clutch size did not differ between nests where cuckoo attempted egg removal (mean  $\pm$  SE =  $2.8 \pm 0.5$ ,  $n = 12$ ) and where it did not ( $2.8 \pm 0.2$ ,  $n = 51$ ; Welch's  $t_{16.8} = -0.17$ ,  $p = 0.87$ ). During the egg removal attempts (direct laying in all cases), the cuckoo females always tried to remove only one redstart egg ( $n = 12$ ).

Cuckoo laying location was positively related to entrance diameter (direct laying inside the nest box was more frequent in nest boxes with wider entrances) and negatively to nest box area (direct laying more frequent in smaller nest boxes; Supplementary Table 1). When laying from the entrance, egg-deposition mode was negatively associated with laying date (projecting more frequent in early season) but was not influenced by nest box design (Supplementary Table 1). Furthermore, at three nest boxes, two different females always parasitized the same nest box each using different egg-deposition modes, both direct and entrance laying (both projecting and dropping). Since cuckoos are relatively large in comparison to nest box (or natural cavity) dimensions, it is reasonable that direct laying is more frequent in cavities with larger entrance hole, but surprisingly direct laying was also more frequent in smaller (by bottom area) nest boxes. However, although direct laying was observed more often in nest boxes with wider entrance diameter, it was also recorded in nest boxes with small (7.0 cm) entrance diameter. These results suggest that nest box design did not limit cuckoo laying behaviour.

Cuckoo laying success based on all data was higher at nest boxes with wider entrance diameter and smaller bottom area and was not affected by camera presence (Supplementary Table 2). The results remained qualitatively identical if those cuckoo eggs that dropped outside the nest box to the ground ( $n = 2$ ) were omitted (results not shown). The behaviour of cuckoos at nest boxes implied that they ignored the cameras. Cuckoo females focused their attention on nest cup and/or watched out for potential attacks by hosts (i.e. leaned back and stared outside the box); they did not look up to the roof where the cameras were attached. Laying success of cuckoos laying from the nest box entrance was significantly influenced by the laying mode; projecting was more successful than dropping (Supplementary Table 2).

Nest desertion by redstarts increased when cuckoos laid inside the nest box compared to laying from the entrance (Supplementary Table 3). Excluding records of cuckoos trapped in nest box did not change the conclusions (Supplementary Table 3). However, when including trapped cuckoos, hosts were more likely to be present (yes or no; binary response) the longer the duration of cuckoo presence (GLM<sub>host presence ~ visit duration</sub>,  $\beta_{\text{visit duration}} = 0.001$ , SE = 0.0006,  $\chi^2 = 4.847$ ,  $p = 0.028$ ) and when the cuckoo was laying inside the nest box (GLM<sub>host presence ~ laying location</sub>,  $\beta_{\text{LayingLocation\_inside}} = 1.864$ , SE = 0.735,  $\chi^2 = 6.602$ ,  $p = 0.010$ ). Although the cuckoo laying location appeared to have the strongest effect on redstart nest desertion, also host presence and cuckoo visit duration tended to explain redstart nest desertion rates: GLM<sub>nest desertion ~ host presence</sub>,  $\beta_{\text{HostP\_present}} =$

1.966, SE = 0.911,  $\chi^2 = 4.351$ , p = 0.037; GLM<sub>nest desertion ~ visit duration</sub>,  $\beta_{\text{visit duration}} = 0.0008$ , SE = 0.0005,  $\chi^2 = 3.245$ , p = 0.072. However, if the laying events with cuckoos trapped in the nest boxes are excluded, hosts were less likely to be present the longer the laying visit (GLM<sub>host presence ~ visit duration</sub>,  $\beta_{\text{visit duration}} = -0.025$ , SE = 0.016,  $\chi^2 = 4.258$ , p = 0.039) but still tended to be more likely present when cuckoo was laying inside the nest box (GLM<sub>host presence ~ laying location</sub>,  $\beta_{\text{LayingLocation\_inside}} = 1.466$ , SE = 0.798,  $\chi^2 = 3.270$ , p = 0.071). Hosts tended to desert nest more likely when being present during cuckoo laying (GLM<sub>nest desertion ~ host presence</sub>,  $\beta_{\text{HostP\_present}} = 2.037$ , SE = 1.090,  $\chi^2 = 3.195$ , p = 0.074), but probability of desertion was not affected by cuckoo visit duration (GLM<sub>nest desertion ~ visit duration</sub>,  $\beta_{\text{visit duration}} = -0.015$ , SE = 0.017,  $\chi^2 = 1.117$ , p = 0.291).

## Supplementary Tables

**Supplementary Table 1** Effects of nest box characteristics and laying date on cuckoo laying location (entrance vs inside nest box) and laying mode (projecting vs dropping). We show statistics and parameter estimates from both the full models and final reduced models (as recommended by Forstmeier & Schielzeth<sup>58</sup>). One case of direct laying (location inside) was omitted due to missing nest box design data.

| Response variable       | N  | Model | Parameter    | Estimate      | SE           | $\chi^2$     | p-value      |
|-------------------------|----|-------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| Laying location         | 62 | Full  | Intercept    | -1.405        | 0.364        |              |              |
|                         |    |       | LayingDate   | 0.015         | 0.046        | 0.108        | 0.743        |
|                         |    |       | EntranceDiam | <b>1.822</b>  | <b>0.811</b> | <b>5.512</b> | <b>0.019</b> |
|                         |    |       | BoxArea      | <b>-0.079</b> | <b>0.036</b> | <b>5.572</b> | <b>0.018</b> |
|                         |    | Final | Intercept    | -1.405        | 0.364        |              |              |
|                         |    |       | EntranceDiam | <b>1.935</b>  | <b>0.740</b> | <b>7.422</b> | <b>0.006</b> |
|                         |    |       | BoxArea      | <b>-0.079</b> | <b>0.036</b> | <b>5.485</b> | <b>0.019</b> |
|                         |    |       |              |               |              |              |              |
| Laying mode at entrance | 47 | Full  | Intercept    | -0.703        | 0.345        |              |              |
|                         |    |       | LayingDate   | -0.069        | 0.046        | 2.404        | 0.121        |
|                         |    |       | EntranceDiam | -1.304        | 1.174        | 1.429        | 0.232        |
|                         |    |       | BoxArea      | -0.029        | 0.033        | 0.825        | 0.364        |
|                         |    | Final | Intercept    | -0.639        | 0.324        |              |              |
|                         |    |       | LayingDate   | <b>-0.085</b> | <b>0.044</b> | <b>4.089</b> | <b>0.043</b> |
|                         |    |       |              |               |              |              |              |
|                         |    |       |              |               |              |              |              |

**Supplementary Table 2** Effects of nest box characteristics, laying date, cuckoo laying mode and presence of camera or host on cuckoo laying success (cuckoo egg inside vs outside nest cup). We calculated cuckoo laying success separately for (i) all data and (ii) only for video recorded cuckoo layings from nest box entrance. We show statistics and

parameter estimates from both the full models and final reduced models (as recommended by Forstmeier & Schielzeth<sup>58</sup>).

| Response variable   | N            | Model         | Parameter     | Estimate      | SE            | $\chi^2$         | p-value      |
|---|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------------------|--------------|
| Laying success<br>(all data)                                    | 330          | Full          | Intercept     | -0.880        | 0.142         |                  |              |
|   |              |               | Camera_yes    | 0.367         | 0.292         | 1.557            | 0.212        |
|   |              |               | LayingDate    | -0.002        | 0.012         | 0.040            | 0.842        |
|   |              |               | EntranceDiam  | <b>1.010</b>  | <b>0.336</b>  | <b>9.073</b>     | <b>0.003</b> |
|   |              |               | BoxArea       | <b>-0.018</b> | <b>0.006</b>  | <b>7.841</b>     | <b>0.005</b> |
|   |              | Final         | Intercept     | -0.795        | 0.122         |                  |              |
|   |              | EntranceDiam  | <b>1.073</b>  | <b>0.321</b>  | <b>11.270</b> | <b>&lt;0.001</b> |              |
|   |              | BoxArea       | <b>-0.017</b> | <b>0.006</b>  | <b>7.607</b>  | <b>0.006</b>     |              |
| Laying success,<br>(only video<br>recorded entrance<br>layings) | 47           | Full          | Intercept     | -2.523        | 0.726         |                  |              |
|   |              |               | Mode_project  | <b>2.650</b>  | <b>0.942</b>  | <b>10.404</b>    | <b>0.001</b> |
|   |              |               | LayingDate    | 0.032         | 0.059         | 0.292            | 0.589        |
|   |              |               | EntranceDiam  | 0.185         | 1.185         | 0.024            | 0.877        |
|   |              |               | BoxArea       | 0.030         | 0.040         | 0.578            | 0.447        |
|   |              | HostP_present | 1.482         | 1.270         | 1.336         | 0.248            |              |
|   |              | Final         | Intercept     | -2.197        | 0.609         |                  |              |
|   | Mode_project | <b>2.315</b>  | <b>0.779</b>  | <b>10.389</b> | <b>0.001</b>  |                  |              |

**Supplementary Table 3** Model statistics of the full and final models in the analyses of restart nest desertion rates.

| Response variable                           | N            | Model                 | Parameter                   | Estimate     | SE            | $\chi^2$     | p-value      |
|---|--------------|-----------------------|-----------------------------|--------------|---------------|--------------|--------------|
| Nest Desertion,<br>incl. trapped<br>cuckoos | 63           | Full                  | Intercept                   | -4.003       | 1.301         |              |              |
|   |              |                       | HostP_present               | 1.310        | 1.387         | 0.901        | 0.343        |
|   |              |                       | VisitDuration               | <0.001       | 0.001         | 0.538        | 0.463        |
|   |              |                       | LayingLocation_inside       | <b>2.957</b> | <b>1.338</b>  | <b>6.526</b> | <b>0.011</b> |
|   |              |                       | HostClutchSize              | 0.442        | 0.340         | 1.773        | 0.183        |
|   |              |                       | HostLayingDate              | 0.029        | 0.072         | 0.172        | 0.679        |
|   |              |                       | HostLayingDate <sup>2</sup> | -0.008       | 0.011         | 0.545        | 0.460        |
|   |              | Final                 | Intercept                   | -4.156       | 1.118         |              |              |
|   |              | LayingLocation_inside | <b>3.331</b>                | <b>1.233</b> | <b>10.968</b> | <b>0.001</b> |              |
|   |              |                       | HostClutchSize              | 0.470        | 0.323         | 2.237        | 0.135        |
| Nest Desertion,<br>excl. trapped<br>cuckoos | 56           | Full                  | Intercept                   | -4.513       | 1.517         |              |              |
|   |              |                       | HostP_present               | 1.144        | 1.303         | 0.781        | 0.377        |
|   |              |                       | VisitDuration               | -0.014       | 0.023         | 0.466        | 0.495        |
|   |              |                       | LayingLocation_inside       | <b>2.677</b> | <b>1.392</b>  | <b>4.471</b> | <b>0.035</b> |
|   |              |                       | HostClutchSize              | 0.339        | 0.369         | 0.884        | 0.347        |
|   |              |                       | HostLayingDate              | 0.012        | 0.080         | 0.024        | 0.877        |
|   |              |                       | HostLayingDate <sup>2</sup> | -0.001       | 0.011         | 0.003        | 0.958        |
|   |              | Final                 | Intercept                   | -3.738       | 1.012         |              |              |
| LayingLocation_inside                       | <b>2.534</b> | <b>1.207</b>          | <b>5.275</b>                | <b>0.022</b> |               |              |              |

## Supplementary Discussion

We present the first direct evidence for a projecting laying mode, which was never before reported in any Amniote species. Common cuckoos used projecting and dropping laying modes to access host nests in cavity nest sites. The only evidence for alternative modes was speculative and circumstantial (inferred from the nest design), but these ideas were compatible with alternative explanations (Introduction). Whether cuckoos lay directly or bring their eggs by beak, or in the gullet, or project or drop them with protrusible cloaca was a subject of heated debates among naturalists for centuries<sup>3,5,6</sup>. All previous studies that video-recorded cuckoo laying<sup>11,12,14,16</sup> concurred that common cuckoos lay directly into host nest cups, but all three studies examined parasitism of open-cup nesting host species and therefore, by design, omitted the chance of recording the projecting and dropping modes. In contrast, our study provides the first clear evidence that cavity-nesting hosts, such as redstarts, force cuckoos to adopt alternative egg-deposition modes.

In the 1920's E. Chance made a bet with another giant of brood parasitism research S. Baker that “it will eventually be found and proved that all cuckoos deposit their eggs direct from the oviduct into nests of their dupes”<sup>56</sup>. Now, a century later our data suggest that E. Chance won the bet. Contrary to claims in historical literature (Introduction), we found no evidence for beaking, regurgitation or fluttering even though at least some of these laying modes would increase cuckoo fitness: in our study populations 68% cuckoo eggs were mislaid outside nest cups or even nest boxes ( $n = 358$ ). Beak or regurgitation deposition should be feasible for cuckoos because the direct distance from the bottom of the entrance hole to the closest part of the nest cup was  $10.9 \pm 0.2$  cm (mean  $\pm$  SE; only parasitized nests in 2013–2016:  $n = 227$ ) and cuckoo females have an average body length of 33 cm<sup>59</sup>. Indeed, our videos provided direct evidence that cuckoo females are able to reach the nest cup with their beak while sitting in the nest entrance ( $n = 10$ , distance: mean  $\pm$  SE =  $9.9 \pm 0.7$  cm; Supplementary Video 8).

The redstart is a host that does not recognize cuckoo eggs or the odd-looking cuckoo chicks<sup>7-9,23,27</sup>. Nevertheless, cavity-nesting by redstarts poses a severe obstacle for the cuckoo and the majority of parasitism attempts fail, mainly due to low laying success<sup>7-9</sup> or cohabitation between redstart and cuckoo chicks<sup>7-9,23</sup>. The three laying modes clearly differed in laying success: direct laying provided highest laying success (94%), while projecting (53%) was clearly more successful than dropping (10%).

Comparing between study areas, we noticed higher laying success in Utula (53%,  $n = 40$ ) than in Oulu (26%,  $n = 23$ ; Fisher's exact test  $p = 0.037$ ,  $n = 63$ ). This was confirmed by the overall laying success difference (i.e., non-recorded cases included; see Methods) between both sites (Utula: 43%,  $n = 122$ ; Oulu: 26%,  $n = 236$ ; Fisher's exact test,  $p = 0.0006$ ,  $n = 358$ ). Due to similar proportions of projecting (Utula: 23%,  $n = 40$ ; Oulu: 35%,  $n = 23$ ; Fisher's exact test  $p = 0.222$ ,  $n = 63$ ) and dropping (Utula: 40%,  $n = 40$ ; Oulu: 61%,  $n = 23$ ; Fisher's exact test  $p = 0.091$ ,  $n = 63$ ) and similar laying success of projecting (Utula: 56%,  $n = 9$ ; Oulu: 50%,  $n = 8$ ; Fisher's exact test  $p = 0.601$ ,  $n = 17$ ) and dropping (Utula: 13%,  $n = 16$ ; Oulu: 7%,  $n = 14$ ; Fisher's exact test  $p = 0.552$ ,  $n = 30$ ) at both sites, such discrepancy could be attributable to the fact that direct laying (i.e., the most successful mode, see above) was recorded mostly in Utula (94%,  $n = 16$ ).

We did not find any obvious reason for this, because nest box design or camera presence did not limit the cuckoo laying mode or laying success (see Supplementary Results). In addition, long-term overall laying success data (i.e., non-recorded cases included; see Methods) from Utula ( $n = 213$  layings from 11 breeding seasons: 2006–2016) showed that 36% eggs were laid in the nest cup, 54% on the nest rim, 5% were dumped on incomplete nests and 5% were mislaid outside the box and found on the ground<sup>9</sup>. Thus, 64% of laid cuckoo eggs were doomed. In contrast, in Oulu ( $n = 268$  from nine breeding seasons: 2002, 2003, 2005, 2011–2016), only 27% of eggs were laid in the nest cup (Fisher's exact test,  $p = 0.024$ ) and the rest were doomed in the same ways (65%, 4%, 4% respectively) as in Utula<sup>8</sup>. Therefore, the overall long-term laying success data between both sites likely confirmed differences in cuckoo laying behaviour (i.e., the extent of direct laying use) and thus also suggested differences in co-evolutionary or environmental pressures between both populations. This needs to be further tested.

Cuckoos using direct laying often struggled to move inside the cavity which resulted in failed egg removal attempts (see second and third parts of Supplementary Video 9; Extended Data Table 2) and even in getting trapped inside the cavity for prolonged periods. Also cuckoos laying by dropping risked falling into the cavity and getting trapped, whereas the projecting females did not. As a result, the overall visit durations were longest in direct laying and shortest in projecting. This suggests that both laying locations have their pros and cons. Entrance laying reduces risks of being trapped in the box for prolonged periods but at the costs of decreased laying success (especially due to dropping and sometimes due to projecting). In contrast, entering the nest box shortened latency to lay and increased laying success but at the cost of sometimes

prolonged stay inside the nest box. These trade-offs fundamentally shape different fitness pay-offs of these alternative strategies.

Longer visit duration increased the probability of hosts observing the laying cuckoo at the nest which has been shown to increase egg rejection/nest desertion by hosts<sup>16,24</sup>. The risk of detection by hosts is also thought to be the selective force behind the evolution of very quick egg laying by the parasitic cuckoos; claimed to be the fastest laying birds (<10 seconds)<sup>1,60</sup>. Moksnes et al.<sup>16</sup> however reported that cuckoo laying in reed warblers' (*Acrocephalus scirpaceus*) nests took four times longer (total visit duration, mean = 41 seconds). Remarkably, redstart cuckoos even spent substantially longer time at host nests (mean = 212 seconds, n = 63 laying events).

Hosts were certainly present during ten of 63 (16%) cuckoo laying events (two projecting, two dropping and six direct layings; from these only two direct layings were prolonged; Extended Data Table 2; Supplementary Videos 3, 4, 6, 8). Redstarts visibly mobbed the cuckoo at four nests (Supplementary Video 8) and their presence was confirmed acoustically at another four nests (Supplementary Videos 4, 6). In one case the cuckoo successfully projected the egg directly into the nest cup, even though the redstart female was sitting on it (Supplementary Video 3; the nest was not deserted), and in another similar case the cuckoo entered the nest box, even though the redstart female was sitting on the nest cup, frightened her away and laid directly in to the nest cup (nest was deserted after 14 hours).

The duration of cuckoo visits when a host individual was present (see Methods; Supplementary Videos 3, 4, 8) during laying (n = 10), was  $38.5 \pm 1470.6$  (median  $\pm$  SD) seconds compared to  $50.0 \pm 242.8$  seconds when no host individuals were present (n = 53; Mann–Whitney U-test;  $U_{10,53} = 219$ ,  $p = 0.40$ ; Extended Data Table 2). The longer, but statistically non-significantly, visits in host presence could be explained by a higher probability of nest visit by hosts during the prolonged stays of cuckoos. Indeed, after excluding the events when cuckoos were trapped inside nest boxes, the visit duration of laying cuckoos was shorter when a host was present (median  $\pm$  SD =  $33.5 \pm 20.6$  seconds, n = 8) than absent ( $46.0 \pm 51.9$ , n = 48; Welch's  $t_{25,45} = -3.11$ ,  $p = 0.005$ ; Extended Data Table 2). This could be explained by mobbing behaviour and alarm calling of redstarts, which forced cuckoos to shorten prospecting part of laying visits and accelerated entire activity, as was documented on other cuckoo-host systems<sup>11,16</sup>, irrespective of used laying mode (see Supplementary Videos 4, 6, 8).

Nevertheless, seeing the cuckoo inside the nest is likely a stronger stimulus for host nest desertion decision than entrance egg-deposition (Supplementary Table 3). Cuckoo visit duration had a non-significant tendency to be higher when laying inside the nest box (median  $\pm$  SD = 73.5  $\pm$  1171.9 seconds) compared to laying from the entrance (46.0  $\pm$  255.3; Mann-Whitney U-test;  $U_{16,47} = 305.5$ ,  $p = 0.27$ ; Extended Data Table 2). Contrary, after excluding the events when cuckoos were trapped inside nest boxes, the visit duration of laying cuckoos had non-significant tendency to be shorter when laying inside the nest box (median  $\pm$  SD = 40.0  $\pm$  50.8 seconds,  $n = 13$ ) compared to laying from the entrance (45.0  $\pm$  50.2,  $n = 43$ ; Welch's  $t_{19,63} = -0.45$ ,  $p = 0.66$ ; Extended Data Table 2). Therefore the risk of getting stuck inside the cavity underlines direct laying as the less suitable mode for the nest desertion avoidance and contrary projecting as the most advanced counter-adaptation. Projecting with its less invasive approach the best mimics the harmless nest prospecting behaviour (see Supplementary Video 3) which is common in great tits (*Parus major*) or in pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*) in our study sites (own observations).

Once the laying was initiated, a host presence did not affect cuckoo female egg-deposition mode (e.g., see Supplementary Video 4). However, the overall egg-deposition success of 80% ( $n = 10$  laying events) when hosts were present significantly differed from 36% ( $n = 53$ ) when hosts were absent (Fisher's exact test,  $p = 0.012$ ). This corresponded to the fact that six of ten laying events in host presence were done by more time demanding, but in this case 100% successful direct layings.

Redstarts do not harm cuckoos physically; from this perspective there is a little selection on cuckoos to lay faster. Nevertheless, the redstart is a host species that fails to recognize cuckoo eggs<sup>7-9,23,27</sup>, and therefore may rely on cuckoo presence at the nest to make decisions about nest desertion<sup>8,9</sup>. Our study supports this hypothesis, because redstarts deserted three nests out of ten video recorded cases within the day after host-cuckoo interaction whereas only three nests out of 53 were deserted within the day after cuckoo laying without host presence. Further, we observed no overlap in laying times (daytime hour) between redstarts and cuckoos and most cuckoos laid during the late afternoon (Extended Data Fig. 3). Therefore, our results supported cuckoos' secretive egg-laying behaviour hypothesis<sup>11,16,24</sup>.

Nevertheless, we noticed significantly earlier laying times in Utula (61°24'N, 28°37'E; median = 17:50 [hours:minutes], range = 10:17–20:35,  $n = 40$ ) compared to Oulu (65°N, 25°50'E; median = 18:41, range = 14:43–22:45,  $n = 23$ ; Welch's  $t_{49.0} = 2.35$ ,



$p = 0.02$ ). Such discrepancy could be caused by different latitudes and thus by difference in sunset at both sites, which are ca. 400 km apart (see Methods). However, Utula and Oulu laying times seems to be similar to those noticed by Moksnes et al.<sup>16</sup> in reed warblers' nests (median = 18:09, range = 14:39–20:00,  $n = 14$ ) in Czech Republic (48°47'N, 16°49'E). In contrast, Andou et al.<sup>11</sup> documented earlier laying times for cuckoo parasitism in azure-winged magpies' (*Cyanopica cyana*; median = 17:13, range = 12:51–18:55,  $n = 48$ ) and great reed warblers' (*Acrocephalus arundinaceus*; median = 16:11, range = 11:58–18:22,  $n = 8$ ) nests in Japan (36°38'N, 138°16'E) and suggested variation in defence intensity of different host species as the main reason for such difference in cuckoo laying times. Nevertheless, we studied only one host species and the latitudinal differences between both our sites are negligible in comparison with studies mentioned above<sup>11,16</sup>. Therefore, the laying times discrepancy is likely caused by another population specific reason, which remains to be tested.

Further, we noticed and most likely first recorded a strange “rattling” call in cuckoos when they were disturbed (see Supplementary Video 4) or mobbed (see Supplementary Video 8) by redstarts while laying in nest boxes. Further we recorded longer versions of this call (see Supplementary Video 6) when the cuckoo females flew out from the parasitized nests immediately after two droppings (one successful) and six direct layings (all successful). This call was apparently different from “mewing”<sup>4,5</sup> or “bubbling”<sup>2,4,5,10</sup> calls which has been previously described in literature.

The mewing call by a cuckoo female has been recorded when she is watching prospective host nests or prior to laying in host presence<sup>4,5</sup>. The bubbling call has been mainly explained as a tool for males' attraction, but it has also been documented after egg-robbery and egg-laying, or even on migration in Africa<sup>2,4,5,10</sup>. Chance<sup>4</sup> stated that: “bubbling call immediately after egg-laying could be explained as a jubilation of well and truly performed action, just as the domestic hen cackles after laying”. Contrary, Davis<sup>10</sup> explained the triumphant bubbling call after laying as a message to the cuckoo males about female's laying success and thus likely about the quality of her genes. Recently, York and Davies<sup>61</sup> stated this conspicuous call as hawk-like “chuckle” that may aim to increase the success of parasitism by diverting host parents attention away from the clutch and towards their own safety and results in lower rejection probability of a foreign egg.

The much quieter rattling call which we recorded seems to be in all cases the “wah-wah” call, which has been already described by Chance<sup>4</sup> and Wyllie<sup>5</sup> in stressful situations for both cuckoo sexes. However, we first documented this vocal expression as a

triumphant cuckoo call after egg-deposition (see Supplementary Video 8), which could also manifest physical release after escape from cavity hardships. Finally, the absolute cuckoo silence (i.e., secretive behaviour) during all our projecting records and the use of the much quieter wah-wah than bubbling call in overall two of 30 droppings and six of 17 direct laying records exactly followed the ratio of prolonged stay risk among the egg-deposition modes. This underlines projecting as the most suitable mode for the nest desertion avoidance.

We observed frequencies of direct laying (25% of laying events) and projecting (27%) which were consistent with the relative fitness prospects. Direct laying in addition provided cuckoos as the only mode the significant opportunity for reduction of host clutches, which could help cuckoo offspring to hatch and survive<sup>16</sup>. In few studied host species the cuckoo removed or ate on average 1.5 host eggs per laying<sup>4,5,16,24</sup> (but see Wang et al.<sup>12</sup>). Contrary, only one fifth of cuckoos removed a host egg in our study populations and always only one egg per laying (see Supplementary Videos 8, 9). This correlated with the occurrence of different laying modes, because no cuckoo removed host egg(s) when laying by projecting or dropping. However, the least invasive and for cuckoo safest egg projecting technique in sense of the risk of getting stuck (obvious from Supplementary Videos 1–3, 6, 8, 9), could provide wider range of host cavity nests accessible<sup>34</sup> (see also Methods) than other two modes.

Nevertheless, the high prevalence (48%) of the least successful (10%) and thus the least fitness enhancing dropping mode is surprising. Thus, the relative frequencies of laying modes may reflect an ongoing evolutionary change. Alternatively, taking into account the possible effect of experiences gained during the individual cuckoo life, dropping may be used mainly by young inexperienced females. These females could normally use the most effective direct laying mode in case of more accessible nests (e.g., natural ground cavities; see Methods), but they are discouraged from entering the nest boxes by their narrow and mostly deep inner space (Methods). Therefore, the recorded direct laying events could be used by cuckoos with more experiences with our nest boxes or with similarly narrow cavities in general. Contrary, the projecting mode seems to represent specific adaptation for laying into the narrower and deeper cavities (e.g., tree holes) which are unreachable by both direct laying and dropping (this hypothesis remains to be tested). Thus projecting could be the next step in the evolutionary trajectory of cuckoo laying modes that further exceeds the fitness benefits of some cuckoos.

Ellison et al.<sup>17</sup> recently video-recorded 39 egg-laying events from elevated position (similar to dropping, but not to projecting) in two cowbirds species (i.e., *Molothrus ater* and *M. bonariensis*), which rapidly (5–10 s) dropped their eggs in 36 cases into three open-cup nesting hosts' nests and in three cases to cavity-nesting house wrens' (*Troglodytes aedon*) nests from height of 4–8 cm. Similarly to our study, they also used nest boxes in case of cavity-nesting host, but cowbirds dropped their eggs only after entering inside nest boxes and while standing on the nest rim or even in the nest cup. Also the body posture of cowbirds and cuckoos differed while dropping the eggs, but this could be caused by different anatomy of both species (e.g., see very similar posture to our dropping in cuckoo laying directly into reed warblers' nest<sup>62</sup>).

Ellison et al.<sup>17</sup> proposed that dropping position selected for high eggshell strength in cowbirds and thus for reduction of competition with host nestling by damaging of their eggs during laying. However, they provided plausible information only about one cracked host egg<sup>17</sup>. Similarly, Liversidge<sup>50</sup> described that Jacobin cuckoo (*Clamator jacobinus*) often laid their eggs by dropping into cape bulbul (*Pycnonotus capensis*) open-cup nests and Krüger<sup>52</sup> further noticed that the Jacobin cuckoo egg damaged one bulbul egg in 50% of laying events. Krüger<sup>52</sup> suggested this egg-deposition behaviour as often the only way to lay despite the fierce aggression of bulbuls against Jacobin cuckoos. Soler and Martínez<sup>63</sup> estimated that great spotted cuckoos (*Clamator glandarius*) also deposited their eggs in approximately 50% of cases by dropping from a nest rim to magpie (*Pica pica*) nests and in this way always damaged at least one host egg. This was refuted 14 years later by a video recording, which proved that great spotted cuckoos always lay directly while sitting in the nests and magpie eggs are damaged by cuckoo pottering (i.e., mix up and jostle) and pecking behaviour<sup>21</sup>. Such a finding supports video recording as the only reliable method for identifying the laying modes (see the main text). However, already Soler and Martínez<sup>63</sup> concluded thick shell of cuckoo egg and its ability to crack host eggs during dropping as adaptation to rapid cuckoo laying, which was probably forced by much stronger selection of the host detection avoidance<sup>24,64,65</sup>. Rapid laying is more likely adaptive because it at least reduces the chance of host attacks<sup>65</sup> (which can be fatal for the parasite laying female<sup>66,67</sup>), the possibility of attracting predators<sup>5,65</sup> and the likelihood of parasitic-egg rejection<sup>24,65</sup>.

In our study, the average height of all measured droppings was 10.6 cm (range = 4.0–15.5 cm, n = 24) above the nest rim level and average nest cup depth in these nests was additional 4.4 cm (n = 20). Therefore, the cavity-nesting of redstarts forced cuckoos

to drop eggs from the highest positions of all parasite-host systems studied so far (see above). In addition, only three of 30 droppings successfully targeted nest cups and thus hit the host eggs (Supplementary Video 6). Despite the average vertical distance of 9.5 cm ( $n = 2$ ; we have no measurements for one of the nests) from the nest entrance to the nest rim and the average nest cup depth of 4.8 cm ( $n = 2$ ) none of the three cuckoo eggs, nor the host eggs (mean = 2.3 eggs,  $n = 3$ ), cracked during these three droppings. Therefore, the cavity-nesting of redstarts, besides reducing the laying success and increasing the probability of nest desertion (see above), also prevents host egg-damaging<sup>17</sup> and thus contradicts both previously hypothesized benefits of dropping behaviour for parasites, i.e., the reduction of nestling competition and enhancement of hatching success<sup>63</sup>. Contrary, the resistance of host eggs in our successful dropping events could suggest another co-evolutionary arms race at level of the eggshell thickness between redstarts and cuckoos, but this needs to be further tested.

Only one cuckoo egg in one nest (height over nest rim = 8.0 cm; no data for nest cup depth which, however, is not highly variable; host clutch size = 2 eggs) and two host eggs in another nest (height over nest rim = 9.0 cm; nest cup depth = 4.5 cm; host clutch size = 3 eggs; Supplementary Video 2) cracked during successful projecting events. The cuckoo egg was most likely cracked when it hit the back nest box wall due to large amount of kinetic energy produced by the projecting event (deduced from video). On the contrary, when the other projected cuckoo egg fell directly onto the two host eggs, their damaging was probably inevitable (see Supplementary Video 2). In the remaining seven successful projectings was the kinetic energy reduced by cuckoo egg first impact on the nest rim. The average height of all measured projectings was 9.0 cm (range = 6.0–13.0 cm,  $n = 15$ ) above the nest rim level and average nest cup depth in these nests was other 4.5 cm ( $n = 13$ ). Thus, placement of redstart nest cups within the cavities in relation to the cavity entrance could affect both laying success and host egg-damaging<sup>17,63</sup>, but both these predictions need to be further tested.

Baker<sup>3</sup> described the findings of cuckoo (*Cuculus canorus bakeri*) eggs even in very extreme cavities (e.g., Baker<sup>3</sup> pp. 31: 5.0 cm wide horizontal tunnel with distance from entrance to nest cup of 23 cm and cavity entrance diameter of 3.81 cm) of pied bushchat (*Saxicola caprata burmanicus*) host<sup>53</sup>. In such conditions, even the hypothetical beaking mode would be challenging. Despite this and based on his own observations, Baker<sup>3</sup> inclined to the projecting mode use by cuckoo in these cases. However, the smallest cavity entrance for the cuckoo chick to fledged from is known to be 5.0 cm<sup>7,33</sup>

(see also Methods). Thus laying into any smaller entrances cannot result in any viable parasite progeny. This could partly explain an alternate leaned in and bow out movements of our video-recorded cuckoos prior all the laying events as if the females were testing whether the entrances were large enough for their offspring to fledge.

From video recordings and based on indirect methods (see Methods), we obtained no indications that one cuckoo female used different laying modes in time or in different designed nest boxes. One cuckoo female (identified by distinctive plumage and behavioural traits) used exactly the same direct laying mode three times during one year (Supplementary Video 9), suggesting a fixed individual laying strategy. In addition, we recorded at least two different females (identified by plumage traits and timing of laying) using different laying modes in the same nest box and year in four cases (see Fig. 2). These data clearly confirm that nest box design did not bias our estimates of laying modes and parameters. Confirming whether cuckoo laying mode reflects behavioural plasticity, experience and/or genetic inheritance remains to be tested. The future studies on this topic should therefore focus on better identification of individual cuckoo females, for example by analyzing the nuclear and mitochondrial DNA of cuckoo chicks (e.g., see Skjelseth et al.<sup>68</sup>, Fossøy et al.<sup>69</sup>) hatched from the eggs laid across particular recorded egg-deposition modes.

In contrast to prevalent beliefs in older literature (see Extended Data Table 1), our data do not provide any support for the other hypothesized alternative egg-deposition modes. Therefore, especially the most popular beaking mode remains confirmed so far only in one species, the conspecific brood parasite cliff swallow (*Petrochelidon pyrrhonota*)<sup>2,70</sup>.

## References

57. Zuur, A. F., Ieno, E. N. & Elphick, C. S. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods Ecol. Evol.* **1**, 3–14 (2010).
58. Forstmeier, W. & Schielzeth, H. Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner's curse. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **65**, 47–55 (2011).
59. Erritzøe, J., Mann, C. F., Brammer, F. P. & Fuller, R. A. *Cuckoos of the world* (Bloomsbury, London, 2012).

60. Davies, N. B. *Cuckoo. Cheating by nature* (Bloomsbury, London, 2015).
61. York, J. E. & Davies, N. B. Female cuckoo calls misdirect host defences towards the wrong enemy. *Nat. Ecol. Evol.* **1**, 1520–1525 (2017).
62. Nature of the cuckoo duck - David Attenborough - BBC wildlife (2007).  
<https://www.youtube.com/watch?v=4Mb0GOITRUU>
63. Soler, M. & Martínez, J. G. (2000). Is egg-damaging behavior by great spotted cuckoos an accident or an adaptation? *Behav. Ecol.* **11**, 495–501 (2000).
64. Scott, D. M. The time of day of egg laying by the Brown-headed Cowbird and other icterines. *Can. J. Zool.* **69**, 2093–2099 (1991).
65. Sealy, S. G., Neudorf, D. L. & Hill, D. P. Rapid laying by brown-headed cowbirds *Molothrus ater* and other parasitic birds. *Ibis* **137**, 76–84 (1995).
66. Trnka, A. & Grim, T. Color plumage polymorphism and predator mimicry in brood parasites. *Front. Zool.* **10**, 25. (2013).
67. Šulc, M., Štětková, G., Procházka, P., Požgayová, M., Sosnovcová, K., Studecký, J. & Honza, M. Caught on camera: circumstantial evidence for fatal mobbing of an avian brood parasite by a host. *J. Vertebr. Biol.* **69**, 1–6. (2020).
68. Skjelseth S. (eds.). Parentage and host preference in the Common Cuckoo *Cuculus canorus*. *J. Avian Biol.* **35**, 21–24 (2004).
69. Fossøy, F. (eds.). Genetic differentiation among sympatric cuckoo host races: males matter. *Proc. R. Soc. B* **278**, 1639–1645 (2011).
70. Brown, C. R. & Brown, M. B. A new form of reproductive parasitism in cliff swallows. *Nature* **331**, 66–68 (1988).

### Supplementary Video Legends

**Supplementary Video 1:** This video shows a cuckoo laying while perched at the nest box entrance with its body bowed out from the nest box (i.e., *projecting*). The projected egg firstly fell onto the nest rim and subsequently rolled inside the redstart's nest cup (i.e., *successful egg-deposition*). The real activity duration of the cuckoo was shortened by 14 seconds; we removed the prospecting part. Neither the cuckoo nor host eggs were damage and all the eggs hatched and the cuckoo fledged. In addition to three redstart eggs in the nest cup, an additional redstart egg can be seen near the front wall of the nest box; this

host egg was dropped by a previous cuckoo female that laid inside this nest by direct laying and tried to remove this host egg unsuccessfully.

**Supplementary Video 2:** This video shows a cuckoo laying while perched at the nest box entrance with its body bowed out of the nest box (i.e., *projecting*). The projected egg fell directly onto the host clutch from the height of 12 centimetres (i.e., *successful egg-deposition*). The duration of the cuckoo activity was not shortened. Two host eggs cracked during this laying event (determined by a nest check), thus another cuckoo egg which was successfully dropped two days earlier by another cuckoo and one host egg remained undamaged. The redstart female later laid an additional three eggs. Both cuckoos hatched, evicted all redstart eggs and successfully fledged.

**Supplementary Video 3:** This video shows a cuckoo laying while perched at the nest box entrance with its body bowed out of the nest box (i.e., *projecting*). The projected egg firstly fell onto the nest rim and subsequently rolled into the nest cup (i.e., *successful egg-deposition*) despite the redstart female sitting on the nest cup and incubating seven redstart eggs. The duration of the cuckoo activity was not shortened. This nest was not deserted by the redstarts (despite female's presence during the cuckoo laying) and the redstart female laid one more egg.

**Supplementary Video 4:** This video shows a cuckoo laying while perched at the nest box entrance with its body bowed out of the nest box (i.e., *projecting*) in the presence of a host redstart outside the nest box. The redstart loudly alarm called and probably also physically attacked the cuckoo (based on the cuckoo reactions and especially vocal responses) while she was preparing to lay from entrance. The distracted cuckoo did not use its toes to properly direct its egg and did not keep its head inside the nest box until the end of laying and the egg thus ended outside the nest cup (i.e., *unsuccessful egg-deposition*). The real activity duration of the cuckoo was shortened by 14 seconds; we removed the prospecting part. This nest was not deserted by redstarts, despite their presence during cuckoo laying.

**Supplementary Video 5** This video shows the simultaneous laying event of a cuckoo while perched at the nest box entrance with its body bowed into the nest box (i.e., *dropping*), both from outside (trail camera) and inside (nest box camera). Cuckoo dropped the egg onto the nest rim a few centimetres from the front wall (i.e., *unsuccessful egg-deposition*). The cuckoo egg was not incubated by host and never hatched. The real

activity duration of the cuckoo was shortened by 15 seconds; we removed the prospecting part.

**Supplementary Video 6:** This video shows a cuckoo laying while perched at the nest box entrance with its body bowed into the nest box (i.e., *dropping*). Cuckoo dropped the egg from the height of 13 centimetres directly onto host clutch containing four redstart eggs and all eggs remained undamaged (i.e., *successful egg-deposition*). This is the second fastest laying activity (10 seconds) and second fastest latency to egg-laying (7 seconds) duration of all our recorded laying events (n = 63). The real activity duration of the cuckoo was not shortened. This nest was not deserted by redstarts, despite their presence at the end of the cuckoo laying. The cuckoo hatched, evicted all redstart nest mates and successfully fledged.

**Supplementary Video 7:** This video simultaneously shows a cuckoo laying while perched at the nest box entrance with its body bowed into the nest box (i.e., *dropping*), from outside (trail camera) and inside (nest box camera). Cuckoo dropped the egg outside the nest box (i.e., *mislaying*) due to incorrect posture. Based on her movements, the female laid at 13:27:05 and the egg fell on the ground where it was found by a researcher 3.5 hours later. Note that time given by trail camera had shifted timing by ca. 3 minutes (i.e., the correct timing is shown on the inside camera screen). The real activity duration of the cuckoo was shortened by one minute and 13 seconds and thus we edited the video in three places.

**Supplementary Video 8:** This video simultaneously shows a cuckoo laying while sat at the nest cup (i.e., *direct laying*) after she entered into the nest box, from outside (trail camera) and inside (nest box camera). The cuckoo was mobbed by the redstart female, but ignored its attacks, laid undisturbed into the nest cup (i.e., *successful direct laying*) and removed one redstart egg during laying (i.e., *accomplished egg removal*). The real activity duration of the cuckoo was shortened by eight seconds due to synchronizing of both records (outside and inside) and thus we edited the video in two places. This nest was not deserted by redstarts, despite their presence during the laying.

**Supplementary Video 9:** This video shows a cuckoo laying into three nearby nest boxes (ca. 300 metres apart each other) by the same laying procedure within five days in 2014. The female always plunged inside the nest cup after brief prospecting period at the nest box entrance, always immediately grasped one host egg, laid her egg inside the nest cup



(i.e., *successful direct laying*), several times moved from side to side and always turned around counter-clockwise. The cuckoo differed in its removal success of a redstart egg; in nest box H4 she carried the egg in her beak far from the nest box, in nest box H19 she dropped the egg from her beak just outside the nest box entrance and in nest box H50 she dropped the egg on the nest rim. Note that date and time given by camera from nest box H4 are incorrect (the correct laying date was 19.6.2014 and correct start time of cuckoo activity was 18:13:51). All three cuckoo activity durations were shortened by 12, 40 and 63 seconds, respectively.

**Supplementary Video 10:** This video shows a cuckoo laying while sat at the nest cup (i.e., *direct laying*) after she clumsily entered the nest box, but the egg ended on the nest rim (i.e., *unsuccessful direct laying*). The cuckoo did not try to remove any redstart egg, had difficulties to turn around in the nest box after egg-deposition and was stuck inside the nest box for two minutes and 30 seconds after egg-deposition. This was the only case of direct laying when cuckoo egg ended outside the nest cup. The real activity duration of the cuckoo was shortened by two minutes and 26 seconds and thus we edited the video at seven places.



## Příspěvek II

### Rearing a virulent common cuckoo is not extra costly for its only cavity-nesting host



14 dní stará kukačka (vpravo) sdílejší hnízdo se třemi třináctidenními rehčými mlád'aty (vybavenými transmitters) za dohledu kamery, pomocí níž jsme v tomto stádiu sledovali především intenzitu krmení a přesnou dobu opuštění hnízda jednotlivými mlád'aty. Rehčí mlád'ata byla vyvedena z hnízda ve věku 14 (dobrý letec – chybí měření), 15 (16,2 g) a 16 dní (16,5 g) a první z nich úspěšně dosáhlo osamostatnění na rodičích (u dalšího jsme ztratili signál transmitteru a třetí bylo predováno deset dní po vyvedení z hnízda). Kukačka vyskočila ve špatné kondici (66,6 g; viz oddíl 1.2) ve věku 21 dní a v den vyvedení z hnízda jsem ji našel uhynulou ve vzdálenosti sedmi metrů od hnízdní budky (foto: autor práce).

## Research



**Cite this article:** Samaš P, Rutila J, Honza M, Kysučan M, Grim T. 2018 Rearing a virulent common cuckoo is not extra costly for its only cavity-nesting host. *Proc. R. Soc. B* **285**: 20181710.  
<http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2018.1710>

Received: 30 July 2018

Accepted: 5 October 2018

**Subject Category:**

Behaviour

**Subject Areas:**

behaviour

**Keywords:**

brood parasitism, coevolution, costs

**Author for correspondence:**

Tomáš Grim

e-mail: [tg.cuckoo@gmail.com](mailto:tg.cuckoo@gmail.com)

Electronic supplementary material is available online at <https://dx.doi.org/10.6084/m9.figshare.c.4262567>.

# Rearing a virulent common cuckoo is not extra costly for its only cavity-nesting host

Peter Samaš<sup>1</sup>, Jarkko Rutila<sup>2</sup>, Marcel Honza<sup>1</sup>, Michal Kysučan<sup>3</sup>  
and Tomáš Grim<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Květná 8, 60365 Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>Näätäkarankatu 14 B 9, 53850 Lappeenranta, Finland

<sup>3</sup>Department of Zoology and Laboratory of Ornithology, Palacký University, 17 Listopadu 50, 77146 Olomouc, Czech Republic

MH, 0000-0002-4075-702X; TG, 0000-0002-5775-6269

Virulent brood parasites refrain from arduous parental care, often kill host progeny and inflict rearing costs upon their hosts. Quantifying the magnitude of such costs across the whole period of care (from incubation through to parasite fledgling independence) is essential for understanding the selection pressures on hosts to evolve antiparasitic defences. Despite the central importance of such costs for our understanding of coevolutionary dynamics, they have not yet been comprehensively quantified in any host of any avian brood parasite. We quantified parasite-rearing costs in common redstarts *Phoenicurus phoenicurus* raising either parasitic common cuckoo *Cuculus canorus* or their own chicks throughout the complete breeding cycle, and used multiple cost parameters for each breeding stage: incubation, brooding and feeding effort; length of parental/host care; parent/host body condition; and heterophil/lymphocyte ratio (stress-level indicator). Contrary to traditional assumptions, rearing the parasite *per se* was not associated with overall higher physiological or physical costs to hosts above the natural levels imposed by efforts to rear their own progeny. The low parasite-rearing costs imposed on hosts may, in part, explain the low levels of known host counter-defences in this unusually frequently parasitized cuckoo host.

## 1. Introduction

Avian brood parasites avoid parenthood by laying their eggs into foreign nests [1]. Hosts targeted by brood parasites suffer multiple kinds of costs. Some hosts of interspecific parasites lose some or all of their progeny, which are killed by laying parasite females [2], or directly killed [3], evicted [4] or outcompeted [5] by parasite offspring (hereafter: lost progeny cost). By contrast, *all* hosts of both interspecific [6] and conspecific [7] parasites misdirect their care to genetically unrelated individuals, leading to additional fitness losses. From the life-history perspective, there are two types of misdirected rearing costs. These include immediate costs such as the degree of care for the parasite increased above the natural care for their own offspring [8,9] and future costs such as the host's reduced potential to invest into the future reproduction [10], diminished host's survival [11] or decreased survival of the host's own fledged offspring [12]. Both theoretical models and empirical studies assume that these costs are substantial (supernormal) for hosts [1,13,14].

However, there is a lack of empirical studies quantifying immediate or future costs of being parasitized thus creating a gap between theory and evidence. For instance, in one of the otherwise most studied brood parasites, the common cuckoo *Cuculus canorus* (hereafter: cuckoo), only a few studies have quantified immediate [2,15–17] or future costs [18]. Furthermore, all studies quantified immediate costs incompletely—they focused only on a part of the breeding period (e.g. the nestling period), leaving the costs of other parts (e.g. the fledgling period) unquantified. Overall, it is crucial for theoretical

models to take into account quantitative estimates of *complete* immediate costs of parasitism to allow for realistic modelling and prediction of coevolutionary dynamics [19].

Here, we studied the costs of rearing the cuckoo for the common redstart *Phoenicurus phoenicurus* (hereafter: redstart), the only cavity-nesting host regularly parasitized by this brood parasite [16,20]. This host–parasite system shares some common characteristics with other cuckoo–host systems [1,2]. The egg colour of the cuckoo that primarily parasitizes redstarts (hereafter: redstart-cuckoo) is similar to that of its host (egg mimicry): [21], a cuckoo nestling is distinctly heavier (approx. six times) than a host nestling or adult [22] and cuckoo hatchlings evict host progeny [4], thus decreasing the host fitness approximately 8.4 times: this decrease is similar to other hosts [23]. This system also exhibits some unique features: redstart-cuckoos typically do *not* remove a host egg when laying [23], cavity nests impede successful eviction of the host's progeny and the cuckoo is sometimes forced to grow alongside redstarts (hereafter: mixed brood). Despite all the obstacles the cuckoo faces [24], the redstart-cuckoo–host system has persisted over two million years [25] and various redstart populations currently experience consistently high parasitism rates (approx. 30% in parasitized populations: [16]).

For the first time, we measured and quantified the immediate costs of raising a cuckoo across *all* developmental stages. However, we did not manage to quantify future costs (see Material and methods). For parasitized broods, we predicted longer incubation [26] and nestling periods [22], and lower success at hatching [27] and fledging for the host nestlings [16]. For the nestling stage, we formulated exact quantitative predictions according to allometric relationships among avian growth parameters and avian energetics (see Material and methods). We were unable to formulate any specific predictions for the fledgling stage, because neither of the two published studies about the cuckoo fledgling stage reported any data on host fledglings [2,28].

## 2. Material and methods

### (a) Study area and experimental procedures

Fieldwork was conducted at Ruokolahti (61°24' N, 28°37' E), Finland, May–August 2012–2016. We used 350 nest-boxes designed for redstarts [16]. During the laying and incubation stages, we checked nests daily to determine clutch size and parasitism status, and to estimate hatching dates by candling. The majority of cuckoo eggs (52 out of total  $n = 82$ ) were cross-fostered (see electronic supplementary material for justification and details).

### (b) Parental fitness

In 2012–2014, we sought to catch redstart adults twice in non-parasitized broods and three times in parasitized broods within a single breeding attempt (see figure 1 for sample sizes). We repeatedly caught both parental sexes at the same nest in 30 out of 64 nests and only one of the sexes in the remaining nests. Owing to a low occurrence of mixed broods ( $n = 8$ ), we successfully captured only one male and four females twice, and thus we could not estimate parental parameters for the mixed brood treatment. Out of 157 nestlings and 67 adults ringed in the first year of the study, only one adult returned to the study area in the next breeding season; this prevented us from quantifying future costs.

We caught most adults on hatching day (0 = hatching day of the first chick in the brood; median = 0, range 0–2 days) and for a second time on day 10 post-hatch (median = 10, range 10–12; own or cuckoo) or on day 18 post-hatch (median = 18, range 16–19; cuckoo only because redstarts fledged at 14 days old). If the first catching attempt was unsuccessful, we caught parents 1–2 days later. We set the timing of catching for the two comparative periods (10 and 18 days intervals) because we aimed to control for (i) temporal exposure (the same length of time) and (ii) comparison of the total cost of care per nestling period (i.e. when chicks reach their growth asymptote). We caught parents about 3 days before the expected fledging date to decrease the risk of missing earlier fledging broods.

Adults were primarily caught during the afternoon (median = 3 p.m., inter-quartile range = 5 h,  $n = 310$  catchings). We caught birds at the nest-box by a guillotine-type trap operated wirelessly from 10 to 80 m away or by mist-netting. The trap was made of metal with dimensions to fit inside the nest-box (fig. 2b in [16]). After the redstart entered the focal nest-box, we sent a wireless signal to trap and the plastic rectangle blocked the entrance hole. Immediately after we caught the bird, we processed it to avoid any spurious variation in measured parameters due to varying time since capture.

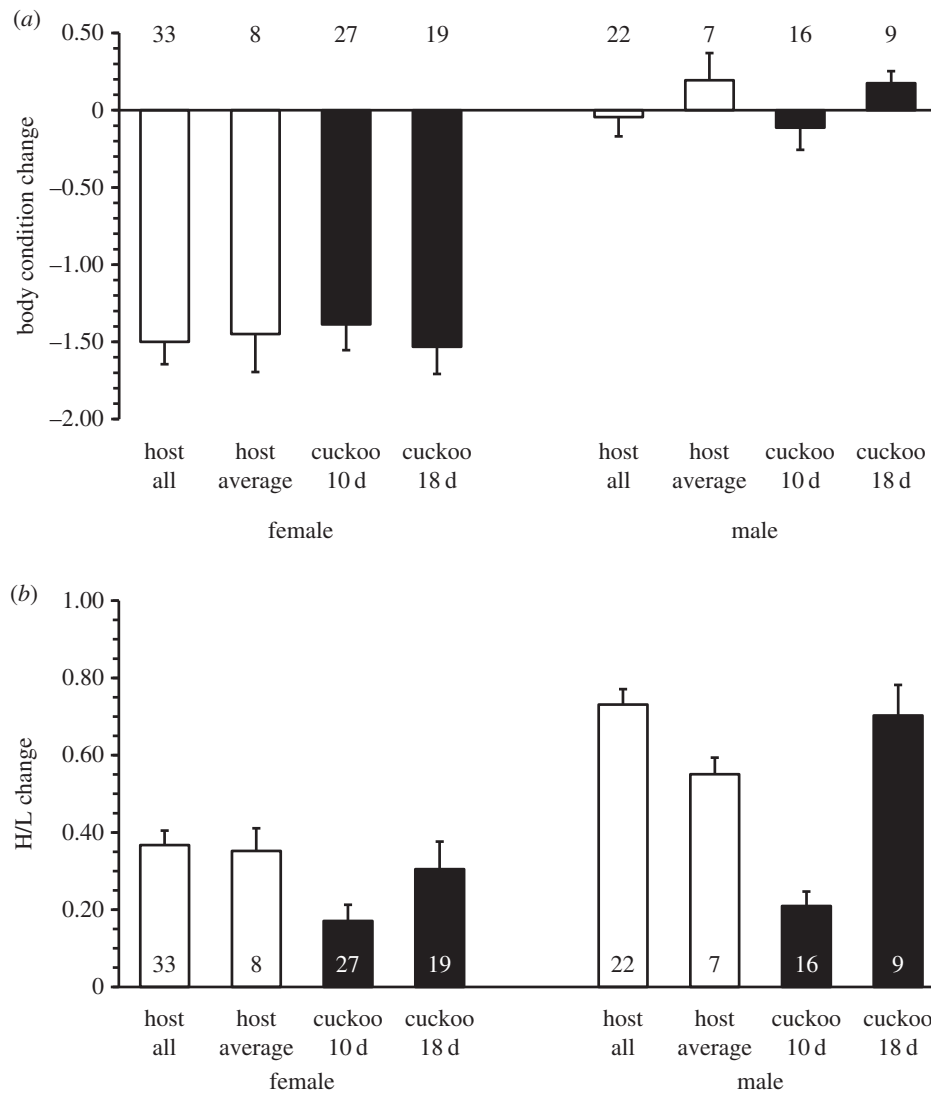
We banded the adult with a numbered aluminium ring, took a blood sample (see below) and measured its body mass (digital scale, precision 0.1 g) and tarsus length (digital calliper, precision 0.1 mm). To assess parental body condition, we used the scaled mass index based on body mass and tarsus length according to the study of Peig & Green [30]. To assess parental stress level, we used the heterophil-to-lymphocyte ratio (hereafter: H/L ratio) as a common physiological indicator of a prolonged stress (e.g. parental feeding effort), with a known positive relationship between the H/L ratio and stress [31]. We used a syringe to take 20  $\mu$ l of blood from the under-wing vein to make a blood smear within the first few minutes after capture. Two experienced researchers (referred to in the acknowledgements section) counted the number of heterophils and lymphocytes (to produce the H/L ratio) later in the laboratory. Repeatability of heterophil and lymphocyte counts between observers was high ( $r \sim 0.80$ ,  $n = 20$  smears).

### (c) Video-recording

We recorded host parental feeding effort and brooding effort using Panasonic HDC-HS80 camcorders on nests with 0–14-day-old redstart nestlings and 0–25-day-old cuckoo nestlings, covering the full length of the nestling period for both species. The camcorder was placed at the top of the nest-box attached to a wooden box extension (fig. 2b in [16]). To quantify feeding rates, we counted a 60 min feeding period 30 min after the recording began to allow for habituation of host parents to the camcorder. Brooding effort was quantified as the proportion of time spent brooding during the recording session. Each session started with the first nest visitation by parents and lasted 0.5–5 h (median = 2 h) until the end of recording. Because the length of brooding bouts varied greatly, we decided to record sequences for as long as possible, to get samples which would be more representative and less biased due to random events (e.g. self-feeding off-bout or disturbance by weather or forest animals). The length of recordings varied because some recordings were limited by inclement weather or for logistical reasons.

### (d) Chick growth

Each chick was individually marked on the hatching day with a non-toxic marker. Chicks were weighed (digital scale, precision 0.1 g), but where applicable (see below), it was always after the video-recording was finished. All chicks were measured every 2–3 days from hatching day throughout the nestling period.



**Figure 1.** Difference between the second and first catchings (raw mean  $\pm$  s.e., following [29]) in parental (a) body mass and (b) H/L ratio when raising their own redstart brood (white bars) in the first 10 days post-hatch and cuckoo nestling (black bars) in the first 10 days (cuckoo 10 d) and 18 days (cuckoo 18 d) post-hatch. 'Host all' includes all redstart broods while 'host average' includes only average broods with six nestlings. Sample sizes (number of broods) are given above (a) or within bars (b).

Redstart chicks were measured until the age of 10–14 days and cuckoo chicks until they fledged as handling does not trigger premature fledging [22,32].

To estimate the energy metabolized by each brood, daily metabolized energy (DME) was calculated according to the formula  $DME(kJ) = 5.86 \times \text{mass}^{0.81}$  ('mass' is a specific nestling's mass at the particular age [33]). For days without mass measurements, DME was estimated using mass predictions from a growth curve calculated from the available mass measurements (following [34]). We summed DMEs of all nestlings in each brood according to the exact number of days between captures of the particular parent. Hereafter, individual total metabolized energy (individual TME) refers to metabolized energy calculated for a particular brood reared by a particular host parent.

To formulate quantitative predictions, we quantified energy budgets (summed DMEs) per an average brood size (mean  $\pm$  s.d. =  $6.1 \pm 1.1$  redstart nestlings,  $n = 143$  broods in our study population) and specific nestling periods: (i) the same period for both cuckoos and redstarts (0–10 days post-hatch) and (ii) the period in which nestlings reach their growth asymptote (0–10 days in redstarts and 0–18 days in cuckoos). Specifically, in the first 10 days post-hatch, rearing the cuckoo was estimated to be on average 0.4 times less demanding than rearing an average redstart brood. Rearing nestlings to the stage where they reach the growth asymptote was estimated to be on average 1.1

times more demanding for hosts rearing the cuckoo compared to their own average brood. We applied these exact predictions on changes in adult body condition, H/L ratio and feeding effort. Specifically for feeding effort, we additionally predicted that rearing an average mixed brood (one cuckoo plus two redstart nestlings) should be 0.5 less and 1.2 more times demanding than rearing an average redstart brood in the first 10 days post-hatch and to the stage where they reach the growth asymptote, respectively (we did not manage to catch enough host parents to perform this comparison for adult body condition and H/L ratio). We also examined covariation among sex-specific host feeding frequencies, adult body condition changes and H/L ratio changes.

### (e) Radio-tracking

Radio-tracking started immediately after any of the nestlings fledged using a portable 4 MHz Sika receiver with a hand-held Lintec flexible three-element Yagi antenna (138 MHz) from Bio-track Ltd. A wing loop (figure-of-eight) backpack harness made of a cotton-nylon elastic string [35] was used to attach the transmitters to cuckoos (model PiP3 Ag393, 2.1 g) and redstarts (PicoPip Ag376, 0.7 g). Fledglings were radio-tracked daily until they started to fly and then followed at least every third day until independence or death (predation or starvation).

Fledglings reached independence if they stopped begging [36] and adults ceased feeding [37] and producing alarm calls towards the researcher or any other potential threat [28]. We visually confirmed the status for all independent fledglings.

To quantify feeding effort of parents during the post-fledging period, nestlings were located via radio-tracking and the feeding of fledglings by redstart parents was observed using binoculars from a hide (distance depended on the habitat structure). Feedings were typically recorded for 60 min (in 65% of cases, range 30–90 min) or until visual contact with the focal fledgling(s) was lost. Within each brood, some redstart fledglings were not followed due to disappearance for unknown reasons. For example, out of 159 fledglings, 28% lost signal (i.e. we did not receive any signal from the transmitter) and 35% lost transmitter (i.e. we found an undamaged transmitter without a fledgling suggesting that the fledgling lost the transmitter). Moreover, in mixed broods, one of the parents followed only the cuckoo while the other only the redstart(s) fledglings (brood division). This precluded the use of the treatments ‘redstart brood’, ‘mixed brood’ and ‘solitary cuckoo’ as in other analyses and instead a single ‘redstart’ from a non-parasitized brood was compared with a single ‘mixed redstart’, ‘mixed cuckoo’ and ‘solitary cuckoo’ in the post-fledging analyses.

## (f) Statistical analyses

### (i) Egg stage

Comparison of incubation effort (i.e. period length; continuous; in days) between parasitized and non-parasitized clutches (i.e. parasitism status; cuckoo egg present or not) was analysed by a linear model with additional predictors of ordinal date of starting incubation (continuous; 1 = 1 January), final clutch size at the start of incubation (continuous; for parasitized clutches, the cuckoo egg was included) and interaction of parasitism status with clutch size. For the incubation period, day 1 was defined as the day when the female laid the last egg and the final day was the hatching day of either the cuckoo or the first host nestling(s).

A logistic binomial regression was used to analyse the effects of cuckoo parasitism on the hatching success of host eggs using the same set of predictors as for the analyses of incubation effort (parasitism status, date of starting incubation, final clutch size and the interaction of parasitism status with clutch size). Hatchability was traditionally defined as the percentage of eggs surviving to the time of hatching that produced a chick [38]. Applying this definition in a non-parasitized nest is straightforward. However, in about every fifth parasitized nest, the cuckoo female removed a host egg (and thus such eggs had no chance to develop and hatch [16]). To avoid confounding the hatchability estimates with egg removal, we defined hatchability as the number of host eggs that hatched divided by the number of host eggs incubated (i.e. not removed by a female cuckoo or destroyed for other reasons)  $\times 100$ .

### (ii) Nestling stage

We first calculated Pearson’s correlation coefficients with 95% asymptotic confidence intervals to assess the relationship between the studied variables of body condition, H/L ratio and feeding frequency separately for each parental sex and nestling species. Our measures of costs did not correlate with each other (electronic supplementary material, figure S1) and each provided independent information, and thus they were analysed separately.

During the first 10 days post-hatch, the effect of nestling species (categorical; redstarts versus cuckoo) and parental sex (categorical; male versus female) on the change in parental body condition and H/L ratio (both dependent variables with a normal distribution) was tested. We employed linear models with identity link. Response variables were calculated as the difference scores within measurements [29]. Additional

predictors included the number of days that had elapsed between the first and second capture (continuous; range 7–12 days), the date of the first capture (continuous; 1 = 1 January), final clutch size (continuous; only redstart eggs counted as a proxy of hosts’ original reproductive investment), individual TME (continuous; in kilojoules), initial parental body condition (continuous; parental body condition at first catching) and initial H/L ratio (continuous; only in models with H/L ratio as the response variable). Potential collinearity among the covariates was satisfactory, and variance inflation factors were less than two for all predictors [39]. Two-way interactions included nestling species with parental sex, nestling species with individual TME, nestling species with clutch size and parental sex with initial parental body condition.

The above analyses were re-ran for parents rearing the cuckoo and redstart nestlings for almost the full nesting period (i.e. 18 and 10 days, respectively). Full models contained the same set of predictors as above. The models were also recalculated with the response of change in body condition (computed as the scaled mass index) substituted for change in body mass (raw body mass at first capture minus the mass at next capture) to test the robustness of our results (see Results and electronic supplementary material).

Next, parental feeding effort (feedings  $\text{h}^{-1}$ ) between nests with a solitary cuckoo ( $n = 338$  feeding hours in 63 nests, age 0–22 days, excluding a few greater than 22-day-old cuckoos due to less than three recordings per a day of age), a mixed brood ( $n = 124$  h in 17 nests, age 0–22 days) or redstart nestlings ( $n = 210$  h in 70 nests, age 0–14 days) were compared using generalized linear mixed models with a negative binomial distribution and a log link. To account for multiple video-recordings of the same nests at different ages, we employed random slope mixed-effect models with ‘nest ID’ as random intercepts and ‘brood age’ as random slopes. The full model included the response variable of feedings per hour (counts) and predictors of nestling species (binary; cuckoo or redstart), brood mass (continuous; mass of all nestlings in nest), time of day (continuous; hour) and the interaction of nestling species with brood mass. To compare feeding effort directly with the prediction (see Introduction), we further recalculated the above specified model with redstart and cuckoo nestlings for the time-standardized period (first 10 days post-hatch) and extracted covariate-adjusted means of feeding frequencies.

We estimated total energy metabolized by cuckoo nestlings and redstart broods (sum of all redstart nestlings in a nest) until fledging as total metabolizable energy (TME) in kilojoules according to the formula  $\text{TME (kJ)} = 6.65 \times M^{0.85} \times t_{\text{fl}}^{0.71}$ , where  $M$  is the fledging mass in grams and  $t_{\text{fl}}$  is the nestling period in days (see equation (8) in [33]).

Brooding effort was analysed using a linear model. The response variable (proportion of time spent by brooding) was predicted by nestling species (categorical; redstarts versus cuckoo), average diurnal temperature on the day of recording (continuous; °C), brood age (continuous; days from hatching), daytime (continuous; hour) and its squared term to test for nonlinear trends. We included the random effect of ‘nest ID’ to account for multiple video-recordings of the same nests.

### (iii) Fledgling stage

The effect of cuckoo parasitism on fledging success was analysed using a logistic binomial regression. The response variable (fledging success) was predicted by the presence of a cuckoo hatching in the nest (present or absent), the date that incubation commenced (continuous; 1 = 1 January) and the final clutch size at the start of incubation (continuous). Fledging success was quantified as the percentage of hatchlings that fledged [40]. This definition was easily applicable to non-parasitized nests but parasitized nests were influenced by a cuckoo eviction

behaviour. Some host eggs failed to hatch and hatchlings failed to fledge because they were evicted by the cuckoo nestling. Therefore, we defined fledging success as the number of host chicks that fledged (successfully left the nest) divided by the number of hatchlings  $\times 100$ .

We compared parental feeding effort (feedings  $\text{h}^{-1}$ ) between fledgling species during the post-fledging period (0–14 days after leaving nest), using the same model structure as for the nestling stage, but the predictor of brood mass (not measured) and the interaction term were dropped. As explained above, we compared a solitary and mixed cuckoo with a single redstart fledgling (not brood as we did for nestling stage). Both full and final model outputs are presented in the electronic supplementary material [41]. The final models were selected using backward elimination of non-significant terms [42]. First, we sequentially examined the significance of predictors and kept the predictors of main interest (nestling species and parental sex) in the models regardless of their significance. All predictors in the statistical models were centred around their mean to make biologically interpretable main effects when involved in interactions. We always checked the assumption of normality of residual errors, linearity of effect and homogeneity of variances by visual inspection in models with identity link [42].

All analyses were conducted in R v. 3.4.3 [43] using R package lme4 v. 1.1–15 [44]. Potential collinearity of predictors was assessed with R package car v. 2.1–6 [45]. Results are shown as raw means  $\pm$  s.e. unless stated otherwise.

### 3. Results

#### (a) Egg stage

The incubation period of redstart eggs was about half a day shorter in non-parasitized (covariate-adjusted mean  $13.3 \pm 0.1$ ,  $n = 67$ ; day 1 = the day the last host egg was laid) than in parasitized clutches ( $13.9 \pm 0.1$ ,  $n = 50$ ;  $\chi^2 = 8.76$ ,  $p = 0.003$ ; table 1), controlling for significant predictors of date in breeding season and clutch size. The incubation period decreased with advancing date in breeding season ( $\chi^2 = 11.70$ ,  $p = 0.001$ ; incubation period =  $13.4(\pm 0.1) + 0.3(\pm 0.2) \times$  parasitized clutch –  $0.2(\pm 0.1) \times$  clutch size –  $0.03(\pm 0.008) \times$  date).

The incubation period of the cuckoo egg ( $13.2 \pm 0.2$ ,  $n = 50$ ) was shorter than that of the redstart eggs in the same clutch ( $13.7 \pm 0.2$ ,  $n = 50$ ; paired  $t$ -test,  $t_{49} = 3.48$ ,  $p = 0.001$ ). The hatching success of redstart eggs was higher in non-parasitized ( $93.6 \pm 1.1\%$ ,  $n = 106$  broods) than parasitized nests ( $73.3 \pm 2.5\%$ ,  $n = 100$  broods;  $\chi^2 = 116.55$ ,  $p < 0.0001$ ; table 1).

#### (b) Nestling stage

First, change in the parental body condition did not differ when rearing a redstart brood or a cuckoo nestling during the first 10 days post-hatch ( $\chi^2 = 0.13$ ,  $p = 0.72$ ; figure 1a; electronic supplementary material, table S1a). Females decreased their body condition significantly more than males ( $\chi^2 = 28.48$ ,  $p < 0.0001$ ; electronic supplementary material, table S1a). The results remained similar when we used change in parental body mass instead of the response variable change in parental body condition (electronic supplementary material, table S3a). Both females and males increased their H/L ratio (i.e. increased stress) at a similar rate ( $\chi^2 = 2.37$ ,  $p = 0.12$ ; figure 1b; electronic supplementary material, table S1b). Parents rearing redstart broods increased their H/L ratio more than those rearing a cuckoo nestling

( $\chi^2 = 6.33$ ,  $p = 0.01$ ; figure 1b; electronic supplementary material, table S1b). Parents with initially higher H/L ratios showed less increase during rearing of any nestling species ( $\chi^2 = 10.52$ ,  $p = 0.001$ ).

Second, during the full nestling period (i.e. the first 10 days of redstart and 18 days of cuckoo nestling life), patterns remained the same as reported above for change in parental body condition during the standardized 10-day post-hatch period (table 1; electronic supplementary material, table S2a). Again, the same conclusions were reached when we replaced the response variable of change in parental body condition with the change in parental body mass (electronic supplementary material, table S3b). Parents rearing nestlings for the full nestling period increased their H/L ratios similarly when rearing a cuckoo or redstart brood ( $\chi^2 = 0.35$ ,  $p = 0.55$ ; figure 1b and table 1; electronic supplementary material, table S2b). Again, parents with initially higher H/L ratios showed less increase during rearing of any nestling species ( $\chi^2 = 6.34$ ,  $p = 0.01$ ; electronic supplementary material, table S2b).

Analyses of feeding frequencies (controlling for brood mass) showed that during the period of the first 10 days post-hatch, redstart broods ( $14.9 \pm 0.7$  feeds  $\text{h}^{-1}$ ) were fed more often than a solitary cuckoo nestling ( $8.4 \pm 0.4$ ; Tukey's post hoc test:  $z = 2.83$ ,  $p = 0.01$ ) but similar to a mixed brood ( $10.9 \pm 0.8$ ;  $z = 0.89$ ,  $p = 0.65$ ) (figure 2). Mixed broods were fed at similar frequencies to a solitary cuckoo ( $z = 1.40$ ,  $p = 0.34$ ) (figure 2). For the full nestling period, redstart broods of 2–8 nestlings were, on average, fed at higher frequencies ( $16.8 \pm 0.6$  feeds  $\text{h}^{-1}$ ) than both a solitary cuckoo nestling ( $11.5 \pm 0.4$ ; Tukey's test:  $z = 7.05$ ,  $p < 0.0001$ ) and a mixed brood ( $11.8 \pm 0.7$ ;  $z = 4.36$ ,  $p < 0.0001$ ) (figure 2 and table 1; electronic supplementary material, table S4a). Again, the mixed broods and solitary cuckoos were fed at similar rates ( $z = 0.49$ ,  $p = 0.87$ ). Average redstart broods of six nestlings were fed with higher frequency ( $17.9 \pm 1.2$  feeds  $\text{h}^{-1}$ ) than a single cuckoo nestling (electronic supplementary material, table S4b).

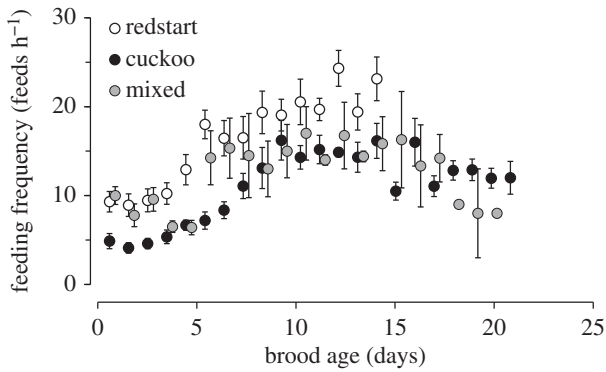
The average TME for a redstart brood ( $2673 \pm 103$  kJ,  $n = 39$  nests) was similar to that of a solitary cuckoo ( $2644 \pm 55$ ,  $n = 32$ ; Tukey's test:  $t = 0.24$ ,  $p = 0.97$ ). A mixed brood ( $3289 \pm 127$ ,  $n = 13$ ) had higher TME compared with both a redstart brood ( $t = 3.75$ ,  $p < 0.0001$ ) and a solitary cuckoo ( $t = 3.83$ ,  $p < 0.0001$ ; table 1). Redstart females spent significantly less time at the nest for brooding of redstarts (mean  $\pm$  s.e.:  $33.4 \pm 2.9\%$ ) compared with a solitary cuckoo ( $52.0 \pm 1.6\%$ ; Tukey's test:  $z = 8.36$ ,  $p < 0.0001$ ) and mixed broods ( $52.0 \pm 3.6\%$ ;  $z = 5.45$ ,  $p < 0.0001$ ) (figure 3). However, mixed broods and solitary cuckoos were brooded similarly ( $z = 0.17$ ,  $p = 0.98$ ) (figure 3). We controlled for a significant decreasing effect of brood age ( $\chi^2 = 233.65$ ,  $p < 0.0001$ ) and quadratic trend of daytime (nestlings were brooded less during midday;  $\chi^2 = 4.05$ ,  $p = 0.04$ ). The non-significant effect of day temperature ( $p = 0.12$ ) was dropped from the final model. Cuckoo and redstart nestlings were brooded at maximum until day 11 and 12 post-hatch, respectively. Redstarts raising solitary cuckoos ( $20.1 \pm 0.3$  days,  $n = 55$ ) and mixed broods ( $20.1 \pm 0.7$ ,  $n = 15$ ) prolonged their parental effort for about a week during the nestling stage compared with those raising redstart broods ( $13.8 \pm 0.1$ ,  $n = 97$ ; Tukey's test:  $t = 22.08$  and  $13.52$ ,  $p < 0.0001$ ; table 1). Nestling periods were similar for solitary cuckoos and mixed broods ( $t = 0.09$ ,  $p = 0.99$ ; table 1).



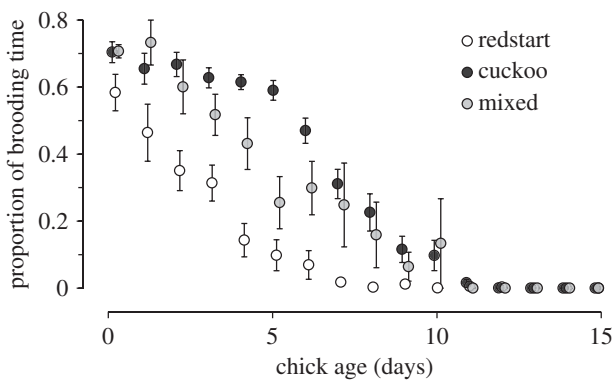
**Table 1.** Summary of the costs incurred by common redstarts from cuckoo parasitism. Sample sizes are given separately for host broods (i.e. non-parasitized), broods with a solitary cuckoo and mixed broods (i.e. redstarts sharing a nest with a cuckoo). Standardized effect sizes ( $r$ ) are given with their 95% confidence intervals (CI). Negative effect sizes suggest that raising the solitary cuckoos or mixed broods is less costly than raising non-parasitized broods. Effect sizes for the fledging period measure the magnitude of difference between a cuckoo nestling (either solitary or mixed) and a single redstart fledgling (either solitary or mixed) (see Material and methods for details). Sample sizes varied for various reasons (e.g. some chicks died before fledging and thus we have data on feeding frequency but not on growth or post-fledging period).

| period     | method              | sample size     |                 |       | type of cost                    | $r$ (CI)                    |                          |
|------------|---------------------|-----------------|-----------------|-------|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------|
|            |                     | host            | cuckoo          | mixed |                                 | host versus solitary cuckoo | host versus mixed cuckoo |
| incubation | observations        | 67              | 50              | —     | incubation effort               | 0.15 (−0.03 to 0.33)        | —                        |
| incubation | observations        | 106             | 100             | —     | hatching success                | 0.47 (0.36 to 0.57)         | —                        |
| nestling   | mist-netting        | 39              | 24              | —     | parental body condition         | 0.00 (−0.22 to 0.22)        | —                        |
| nestling   | mist-netting        | 39              | 24              | —     | parental condition—H/L ratio    | −0.09 (−0.13 to 0.31)       | —                        |
| nestling   | video-recording     | 68              | 59              | 17    | nestling feeding frequency      | −0.33 (−0.48 to −0.17)      | −0.24 (−0.43 to −0.02)   |
| nestling   | video-recording     | 47              | 52              | 10    | brooding effort                 | 0.33 (0.17 to 0.52)         | 0.27 (0.00 to 0.50)      |
| nestling   | growth measurements | 34              | 38              | 12    | metabolizable energy            | 0.03 (−0.21 to 0.26)        | 0.40 (0.13 to 0.61)      |
| nestling   | observations        | 97              | 55              | 15    | nestling period length          | 0.89 (0.85 to 0.92)         | 0.83 (0.76 to 0.88)      |
| nestling   | observations        | 53              | 112             | 15    | fledging success                | 0.95 (0.94 to 0.97)         | 0.59 (0.41 to 0.73)      |
| fledgling  | observations        | 27 <sup>a</sup> | 35 <sup>a</sup> | 6     | post-fledging feeding frequency | 0.37 (0.13 to 0.57)         | 0.27 (0.05 to 0.74)      |
| fledgling  | observations        | 9 <sup>a</sup>  | 14 <sup>a</sup> | 2     | post-fledging period length     | −0.44 (−0.73 to 0.00)       | 0.05 (−0.56 to 0.50)     |

<sup>a</sup>Samples sizes are either the number of nests or the number of individuals included in the analysis.



**Figure 2.** Feedings per hour (raw means  $\pm$  s.e.) delivered to a solitary cuckoo, mixed broods of a cuckoo with redstarts and redstart broods (2–8 nestlings) during the nestling stage. Mean sample size per nest per day is 14 (range 8–35) for solitary cuckoo and redstart broods, and 5 (range 1–12) for mixed broods.



**Figure 3.** Brooding effort (raw means  $\pm$  s.e.) by redstart females in relation to chick age. Average sample size (number of nests day) was 13 (range 7–23).

### (c) Fledgling stage

Fledging success of redstart nestlings was higher from non-parasitized broods ( $90.9 \pm 2.2\%$ ,  $n = 112$  broods) than from mixed broods ( $44.3 \pm 33.8\%$ ,  $n = 15$ ;  $\chi^2 = 305.30$ ,  $p < 0.0001$ ; table 1).

After fledging, a single redstart from a non-parasitized brood ( $8.8 \pm 0.4$  feeds  $\text{h}^{-1}$ ,  $n = 54$  samples from 35 nestlings from 15 nests) was fed less often than a solitary cuckoo ( $12.9 \pm 0.8$  feeds  $\text{h}^{-1}$ ,  $n = 76$  samples from 27 cuckoos; Tukey's test:  $z = 2.79$ ,  $p = 0.03$ ) but similar to a mixed cuckoo ( $11.9 \pm 2.9$  feeds  $\text{h}^{-1}$ ,  $n = 8$  samples from six cuckoos;  $z = 0.84$ ,  $p = 0.83$ ) and a single mixed redstart ( $10.1 \pm 0.8$  feeds  $\text{h}^{-1}$ ,  $n = 7$  samples from seven nestlings from four nests;  $z = 0.17$ ,  $p = 0.99$ ). Non-significant effects of time of day ( $p = 0.51$ ) and ordinal date ( $p = 0.68$ ) were dropped from the final model.

The duration of dependence on host parents after fledging was similar between a single redstart from a non-parasitized brood ( $18.7 \pm 0.5$  days,  $n = 14$  fledglings from nine broods), a solitary cuckoo ( $16.8 \pm 0.7$  days,  $n = 9$ ; ANOVA, Tukey's test:  $t = 1.66$ ,  $p = 0.35$ ), a mixed cuckoo ( $19.0 \pm 3.0$  days,  $n = 2$ ;  $t = 0.14$ ,  $p = 0.99$ ) and a single mixed redstart ( $19.6 \pm 2.2$  days,  $n = 5$  fledglings from four nests;  $t = 0.62$ ,  $p = 0.92$ ).

## 4. Discussion

The fundamental brood parasite–host coevolutionary paradigm assumes that host care for the parasite is dramatically

more costly than care for their own progeny [1]. Our quantitative estimates of costs across the *complete* period of host care for the parasite challenge this paradigm by showing that parental care by one of the major cuckoo hosts, the redstart, is not more costly when invested into the parasitic cuckoo rather than their own offspring. Counterintuitively, some of the multiple parental care parameters were even *lower* for the parasite than for a host progeny. This conclusion holds even for mixed broods, where the cuckoo shares the nest with host nestling(s). This might be because a single cuckoo nestling in a mixed brood does not (over)compensate the needs (feeding, brooding, etc.) of the host nestlings that it evicted. Paradoxically, the presence of the parasite thus might *increase* host survival and future reproduction via life-history trade-offs between current and future reproduction. This exciting scenario provides an impetus for future studies.

### (a) Quantitative predictions versus estimated costs

As predicted, the presence of a parasitic cuckoo nestling in a redstart nest was associated with decreased hatching and fledging success of host progeny (see also [16]), more brooding effort and five extra days of care during the complete breeding cycle. However, parental body condition or physiological stress did not differ between parents raising their own brood, a mixed brood (predicted to be 1.2 times more costly) and solitary parasitic nestling (predicted to be 1.1 times more costly) when compared across the full nestling period (see also [8,9]). This was probably because parents reduced their feeding effort for cuckoo nestlings to about two-thirds of the feeding effort for a host brood of similar weight, which contrasts with findings from other host–parasite systems [11] (but see [8,9]). Cuckoos in mixed broods were fed at similar frequencies to solitary cuckoos; this confirms previous conclusions [16,23,27,32] that redstart-cuckoo nestlings do not use the host's own young to attract more fosterer care (cf. [5]).

During the post-fledging stage, the cuckoo received approximately 34% more feeds per hour than a single redstart fledgling, but such a difference does not reflect the fact that the cuckoo fledgling is about six times heavier than a single redstart fledgling (fig. 1 in [24]). It is also very likely that parents usually feed more than one redstart fledgling because non-parasitized nests usually fledge 5.7 redstarts [16]. However, unlike parental effort indicators of body condition and H/L ratio, feeding frequency is only a proxy indicator as it may not reflect the true load size [46]. Still, redstarts feed nestlings, both their own and parasitic, with similar prey types which does not suggest any differences in prey or load size [24] (note that prey size differences in diet delivered to own versus cuckoo nestlings covary with diet composition differences [47]). Surprisingly, cuckoo fledglings reached independence 2 days earlier than redstarts, while they required seven extra days of parenting during the nestling stage. These results cannot be compared with others because no study so far has studied these parameters in both host and parasite fledglings.

### (b) Estimating different types of costs

Costs of parasitism entail both lost progeny costs [2–5] and rearing costs; the latter type of costs can be separated into immediate costs (physiological and physical [8,9]) and

future costs (survival and future fecundity [10–12]; see Introduction). Estimating lost progeny costs is easy because each egg, nestling and fledgling represents a unit. Therefore, fitness can be indirectly measured as, for instance, the number of fledged chicks per egg laid; comparing such measures between parasitized and non-parasitized nests provides a quantitative estimate of lost progeny costs [23]. For example, an average parasitized redstart brood has 8.4 times lower fitness than an average non-parasitized brood [23].

Estimating overall rearing costs is not that straightforward. This is because different measures of costs are suitable and measurable at different developmental stages. For example, there are no brooding costs during the fledgling stage and costs of feeding unrelated nestlings obviously cannot apply during the incubation stage; this precludes a meaningful overall estimate of rearing costs. Theoretically, physiological costs (like H/L ratio) could be estimated for any developmental stage; practically, this was not feasible in our study system because redstarts always desert a nest when captured during the egg-laying period.

For redstarts that lose all their offspring due to cuckoo eviction, the costs of rearing the cuckoo might seem irrelevant. The rearing costs would only become important if they affected host future reproduction [11]. Indeed, such a pattern was found, for example, in a tropical parasite host system: increased investment into current reproduction while parasitized by the striped cuckoo *Tapera naevia* was associated with the host's (the rufous-and-white wren *Thryophilus rufalbus*) delayed re-nesting and a reduced probability of nesting in the next breeding season [9] (but see [8,10,12]). In the common cuckoo, only a single published study has examined the effect of rearing the cuckoo on the host's future reproduction: female great reed warblers *Acrocephalus arundinaceus* that reared a cuckoo survived less than non-parasitized females [18]. However, for the great reed warbler, there is currently no estimate of immediate costs. By contrast, for the redstarts we have estimates of immediate costs but no estimates of future costs. This calls for more studies in this surprisingly neglected research area.

A recent interspecific comparative study [48] showed that lost progeny costs explain interspecific variation in host resistance (egg rejection rates). Future studies should therefore focus on estimating rearing costs (table 1) across various host species—this will allow for interspecific comparative studies to elucidate whether and how varying immediate and future rearing costs explain varying host defences across species additional to lost progeny costs [48].

### (c) Maintenance of the redstart-cuckoo system

Cuckoo parasitism decreased redstarts' hatching and fledging success only slightly compared with other cuckoo hosts which experience almost nil breeding success (because the cuckoo chick usually evicts all host progeny in open-nesting hosts [2,17]). Lower cuckoo virulence observed in redstarts can be attributed to their different breeding strategy—the redstart is the only regular cavity breeding cuckoo host [23]. Only a third of cuckoo eggs end up inside the nest cup after cuckoo laying attempts [23,27]. Even after successful parasitism, cuckoo nestlings often struggle to evict host eggs and chicks [4]. Such hindrances, not present in open-nesting hosts [2,17], decrease the cuckoo's chances of eliminating host

progeny. Indeed, cuckoo nestlings grow alongside redstart chicks more often than in any other host species [32].

Despite these cumulative effects, the redstart–cuckoo host–parasite system has persisted for more than 2.5 Myr [25]. Low parasite success [16] combined with low costs for redstart hosts (this study) might explain low to absent levels of redstart antiparasitic behaviour against all parasite developmental stages (i.e. adult cuckoos, their eggs, nestlings and fledglings) across the many studied populations [16,20,23,27]. Negligible antiparasitic defences would otherwise be hard to explain in a host that suffers parasitism rates that are unusually high among cuckoo hosts (consistently approx. 30% in parasitized populations [16], compared with typically less than 15% in most parasitized populations of the most common cuckoo host [49]). The surprisingly low immediate costs to breeding redstarts that we quantified in this study, combined with perfect mimicry in redstart-cuckoo eggs [23] and the absence of second breeding attempts in redstarts [23], might thus constrain the evolution of antiparasitic behaviour and help cuckoos to maintain this host–parasite system long term (see also [50]).

### (d) Reduced parasite virulence and increased host tolerance?

General theory of host–pathogen coevolution [19] encompasses a scenario of reduced pathogen virulence coupled with reduced host resistance (fig. 1 in [51]). Such increased host tolerance was documented in a different brood parasite–host system [52] and might potentially be occurring in the redstart–cuckoo system where surprisingly low costs of cuckoo parasitism to redstarts (i.e. low 'pathogen virulence': this study) are coupled with very weak host resistance [23]. However, we suggest that this pattern is more parsimoniously explained by constraints rather than coevolution (similar to other apparent cases of reduced pathogen/parasite virulence and host resistance [51]).

Low virulence of redstart-cuckoos most probably reflects simple physical constraints, namely nest cup location far from the nest entrance (which limits cuckoo female laying success [16]) and nest cup design (which limits cuckoo nestling eviction success [4]) rather than specifically evolved 'reduced pathogen virulence'. In theory, low virulence might evolve, for example, in the form of reduced eviction effort (i.e. tolerating cohabitation with host chicks); if anything, the reality is the opposite (e.g. prolonged period of eviction activity in redstart-cuckoo nestlings [4]).

Although redstarts show very low resistance [16,23], coevolved 'decreased host resistance' or 'tolerance' [51,52] does not seem to apply in the redstart–cuckoo system. This is because, by definition, 'tolerance does not inhibit the parasites' growth or reproduction, but minimizes the impact of parasite attacks' [52]—and ample evidence [16,20,22–24,27,32] shows that cuckoos in redstart nests suffer both dramatically reduced growth and reproduction.

Overall, available data suggest a different scenario, specifically 'lower pathogenicity' leading to 'reduced selection for host resistance' (fig. 1 in [51]). Future research should address the topic of tolerance versus resistance via the study of multiple populations which would allow quantification of the potential tolerance in redstart hosts following the methods described in [52].

**Ethics.** This research complies with the Association of Animal Behaviour and the Animal Behavior Society guidelines for the treatment of animals in research. The study was conducted under licences KASELY/353/07.01/2010, ESAVI/2846/04.10.03/2012 and VARELY/1825/2015.

**Data accessibility.** Data are available in the Dryad Digital Repository: <http://dx.doi.org/10.5061/dryad.665117s> [53].

**Authors' contributions.** M.H., T.G. and P.S. conceived the study. T.G. and M.H. provided funding for the study. J.R., M.K., P.S. and T.G. designed the experiments. J.R., M.K., P.S. and T.G. collected the

data. P.S. and M.K. analysed the data and all authors contributed to the writing of the manuscript.

**Competing interests.** We have no competing interests.

**Funding.** This work was funded by the Czech Science Foundation grants (P506/12/2404 and 17-12262S) and HFSP (RGY83/2012).

**Acknowledgements.** Z. Tyller and J. Haikola helped with fieldwork. Z. Tyller analysed video-recordings. B. Bílková and P. Bauerová analysed blood smears. We are grateful to the editor and two anonymous reviewers for constructive comments. Dana Campbell and Brani Igic corrected the language.

## References

- Davies N. 2000 *Cuckoos, cowbirds and other cheats*. London, UK: T. & A. D. Poyser.
- Wyllie I. 1981 *The cuckoo*. London, UK: Batsford.
- Spottiswoode CN, Koorevaar J. 2012 A stab in the dark: chick killing by brood parasitic honeyguides. *Biol. Lett.* **8**, 241–244. (doi:10.1098/rsbl.2011.0739)
- Grim T, Rutila J, Cassey P, Hauber ME. 2009 The cost of virulence: an experimental study of egg eviction by brood parasitic chicks. *Behav. Ecol.* **20**, 1138–1146. (doi:10.1093/beheco/arp108)
- Kilner RM, Madden JR, Hauber ME. 2004 Brood parasitic cowbird nestlings use host young to procure resources. *Science* **305**, 877–879. (doi:10.1126/science.1098487)
- Soler M. 1990 Relationships between the great spotted cuckoo *Clamator glandarius* and its corvid hosts in a recently colonized area. *Ornis Scand.* **21**, 212–223. (doi:10.2307/3676781)
- Samas P, Hauber ME, Cassey P, Grim T. 2014 Host responses to interspecific brood parasitism: a by-product of adaptations to conspecific parasitism? *Front. Zool.* **11**, 34. (doi:10.1186/1742-9994-11-34)
- Hauber ME, Montenegro K. 2002 What are the costs of raising a brood parasite? Comparing host parental care at parasitized and non-parasitized broods. *Etologia* **10**, 1–9.
- Mark MM, Rubenstein DR. 2013 Physiological costs and carry-over effects of avian interspecific brood parasitism influence reproductive tradeoffs. *Horm. Behav.* **63**, 717–722. (doi:10.1016/j.yhbeh.2013.03.008)
- Hauber ME. 2006 A future cost of misdirected parental care for brood parasitic young? *Folia Zool.* **55**, 367–374.
- Hoover JP, Reetz MJ. 2006 Brood parasitism increases provisioning rate, and reduces offspring recruitment and adult return rates, in a cowbird host. *Oecologia* **149**, 165–173. (doi:10.1007/s00442-006-0424-1)
- Payne RB, Payne LL. 1998 Brood parasitism by cowbirds: risks and effects on reproductive success and survival in indigo buntings. *Behav. Ecol.* **9**, 64–73. (doi:10.1093/beheco/9.1.64)
- Holen OH, Saetre GP, Slagsvold T, Stenseth NC. 2001 Parasites and supernormal manipulation. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **268**, 2551–2558. (doi:10.1098/rspb.2001.1818)
- Stokke BG, Takasu F, Moksnes A, Røskaft E. 2007 The importance of clutch characteristics and learning for antiparasite adaptations in hosts of avian brood parasites. *Evolution* **61**, 2212–2228. (doi:10.1111/j.1558-5646.2007.00176.x)
- Moksnes A, Røskaft E, Hagen LG, Honza M, Mork C, Olsen PH. 2000 Common cuckoo *Cuculus canorus* and host behaviour at reed warbler *Acrocephalus scirpaceus* nests. *Ibis* **142**, 247–258. (doi:10.1111/j.1474-919X.2000.tb04864.x)
- Samaš P, Rutila J, Grim T. 2016 The common redstart as a suitable model to study cuckoo-host coevolution in a unique ecological context. *BMC Evol. Biol.* **16**, 255. (doi:10.1186/s12862-016-0835-5)
- Øien J, Moksnes A, Røskaft E, Honza M. 1998 Costs of cuckoo *Cuculus canorus* parasitism to reed warblers *Acrocephalus scirpaceus*. *J. Avian Biol.* **29**, 209–215. (doi:10.2307/3677102)
- Koleček J, Jelínek V, Požgayová M, Trnka A, Baslerová P, Honza M, Procházka P. 2015 Breeding success and brood parasitism affect return rate and dispersal distances in the great reed warbler. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **69**, 1845–1853. (doi:10.1007/s00265-015-1997-7)
- Cressler CE, Mcleod DV, Rozins C, Hoogen JVD, Day T. 2016 The adaptive evolution of virulence: a review of theoretical predictions and empirical tests. *Parasitology* **143**, 915–930. (doi:10.1017/S003118201500092X)
- Thomson RL, Tolvanen J, Forsman JT. 2016 Cuckoo parasitism in a cavity nesting host: near absent egg-rejection in a northern redstart population under heavy apparent (but low effective) brood parasitism. *J. Avian Biol.* **47**, 363–370. (doi:10.1111/jav.00915)
- Igic B, Cassey P, Grim T, Greenwood DR, Moskat C, Rutila J, Hauber ME. 2012 A shared chemical basis of avian host-parasite egg colour mimicry. *Proc. R. Soc. B* **279**, 1068–1076. (doi:10.1098/rspb.2011.1718)
- Grim T, Samaš P. 2016 Growth performance of nestling cuckoos *Cuculus canorus* in cavity nesting hosts. *Acta Ornithol.* **51**, 175–188. (doi:10.3161/00016454A02016.51.2.004)
- Grim T, Rutila J. 2017 Cuckoo-host coevolutionary interactions across all breeding stages: unusual ecological setting of a cavity-nesting host. In *Avian brood parasitism: behaviour, ecology, evolution and coevolution* (ed. M Soler), pp. 287–303. Cham, Switzerland: Springer International Publishing.
- Grim T, Tyller Z, Samaš P. 2017 Unusual diet of brood parasitic nestlings and its fitness consequences. *Auk* **134**, 732–750. (doi:10.1642/AUK-16-242.1)
- Fossey F *et al.* 2016 Ancient origin and maternal inheritance of blue cuckoo eggs. *Nat. Commun.* **7**, 10272. (doi:10.1038/ncomms10272)
- Thomson DL, Monaghan P, Furness RW. 1998 The demands of incubation and avian clutch size. *Biol. Rev.* **73**, 293–304. (doi:10.1111/j.1469-185X.1998.tb00032.x)
- Rutilla J, Latja R, Koskela K. 2002 The common cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity nesting host, the redstart *Phoenicurus phoenicurus*: a peculiar cuckoo–host system? *J. Avian Biol.* **33**, 414–419. (doi:10.1034/j.1600-048X.2002.02937.x)
- Tyller Z, Kysučan M, Grim T. 2018 Post-fledging behavior of the common cuckoo (*Cuculus canorus*) attended by the chaffinch (*Fringilla coelebs*): a comprehensive approach to study the least known stage of brood parasite–host coevolution. *Wilson J. Ornithol.* **130**, 536–542. (doi:10.1676/16-223.1)
- Bonate PL. 2000 *Analysis of pretest-posttest designs*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Peig J, Green AJ. 2009 New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos* **118**, 1883–1891. (doi:10.1111/j.1600-0706.2009.17643.x)
- Davis AK, Maney DL, Maerz JC. 2008 The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Funct. Ecol.* **22**, 760–772. (doi:10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x)
- Grim T, Rutila J, Cassey P, Hauber ME. 2009 Experimentally constrained virulence is costly for common cuckoo chicks. *Ethology* **115**, 14–22. (doi:10.1111/j.1439-0310.2008.01574.x)
- Weathers W. 1992 Scaling nestling energy requirements. *Ibis* **134**, 142–153. (doi:10.1111/j.1474-919X.1992.tb08391.x)
- Grim T. 2007 Experimental evidence for chick discrimination without recognition in a brood parasite host. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **274**, 373–381. (doi:10.1098/rspb.2006.3731)
- Hill IF, Cresswell BH, Kenward RE, Field RE. 1999 Field-testing the suitability of a new back-pack harness for radio-tagging passerines. *J. Avian Biol.* **30**, 135–142. (doi:10.2307/3677122)

36. Davies NB. 1976 Parental care and the transition to independent feeding in the young spotted flycatcher (*Muscicapa striata*). *Behaviour* **59**, 280–295. (doi:10.1163/156853976X00415)
37. Woodward PW. 1983 Behavioral ecology of fledgling brown-headed cowbirds and their hosts. *Condor* **85**, 151–163. (doi:10.2307/1367248)
38. Koenig WD. 1982 Ecological and social factors of eggs hatchability of eggs. *Auk* **99**, 526–536.
39. Zuur AF, Ieno EN, Elphick CS. 2010 A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods Ecol. Evol.* **1**, 3–14. (doi:10.1111/j.2041-210X.2009.00001.x)
40. Robinson KD, Rotenberry JT. 1991 Clutch size and reproductive success of house wrens rearing natural and manipulated broods. *Auk* **108**, 277–284.
41. Forstmeier W, Schielzeth H. 2011 Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner's curse. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **65**, 47–55. (doi:10.1007/s00265-010-1038-5)
42. Grafen A, Hails R. 2002 *Modern statistics for the life sciences*. Oxford, UK: Oxford University Press. (doi:10.1111/1467-9884.00369\_10)
43. R Core Team. 2017 *R: a language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
44. Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. 2015 Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* **67**, 1–48. (doi:10.18637/jss.v067.i01)
45. Fox J, Weisberg S. 2011 *An R companion to applied regression*, 2nd edn. Thousand Oaks, CA: Sage.
46. Sejberg D, Bensch S, Hasselquist D. 2000 Nestling provisioning in polygynous great reed warblers (*Acrocephalus arundinaceus*): do males bring larger prey to compensate for fewer nest visits? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **47**, 213–219. (doi:10.1007/s002650050658)
47. Grim T, Honza M. 2001 Does supernormal stimulus influence parental behaviour of the cuckoo's host? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **49**, 322–329. (doi:10.1007/s002650000295)
48. Medina I, Langmore NE. 2015 The evolution of acceptance and tolerance in hosts of avian brood parasites. *Biol. Rev.* **91**, 569–882. (doi:10.1111/brv.12181)
49. Stokke BG *et al.* 2007 Host density predicts presence of cuckoo parasitism in reed warblers. *Oikos* **116**, 913–922. (doi:10.1111/j.2007.0030-1299.15832.x)
50. Kruger O. 2011 Brood parasitism selects for no defence in a cuckoo host. *Proc. R. Soc. B* **278**, 2777–2783. (doi:10.1098/rspb.2010.2629)
51. Woolhouse MEJ, Webster JP, Domingo E, Charlesworth B, Levin BR. 2002 Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nat. Genet.* **32**, 569–577. (doi:10.1038/ng1202-569)
52. Soler JJ, Martin-Galvez D, Martinez JG, Soler M, Canestrari D, Abad-Gomez JM, Moller AP. 2011 Evolution of tolerance by magpies to brood parasitism by great spotted cuckoos. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **278**, 2047–2052. (doi:10.1098/rspb.2010.2218)
53. Samaš P, Rutila J, Honza M, Kysučan M, Grim T. 2018 Data from: Rearing a virulent common cuckoo is not extra costly for its only cavity-nesting host. Dryad Digital Repository. (doi:10.5061/dryad.665117s)

### Příspěvek III

#### Multiple costs are relevant for evolution of host anti-parasite defences. Reply to Yang C *et al.* (2018)



Dokonalé mimikry (i z hlediska lidského vidění) parazitického vejce (mírně větší a kulatější vejce vpravo) v kukačko-rehčím systému způsobují absenci rozlišování a vyhazování kukaččích vajec rehky zahradními (příliš velké riziko vyhození či poškození vlastního vejce). Absence této úrovně protiparazitické obrany u jinak silně parazitované hostitelské populace je nezvyklá a může být rovněž vysvětlována relativně nízkou virulencí parazita (související s dutinovou hnízdní strategií rehků zahradních) a nízkými bezprostředními náklady na výchovu parazitického mláděte v tomto systému. Absence rozlišování parazitických vajec je u rehka zahradního rovněž částečně kompenzována dezercí hnízd po spatření kukačky během parazitace (foto: autor práce).

## Invited reply



**Cite this article:** Samaš P, Kysučan M, Honza M, Grim T. 2019 Multiple costs are relevant for evolution of host anti-parasite defences. Reply to Yang C *et al.* (2018). *Proc. R. Soc. B* **286**: 20191690.  
<http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2019.1690>

Received: 18 July 2019

Accepted: 4 October 2019

**Subject Category:**

Evolution

**Subject Areas:**

behaviour

**Author for correspondence:**

Tomáš Grim

e-mail: [tg.cuckoo@gmail.com](mailto:tg.cuckoo@gmail.com)

The accompanying comment can be viewed at  
<http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2018.2430>.

# Multiple costs are relevant for evolution of host anti-parasite defences. Reply to Yang C *et al.* (2018).

Peter Samaš<sup>1</sup>, Michal Kysučan<sup>2</sup>, Marcel Honza<sup>1</sup> and Tomáš Grim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Květná 8, 60365 Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Zoology and Laboratory of Ornithology, Palacký University, 17. listopadu 50, 77146 Olomouc, Czech Republic

MH, 0000-0002-4075-702X; TG, 0000-0002-5775-6269

Studies of brood parasite-host coevolution have generally assumed that hosts invest more parental care to rear parasite progeny than their own offspring; this view was taken for granted in cases when a parasite chick (e.g. the common cuckoo *Cuculus canorus*; hereafter 'cuckoo') was dramatically larger than a host chick (small passerines in the case of cuckoos [1]). This seemed obvious because a cuckoo fledgling weighs as much as the whole family of a host, i.e. all chicks and both male and female fosterers combined (own unpublished data). Recently, we reported results that question this view: rearing the cuckoo was not associated with overall higher immediate rearing costs to common redstarts *Phoenicurus phoenicurus* (hereafter 'redstart') above the natural baseline levels that are imposed by efforts to rear their own progeny anyway [2]. Additionally, we suggested that such low costs may *partly* help explain low levels of host counterdefences in this host. In their comment, Yang *et al.* [3] do not contradict our main conclusions (rearing the cuckoo is not extra costly) but disagree with our suggestion that surprisingly low immediate rearing costs can be relevant for the evolution of host defences. Here, we address this criticism.

Yang *et al.* [3] claim that individual hosts that are successfully parasitized by cuckoos do not contribute their genes to the next generation, which provides a strong selective pressure on hosts, whereas an excessive parental care for parasite progeny can hardly drive the evolution of anti-parasitic adaptation in hosts. Further, [3] argue that even if the immediate costs of rearing a cuckoo chick do not exist, parasitism itself should be sufficient to promote anti-parasitic defences in hosts.

We agree that the loss of the host's own progeny after successful parasitism is the most important cost that provides a strong selective pressure on hosts to evolve defences. We also agree that the loss of progeny *per se* is sufficient to promote anti-parasitic defences in hosts even in the *potential* absence of immediate rearing costs. However, all this does not mean that other costs are irrelevant. Indeed, the lost progeny cost is the same or very similar in all regular cuckoo hosts because the cuckoo chick kills all its nest-mates in all host species [1] (with a single exception of redstarts); therefore such invariable lost progeny cost cannot explain the large variability in host defences. Therefore, we suggest that multiple costs—i.e. not only the lost progeny cost—play a non-negligible role in the evolution of anti-parasitic defences and can thus better explain variability in levels of anti-parasitic defences across various host species.

Such costs include high demands to raise the cuckoo because host parents exhausted by care for the cuckoo more likely fail to transmit their genes in potential *next* breeding attempts when caring for their own progeny (i.e. the trade-off between the current and future reproduction). Specifically, in the redstart, [2] reviewed factors considered by previous studies as important for the evolution of anti-parasitic defences (length of coevolution, parasitism rate) but these could not explain why the anti-parasitic defence is so weak in this host. For example, an alternative explanation proposed by [3] that 'the redstart may be a recent host species' is rejected by the genetic data: redstart-cuckoo coevolution lasts for at least approximately 2.5 Myr [4].

However, [2] did not test directly the effect of excessive parental care on the evolution of anti-parasitic defences, and thus they only suggested the unexpectedly low immediate rearing costs as a possible *additional* (i.e. not exclusive, see phrasing ‘may, in part, explain’ in the Abstract of [2]) and *post hoc* explanation of low host anti-parasitic defences in the redstart. We also note that the redstart is the only regular cavity breeding cuckoo host and this different breeding strategy can contribute to a lower cuckoo virulence in this species [2].

Liang *et al.* [3] assume that parasitized redstarts ‘fail to pass their genes onto the next generation’. This is not true because many cuckoos fail to evict redstart chicks and such host chicks from ‘mixed broods’ often fledge even from parasitized nests [2,5].

Liang *et al.* [3] claim that ‘nest predators impose no immediate cost on bird parents’. This is incorrect because parents defend their nests and nest defence is considered highly costly for parents [6]. Also, the claim that ‘the cost of parasitism is larger than that of nest predation, and thus anti-parasitic defences should still evolve to a level that is equal to or stronger than antipredator defences’ [3] is not valid. This is because predation of progeny at any stage (egg, nestling, fledgling) entails, *just like in the case of brood parasitism*, lost rearing costs invested by parents from which they gain zero fitness. Predation always zeroes parental breeding success. By contrast, parasitism in redstarts often leads to mixed broods where ‘at least some of the chicks typically survive and fledge, while cuckoo chicks often die’ [5]. Given relatively low parasite rearing costs [2], the overall cost of parasitism might be *lower* than that of offspring predation in redstarts (i.e. the opposite of what [3] suggested).

Finally, [3] claim that comparing costs of rearing own versus foreign progeny are not comparable because the costs of rearing own progeny contribute to host fitness whereas costs of rearing foreign progeny do not. The claim that these costs are ‘totally different’ [3] is not true if we consider the *types* of costs—a female host incubating an egg is expending identical currencies of time, energy, and opportunity no matter what the taxonomical identity of the egg is. This is the reason why *all* studies of rearing costs published to date have always used the same measures of costs for both host and parasite offspring (reviewed in [2]). The only reason why these costs are known to affect parasite-host coevolution (see [7]) is exactly because the ‘genetic background’ [3] differs between hosts and parasites: any investment into a parasite cannot be invested into a host progeny and that is *one of the reasons* why host defences evolve.

Yang *et al.* [3] refer to ‘high and low costs’ without specifying what they mean. In our view, the amount of care for the host’s own offspring is a natural ‘yardstick’ against which any amount of care for foreign offspring should be compared because this directly affects trade-offs in host investment. Thus, ‘high’ costs of care for parasites are best defined as ‘higher than typical baseline levels of care for the host’s own offspring’: hosts exhaust themselves *more* than under natural non-parasitized conditions and are left with *less* resources to invest into their future reproduction (unless being parasitized again). By contrast, ‘low’ costs of care for parasites are best defined as ‘lower than typical baseline levels of care for the host’s own offspring’: hosts exhaust themselves *less* than under natural non-parasitized conditions and are left with *more* resources to invest into their future reproduction (unless being parasitized again). The cost measures we used in our study supported the latter, counterintuitive, scenario [2].

That our argument is realistic is best illustrated by an empirical example [8]: a higher cost can manifest, e.g. in a

longer care for a parasite (measured by us: [2]). Unsurprisingly, the extended care for a cuckoo nestling and fledgling has been traditionally given as a major reason why host individuals that care for the cuckoo until its independence are not left with enough time to breed again before migrating to wintering grounds [1]. This represents an extreme cost of parasitism—one lost breeding attempt represents a huge cost for a typical short-lived cuckoo host. By contrast, host individuals that desert a nest with the cuckoo egg save much time (approx. five weeks) of care for the alien chick in and outside the nest and do have a chance to breed again [1]. Deserting the nest early leads to an almost negligible cost of parasitism, compared to not deserting the nest, *even though the host has lost all its progeny*: in this example, the latter host has a zero fitness in this breeding season whereas the former host reared one (the second) brood. The difference between the two host’s fitness is huge and the reason is not the lost progeny cost (which was paid identically by both hosts): the *only* reason is the rearing cost [2].

Between these two extremes, there is a continuum of host decisions and costs of parasitism: a host that deserts the cuckoo chick before fledging [8] saves approximately three weeks of time and has a chance to breed again, more likely without being parasitized. This is because (i) parasitism is generally rare and thus chances of repeated parasitism of the same individual is even rarer and (ii) the risks of parasitism decline throughout the season and are non-existent after parasites departed to wintering grounds: e.g. cuckoos in our Czech study sites [9] depart several weeks before the end of the breeding period of their warbler (*Acrocephalus*) hosts. Thus, low rearing costs, i.e. shortening of the length of care for the parasite (which we found in our study [2]), have direct fitness benefits for hosts. In other words, high versus low time-related rearing costs make a fundamental difference between low and high host fitness. An identical principle applies to any other measure of cost, e.g. physiological stress, energy expenditures, etc.

To conclude, *variable* host defences across species and populations cannot be explained by ‘failure of transmission of genes in hosts’ [3] because hosts *invariably* lose all their progeny (except for redstarts [2,5]). Further, that one kind of cost is extreme whereas another kind of cost is low does not mean that only the former cost is relevant: also the latter is important but with a lower impact on the evolution of a trait and there is plenty of empirical evidence for this principle [10]. There is also no question whether the high costs of parasitism, no matter whether in the form of lost progeny or rearing, provide stronger selection pressure on hosts than the lower costs of parasitism, no matter whether in the form of lost progeny or rearing or any combination of the two: this is a fundamental assumption behind any study of parasitism.

However, we agree with [3] that lines of further research to explain the low levels of anti-parasitic defences in any hosts should include both intraspecific and interspecific comparisons of costs of rearing a parasite across different populations of the same host species and different species, respectively, to determine if and how costs are correlated with host defences. We recently performed such metareplication in a different host [9]. We also agree with [3] in that the use of mathematical models will be useful only if based on empirically determined and quantified costs and benefits of host and parasite behaviour [2,9].

**Data accessibility.** This article has no additional data.



## References

1. Davies NB. 2000 *Cuckoos, cowbirds and other cheats*. London, UK: T. & A. D. Poyser.
2. Samaš P, Rutila J, Honza M, Kysučan M, Grim T. 2018 Rearing a virulent common cuckoo is not extra costly for its only cavity-nesting host. *Proc. R. Soc. B* **285**, 20181710. (doi:10.1098/rspb.2018.1710)
3. Yang C, Liang W, Møller AP. 2019 Similar immediate costs of raising cuckoo and host chicks can hardly explain low levels of antiparasite defence in hosts. *Proc. R. Soc. B* **286**, 20182430. (doi:10.1098/rspb.2018.2430)
4. Fossøy F *et al.* 2016 Ancient origin and maternal inheritance of blue cuckoo eggs. *Nat. Commun.* **7**, 10272. (doi:10.1038/ncomms10272)
5. Grim T, Rutila J. 2017 Cuckoo-host coevolutionary interactions across all breeding stages: unusual ecological setting of a cavity-nesting host. In *Avian brood parasitism: behaviour, ecology, evolution and coevolution* (ed. M Soler), pp. 287–303. Cham, Switzerland: Springer International Publishing.
6. Montgomerie RD, Weatherhead PJ. 1988 Risks and rewards of nest defence by parent birds. *Q. Rev. Biol.* **63**, 167–187. (doi:10.1086/415838)
7. Lyon BE. 2003 Egg recognition and counting reduce costs of avian conspecific brood parasitism. *Nature* **422**, 495–499. (doi:10.1038/nature01505)
8. Grim T, Kleven O, Mikulica O. 2003 Nestling discrimination without recognition: a possible defence mechanism for hosts towards cuckoo parasitism? *Proc. R. Soc. Lond. B* **270**, S73–S75. (doi:10.1098/rsbl.2003.0017)
9. Samaš P, Grim T, Jelínek V, Abraham MM, Šulc M, Honza M. 2019 No immediate or future extra costs of raising a virulent brood parasite chick. *Behav. Ecol.* **30**, 1020–1029. (doi:10.1093/beheco/arz043)
10. Martin TE. 2014 A conceptual framework for clutch-size evolution in songbirds. *Am. Nat.* **183**, 313–324. (doi:10.1086/674966)

## Příspěvek IV

### Post-fledging interactions between the Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity-nesting Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus* host



Transmittery vybavená mlád'ata obou druhů interagujících v rámci kukačko-rehčích systému vyfocena v průběhu pohnízdní fáze. Kukaččí mládě (nahore) je v tomto období až šestkrát mohutnější než rodiče či mlád'ata rehků zahradních (viz také oddíl 1.2). U čerstvě vyvedených rehčích mlád'at (dole), jsem často pozoroval vytváření skupinek žadonících o potravu (foto: autor práce).



# Post-fledging interactions between the Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity-nesting Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus* host

 MICHAL KYSUČAN,<sup>1</sup> PETER SAMÁŠ<sup>2</sup> & TOMÁŠ GRIM<sup>3\*</sup> 
<sup>1</sup>Department of Zoology and Laboratory of Ornithology, Palacký University, 17. listopadu 50, Olomouc CZ-77146, Czech Republic

<sup>2</sup>Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Květná 8, Brno CZ-60365, Czech Republic

<sup>3</sup>Na Orátě 497, Hlubočky CZ-78361, Czech Republic

Brood parasite–host interactions during the incubation and nestling stages have been well studied, but the post-fledging period remains virtually unknown. Using radiotracking, we provide the first detailed data on post-fledging interactions between the Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its only regular cavity-nesting host, the Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus*. Cuckoos raised alone ('solitary') fledged at higher mass, with higher wing and tarsus length and started to fly at a younger age than Cuckoos raised alongside young Redstarts ('mixed'). However, a further 23 fledging and post-fledging parameters measured at five pre-determined times (fledging, first-flight, predation, starvation, independence) did not differ between solitary and mixed Cuckoos. In addition, none of the parameters measured during the post-fledging period (growth, dispersal distances, number of flights) differed between solitary and mixed Cuckoos. Redstart fledglings from non-parasitized broods ('solitary') showed generally similar fledging and post-fledging parameters to fledglings reared alongside a Cuckoo ('mixed'). Surprisingly, there were no significant differences in post-fledging predation rate, starvation or overall survival rates between mixed and solitary Cuckoos or mixed and solitary Redstarts. Thus, during the post-fledging period, mixed Cuckoo fledglings successfully compensated for the poorer performance experienced during the nestling stage whereas mixed and solitary Redstarts did not differ in any measured parameters. This suggests that the regular occurrence of mixed broods in this host–parasite system – which is unique among the many Cuckoo hosts – is evolutionarily stable for both hosts and parasites.

**Keywords:** brood parasitism, fledgling survival, independence, post-fledging, predation, radiotracking, starvation.

The post-fledging period is the time after young birds leave the nest and before they achieve independence, disperse or migrate (Cox *et al.* 2014). The first weeks after fledging are the most critical for development and survival of most birds (Anders *et al.* 1997, Cox *et al.* 2014, Soler *et al.* 2014a, Martin *et al.* 2018). The post-fledging period, as the last phase of avian parental care, also determines the success of prior parental investment (Grüebler & Naef-Daenzer 2010).

Data on fledgling survival are thus crucial for estimating population productivity (Anders *et al.* 1997). Despite its fundamental importance, the post-fledging period remains poorly studied, especially compared with other avian developmental stages (Cox *et al.* 2014). The main reason is the difficulty of following and observing young mobile birds after they have left the nest (Kershner *et al.* 2004, Thompson & Ridley 2013).

Avian brood parasites are no exception. An additional difficulty is that higher numbers of nests must be monitored (compared with non-parasitic birds) to ensure sufficient sample sizes because

\*Corresponding author.  
 Email: tg.cuckoo@gmail.com

only a small proportion of host nests are usually parasitized (Davies 2000, Grim *et al.* 2011) and the long nestling periods of parasites relative to hosts may reduce the probability of successful fledging (at least in some hosts: Jelínek *et al.* 2016). Except for the parasitic cowbirds (*Molothrus* spp.) and their hosts (Woodward 1983, Rasmussen & Sealy 2006, De Mársico *et al.* 2012) and the Great Spotted Cuckoo *Clamator glandarius* and its Eurasian Magpie *Pica pica* host (Soler *et al.* 1994, 2014a), very little is known about the interactions between hosts and fledged brood parasites (De Mársico *et al.* 2017). Especially striking is the lack of data for the otherwise best-studied brood parasite, the Common Cuckoo *Cuculus canorus* (hereafter: Cuckoo) (Davies 2000, Mikulica *et al.* 2017).

Compared with hundreds of egg studies and dozens of nestling studies (Grim 2007a), only three studies have been published on the Cuckoo post-fledging period. Wyllie (1981) studied a reasonable sample size of Cuckoos raised by Eurasian Reed Warblers *Acrocephalus scirpaceus* (hereafter: 'Reed Warbler') but he reported only the ages at first flight, survival rate and length of post-fledging period, but no other information about fledgling biology. Vega *et al.* (2016) followed post-fledging and migratory movements of Cuckoo fledglings raised by Common Redstarts *Phoenicurus phoenicurus* (hereafter: 'Redstart') using satellite tracking, but they reported only the survival rate and length of post-fledging dependent period (estimated indirectly from satellite data). Tyller *et al.* (2018) provided detailed data on post-fledging care by a host Common Chaffinch *Fringilla coelebs* but their study was based only on a single Cuckoo fledgling. None of these three studies reported comparative data on hosts' own fledglings. Without quantification of reproductive output and host care for their own progeny it is impossible to determine how costly host care is for the parasite relative to baseline parental effort delivered to the host's own young (Rasmussen & Sealy 2006, Samaš *et al.* 2018). Such costs affect selection pressures on the evolution of host defences and are central to our understanding of parasite–host coevolution (Takasu *et al.* 1993, Davies 2000, Soler *et al.* 2014a, Soler 2017).

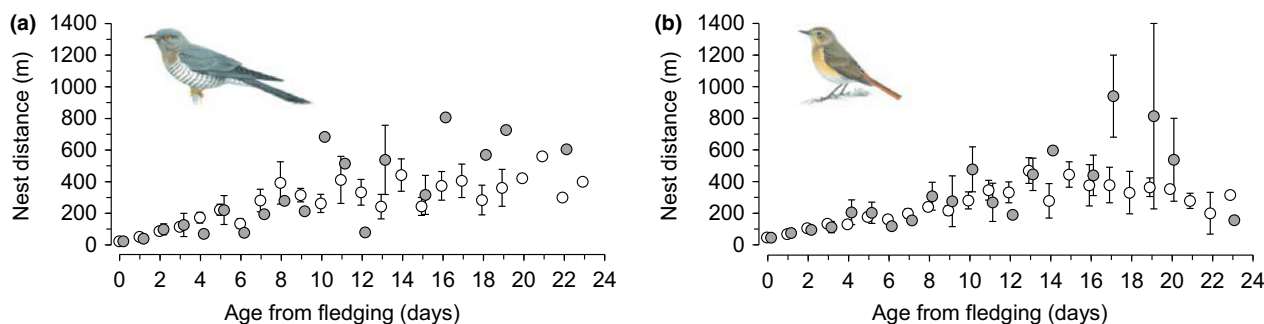
To help fill these knowledge gaps, we studied post-fledging care provided to Cuckoo and host chicks by Redstarts. The Redstart is the only known European cavity-nesting passerine that is regularly parasitized by the Cuckoo (Samaš *et al.*

2016, Yang *et al.* 2016), and has recently become a model system for the study of Cuckoo–host interactions (reviewed by Grim & Rutila 2017). Nests placed in a cavity make egg-laying difficult for female Cuckoos and significantly reduce their laying success (Rutila *et al.* 2002, Samaš *et al.* 2016, Thomson *et al.* 2016), and also make eviction of host eggs or chicks more difficult for Cuckoo hatchlings compared with open nests (Rutila *et al.* 2002, Grim *et al.* 2009a), often resulting in mixed broods (Samaš *et al.* 2016, Thomson *et al.* 2016). In such broods the Cuckoo shares the nest with Redstarts, often leading to early death of the Cuckoo nestling (Samaš *et al.* 2016, Thomson *et al.* 2016; see also Grim *et al.* 2011). Also, food composition of Redstarts may contribute to poor Cuckoo nestling performance, because Redstarts may in addition to invertebrates, feed the nestlings unusual (for otherwise purely insectivorous Cuckoo nestlings: Grim & Honza 2001) diet items, including fruits and lizards, which negatively affects Cuckoo fitness (Grim *et al.* 2017). Nevertheless, nothing is known about the Cuckoo and Redstart interactions during the post-fledging period.

As in recent studies (Rutila *et al.* 2002, Grim *et al.* 2009a,b, Samaš *et al.* 2016, 2018, Thomson *et al.* 2016), we took advantage of variation in brood composition by comparing broods where Cuckoos or Redstarts were raised alone ('solitary Cuckoos' and 'solitary Redstarts'), with those where they are raised together ('mixed broods').

We predicted that fledglings from mixed broods would fledge, start to fly and achieve independence later than solitary Cuckoos or solitary Redstart broods. Further, we expected lower values of measured performance parameters (see Methods) and lower survival rate in fledglings from mixed broods. In interspecific comparisons, we predicted that Cuckoos would fledge, start to fly and achieve independence when older than Redstarts, due to the greater developmental demands of the larger species (fig. 1 in Grim *et al.* 2017). Similarly, other physiological differences between the two species (e.g. poorly adapted digestive system of Cuckoos to Redstart food composition, see Grim *et al.* 2017), should slow the Cuckoo chick in its post-fledging development.

In addition, as in other host–parasite systems (Fraga 1998, Grim 2011, De Mársico *et al.* 2012, 2017), there is the possibility that Redstart hosts can distinguish a Cuckoo fledgling from their own



**Figure 1.** The post-fledging nest distances (i.e. dispersal distances from the natal nest; mean  $\pm$  se, from fledging = day 0) of Cuckoos (a) and Redstarts (b) reared in solitary broods (open circles; Cuckoos:  $n = 31$ , Redstarts:  $n = 27$ ) or in mixed broods (grey circles; Cuckoos:  $n = 9$ , Redstarts:  $n = 10$ ). Redstart data represent brood means. [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

fledglings and discriminate against it. Therefore, we predicted lower values of breeding performance parameters and a lower survival rate in Cuckoos than in Redstarts.

## METHODS

### Study site and population

We conducted this research during three consecutive breeding seasons (June–August 2014–2016) in southeastern Finland close to Ruokolahti (61°24' N, 28°37' E). The study site comprises cultivated Scots Pine *Pinus sylvestris* forest with low ground vegetation (Samaš *et al.* 2016).

Redstarts and Cuckoos in our study area have been studied for more than 30 years (Samaš *et al.* 2016) and, except for one natural nest, we studied an established host nestbox population (Samaš *et al.* 2016) because natural nests are very difficult to find (J. Haikola pers. comm., M. Kysučan *et al.* unpubl. data). All nestboxes were specifically designed for the study with an entrance diameter of 60–80 mm to facilitate both Cuckoo female laying and Cuckoo chick fledging. For further technical details, description of general field procedures and overall population analysis during the egg-laying, incubation and nestling stages, see Samaš *et al.* (2016) and Grim *et al.* (2017).

We studied four treatment groups. 'Solitary Cuckoo' fledglings ( $n = 31$ ) were reared without nest-mates (31 broods). 'Mixed Cuckoo' fledglings ( $n = 11$ ) were raised alongside Redstart chicks (nine broods, one Cuckoo per nest/brood), while the remaining two Cuckoo chicks shared one nest/brood without Redstart nest-mates ( $n = 10$  broods). 'Mixed Redstart' fledglings ( $n = 22$ ,

mean  $\pm$  se =  $2.3 \pm 0.3$  Redstart fledglings per nest) were those that were raised alongside the 10 Cuckoos ( $n = 10$  broods, one Cuckoo per nest). One Cuckoo died due to starvation 2 days before its Redstart nest-mates fledged and thus is not included in the Mixed Cuckoo group. Two Cuckoos sharing the same nest were included in the mixed group due to their mutual competition, which is similar to that in Cuckoo–Redstart mixed groups (Samaš *et al.* 2018). Both Cuckoos were treated as independent data points, as (1) before fledging, there were no signs of pseudoreplication because of the very different growth trajectories of the two chicks (resulting in divergent masses of 85 and 65 g at the equal age of 20 days) and (2) after fledging, each Cuckoo was attended independently by a different parent (male vs. female Redstart) and not cared for by the other host parent (i.e. brood division). 'Solitary Redstart' fledglings ( $n = 137$  from 27 broods, mean  $\pm$  se =  $5.1 \pm 0.3$  fledglings per nest) were raised in unparasitized broods, in other words without a Cuckoo.

### Transmitter attachment and ringing

In contrast to other radiotracking (Soler *et al.* 1994, 1995, 2014a,b, Tyller *et al.* 2018) or satellite-tracking (Vega *et al.* 2016) studies of avian brood parasites, we tracked both parasite and host offspring. In total, 42 Cuckoo nestlings from 41 different broods and 159 Redstart nestlings from 37 different broods that were fitted with transmitters successfully fledged (File S2).

To minimize potential transmitter effects, we chose the transmitters weighing  $<5\%$  of chick mass, as recommended for small birds (Barron *et al.* 2010). Therefore, we used two types of glue-

mounted transmitters (Biotrack Ltd., Wareham, UK). For Cuckoos we used 2.1-g (2.3% of Cuckoo mass during tagging:  $91.7 \pm 2.4$  g,  $n = 42$ ) PiP3 Ag393 tags with a 15-cm-long wire antenna and a detection range of 200–600 m ground to ground and 500–1200 m above ground. For Redstarts we used 0.7-g (4.7% of Redstart mass during tagging:  $15.8 \pm 0.1$  g,  $n = 159$ ) PicoPip Ag376 tags with a 12-cm-long wire antenna and a detection range of 80–300 m ground to ground and 150–600 m above ground. We attached the transmitters with cyanoacrylate superglue to clipped and degreased (by acetone) back feathers (following Diemer *et al.* 2014).

We attached the transmitters 2–3 days before the estimated fledging date to maximize the number of tagged fledglings and allow the chicks to become accustomed to transmitters (following Soler *et al.* 2014a). Presumed fledging dates of Cuckoos (18 days post-hatch) and Redstarts (13 days post-hatch) were calculated based on data from 11 breeding seasons from our study site (Samaš *et al.* 2016). We set hatching day as 0 (following Grim & Samaš 2016). In retrospect, the transmitters were attached  $2.2 \pm 0.1$  days (mean  $\pm$  se,  $n = 201$ ; precision: days) before the real fledging date, which we determined from nest checks and video-recordings. Thus, we tagged the fledglings at maximum body size and age and, at the same time, avoided the threat of premature fledging which could be caused by late tagging (Ausprey & Rodewald 2011).

Transmitter loss was expected with moulting (Diemer *et al.* 2014) of young Cuckoos prior to migration (Verheyen 1950, Stresemann & Stresemann 1961, Rohwer & Broms 2013). Nevertheless, during the first field season (2014) five of 16 Cuckoos and 40 of 73 Redstarts lost their transmitters before attaining independence (average transmitter attachment duration from fledging: Cuckoos: mean  $\pm$  se =  $10.2 \pm 2.7$  days,  $n = 5$ ; Redstarts:  $5.0 \pm 0.7$  days,  $n = 40$ ). Therefore, in the next two field seasons, in addition to glue attachment we used a modified wing loop (figure-of-eight) back-pack harness (following Anders *et al.* 1997, Hill *et al.* 1999) made of a cotton-nylon elastic string (following Rappole & Tipton 1991). We could not use the most recommended figure-of-eight leg loop (Raim 1978) due to still undeveloped nestling bodies (especially tail feathers), which caused transmitter loss when we tried to follow such a procedure. Thus, the harness was tied under each wing, leaving room for sufficient

motion range and growth of the chicks' wings and pectoral muscles (Anders *et al.* 1997). This method has been effective in small and medium-sized birds, without interfering with their behaviour (Hill *et al.* 1999). As a result, during 2015 none of 13 Cuckoo fledglings and only 16 of 60 Redstart fledglings lost their transmitter (average transmitter attachment duration:  $4.6 \pm 1.4$  days,  $n = 16$ ). In 2016, none of 13 Cuckoos and none of 26 Redstarts lost transmitters.

During transmitter attachment, we banded the right leg (left in one case) of each fledgling with a numbered metal ring (Finnish Museum of Natural History). Both legs were further banded with a unique combination of colour plastic rings (Eco-tone Plain colour rings) for individual long-distance visual recognition of fledglings from the same brood or from nearby nests. We also measured physical parameters of body mass, wing length and tarsus length in all chicks during each nest visit from tagging until fledging.

### Determining the exact date of fledging events

Using motion-activated infrared SpyCamera CCTV cameras, we video-recorded 63 nests at the end of the nestling stage to determine the exact date of fledging events (29 solitary Cuckoo broods, 24 unparasitized Redstart broods and 10 mixed broods). To distinguish particular Redstart chicks during fledging events we individually marked 49 nestlings from 14 complete broods (seven unparasitized and seven mixed) with differently shaped white paper stickers glued to the transmitters (following Porkert & Špinka 2004).

Altogether, 201 tagged nestlings (42 Cuckoos and 159 Redstarts) successfully fledged. We obtained the exact fledging date from video-recordings of 163 fledglings: 39 Cuckoos and 124 Redstarts. Seventy-five of these 124 Redstarts were unmarked but their broods ( $n = 15$ ) completely fledged within a single day and therefore we were able to obtain their exact fledging dates. For the remaining fledglings (three Cuckoos and 35 Redstarts), which were not recorded or were not marked and whose brood fledged over the course of more than a single day, we estimated the fledging date with a precision of 32 h (i.e. we consistently used a mid-point between the last nest check when the chick was present in the nest and the first nest check when the chick was already fledged: Grim 2007b).

To prevent premature fledging of nestlings (Grim 2007b), we installed the cameras while the transmitter attachments, ringing and nestling measurements were being conducted. To minimize disturbance at video-recorded nests we used car-batteries to power the cameras and a wooden box extension for camera placement (fig. 2b in Samaš *et al.* 2016). We conducted video-recordings from tagging day until the last chick in the nest fledged.

### Post-fledging period study procedures

From the expected fledging date, we visited the nest area once or twice a day and started radio-tracking when we noticed that fledging had begun. We used a portable 4-MHz Sika receiver with hand-held Lintec flexible three-element Yagi antenna (138 MHz) to radiotrack the fledglings. The following parameters were recorded consistently by the same person (M.K.).

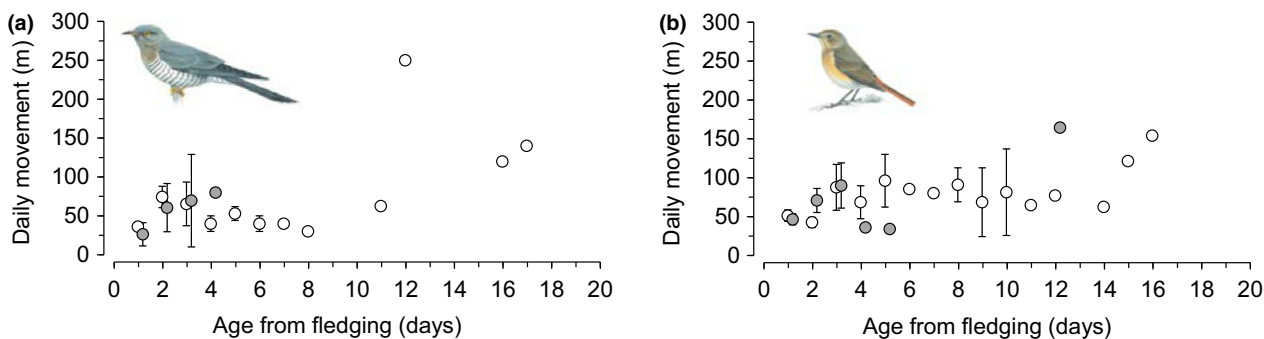
First, after the visual contact with a tracked fledgling, the observer recorded its GPS position ('original point', precision 2–6 m) using the mobile application Locus Map Version 2.10.1 to measure 'nest distance' (i.e. distance in metres between the fledgling's original point and its natal nest) and 'daily dispersal distance' (i.e. distance between locations on successive days). Data from non-consecutive days were excluded to make temporal periods consistent (always 1 day) and thus comparable.

Secondly, the observer approached the fledgling. When the presence of the observer or an attempt to capture the fledgling (see below) flushed it from its original point, we recorded the 'fleeing distance' (in metres) from the original

point (following Hanley *et al.* 2015). Further, the observer recorded the 'number of flights per hour' without flushing the fledgling (i.e. number of flights during 1 h of observation when the observer was covered by a camouflage net and vegetation and maintained visual contact with the focal fledgling; following Soler *et al.* 1994). This parameter was impossible to record when the fledglings started to fly well, so we have no data for fledglings after independence.

Thirdly, the observer caught and measured the fledgling. During the first days after leaving a nest, most chicks remain motionless, cannot fly or fly clumsily (Wyllie 1981), and can be easily caught by an observer (Tyller *et al.* 2018). For such fledglings, we measured their body mass with a portable electronic balance (precision 0.1 g), their wing length with a ruler (following fig. 4.4 in Sutherland *et al.* 2004; precision 1 mm) and tarsus length with a digital calliper ('maximum tarsus length', following fig. 4.5a in Sutherland *et al.* 2004; precision 0.1 mm). Additionally, we report, as a baseline, 'fledging mass', i.e. the first measurement of chick body mass after a fledging event (this did not necessarily happen on the fledging day, see section Determining the exact date of fledging events).

Radiotracking was conducted daily until a fledgling started to fly well. Then, the fledgling was located at least every third day until its death (predation or starvation), or the first sign of its independence, which was judged by cessation of begging behaviour and lack of feeding and alarm calls from the adult Redstarts (following Tyller *et al.* 2018, see also Woodward 1983, Tarwater *et al.* 2011). We managed to confirm our assessment of



**Figure 2.** Post-fledging daily dispersal distances (i.e. daily movements; mean  $\pm$  se; from fledging = day 0) of Cuckoos (a) and Redstarts (b) reared in solitary broods (open circles; Cuckoos:  $n = 25$ , Redstarts:  $n = 17$ ) or in mixed broods (grey circles; Cuckoos:  $n = 5$ , Redstarts:  $n = 7$ ). Redstart data represent brood means. 0 = day of fledging. [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

independence in seven (five solitary and two mixed) Cuckoos and eight (three solitary and five mixed) Redstarts several days after the estimated independence (mean  $\pm$  se =  $3.3 \pm 0.4$  days,  $n = 15$ ).

We scored fledglings as gaining independence (confirmed visually) or not. We scored the fledgling's status as 'unknown' when the fledgling lost its transmitter ( $n = 61$ ), the transmitter signal could not be located (lost signal,  $n = 51$ ) or we finished data collection before the fledgling achieved independence ( $n = 7$ ). Fledglings with unknown status were excluded from calculation of post-fledging predation, starvation and survival rates.

We identified five pre-determined situations in the post-fledging period; these included two time-points and three possible outcomes: 'Fledging' was the day when a chick left the nest, i.e. the start of the post-fledging period; 'First flight' was the day when a Cuckoo chick flew further than 3 m or a Redstart chick flew further than 2 m, which enabled them to escape from ground predators (Wyllie 1981). When fledglings did not survive until independence, we recorded the two causes of its death. 'Predation' means that we found the remains of a fledgling's body or the transmitter in an active raptor nest or with some other indication of predation (such as antenna damage, presence of bitten feathers or blood). 'Starvation' means that we found the fledgling dead with obvious signs of malnutrition and no signs of predation (Grim 2007b). Finally, 'independence' means that the fledgling had no remaining contact with the adult Redstarts that had raised it and was alive. At each situation, we always recorded 'age from hatching' as the number of days from hatching (hatching day = 0, precision = 1 day) and 'age from fledging' as the number of days from fledging (fledging day = 0, precision = 1 day).

Physical parameters of body mass, wing length and tarsus length were measured in all catchable fledglings during the radiotracking phase between fledging and independence, disappearance or death. We attempted to reduce disturbance of fledglings as much as possible and measured only flightless fledglings; flying fledglings were solely observed from a distance.

## Data analysis

All analyses were conducted with R 3.5.0 (R Core Team 2018) and STATISTICA 13 (TIBCO

Software Inc. 2017). We compared multiple parameters among fledgling groups and performed two major analyses: (1) we examined change of focal parameters across the post-fledging period and (2) we compared focal parameters in the five pre-determined situations of biological interest (fledging, first flight, predation, starvation, independence). We did not apply Bonferroni corrections because our study is necessarily exploratory and, due to the number of compared parameters, any correction for multiple tests would lead to too strict alpha-values and would greatly increase the risks of type II errors (Nakagawa 2004).

### Tests over the post-fledging period

We tested fixed effects of 'group' (categorical; solitary Cuckoo, mixed Cuckoo, solitary Redstart, mixed Redstart) and 'age' (continuous; fledgling age) on the four response variables: nest distance (continuous, log-transformed), daily dispersal distance (continuous, log-transformed), number of flights per hour (counts) and body mass (continuous). In all cases we employed a linear mixed model with identity link except for the response variable number of flights per hour, which was modelled using a marginal model with Poisson error distribution and log link. In all full models we additionally included 'age<sup>2</sup>' (continuous; quadratic term to test for potential non-linear effects of fledgling age) and the interactions of 'group' with 'age' and 'group' with 'age<sup>2</sup>'. In all but one statistical model (see below) we controlled for fledgling age, nestling identity (ID) and brood ID variation by employing a nested random slope model (i.e. random effect for slopes of fledgling age assigned to random effects of nestling ID nested within brood ID). To account for temporally correlated data (repeated measurements), we used a continuous first-order autoregressive correlation structure which allows observations that are further apart from each other to be less strongly correlated.

We used a four-level predictor 'group' (see above) in all models except the one analysing post-fledging body mass. In the latter case we employed two linear mixed models (one for each species) because each species markedly differed in fledging mass (Grim *et al.* 2017). One model included only Cuckoos (categorical; solitary Cuckoo, mixed Cuckoo), another only Redstarts



**Table 1.** Definitions of terms.

| Term                       | Definition   |
|----------------------------|--|
| Pre-determined time points |  |
| Fledging                   | Day when a chick left the nest.  |
| First flight               | Redstart flew >2 m, Cuckoo flew >3 m.  |
| Predation                  | Rest of fledgling's body or transmitter with some indication of predation found.                             |
| Starvation                 | Fledgling found dead with obvious signs of malnutrition and no signs of predation.                           |
| Independence               | Fledgling had no remaining contact with the adult Redstarts that had raised it and was alive.                |
| Post-fledging parameters   |  |
| Age from hatching          | Fledgling's age from hatching day (in days; 0 = hatching day).   |
| Age from fledging          | Fledgling's age from the day it left its nest (in days; 0 = fledging day).                                   |
| Nest distance              | Distance from the nestbox (in metres; precision 1 m).  |
| Daily dispersal distance   | Distances between fledgling's locations on successive days (in metres; precision 1 m).                       |
| Fleeing distance           | Distance that the fledgling flew after being flushed by the approaching observer (in metres; precision 1 m). |
| Number of flights per hour | Number of flights during 1 h of observation.   |
| Fledging mass              | The first measurement of chick's body mass after fledging event (precision 0.1 g).                           |
| Wing length                | The length of fledgling's wing (in mm; precision 1 mm).  |
| Tarsus length              | Maximum tarsus length (in mm; precision 0.1 mm).   |

(categorical; solitary Redstart, mixed Redstart). For Cuckoos, we excluded the random effect of brood ID because all broods contained only a single Cuckoo, except one case when two Cuckoos shared one nest – these were treated as two individual Cuckoos and both assigned to the 'group' mixed Cuckoo (exclusion of one of these Cuckoos from the shared nest did not affect analytical outcomes).

We present outputs from both the full (recommended by Forstmeier & Schielzeth 2011) and final reduced models (recommended by Grafen & Hails 2002). We used backward elimination of non-significant ( $\alpha = 0.05$ ) terms but kept the main predictors of interest 'group' and 'age' in the models regardless of their significance (as recommended by Grafen & Hails 2002).

We used the packages nlme (version 3.1-131, Pinheiro *et al.* 2017) for statistical models with

normal error distribution and geepack (version 1.2-1, Halekoh *et al.* 2006) for the marginal model with Poisson error distribution.

#### *Tests at time points of biological interest*

We tested effects of 'group' (categorical; solitary Cuckoo, mixed Cuckoo, solitary Redstart, mixed Redstart) on the 27 fledging and post-fledging parameters (Table 1) categorized into five pre-determined time points of biological interest (fledging, first flight, predation, starvation, independence; Table 1). Before analyses, we averaged each Redstart parameter per brood ID in nests containing multiple Redstarts. Each Cuckoo was treated as an individual, including one case when two Cuckoos shared one nest (both assigned into the mixed Cuckoo group). We employed a linear model with identity link and normal distribution and in some cases used a log transformation of a response variable to meet the assumptions of normality for model residuals. We used Tukey's post-hoc test (package multcomp, version 1.4.8, Hothorn *et al.* 2008) to test for differences between groups, specifically solitary Cuckoo vs. mixed Cuckoo, solitary Redstart vs. mixed Redstart, solitary Cuckoo vs. solitary Redstart and mixed Cuckoo vs. mixed Redstart. For the three parameters of predation, starvation and survival rate we applied a Cox proportional-hazards model (Cox 1972) using the package survival (version 2.41.3, Therneau & Grambsch 2000) and again used Tukey's post-hoc test for between-group comparisons.

## RESULTS

### The post-fledging period

The average nest distance during the post-fledging period did not differ between the groups ( $\chi^2 = 5.4$ ,  $P = 0.14$ ,  $n = 189$  fledglings) but it increased non-linearly with age in all fledgling groups ( $\chi^2 = 179.6$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 1, Supporting Information Table S1 in File S1). Fledglings from mixed broods increased their distance from nest with advancing age at higher rates than Cuckoos or Redstarts from solitary broods ( $\chi^2 = 20.3$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 1, Table S1 in File S1).

The daily dispersal distance during the post-fledging period increased with age in all fledgling groups ( $\chi^2 = 3.5$ ,  $P = 0.05$ ,  $n = 113$  fledglings; Fig. 2, Table S2 in File S1). Groups did not

significantly differ in average daily dispersal distances: solitary Cuckoo (adjusted mean = 41 m, 95% CI 29–57), mixed Cuckoo (mean = 23, 95% CI 13–44), solitary Redstart (mean = 46, 95% CI 34–62) and mixed Redstart (mean = 48, 95% CI 29–81) ( $\chi^2 = 6.1$ ,  $P = 0.11$ ; Table S2 in File S1).

The number of flights per hour during the post-fledging period differed between groups ( $\chi^2 = 23.0$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 76$  fledglings; Table S3 in File S1). The number of flights showed an increasing trend with advancing fledgling age in solitary Cuckoo, mixed Cuckoo and mixed Redstart groups but a decreasing trend in solitary Redstarts ( $\chi^2 = 18.7$ ,  $P = 0.0003$ ; Fig. 3, Table S3 in File S1).

For Cuckoo fledglings ( $n = 32$ ), body mass was higher in solitary Cuckoos ( $\chi^2 = 26.1$ ,  $P < 0.001$ ) and in both groups (solitary and mixed) body mass decreased non-linearly with advancing age throughout the post-fledging period ( $\chi^2 = 4.3$ ,  $P = 0.04$ ; Fig. 4a, Table S4a in File S1). Both Redstart fledgling groups ( $n = 120$  fledglings) had a similar body mass ( $\chi^2 = 2.9$ ,  $P = 0.09$ ) and decreased mass linearly with advancing age ( $\chi^2 = 10.2$ ,  $P = 0.001$ ; Fig. 4b, Table S4b in File S1).

### Time points of biological interest

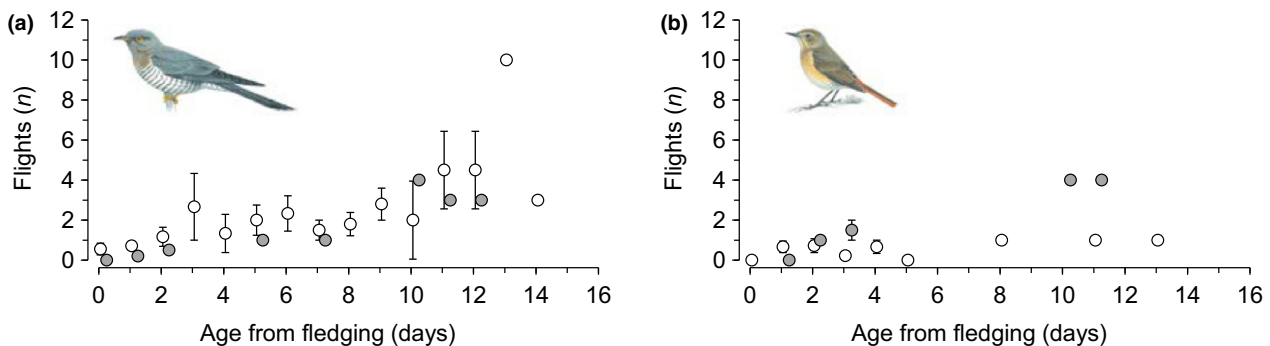
On fledging day, solitary Cuckoos ( $n = 31$ ) were the same age as mixed Cuckoos ( $n = 10$ ) but weighed more and had longer wings and tarsi (Fig. 5, Table S5 in File S1). Solitary Cuckoos fledged at a greater age than did solitary Redstarts ( $n = 27$ ). Similarly, in mixed broods, Cuckoos fledged at a greater age than Redstarts ( $n = 10$ ). However, there were no significant differences in

age, mass, wing or tarsus length between solitary Redstarts and those in mixed broods (Fig. 5, Table S5 in File S1).

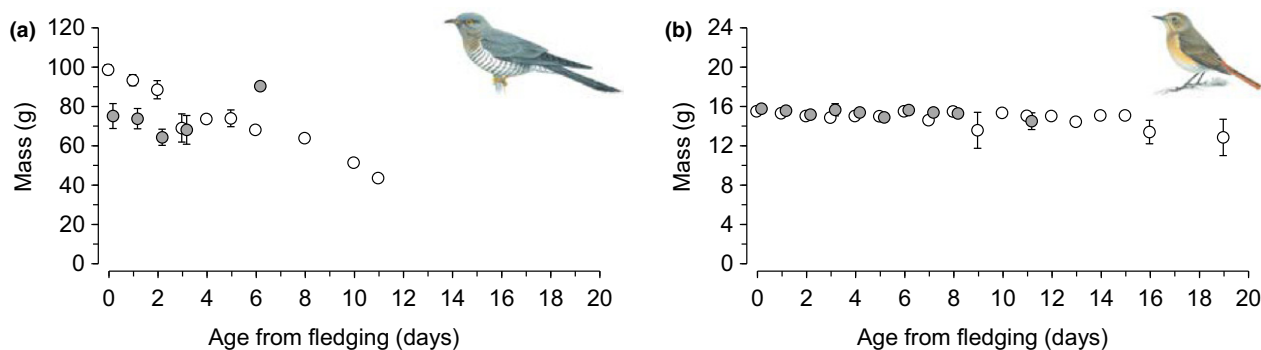
When they first flew, solitary Cuckoos ( $n = 25$ ) were younger (from hatching) than Cuckoos from mixed broods ( $n = 4$ ); nevertheless, age from fledging, nest distance, fleeing distance, mass, wing and tarsus length did not differ between the Cuckoo groups (Fig. 5, Table S5 in File S1). Solitary Cuckoos first flew at a greater age (from hatching) and performed longer fleeing distances than solitary Redstarts ( $n = 23$ ), whereas age from fledging and nest distance were higher in solitary Redstarts. Cuckoos from mixed broods first flew when older than Redstarts from mixed broods ( $n = 9$ ). However, age from fledging, nest distance and fleeing distance at first flight did not differ between the two groups. Solitary Redstarts first flew when younger (from hatching) than Redstarts from mixed broods. In contrast, age from fledging, nest distance, fleeing distance, mass, wing and tarsus length did not differ between the Redstart groups (Fig. 5, Table S5 in File S1).

Predated ( $n = 28$ ) and starved fledglings ( $n = 11$ ) did not differ in age from hatching, age from fledging, nest distance, predation or starvation rates among all fledgling groups. Starved solitary Cuckoos did not differ in mass, wing or tarsus length from starved Cuckoos from mixed broods. Similarly, starved Redstarts from solitary broods did not differ in these body parameters from starved Redstarts from mixed broods (Fig. 5, Table S5 in File S1).

At independence, solitary Cuckoos did not differ in their age from hatching from Cuckoos from



**Figure 3.** The post-fledging number of flights per hour (mean  $\pm$  se; from fledging = day 0) after the first flushing, of Cuckoos (a) and Redstarts (b) reared in solitary broods (open circles; Cuckoos:  $n = 27$ , Redstarts:  $n = 14$ ) or in mixed broods (grey circles; Cuckoos:  $n = 7$ , Redstarts:  $n = 4$ ). Redstart data represent brood means. [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]



**Figure 4.** The post-fledging mass growth rate (mean  $\pm$  se), of Cuckoos (a) and Redstarts (b) reared in solitary broods (open circles; Cuckoos:  $n = 25$ , Redstarts:  $n = 22$ ) or in mixed broods (grey circles; Cuckoos:  $n = 7$ , Redstarts:  $n = 10$ ). Redstart data represent brood means. 0 = day of fledging. [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

mixed broods. In Redstarts as well, the age from hatching did not differ between chicks from mixed or solitary broods. Nevertheless, solitary Cuckoos ( $n = 9$ ) achieved independence at a greater age than Redstarts from solitary broods ( $n = 8$ ), and mixed Cuckoos ( $n = 2$ ) achieved independence at a greater age than mixed Redstarts ( $n = 5$ ). Age from fledging, nest distance, fleeing distance and survival rates did not differ among the fledgling groups (Fig. 5, Table S5 in File S1).

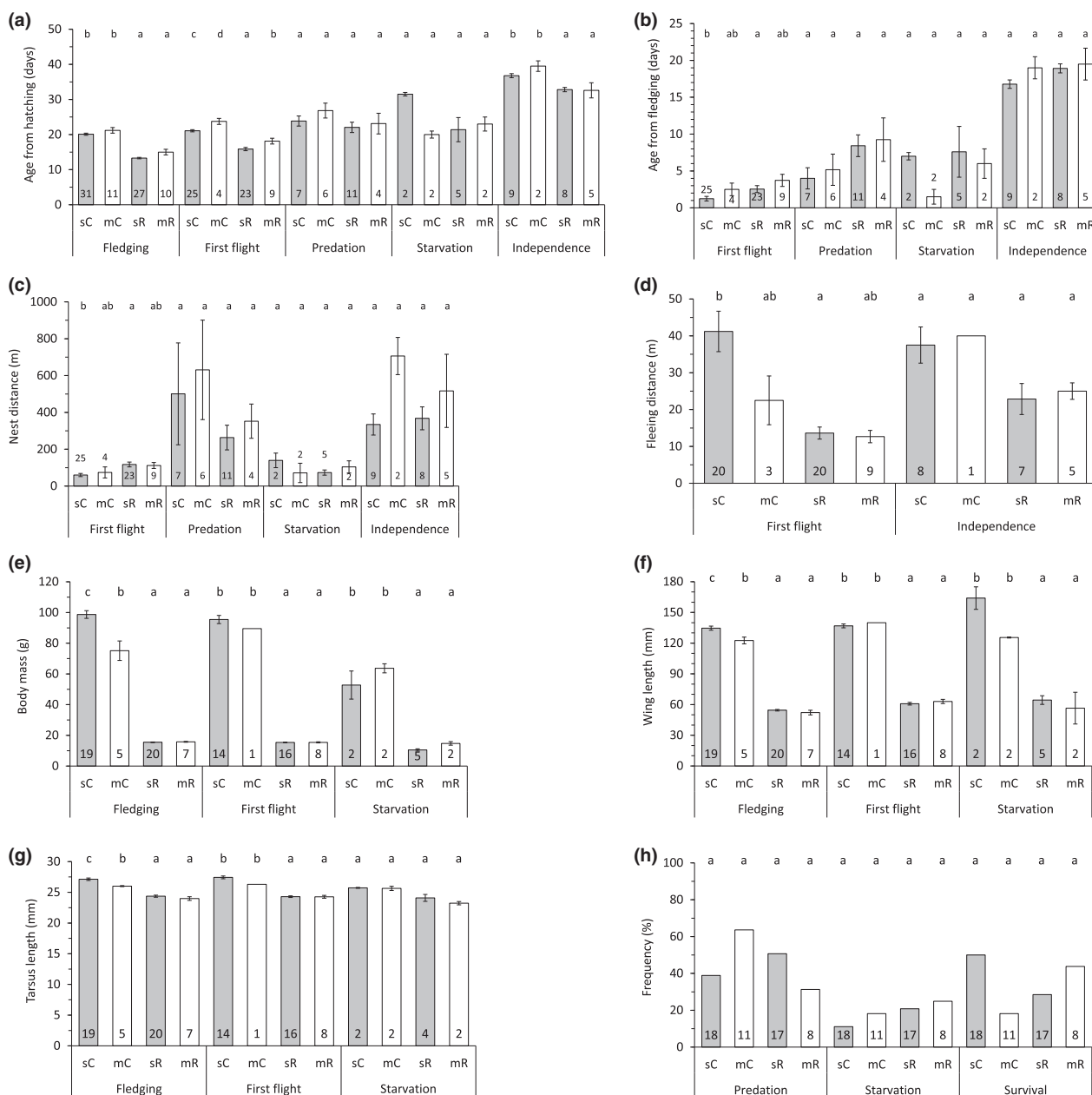
## DISCUSSION

Surprisingly, Cuckoo fledglings reared alongside Redstart chicks fledged at similar ages as solitary Cuckoos. However, and as predicted, Cuckoos from mixed broods showed delayed age at first flight and lower fledging masses, shorter wings and tarsi compared with solitary Cuckoo fledglings, although these effects lasted only for the first 3 days after fledging. Over the course of the post-fledging period, Cuckoo fledglings from mixed broods compensated for their biometric shortfall at fledging and did not differ from solitary Cuckoos in any measured parameters at independence. This pattern parallels a similar compensatory response by Cuckoo nestlings which follows an energetically demanding period of eviction of host eggs or chicks in both Redstart–Cuckoo (Grim *et al.* 2009a) and other systems (Anderson *et al.* 2009). We therefore did not find any support for parasite fledgling discrimination in Cuckoo–Redstart mixed broods (cf. De Marsico *et al.* 2012). Unexpectedly, Redstart fledglings from mixed broods did not suffer from sharing the nest with a Cuckoo, and fledged at similar ages, at similar masses and with similar wing and tarsus lengths as

Redstarts from solitary broods. Despite of delayed age at first flight, Redstarts from mixed broods compensated for this delay and achieved independence with similar parameters to those whose broods were not parasitized.

Solitary Cuckoos fledged, started to fly and achieved independence later after hatching compared with Redstarts from solitary broods. However, age from fledging at independence did not differ between the groups. Similarly, Cuckoos from mixed broods fledged, started to fly and achieved independence later after hatching compared with Redstarts from these broods. Nevertheless, age from fledging did not differ between the groups at either first flight or independence. Surprisingly, there was no significant difference in post-fledging predation rate, starvation and overall survival rates among all fledgling groups. Thus, our results suggest that the regular occurrence of mixed broods in this host–parasite system may be evolutionarily stable for both hosts and parasites (see also Samaš *et al.* 2018).

The ability of Cuckoos in mixed broods to compensate during the post-fledging period for smaller size and delayed ability to fly after leaving the host nest can perhaps be explained by the brood division we regularly observed in the Redstart study population. In mixed broods one of the adult Redstarts followed only Redstart fledglings which fledged (on average) almost 1 week earlier than the Cuckoo. This is advantageous for the Cuckoo, which receives undivided care from the second adult Redstart. An average Cuckoo nestling in a Redstart nest is fed at frequencies three times lower than a host brood of equal mass (Samaš *et al.* 2018). Therefore, if both adult Redstarts



**Figure 5.** Fledging and post-fledging parameters (mean ± se) among Cuckoos (C) and Redstarts (R) raised in solitary (s; grey bars) or in mixed broods (m; white bars) at pre-determined situations of biological interest (see Methods): (a) age from hatching, (b) age from fledging, (c) nest distance, (d) fleeing distance, (e) body mass, (f) wing length, (g) tarsus length and (h) outcome of the post-fledging period. Sample sizes are shown at the bottom of the bars and vary, e.g. because the fate of some fledglings was ‘unknown’ (see Methods). Results of between-group (sC, mC, sR, mR) post-hoc Tukey tests from linear models (Table S5) are denoted by letters above the bars: groups with different letters *within* each pre-determined situation are statistically significantly different. Not all potential combinations are included for various reasons (e.g. body measures cannot be taken from predated or independent fledglings).

feed all chicks in mixed broods almost equally (Grim *et al.* 2009a, 2017), then the absence of Redstart chicks is likely to result in an increase in

feeding rate for the Cuckoo even in the absence of one foster parent. As a result, Cuckoos from mixed broods may have received more food after

than before fledging of Redstart nest-mates, which thus may improve their condition during the post-fledging period (Cox *et al.* 2014).

Redstarts from mixed broods that survived a Cuckoo's eviction effort during the first days after hatching fledged at similar body mass to Redstarts from solitary broods. The Redstart chick accompanied by one weak Cuckoo competitor and one Redstart nest-mate (on average; see Methods) in a mixed brood probably experienced a similar or even higher provisioning rate as a Redstart chick reared with four other Redstart chicks (on average; see Methods) in a solitary Redstart brood (Samaš *et al.* 2018). In addition, the very large body size of the Cuckoo might affect heat loss rate in Redstart nest-mates, saving the energy required for thermoregulation in the sense that a large Cuckoo chick might in effect 'brood' the Redstart nest-mates (Grim *et al.* 2014). This cohabitation thus, paradoxically, may improve fledging condition of Redstarts in mixed broods, which is then maintained by continuous care by one parent during the post-fledging period.

Our results provide the first detailed and comprehensive insights based on reasonable sample sizes into the post-fledging period of any Cuckoo-host system. The only comparable study of Cuckoo post-fledging period (Wyllie 1981) found that Cuckoos in open-nesting Reed Warbler nests fledged on average 3–4 days earlier and first flew when they were 2–5 days younger than Redstart-Cuckoos. However, our mixed Cuckoos started to fly less than 1 day later and our solitary Cuckoos 1 day earlier after fledging than the Cuckoos raised by Reed Warblers (all numbers summarized from table 32 in Wyllie 1981). The relationship between higher fledging age and shorter time from fledging at first flight is consistent with prolonged nestling stage and flight capacity improvement in birds in general (Remeš & Matysioková 2016, Martin *et al.* 2018). In addition, both Cuckoo groups in our study reached independence older from hatching than those raised by Reed Warblers, but at similar age from fledging. Vega *et al.* (2016) assumed Cuckoos to be independent after they moved more than 20 km from the nest. Our observations show much lower nest distances at independence: 100–655 m in solitary Cuckoos and 605–807 m in Cuckoos from mixed broods (File S2).

Our results also showed about a week shorter nestling period in Redstarts than in young Cuckoos, but similar durations of post-fledging dependence.

The solitary Cuckoos achieved independence 2 days earlier after fledging compared with Redstarts from solitary broods. Thus, the prolonged nestling stage in cavity-nests and high predation risk of fledglings may be important factors driving the shortening of the Cuckoo post-fledging dependence period, in line with general patterns among birds (Remeš & Matysioková 2016). Another potential explanation to be tested in the future would be time-limited duration of parental care (as documented in a different Cuckoo host: Grim 2007b; see also Grim & Rutila 2017).

Predation, starvation and survival rates did not differ among fledgling groups. These results are not biased by the proportions of fledglings whose status we scored as unknown (see Methods) because proportions of 'unknown' fates did not differ among fledgling groups (File S2).

Only four (14%; two solitary and two mixed) of 29 Cuckoo fledglings died from starvation (see Methods), which confirmed Redstart as a suitable host for the Cuckoo in the sense of provisioning both before (Grim *et al.* 2017) and after fledging. Similarly, nine (17%) of 53 host fledglings starved during the post-fledging period (see Methods; Fisher's exact test  $P = 1.00$ ). Thus, our findings are in line with the pattern that predation, but not starvation, is the primary source of fledgling mortality in passerines (Sullivan 1989, Yackel-Adams *et al.* 2006).

In the present study, 38% (11 of 29) of Cuckoo fledglings certainly survived until independence (see Methods). This estimate is very similar to the 42% (five of 12; Fisher's exact test  $P = 1.00$ ) reported in a satellite telemetry study by Vega *et al.* (2016). Cuckoos raised by Reed Warblers in the study by Wyllie (1981) showed a survival rate of 22% (16 of 74) but this is not significantly different from the rate in this study (Fisher's exact test  $P = 0.13$ ). The overall post-fledging survival rate to independence (36%) in Redstarts (19 out of 53; see Methods) was also statistically identical to that of our Cuckoos (Fisher's exact test  $P = 1.00$ ).

Survival rate during the first 3 weeks after fledging ranged from 23 to 87% (mean  $\pm$  se =  $59.0 \pm 0.03\%$ ,  $n = 31$ ) in a review across passerine species (Cox *et al.* 2014). However, post-fledging survival rates of <40% combined with low over-winter survival may cause population declines (Cox *et al.* 2014). Vega *et al.* (2016) followed five Cuckoo fledglings raised alone in Redstart nests,

after achieving independence, and found a survival rate of 20% between independence and reaching the wintering grounds.

Finally, compensatory growth during the post-fledging period may itself influence development and survival of Cuckoos from mixed broods and may have long-term effects that are often not evident until much later in adult life (Metcalf & Monaghan 2001). To clarify these issues, further radio- and satellite-tracking studies of Cuckoos raised by Redstarts beyond the post-fledging dependence period are needed. The absence of similarly detailed studies prevents comparisons with other brood parasite–host systems, and this calls for more research on the virtually unknown post-fledging period in the context of avian co-evolutionary arms races.

We are grateful to J. Haikola, J. Rutila and Z. Tyller for help in the field, the Mustonen and Lindfors families for their hospitality and two anonymous reviewers and editors for helpful comments. The study was supported by the Czech Science Foundation grant no. P506/12/2404 (to T.G. and P.S.), the Human Frontier Science Program awards RGY69/2007 and RGY83/2012 (to T.G.) and Internal Grant Agency of Palacký University grants (PrF\_2014\_018, PrF\_2015\_018, IGA\_PrF\_2016\_017) (to M.K. and T.G.). This study, including tagging, ringing and colour-ringing of birds, was approved by the local Centre for Economic Development, Transport and the Environment (ELY-Centre) and complies with the current law of Finland (permits: KASELY/353/07.01/2010, ESAVI/2846/04.10.03/2012, VARELY/1825/2015).

## REFERENCES

- Anders, A.D., Dearborn, D.C., Faaborg, J. & Thompson, F.R. 1997. Juvenile survival in a population of Neotropical migrant birds. *Conserv. Biol.* **11**: 698–707.
- Anderson, M.G., Moskát, C., Bán, M., Grim, T., Cassey, P. & Hauber, M.E. 2009. Egg eviction imposes a recoverable cost of virulence in chicks of a brood parasite. *PLoS ONE* **4**: e7725.
- Ausprey, I.J. & Rodewald, A.D. 2011. Postfledging survivorship and habitat selection across a rural-to-urban landscape gradient. *Auk* **128**: 293–302.
- Barron, D.G., Brawn, J.D. & Weatherhead, P.J. 2010. Meta-analysis of transmitter effects on avian behaviour and ecology. *Methods Ecol. Evol.* **1**: 180–187.
- Cox, D.R. 1972. Regression models and life-tables. *J. R. Stat. Soc. B* **34**: 187–220.
- Cox, W.A., Thompson, F.R., Cox, A.S. & Faaborg, J. 2014. Post-fledging survival in passerine birds and the value of post-fledging studies to conservation. *J. Wildl. Manage.* **78**: 183–193.
- Davies, N.B. 2000. *Cuckoos, Cowbirds and Other Cheats*. London: T & AD Poyser.
- De Mársico, M.C., Gantchoff, M.G. & Reboreda, J.C. 2012. Host–parasite coevolution beyond the nestling stage? Mimicry of host fledglings by the specialist screaming cowbird. *Proc. R. Soc. Lond. B* **279**: 3401–3408.
- De Mársico, M.C., Fiorini, V.D., Tuero, D.T., Gloag, R., Ursino, C.A. & Reboreda, J.C. 2017. Parasite adaptations during the nestling and fledgling stages. In Soler, M. (ed.) *Avian Brood Parasitism: Behaviour, Ecology, Evolution and Coevolution*. Cham: Springer.
- Diemer, K.M., Wheeler, H.E. & Nocera, J.J. 2014. Retention rates of glue-attached radio-transmitters on two small bird species with contrasting life histories. *Wilson J. Ornithol.* **126**: 39–46.
- Forstmeier, W. & Schielzeth, H. 2011. Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner's curse. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **65**: 47–55.
- Fraga, R.M. 1998. Interactions of the parasitic Screaming and Shiny Cowbirds (*Molothrus rufoaxillaris* and *M. bonariensis*) with a shared host, the Bay-winged Cowbird (*M. badius*). In: Rothstein, S.I. & Robinson, S.K. (eds) *Parasitic Birds and Their Hosts: Studies in Coevolution*. New York: Oxford University Press.
- Grafen, A. & Hails, R. 2002. *Modern Statistics for the Life Sciences*. Oxford: Oxford University Press.
- Grim, T. 2007a. Equal rights for chick brood parasites. *Ann. Zool. Fenn.* **44**: 1–7.
- Grim, T. 2007b. Experimental evidence for chick discrimination without recognition in a brood parasite host. *Proc. R. Soc. Lond. B* **274**: 373–381.
- Grim, T. 2011. Ejecting chick cheats: a changing paradigm? *Front. Zool.* **8**: 14.
- Grim, T. & Honza, M. 2001. Does supernormal stimulus influence parental behaviour of the Cuckoo's host? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **49**: 322–329.
- Grim, T. & Rutila, J. 2017. Cuckoo-host coevolutionary interactions across all breeding stages: unusual ecological setting of a cavity nesting host. In Soler, M. (ed.) *Avian Brood Parasitism: Behaviour, Ecology, Evolution and Coevolution*: 287–303. Cham: Springer.
- Grim, T. & Smaš, P. 2016. Growth performance of nestling Cuckoos *Cuculus canorus* in cavity nesting hosts. *Acta Ornithol.* **51**: 175–188.
- Grim, T., Rutila, J., Cassey, P. & Hauber, M.E. 2009a. Experimentally constrained virulence is costly for Common Cuckoo chicks. *Ethology* **115**: 14–22.
- Grim, T., Rutila, J., Cassey, P. & Hauber, M.E. 2009b. The cost of virulence: an experimental study of egg eviction by brood parasitic chicks. *Behav. Ecol.* **20**: 1138–1146.
- Grim, T., Smaš, P., Moskát, C., Kleven, O., Honza, M., Moksnes, A., Røskft, E. & Stokke, B.G. 2011. Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts? *J. Anim. Ecol.* **80**: 508–518.
- Grim, T., Smaš, P., Procházka, P. & Rutila, J. 2014. Are tits really unsuitable hosts for the Common Cuckoo? *Ornis Fenn.* **91**: 166–177.
- Grim, T., Tyller, Z. & Smaš, P. 2017. Unusual diet of brood parasite nestlings and its fitness consequences. *Auk* **134**: 732–750.
- Grüebler, M.U. & Naef-Daenzer, B. 2010. Survival benefits of post-fledging care: experimental approach to a critical part of avian reproductive strategies. *J. Anim. Ecol.* **79**: 334–341.

- Halekoh, U., Højsgaard, S. & Yan, J. 2006. The R package geepack for generalized estimating equations. *J. Stat. Softw.* **15**: 1–11.
- Hanley, D., Samaš, P., Heryán, J., Hauber, M.E. & Grim, T. 2015. Now you see it, now you don't: flushing hosts prior to experimentation can predict their responses to brood parasitism. *Sci. Rep.* **5**: 9060.
- Hill, I.F., Cresswell, B.H. & Kenward, R.E. 1999. Field-testing the suitability of a new back-pack harness for radio-tagging passerines. *J. Avian Biol.* **30**: 135–142.
- Hothorn, T., Bretz, F. & Westfall, P. 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biom. J.* **50**: 346–363.
- Jelínek, V., Karasová, T., Weidinger, K., Procházka, P. & Honza, M. 2016. Do Common Cuckoo chicks suffer nest predation more than host nestlings? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **70**: 1975–1987.
- Kershner, E.L., Walk, J.W. & Warner, R.E. 2004. Postfledging movements and survival of juvenile Eastern Meadowlarks (*Stumella magna*) in Illinois. *Auk* **121**: 1146–1154.
- Martin, T.E., Tobalske, B., Riordan, M.M., Case, S.B. & Dial, K.P. 2018. Age and performance at fledging are a cause and consequence of juvenile mortality between life stages. *Sci. Adv.* **4**: eaar1988.
- Metcalfe, N.B. & Monaghan, P. 2001. Compensation for a bad start: grow now, pay later?. *Trends Ecol. Evol.* **16**: 254–260.
- Mikulica, O., Grim, T., Schulze-Hagen, K. & Stokke, B.G. 2017. *The Cuckoo: the Uninvited Guest*. Plymouth: Wild Nature Press.
- Nakagawa, S. 2004. A farewell to Bonferroni: the problems of low statistical power and publication bias. *Behav. Ecol.* **15**: 1044–1045.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S. & Sarkar, D. 2017. *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-131. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme> (accessed 4 January 2019).
- Porkert, J. & Špinka, M. 2004. Provisioning behaviour at the nest in single-parent versus biparental nests and male versus female parents in the Common Redstart (*Phoenicurus phoenicurus*). *Acta Ethol.* **7**: 29–36.
- R Core Team 2018. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available at: <http://www.R-project.org/> (accessed 7 June 2018).
- Raim, A. 1978. A radio transmitter attachment for small passerine birds. *Bird-Banding* **49**: 326–332.
- Rappole, J.H. & Tipton, A.R. 1991. New harness design for attachment of radio transmitters to small passerines. *J. Field Ornithol.* **62**: 335–337.
- Rasmussen, J.L. & Sealy, S.G. 2006. Hosts feeding only Brown-headed Cowbird fledglings: where are the host fledglings? *J. Field Ornithol.* **77**: 269–279.
- Remes, V. & Matysioková, B. 2016. Survival to independence in relation to pre-fledging development and latitude in songbirds across the globe. *J. Avian Biol.* **47**: 610–618.
- Rohwer, S. & Broms, K. 2013. Replacement rules for the flight feathers of Yellow-billed Cuckoos (*Coccyzus americanus*) and Common Cuckoos (*Cuculus canorus*). *Auk* **130**: 599–608.
- Rutilla, J., Latja, R. & Koskela, K. 2002. The Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity nesting host, the Redstart *Phoenicurus phoenicurus*: a peculiar cuckoo-host system? *J. Avian Biol.* **33**: 414–419.
- Samaš, P., Rutilla, J. & Grim, T. 2016. The Common Redstart as a suitable model to study cuckoo-host coevolution in a unique ecological context. *BMC Evol. Biol.* **16**: 255.
- Samaš, P., Rutilla, J., Honza, M., Kysučan, M. & Grim, T. 2018. Rearing a virulent Common Cuckoo is not extra costly for its only cavity-nesting host. *Proc. R. Soc. Lond. B* **285**: 20181710.
- Soler, M. (ed.) 2017. *Avian Brood Parasitism: Behaviour, Ecology, Evolution and Coevolution*. Cham: Springer.
- Soler, M., Palomino, J.J., Martínez, J.G. & Soler, J.J. 1994. Activity, survival, independence and migration of fledgling Great Spotted Cuckoos. *Condor* **96**: 802–805.
- Soler, M., Palomino, J.J., Martínez, J.G. & Soler, J.J. 1995. Communal parental care by monogamous Magpie hosts of fledgling Great Spotted Cuckoos. *Condor* **97**: 804–810.
- Soler, M., De Neve, L., Roncalli, G., Macías-Sánchez, E., Ibáñez-Álamo, J.D. & Pérez-Contreras, T. 2014a. Great Spotted Cuckoo fledglings are disadvantaged by Magpie host parents when reared together with Magpie nestlings. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **68**: 333–342.
- Soler, M., Pérez-Contreras, T., Ibáñez-Álamo, J.D., Roncalli, G., Macías-Sánchez, E. & De Neve, L. 2014b. Great Spotted Cuckoo fledglings often receive feedings from other Magpie adults than their foster parents: which Magpies accept to feed foreign cuckoo fledglings? *PLoS ONE* **9**: e107412.
- Stresemann, E. & Stresemann, V. 1961. Die Handschwinger-Mauser der Kuckucke (*Cuculidae*). *J. Ornithol.* **102**: 317–352.
- Sullivan, K.A. 1989. Predation and starvation: age-specific mortality in juvenile Juncos (*Junco phaenotus*). *J. Anim. Ecol.* **58**: 275–286.
- Sutherland, W.J., Newton, I. & Green, R. 2004. *Bird Ecology and Conservation: A Handbook of Techniques*. Oxford: Oxford University Press.
- Takasu, F., Kawasaki, K., Nakamura, H., Cohen, J.E. & Shigesada, N. 1993. Modeling the population dynamics of a cuckoo-host association and the evolution of host defenses. *Am. Nat.* **142**: 819–839.
- Tarwater, C.E., Ricklefs, R.E., Maddox, J.D. & Brawn, J.D. 2011. Pre-reproductive survival in a tropical bird and its implications for avian life histories. *Ecology* **92**: 1271–1281.
- Therneau, T.M. & Grambsch, P.M. 2000. *Modeling Survival Data: Extending the Cox Model*. Cham: Springer.
- Thompson, A.M. & Ridley, A.R. 2013. Do fledglings choose wisely? An experimental investigation into social foraging behaviour. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **67**: 69–78.
- Thomson, R.L., Tolvanen, J. & Forsman, J.T. 2016. Cuckoo parasitism in a cavity nesting host: near absent egg-rejection in a Northern Redstart population under heavy apparent (but low effective) brood parasitism. *J. Avian Biol.* **47**: 363–370.
- TIBCO Software Inc. 2017. Statistica (data analysis software system), version 13. Available at: <http://statistica.io>
- Tyller, Z., Kysučan, M. & Grim, T. 2018. Post-fledging behavior of the Common Cuckoo (*Cuculus canorus*) attended by the Chaffinch (*Fringilla coelebs*): a comprehensive approach to study the least known stage of brood parasite-host coevolution. *Wilson J. Ornithol.* **130**: 536–542.

- Vega, M.L., Willemoes, M., Thomson, R.L., Tolvanen, J., Rutila, J., Samaš, P., Strandberg, R., Grim, T., Fossøy, F., Stokke, B.G. & Thorup, K. 2016. First-time migration in juvenile Common Cuckoos documented by satellite tracking. *PLoS ONE* **11**: e0168940.
- Verheyen, R. 1950. La mue du Coucou d'Europe *Cuculus c. canorus* L. *Gerfaut* **40**: 212–231.
- Woodward, P.W. 1983. Behavioral ecology of fledgling Brown-headed Cowbirds and their hosts. *Condor* **85**: 151–163.
- Wyllie, I. 1981. *The Cuckoo*. London: Batsford.
- Yackel-Adams, A.A., Skagen, S.K. & Savidge, J.A. 2006. Modeling post-fledging survival of Lark Buntings in response to ecological and biological factors. *Ecology* **87**: 178–188.
- Yang, C., Li, Z., Zhang, Y., Wang, H., Liang, W. & Møller, A.P. 2016. Egg polymorphism and egg discrimination in the Daurian Redstart *Phoenicurus aureus*, a host of the Common Cuckoo *Cuculus canorus*. *Ornithol. Sci.* **15**: 127–132.

Received 12 June 2018;  
 revision accepted 8 February 2019.  
 Associate Editor: Eivin Roskaft.

## SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

**File S1: Table S1.** Outputs of model for nest distances, i.e. dispersal distances from the natal nest (log-transformed to meet the assumptions of normality), in Cuckoo and Redstart fledglings raised in solitary or mixed broods.

**File S1: Table S2.** Outputs of full and final models for daily dispersal distances (log-transformed to meet the assumptions of normality), in Cuckoo and Redstart fledglings raised in solitary or mixed broods.

**File S1: Table S3.** Outputs of full and final marginal models (Poisson distribution, log link) for number of flights per hour in Cuckoo and Redstart fledglings raised in solitary or mixed broods.

**File S1: Table S4.** Outputs of full and final models for change in body mass in (a) Cuckoo and (b) Redstart fledglings raised in solitary or mixed broods.

**File S1: Table S5.** Comparison of fledging and post-fledging parameters among Cuckoos and Redstarts raised in solitary or in mixed broods at pre-determined situations of biological interest.

**File S2.** Raw dataset used in this study. (XLSX).



## Příspěvek V

### Post-fledging behavior of the Common Cuckoo (*Cuculus canorus*) attended by the Chaffinch (*Fringilla coelebs*): a comprehensive approach to study the least known stage of brood parasite–host coevolution



Samec pěnkavy obecné přinášející zástupce řádu motýlů (Lepidoptera), jako potravu mláděti kukačky obecné během pohnízdni fáze. Tuto kukačku jsme sledovali dokonce deset dní po jejím osamostatnění na tomto hostiteli a měli jsme tak možnost úplného srovnání jejich pohybových schopností s kukačkami vyvedenými z rehčích hnízd. Tato kukačka například vykazovala průměrnou délku letu 61,4 m (n = 7 pozorování) v průběhu pohnízdni fáze, zatímco u rehčích kukaček (viz Příspěvek IV) jsme zaznamenali odpovídající hodnotu: 36,0 m (n = 105 pozorování u 25 kukaček, počítáno jako průměr z průměrů na kukačku; foto: Zdeněk Tyller).

The Wilson Journal of Ornithology 130(2):536–542, 2018

## Postfledging behavior of the Common Cuckoo (*Cuculus canorus*) attended by the Chaffinch (*Fringilla coelebs*): a comprehensive approach to study the least-known stage of brood parasite–host coevolution

Zdeněk Tyller,<sup>1\*</sup> Michal Kysučan,<sup>1</sup> and Tomáš Grim<sup>1</sup>

**ABSTRACT**—In contrast to the thoroughly studied incubation and nestling periods, the postfledging period of the Common Cuckoo (*Cuculus canorus*) remains virtually unknown. Here, we report detailed observations of a cuckoo fledgling attended by a male Chaffinch (*Fringilla coelebs*). Molecular data (nuclear DNA) showed the fledgling was a male belonging to the *Cuculus c. canorus*/*C. saturatus* clade while mitochondrial DNA data confirmed that it did not belong to blue egg gens that parasitizes Redstarts (*Phoenicurus phoenicurus*), which is the most common local host and the only regular Common Cuckoo host. During one week of observations, feeding rates did not change, body mass decreased (by 10%), and wing length increased (by 16%). Video recordings showed that the provided diet consisted mostly of larvae and that the fledgling also self-fed on lichens. A radio transmitter fitted on the fledgling revealed that daily movement distances ranged from 0 to 650 m and significantly increased with age. We suggest that future studies should focus on the postfledging period in brood parasite young because this stage currently represents a major gap in our understanding of parasite–host arms races. Received 22 December 2016. Accepted 15 April 2017.

Key words: arms race, brood parasitism, coevolution, *Cuculus canorus*, fledgling, *Fringilla coelebs*, telemetry.

### Comportamiento postemancipatorio del cuco *Cuculus canorus* criado por el pinzón *Fringilla coelebs*: un enfoque completo para el estudio de la etapa menos conocida de la coevolución entre parásitos de puesta y sus hospederos

**RESUMEN** (Spanish)—En contraste con los bien estudiados periodos de incubación y permanencia en el nido, el periodo postemancipatorio del cuco *Cuculus canorus* permanece virtualmente desconocido. Aquí reportamos observaciones detalladas de un cuco volantón criado por un macho del pinzón *Fringilla coelebs*. Los datos moleculares (DNA nuclear) nos muestran que el volantón era un macho que pertenecía al clado *C. c. canorus*/*C. saturatus*, mientras que su DNA mitocondrial confirma que no pertenece al grupo de huevos azules que parasita al colirrojo *Phoenicurus phoenicurus*, que es el hospedero más común localmente y el único hospedero regular de *C. canorus*. Durante una semana de observaciones, la tasa de alimentación no cambió, la masa corporal decreció (un 10%) y la longitud de las alas se

incrementó (un 16%). Las grabaciones en video mostraron que la dieta provista consiste principalmente de larvas y que el volantón también se alimentó por sí mismo de líquenes. Al fijar un radiotransmisor en el volantón, se reveló que las distancias de movimientos diarios varían de 0 a 650 m e incrementan significativamente con la edad. Sugerimos que futuros estudios se enfoquen en el periodo postemancipatorio de las crías de parásitos de puesta, dado que esta etapa representa un vacío mayúsculo en nuestro entendimiento de la competencia entre parásitos y hospederos.

Palabras clave: Coevolución, competencia, *Cuculus canorus*, *Fringilla coelebs*, parasitismo de puesta, telemetría, volantón.

Interactions between brood parasites, such as Common Cuckoos (*Cuculus canorus*), and their hosts present an intensely studied model system of coevolutionary arms races. Most studies on Common Cuckoos have focused on egg and nestling stages (e.g., Davies 2000, Stokke et al. 2004, Grim et al. 2011); by contrast, almost nothing is known about the postfledging period (Wyllie 1981) and migration from breeding to wintering grounds (Vega et al. 2016). The only detailed data on the duration of postfledging care were reported by Wyllie (1981). Therefore, the postfledging period remains the least-known stage of brood parasite–host interactions, and even anecdotic observations can improve our understanding of cuckoo–host coevolution (e.g., Seel and Davis 1981, Knysh 2000, Grim 2008a). The current rarity of studies of parasite fledglings (De Mársico et al. 2012) parallels a previous rarity of studies of parasite nestlings (Grim 2007a); recent studies revealed that cases of nestling discrimination by hosts can, contrary to traditional claims, be quite common (e.g., Grim 2006, 2007b; Sato et al. 2015; reviewed in Grim 2017). This finding has fundamentally changed our view of host–parasite arms races (reviewed in Grim 2017) because additional lines of defenses (e.g., nestling discrimination in addition to egg discrimination or aggression towards adult parasites) affect fitness

<sup>1</sup> Department of Zoology and Laboratory of Ornithology, Palacký University, Olomouc, Czech Republic

\* Corresponding author: zdenek.tyller@centrum.cz

and evolutionary trajectories of both parasites and hosts (Britton et al. 2007). The same principle applies to interactions at the postfledging stage when fledgling discrimination can occur (De Mársico et al. 2012). Thus, ignoring the postfledging stage can dramatically bias estimates of parasite fitness. For example, successfully fledged Common Cuckoo chicks from mixed broods (i.e., cuckoos sharing the nest with host nestlings that the cuckoo chick did not manage to evict; Grim et al. 2009) suffer total mortality soon after fledging (Grim and Rutila 2017).

Here, we provide detailed observations, supported by molecular and telemetry techniques, of a fledgling Common Cuckoo provisioned by a Chaffinch (*Fringilla coelebs*). Chaffinches and the closely related Bramblings (*Fringilla montifringilla*) were involved in intense coevolution with cuckoos, as evidenced by their excellent abilities to reject foreign eggs (Braa et al. 1992, Stokke et al. 2004, Vikan et al. 2011). Many cases of Common Cuckoo eggs found in *Fringilla* nests were reported during 20th century (Malchevsky 1960, 1987; Moksnes and Røskaft 1995). Our literature review revealed nearly 100 records of Common Cuckoo nestlings and fledglings reared by Chaffinches in Russia (Promptov 1941; Malchevsky 1960, 1987), Ukraine (Knysh 2000), the Czech Republic (Šír 1883, Richter 1933, Kroutil 1965), and the United Kingdom (Seel and Davis 1981). Unfortunately, all these sources only reported the observational records and provided no additional data on the biology of Common Cuckoo chicks.

## Methods

During our project on relationships between Common Cuckoos and Redstarts (*Phoenicurus phoenicurus*; Samaš et al. 2016), we found a Common Cuckoo fledgling fed by a male Chaffinch on 18 July 2014, at 1230 h (EEST). The cuckoo was hidden in a 4 m tall tree (the Norway spruce, *Picea abies*) in the middle of a mature Scotch pine (*Pinus sylvestris*) forest (61°22'N, 28°32'E). The cuckoo fledgling perched on a branch ~0.5 m above ground and begged. The fledgling was unable to fly, thus we were able to catch it by hand. We banded the fledgling with a metal ring of the Finnish Ornithological Society

(B-66643). We took a blood sample from a wing vein (15 µL) and stored it in 96% ethanol toward later determination of the fledgling's sex (following Griffiths et al. 1998) and gens (i.e., ecological race; Davies 2000) using a COI marker (following Fossøy et al. 2016).

Between 18 July and 23 July 2014, we were able to re-catch the cuckoo and take body measurements once daily. We measured the fledgling's body mass with a portable electronic balance (precision 0.1 g), its tarsus length ("maximum" tarsus length, following figure 4.5a in Sutherland et al. 2004; precision 0.01 mm), wing length (following figure 4.4 in Sutherland et al. 2004; precision 1 mm), bill length (distance measured from the tip of the bill to the distal-most point of the fleshy fold of the rictal flange, precision 0.01 mm; Grim and Honza 2001), and bill width (distance measured between the bilateral fleshy folds of the rictal flange, precision 0.01 mm; Grim and Honza 2001).

We commenced video recording of the fledgling immediately after noticing it was attended by a male Chaffinch. Video recording took place from 18 July to 26 July 2014 between 0630 and 2400 h and lasted 3–8 h per day, 5 h on average. We employed video cameras to record feeding events without disturbing the birds (we also observed a female Chaffinch feeding 4 Chaffinch fledglings nearby; however, this female was never recorded feeding the cuckoo fledgling). Recordings were obtained with an HD digital video camera (Panasonic HDC-HS80EP) mounted on a tree trunk overlooking the location of the fledgling. To minimize disturbance, the camera was hidden in wooden box (figure 2b in Samaš et al. 2016) and placed ~10 m from the fledgling. The camera view covered the cuckoo's position and the surrounding branches to account for potential short movements of the fledgling.

From the video footage, we calculated the feeding rate as the number of feedings per hour (Soler et al. 2014) and identified prey types down to order level (see also Grim et al. 2014). As a result of changing weather conditions, orientation and position of the fledgling, and the angle at which the Chaffinch male was feeding, we were sometimes unable to determine prey identity with certainty. We estimated dominance as  $D = \text{number of items of a respective order} / \text{total number of items} \times 100$ , and frequency as  $F = \text{number of feeding}$

**Table 1.** Composition of food delivered to the Common Cuckoo fledgling by a male Chaffinch. Total number of food items was 232 (from 165 video-recorded feeding events). D = dominance, F = frequency. See methods for details.

| Prey type                          | D (% of items) | F (% of feeding events) |
|------------------------------------|----------------|-------------------------|
| Lepidoptera and Hymenoptera larvae | 58.6           | 55.8                    |
| Lepidoptera imago                  | 3.0            | 4.2                     |
| Orthoptera                         | 2.2            | 3.0                     |
| Araneida                           | 1.3            | 1.8                     |
| Diptera                            | 0.4            | 0.6                     |
| Unidentified                       | 34.5           | 48.5                    |

events in which items of the respective order appeared/total number of feeding events  $\times$  100 (Table 1). Because of their strong similarity, larvae of Lepidoptera and Hymenoptera were counted as one prey type. The number of items is higher than the number of feeding events because the fosterer often provided several items per feeding. Graphical sonograms of the fledgling's begging calls were obtained by uploading calls into Xeno-canto database ([www.xeno-canto.org](http://www.xeno-canto.org)) as XC347199 (begging call in the absence of the Chaffinch male) and XC347200 (begging call with Chaffinch male present).

Following the methods of Nakamura and Miyazawa (1997) and Diemer et al. (2014), we attached a glue-mounted transmitter PIP3 Ag393 (Biotrack Ltd) to the back feathers of the fledgling to monitor its movement and behavior. The transmitter included a 15 cm long wire antenna and weighed 2.1 g (we used the same transmitters to radio track Common Cuckoos fledged from Redstart nests). We glued this transmitter to clipped back feathers with cyanoacrylate (Super Glue; Diemer et al. 2014). Transmitter loss was expected with molting (Diemer et al. 2014), which occurs in young Common Cuckoos prior to migration (Verheyen 1950, Stresemann and Stresemann 1961, Rohwer and Broms 2013). The detection ranges of the PIP3 tag were 200–600 m (ground to ground) and 500–1200 m (above ground).

We always commenced tracking at the location of the last visual contact with the cuckoo and used a portable 4 MHz Sika receiver with a hand-held Lintec flexible 3-element Yagi antenna (138 MHz) to capture the signal and retrack the cuckoo. After we established first visual contact with the cuckoo,

we recorded its GPS position in the mobile application Locus Map Version 2.10.1 (precision 2–6 m) to measure daily movement distances. We recorded the height and type of its shelter (always a tree) and fledgling height above ground (precision 0.5 m). When our presence or capture attempts caused the fledgling to flush from its shelter, we also recorded the type of movement it used (hopping/flying), the distance it flew, and the number of flying bouts (precision 1 m in all cases). We denoted the day we tagged the fledgling as day 0. We conducted radio tracking daily until we first noticed signs of the cuckoo fledgling's independence (i.e., absence of fledgling's begging, no feeding, and no alarm calls from the Chaffinch male) and then tracked the cuckoo every second day for another 10 d after it became independent.

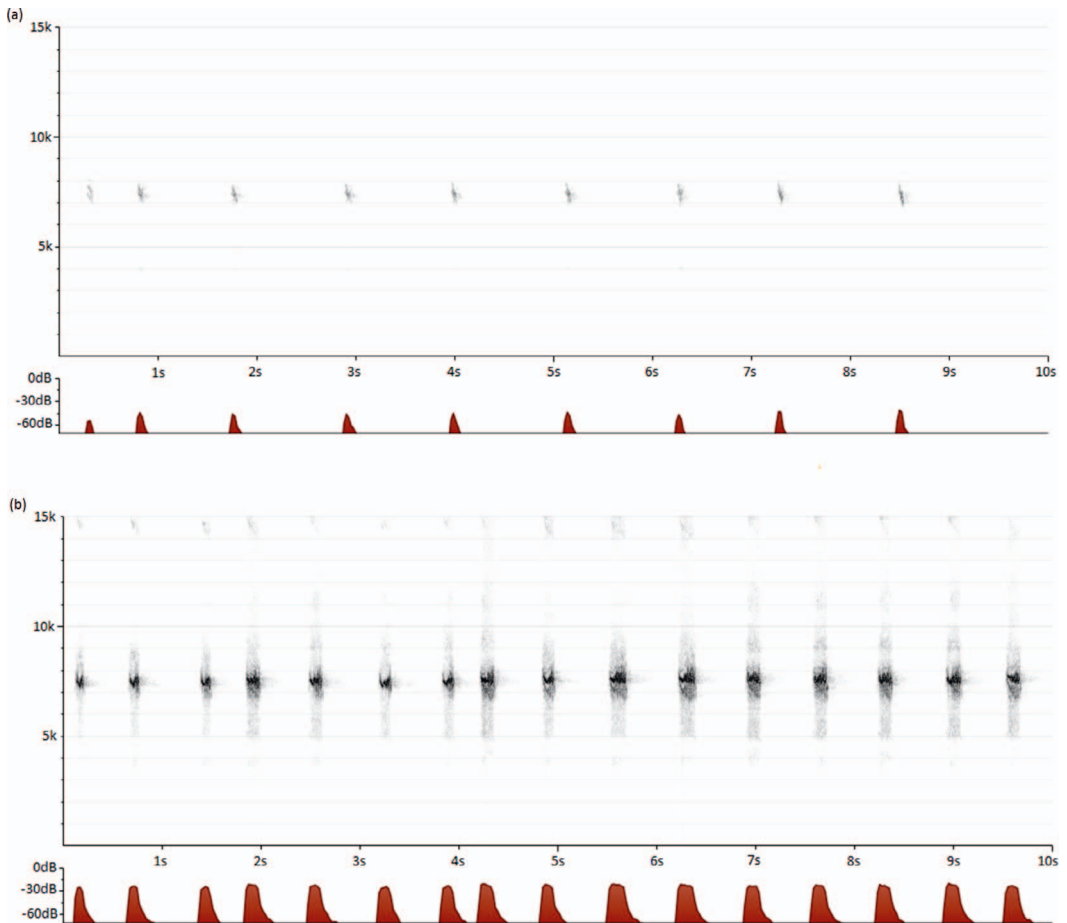
Values are reported as mean (SD). All analyses were conducted in STATISTICA 12 (StatSoft Inc. 2013).

## Results

Nuclear DNA analysis showed that the Common Cuckoo fledgling was a male. The COI mitochondrial DNA marker showed that the individual belonged to the *C. c. canorus/C. saturatus* clade.

Video recordings showed that prey belonged to several invertebrate orders (Table 1). Surprisingly, from the second day of observations onward, the fledgling was self-feeding on lichens from branches (Supplementary material video: <https://www.youtube.com/watch?v=EGg5fpmvIs>). The consumed fragments of lichen measured  $\sim 0.5 \times 0.5$  cm (maximum  $2 \times 1$  cm; reconstructed through the known size of the Common Cuckoo's bill) and were usually consumed when the Chaffinch was not present ( $n = 21$  self-feedings). Feeding frequency by the male Chaffinch was 6 (4) feeds per hour (median = 5, range = 1–19,  $n = 29$  h) and did not correlate with fledgling age (daily means:  $r_s = 0.64$ ,  $P = 0.12$ ).

When the Chaffinch male was not present, the Common Cuckoo emitted a host-absent begging call (Šicha et al. 2007) about 0.1 s in duration and 4–8 kHz in frequency, repeated in 1 call/s intervals (Fig. 1a). After the Chaffinch male appeared, the fledgling changed the structure of the call to the standard begging call (Grim 2008a) with a



**Figure 1.** Sonograms of begging calls of the fledgling Common Cuckoo in (a) the absence of the Chaffinch male (Xeno-canto id: XC347199) and (b) during presence of the Chaffinch male (Xeno-canto id: XC347200). The sonograms were created using Xeno-canto website and the background noise (wind) was cleaned.

duration of about 0.1–0.2 s and a frequency of 5–15 kHz, which was repeated at a rate of  $\sim 2$  calls/s (Fig. 1b).

During feeding, the Common Cuckoo always raised and shook its wing in the direction of the arriving Chaffinch if the fosterer was arriving from right or left side (68%,  $n = 144$ ; asymmetrical wing-shake begging; Grim 2008b). When the Chaffinch arrived from the front (32%), the fledgling shook both its wings (Fig. 2).

In the flightless stage (first 3 d from day 0, starting 18 July), the Common Cuckoo remained in the same tree and at a constant height of  $\sim 0.5$  m above ground level. On 21 July, we found the cuckoo perched on a 4 m tall spruce tree, 0.5 m above ground, at a distance of 40 m from its

original position. It spent the next day in the new shelter as well at the same height of 0.5 m above ground level. We first observed the cuckoo in flight on 23 July when we flushed it from a 3 m tall spruce on which it perched  $\sim 1$  m above ground level. This spruce was located at a 40 m distance from the previous day's last recorded position, and the cuckoo flew about 50 m before it landed. This observation occurred on the last day when the cuckoo perched  $< 2$  m high and also the last occasion on which we managed to catch and measure the bird. In this 6 d period, daily measurements revealed that body mass changed from 73.2 to 66.1 g, tarsus length from 25.8 to 25.7 mm, wing length from 122 to 142 mm, bill length from 22.8 to 24.5 mm, and bill width from



**Figure 2.** The fledgling of the Common Cuckoo shaking both wings while being fed by the Chaffinch male. Photo credit: Z. Tyllér.

16.7 to 17.5 mm. In this period, body mass (68.7 [2.85] g, median = 68.1 g, range = 66–73.2 g,  $n = 6$ ) decreased significantly with fledgling age ( $r_s = -0.83$ ,  $P = 0.042$ ), while tarsus length (25.8 [0.17] mm, median = 25.8 mm, range = 25.52–26.01 mm,  $n = 6$ ) did not ( $r_s = -0.14$ ,  $P = 0.79$ ). Wing-length (132 [7.95] mm, median = 132 mm, range = 122–142 mm,  $n = 6$ ) increased with fledgling age ( $r_s = 1.00$ ,  $P < 0.001$ ). Bill-length (24.0 [0.68] mm, median = 24.3 mm, range = 22.8–24.6 mm,  $n = 4$ ) and bill-width (17.3 [0.30] mm, median = 17.4 mm, range = 16.7–1.75,  $n = 4$ ) did not change with fledgling age ( $r_s = 0.80$ ,  $P = 0.20$ ; and  $r_s = 0.80$ ,  $P = 0.20$ , respectively).

After the flightless period, we continued to track the Common Cuckoo fledgling daily until we first noticed its independence on 2 August (15 d from tagging). We then tracked the cuckoo down at least every second day until 13 August (26 d from tagging). We recorded 15 GPS positions of the cuckoo fledgling. The daily movement distances varied from 0 to 650 m (127.5 [195.4] m, median = 65 m,  $n = 14$  distances from the previous position) and increased significantly with fledgling age ( $r_s = 0.81$ ,  $P < 0.001$ ). The height of the trees selected by the cuckoo as shelters (9.2 [5.0] m, median = 8 m, range = 3–15 m,  $n = 15$ ) increased with fledgling age ( $r_s = 0.83$ ,  $P < 0.001$ ). The height of the fledgling's position above ground level (4.5 [4.1] m, median = 4 m, range = 0.5–12 m,  $n = 15$ ) positively correlated with both fledgling age ( $r_s = 0.94$ ,  $P < 0.001$ ) and with shelter height

( $r_s = 0.86$ ,  $P < 0.001$ ). The length of the cuckoo's flight after being disturbed by us (61.4 [47.1] m, median = 50 m, range = 20–150 m,  $n = 7$ ) increased with fledgling age ( $r_s = 0.56$ ,  $P = 0.038$ ), but the number of flying movements during particular observations (3.6 [1.8], median = 3, range = 1–6,  $n = 7$ ) did not correlate with fledgling age ( $r_s = 0.49$ ,  $P = 0.74$ ).

## Discussion

Although the Chaffinch is one of the best rejecters of Common Cuckoo eggs (e.g., Braa et al. 1992), our and previous data (discussed earlier) confirm that this species is a suitable Common Cuckoo host that can raise the Common Cuckoo to independence. Notably, the Common Cuckoo fledgling reported herein was able to achieve independence despite being reared by only a single Chaffinch foster parent. Molecular analyses excluded the blue egg gens as the affinity of the Common Cuckoo fledgling (the blue egg gens is the only cuckoo gens that can be recognized genetically; Fossøy et al. 2016). This information confirms that the Common Cuckoo fledgling was not originally raised by the Redstart, the most common (Samaš et al. 2016) and sole regular Common Cuckoo host (Grim et al. 2014) in our study area, and later adopted by the Chaffinch male. To our knowledge, this is the first observation where the phylogenetic identity of a brood parasite fledgling was confirmed genetically and potential adoption excluded (cf. Sealy and Lorenzana 1997). We believe that future studies would benefit from using molecular data to strengthen their conclusions. In addition, this evidence and independent observations of a Common Cuckoo fledgling fostered by a Chaffinch in 2016 (we were unable to follow this fledgling) confirm that Chaffinches may regularly act as local hosts of cuckoos in our study area.

The most commonly recorded dietary components were larvae of Lepidoptera and Hymenoptera, which agrees with the diet fed to Common Cuckoo fledglings by Redstarts in our study area (Grim et al. 2017). Such an insect-dominated diet is also typical for Common Cuckoo nestlings (Grim and Honza 2001). Our observation of the Common Cuckoo fledgling self-feeding on non-animal diet (i.e., lichens obtained from branches) is

therefore noteworthy and has not previously been reported. The consumption of lichens was clearly visible on the recordings (Supplementary video), but the video resolution was insufficient to exclude the potential presence of small insects on the surface of the lichens. Furthermore, self-feeding on lichens was only observed during absence of the Chaffinch male, suggesting that it represented foraging behavior (see “exploratory pecking” described by Woodward 1983) and not simply bored play. Observed wing-shaking patterns were similar to those of Common Cuckoos raised by other hosts (Grim 2008b).

The only available data on Common Cuckoo fledglings show that those attended by Reed Warblers (*Acrocephalus scirpaceus*; Wyllie 1981) and Redstarts (MK, unpubl. data) remain flightless during only 0–3 d postfledge. This finding, combined with the fact that on the day of first encountering the Common Cuckoo fledgling its body mass and wing length were in the typical range for Redstart-provisioned cuckoos at fledging (Grim and Samaš 2016; MK, unpubl. data), suggests that we commenced observations of the cuckoo shortly after it fledged.

Our data on fledgling growth, daily movement distances, and fledgling behavior are impossible to compare with equivalent records because no such detailed observations of Common Cuckoo fledglings were ever published from any host species (literature search). We can only compare age at independence: 15 d in the Chaffinch nest vs. 16 d on average in Reed Warbler nests (table 32 in Wyllie 1981). Common Cuckoo fledglings in Reed Warbler nests left the nest after 17 d on average, first flew at 19 days old (i.e., 2 d after fledging), and became independent 33 d after hatching (table 32 in Wyllie 1981).

Despite the anecdotal nature of our observations, no previous study provided such detailed data on the postfledging period in any host of the Common Cuckoo. Specifically, our comprehensive approach included molecular analyses, video recording of host provisioning and fledgling begging behavior, sonogram analysis, diet composition analysis, postfledging daily movement measurements, and growth measurements. Our study for the first time demonstrates it is methodologically feasible to obtain detailed data on the postfledging period in the Common Cuckoo and calls for further study. Because Common

Cuckoo chick parameters are highly specific per host species (e.g., chick growth data show high statistical repeatability across various hosts; Grim and Samaš 2016), even anecdotal observations can provide useful samples (e.g., Grim 2008a). Additional datasets equivalent to the data presented here could inform meta-analyses and lead to new insights into the least-studied stage of brood parasite–host coevolution.

#### Acknowledgments

We are grateful to the Czech Science Foundation (P506/12/2404), Human Frontier Science Program (RGY83/2012), and the Internal Grant Agency of Palacký University (IGA\_PrF\_2016\_017 and IGA\_PrF\_2017\_023) for funding. We thank J. Haikola, J. Rutila, and P. Samaš for field assistance. F. Fossøy conducted all molecular analyses. P. Procházka helped with the extensive literature search. D. Hanley and D. Voeten corrected the language.

#### Literature cited

- Braa AT, Moksnes A, Røskaft E. 1992. Adaptations of Bramblings and Chaffinches towards parasitism by the Common Cuckoo. *Animal Behaviour*. 43:67–78.
- Britton NF, Planqué R, Franks NR. 2007. Evolution of defence portfolios in exploiter–victim systems. *Bulletin of Mathematical Biology*. 69:957–988.
- Davies NB. 2000. Cuckoos, cowbirds and other cheats. London (UK): T & A. D. Poyser.
- De Mársico MC, Gantchoff MG, Reboreda JC. 2012. Host–parasite coevolution beyond the nestling stage? Mimicry of host fledglings by the specialist Screaming Cowbird. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 279:3401–3408.
- Diemer KM, Wheeler HE, Nocera JJ. 2014. Retention rates of glue-attached radio-transmitters on two small bird species with contrasting life histories. *Wilson Journal of Ornithology*. 126:39–46.
- Fossøy F, Sorenson MD, Liang W, Ekrem T, Moksnes A, et al. 2016. Ancient origin and maternal inheritance of blue cuckoo eggs. *Nature Communications*. 7:10272.
- Griffiths R, Double MC, Orr K, Dawson RJG. 1998. A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*. 7:1071–1075.
- Grim T. 2006. The evolution of nestling discrimination by hosts of parasitic birds: why is rejection so rare? *Evolutionary Ecology Research*. 8:785–802.
- Grim T. 2007a. Equal rights for chick brood parasites. *Annales Zoologici Fennici*. 44:1–7.
- Grim T. 2007b. Experimental evidence for chick discrimination without recognition in a brood parasite host. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 274:373–381.
- Grim T. 2008a. Begging behavior of fledgling Rusty-breasted Cuckoo (*Cacomantis sepulchralis*). *Wilson Journal of Ornithology*. 120:887–890.

- Grim T. 2008b. Wing-shaking and wing-patch as nestling begging strategies: their importance and evolutionary origins. *Journal of Ethology*. 26:9–15.
- Grim T. 2017. Host defences against brood parasite nestlings: theoretical expectations and empirical evidence. In: Soler M, editor. *Avian brood parasitism: behaviour, ecology, evolution and coevolution*. Cham (Switzerland): Springer; p. 539–556.
- Grim T, Honza M. 2001. Does supernormal stimulus influence parental behaviour of the cuckoo's host? *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 49:322–329.
- Grim T, Rutila J, Cassey P, Hauber ME. 2009. Experimentally constrained virulence is costly for Common Cuckoo chicks. *Ethology*. 115:14–22.
- Grim T, Rutila J. 2017. Cuckoo–host coevolutionary interactions across all breeding stages: unusual ecological setting of a cavity-nesting host. In: Soler M, editor. *Avian brood parasitism: behaviour, ecology, evolution and coevolution*. Cham (Switzerland): Springer; p. 278–303.
- Grim T, Samaš P, Moskát C, Kleven O, Honza M, et al. 2011. Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts? *Journal of Animal Ecology*. 80:508–518.
- Grim T, Samaš P, Procházka P, Rutila J. 2014. Are tits really unsuitable hosts for the Common Cuckoo? *Ornis Fennica*. 91:166–177.
- Grim T, Samaš P. 2016. Growth performance of nestling cuckoos *Cuculus canorus* in cavity nesting hosts. *Acta Ornithologica*. 51:175–188.
- Grim T, Tyller Z, Samaš P. 2017. Unusual diet of brood parasite nestlings and its fitness consequences. *Auk: Ornithological Advances*. 134:732–750.
- Knysch NP. 2000. The cuckoo and its host species in forest-steppe part of Sumy region. *Berkut*. 9:51–73.
- Kroutil O. 1965. O kukačce – *Cuculus canorus* L. [On the cuckoo – *Cuculus canorus* L.]. *Živa*. 13:233–235. Czech.
- Malchevsky AS. 1960. On the biological races of the Common Cuckoo, *Cuculus canorus* L. in the territory of European part of USSR. XII International Ornithological Congress, Helsinki. 1958:464–470.
- Malchevsky AS. 1987. The cuckoo and its hosts. Leningrad (Russia): Leningrad University. Russian.
- Moksnes A, Røskaft E. 1992. Responses of some rare cuckoo hosts to mimetic model cuckoo eggs and to foreign conspecific eggs. *Ornis Scandinavica*. 23:17–23.
- Moksnes A, Røskaft E. 1995. Egg-morphs and host preference in the Common Cuckoo (*Cuculus canorus*): an analysis of cuckoo and host eggs from European museum collections. *Journal of Zoology*. 236:625–648.
- Nakamura H, Miyazawa Y. 1997. Movements, space use and social organization of radio-tracked Common Cuckoos during the breeding season in Japan. *Japanese Journal of Ornithology*. 46:23–54.
- Promptov AN. 1941. The modern state of knowledge about bird nest parasitism. *Advances in Modern Biology*. 14:30–49. Russian.
- Richter K. 1933. Zur Fortpflanzungsbiologie unserer Kuckucks [The reproductive biology of our cuckoo]. *Ornithologischer Jahresbericht der Vogelwarte Lotos B. Leipa für das Jahr*. 1933:22–44. German.
- Rohwer S, Broms K. 2013. Replacement rules for the flight feathers of Yellow-billed Cuckoos (*Coccyzus americanus*) and Common Cuckoos (*Cuculus canorus*). *Auk*. 130:599–608.
- Samaš P, Rutila J, Grim T. 2016. The Common Redstart as a suitable model to study cuckoo–host coevolution in a unique ecological context. *BMC Evolutionary Biology*. 16:255.
- Sato NJ, Tanaka KD, Okahisa Y, Yamamichi M, Kuehn R, et al. 2015. Nestling polymorphism in a cuckoo-host system. *Current Biology*. 25:R1151–R1165.
- Sealy SG, Lorenzana JC. 1997. Feeding of nestling and fledgling brood parasites by individuals other than the foster parents: a review. *Canadian Journal of Zoology*. 75:1739–1752.
- Seel DC, Davis PRK. 1981. Cuckoos reared by unusual hosts in Britain. *Bird Study*. 28:242–243.
- Šicha V, Procházka P, Honza M. 2007. Hopeless solicitation? Host-absent vocalization in the Common Cuckoo has no effect on feeding rate of Reed Warblers. *Journal of Ethology*. 25:147–152.
- Šír V. 1883. Kukačka [The cuckoo]. *Listy českého spolku pro ochranu ptactva v Praze*. 3:7–13, 17–25, 34–36. Czech.
- Soler M, de Neve L, Roncalli G, Macías-Sánchez E, Ibáñez-Álamo JD, Pérez-Contreras T. 2014. Great Spotted Cuckoo fledglings are disadvantaged by magpie host parents when reared together with magpie nestlings. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 68:333–342.
- StatSoft Inc. 2013. STATISTICA. Data analysis software system. Version 12. Tulsa (OK): Dell Statistica.
- Stokke BG, Rudolfsen G, Moksnes A, Røskaft E. 2004. Rejection of conspecific eggs in Chaffinches: the effect of age and clutch characteristics. *Ethology*. 110:459–470.
- Stresemann E, Stresemann V. 1961. Die Handschwingen-Mauser der Kuckucke (*Cuculidae*) [The scapular moulting of cuckoos (*Cuculidae*)]. *Journal für Ornithologie*. 102:317–352. German.
- Sutherland JW, Newton I, Green R. 2004. *Bird ecology and conservation: a handbook of techniques*. New York (NY): Oxford University Press.
- Vega ML, Willemoes M, Thomson RL, Tolvanen J, Rutila J, et al. 2016. First-time migration in juvenile Common Cuckoos documented by satellite tracking. *PLOS ONE*. 11:e0168940.
- Verheyen R. 1950. La mue du Coucou d'Europe *Cuculus c. canorus* L. [The molt of the Common Cuckoo *Cuculus c. canorus* L. in the Europe]. *Gerfaut*. 40:212–231. French.
- Vikan JR, Fossey F, Huhta E, Moksnes A, Røskaft E, Stokke BG. 2011. Outcomes of brood parasite-host interactions mediated by egg matching: Common Cuckoos *Cuculus canorus* versus *Fringilla* finches. *PLoS ONE*. 6:e19288.
- Woodward PW. 1983. Behavioral ecology of fledgling Brown-headed Cowbirds and their hosts. *Condor*. 85:151–163.
- Yyllie I. 1981. *The cuckoo*. London (UK): Batsford.



Univerzita Palackého v Olomouci  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra zoologie a ornitologická laboratoř  
Doktorský studijní program Biologie



**Interakce hnízdního parazita kukačky obecné (*Cuculus canorus*)  
s jeho jediným dutinovým hostitelem rehkem zahradním  
(*Phoenicurus phoenicurus*)**

Interactions of brood parasitic common cuckoo (*Cuculus canorus*) and its only cavity-nesting host, the common redstart (*Phoenicurus phoenicurus*)

**Mgr. Michal Kysučan**

Disertační práce

Obor: Zoologie

Vedoucí práce: prof. Ing. Stanislav Bureš, CSc.

Olomouc 2020

## Autoreferát disertační práce

**Uchazeč:** Mgr. Michal Kysučan

**Název práce:** Interakce hnízdního parazita kukačky obecné (*Cuculus canorus*) s jeho jediným dutinovým hostitelem rehkem zahradním (*Phoenicurus phoenicurus*)

**Studijní program:** P1527 Biologie

**Studijní obor:** Zoologie

**Vedoucí práce:** prof. Ing. Stanislav Bureš, CSc.

Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra zoologie a ornitologická laboratoř, 17. listopadu 50, 771 46 Olomouc, Česká republika, e-mail: stanislav.bures@upol.cz

**Oponenti:** prof. RNDr. Marián Janiga, CSc.

Žilinská univerzita v Žilině, Výskumný ústav vysokohorskej biológie, Tatranská Javorina 7, 059 56 Tatranská Javorina, Slovenská republika, e-mail: janiga@uniza.sk

**RNDr. Petr Procházka, Ph.D.**

Ústav biologie obratlovců AV ČR, Květná 8, 603 65 Brno, Česká republika, e-mail: prochazka@ivb.cz

Obhajoba disertační práce se koná 28. 8. 2020 v 11:00 v učebně ..... na Katedře zoologie a ornitologické laboratoři Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, 17. listopadu 50, 771 46 Olomouc. Na stejné adrese se lze také seznámit s disertační prací a posudky.

## **OBSAH**

|   |   |    |
|---|---|----|
| 1 | ABSTRAKT DISERTAČNÍ PRÁCE .....                         | 4  |
| 2 | ÚVOD .....  | 6  |
| 3 | CÍLE PRÁCE.....   | 8  |
| 4 | PŘEHLED VÝSLEDKŮ.....                                   | 9  |
| 5 | ABSTRAKTY PŘÍSPĚVKŮ PŘILOŽENÝCH K DISERTAČNÍ PRÁCI..... | 11 |
| 6 | LITERATURA.....   | 15 |
|   | ABSTRAKT DISERTAČNÍ PRÁCE V ANGLICKÉM JAZYCE .....      | 16 |
|   | CURRICULUM VITAE .....                                  | 18 |

## 1 ABSTRAKT DISERTAČNÍ PRÁCE

Obligátní hnízdní parazitismus představuje alternativní reprodukční strategii, jejímž cílem je maximalizace biologické zdatnosti za současné minimalizace nákladů spojených s reprodukcí. Parazitický druh však touto cestou negativně ovlivňuje fitness svého hostitele, čímž u něj vyvolává selekci protiparazitických adaptací, kterým se musí následně sám přizpůsobit formou fixace nového znaku a naopak. Současný stav interakce obou druhů je proto výsledkem tzv. „závodů ve zbrojení“, ke kterým dochází v rámci jejich koevoluce. Studium paraziticko-hostitelských interakcí tak kromě snadnějšího pochopení evoluční historie, ekologie, bionomie a životních strategií sledovaných druhů poskytuje ideální podmínky k porozumění samotným mechanismům evoluce.

V předložené disertační práci se zabývám studiem interakce mezi obligátním hnízdním parazitem kukačkou obecnou (*Cuculus canorus*) a jeho hostitelem rehkem zahradním (*Phoenicurus phoenicurus*). Rehek zahradní je jediným pravidelným evropským hostitelem kukačky obecné, který hnízdní v dutinách a proto je zde hnízdní parazit vystaven unikátním podmínkám a selekčním tlakům, které v jiných paraziticko-hostitelských systémech pozorovat nemůžeme. Společně s kolegy jsem zkoumal opomíjené aspekty v rámci této interakce, které byly dosud obestřeny rouškou spekulací, fám (jak vyplývá z výsledků této práce) a nejistot. Konkrétně jsme se zaměřili na způsob kladení vajec kukačkou do dutinových hnízd rehků (**Příspěvek I**), na nákladnost výchovy parazita (včetně inkubace vajec) pro rehčí rodiče (**Příspěvek II, Příspěvek III**) a na pohnízdni interakci v rámci kukačko-rehčího (**Příspěvek IV**) a k němu sympatrického kukačko-pěnkavího systému (**Příspěvek V**).

Jako vůbec první jsme zjistili, že kukačky kladou vejce do hnízdních budek rehků hned třemi různými metodami, které se navzájem liší nejen způsobem a rychlostí provedení, ale především úspěšností parazitace, včetně přesnosti zacílení vejce do hnízdní kotlinky a pravděpodobností jeho odmítnutí hostitelem (**Příspěvek I**). Dále jsme vůbec poprvé prokázali, že výchova parazitického mláděte není pro rehčí rodiče nákladnější než výchova jejich vlastní průměrné snůšky (**Příspěvek II**), což může být jednou z příčin poměrně slabých protiparazitických adaptací rehků, které v současnosti pozorujeme (**Příspěvek III**). Rovněž jsme jako první zdokumentovali, že neexistuje průkazný rozdíl ve výsledku pohnízdni fáze napříč různým složením snůšek a oběma interagujícími druhy v rámci kukačko-rehčího systému. To by mohlo vypovídat o mimořádné koevoluční stabilitě tohoto systému (**Příspěvek IV**). Navíc jsme podrobně zdokumentovali případ velmi dobře prosperujícího kukaččího mláděte v pohnízdni péči pěnkavy obecné (*Fringilla coelebs*; **Příspěvek V**). Kukačko-pěnkaví systém tak může být potenciálně podobně vhodný pro kukačku jako ten kukačko-rehčí, který je ovšem dosud mnohem lépe prostudovaný (**Příspěvek V**).

Tato komplexní studie tak mnoha svými výsledky buď přímo vyvrací, nebo poupravuje dřívější představy o kukačko-hostitelské interakci. Navíc představuje některé zcela nové metodologické přístupy jako je například srovnání důsledků parazitace na úrovni dospělých ptáků i mláďat v rámci obou interagujících druhů. Rovněž použití velkého spektra technického vybavení a metodologických procedur nabízí inspiraci a otevírá nové možnosti pro podobné výzkumy napříč různými paraziticko-hostitelskými systémy, které jsou nezbytné pro meta-analýzu dat a tak pro objektivnější zhodnocení širších závěrů.

**Klíčová slova:** kukačka obecná, rehek zahradní, kladení vajec, smíšená snůška, nákladnost, pohnízdni péče, video, radiotelemetrie

## 2 ÚVOD

V disertační práci se zabývám z evolučního hlediska neobyčejně zajímavou interakcí dvou ptačích druhů, kterou věda označuje jako obligátní mezidruhový hnízdní parazitismus. Parazitismus obecně je nejrozšířenější životní strategií organismů (Windsor 1998), kdy jeden organismus žije, či profituje na úkor jiného organismu a působí mu tím více či méně významnou újmu, čímž snižuje jeho biologickou zdatnost (*fitness*; Stearns 1992). Parazitické organismy tak vytvářejí jeden z nejsilnějších selekčních tlaků v přírodě, tzv. parazity zprostředkovanou přírodní selekci (*parasite-mediated natural selection*), zvýhodňující jedince s lepší schopností odolávat parazitům (Hamilton a Zuk 1982, Ridley 2003). Takto fixované hostitelské znaky, naopak negativně ovlivňují biologickou zdatnost parazita. Proto znovu zasahuje přírodní výběr, který vyselektuje adaptace k překonání nových úrovní hostitelské obrany a opět tak přenáší selekční tlak na hostitele (Dawkins a Krebs 1979).

Tento reciproční selekční tlak mezi parazitem a hostitelem má proto charakter tzv. „závodů ve zbrojení“ (Dawkins a Krebs 1979, Rothstein 1990) a je rovněž označován jako antagonistická koevoluce. Koevoluce představuje vzájemné ovlivňování populační evoluce mezi jedním či více druhy organismů (Ridley 2003). Koevoluci je možné studovat na základě detekce koadaptací u cílových druhů v souvislosti se znalostí jejich ekologie, bionomie a především jejich vzájemných interakcí. Zejména důsledky hnízdního parazitismu ze strany kukačky obecné (*Cuculus canorus*), kde parazitické mládě prostřednictvím svých vytlačovacích instinktů způsobuje zpravidla nulový reprodukční úspěch hostitele v rámci daného hnízdního pokusu (Øien a kol. 1995), vyvolávají u hostitelského druhu výrazné protiparazitické adaptace na různých úrovních jejich vzájemné interakce (Moksnes a kol. 2013).

Disertační práce popisuje interakci kukačky obecné s jejím jediným, evropským, dutinovým hostitelem rehkem zahradním (*Phoenicurus phoenicurus*; Samaš a kol. 2016, Grim a Rutila 2017). Hnízdní strategie tohoto hostitele, která je unikátní napříč pravidelnými kukaččími hostiteli, způsobuje vznik a tedy i možnost studia neobvyklých koevolučních jevů, jako je například způsob kladení parazitických vajec do hnízd ukrytých v dutinách (**Příspěvek I**), či existence smíšených snůšek a její důsledky pro parazita i hostitele (**Příspěvky II–IV**). Unikátní je rovněž komplexnost prezentovaného výzkumu, který mapuje interakci sledovaných druhů v rámci kompletního reprodukčního cyklu od kladení vajec (**Příspěvek I**) a jejich inkubace (**Příspěvky II a III**), přes výchovu mláďat v hnízdě (**Příspěvky II a III**) i během pohnízdni fáze až po jejich osamostatnění (**Příspěvky II–V**). V rámci jednotlivých fází interakce sledovaných druhů je mimo jiné posuzována či diskutována funkce, efektivita a evoluční kontext příslušných adaptací a protiadaptací.

Předložená práce proto nabízí kromě analýzy současného stavu interakce a celé řady nových informací, také jedinečný pohled do koevoluční historie studovaných druhů (**Příspěvky I-IV**). Navíc je přiložena studie (**Příspěvek V**) mapující případ pohnízdni interakce další evropské ekologické rasy kukačky obecné s pěnkavou obecnou (*Fringilla coelebs*). Tento hostitelský druh na rozdíl od rehka zahradního buduje otevřená hnízda a v rámci oblasti, která zahrnuje naší studijní lokalitu, byl dosud považován za pouze příležitostného hostitele (Vikan a kol. 2010, 2011). Zahrnutí tohoto článku tak umožňuje komplexnější posouzení výsledků disertační práce a zároveň doplňuje metodologický přístup ke studiu pohnízdni fáze kukačko-hostitelských systémů. Ve výsledku tato práce významně doplňuje a upřesňuje dosavadní informace a zároveň poskytuje celou řadu absolutně nových poznatků hned o dvou sympatrických kukačko-hostitelských systémech.

### 3 CÍLE PRÁCE

V disertační práci se zabývám dosud zcela opomíjenými úrovněmi kukačko-hostitelské interakce jako je kladení vajec parazitem do dutinových hnízd, míra nákladnosti péče o parazita pro dutinového hostitele a pohnízdni interakce kukačky obecné se dvěma finskými v sympatrii se vyskytujícími hostiteli. Konkrétně jsem se zaměřil na následující otázky:

- Jakým způsobem klade samice kukačky obecné vejce do hnízd chráněných v dutinách? **(Příspěvek I)**
- Jak moc je výchova kukaččího mláděte nákladná pro dutinového hostitele v porovnání s péčí o jeho vlastní potomky a co z toho plyne? **(Příspěvek II)**
- Může nízká úroveň nákladnosti výchovy kukaččího mláděte pro rehčí rodiče vysvětlovat nízkou úroveň hostitelské obrany u rehka zahradního? **(Příspěvek III)**
- Jakým způsobem probíhá pohnízdni interakce kukačky obecné s jejím jediným pravidelným dutinovým hostitelem a jak se do ní promítá specifčnost této hnízdni strategie? **(Příspěvek IV)**
- Jak probíhá pohnízdni interakce mezi kukačkou obecnou a k rehkům sympatrickým hostitelem budujícím otevřená hnízda a jakým způsobem studovat pohnízdni periodu u hnízdních parazitů? **(Příspěvek V)**



## 4 PŘEHLED VÝSLEDKŮ

V disertační práci jsem se zabýval mezidruhovým hnízdním parazitismem u ptáků a konkrétně interakcí kukačky obecné se dvěma navzájem sympatrickými a z hlediska protiparazitických adaptací velmi odlišnými hostiteli. Především se jednalo o studium kukaččí interakce s jejím pravidelným hostitelem rehkem zahradním, který se vyznačuje v tomto kontextu unikátní dutinovou hnízdní strategií, nízkou úrovní aktivní protiparazitické obrany a neobvykle vysokou mírou parazitismu. Tomuto hostitelskému systému jsem se se svými kolegy věnoval napříč kompletním reprodukčním cyklem. V rámci jednotlivých fází tohoto cyklu, jsme se zaměřili na klíčové a často neznámé či sporné otázky, jejichž objasněním (**Příspěvky I-IV**) jsme výrazně napomohli k pochopení mechanismů hostitelsko-parazitické koevoluce.

V **Příspěvku I** jsme zdokumentovali tři různé strategie kladení vajec kukačkou obecnou do dutinových hnízd rehků zahradních, z toho dva způsoby kukaččího kladení byly dosud uváděny pouze v hypotetické rovině a teprve v této studii byly vůbec poprvé zdokumentovány pomocí videotechniky. Strategii vystřelení vejce z kloaky (*projecting*) jsme navíc jako první zdokumentovali nejen pro třídu ptáků, ale dosud nebyla známa u žádného příslušníka blanatých vejcorodých živočichů. Navíc jsme dokázali, že se podobně jako v případě přímého kladení jedná o progresivní metodu kladení vajec, která zvyšuje fitness parazita. Jednotlivé metody kladení se totiž navzájem lišily v několika důležitých aspektech ovlivňujících celkovou úspěšnost parazitace a tak i parazitovu a hostitelovu reprodukční zdatnost. Ve výsledku tak dutinová hnízdní strategie rehků představuje spíše než maladaptaci vzhledem k predačnímu tlaku, velmi účinnou protiparazitickou adaptaci, která tak tlumí projev ostatních forem obrany známých u jiných kukaččích hostitelů.

**Příspěvek II** demonstruje, že výchova kukaččího mláděte nemusí být pro hostitele nutně nákladnější než výchova vlastních mlád'at a zpochybňuje tak toto obecně tradované dogma. Studie navíc ukazuje, že výchova parazita je v rámci specifického kukačko-rehčího systému v některých aspektech dokonce méně náročná než péče o jejich vlastní průměrnou snůšku. Ani péče o smíšenou snůšku není ve většině zkoumaných aspektů pro rehčí rodiče náročnější než péče o snůšku neparazitovanou. Poměrně nízké bezprostřední náklady spojené s výchovou parazita by tak mohly částečně vysvětlovat nízkou úroveň protiparazitické obrany u rehka zahradního i relativní koevoluční stabilitu tohoto paraziticko-hostitelského systému.

V **Příspěvku III** především řešíme a odpovídáme na kritiku jednoho z vedlejších závěrů našeho předešlého příspěvku (**Příspěvek II**). Hlavním argumentem této kritiky bylo, že samotná ztráta veškerého potomstva vytváří určující selekční tlak pro vývoj protiparazitické obrany hostitele a že podobná úroveň bezprostředních nákladů na výchovu kukačky a hostitelských mlád'at může jen stěží vysvětlovat nízkou úroveň této obrany. Hlavním argumentem naší

obhajoby (**Příspěvek III**) je, že kdyby měla být určujícím faktorem úrovně hostitelské obrany jednotná ztráta veškerého potomstva, potom bychom nemohli pozorovat vysokou variabilitu v intenzitě protiparazitické obrany napříč různými hostiteli a jejich populacemi. Tím také potvrzujeme náš původní závěr, že se na vývoji hostitelské obrany může podílet vícero složek celkové nákladnosti kukaččího parazitismu a to bez ohledu na rozdíl v jejich relativním selekčním tlaku.

**Příspěvek IV** podává první detailní informace o průběhu pohnízdni fáze z hlediska parazitických i hostitelských mlád'at v rámci všech dosud provedených studií zabývajících se kukačko-hostitelskými systémy. Výsledky této studie navíc vyvrátily dosavadní přesvědčení o znevýhodnění mlád'at pocházejících ze smíšených snůšek během pohnízdni fáze v kukačko-rehčím systému. Navzdory rozdílům v některých parametrech na počátku pohnízdni fáze nebyl mezi mlád'aty z jednotlivých typů snůšek žádný průkazný rozdíl ve srovnávaných parametrech, včetně míry přežívání, v době jejich osamostatnění na rehčích rodičích. Pravidelný výskyt smíšených snůšek v hnízdech rehka zahradního proto může být evolučně stabilním jevem pro oba interagující druhy.

**Příspěvek V** sleduje pohnízdni chování a vývoj kukaččího mláděte v péči samce pěnky obecné. Pěnka obecná se v rámci naší studijní lokality řadí mezi druhy pouze příležitostně parazitované kukačkou obecnou. Pozorování intenzity krmení, analýza složení přinášené potravy, růstu a chování mláděte navzdory tomu ukazují, že je v mnoha ohledech velmi vhodným hostitelem tohoto parazita, pro kterého není problém vychovat kukačku až do jejího osamostatnění.

Podobně komplexní studie napříč různými paraziticko-hostitelskými systémy by mohly umožnit potřebnou meta-analýzu dat a tím výrazně posunout naše vědomosti o koevolučních závodech ve zbrojení.

## 5 ABSTRAKTY PŘÍSPĚVKŮ PŘILOŽENÝCH K DISERTAČNÍ PRÁCI

Jednotlivé příspěvky jsou řazeny podle jejich zaměření vzhledem k chronologické posloupnosti jednotlivých interakcí mezi kukačkou a rehkem v průběhu reprodukčního cyklu.

### PŘÍSPĚVEK I

**Kysučan M., Tolvanen J., Samaš P., Miller R., Rutila J., Grim T. & Thomson R. L. Cuckoos exploit cavity-nesting hosts with alternative ways of egg-laying (manuscript).**

Almost all birds lay eggs directly into their own nests. Avian obligate brood parasites, in contrast, never build nests, but deposit their eggs into host nests. How exactly they achieve this has been one of the most discussed topics in natural history for centuries. Here we explored for the first time a host-parasite system where alternative egg-deposition modes to direct egg laying were hypothesized (see Extended Data Table 1). We video-recorded alternative laying behaviour in the common cuckoo *Cuculus canorus* when parasitizing nests of its regular cavity-nesting host, the common redstart *Phoenicurus phoenicurus*. About a quarter of cuckoos used the projecting strategy, when the female protruded her cloaca to the nest cavity while perching at the entrance and shot the egg which “flew” into the nest. This laying behaviour, unique among Amniotes, enhanced parasite’s fitness and may represent a pivotal adaptation in parasite-host co-evolution. About a half of females passively dropped their eggs from the cavity entrance with a great majority of eggs missing the nest cup. Such inefficient laying strategy may represent an intermediate evolutionary stage between egg-deposition modes. The remainder of cuckoos laying directly into the nest cup proved to be the most effective mode but was associated with higher risk of nest desertion and getting stuck inside the cavity. After centuries of speculations we provide the first direct evidence that parasitic cuckoos use alternative egg-deposition modes and quantify fitness of alternative laying modes.

### PŘÍSPĚVEK II

**Samaš P., Rutila J., Honza M., Kysučan M. & Grim T. 2018. Rearing a virulent common cuckoo is not extra costly for its only cavity-nesting host. *Proc. R. Soc. B* 285: 20181710.**

Virulent brood parasites refrain from arduous parental care, often kill host progeny and inflict rearing costs upon their hosts. Quantifying the magnitude of such costs across the whole period

of care (from incubation through to parasite fledgling independence) is essential for understanding the selection pressures on hosts to evolve antiparasitic defences. Despite the central importance of such costs for our understanding of coevolutionary dynamics, they have not yet been comprehensively quantified in any host of any avian brood parasite. We quantified parasite-rearing costs in common redstarts *Phoenicurus phoenicurus* raising either parasitic common cuckoo *Cuculus canorus* or their own chicks throughout the complete breeding cycle, and used multiple cost parameters for each breeding stage: incubation, brooding and feeding effort; length of parental/host care; parent/host body condition; and heterophil/lymphocyte ratio (stress-level indicator). Contrary to traditional assumptions, rearing the parasite *per se* was not associated with overall higher physiological or physical costs to hosts above the natural levels imposed by efforts to rear their own progeny. The low parasite-rearing costs imposed on hosts may, in part, explain the low levels of known host counter-defences in this unusually frequently parasitized cuckoo host.

### **PŘÍSPĚVEK III**

**Samaš P., Kysučan M., Honza M. & Grim T. 2019. Multiple costs are relevant for evolution of host anti-parasite defences. Reply to Yang C *et al.* (2018). *Proc. R. Soc. B* 286: 20191690.**

Studies of brood parasite-host coevolution have generally assumed that hosts invest more parental care to rear parasite progeny than their own offspring: this view was taken for granted in cases when a parasite chick (e.g. the common cuckoo *Cuculus canorus*; hereafter ‘cuckoo’) was dramatically larger than a host chick (small passerines in the case of cuckoos). This seemed obvious because a cuckoo fledgling weighs as much as the whole family of a host, i.e. all chicks and both male and female fosterers combined (own unpublished data). Recently, we reported results that question this view: rearing the cuckoo was not associated with overall higher immediate rearing costs to common redstarts *Phoenicurus phoenicurus* (hereafter ‘redstart’) above the natural baseline levels that are imposed by efforts to rear their own progeny anyway. Additionally, we suggested that such low costs may partly help explain low levels of host counterdefences in this host. In their comment, Yang *et al.* 2018 do not contradict our main conclusions (rearing the cuckoo is not extra costly) but disagree with our suggestion that surprisingly low immediate rearing costs can be relevant for the evolution of host defences. Here, we address this criticism.

#### **PŘÍSPĚVEK IV**

**Kysučan, M., Samaš, P. & Grim, T. 2020. Post-fledging interactions between the Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity-nesting Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus* host. *Ibis* 162: 90–103.**

Brood parasite–host interactions during the incubation and nestling stages have been well studied, but the post-fledging period remains virtually unknown. Using radiotracking, we provide the first detailed data on post-fledging interactions between the Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its only regular cavity-nesting host, the Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus*. Cuckoos raised alone ('solitary') fledged at higher mass, with higher wing and tarsus length and started to fly at a younger age than Cuckoos raised alongside young Redstarts ('mixed'). However, a further 23 fledging and post-fledging parameters measured at five pre-determined times (fledging, first-flight, predation, starvation, independence) did not differ between solitary and mixed Cuckoos. In addition, none of the parameters measured during the post-fledging period (growth, dispersal distances, number of flights) differed between solitary and mixed Cuckoos. Redstart fledglings from non-parasitized broods ('solitary') showed generally similar fledging and postfledging parameters to fledglings reared alongside a Cuckoo ('mixed'). Surprisingly, there were no significant differences in post-fledging predation rate, starvation or overall survival rates between mixed and solitary Cuckoos or mixed and solitary Redstarts. Thus, during the post-fledging period, mixed Cuckoo fledglings successfully compensated for the poorer performance experienced during the nestling stage whereas mixed and solitary Redstarts did not differ in any measured parameters. This suggests that the regular occurrence of mixed broods in this host–parasite system – which is unique among the many Cuckoo hosts – is evolutionarily stable for both hosts and parasites.

#### **PŘÍSPĚVEK V**

**Tyller, Z., Kysučan, M. & Grim, T. 2018. Post-fledging behavior of the Common Cuckoo (*Cuculus canorus*) attended by the Chaffinch (*Fringilla coelebs*): a comprehensive approach to study the least known stage of brood parasite–host coevolution. *Wilson J. Ornithol.* 130: 536–542.**

In contrast to the thoroughly studied incubation and nestling periods, the postfledging period of the Common Cuckoo (*Cuculus canorus*) remains virtually unknown. Here, we report detailed observations of a cuckoo fledgling attended by a male Chaffinch (*Fringilla coelebs*). Molecular

data (nuclear DNA) showed the fledgling was a male belonging to the *Cuculus c. canorus/C. saturatus* clade while mitochondrial DNA data confirmed that it did not belong to blue egg gens that parasitizes Redstarts (*Phoenicurus phoenicurus*), which is the most common local host and the only regular Common Cuckoo host. During one week of observations, feeding rates did not change, body mass decreased (by 10%), and wing length increased (by 16%). Video recordings showed that the provided diet consisted mostly of larvae and that the fledgling also self-fed on lichens. A radio transmitter fitted on the fledgling revealed that daily movement distances ranged from 0 to 650 m and significantly increased with age. We suggest that future studies should focus on the postfledging period in brood parasite young because this stage currently represents a major gap in our understanding of parasite–host arms races.

## 6 LITERATURA

- Dawkins R., Krebs J. R. 1979. Arms races between and within species. *Proc. R. Soc. B* 205: 489–511.
- Grim T., Rutila J. 2017. Cuckoo–host coevolutionary interactions across all breeding stages: unusual ecological setting of a cavity-nesting host. In *Avian Brood Parasitism: behaviour, ecology, evolution and coevolution* (ed. M. Soler), pp. 287–303. Springer, Cham.
- Hamilton W. D., Zuk M. 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* 218: 384–387.
- Moksnes A., Fossøy F., Røskaft E., Stokke B. G. 2013. Reviewing 30 years of studies on the Common Cuckoo: accumulated knowledge and future perspectives. *Chin. Birds* 4: 3–14.
- Øien I. J., Moksnes A., Røskaft E. 1995. Evolution of variation in egg color and marking pattern in European passerines: adaptations in a coevolutionary arms race with the Cuckoo, *Cuculus canorus*. *Behav. Ecol.* 6: 166–174.
- Ridley M. 2003. *Evolution*. 3<sup>rd</sup> Edition. Blackwell Publishing.
- Rothstein S. I. 1990. A model system for coevolution: avian brood parasitism. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21: 481–508.
- Samaš P., Rutila J., Grim T. 2016. The Common Redstart as a suitable model to study cuckoo-host coevolution in a unique ecological context. *BMC Evol. Biol.* 16: 255.
- Stearns S. C. 1992. *The evolution of life histories*. Oxford University Press, New York.
- Vikan J. R., Fossøy F., Huhta E., Moksnes A., Røskaft E., Stokke B. G. 2011. Outcomes of brood parasite–host interactions mediated by egg matching: common cuckoos *Cuculus canorus* versus *Fringilla* finches. *PLoS One* 6: 1–13.
- Vikan J. R., Stokke B. G., Rutila J., Huhta E., Moksnes A., Røskaft E. 2010. Evolution of defences against cuckoo (*Cuculus canorus*) parasitism in bramblings (*Fringilla montifringilla*): a comparison of four populations in Fennoscandia. *Evol. Ecol.* 24: 1141–1157.
- Windsor D. A. 1998. Controversies in parasitology, most of the species on earth are parasites. *Int. J. Parasitol.* 28: 1939–1941.
- Yang C., Liang W., Møller A. P. 2019 Similar immediate costs of raising cuckoo and host chicks can hardly explain low levels of antiparasite defence in hosts. *Proc. R. Soc. B* 286: 20182430.

## ABSTRAKT DISERTAČNÍ PRÁCE V ANGLICKÉM JAZYCE

Obligatory brood parasitism is an alternative reproductive strategy that aims to maximize biological fitness while minimizing the costs associated with reproduction. The parasitic species negatively affects host fitness, facilitating the evolution of anti-parasitic adaptations in the host, and subsequently leading to counter-adaptations in the parasite. The long-term interaction of the parasite and host can thus lead to the "arms race", which occurs within their coevolution. The study of parasite-host interactions, in addition to insights into the evolutionary history, ecology, bionomy and life strategies, provides ideal conditions for understanding the fundamental evolutionary mechanisms.

In this dissertation, I studied interactions between an obligatory brood parasite, the common cuckoo (*Cuculus canorus*) and its host, the common redstart (*Phoenicurus phoenicurus*). The common redstart is the only regular European host of the common cuckoo that breeds in cavities, and thus the brood parasite is exposed to unique conditions and selection pressures we cannot observe in other parasite-host systems. Together with my colleagues, I have explored neglected aspects of this interaction, which have so far been shrouded in speculation, rumors (as the results of this dissertation suggest) and uncertainties. Specifically, we focused on the cuckoo strategy of egg-deposition into the redstart cavity nests (**Contribution I**), on the cost of raising a parasite (including egg incubation effort) for the redstart parents (**Contribution II**, **Contribution III**) and on the post-fledging interaction within cuckoo-redstart (**Contribution IV**) and its sympatric cuckoo-chaffinch system (**Contribution V**).

We were the first who documented that cuckoos deposit eggs into the redstart nest by three distinctive modes, which differ not only in the manner and speed of execution, but especially in the success of parasitism, including the accuracy of targeting the egg into the nest cup and the probability of egg rejection by the host (**Contribution I**). Furthermore, we have shown for the first time that raising a parasitic offspring is not more costly for the redstart parents, than raising their own average clutch (**Contribution II**), which may be one of the causes of the relatively weak anti-parasitic adaptations in the redstart that we currently observe (**Contribution III**). Further, we for the first time documented that there is no significant difference in the cuckoo and host young performance at the end of post-fledging parental care even when controlling for the brood composition and other characteristics. This could indicate the extraordinary coevolutionary stability of this system (**Contribution IV**). In addition, we have documented in detail the post-fledging care of the common chaffinch (*Fringilla coelebs*) host about the cuckoo young (**Contribution V**). We propose that the cuckoo-chaffinch system may be potentially similarly suitable for the cuckoo as the cuckoo-redstart system, which is, however, much better studied so far (**Contribution V**).



This comprehensive study either directly refutes or modifies earlier notions of cuckoo-host interaction. In addition, it employed new methodological approaches for both interacting species at the level of both adult birds and chicks. Also, the use of a wide range of technical equipment and methodological procedures offers inspiration and opens up new possibilities for studying parasite–host interactions, which is necessary for the data meta-analysis and thus for better understanding this fascinating field of biology.

**Keywords:** common cuckoo, common redstart, egg-laying, mixed brood, cost, post-fledging care, video, radio-tracking

## **CURRICULUM VITAE**

### **Mgr. Michal Kysučan**

Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra zoologie a ornitologická laboratoř, 17. listopadu 50, 771 46 Olomouc, Česká republika, e-mail: kysuc3@seznam.cz

Datum narození: 16. říjen 1984

Místo narození: Jeseník

### **Současné studium:**

#### **Univerzita Palackého v Olomouci**

Fakulta přírodovědecká – doktorský studijní program Biologie

Obor: Zoologie (specializace na ornitologii)

2013–současnost

Téma disertační práce: Interakce hnízdního parazita kukačky obecné (*Cuculus canorus*) s jeho jediným dutinovým hostitelem rehkem zahradním (*Phoenicurus phoenicurus*)

Vedoucí práce: prof. Ing. Stanislav Bureš, CSc.

Školitel a konzultant: prof. RNDr. Tomáš Grim, Ph.D.

### **Dosažené vzdělání:**

#### **Ostravská univerzita v Ostravě**

Fakulta přírodovědecká – magisterský studijní program Biologie

Obor: Systematická biologie a ekologie

2010–2013

Téma diplomové práce: Ekologicko-faunistická analýza araneocenóz PR Vidnavské mokřiny

Vedoucí práce: RNDr. Zdeněk Majkus, CSc.

#### **Ostravská univerzita v Ostravě**

Fakulta přírodovědecká – bakalářský studijní program Biologie

Obor: Systematická biologie a ekologie

2004–2007, 2009–2010

Téma bakalářské práce: Charakteristika pavoučích společenstev přírodní rezervace Vidnavské mokřiny

Vedoucí práce: RNDr. Zdeněk Majkus, CSc.