

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
KATEDRA EKOLOGIE



**ASORTATIVNÍ PÁROVÁNÍ PODLE VELIKOSTI
U ROPUCHY OBECNÉ (*BUFO BUFO*) – ROLE
KOMPETICE A DOPAD NA FITNESS**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Diplomant: Petr Chajma

Vedoucí práce: Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

2014

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra ekologie
Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Chajma Petr

Ochrana přírody

Název práce

Asortativní párování podle velikosti u ropuchy obecné (*Bufo bufo*) – role kompetice a dopad na fitness

Anglický název

Size-sortative mating in the Common Toad, *Bufo bufo*: The role of competition and effect on fitness

Cíle práce

Asortativní párování podle velikosti (SAM) je u obojživelníků poměrně zkoumaným jevem, ovšem řada problémů zůstává dosud neobjasněna. Např. není doposud experimentálně ověřeno, zdali má SAM pozitivní vliv na míru oplození vajec. Hlavním cílem projektu je proto získání podrobnějších poznatků o reprodukční ekologii u ropuchy obecné (*Bufo bufo*), konkrétně o mechanismech asortativního (nenáhodného) párování podle velikosti. V rámci dvou samostatných manipulativních experimentů budou testovány dvě hypotézy: (i) zdali zvýšený poměr pohlaví (samci : samice) ovlivňuje intenzitu kompetice mezi samci během formování páru a (ii) zdali u velikostně sladěných párů dochází k vyššímu oplození vajíček, resp. při kterých rozdílech velikostí samců a samic je míra oplození nejvyšší. Kromě toho bude zjišťována přítomnost asortativního párování podle různých vlastností – podle velikosti těla, přední končetiny, hmotnosti, či BMI.

Metodika

Oba manipulativní experimenty proběhnou v rámci areálu České zemědělské univerzity v Praze, v právě dokončovaných technických zařízeních určených pro chov a držení živočichů. V prvním experimentu se bude testovat frekvence vytěsňování za dvou různých poměrů pohlaví (operational sex ratio, OSR – počet samců ku počtu samic) – běžného (3 samci a jedna samice) a zvýšeného (6 : 1), vždy po 10 opakováních. Bude zaznamenávána především frekvence vytěsňování, chování zvířat bude nahráváno kamerou. V druhém pokusu o testování vlivu asortativního plánování na fitness, se ropuchy (40 samic a 130 samců) umístí do jedné nádrže a nechají vytvořit páry. Vytvořené páry se přemístí do faunaboxů, nechají vyklást, vejce vyvinout v pulce a následně, podobně jako u prvního experimentu, bude stanovena celková velikost snůšky a počet vylíhnutých pulců (úspěšnost oplození).

Harmonogram zpracování

3/2013 – příprava odchytu a plán experimentů,

4/2013 – vlastní provedení experimentů,

5–10/2013 – statistické zpracování dat, příprava rukopisu,

1–4/2014 – odeslání rukopisu, zpracování a odevzdání diplomové práce.

Rozsah textové části

cca 30 stran, přílohy dle potřeby

Klíčová slova

obojživelníci, asortativní párování podle velikosti, Bufo bufo, ropucha obecná, fitness, vytěšňování, poměr pohlaví.

Doporučené zdroje informací

- Andersson, M. 1994. Sexual Selection. Princeton University Press, USA.
- Arak, A. 1982. Male-male competition and mate choice in frogs and toads. Ph.D. thesis, University of Cambridge.
- Arak, A. 1983. Male-male competition and mate choice in anuran amphibians. Pp. 181-210 in P. Bateson (ed.), Mate choice. Cambridge University Press, UK.
- Burley, N. 1983. The meaning of assortative mating. *Ethology and Sociobiology* 4:191-203.
- Crespi, B. J. 1989. Causes of assortative mating in arthropods. *Animal Behaviour*, 38, 980-1000.
- Davies, N. B. & Halliday, T. R. 1977. Optimal mate selection in the toad *Bufo bufo*. *Nature*, 269, 56-58.
- Emlen, S. T. & Oring, L. W. 1977. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science* 197:215-223.
- Gittins, S. P., Parker, A. G. & Slater, F. M. 1980a. Mate assortment in the common toad (*Bufo bufo*). *Journal of Natural History* 14:663-668.
- H. Heatwole, & B. K. Sullivan (Eds.), *Amphibian Biology*. Vol.2. Social Behaviour. Surrey Beatty & Sons, UK.
- Lu, X., Chen, W., Zhang, L. & Ma, X. 2010. Mechanical constraint on size-assortative pairing success in a temperate frog: An experimental approach. *Behavioural Processes*, 85, 181-184.
- R Development Core Team, 2009. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Wells, K. D. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press.
-

Vedoucí práce

Vojar Jiří, Ing., Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 13.12.2013

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 18.12.2013

prof. Ing. Petr Sklenička, CSc.

Děkan fakulty

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně, pod vedením Ing. Jiřího Vojara, Ph.D., a že jsem uvedl všechny literární prameny a publikace, ze kterých jsem čerpal.

V Praze, dne 23. 4. 2014

.....

Poděkování

Chtěl bych poděkovat svým blízkým, přátelům a hlavně svému vedoucímu, Ing. Jiřímu Vojarovi, Ph.D., bez kterých by realizace této práce nebyla možná. Rovněž děkuji interní grantové agentuře FŽP za financování tohoto projektu.

Abstrakt

Asortativní párování podle velikosti je nenáhodný pářící systém mnoha druhů žab, v němž se přednostně páří velikostně odpovídající jedinci. Jeho výskyt je však proměnlivý nejen na úrovni druhů, ale i na úrovni jednotlivých populací, a to i v různých časových úsecích. V jeho dokazování panují metodické nejasnosti a jeho vliv na fitness jedinců je spekulativní. Cílem této práce bylo pomocí dvou manipulativních experimentů prozkoumat mechanismy vzniku asortativního párování podle velikosti a jeho vliv na fitness ropuchy obecné. Zkoumané ropuchy se párovaly asortativně podle velikosti, ne však podle hmotnosti, či BMI. Fyzická omezení formování párů působila intenzivněji na samce menších rozměrů. Samci největší velikostní kategorie doháněli svou menší kompatibilitu se samicí vyšší aktivitou. Zvýšení poměru pohlaví (OSR) na místě rozmnožování mělo negativní vliv na aktivitu samců střední velikostní kategorie. Počet vytěsnění ani doba strávená v amplexu však na OSR závislá nebyla. Velikost snůšky byla nejvíce ovlivněna velikostí samice (SVL), vliv její hmotnosti a BMI byl marginálně nevýznamný. Úspěšnost oplození vajíček nezávisela na rozdílu, ani podílu velikostí jedinců v párech, či podílu BMI nebo délky paže samce a SVL samice. Závisela ale na rozdílu a podílu hmotností samců a samic v párech. SAM tedy nemělo významný vliv na úspěšnost oplození, a vzniklo pouze jako důsledek fyzických omezení amplexu a kompetice samců. Součástí práce jsou rukopisy dvou článků na dané téma, které jsou ve fázi před odesláním do odborných časopisů.

Klíčová slova: SAM, úspěšnost oplození, OSR, vytěsňování, fyzická omezení

Abstract

Size assortative mating is a non-random mating system of many anuran species, with mating advantage of size matching individuals. Its occurrence is, however, variable not only in species, but even in individual populations and periods of time. Several methodical issues are often made in attempts to prove its existence and its effect on fitness is rather questionable. The aim of this study was to assess the mechanisms of formation of size assortative mating and its influence on fitness of common toad. Studied toads mated assortatively with respect to size, but not mass, nor BMI. Physical limitations of amplexus were due to male to male competition greater in males of smaller size. Males of the biggest size category compensated for their lower compatibility with female by increasing their activity. Increase in operational sex ratio (OSR) had a negative effect on activity of medium sized males. A number of displacements, nor time spent in amplexus wasn't significantly dependent on OSR. Size of the clutch was mostly affected by female size (SVL). Effect of female mass, or BMI was marginally insignificant. Fertilization success wasn't affected by difference in male and female sizes, quotient of male and female sizes, male and female BMI, nor quotient of male forelimb length and female SVL. It was mostly dependent on quotient of male and female mass and its difference. Therefore SAM didn't have any significant effect on fertilization success and formed only as a consequence of physical constraints and male to male competition. Two manuscripts on this subject, that are in the final stage before posting are included as attachment.

Key words: SAM, fertilization success, OSR, displacement, mechanical constraints

Obsah

1. Úvod	10
2. Cíle práce	12
3. Literární rešerše	13
3.1 Vznik a význam asortativního párování.....	13
3.2 Dosavadní výzkum asortativního párování u obojživelníků.....	15
4. Metodika	29
4.1 Vliv velikosti a poměru pohlaví na formování párů	30
4.2 Vliv velikostních rozdílů v páru na úspěšnost oplození.....	31
5. Výsledky	32
5.1 Vliv velikosti a poměru pohlaví na formování párů	33
5.2 Vliv velikostních rozdílů v páru na úspěšnost oplození.....	35
6. Diskuze	37
6.1 Vliv velikosti a poměru pohlaví na formování párů	38
6.2 Vliv velikostních rozdílů v páru na úspěšnost oplození.....	40
7. Závěr	42
8. Přehled literatury a použitých zdrojů	44
9. Přílohy	52

Seznam použitých zkratek

SAM – Size assortative mating, asortativní párování podle velikosti.

SDM – Size dependent mating, rozmnožovací systém charakteristický reprodukční výhodou velkých samců.

OSR – Operational sex ratio, poměr pohlaví v místě rozmnožování.

SVL – Snout-vent length, délka jedince, měřená od špičky čenichu po kloaku.

BMI – Body mass index, poměr hmotnosti a druhé mocniny SVL.

GLIM – Zobecněný lineární model.

1. Úvod

Nenáhodné, neboli asortativní párování lze chápat jako korelaci určitých vlastností samců a samic ve vytvořených párech (Lewontin et al., 1968). Tento fenomén se objevuje u širokého spektra živočichů, přičemž korelovanými charakteristikami mohou být např. velikost (Davies & Halliday, 1977), věk (Ferrer & Penteriani, 2003), momentální fyzický stav vyjádřený poměrem hmotnosti a velikosti (Bortolotti & Iko, 1992) nebo sociální zkušenost (Freeberg, 1996). Nejprozkoumanějším jevem je asortativní párování podle velikosti (size assortative mating, krátce SAM), které je známé napříč celou živočišnou říší (Crespi, 1989).

U obojživelníků je asortativní párování podle velikosti poměrně zkoumaným jevem (Wells, 1977a; Arak, 1983 in Bateson, 1983; Elmberg, 1987; Marco et al., 1998; Gramapurohit & Radder, 2012). Přesto panuje nejednotnost v metodice i výsledcích uskutečněných výzkumů (Chajma, 2012). SAM bylo, zatím, potvrzeno výhradně u žab. Pro jeho vznik je zásadní přítomnost amplexu (ve kterém působí fyzická omezení velikosti neseného pohlaví), či zvýšená atraktivita většího jedince (Crespi, 1989). Zhodnocení velikosti jedince probíhá v druhém případě akusticky (u žab), nebo vizuálně (u žab a čolků). To je spolu se skrytým způsobem života důvodem absence studií SAM u červorů.

Tvorba velikostně sladěných amplexů (tj., je-li velikost samců a samic v párech v určitém poměru) má několik výhod, např. lepší schopnost odolat atakům konkurenčních samců (Davies & Halliday, 1977; Lu et al., 2010). Kromě toho se u velikostně sladěných párů předpokládá vyšší míra oplození vajíček, což má potenciální vliv na fitness, vyjádřený počtem potomků (Davies & Halliday, 1977; Crespi, 1989). Ten je docílen menší vzdáleností kloak, která zvyšuje míru oplození a snižuje riziko zmeškání signálu (většinou v podobě kopnutí), jež samice vysílá před začátkem kladení vajec (Wells, 2007).

U žab bylo asortativní párování podle velikosti zkoumáno především u ropuch a skokanů (Chajma, 2012). Cílem většiny prací bylo prokázat korelaci mezi velikostmi jedinců v páru, méně jich však zkoumalo mechanismy jejího vzniku. Jiné se spokojily s porovnáním velikostí reprodukčně úspěšných a neúspěšných samců

(např. Hoglund & Saterberg, 1989), které dokazuje pouze reprodukční výhodu větších samců (SDM), nikoliv SAM. Pouze jediná práce (Bastos & Haddad, 1996) dokázala reálný vliv SAM na fitness páru, přesto jej autoři považují za samozřejmost (např. výše zmínění Davies & Halliday, 1977 a Crespi, 1989). Chybí zejména manipulativní pokusy, které by testovaly fyzická omezení amplexu, a s tím spojené vytěšňování samce jiným, konkurenčním samcem. Dalším neduhem prací věnovaných SAM jsou falešně negativní (i pozitivní) výsledky, plynoucí ze špatného vyhodnocení korelačních testů.

U druhů s krátkým rozmnožovacím obdobím dochází k intenzivní kompetici mezi samci, která zahrnuje snahy o vytěšnění ostatních samců z páru, vedoucí k prohloubení fyzických limitací amplexu. Poměr pohlaví v místě rozmnožování (OSR – operational sex ratio) bývá značně nakloněn ve prospěch samců a měl by mít významný vliv na intenzitu kompetice (Davies & Halliday, 1977; Tejedó, 1988; Kvarnemo & Ahnesjö, 2002; Lee & Park, 2009; Vojar et al., in prep). Ač existuje několik observačních studií (Davies & Halliday, 1977, 1978; Tejedó, 1988; Lu et al., 2009), pouze jediná (Lamb, 1984) dosud zkoumala vytěšňování formou manipulativního pokusu. Ten však obsahoval významné metodické nedostatky. Samci v něm byli nejprve rozděleni pouze do dvou velikostních kategorií (na malé a velké). Střední velikostní kategorie, byla následně řešena až v druhém roce pokusu a nebyla porovnáována s ostatními dvěma (viz kapitola 3.2). Navíc do pokusu nebyl zahrnut vliv poměru pohlaví.

2. Cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo vypracování dvou samostatných manipulativních pokusů, které by měly blíže zkoumat vliv kompetice a fyzických omezení na vznik SAM za různých poměrů pohlaví a vliv SAM na fitness jedinců v páru. Zároveň byl kladen důraz na vyvarování se výše zmíněných nedostatků a doplnění informací, které jsou kritické k pochopení celého problému. Jako pokusný druh byla vybrána ropucha obecná (*Bufo bufo*), která je díky svému kosmopolitnímu rozšíření obecně dobře prozkoumaným druhem s krátkým rozmnožovacím obdobím. Přítomnost SAM u ní v některých studiích byla (např. Davies & Halliday, 1977), v jiných naopak nebyla prokázána (shrnutí v příloze č. 3).

Mezi dílčí cíle této práce tedy patří:

- (i) Vyhodnocení vlivu velikosti samce na formování a udržování amplexu.
- (ii) Vyhodnocení vlivu poměru pohlaví na intenzitu samčí kompetice.
- (iii) Zjištění vlivu rozdílu velikostí samce a samice v páru na míru oplození vajíček.
- (iv) Zjištění přítomnosti asortativního párování podle různých fyzických charakteristik ropuchy obecné.

3. Literární rešerše

3.1 Vznik a význam asortativního párování

Asortativní párování na základě velikosti je tedy korelace velikostí samců a samic v páru (Lewontin et al., 1968). U obojživelníků bývá velikost nejčastěji zastupována délkou těla (SVL, snout-vent length), což je vzdálenost od čenichu po kloaku (Baruš & Oliva, 1992).

Crespi (1989) uvádí tři hypotézy objasňující vznik asortativního párování podle velikosti:

- Hypotéza o výběru partnera.
- Hypotéza o dostupnosti.
- Hypotéza o omezení.

Hypotéza výběru partnera vysvětluje SAM jako výsledek snahy samců i samic spářit se s větším protějškem. To se stává na základě kombinace samičí volby a kompetice mezi samci nebo kombinace samičího a samčího výběru, či jiných procesů, které v páření zvýhodňují větší samice. Samčí volba způsobuje asortativní párování interakcí pářící výhody větších samců a tendence vybírat si větší samici kvůli větší fekunditě. Úloha výběru protějšku se však se vzrůstajícím OSR zmenšuje a při velké konkurenci samců bývá volba zcela potlačována, což potvrzuje hned několik studií u ocasatých obojživelníků (Janzen & Brodie, 1989; Park et al., 1996; Gopurenko et al., 2006).

Teorie dostupnosti říká, že větší samice jsou zvýhodněné tím, že se začínají pářit dříve, jejich pářící období trvá déle, a také jsou lépe vidět, což je obzvlášť výhodné u druhů, kde hledá samec samici pomocí zraku. Když se započítá kompetice mezi samci, ze které lépe vyjdou větší jedinci, výsledkem je páření větších samců s většími samicemi. S postupem pářícího období se páří menší a menší jedinci, až na sebe vyzbydou ti nejmenší. V tomto modelu se vůbec nepočítá s volbou. Takové chování se vyskytuje u mnoha žab s dlouhým pářícím obdobím (delším než tři měsíce) (Eggert & Guyétant, 2003). Negativní korelaci mezi velikostí a datem příchodu zaznamenal u ropuchy obecné např. Kovář (1999) nebo Vojar et al. (in prep., viz příloha č. 3). Do hypotézy o dostupnosti dále patří časová a prostorová

kovariance, kdy se na stejných místech v prostoru nacházejí stejně velcí jedinci, což může být způsobeno např. preferencí určitého habitatu nebo nemožností se dostat na jiný habitat vzhledem k velikosti těla (viz např. Ferrer & Penteriani, 2003).

Hypotéza o omezení pojednává o fyzických omezeních páření, námluv a omezení zatížení či energetického výdeje. Omezení páření nastává při velikém rozdílu velikostí jedinců v páru, způsobujícím nemožnost nebo vysokou obtížnost naplnění všech pářících mechanismů završených oplodněním. Tento model je znám např. u mandelínek *Trirhabda canadensis* (Brown, 1993), bruslařek *Gerris gracilicornis* (Han et al., 2010), nebo skokanů východních (*Rana chensinensis*) (Lu et al., 2010). Nebývá však přímým důvodem SAM, nahrává spíše asymetrické a heteroskedastické korelaci velikostí samců a samic v páru (viz Chajma, 2012). Omezení námluv nastává za stejných okolností jako omezení páření, s tím rozdílem, že brání naplnění mechanismů namlouvání samice a k samotnému páření tedy vůbec nedojde. Omezení zatížení se vyskytuje u druhů, u kterých jedno pohlaví nese při námluvách/páření to druhé. Zvýšená hmotnost pohlaví, které je neseno, může způsobit drobnějšímu nosiči nemalé potíže, jako je tomu u výkalnic *Scathophaga inquinata* (Otronen, 1997). Díky zvýšenému výdeji energie a snížené pravděpodobnosti přežití (pár je náchylnější k lapení nějakým predátorem) nemusí k oplodnění vůbec dojít (Crespi, 1989).

Bohužel je těžké stanovit, jak moc se která hypotéza podílí na výběru partnera, navíc jde často o jejich kombinace. S fluktuacemi početnosti, které jsou pro obojživelníky tak typické (Pechmann et al., 1991; Marsh, 2001; Marsh & Trenham, 2001), i se změnami jiných důležitých charakteristik (např. poměr pohlaví, dostupnost zdrojů, predací tlak), se často mění procesy pohlavního výběru (viz např. Takahashi et al., 2010; Bierbach et al., 2011), a tím také míra asortativity.

Asortativní párování lze považovat za jednu z hybných sil speciace, díky nastolení a prohlubování prezygotních reprodukčních bariér, které ve spojení s genetickým driftem vytváří rozdíly mezi jednotlivými populacemi téhož druhu (Coyne, 1992). Výhodou asortativního párování je kvalitnější potomstvo a zvýšení fitness rodičů. U SAM je to díky časté korelaci velikost samice s její fekunditou (Krupa, 1994; Rodrigues et al., 2005) a potenciálně lepší míře oplození. Rovněž může docházet k předcházení případné nekompatibility genů geneticky příliš odlišných jedinců.

3.2 Dosavadní výzkum asortativního párování u obojživelníků

Dosavadní práce týkající se SAM u obojživelníků lze rozdělit na studie zkoumající jeho výskyt a studie zkoumající některou z příčin jeho vzniku, kam lze zařadit i velkou skupinu pokusů zabývajících se akustickými projevy žab.

Studie mající za cíl prokázání výskytu SAM jsou v drtivé většině pokusy *in-situ* bez jakékoliv manipulace. U červorů neexistuje žádná práce s podobnou tematikou. O jejich reprodukční ekologii se toho moc neví. Důvodem je jejich neatraktivní vzhled a skrytý způsob života. Částečná, nebo úplná absence zraku a omezený sluch velmi stěžují odhad velikosti partnera. Ke komunikaci používají hmatové a chemické podněty, jejichž funkce ve výběru velikostně sladěného partnera není známa (Wells, 2007). Rovněž nejsou známy hustoty, v jakých se červoři přirozeně vyskytují, ani přirozená míra agresivity jednotlivých druhů v rozmnožovacím období (Warbeck & Parzefall, 2001 in Marchlewska-Koj et al., 2001)

Ocasatí obojživelníci jsou již podstatně lépe prozkoumanou skupinou. Stejně jako u červorů, i u nich hrají chemické podněty velmi důležitou roli. Na rozdíl od nich ale mají dobře vyvinutý zrak (až na pár jeskynních specialistů) a množství druhotně pohlavních znaků. V rozmnožovacích systémech ocasatých najdeme mnoho zásadních rozdílů. Jsou zde druhy s denní i noční aktivitou, vnitřním i vnějším oplozením, jednopohlavní i oboupohlavní, monogamní i polygamní (Wells, 2007). Jejich rozmnožovacího období se často dělí na explozivní (1–14 dní, méně časté) a prodloužené (měsíc až celý rok, většina druhů) (Wells, 1977a). SAM nebylo popsáno u velemlokovitých (Cryptobranchidae), pamlokovitých (Hynobiidae), axolotlovitých (Ambystomatidae), úhoříkovitých (Amphiumidae), mločíkovitých (Plethodontidae), macarátovitých (Proteidae), mlokánkovitých (Rhyacotritonidae), ani surýnovitých (Sirenidae). U velemloka japonského (*Andrias japonicus*) však rozmnožování přeci jen na velikosti závisí. Nejedná se o pravé asortativní párování podle velikosti ve smyslu korelace velikostí jedinců v párech, ale o velikostní výhodu velikých samců (SDM – size dependent mating) (Kawamichi & Ueda, 1998). Ti dokážou lépe obsadit a uhlídat místa vhodná pro rozmnožování, která jsou poslední dobou velmi vzácná. Pamlok korejský (*Hynobius leechi*) se zase v areálu sympatrického rozšíření páruje asortativně podle poddruhu (Yang et al., 1997). Ačkoliv se dané dva poddruhy morfologicky liší, také nejde o SAM. Podobná situace nastává u axolotla krtkovitého (*Ambystoma talpoideum*), u kterého dochází

k současnému výskytu neotenických a metamorfovaných jedinců. Mezi neotenickými larvami a dospělci nejsou žádné reprodukční bariéry (Krenz & Verrell, 2002), párují se však nenáhodně, podle morfotypu (Krenz & Sever, 1995). Příčinou je časové omezení dostupnosti metamorfovaných jedinců, kteří musí na rozdíl od larev čekat na příhodné počasí k migrování na místa rozmnožování. Z ocasatých obojživelníků mají k SAM pravděpodobně nejbližší mlokovití (Salamandridae). Ačkoliv neexistuje žádná studie, která by se zabývala korelací velikostí jedinců v párech, je u několika druhů popsána pářící výhoda velkých samců (SDM). Velikostní výhoda samců čolka obecného (*Triturus vulgaris*) se začíná projevovat s postupem pářícího období, kdy jsou samice stále více a více vybíravé. Preferovaným znakem je velikost ocasního lemu, která je silně pozitivně korelována s velikostí samce (Gabor & Halliday, 1997). Podobné chování lze pozorovat i u čolka zelenavého (*Notophthalmus viridescens*) (Able, 1999). Tam se k samičí volbě přidává volba samčí, kdy si samci vybírají co největší samice (Takahashi et al., 2010). Interakcí těchto voleb může docházet k vzniku SAM. Žádná práce, která by jej kvantifikovala, však neexistuje.

Z žab bylo SAM nejintenzivněji zkoumáno u skokanovitých (Ranidae) a ropuchovitých (Bufonidae). Výsledky se však liší nejen napříč, ale i v rámci jednotlivých druhů. Lu et al. (2009) prokázali SAM u skokana východního (*Rana chensinensis*) na třech lokalitách. Síla korelace se lišila mezi lokalitami i lety (Lok. A, 2006: $r = 0,73$; $n = 34$; $p < 0,001$; Lok. A, 2007: $r = 0,44$; $n = 283$; $p < 0,001$; Lok. B, 2006: $r = 0,56$; $n = 52$; $p < 0,001$; Lok. C, 2003: $r = 0,26$; $n = 84$; $p = 0,019$; Lok. C, 2007: $r = 0,39$; $n = 174$; $p < 0,001$). U stejného druhu prokázali SAM i Chen et al. (2012), kteří počítali korelaci velikostí jedinců v párech během pářícího období a v období hibernace (Pářící období, rok 1: $r = 0,56$; $n = 52$; $p < 0,001$; Období hibernace, rok 1: $r = 0,64$; $n = 42$; $p < 0,001$; Období hibernace, rok 2: $r = 0,41$; $n = 75$; $p < 0,001$). U skokana hnědého (*Rana temporaria*) již tak silné korelace pozorovány nebyly. Elmberg (1987) ve své první studii neprokázal asortativní párování podle velikosti těla, ani zadních končetin. Za vinu to dával nízké hustotě jedinců ($0,25\text{--}0,75/\text{m}^2$) (SVL: $r = 0,04$; $n = 31$; $p > 0,05$; Délka zadních končetin: $r = 0,08$; $n = 31$; $p > 0,05$). Ve své další studii (Elmberg, 1991) však přítomnost SAM také nepotvrdil (OSR = 4, 30–51 samců/ m^2 : $r = -0,02$; $n = 49$; $p > 0,5$; OSR = 4, 13–21 samců/ m^2 : $r = -0,06$; $n = 54$; $p > 0,5$; OSR = 1, 4–6 samců/ m^2 : $r = 0,07$; $n = 23$;

$p > 0,5$). Průkaznou korelaci délek jedinců v párech neprokázal ani Ryser (1989). Jediný, komu se podařilo najít SAM u skokana hnědého, byl Vojar et al. (in prep., viz příloha č. 3). Nejvyšší míru asortativity pozoroval čtvrtého dne hlavní rozmnožovací sezóny (1. den: $r = 0,34$; $n = 41$; $p = 0,03$; 2. den: $r = 0,11$; $n = 62$; $p = 0,39$; 3. den: $r = 0,36$; $n = 75$; $p = 0,001$; 4. den: $r = 0,50$; $n = 39$; $p = 0,001$). Howard (1978) zjistil SAM u michiganské populace skokana volského (*Lithobates catesbeianus*) ($r = 0,34$; $n = 55$; $p = 0,009$). U stejného druhu bylo zjištěno i SDM (Wells, 1977b). Větší samci si vybírali kvalitnější teritoria (a také je dokázali obhájit), která byla samicemi preferována. Korelace mezi počtem partnerů a kvalitou teritoria určenou z předchozích studií (dle přítomnosti vegetace, okraje a mělčín) byla v obou zkoumaných letech vyšší (1974: $r = 0,58$; $p < 0,01$; 1975: $r = 0,56$; $p < 0,01$), než korelace počtu partnerů se SVL (1974: $r = 0,31$; $p > 0,05$; 1975: $r = 0,37$; $p < 0,05$). U skokana lesního (*Lithobates sylvaticus*) se výsledky také liší. Howard (1980) pozoroval s ohledem na velikost zcela náhodné párování ($r = 0,09$; $n = 35$; $p = 0,46$), zatímco Berven (1981) jej potvrdil na dvou, ze tří zkoumaných lokalit (Lok. 1: $r = 0,40$; $n = 99$; $p < 0,01$; Lok. 2: $r = 0,22$; $n = 83$; $p < 0,05$; Lok. 3: $r = 0,28$; $n = 38$; $p > 0,05$). Na stejných třech lokalitách potvrdil i přítomnost SDM (Lok. 1: $t = 3,95$; $n = 299$; $p < 0,001$; Lok. 2: $t = 2,36$; $n = 293$; $p < 0,05$; Lok. 3: $t = 3,18$; $n = 93$; $p < 0,05$). Velmi slabě asortativní párování podle velikosti dokládají u skokana lesního také Howard & Kluge (1985). Hodnota korelačního koeficientu je však v jejich případě natolik nízká, že lze polemizovat nad tím, zda výskyt SAM spíše nezamítli ($r = 0,17$; $n = 571$; $p < 0,01$). Průkaznost korelace je zcela jistě způsobena velkým množstvím změřených párů, jelikož je velmi závislá na velikosti vzorku. Správným ukazatelem míry těsnosti vztahu, a tedy přítomnosti asortativního párování, je hlavně hodnota korelačního koeficientu (Lepš, 1996). Zato se jim ale podařilo prokázat korelaci reprodukčního úspěchu (v podobě pravděpodobnosti páření) a SVL samce ($r = 0,66$; $p < 0,05$). SAM nebylo potvrzeno u skokana štíhlého (*Rana dalmatina*) ($r = -0,22$; $n = 32$; $p = 0,23$) (Hettyey et al., 2005).

U ropuch je situace podobná. Davies & Halliday (1977) objevili asortativní párování podle velikosti u ropuchy obecné. Před začátkem rozmnožovací sezóny se ropuchy pářily náhodně ($r = 0,09$; $n = 32$; $p > 0,5$ a $r = 0,3$; $n = 26$; $p > 0,5$), po začátku nikoliv ($r = 0,57$; $n = 16$; $p < 0,05$). K rozporupným výsledkům dospěl Kovář (1999), který rovněž měřil velikosti jedinců v párech před vstupem do vody. Ze tří po

sobě jdoucích let byla jejich korelace průkazná pouze v roce prvním, ale i ta byla poměrně slabá (1. rok: $r = 0,18$; $n = 128$; $p < 0,05$; 2. rok: $r = 0,12$; $n = 127$; $p > 0,05$; 3. rok: $r = 0,09$; $n = 118$; $p > 0,05$). Po spojení všech let dohromady byla korelace také slabá a průkazná ($r = 0,2$; $n = 373$; $p < 0,01$). Absenci SAM zjistili u stejného druhu Vojar et al. (in prep., viz příloha č. 3). Nedocházelo k němu v žádném z šesti sledovaných dní hlavní reprodukční sezóny, a to i přes poměrně vysoké OSR (3,31–12,22). Korelační koeficienty byly nízké a nevýznamné (1. den: $r = 0,22$; $n = 16$; $p = 0,41$; 2. den: $r = 0,12$; $n = 87$; $p = 0,28$; 3. den: $r = 0,17$; $n = 48$; $p = 0,24$; 4. den: $r = 0,21$; $n = 58$; $p = 0,11$; 5. den: $r = 0,14$; $n = 67$; $p = 0,27$; 6. den: $r = 0,23$; $n = 33$; $p = 0,21$).

Z ostatních ropuch bylo SAM potvrzeno u ropuchy západoamerické (*Anaxyrus boreas*). K těmto výsledkům došli Marco et al. (1998), kteří měřili páry těsně před vstupem do vody ($r = 0,51$; $n = 104$; $p < 0,001$). Naopak ropucha americká (*Anaxyrus americanus*) se podle Gatzke (1981) páruje podle velikosti (SDM), nikoliv však asortativně (Lok. A, 1979: $r = 0,26$; $n = 35$; $p > 0,1$; Lok. A, 1980: $r = -0,03$; $n = 44$; $p > 0,5$; Lok. B: $r = -0,3$; $n = 23$; $p > 0,1$). Spárování samci zde byli významně větší, než nespárování, což autor z důvodu malého procenta vytěsněných samců (7 %) vysvětluje volbou samice, která preferuje co největší partnery. SAM a SDM se nutně nevylučují a jsou známy případy, kdy v řádu dní volně přechází jedno v druhé, viz Tab. 1. (Olson et al., 1986).

Tab. 1: Výsledky analýzy rozmnožovacích systémů – SDM (t-statistika) a SAM (r) u ropuchy západoamerické

T-statistika ukazuje výsledek t-testu velikostí spárovaných a volných samců, r ukazuje výsledek testu korelace SVL samců a samic v párech,

Npr – počet párů, Nu – počet volných samců, *p < 0,05.

Lokalita	Datum	Npr	Nu	t-statistika	r
A	5.6.	44	10	0,56	0,49*
	6.6.	38	1	-	0,46*
	8.6.	28	39	1,54	0,39*
	15.6.	4	13	1,12	0,57
B	1.7.	10	0	-	0,11
	2.7.	14	23	2,14*	0,34
	3.7.	13	38	2,15*	0,64*
	4.7.	3	21	0,34	-0,06
	7.7.	12	23	0,16	0,48
	8.7.	21	26	2,37*	0,13
	12.7.	1	8	-	-
C	9.7.	37	85	1,31	0,14
	12.7.	18	21	0,98	0,25
	13.7.	16	31	0,17	-0,15
	14.7.	15	17	1,06	-0,32

Zdroj: Olson et al. (1986)

SAM u ropuchy americké nepotvrdil ani Kruse (1981) ($r = 0,18$; $n = 63$; $p > 0,05$). U jím zkoumané populace se navíc neprojevovala ani pářící výhoda větších samců ($t = 0,7$; $p > 0,4$). Wilbur et al. (1978) testovali přítomnost SAM a SDM u třech druhů – ropuchy americké, dubové (*Anaxyrus quercicus*) a hrabavé (*Anaxyrus terrestris*). U ropuchy americké nedocházelo ani k SAM ($r = -0,1$; $n = 7$; $p > 0,05$), ani k SDM ($t = 0,54$; $df = 16$; $p > 0,05$). Ropucha dubová byla zkoumána na třech lokalitách. Na první se vyskytovalo SDM ($t = 2,82$; $df = 47$; $p < 0,01$), nikoliv však SAM ($r = -0,23$; $n = 25$; $p > 0,05$). Na druhé se měřilo pouze SAM, kterémé, nejspíše vlivem malého vzorku, nebylo prokázáno ($r = 0,32$; $n = 13$; $p > 0,05$). Třetí lokalita kopírovala výsledky té první, významné SDM ($t = 3,57$; $df = 32$; $p < 0,05$) a absence SAM ($r = 0,11$; $n = 20$; $p > 0,05$). Ropucha hrabavá nejevila známky ani jednoho z nenáhodných párovacích systémů ($r = -0,46$; $n = 4$; $p > 0,05$ a $t = 0,38$; $df = 16$; $p > 0,05$). Absence SAM ($r = 0,13$; $p > 0,05$) a přítomnost SDM ($t = 3,63$; $p < 0,001$) je charakteristická také pro texaskou populaci ropuchy houstonské (*Anaxyrus houstonensis*) (Hillis et al., 1984).

Dalším druhem, u kterého dochází k SAM, je ropucha jihoasijská (*Duttaphrynus melanostictus*). Gramapurohit & Radder (2012) u ní navíc, kromě korelace SVL

v párech ($r = 0,39$; $n = 148$; $p < 0,05$), zjistili i korelaci hmotností ($r = 0,39$; $n = 148$; $p < 0,05$). Lee & Park (2009) zkoumali SAM u ropuchy Stejnegerovy (*Bufo stejnegeri*). Ropuchy Stejnegerovy přicházejí jednotlivě na přelomu prosince a ledna k potokům před jejich zamrznutím a vytvářejí páry, ve kterých přečkávají zimu. Proto probíhalo měření ve dvou termínech – před a po zimování. Výsledky se na dvou zkoumaných lokalitách pohybovaly od slabě asortativního, po náhodné párování (Lok. A, prosinec, OSR = 2,75: $r = 0,22$; $n = 96$; $p = 0,04$; Lok. A, březen, OSR = 1,96: $r = 0,32$; $n = 26$; $p = 0,11$; Lok. B, leden, OSR = 1,85: $r = 0,27$; $n = 33$; $p = 0,14$; Lok. B, březen, OSR = 4,1: $r = 0,35$; $n = 30$; $p = 0,06$). Rozmnožovací systém ropuchy čínské (*Bufo gargarizans*) zkoumali Yu & Lu (2010). Udávají silnou korelaci SVL samců a samic v párech na dvou, ze tří lokalit (Lok. A: $r = 0,24$; $n = 103$; $p = 0,01$; Lok. B: $r = 0,2$; $n = 106$; $p = 0,04$; Lok. C: $r = 0,17$; $n = 90$; $p = 0,11$). Po přihlédnutí k hodnotě korelačního koeficientu však zjistíme, že se o silnou korelaci vůbec nejedná. Naopak je poměrně slabá. K SDM docházelo rovněž pouze na dvou plochách ze tří (Lok. A: $t = 1,99$; $p = 0,048$; Lok. B: $t = 2,64$; $p = 0,009$; Lok. C: $t = 1,7$; $p = 0,09$). Lee & Salzburg (1989) zjišťovali přítomnost SAM u ropuchy zahradní (*Incilius valliceps*) na dvou mexických lokalitách. Na první z nich bylo párování zcela náhodné ($r = 0,1$; $n = 52$; $p > 0,05$). Na druhé byla korelace SVL v párech nevýznamná, bylo to však pravděpodobně způsobeno velmi malým počtem změřených párů ($r = 0,3$; $n = 12$; $p > 0,05$). Cherrymu (1993) se nepodařilo doložit SAM u ropuchy hnědoskvrnné (*Amietophrynus rangeri*) ($r = 0,01$; $p > 0,05$). K SDM v jeho výzkumu také nedocházelo (1985: $t = 1,14$; $p = 0,13$; 1986: $t = 0,02$; $p = 0,49$; 1987: $t = -0,47$; $p = 0,32$; Celkově $t = 0,24$; $p = 0,41$). U ropuchy Woodhouseovy (*Anaxyrus woodhousei*) neprokázal SAM žádný z autorů. Mnohem častější je u ní jednoduché párování podle velikosti (Fairchild, 1981). Bionda et al. (2011) objevili silnou korelaci SVL samců a samic v párech ropuchy argentinské (*Rhinella arenarum*) ($r = 0,68$; $n = 20$; $p < 0,001$).

Studiem rozmnožovacích systémů pouštních žab se zabýval (Woodward, 1982). U ropuchy Woodhouseovy, blatnice americké (*Scaphiopus couchi*), novomexické (*Spea multiplicata*), ani blatnice nížinné (*Spea bombifrons*) však, nehledě na některé velmi malé vzorky, SAM neprokázal (viz Tab. 2).

Tab. 2: Korelace SVL v párech několika druhů pouštních žab

N – počet párů, rs – Spearmanův korelační koeficient, r – Pearsonův korelační koeficient

P – dosažená hladina významnosti

Druh	Datum	N	Korelační koeficient	P
<i>S. couchi</i>	4. 7. 1977	28	rs = 0,29	> 0,1
<i>S. couchi</i>	24. 7. 1978	19	rs = 0,14	> 0,5
<i>S. couchi</i>	25. 7. 1978	13	rs = 0,2	> 0,5
<i>S. bombifrons</i>	22. 7. 1977	10	rs = 0,27	> 0,2
<i>S. multiplicata</i>	22. 7. 1977	9	rs = 0,53	> 0,1
<i>A. woodhousei</i>	1977	27	r = 0,07	> 0,5
<i>A. woodhousei</i>	1978	80	r = 0,13	> 0,2
<i>A. woodhousei</i>	1979	17	rs = 0,33	> 0,1

Zdroj: Woodward (1982)

Lizana et al. (1994) zkoumali reprodukční chování další z blatnic, blatnice západní (*Pelobates cultripes*). Jejich výsledky však nejsou směrodatné, změřili pouze 10 amplektujících párů. SAM ($r = 0,18$; $n = 10$; $p = 0,6$) ani SDM ($t = -0,68$; $df = 77$; $p = 0,49$) na tak malém vzorku nepotvrdili. Korelační koeficient byl tak jako tak malý, takže se pravděpodobně větší chyby nedopustili.

Z rosničkovitých (Hylidae) bylo asortativní párování podle velikosti zkoumáno např. u rosničky úhledné (*Dendropsophus elegans*). Bastos & Haddad (1996) u ní objevili jak SAM ($r = 0,42$; $n = 51$; $p < 0,01$), tak SDM ($t = 4,5$; $df = 256$; $p < 0,01$). Briggs (2008) popsal SAM u listovnice červenooké (*Agalychnis callidryas*) a Moreletovy (*Agalychnis moreletii*). U každé pouze v jednom ze tří zkoumaných let (*A. callidryas*, 2003: $r = 0,87$; $n = 10$; $p = 0,001$; 2004: $r = 0,08$; $n = 15$; $p = 0,77$; 2005: $r = 0,11$; $n = 39$; $p = 0,49$; *A. moreletii*, 2004: $r = 0,52$; $n = 9$; $p = 0,16$; 2005: $r = 0,33$; $n = 43$; $p = 0,03$).

Absenci SAM ($r = -0,13$; $n = 50$; $p > 0,05$) zdokumentovali u rosničky šedo zelené (*Hyla chrysoscelis*) Godwin & Roble (1983). Zároveň zjistili, že samci, kteří se pářili opakovaně, nebyli větší, než ti, co se pářili pouze jednou ($t = 0,47$; $p = 0,64$). K podobným výsledkům došli i Gerhardt et al. (1987) u rosničky bělopruhé (*Hyla cinerea*). SVL samců a samic v párech nebylo korelováno na žádné, ze dvou zkoumaných lokalit (Lok A, 1980: $r = 0,15$; $n = 66$; $p > 0,1$; Lok A, 1981: $r = 0,02$; $n = 52$; $p > 0,1$; Lok B, 1984: $r = 0,28$; $n = 25$; $p > 0,1$; Lok B, 1985: $r = 0,17$; $n = 70$; $p > 0,1$). SAM nebylo dále potvrzeno u listovnice Rohdeovy (*Phyllomedusa rohdei*) ($r = -0,08$; $n = 48$; $p > 0,5$) (Wogel et al., 2005), jeho absenci hlásí i Ryan (1983) u hvízdalky pěnodějně (*Engystomops pustulosus*) ($r = -0,10$; $n = 65$; $p > 0,05$).

Giasson & Haddad (2007) zase tvrdí, že k SAM nedochází u rosničky bělokrajné (*Hypsiboas albomarginatus*). Jejich práce však měla vážný nedostatek v podobě velmi malého vzorku ($r = 0,53$; $n = 10$; $p = 0,12$). Korelační koeficient je v tomto případě natolik vysoký, že k SAM pravděpodobně dochází. Navíc zde objevili asortativní párování podle hmotnosti ($r = 0,77$; $n = 9$; $p < 0,05$), která bývá se SVL u žab silně korelována (Wells, 2007). K SDM u nich údajně také nedochází ($t_{119} = 0,32$; $p = 0,87$). Stejně chyby se dopustil také Vaira (2001), který si troufal udělat vývody o náhodnosti párování na vzorku o velikosti pouhých čtyř párů listovnice bolivijské (*Phyllomedusa boliviana*) ($r = 0,48$; $n = 4$; $p > 0,05$). Friedl & Klump (2005) neobjevili SAM u rosničky zelené (*Hyla arborea*), a to ani v jednom, ze dvou zkoumaných let (1990: $r = -0,36$; $n = 22$; $p > 0,09$; 1991: $r = -0,25$; $n = 30$; $p > 0,17$). Naopak Orense & Tejedo-Madueño (1990) u stejného druhu SAM prokázali ($r = 0,34$; $n = 45$; $p = 0,03$). Po bližším prozkoumání však zjistíte, že je těsnost korelace v těchto dvou studiích téměř shodná.

Doklady o výskytu SAM jsou velmi nejednoznačné. Rozdíly panují zřejmě i na úrovni jednotlivých populací a výskyty jakéhokoliv rozmnožovacího vzorce jsou z časového hlediska velmi nestálé. Když se k tomu přidají časté chyby ve vyhodnocení výsledků, vzniká naprostá entropie. Jako východisko navrhuji klasifikovat druhy, jako schopné a neschopné se párovat asortativně podle velikosti a nepohlížet na výskyt SAM jako na neměnný jev, nýbrž jen jako na jednu z mnoha možných strategií, k jejíž realizaci je potřeba splnění spousty velmi specifických podmínek. Při velkých počtech samců, několikanásobně převyšujících počty receptivních samic, hraje navíc zásadní roli náhoda. Někteří samci se totiž nebudou pářit ne z důvodu nevhodných morfologických dispozicí, ale jednoduše kvůli tomu, že budou ve špatnou dobu na špatném místě (Howard & Kluge, 1985). To se pochopitelně negativně odrazí na těsnosti korelace v podobě nízkého korelačního koeficientu a potřeby změření více párů, k dosažení pravdivých výsledků při zachování určité síly testu.

Přehled všech zmiňovaných prací je zpracován v příloze č. 1.

Studie zkoumající mechanismy vzniku SAM

Z teorií o vzniku asortativního párování podle velikosti převládá, jak již bylo zmíněno výše, teorie formovaná Crespim (1989). Ta se skládá ze tří zásadních úvah, a to o výběru partnera, dostupnosti partnerů v čase a prostoru a fyzických omezení při námluvách, či páření.

Výběr partnera je nejčastěji zkoumaným mechanismem vzniku SAM. Lze jej prokazovat několika způsoby. Při testování samičí volby převládají studie akustického výběru, ve kterých bývá často přehráváno volání různě velkých samců a sledována následná reakce samice. Samčí volba naopak není podmíněna zvukovými podněty a rozhodování probíhá v rovině vizuální.

Hlasové projevy bývají posuzovány podle několika základních charakteristik, např. dominantní frekvence („výška hlasu“), frekvence zvukových impulsů („naléhavost volání“), rychlosti opakování volání (délka pomlky mezi jednotlivým voláním) nebo délky volání. Dominantní frekvence je se SVL často negativně korelována (Sullivan, 1992; Castellano & Giacoma, 1998; Bee & Gerhardt, 2001; Castellano et al., 2009), ovšem známy jsou i výjimky (Cherry, 1993). Samičí výběr na základě dominantní frekvence je znám např. u rosničky šedozelené, bělopruhé, křížkované (*Pseudacris crucifer*), hvízdalky pěnodějně, paropušky východoaustralské (*Uperoleia laevigata*) nebo rákosničky mramorované (*Hyperolius marmoratus*) (Sullivan et al., 1995 in Heatwole & Sullivan, 1995). U ropušky iberské (*Alytes cisternasii*) je situace komplikovanější. V pokusu Bosche & Márqueze (2005) se nenáhodná samičí volba projevovala pouze za přítomnosti velmi velkých samců. Pokud hodnota dominantní frekvence některého ze samců nebyla nižší, než určitá kritická hodnota, probíhala volba zcela náhodně. Tento mechanismus zvýhodňuje veliké samce, aniž by omezoval samce malé.

Dominantní frekvence hraje neméně důležitou roli při soubojích samců. Při napadení amplexujícího samce konkurenty vydává poškozený tzv. release call, neboli osvobozující volání. Samci s hlubším hlasem (nižší dominantní frekvencí) bývají napadáni výrazně méně, než ostatní (Davies & Halliday, 1978). Větší vliv na pohlavní výběr mají ale ostatní charakteristiky (zejména rychlost opakování volání), které se SVL nemají žádný vztah (Bosch & Márquez, 2005). Nejvíce jsou ovlivněny teplotou okolního prostředí (Castellano & Giacoma, 1998). Rozhodnutí samice je

tedy pravděpodobně formováno kombinací několika charakteristik samčího volání, jejichž podíl na celkovém výsledku je často složité oddělit.

Samčí volba se u žab vyskytuje méně. Vyplývá to z vyššího počtu samců, než samic. Při vysoké konkurenci totiž bývá volba často potlačována, což platí hlavně pro explozivně se rozmnožující druhy. Elmberg (1991) zkoumal v manipulativním pokusu samčí preference u skokana hnědého. Ti měli volit mezi malou a velkou samici, přičemž se zjistilo, že je jejich volba zcela náhodná. Ke stejným výsledkům došli i Hettyey et al. (2005) u skokana štíhlého. Naopak většina (83,3 %) samců ropuchy západoamerické si ve studii Marca et al. (1998) vybrala při dostatečně velkém rozdílu (20 mm) samici větší. Taková volba by měla být pro samce výhodná, díky korelaci velikosti a fekundity samice. Při přebytku samic byla pozorována samčí volba i u ropuchy obecné. Samci se sice pokoušeli přichytit na první samici, na kterou narazili, za přítomnosti větší samice však partnerku ochotně vystřídali (Arntzen, 1999).

Dostupnost partnera v čase a prostoru je nejčastěji závislá na době příchodu na místo rozmnožování. Samci žab obvykle přichází dříve, což samozřejmě neplatí pro druhy, které se rozmnožují celoročně. Větší samci si zaberou kvalitnější teritoria (např. místa, kudy chodí nejvíce samic), a mají větší šanci k nalezení partnerky (Ryser, 1989). Zároveň platí, že větší samice dorazí na místo rozmnožování jako první a odchází jako poslední (Eggert & Guyétant, 2003). Pokud se tyto dva předpoklady spojí, vzniká velmi dobrý základ k vzniku SAM. Obě podmínky splňuje za určité situace např. blatnice skvrnitá (Eggert & Guyétant, 2003), ropucha obecná (Kovář, 1999; Vojar et al., in prep.), ropucha americká (Gatz, 1981), nebo skokan štíhlý (Lodé et al., 2005).

Hypotézu o omezení lze zkoumat skrze testování mechanismů formování a udržování amplexu izolovaného páru, nebo v konkurenčním prostředí několika dalších samců. Většina publikovaných prací vychází z předpokladu, že existuje ideální velikostní rozdíl jedinců v páru, při kterém je síla úchopu nejvyšší. Zvyšování odchylek od tohoto ideálu pak vede k oslabení amplexu a nakonec k jeho selhání. Při intenzivní kompetici mezi samci (typické pro druhy s explozivním rozmnožovacím obdobím, či silně asynchronním příchodem na lokalitu), která zahrnuje snahy o vytěsnění ostatních samců z amplexu, dochází k prohloubení jeho fyzických limitací.

Výzkumem limitací izolovaných párů se zabývali např. Lu et al. (2010) u skokana východního. Stanovili kritický rozdíl ve velikosti samice a samce v páru. Udržení amplexu je možné v rozmezí $< -10; 15 >$ mm. Žádné jiné práce, zabývající se podobnou problematikou u žab, mi nejsou známy. Co se týče vytěšňování, existují hlavně observační studie (např. Davies & Halliday, 1977, 1978; Tejedó, 1988; Lu et al., 2009). Účinnost vytěšňování však bývá poměrně malá. U Tejedem (1988) zkoumané populace ropuchy krátkonohé bylo pouze 2,18 % páření dosaženo úspěšným vytěšněním původního samce z amplexu ($n = 229$). Všichni takto úspěšní samci byli větší, než původní kandidáti. Bojující samci byli zároveň na místě rozmnožování déle ($p < 0,001$), což však neznamenovalo, že bude jejich reprodukční úspěšnost vyšší ($p = 0,28$). Hustota samců ($r = 0,64$; $p < 0,01$), samic ($r = 0,83$; $p < 0,01$) a hodnota OSR ($r = 0,85$; $p < 0,001$) byly silně pozitivně korelovány s mírou agresivity samců. Ani u listovnice Rohdeovy nebyla míra vytěšňování příliš vysoká. Pouze 10 % párů bylo napadeno cizím samcem, z nichž úspěšný byl jediný (Wogel et al., 2005). Lu et al. (2009) potvrdili pokus o vytěšnění pouze u 8 % amplexujících párů skokana východního. Podobné hodnoty (4–13 %) u něj objevili i Chen et al. (2012). U některých druhů nebyly pokusy o vytěšnění pozorovány vůbec (např. Ryser, 1989; Wagner & Sullivan, 1995). Nejvíce útoků na páry zaznamenali Davies & Halliday (1979) u ropuchy obecné. Z úspěšných samců se celých 38,5 % dostalo do amplexu skrze vytěšnění jiného kandidáta. Jediný manipulativní pokus, zabývající se vytěšňováním samců z amplexů, byl dle dostupných zdrojů proveden Lambem (1984). Ten však obsahoval významné nedostatky. Samci ropuchy hrabavé (*Anaxyrus terrestris*) byli v prvním roce pokusu rozděleni pouze do dvou velikostních kategorií (na malé a velké), v druhém roce byla kategorie pouze jedna (střední). Navíc do pokusu nebyl zahrnut vliv poměru pohlaví. I přes zmíněné nedostatky zjistili významný rozdíl mezi vytěšněním malých samců velkými a velkými samců malými (Fisherův exaktní test, $p = 0,0009$). Velcí samci útočili více a byli ve vytěšňování úspěšnější než malí, což bylo pozorováno i u jiných druhů (Davies & Halliday, 1977, 1978, 1979; Lee & Park, 2009). O podobný pokus se pokusil i Briggs (2008) u listovnice červenooké. V žádném z 15 zkoumaných párů však k pokusu o vytěšnění nedošlo, tudíž ani nebyl zařazen do předchozího výčtu.

Studie zkoumající dopady SAM

Hlavní, a také nejdůležitější, výhodou asortativního párování podle velikosti má být lepší míra oplození vajíček u velikostně sladěných jedinců. Z ní vyplývají i další výhody, jako omezování outbreedingu, interbreedingu, případně jeho úloha ve speciaci skrze nastolení reprodukčních bariér (viz kapitola 3.1).

Jedním z prvních, kdo u žab zkoumal závislost úspěšnosti oplození na velikostech jedinců v párech, byl Kruse (1981). U zkoumané populace ropuchy americké počítal korelaci úspěšnosti oplození vajíček a poměru SVL samců a samic. Spearmanův korelační koeficient byl na vzorku 19 párů nevýznamný ($r = -0,3$; $n = 19$; $p > 0,2$), indikující absenci daného vztahu. Úspěšnost oplození byla obecně poměrně vysoká ($> 83\%$), u 15 párů dokonce převyšovala 90 %. Dalšími zkoumanými druhy byly ropucha čínská a jihoasijská. Fan et al. (2013) utvořili dva typy párů obou druhů – páry, kde byl větší samec, a páry s větší samicí (v přírodě běžnější). Poté porovnávali úspěšnost oplození mezi těmito dvěma skupinami. Rozdíl byl neprůkazný jak u ropuchy čínské ($F_{1,63} = 1,98$; $p = 0,16$), tak u jihoasijské ($F_{1,147} = 1,05$; $p = 0,31$). Míra oplození byla rovněž velmi vysoká (95 % a 91 %). Hettyey et al. (2011) zkoumali úspěšnost oplození u ropuchy obecné. Jejich metodika byla poněkud odlišná, namísto počítání všech oplozených a neoplozených vajec spočetli jen čtyři krátké (cca 200 vajíček), po vykladení vystřižené úseky. Vystřížení vajíček z provazce, ve kterém ropuchy kladou, však může znamenat sníženou plodnost okrajových vajec, kvůli jejich menšímu obalu a vyšší pravděpodobnosti zaplísnění. Odhad úspěšnosti oplození byl tedy nejen méně přesný (protože nebyla spočítána všechna vejce), ale také byla negativně ovlivněna i samotná líhivost. K tomu všemu navíc nezkoumali závislost úspěšnosti oplození na poměru SVL v párech, nýbrž pouze na samčím SVL. Tato závislost se nepotvrdila ($F_{1,7} = 0,11$; $p = 0,75$), potvrdila se však závislost na aktuálním fyzickém stavu samce ($F_{1,8} = 13,65$; $p = 0,006$). Dále zjistili závislost úspěšnosti oplození na počtu opakovaných páření samců, která s jejich růstem klesala ($F_{1,8} = 6,6$; $p = 0,03$). Také Howard (1983) nezjišťoval u skokana volského závislost úspěšnosti oplození na poměru SVL v párech, ale na samotném SVL samců a samic. Jejich korelace byla významná pouze v jednom, ze studovaných let, a to pouze u samců ($r = 0,66$; $p = 0,0008$). U listovnice červenooké, ani Moreletovy se předpokládaný vztah podílu oplozených vajíček a poměru SVL v párech také nepotvrdil (Briggs, 2008). Korelace těchto veličin nebyla průkazná ani

u jednoho z druhů (1. červenooká: $r = 0,2$; $n = 56$; $p = 0,15$; 1. Moreletova: $r = 0,19$; $n = 46$; $p = 0,21$). Úspěšnost oplození byla až na pár výjimek (2 z 56 u listovnice červenooké a 1 ze 46 u listovnice Moreletovy) stoprocentní. Nezávislost procenta oplozených vajíček na velikostním poměru samců a samic v párech dokládají i Gerhardt et al. (1987) u rosničky bělopruhé. Páry, kde byla samice větší, než samec, měly ale úspěšnost oplození marginálně vyšší, než páry s menší samicí (93,3 oproti 84 %; Dvouvýběrový Wilcoxonův test: $S = 28$; $z = -1,93$; $p = 0,05$). Naopak u rosničky úhledné se závislost úspěšnosti oplození na poměru velikostí jedinců v páru potvrdila (Bastos & Haddad, 1996). Závislost byla vyhodnocena pomocí lineární regrese, obohacené o polynomiální člen druhého stupně ($y = -3673,0 + 9620,3 x - 6137,3 x^2$; $r^2 = 0,85$; $p < 0,001$). Nejvíce oplozených vajíček (98 %) bylo kolem průměru poměru SVL samce a samice ($\bar{x} = 0,81$), což zřejmě ukazuje na dlouhodobý evoluční tlak, který tvorbu takto sladěných párů upřednostňoval. Ryan (1983) dokázal existenci podobného vztahu u hvízdalky pěnodějně. Nepočítal však s poměrem velikostí samce a samice v páru, nýbrž s absolutní hodnotou jejich rozdílu. Ta byla, i když poměrně slabě, korelována s počtem neoplozených vajíček ($r = 0,30$; $n = 68$; $p < 0,05$). Regresními modely dále zjišťoval závislost počtu oplozených a neoplozených vajíček na SVL samce, samice, velikosti snůšky a absolutní hodnotě rozdílu velikostí v páru. Významný vliv na počet neoplozených vajec měla pouze absolutní hodnota rozdílu SVL v páru ($F = 15,41$; $p < 0,05$). Počet oplozených vajec nejvíce závisel na velikosti snůšky ($F = 5811,4$; $p < 0,05$), potažmo samice (jsou silně korelovány), významně jej však ovlivňoval i výše popisovaný rozdíl velikostí jedinců v páru ($F = 5,9$; $p < 0,05$). Z výzkumu Robertsona (1990) je patrná kvadratická závislost úspěšnosti oplození vajíček paropušek východoaustralských na odchylce od předpokládaného ideálního poměru hmotností jedinců v párech (viz. Obr. 1). Ideální váha samce se pohybovala kolem 70 % váhy samice. Autor bohužel neprovedl žádnou statistickou analýzu daného vztahu, i když lze z grafu usuzovat, že by byl statisticky významný.

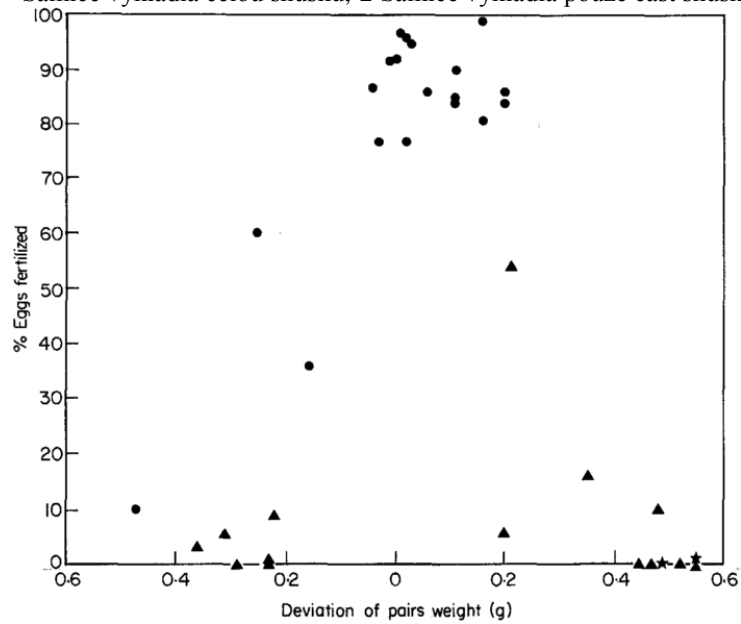
Z analýz úspěšnosti oplození je patrná stejná nekonzistence, jaká je u studií zkoumajících přítomnost SAM. Autoři se liší jak ve volbě vysvětlovaných a vysvětlujících proměnných, tak i ve volbě statistických testů. Většina vysvětluje variabilitu úspěšnosti oplození pomocí poměru velikostí samců a samic v párech, někteří však raději sahají po absolutní hodnotě jejich rozdílu, či poměru jejich

hmotností. Mezi zvolené metody patří korelace a lineární regrese, která bývá obohacena o kvadratický člen. Úspěšnost oplození je obecně velmi vysoká a její variabilita nízká, což se u většiny prací projevuje absencí statisticky významného vztahu popisovaných proměnných.

Obr. 1: Závislost úspěšnosti oplození na velikosti odchylky od ideálního váhového poměru párů paropušky východoaustralské

Osa X – Odchylka do ideální váhy samce (70% váhy samice) v gramech, osa Y – Úspěšnost oplození vajíček v procentech,

- Samice vykladla celou snůšku, ▲ Samice vykladla pouze část snůšky.



Zdroj: Robertson (1990)

4. Metodika

Tato práce navazuje na předchozí studie asortativního párování u ropuchy obecné (např. Davies & Halliday, 1977; Kovář, 1999; Hettyey et al., 2011; Vojar et al., in prep.). Je rozdělena do dvou samostatných pokusů, z nichž každý řeší jinou problematiku, které bylo v rámci tématu SAM u ropuchy obecné, ale i ostatních žab, věnováno málo pozornosti. Konkrétně jde o:

- 1) Vliv velikosti a poměru pohlaví na formování párů.
- 2) Vliv velikostních rozdílů v páru na úspěšnost oplození.

Oba pokusy probíhaly v areálu České zemědělské univerzity v Praze. Celkem bylo pomocí mobilních zábran v rámci záchranného transferu obojživelníků přes komunikace u Hradce Králové odchyceno 60 samic a 150 samců ropuchy obecné. Podmínkou byl původ z klimaticky i geograficky blízkých lokalit. Odchyt byl realizován firmou NaturaServis s.r.o. Firma má veškeré výjimky potřebné pro manipulaci s jedinci, tito byli po provedení experimentů vráceni do blízkosti předpokládaných míst jejich rozmnožování. Vzhledem k délce zábran (několik km), proběhlo získání dostatečného počtu zvířat během jednoho odchytového dne.

Nejprve proběhla detekce na přítomnost chytridiomykózy (pomocí stěrů každého desátého zvířete vatovými štětičkami, jež byly dále analyzovány pomocí real time PCR na Veterinární univerzitě v Brně). Dále byla zvířata zvážena (s přesností na 0,1 g), individuálně označena pomocí elastomerů (VIE – visible implant elastomers, značky na v amplexu viditelných místech), vyfocena (hřbet, boky a břicho na čtverečné síti), změřena pomocí posuvných měřítok (délka těla od špičky čenichu po kloaku a délka předních končetin samců, s přesností na jeden mm) a nakonec roztríděna podle pohlaví a velikosti.

Rozdíly v SVL, hmotnosti a BMI (hmotnost/SVL²) samců a samic, podobně jako rozdíly v těchto veličinách u spárovaných a nespárovaných samců, byly při splnění podmínek parametrického testu hodnoceny dvouvýběrovým t-testem, v opačném případě dvouvýběrovým Wilcoxonovým testem. Přítomnost asortativního párování ve vytvořených párech byla detekována korelací zvolených charakteristik (SVL, hmotnost a BMI) spárovaných jedinců. Kvůli absenci normálního rozdělení dat

a nižšího počtu pozorování byl použit Spearmanův korelační koeficient. Korelace byla počítána pro každý pokus zvlášť a pro všechna data dohromady. Veškeré statistické analýzy byly provedeny v softwaru R, verze 3.0.2 (R Core Team, 2014).

4.1 Vliv velikosti a poměru pohlaví na formování párů

Vytěšňovací pokusy probíhaly ve dvaceti nádržích o velikosti $70 \times 70 \times 50$ cm [š × d × h]. Desetcentimetrová vrstva vody se ukázala být ideální k maximalizaci reprodukční aktivity zvířat a bránila jejich dehydrataci. V deseti nádržích byla umístěna jedna samice a tři samci – běžné OSR (Kovář, 1998; Vojar et al., in prep.), v dalších deseti jedna samice a šest samců – zvýšené OSR. Velikost samců byla v každé nádrži volena s ohledem na velikost samice, a to tak, aby vznikly tři velikostní kategorie samců – velcí (samci max. o 10 mm menší než samice), střední (cca o 10–20 mm menší než samice) a malí (menší o více než 20 mm než samice). Právě střední kategorie by měla být z hlediska síly úchopu tou nejlepší (Davies & Halliday, 1977). Při poměru pohlaví 3:1 (samci : samice) byl v nádrži jeden samec z každé kategorie, v případě poměru pohlaví 6:1 dva samci.

Po dobu minimálně 45 minut byly zapisovány interakce jedinců v nádrži, a to pokus o amplexus, utvoření páru, útok na pár, hromadný amplexus a shoz samce samicí. Každá akce byla identifikována časem a konkrétním jedincem, za účelem získání detailních informací o dění v rámci sledované skupiny. Pokud za tuto dobu nedošlo k utvoření konečného páru (15 minut bez interakce), byla doba pokusu prodloužena. Celkový čas prodloužených pokusů ($n = 1$) a časy jednotlivých interakcí byly následně přepočítány na základní časovou hladinu (doba trvání pokusu 45 min). Finální dvojice byly přeneseny do vlastních nádrží s dostatečnou výškou hladiny vody (minimálně 15 cm) a částečnou souš, kde se nechaly vyklást.

Frekvence vytěšňování, tj. kolikrát samec vytěšnil jiného / byl vytěšněn jiným (vysvětlovaná proměnná) v závislosti na počtu útoků, velikostní kategorii a poměru pohlaví v nádrži (vysvětlující proměnné), byla analyzována pomocí zobecněného lineárního modelu s Poissonovou distribucí (viz Pekár & Brabec, 2009). Pomocí zobecněného lineárního modelu s lognormálním rozdělením byla hodnocena závislost doby strávené v amplexu a času utvoření finálního amplexu (vysvětlované p.) na velikosti samců a poměru pohlaví (vysvětlující p.).

4.2 Vliv velikostních rozdílů v páru na úspěšnost oplození

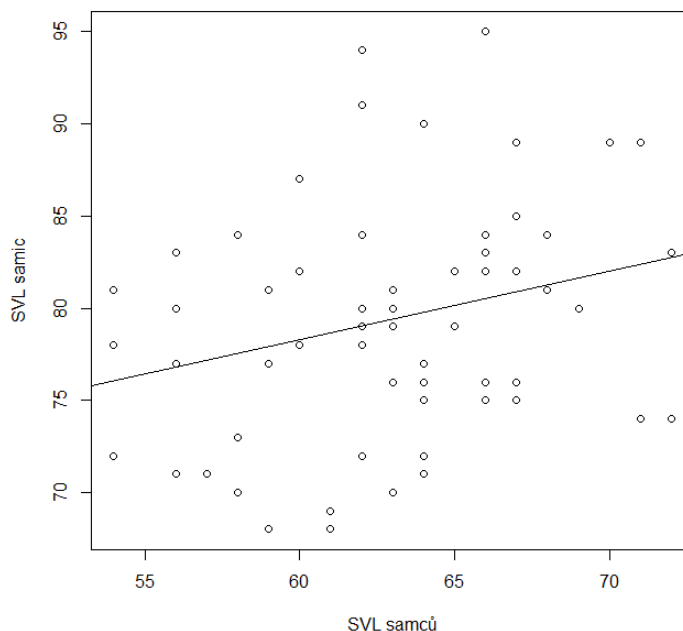
V druhém pokusu se všichni zbývající jedinci (tj. 40 samic a 130 samců) umístili do jedné nádrže o velikosti 400 x 400 x 100 cm a nechali interagovat (vytvořit páry). Pár byl považován za definitivní po 15 minutách bez vytěsnění. Takto vytvořené páry se podobně jako v předchozím experimentu přemístily do faunaboxů, které byly upraveny tak, aby zde byla dostatečná vrstva vody (nejméně 15 cm) a současně částečná souš pro zamezení utonutí jedinců, a páry se v nich nechaly vyklást. Po vykladení byli samci i samice umístěni do jiné nádrže (400 × 400 × 100 cm) s vrchním krytím a vhodnými úkryty včetně možností hydratace a po čase vypuštěni na své původní lokality. K analýze úspěšnosti oplození bylo náhodně vybráno 30 snůšek, pocházejících od párů jak z prvního, tak i druhého pokusu (k maximalizaci variability velikostních rozdílů v páru). Vybrané snůšky (v podobě provazců vajec) byly opatrně přemístěny do speciálních zařízení pro jejich vylíhnutí (plovoucí polystyrénové korpusy s pláštěm z nylonových vláken, Vojar et al., 2012). Tato zařízení byla následně umístěna do nádrží o velikostech 70 x 150 x 50 cm (vždy cca po 10 až 12 snůškách). Každý věnec byl opatřen unikátním kódem. Bylo pečlivě dbáno na to, aby všechny věnce se snůškami měly během líhnutí standardní podmínky (teplotu vody, intenzitu zastínění atd.). Po jejich vylíhnutí byl spočítán počet vajec ve snůšce a počet vylíhnutých pulců – tedy stanovena úspěšnost oplození. Zbylé snůšky z logistických důvodů do analýzy nevstupovaly a jejich vývoj probíhal bez věnců a v jiných nádržích.

V rámci statistické analýzy dat bylo sledováno, jaký vliv mají na poměr oplozených a neoplozených vajec (vysvětlovaná proměnná) kombinace různých morfologických charakteristik jedinců v páru. Kromě rozdílu, (byl vždy větší, než 0) a podílu velikostí samců a samic v párech, se navíc zjišťovala závislost na rozdílu a podílu hmotností, podílu BMI a podílu délky přední končetiny samce a SVL samice. Hmotnost a délka přední končetiny jsou, podobně jako SVL, jedním z ukazatelů velikosti jedinců, zatímco BMI je ukazatelem jejich aktuálního fyzického stavu. Z důvodu nejednotnosti existujících prací na podobné téma a v zájmu lepšího srovnání se tam, kde to dávalo smysl (SVL a hmotnost), počítalo jak s rozdílem, tak i podílem daných charakteristik. Závislost úspěšnosti oplození na zmiňovaných vysvětlujících proměnných byla hodnocena pomocí lineární regrese.

5. Výsledky

Samice studovaných ropuch měly významně vyšší SVL ($t = 19,4$, $df = 121,92$, $p < 0,001$; dvouvýběrový t-test), hmotnost ($W = 9469,5$, $p < 0,001$; dvouvýběrový Wilcoxonův test) i BMI ($t = 24,4$, $df = 110,89$, $p < 0,001$; dvouvýběrový t-test), než samci. U jedinců nedocházelo k SDM ($t = 0,46$, $df = 63,68$, $p = 0,65$; dvouvýběrový t-test). Délka přední končetiny, měřená od lokte po nejdelší prst, však byla u spárovaných samců významně větší ($t = 1,82$, $df = 78,05$, $p < 0,05$; dvouvýběrový t-test). U párů vytvořených v prvním pokusu nedocházelo k asortativnímu párování podle velikosti ($r = 0,12$, $n = 20$, $p = 0,62$; Spearmanův korelační koeficient), podle hmotnosti ($r = 0,18$, $n = 20$, $p = 0,47$; Spearmanův korelační koeficient), ani podle BMI ($r = 0,26$, $n = 20$, $p = 0,3$; Spearmanův korelační koeficient). V druhém pokusu již k SAM docházelo ($r = 0,33$, $n = 43$, $p < 0,05$; Spearmanův korelační koeficient). Při spojení všech dat dohromady byla korelace SVL samců a samic v párech stále významná ($r = 0,28$, $n = 63$, $p < 0,05$; Spearmanův korelační koeficient), viz Obr 2.

Obr. 2: Korelace SVL jedinců v párech ropuchy obecné
Osa X – SVL samců v mm, osa Y – SVL samic v mm.

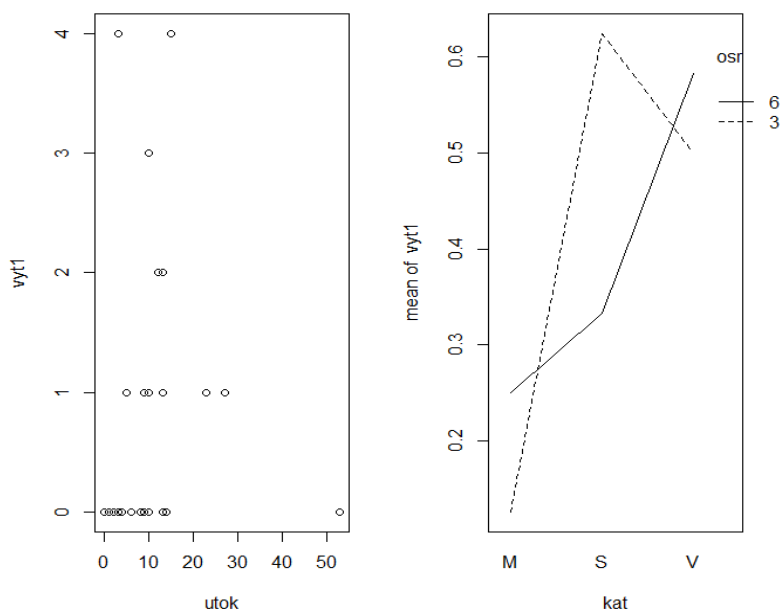


5.1 Vliv velikosti a poměru pohlaví na formování párů

Počet vytěsnění jiným samcem, tj. kolikrát byl amplexující samec dané velikostní kategorie vytěsněn, závisel hlavně na počtu útoků ($df = 1$, $p = 0,007$), přičemž pravděpodobnost vytěsnění po určitém množství útoků klesá (viz Obr. 3). Velikostní kategorie amplexujícího samce ($df = 2$, $p = 0,41$) ani OSR ($df = 1$, $p = 0,58$) vliv na počet vytěsnění neměly. Významná však byla interakce útoku a vel. kategorie ($df = 2$, $p < 0,001$), což znamená, že počet útoků potřebný k vytěsnění nebyl u různých velikostních kategorií stejný, a interakce útoku a OSR ($df = 1$, $p = 0,02$), což znamená, že počet útoků potřebný k vytěsnění nebyl za různých OSR stejný. Podobné výsledky byly také u počtu vytěsnění jiného samce, tj. kolikrát volný samec dané velikostní kategorie vytěsnil amplexujícího samce (Obr. 4). Významně jej ovlivňuje počet útoků ($df = 1$, $p < 0,001$), nikoliv však velikostní kategorie volného samce ($df = 2$, $p = 0,3$) a OSR ($df = 1$, $p = 0,47$). Signifikantní byla naopak interakce velikostní kategorie a OSR ($df = 2$, $p = 0,004$), což znamená, že počet vytěsnění pro dané velikostní kategorie samců vykazoval při zvýšení OSR jiný trend (viz Obr. 4).

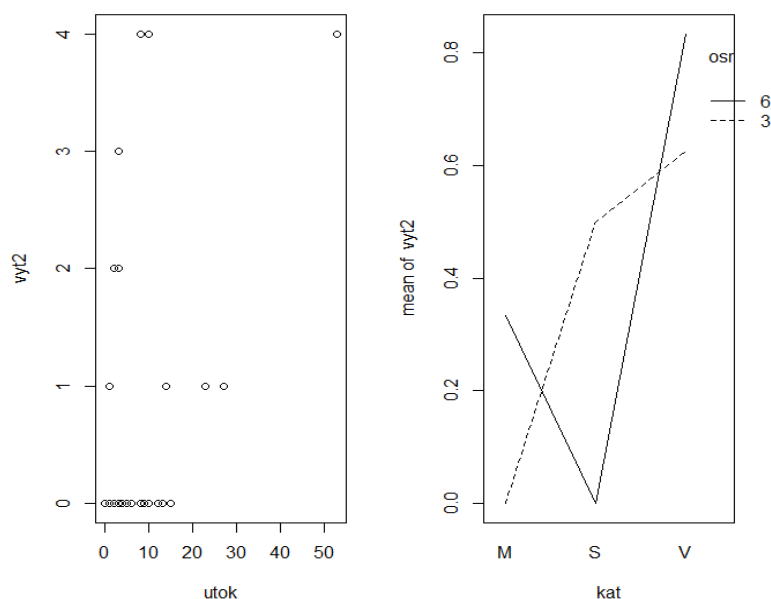
Obr. 3: Závislost počtu vytěsnění jiným samcem na počtu útoků a velikostní kategorii s OSR

Vyt1 – počet vytěsnění jiným samcem, mean of vyt1 – průměrný počet vytěsnění jiným samcem, utok – počet útoků, kat – velikostní kategorie samců (M – malá, S – střední, V – velká).



Obr. 4: Závislost počtu vytěsnění jiného samce na počtu útoků a velikostní kategorii s OSR

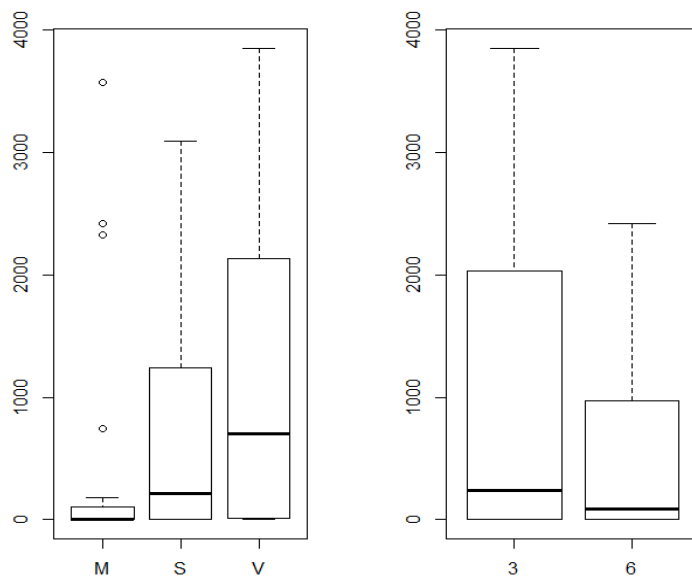
Vyt2 – počet vytěsnění jiného samce, mean of vyt2 – průměrný počet vytěsnění jiného samce, utok – počet útoků, kat – velikostní kategorie samců (M – malá, S – střední, V – velká).



Doba strávená v amplexu byla závislá pouze na velikostní kategorii ($F = 5,32$, $p = 0,008$), nikoliv na OSR ($F = 0,24$, $p = 0,63$). Nejdéle byli v amplexu velcí samci, průměrná doba setrvání v páru byla (ač nesignifikantně) v nádržích s vysokým OSR nižší (viz Obr. 5), zřejmě vlivem větší kompetice.

Obr. 5: Vliv velikostní kategorie samce a OSR na dobu, kterou strávil v amplexu

Osa X, vlevo – velikostní kategorie samců (M – malá, S – střední, V – velká), osa X, vpravo – hodnota OSR (3 = 3 ♂:1 ♀, 6 = 6 ♂:1 ♀), osa Y – doba strávená v amplexu [s].



Čas utvoření finálního páru nezávisel ani na kategorii ($F = 0,55$, $p = 0,59$), ani na OSR ($F = 0,38$, $p = 0,55$).

5.2 Vliv velikostních rozdílů v páru na úspěšnost oplození

Velikost snůšky byla významně korelována se SVL samice ($r = 0,38$, $n = 30$, $p = 0,04$; Spearmanův korelační koeficient), nikoliv však s její hmotností ($r = 0,35$, $n = 30$, $p = 0,06$; Spearmanův korelační koeficient), či BMI ($r = 0,33$, $n = 30$, $p = 0,08$; Spearmanův korelační koeficient). Síla korelace je ovšem podobná. Variabilita velikosti snůšek (534 až 3548 vajec) i úspěšnosti oplození (2 až 89 %) byla velká. Úspěšnost oplození se mezi páry z jednotlivých pokusů nelišila ($W = 115$, $p = 0,37$; dvouvýběrový Wilcoxonův test).

Všechny vysvětlující proměnné modelu, vysvětlujícího úspěšnost oplození, byly mezi sebou silně korelované (viz Tab. 3). Kvůli jejich závislosti nebylo možné vytvořit validní regresní model, který by zahrnoval všechny tyto proměnné. Orientačně byla proto testována signifikance vlivu jednotlivých proměnných pomocí série jednoduchých lineárních regresí, z čehož vyplynula jediná signifikantní dvojice korelovaných prediktorů – rozdíl ($F = 5,64$, $p = 0,02$) a podíl ($F = 4,83$, $p = 0,04$) hmotností samců a samic v párech. Nejlepším ukazatelem míry oplození vajíček byl tedy rozdíl hmotností jedinců v párech (viz Obr. 6). Model však vysvětlil pouze malé procento variability (16,8 %). Velikost, hmotnost, ani BMI samce neměly na úspěšnost oplození významný vliv ($p > 0,05$).

Tab. 3: Závislost vysvětlujících proměnných

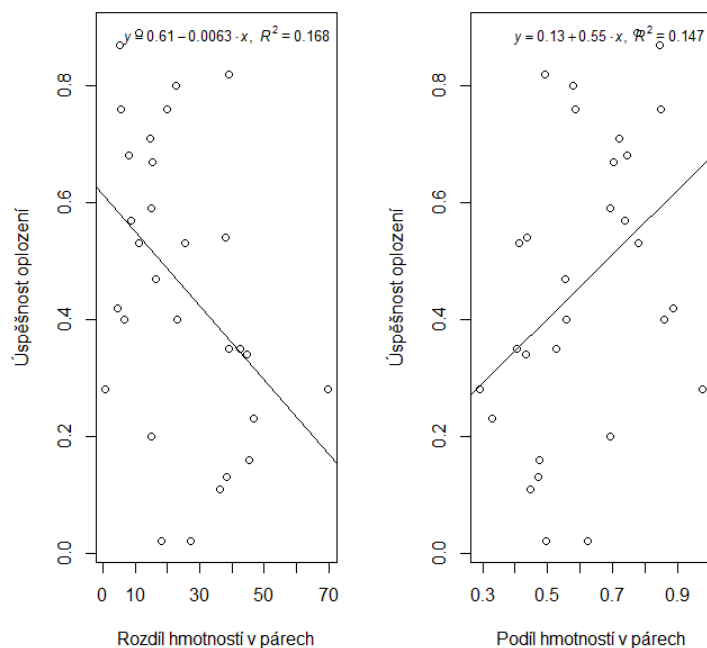
Spearmanovy korelační koeficienty pro dvojice zvolených proměnných, vysvětlujících úspěšnost oplození vajíček,

Podíl KS – podíl velikosti přední končetiny samce a hmotnosti samice v páru.

	Podíl SVL	Rozdíl SVL	Podíl hmotností	Rozdíl hmotností	Podíl KS	Podíl BMI
Podíl SVL	1	-0,99	0,85	-0,81	0,87	0,40
Rozdíl SVL	-0,99	1	-0,86	0,86	-0,88	-0,42
Podíl hmotností	0,85	-0,86	1	-0,95	0,77	0,81
Rozdíl hmotností	-0,81	0,86	-0,95	1	-0,78	-0,77
Podíl KS	0,87	-0,88	0,77	-0,78	1	0,37
Podíl BMI	0,40	-0,42	0,81	-0,77	0,37	1

Obr. 6: Vliv rozdílu a podílu hmotností v párech na úspěšnost oplození

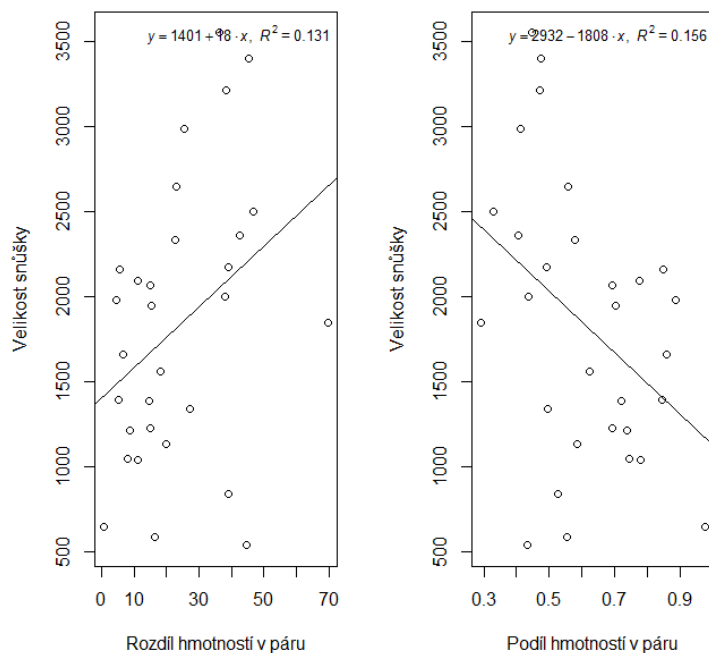
Závislost úspěšnosti oplození na rozdílu (vlevo) a podílu (vpravo) hmotností samců a samic v párech.



Rozdíl ($F = 4,2$, $p = 0,049$) a podíl ($F = 5,17$, $p = 0,03$) hmotností v párech měly významný vliv i na velikost snůšky (viz Obr. 7).

Obr. 7: Vliv rozdílu a podílu hmotností na velikost snůšky

Závislost velikosti snůšky na rozdílu (vlevo) a podílu (vpravo) hmotností samců a samic v párech.



6. Diskuze

Mezi nejznámější a nejvíce zkoumané nenáhodné párovací systémy patří SAM a SDM. Jejich výskyt není v žádném případě plošný a zdá se, že je spíše vzácný, než běžný. Nálezy se liší již na úrovni populací stejného druhu. Asortativní párování podle velikosti je vyjádřeno korelací velikostí jedinců v párech, přičemž nejčastějším vyjádřením velikosti bývá vzdálenost od čenichu po kloaku. Vyhodnocení této korelace ovšem bývá dost ošemetné. Signifikance korelačního koeficientu roste s počtem naměřených dat, což znamená, že při dostatečně velkém vzorku lze dosáhnout významného výsledku i s velmi nízkým korelačním koeficientem. Ten nabývá hodnot $<-1; 1>$, přičemž nulová hodnota značí absenci vztahu. Zároveň se také může přihodit, že je hodnota korelačního koeficientu vysoká (viz např. Giasson & Haddad, 2007), ale zkoumaných párů je málo a párování je chybně vyhodnoceno jako náhodné. Při tomto jednání se autor dopouští chyby druhého druhu, tj. nezamítne nesprávnou nulovou hypotézu, kterou je zde nekorelovanost velikostí samců a samic v párech. Zjistit pravděpodobnost, že se této chyby nedopustíme, a tím omezit její výskyt, lze použitím testů síly testu (Cohen, 1988). Při zvolení kýžené síly konkrétního testu, hodnoty testovací statistiky (zde korelačního koeficientu) a požadované hladiny významnosti již před provedením pokusu, lze vypočítat požadovanou velikost vzorku a vyvarovat se tím budoucím problémů s falešným (ne)zamítáním nulové hypotézy.

Kde je ale hranice, od které lze podle hodnoty korelačního koeficientu mluvit o třeba byť slabě asortativním párování? Ze vztahu korelačního a determinačního koeficientu (r a R^2) lze hrubě nahlédnout, jaké procento variability nám náš model vysvětlil. Např. pro $r = 0,3$ (běžná hodnota korelačního koeficientu u populací s výskytem SAM) bude modelem vysvětleno zhruba 9 % variability a pro relativně vysoké $r = 0,6$ bude vysvětleno přibližně 36 %. Opravdu to stačí? Ve výběru partnera zřejmě existuje určitá benevolence a tolerance k jeho „nedokonalostem“, je ovšem složité (ne-li nemožné) najít hranici, kde bude párování asortativní s velkou tolerancí nedokonalostí, nebo náhodné s náhodně větší mírou velikostně sladěných párů. Zatím neexistuje žádný konsenzus, z hodnot korelačních koeficientů mnou zkoumaných prací bych však jako hraniční hodnotu navrhl $r = <0,3; 0,5>$,

s přihlédnutím k metodě výběru (vyšší např. u populací se samičím výběrem dle akustických projevů a nízkou mírou fyzické kompetice, nižší naopak u populací s výběrem formou kompetice bez možnosti samičí volby).

Ostatně i hodnoty korelačních koeficientů z mého pokusu byly na hranici asortativity. Signifikantní, a dle výše zvolených kritérií dostatečně silná, byla pouze korelace SVL. Dochází zde tedy k velmi slabě asortativnímu párování podle velikosti. Asortativita je slabší, než u populace zkoumané Daviesem & Hallidayem (1977), jde však o první potvrzené SAM u ropuch obecných na území ČR. Zároveň nedocházelo k SDM, tj. spárování samci nebyli významně větší, než samci nespárování.

6.1 Vliv velikosti a poměru pohlaví na formování párů

Vytěšňovací pokus poskytl mnohem podrobnější pohled na mechanismy formování párů, než poskytovaly dosud publikované práce, pro ropuchu obecnou navíc unikátní. Z dosažených výsledků je patrné, že největší vliv na počet vytěšnění má počet útoků. Pravděpodobnost úspěšného útoku však s jejich počtem stoupá pouze do určitého bodu, načež začne klesat. To je nejspíše způsobeno neschopností některých (většinou malých) samců vytěšnit jiného z amplexu. Pokud je samec fyzicky schopný vytěšnění, dokáže jej běžně uskutečnit během prvních 30 pokusů, poté je jeho snaha marná. Významný vliv interakce počtu útoku a velikostní kategorie na počet vytěšnění samce jiným samcem z amplexu je zřejmě způsoben rozdílným počtem útoků samců různých velikostních kategorií a jejich úspěšností. Celou situaci komplikuje rozdílné chování při různých poměrech pohlaví. Malí samci měli obecně malý úspěch při získávání partnerky. Do amplexů se nedostávali tak často, jako ostatní samci, tudíž nemohli být tak často vytěšnění. Při nižším OSR byli nejvíce vytěšňováni střední samci, zároveň byli poměrně úspěšní ve vytěšňování, avšak ne tak, jako velcí samci. Při vyšším OSR se střední samci stali pasivními (ve smyslu vytěšňování) a jejich jediná šance byla dostat se do amplexu jako první. To nejspíše způsobilo významný vliv interakce velikostní kategorie a OSR na počet vytěšnění jiných samců. Nejaktivnější byli při obou OSR velcí samci, kteří nejvíce vytěšňovali a při vysokém OSR byli i nejvíce vytěšňováni (nejčastěji jinými samci stejné velikostní kategorie). Zároveň byli nejvíce shazováni samici. Zdá se, že fyzické limitace v tomto případě spíše omezují páření příliš malých samců, než aby

podporovaly samce adekvátní. Úspěšnost vytěsnění je zřejmě dána dvěma faktory – ochotou útočit a hmotností jedince (velikost bude v tomto případě až druhotná). Podobně jako v jiných studiích, byli velcí samci ve vytěsňování úspěšnější než malí (Davies & Halliday, 1977; Lamb, 1984). Zarážející je ale snížená aktivita středních samců při zvýšeném OSR, která byla spíše způsobena anomáliou konkrétního vzorku, než že by měla nějakou zajímavější kauzalitu.

Doba strávená v amplexu byla významně ovlivněna velikostí samců. Nejdéle zůstávali v páru velcí samci, nejméně malí, s výjimkou několika extrémů patrných na Obr. 2 (případy, kdy se dostali do amplexu jako první a byli schopni se udržet). Průměrná doba strávená v amplexu je u vyššího poměru pohlaví nepatrně menší, což dokládá zvýšenou intenzitu kompetice. Tento vliv by byl patrnější při rozlišování jedinců stejné kategorie u vyššího OSR (v každé vel. kategorii byli dva samci, jejichž časy setrvání v amplexu se navzájem sčítaly). Vyšší intenzita kompetice však neznamenal významnou změnu v době strávené v amplexu ani pro některou z kategorií, tj. žádná velikostní kategorie nebyla vyšším poměrem pohlaví zvýhodněna (interakce kategorie a OSR významná nebyla). Čas utvoření konečného páru mohl lépe ilustrovat intenzitu kompetice při různých poměrech pohlaví, jeho vliv se však rovněž neprokázal.

Celkově měli největší výhodu při vytěsňování velcí samci. Omezení síly úchopu by mělo na velké i malé samce působit stejně (Han et al., 2010; Lu et al., 2010), ale jedna z hlavních příčin úspěšnosti vytěsňování – aktivita, byla u velkých samců vyšší. To naznačuje nerovnoměrnost vztahu velikosti a úspěšnosti vytěsňování ve prospěch velkých samců a větší působení fyzických omezení na samce malé. Je také možné, že velcí samci nedorůstají takových velikostí, aby na ně limitace působily stejně účinně. Možným evolučním důsledkem by tedy bylo zvětšování celkové velikosti jedinců, až do stavu, kdy se působení limitací vyrovná (dosažení jakéhosi velikostního ekvilibria). Navzdory předpokladům o vyšším působení fyzických limitací při vyšším OSR, byli střední, „ideální“, samci aktivnější a úspěšnější při nižším OSR. Rovněž byli při nižším OSR méně vytěsňováni. Znamenalo by to vyšší pravděpodobnost asortativního párování podle velikosti v prostředí s běžným poměrem pohlaví, což se také rozchází s původními předpoklady. Je možné, ač nepravděpodobné, že tuto skutečnost způsobilo nesprávné rozřazení do kategorií, či jejich malý počet. Jiným výkladem může být změna strategie prostředních samců. Ti

by se za přítomnosti většího počtu velkých samců stavěli do role samců malých a zbytečně neplýtvali energií na nerovný boj, případně se přemístili k jiné samici.

Z výsledků lze také vyvodit, že velkou roli při kompetičním vzniku SAM má náhoda. Pokud se malý samec náhodou nachází nejbližše samice a zvládne ji uchopit jako první, má slušnou šanci, že se v amplexu udrží (dle Daviese & Hallidaye (1977) až 50 %). Vysoká aktivita a hmotnost velkých samců jejich pravděpodobnost na získání partnerky (jakékoliv, té nejbližší) také zvyšuje. Náhodné rozmístění partnerek má tedy klíčovou roli na vznik finálních párů a v konečném důsledku velmi oslabuje korelaci velikostí samců a samic v párech. Proto byla navržena snížená hranice hodnoty korelačního koeficientu ($r = 0,3$) pro důkaz výskytu SAM u takto se rozmnožujících druhů (populací).

6.2 Vliv velikostních rozdílů v páru na úspěšnost oplození

Největší benefit asortativního párování podle velikosti by měl být jeho příznivý vliv na úspěšnost oplození. Ze zkoumaných prací ale tento trend vůbec nevyplývá, naopak se zdá, že spíše neexistuje. Jediná práce bezpečně potvrzující výskyt tohoto benefitu byla vypracována Bastosem & Haddadem (1996) na rosničce úhledné. Podílem SVL samců a samic vysvětlil 85 % variability kolísání úspěšnosti oplození (viz kapitola 3.2). Výsledky mého pokusu se těmito hodnotám zdaleka nepřibližují. Rozdíl ani podíl SVL samců a samic v párech neměl u zkoumaných ropuch významný vliv na úspěšnost oplození. Neměl jej ani podíl BMI, či podíl délky přední končetiny samce a SVL samice. Nalezený vliv rozdílu a podílu hmotností samců a samic v párech byl sice významný, vysvětloval však pouze 16,8, resp. 14,7 % variability. To ukazuje na poměrně slabý vliv a nabízí se otázka, co tedy výslednou variabilitu způsobilo. Zvolenými ukazateli byly pokryty fyzické predispozice i současná fyzická kondice, ve formě podílu BMI. Všechny páry měly při kladení stejné podmínky, tj. stejný prostor, vodu, teplotu i intenzitu oslunění a nebyly při kladení rušeny, takže pravděpodobně nešlo o vnější vlivy. Úspěšnost oplození by mohla být ovlivněna sociální zkušeností samce (zkušenější by teoreticky oplodnil více). Zkušenost se často vyjadřuje věkem, který bývá silně korelován s velikostí samce, ale ani ta výsledek významně neovlivnila. Stejně to bylo i s jeho hmotností a BMI. Zbývá variabilita tedy musela být ovlivněna nějakým neznámým, zde neuvedeným vlivem, nebo byla zcela náhodná.

Velikost snůšky byla také velmi variabilní a pouze slabě ($r = 0,38$) korelovaná se SVL samice. Korelace s ostatními zvolenými charakteristikami (hmotnost a BMI) byly marginálně nevýznamné a korelační koeficienty dosahovaly jen nepatrně menších hodnot. To pravděpodobně značí lehce poddimenzovaný vzorek. Pokud je vztah velikosti snůšky a zmíněných charakteristik takto slabý, je i zde nějaký jiný vliv, který se nepodařilo odhalit.

Jednou z teorií byla schopnost samice, která nebyla spokojena se svým partnerem, vyklást pouze část své snůšky v naději, že později natrefí na vhodnějšího samce. Tuto teorii by mohl podporovat významný vliv rozdílu (podílu) hmotností v páru na velikost snůšky. Ten významný sice byl, jenže po bližším prozkoumání trendu tohoto vztahu zjistíme, že je opačný, tj. s rostoucím rozdílem (klesajícím podílem) se velikost snůšky zvětšuje. To naopak naznačuje absenci tohoto vztahu. Samci nedosahují velikosti samic a fekundita samice je korelována s její velikostí. S rostoucí velikostí samice se bude zvyšovat i rozdíl (snižovat podíl) hmotností jedinců v párech a zároveň zvyšovat velikost snůšky. Po oddělení vlivu velikost samice, už vliv podílu hmotností významný nebyl.

Pozorované kolísání velikostí snůšek tedy rovněž nebylo možné vysvětlit podle žádných jiných ukazatelů (kromě zmiňované velikosti samic, která vysvětluje pouze malou část variability) a je pravděpodobně náhodné. Výsledky uskutečněného pokusu se od ostatních lišily právě ve značném kolísání a nekonzistenci velikostí snůšek a procenta oplozených vajíček. V daných studiích byla úspěšnost oplození velmi vysoká a často neklesala pod 80 % (viz např. (Kruse, 1981; Hettyey et al., 2011; Fan et al., 2013). Výsledky však byly stejné, neboť se vliv rozdílu, ani podílu velikostí jedinců v párech nepotvrdil. Korelační koeficienty velikostí samců a samic v párech ropuch obecných bývají velmi nízké (viz kapitola 3.2). Po přihlédnutí k nesignifikanci vlivu rozdílu (podílu) velikostí jedinců v párech na úspěšnost oplození, lze říci, že úloha SAM v rozmnožování ropuch obecných je přinejmenším sporná a jeho výskyt je spíše takovou raritou (nebo pouhým důsledkem fyzických omezení), než účelným reprodukčním mechanismem.

7. Závěr

Asortativní párování podle velikosti je nenáhodný rozmnožovací systém, projevující se korelací velikostí samců a samic ve vytvořených párech. Cílem této práce bylo blíže prozkoumat mechanismy jeho vzniku a vyhodnotit jeho vliv na fitness u ropuchy obecné.

Fyzická omezení formování párů, která by dle některých teorií měla vést k vzniku SAM, působila u ropuchy obecné intenzivněji na samce menších rozměrů. Samci největší velikostní kategorie zřejmě dohánějí svou menší kompatibilitu se samicí vyšší aktivitou. Selektce partnerů v reálném prostředí tedy působí jinak, než by vyplývalo pouze z fyzických limitací amplexu. Nerovnoměrnost působení fyzických limitací může být rovněž jedním z „šumivých elementů“, které způsobují nízké korelační koeficienty při prokazování asortativního párování podle velikosti. Změna poměru pohlaví na místě rozmnožování je pravděpodobně doprovázena změnou strategií samců různých velikostních kategorií. Počet vytěsnění ani doba strávená v amplexu však na OSR přímo závislá není.

Rozdíl, ani podíl velikostí samců a samic v párech, stejně jako podíl BMI, či podíl délky přední končetiny samce a SVL samice, neměly vliv na míru oplození vajíček. Úspěšnost oplození byla významně ovlivněna rozdílem a podílem hmotností jedinců v párech, model však vysvětloval pouze malé procento variability. Nepotvrdila se ani závislost na věku. Velikost snůšky byla nejvíce ovlivněna velikostí samice. Záměrné kladení menších snůšek při menší kompatibilitě partnerů se nepotvrdilo.

U zkoumaných ropuch docházelo k slabému asortativnímu párování podle velikosti, které však nemělo vliv na fitness jedinců. Vzniklo zřejmě pouze jako důsledek fyzických omezení amplexu a kompetice samců, aniž by představovalo nějaký účelný reprodukční mechanismus. Asortativní párování podle hmotnosti a BMI se nepotvrdilo.

Zjištěné skutečnosti přímo neodporují výsledkům dosud publikovaných prací. Výrazně je však zpřesňují a ukazují některé staré i nové trendy v jiném světle. Představují také unikátní výsledky pro ropuchu obecnou, které pomohou k hlubšímu pochopení reprodukční ekologie těchto pozoruhodných zvířat

Součástí této práce jsou rukopisy dvou odborných článků (přílohy č 2 a 3). První vychází z výsledků této práce, konkrétně části, věnující se vlivu velikosti a poměru pohlaví na formování párů, a po přeložení bude odeslán do redakce časopisu Behavioural Processes. Druhý sice vychází z jiných dat, ale řeší podobnou tematiku (vliv OSR a dostupnosti partnera na SAM). Na jeho tvorbě jsem se podílel hlavně při přepracování rukopisu a můj podíl reflektuje pořadí, v jakém jsem uveden jako autor. V současné době je těsně před odesláním do časopisu Journal of Herpetology.

8. Přehled literatury a použitých zdrojů

- ABLE D., 1999. Scramble competition selects for greater tailfin size in male red-spotted newts (Amphibia: Salamandridae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 46: 423–428.
- ARAK A., 1983. Male-male competition and mate choice in anuran amphibians. In: BATESON P. [eds.]: *Mate choice*. Cambridge University Press, UK, 181–210.
- ARNTZEN J., 1999. Sexual selection and male mate choice in the common toad, *Bufo bufo*. *Ethology Ecology & Evolution* 11: 407–414.
- BARUŠ V. & OLIVA O., 1992. Fauna ČSFR: *Obojživelníci – Amphibia*. Academia, Praha, 338 s.
- BASTOS R. & HADDAD C., 1996. Breeding activity of the neotropical treefrog *Hyla elegans* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* 30: 355–360.
- BEE M. A. & GERHARDT H. C., 2001. Neighbour-stranger discrimination by territorial male bullfrogs (*Rana catesbeiana*): I. Acoustic basis. *Animal Behaviour* 62: 1129–1140.
- BERVEN K., 1981. Mate choice in the wood frog, *Rana sylvatica*. *Evolution* 35: 707–722.
- BIERBACH D., SCHULTE M., HERRMANN N., TOBLER M., STADLER S., JUNG C. T., KUNKEL B., RIESCH R., KLAUS S., ZIEGE M., INDY J. R., ARIAS-RODRIGUEZ L. & PLATH M., 2011. Predator-induced changes of female mating preferences: innate and experiential effects. *BMC Evolutionary Biology* 11: 190.
- BIONDA C. L., LAJMANOVICH R. C., SALAS N. E., MARTINO A. L. & TADA E., 2011. Reproductive Ecology of the Common South American Toad *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae): Reproductive Effort, Clutch Size, Fecundity, and Mate Selection. *Journal of Herpetology* 45: 261–264.
- BORTOLOTTI G. R. & IKO W. M., 1992. Non-random pairing in American kestrels: mate choice versus intra-sexual competition. *Animal Behaviour* 44: 811–821.
- BOSCH J. & MÁRQUEZ R., 2005. Female preference intensities on different call characteristics and symmetry of preference above and below the mean in the Iberian midwife toad *Alytes cisternasii*. *Ethology* 333: 323–333.
- BRIGGS V. S., 2008. Mating Patterns of Red-Eyed Treefrogs, *Agalychnis callidryas* and *A. moreletii*. *Ethology* 114: 489–498.

- BROWN W., 1993. The cause of size-assortative mating in the leaf beetle *Trirhabda canadensis* (Coleoptera : Chrysomelidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 33: 151–157.
- CASTELLANO S. & GIACOMA C., 1998. Stabilizing and directional female choice for male calls in the European green toad. *Animal Behaviour* 56: 275–287.
- CASTELLANO S., ZANOLLO V., MARCONI V. & BERTO G., 2009. The mechanisms of sexual selection in a lek-breeding anuran, *Hyla intermedia*. *Animal Behaviour* 77: 213–224.
- COHEN J., 1988. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. Lawrence Erlbaum Associates, New York, 567 s.
- COYNE J. A., 1992. Genetics and speciation. *Nature* 355: 511–515.
- CRESPI B. J., 1989. Causes of assortative mating in arthropods. *Animal Behaviour* 38: 980–1000.
- DAVIES N. B. & HALLIDAY T. R., 1977. Optimal mate selection in the toad *Bufo bufo*. *Nature* 269: 56–58.
- DAVIES N. B. & HALLIDAY T. R., 1978. Deep croaks and fighting assessment in toads *Bufo bufo*. *Nature* 274: 683–685.
- DAVIES N. & HALLIDAY T., 1979. Competitive mate searching in male common toads, *Bufo bufo*. *Animal Behaviour* 27: 1253–1267.
- EGGERT C. & GUYÉTANT R., 2003. Reproductive behaviour of spadefoot toads (*Pelobates fuscus*): daily sex ratios and males' tactics, ages, and physical condition. *Canadian Journal of Zoology* 81: 46–51.
- ELMBERG J., 1987. Random mating in a boreal population of European common frogs *Rana temporaria*. *Ecography* 10: 193–195.
- ELMBERG J., 1991. Factors affecting male yearly mating success in the common frog, *Rana temporaria*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 28: 125–131.
- FAIRCHILD L., 1981. Mate selection and behavioral thermoregulation in Fowler's toads. *Science* 212: 950–951.
- FAN X. L., LIN Z. H. & JI X., 2013. Male size does not correlate with fertilization success in two bufonid toads that show size-assortative mating. *Current Zoology* 59: 740–746.
- FERRER M. & PENTERIANI V., 2003. A process of pair formation leading to assortative mating: passive age-assortative mating by habitat heterogeneity. *Animal Behaviour* 66: 137–143.

- FREEBERG T., 1996. Assortative mating in captive cowbirds is predicted by social experience. *Animal Behaviour* 52: 1129–1142.
- FRIEDL T. W. P. & KLUMP G. M., 2005. Sexual selection in the lek-breeding European treefrog: body size, chorus attendance, random mating and good genes. *Animal Behaviour* 70: 1141–1154.
- GABOR C. R. & HALLIDAY T. R., 1997. Sequential mate choice by multiply mating smooth newts: females become more choosy. *Behavioral Ecology* 8: 162–166.
- GATZ A. J. J., 1981. Non-random mating by size in American toads, *Bufo americanus*. *Animal Behaviour* 29: 1004–1012.
- GERHARDT H. C., DANIEL R. E., PERRILL S. A. & SCHRAMM S., 1987. Mating behaviour and male mating success in the green treefrog. *Animal Behaviour* 35: 1490–1503.
- GIASSON L. & HADDAD C., 2007. Mate choice and reproductive biology of *Hypsiboas albomarginatus* (Anura: Hylidae) in the Atlantic forest, southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology* 2: 157–164.
- GODWIN G. & ROBLE S., 1983. Mating success in male treefrogs, *Hyla chrysoscelis* (Anura: Hylidae). *Herpetologica* 39: 141–146.
- GOPURENKO D., WILLIAMS R. N., MCCORMICK C. R. & DEWOODY J. A., 2006. Insights into the mating habits of the tiger salamander (*Ambystoma tigrinum tigrinum*) as revealed by genetic parentage analyses. *Molecular Ecology* 15: 1917–28.
- GRAMAPUROHIT N. P. & RADDER R. S., 2012. Mating Pattern, Spawning Behavior, and Sexual Size Dimorphism in the Tropical Toad *Bufo melanostictus* (Schn.). *Journal of Herpetology* 46: 412–416.
- HAN C. S., JABLONSKI P. G., KIM B. & PARK F. C., 2010. Size-assortative mating and sexual size dimorphism are predictable from simple mechanics of mate-grasping behavior. *BMC Evolutionary Biology* 10: 359.
- HETTYEY A., TÖRÖK J. & HÉVIZI G., 2005. Male mate choice lacking in the agile frog, *Rana dalmatina*. *Copeia* 2005: 403–408.
- HETTYEY A., VÁGI B., TÖRÖK J. & HOI H., 2011. Allocation in reproduction is not tailored to the probable number of matings in common toad (*Bufo bufo*) males. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 66: 201–208.
- HILLIS D., HILLIS A. & MARTIN R., 1984. Reproductive ecology and hybridization of the endangered Houston toad (*Bufo houstonensis*). *Journal of Herpetology* 18: 56–72.

- HOGLUND J. & SATERBERG L., 1989. Sexual selection in common toads: correlates with age and body size. *Journal of Evolutionary Biology* 2: 367–372.
- HOWARD R., 1978. The evolution of mating strategies in bullfrogs, *Rana catesbeiana*. *Evolution* 32: 850–871.
- HOWARD R., 1980. Mating behaviour and mating success in woodfrogs *Rana sylvatica*. *Animal Behaviour* 28: 705–716.
- HOWARD R., 1983. Sexual selection and variation in reproductive success in a long-lived organism. *American Naturalist* 122: 301–325.
- HOWARD R. & KLUGE A., 1985. Proximate mechanisms of sexual selection in wood frogs. *Evolution* 39: 260–277.
- CHAJMA P., 2012. Příčiny a hodnocení asortativního párování podle velikosti u obojživelníků. *Bakalářská práce*, Dep.: *Katedra ekologie FŽP ČZU v Praze*. *Nepublikováno*.
- CHEN W., ZHANG L. & LU X., 2012. Pairs during hibernation in a temperate frog: an unusual male mating strategy among anurans. *Journal of Ethology* 30:15–21.
- CHERRY M. I., 1993. Sexual selection in the raucous toad, *Bufo rangeri*. *Animal Behaviour* 45: 359–373.
- JANZEN F. & BRODIE E., 1989. Tall tails and sexy males: sexual behavior of rough-skinned newts (*Taricha granulosa*) in a natural breeding pond. *Copeia* 1989: 1068–1071.
- KAWAMICHI T. & UEDA H., 1998. Spawning at nests of extra-large males in the giant salamander *Andrias japonicus*. *Journal of Herpetology* 32: 133–136.
- KOVÁŘ R., 1999. Reprodukční strategie ropuchy obecné *Bufo bufo*. *Disertační práce*, Dep.: *Katedra ekologie FŽP ČZU v Praze*. *Nepublikováno*.
- KRENZ J. & SEVER D., 1995. Mating and oviposition in paedomorphic *Ambystoma talpoideum* precedes the arrival of terrestrial males. *Herpetologica* 51: 387–393.
- KRENZ J. D. & VERRELL P. A., 2002. Integrity in the midst of sympatry: does sexual incompatibility facilitate the coexistence of metamorphic and paedomorphic mole salamanders (*Ambystoma talpoideum*)? *Journal of Zoology* 258: 435–440.
- KRUPA J. J., 1994. Breeding Biology of the Great Plains Toad in Oklahoma. *Journal of Herpetology* 28: 217–224.
- KRUSE K., 1981. Mating success, fertilization potential, and male body size in the American toad (*Bufo americanus*). *Herpetologica* 37: 228–233.

- KVARNEMO C. & AHNESJÖ I., 2002. Operational sex ratios and mating competition. In: HARDY I. C. W. [eds.]: *Sex ratios: concepts and research methods*. Cambridge University Press, 366–382.
- LAMB T., 1984. Amplexus displacement in the southern toad, *Bufo terrestris*. *Copeia* 1984: 1023–1025.
- LEE J. & SALZBURG M., 1989. Mating success and pairing patterns in *Bufo valliceps* (Anura: Bufonidae). *The Southwestern Naturalist* 34: 155–157.
- LEE J. & PARK D., 2009. Effects of body size, operational sex ratio, and age on pairing by the Asian toad, *Bufo stejnegeri*. *Zoological Studies* 48: 334–342.
- LEPŠ J., 1996. *Biostatistika*. Jihočeská univerzita, České Budějovice, 166 s.
- LEWONTIN R., KIRK D. & CROW J., 1968. Selective mating, assortative mating, and inbreeding: definitions and implications. *Biodemography and Social Biology* 15: 141–143.
- LIZANA M., MÁRQUEZ R. & MARTÍN-SÁNCHEZ R., 1994. Reproductive biology of *Pelobates cultripes* (Anura: Pelobatidae) in central Spain. *Journal of Herpetology* 28: 19–27.
- LODÉ T., HOLVECK M.-J. & LESBARRÈRES D., 2005. Asynchronous arrival pattern, operational sex ratio and occurrence of multiple paternities in a territorial breeding anuran, *Rana dalmatina*. *Biological Journal of the Linnean Society* 86: 191–200.
- LU X., MA X., LI Y. & FAN L., 2009. Breeding behavior and mating system in relation to body size in *Rana chensinensis*, a temperate frog endemic to northern China. *Journal of Ethology* 27: 391–400.
- LU X., CHEN W., ZHANG L. & MA X., 2010. Mechanical constraint on size-assortative pairing success in a temperate frog: An experimental approach. *Behavioural Processes* 85: 181–184.
- MARCO A., KIESECKER J., CHIVERS D. & BLAUSTEIN A., 1998. Sex recognition and mate choice by male western toads, *Bufo boreas*. *Animal Behaviour* 55: 1631–5.
- MARCO A. & LIZANA M., 2002. The absence of species and sex recognition during mate search by male common toads, *Bufo bufo*. *Ethology Ecology & Evolution* 14:1–8.
- MARSH D. M., 2001. Fluctuations in amphibian populations: a meta-analysis. *Biological Conservation* 101: 327–335.
- MARSH D. M. & TRENHAM P. C., 2001. Metapopulation Dynamics and Amphibian Conservation. *Conservation Biology* 15: 40–49.

- OLSON D. H., BLAUSTEIN A. R. & O'HARA R. K., 1986. Mating pattern variability among western toad (*Bufo boreas*) populations. *Oecologia* 70: 351–356.
- ORENSE R. & TEJEDO-MADUEÑO M., 1990. Size-based mating pattern in the tree frog *Hyla arborea*. *Herpetologica* 46: 176–182.
- OTRONEN M., 1997. Mating behaviour and sexual size dimorphism in *Scathophaga inquinata*. *Annales Zoologici Fennici* 34: 241–246.
- PARK S., PARK D. & YANG S., 1996. Courtship, fighting behaviors and sexual dimorphism of the salamander, *Hynobius leechii*. *Korean Journal of Zoology* 39: 437–446.
- PECHMANN J. H., SCOTT D. E., SEMLITSCH R. D., CALDWELL J. P., VITT L. J. & GIBBONS J. W., 1991. Declining amphibian populations: the problem of separating human impacts from natural fluctuations. *Science* 253: 892–895.
- PEKÁR S. & BRABEC M., 2009. *Moderní analýza biologických dat. Lineární modely s korelacemi v prostředí* R. Scientia, Praha, 235 s.
- R CORE TEAM, 2014. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- ROBERTSON J. G. M., 1990. Female choice increases fertilization success in the Australian frog, *Uperoleia laevigata*. *Animal Behaviour* 39: 639–645.
- RODRIGUES D. J., UETANABARO M. & LOPES F. S., 2005. Reproductive patterns of *Trachycephalus venulosus* (Laurenti, 1768) and *Scinax fuscovarius* (Lutz, 1925) from the Cerrado, Central Brazil. *Journal of Natural History* 39: 3217–3226.
- RYAN M., 1983. Sexual selection and communication in a neotropical frog, *Physalaemus pustulosus*. *Evolution* 37: 261–272.
- RYSER J., 1989. The breeding migration and mating system of a Swiss population of the common frog *Rana temporaria*. *Amphibia-Reptilia* 10: 13–21.
- SULLIVAN B. K., 1992. Sexual selection in the American Toad (*Bufo americanus*). *Copeia* 1992: 1–17.
- SULLIVAN B., RYAN M. & VERRELL P., 1995. Female choice and mating system structure. In: HEATWOLE H. & SULLIVAN B. K. [eds.]: *Amphibian biology, Volume 2: Social Behaviour*. Surrey Beatty & Sons, Chipping Norton, NSW, 469–517.
- TAKAHASHI M. K., TAKAHASHI Y. Y. & PARRIS M. J., 2010. On the role of sexual selection in ecological divergence: a test of body-size assortative mating in the eastern newt *Notophthalmus viridescens*. *Biological Journal of the Linnean Society* 101: 884–897.

- TEJEDO M., 1988. Fighting for females in the toad *Bufo calamita* is affected by the operational sex ratio. *Animal Behaviour* 36: 1765–1769.
- VAIRA M., 2001. Breeding biology of the leaf frog, *Phyllomedusa boliviana* (Anura, Hylidae). *Amphibia Reptilia* 22: 421–429.
- VIEITES D.R., NIETO-ROMAN S., BARLUENGA M., PALANCA A., VENCES M. & MEYER A., 2004. Post-mating clutch piracy in an amphibian. *Nature* 431:305–308.
- VOJAR J., DOLEŽALOVÁ J. & SOLSKÝ M., 2012. A New, Harmless Mesocosm Design for Field Rearing Ranid Embryos and Determining Clutch Sizes. *Herpetological Review* 43: 588–590.
- VOJAR J., KOPECKÝ O., PUŠ V., CHAJMA P. & ŠÁLEK M. The effect of sex ratio and mate availability on size-assortative mating in explosively breeding anurans (in prep.).
- WAGNER J. W. E. & SULLIVAN B. K., 1995. Sexual selection in the Gulf Coast toad, *Bufo valliceps*: female choice based on variable characters. *Animal Behaviour* 49: 305–319.
- WARBECK A. & PARZEFALL J., 2001. Mate recognition via waterborne chemical cues in the viviparous caecilian *Typhlonectes natans* (Amphibia: Gymnophiona). In: MARCHLEWSKA-KOJ A., LEPRI J. J. & MÜLLER-SCHWARZE D. [eds.]: *Chemical signals in vertebrates* 9. Kluwer Academic/Plenum, New York, 263–268.
- WELLS K. D., 1977a. The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour* 25: 666–693.
- WELLS K., 1977b. Territoriality and male mating success in the green frog (*Rana clamitans*). *Ecology* 58: 750–762.
- WELLS K. D., 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press, 1148 s.
- WILBUR H., RUBENSTEIN D. & FAIRCHILD L., 1978. Sexual selection in toads: the roles of female choice and male body size. *Evolution* 32: 264–270.
- WOGEL H., ABRUNHOSA P. A., POMBAL J. & POMBAL J. P. JR, 2005. Breeding behaviour and mating success of *Phyllomedusa rohdei* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. *Journal of Natural History* 39: 2035–2045.
- WOODWARD B., 1982. Sexual selection and nonrandom mating patterns in desert anurans (*Bufo woodhousei*, *Scaphiopus couchi*, *S. multiplicatus* and *S. bombifrons*). *Copeia* 1982: 351–355.

- YANG S., KIM J., MIN M., SUN J. & SUK H., 1997. Genetic and phenetic differentiation among three forms of Korean salamander *Hynobius leechii*. *Korean Journal of Biological Sciences* 1: 247–257.
- YU T. L. & LU X., 2010. Mating patterns of Minshan's toad (*Bufo minshanicus*) from three populations along an altitudinal gradient. *Zoological Science* 27: 856–60.

9. Přílohy

Příloha č. 1: Výskyt asortativního párování podle velikosti (SAM) a pářící výhody velkých samců (SDM) u žab

Ano SAM / SDM se vyskytovalo alespoň v jedné populaci (jednom roce)

Ne SAM / SDM nebylo prokázáno

? Nedostatečný vzorek nedovoluje stanovit přesný výsledek

Druh	SAM			SDM			Autor
	Ano	Ne	?	Ano	Ne	?	
–							–
<i>Rana chensinensis</i>	X						Lu et al. (2009)
	X						Chen et al. (2012)
<i>Rana temporaria</i>		X					Elmberg (1987)
		X					Elmberg (1991)
		X					Ryser (1989)
	X						Vieites et al. (2004)
	X						Vojar et al. (in prep.)
<i>Lithobates catesbianus</i>	X						Howard (1987)
				X			Wells (1977b)
<i>Lithobates sylvaticus</i>		X					Howard (1980)
	X			X			Berven (1981)
		X					Howard & Kluge (1985)
<i>Rana dalmatina</i>		X					Hettyey et al. (2005)
<i>Bufo bufo</i>	X						Davies & Halliday (1977)
		X					Arak (1983)
		X					Kovář (1999)
		X					Marco & Lizana (2002)
		X					Vojar et al. (in prep.)
<i>Anaxyrus boras</i>	X						Marco et al. (1998)
<i>Anaxyrus americanus</i>		X		X			Gatz (1981)
		X			X		Kruse (1981)
		X			X		Wilbur et al. (1978)
<i>Anaxyrus quercicus</i>			X	X			Wilbur et al. (1978)
<i>Anaxyrus terrestris</i>		X			X		Wilbur et al. (1978)
<i>Anaxyrus houstonensis</i>		X			X		Hillis et al. (1984)
<i>Duttaphrynus melanostictus</i>	X						Gramapurohit & Radder (2012)
<i>Bufo stejnegeri</i>	X						Lee & Park (2009)
<i>Bufo gargarizans</i>	X			X			Yu & Lu (2010)
<i>Incilius valliseps</i>			X				Lee & Salzburg (1989)
<i>Amietophrynus rangeri</i>		X			X		Cherry (1993)
<i>Anaxyrus woodhousei</i>		X		X			Fairchild (1981)
		X					Woodward (1982)
<i>Scaphiopus couchi</i>		X					Woodward (1982)
<i>Spea multiplicata</i>			X				Woodward (1982)

<i>Spea bombifrons</i>			X		Woodward (1982)
<i>Rhinella arenarum</i>	X				Bionda et al. (2011)
<i>Pelobates cultripes</i>			X	X	Lizanna et al. (1994)
<i>Dendropsophus elegans</i>	X			X	Bastos & Haddad (1996)
<i>Agalychnis callidryas</i>	X			X	Briggs (2008)
<i>Agalychnis moreletii</i>	X			X	Briggs (2008)
<i>Hyla chrysoscelis</i>		X			Godwin & Robble (1983)
<i>Hyla cinerea</i>		X			Gerhardt et al. (1987)
<i>Phyllomedusa rohdei</i>		X			Wogel et al. (2005)
<i>Engystomops pustulosus</i>		X			Ryan (1983)
<i>Hypsiboas albomarginatus</i>			X	X	Giasson & Haddad (2007)
<i>Phyllomedusa boliviana</i>			X		Vaira (2001)
<i>Hyla arborea</i>		X			Friedl & Klump (2005)
	X				Orense & Tejedo-Madueño (1990)

Příloha č. 2: Vliv velikosti a poměru pohlaví na formování párů u ropuchy obecné (*Bufo bufo*)

Rukopis odborného článku, který vychází z výsledků této práce, konkrétně části, věnující se vlivu velikosti a poměru pohlaví na formování párů. Po přeložení bude odeslán do redakce časopisu Behavioural Processes.

Vliv velikosti a poměru pohlaví na formování párů u ropuchy obecné (*Bufo bufo*)

Petr Chajma, Jiří Vojar

Katedra ekologie, FŽP ČZU v Praze; Chajma.P@seznam.cz

Abstrakt

Asortativní párování podle velikosti (size-assortative mating, SAM) je u žab poměrně zkoumaným jevem a jeho přítomnost je prezentována korelací velikostí samců a samic v párech v rámci studované populace. Jednou z hypotéz, které popisují vznik SAM, je hypotéza o omezení. Ta říká, že SAM je způsobeno fyzickými limitacemi při formování a udržování amplexu (páru). Formování a udržování párů může být rovněž ovlivněno aktuálním poměrem pohlaví. Cílem práce bylo pomocí manipulativního experimentu zjistit, zdali velikost samců a intenzita kompetice mají vliv na utváření párů ropuchy obecné (*Bufo bufo*). V rámci experimentu byli každé samici ($n = 20$) přiděleni tři (běžný poměr pohlaví), nebo šest (zvýšený poměr pohlaví) samců ve třech velikostních kategoriích. V rámci obecného „formování párů“ byly testovány dílčí složky, jako frekvence vytěšňování, čas strávený v amplexu nebo čas potřebný ke zformování konečného páru. Frekvence vytěšňování byla nejvíce ovlivněna počtem útoků, který byl nejvyšší u největších samců. Větší samci byli díky své aktivitě úspěšnější než malí, což poukazuje na silnější působení fyzických limitací na samce nejmenší velikostní kategorie. Středně velcí samci byli vytěšňováni méně, než velcí, ale více, než malí, kteří měli obecně malou šanci se do amplexu dostat. Doba strávená v amplexu rostla s velikostí samců. Změna poměru pohlaví způsobila odlišné chování samců jednotlivých kategorií, zvýšení intenzity kompetice se zvýšeným poměrem pohlaví bylo patrné pouze

P. Chajma & J. Vojar

u malých a velkých samců. Zvýšená intenzita kompetice však neměla významný vliv na dobu strávenou v amplexu u žádné z velikostních kategorií.

Klíčová slova: Asortativní párování podle velikosti, SAM, frekvence vytěšňování, poměr pohlaví, pohlavní výběr

Úvod

Asortativní párování podle velikosti (size-assortative mating, dále jen SAM či asortativní párování) je u obojživelníků poměrně zkoumaným jevem (Wells, 1977; Arak, 1983; Elmberg, 1987; Marco et al., 1998; Gramapurohit & Radder, 2012). Jeho přítomnost je prezentována korelací velikostí samců a samic v párech v rámci studované populace (Lewontin et al., 1968). Hypotézy o mechanismech, které popisují vznik SAM, jako první zformoval Crespi (1989). Jedná se o hypotézy o výběru partnera, dostupnosti a omezení. Hypotéza o výběru považuje za hlavní příčinu SAM volbu jednoho, či interakci voleb obou pohlaví; hypotéza o dostupnosti poskytuje jako vysvětlení dostupnost podobně velikých jedinců v prostoru a čase; hypotéza o omezení tento jev vysvětluje pomocí fyzických omezení při formování a udržování amplexu (páru). Tvorba velikostně sladěných amplexů (tj., je-li velikost samců a samic v párech v určitém poměru) má několik výhod, např. lepší schopnost odolat atakům konkurenčních samců (Davies & Halliday, 1977; Lu et al., 2010). Kromě toho se u velikostně sladěných párů předpokládá vyšší míra oplození vajíček, což má potenciální vliv na fitness, vyjádřený počtem potomků (Davies & Halliday, 1977; Crespi, 1989). To je docíleno menší vzdáleností kloak, která zvyšuje míru oplození a snižuje riziko zmeškání signálu (většinou v podobě kopnutí), jež samice vysílá před začátkem kladení vajec (Wells, 2007).

U obojživelníků bylo asortativní párování zkoumáno převážně u žab, především u ropuch a skokanů (Chajma, 2012). Cílem většiny prací bylo prokázat korelaci mezi velikostmi jedinců v páru, méně jich však zkoumalo mechanismy jejího vzniku. Chybí zejména manipulativní pokusy, které by testovaly hypotézu o omezení a s ní spojené pokusy o vytěsnění samce z amplexu jiným, konkurenčním samcem.

Hypotéza o omezení bývá nejčastěji zkoumána u druhů, u kterých jedno pohlaví nese při námluvách/páření to druhé. Jedním z limitujících faktorů může být váha, např. u výkalnic *Scathophaga inquinata* (Otronen, 1997). Mnohem častěji však jde o sílu úchopu. Většina publikovaných prací vychází z předpokladu, že existuje ideální velikostní rozdíl jedinců v páru, při které je síla úchopu nejvyšší. Zvyšování odchylek od tohoto ideálu pak vede k oslabení amplexu a nakonec k jeho selhání. Tento princip byl prokázán např. u mandelínek *Trirhabda canadensis* (Brown, 1993), bruslařek *Gerris gracilicornis* (Han et al., 2010), nebo skokanů východních (*Rana chensinensis*) (Lu et al., 2010).

Situace se však komplikuje u žab s explozivním rozmnožovacím obdobím (kratším, než tři měsíce). U těchto druhů dochází k intenzivní kompetici mezi samci, která zahrnuje snahy o vytěsnění ostatních samců z páru, vedoucí k prohloubení fyzických limitací amplexu. Poměr pohlaví v místě rozmnožování (OSR – operational sex ratio) bývá značně nakloněn ve prospěch samců a měl by mít významný vliv na intenzitu kompetice (Davies & Halliday, 1977; Tejedo, 1988; Kvarnemo & Ahnesjö, 2002; Lee & Park, 2009, Vojar et al., in prep). Ač existuje několik observačních studií (Davies & Halliday, 1977, 1978; Tejedo, 1988; Lu et al., 2008), pouze jediná (Lamb, 1984) dosud zkoumala vytěsňování formou manipulativního pokusu. Ten však obsahoval významné nedostatky. Samci ropuchy hrabavé (*Anaxyrus terrestris*) byli v prvním roce pokusu rozděleni pouze do dvou velikostních kategorií (na malé a velké), v druhém roce byla kategorie pouze jedna (střední). Navíc do pokusu nebyl zahrnut vliv poměru pohlaví. I přes zmíněné nedostatky zjistili významný rozdíl mezi vytěsňováním malých samců velkými a velkými samci malými (Fisherův exaktní test, $p = 0,0009$). Velcí samci byli ve vytěsňování úspěšnější než malí, což bylo pozorováno i u jiných druhů (Davies & Halliday, 1977, 1978; Lee & Park, 2009).

Cílem této studie tedy bylo:

- 1) Vyhodnotit vliv velikosti samce na formování a udržování amplexu.
- 2) Vyhodnotit vliv poměru pohlaví na intenzitu samčí kompetice.

Jako pokusný druh byla vybrána ropucha obecná (*Bufo bufo*), která je díky svému kosmopolitnímu rozšíření obecně dobře prozkoumaným druhem s explozivním rozmnožovacím obdobím. Přítomnost SAM u ní v některých studiích byla (např. Davies & Halliday, 1977), v jiných naopak nebyla prokázána (shrnutí in Vojar et al., in prep.).

Metodika

Pokus probíhal v areálu České zemědělské univerzity v Praze. Celkem bylo pomocí mobilních zábran v rámci záchranného transferu obojživelníků přes komunikace u Hradce Králové odchyceno 20 samic a 90 samců ropuchy obecné. Všechna zvířata byla pomocí posuvných měřitek změřena od špičky čenichu po kloaku (snout-vent length, SVL) s přesností na 1 mm a roztříděna dle pohlaví a velikosti. Vytěšňovací pokusy probíhaly ve dvaceti nádržích o velikosti 70 × 70 × 50 cm [š × d × h]. Deseticentimetrová vrstva vody se ukázala být ideální k maximalizaci reprodukční aktivity zvířat a bránila jejich dehydrataci. V deseti nádržích byla umístěna jedna samice a tři samci – běžné OSR (Kovář, 1998, Vojar et al., in prep.), v dalších deseti jedna samice a šest samců – zvýšené OSR. Velikost samců byla v každé nádrži volena s ohledem na velikost samice, a to tak, aby vznikly tři velikostní kategorie samců – velcí (samci max. o 10 mm menší než samice), střední (cca o 10–20 mm menší než samice) a malí (menší o více než 20 mm než samice). Právě střední kategorie by měla být z hlediska síly úchopu tou nejlepší (Davies & Halliday, 1977). Při poměru pohlaví 3:1 byl v nádrži jeden samec z každé kategorie, v případě poměru pohlaví 6:1 dva samci.

Po dobu minimálně 45 minut byly zapisovány interakce jedinců v nádrži, a to pokus o amplexus, utvoření páru, útok na pár, hromadný amplexus a shoz samce samicí. Každá akce byla identifikována časem a konkrétním jedincem, za účelem získání detailních informací o dění v rámci sledované skupiny. Pokud za tuto dobu nedošlo k utvoření konečného páru (15 minut bez interakce), byla doba pokusu prodloužena. Celkový čas prodloužených pokusů ($n = 1$) a časy jednotlivých interakcí byly následně přepočítány na základní časovou hladinu (doba trvání pokusu 45 min). Finální dvojice byly přeneseny do vlastních nádrží s dostatečnou výškou hladiny vody (minimálně 15 cm) a částečnou souš, kde se nechaly vyklást.

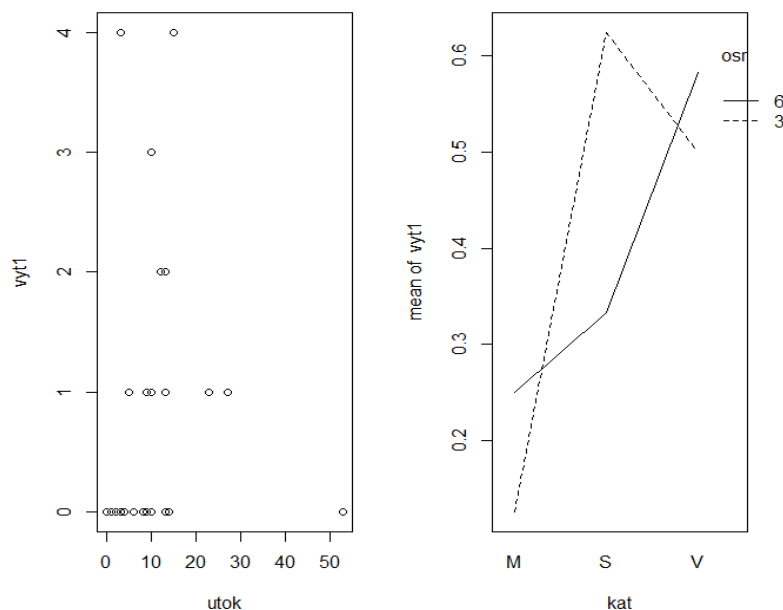
Přítomnost asortativní párování ve vytvořených párech byla detekována korelací zvolených charakteristik (SVL, hmotnost a $BMI = \text{hmotnost}/\text{SVL}^2$) spárovaných jedinců (díky absenci normálního rozdělení dat a nižšího počtu pozorování byl použit Spearmanův korelační koeficient). Dále byla analyzována frekvence vytěšňování (GLIM s Poissonovou distribucí), tj. kolikrát samec vytěšnil jiného / byl vytěšněn jiným (vysvětlovaná proměnná) v závislosti na počtu útoků, velikostní kategorii a poměru pohlaví v nádrži (vysvětlující proměnné). Pomocí GLIM s lognormálním

rozdělením byla hodnocena závislost doby strávené v amplexu a času utvoření finálního amplexu (vysvětlované p.) na velikosti samců a poměru pohlaví (vysvětlující p.). Veškeré statistické analýzy byly provedeny v softwaru R, verze 3.0.2 (R Core Team, 2013).

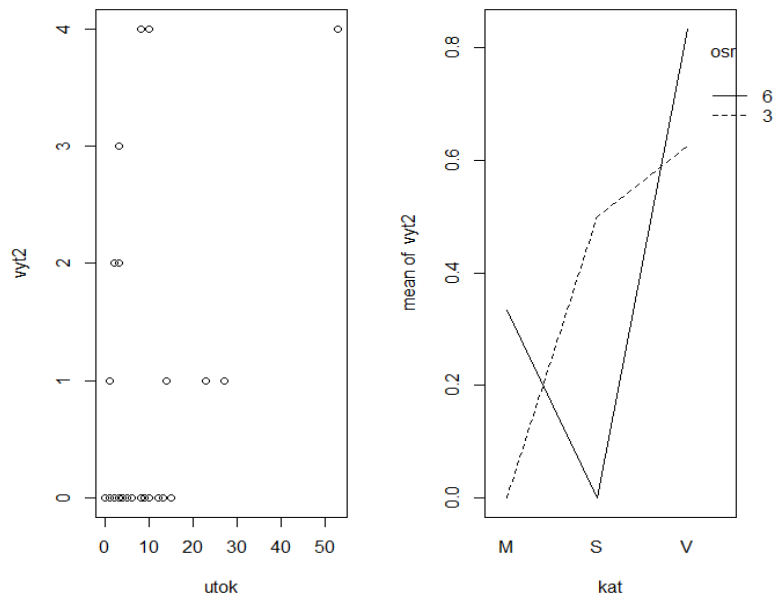
Výsledky

U vytvořených párů nedocházelo k asortativnímu párování podle velikosti (Spearmanův korelační koeficient $r = 0,12$, $n = 20$, $p = 0,62$), podle hmotnosti (Spearmanův korelační koeficient $r = 0,18$, $n = 20$, $p = 0,47$), ani podle BMI (Spearmanův korelační koeficient $r = 0,26$, $n = 20$, $p = 0,3$). Počet vytěsnění jiným samcem závisel hlavně na počtu útoků ($df = 1$, $p = 0,007$), přičemž úspěšnost vytěsnění po určitém množství útoků klesá (viz Obr. 1). Velikostní kategorie ($df = 2$, $p = 0,41$) ani OSR ($df = 1$, $p = 0,58$) vliv na počet vytěsnění neměly. Významná však byla interakce útoku a kategorie ($df = 2$, $p < 0,001$) a útoku a OSR ($df = 1$, $p = 0,02$). Podobné výsledky byly také u počtu vytěsnění jiného samce (Obr. 2). Významně jej ovlivňuje počet útoků ($df = 1$, $p < 0,001$), nikoliv však velikostní kategorie samců ($df = 2$, $p = 0,3$) a OSR ($df = 1$, $p = 0,47$). Signifikantní byla naopak interakce velikostní kategorie a OSR ($df = 2$, $p = 0,004$).

Obr. 1: Závislost počtu vytěsnění jiným samcem (vyt1 – na vertikální ose) na počtu útoků (vlevo, horizontální osa) a velikostní kategorii s OSR (vpravo, horizontální osa)

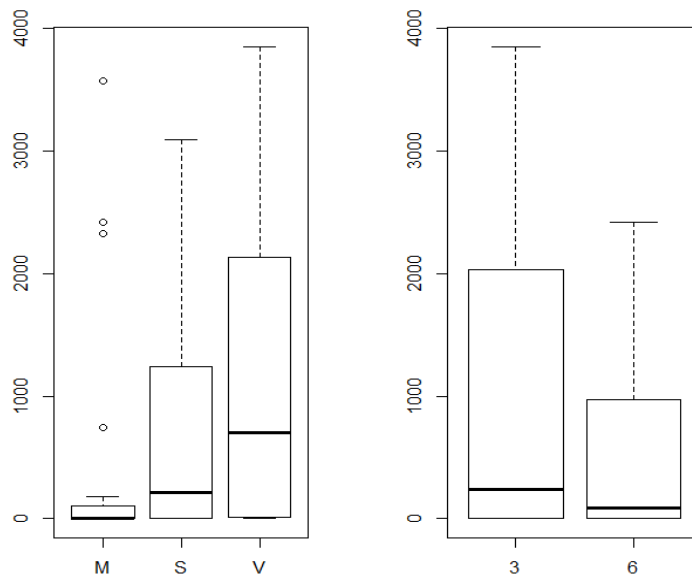


Obr. 2: Závislost počtu vytěsnění jiných samců (vyt2 – na vertikální ose) na počtu útoků (vlevo, horizontální osa) a velikostní kategorii s OSR (vpravo, horizontální osa)



Doba strávená v amplexu byla závislá pouze na velikostní kategorii ($F = 5,3181$, $p = 0,008$), nikoliv na OSR ($F = 0,2403$, $p = 0,63$). Nejdéle byli v amplexu větší samci, průměrná doba setrvání v páru byla (ač nesignifikantně) v nádržích s vysokým OSR nižší (viz Obr. 3), zřejmě vlivem větší kompetice.

Obr. 3: Vliv velikostní kategorie (vlevo, horizontální osa) a OSR (vpravo, horizontální osa) na dobu strávenou v amplexu [s] (vertikální osa)



Čas utvoření finálního páru nezávisel ani na kategorii ($F = 0,55$, $p = 0,59$), ani na OSR ($F = 0,38$, $p = 0,55$).

Diskuze

Z dosažených výsledků je patrné, že největší vliv na počet vytěsnění má počet útoků. Úspěšnost útoků však s jejich počtem stoupá pouze do určitého bodu, načež začne klesat. Významný vliv interakce počtu útoku a velikostní kategorie na počet vytěsnění samce jiným samcem z amplexu je zřejmě způsoben rozdílným počtem útoků samců různých kategorií a jejich úspěšností. Celou situaci komplikuje rozdílné chování při různých poměrech pohlaví. Malí samci měli malý úspěch při získávání partnerky. Do amplexů se nedostávali tak často, jako ostatní samci, tudíž nemohli být tak často vytěsnění. Při nižším OSR byli nejvíce vytěšňováni střední samci, zároveň byli poměrně úspěšní ve vytěšňování, avšak ne tolik, jako velcí samci. Při vyšším OSR se střední samci stali pasivními a jejich jediná šance byla dostat se do amplexu jako první. To nejspíše způsobilo významný vliv interakce velikostní kategorie a OSR na počet vytěsnění jiných samců. Nejaktivnější byli při obou OSR velcí samci, kteří nejvíce vytěšňovali a při vysokém OSR byli i nejvíce vytěšňováni (nejčastěji jinými samci stejné kategorie). Zároveň byli nejvíce shazováni samicí. Zdá se, že fyzické limitace v tomto případě spíše omezují páření příliš malých samců, než aby podporovaly samce adekvátní. Úspěšnost vytěsnění je zřejmě dána dvěma faktory – ochotou útočit a hmotností jedince. Podobně jako v jiných studiích byli velcí samci ve vytěšňování úspěšnější než malí (Davies & Halliday, 1977; Lamb, 1984). Zarážející je ale snížená aktivita středních samců při zvýšeném OSR, která byla spíše způsobena anomálií konkrétního vzorku, než že by měla nějakou zajímavější kauzalitu.

Doba strávená v amplexu byla významně ovlivněna velikostí samců. Nejdéle zůstávali v páru velcí samci, nejméně malí, s výjimkou několika extrémů patrných na Obr. 2 (případy, kdy se dostali do amplexu jako první a byli schopni se udržet). Průměrná doba strávená v amplexu je u vyššího poměru pohlaví nepatrně menší, což dokládá zvýšenou intenzitu kompetice. Tento vliv by byl patrnější při rozlišování jedinců stejné kategorie u vyššího OSR. Vyšší intenzita kompetice však neznamenal významnou změnu v době strávené v amplexu mezi jednotlivými kategoriemi (interakce kategorie a OSR významná nebyla). Čas utvoření konečného páru mohl

lépe ilustrovat intenzitu kompetice při různých poměrech pohlaví, tento vliv se však neprokázal.

Celkově měli největší výhodu při vytěšňování velcí samci. Omezení síly úchopu by mělo na velké i malé samce působit stejně (Han et al., 2010; Lu et al., 2010), jedna z hlavních příčin úspěšnosti vytěšňování – aktivita, je u velkých samců vyšší. To naznačuje nerovnoměrnost vztahu velikosti a úspěšnosti vytěšňování ve prospěch velkých samců a větší působení fyzických omezení na samce malé. Je také možné, že velcí samci nedorůstají takových velikostí, aby na ně limitace působily stejně účinně. Možným evolučním důsledkem by tedy bylo zvětšování celkové velikosti jedinců, až do stavu, kdy se působení limitací vyrovná. Navzdory předpokladům o vyšším působení fyzických limitací při vyšším OSR, byli střední, „ideální“, samci aktivnější a úspěšnější při nižším OSR. Rovněž byli při nižším OSR méně vytěšňováni. Znamenalo by to vyšší pravděpodobnost asortativního párování podle velikosti v prostředí s běžným poměrem pohlaví, což se také rozchází s původními předpoklady. Je možné, ač nepravděpodobné, že tuto skutečnost způsobilo nesprávné rozřazení do kategorií, či jejich malý počet.

Závěr

Fyzická omezení působila v tomto případě intenzivněji na samce menších rozměrů. Samci největší velikostní kategorie zřejmě dohánějí svou menší kompatibilitu se samicí vyšší aktivitou. Selektce partnerů v reálném prostředí tedy působí jinak, než by vyplývalo pouze z fyzických limitací amplexu. Nerovnoměrnost působení fyzických limitací může být rovněž jedním z „šumivých elementů“, které způsobují nízké korelační koeficienty při prokazování asortativního párování podle velikosti. Změna poměru pohlaví na místě rozmnožování je pravděpodobně doprovázena změnou strategií samců různých velikostních kategorií. Počet vytěšnění ani doba strávená v amplexu však na OSR přímo závislá není.

Použitá literatura

- Arak, A. 1983. Male-male competition and mate choice in anuran amphibians. In P. Bateson (Ed.), *Mate choice* (pp. 181–210). Cambridge University Press, UK.
- Brown, W. 1993. The cause of size-assortative mating in the leaf beetle *Trirhabda canadensis* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*.
- Crespi, B. J. 1989. Causes of assortative mating in arthropods. *Animal Behaviour*, 38: 980–1000.
- Davies, N. B., & Halliday, T. R. 1977. Optimal mate selection in the toad *Bufo bufo*. *Nature*, 269: 56–58.
- Davies, N. B., & Halliday, T. R. 1978. Deep croaks and fighting assessment in toads *Bufo bufo*. *Nature*, 274: 683–685.
- Elmberg, J. 1987. Random mating in a boreal population of European common frogs *Rana temporaria*. *Ecography*, 10: 193–195.
- Gramapurohit, N. P., & Radder, R. S. 2012. Mating Pattern, Spawning Behavior, and Sexual Size Dimorphism in the Tropical Toad *Bufo melanostictus* (Schn.). *Journal of Herpetology*, 46: 412–416.
- Han, C. S., Jablonski, P. G., Kim, B., & Park, F. C. 2010. Size-assortative mating and sexual size dimorphism are predictable from simple mechanics of mate-grasping behavior. *BMC Evolutionary Biology*, 10: 359.
- Chajma, P. 2012. Příčiny a hodnocení asortativního párování podle velikosti u obojživelníků. Bakalářská práce, Dep.: Katedra ekologie FŽP ČZU v Praze. Nepublikováno.
- Kovář, R. 1999. Reprodukční strategie ropuchy obecné *Bufo bufo*. Disertační práce, Dep.: Katedra ekologie FŽP ČZU v Praze. Nepublikováno.
- Kvarnemo, C., & Ahnesjö, I. 2002. Operational sex ratios and mating competition. In I. C. W. Hardy (Ed.), *Sex ratios: concepts and research methods* (pp. 366–382). Cambridge University Press.
- Lamb, T. 1984. Amplexus displacement in the southern toad, *Bufo terrestris*. *Copeia*, 1984: 1023–1025.
- Lee, J., & Park, D. 2009. Effects of body size, operational sex ratio, and age on pairing by the Asian toad, *Bufo stejnegeri*. *Zoological Studies*, 48: 334–342.
- Lewontin, R., Kirk, D., & Crow, J. 1968. Selective mating, assortative mating, and inbreeding: definitions and implications. *Eugenics Quart*, 141–143.

- Lu, X., Chen, W., Zhang, L., & Ma, X. 2010. Mechanical constraint on size-assortative pairing success in a temperate frog: An experimental approach. *Behavioural Processes*, 85: 181–184.
- Lu, X., Ma, X., Li, Y., & Fan, L. 2008. Breeding behavior and mating system in relation to body size in *Rana chensinensis*, a temperate frog endemic to northern China. *Journal of Ethology*, 27: 391–400.
- Marco, a, Kiesecker, J., Chivers, D., & Blaustein, A. 1998. Sex recognition and mate choice by male western toads, *Bufo boreas*. *Animal Behaviour*, 55: 1631–1635.
- Otronen, M. 1997. Mating behaviour and sexual size dimorphism in *Scathophaga inquinata*, 241–246.
- R Core Team. 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Tejedo, M. 1988. Fighting for females in the toad *Bufo calamita* is affected by the operational sex ratio. *Animal Behaviour*, 36: 1765–1769.
- Vojar, J., Kopecký, O., Puš, V., Chajma, P. & Šálek, M. The effect of sex ratio and mate availability on size-assortative mating in explosively breeding anurans (in prep.).
- Wells, K. D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*, 25: 666–693.
- Wells, K. D. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press.

Příloha č. 3: The Effect of Sex Ratio and Mate Availability on Size-assortative Mating in Explosively Breeding Anurans

Rukopis odborného článku, který sice nevychází z výsledků této práce, řeší ale podobnou tematiku. Na jeho tvorbě jsem se podílel hlavně při přepracování rukopisu a můj podíl reflektuje pořadí, v jakém jsem uveden jako autor. V současné době je těsně před odesláním do časopisu Journal of Herpetology.

JOURNAL OF HERPETOLOGY

The Effect of Sex Ratio and Mate Availability on Size-assortative Mating in Explosively Breeding Anurans

JIŘÍ VOJAR^{1,2}, OLDŘICH KOPECKÝ³, VLADIMÍR PUŠ¹, PETR CHAJMA¹ AND MIROSLAV E.
ŠÁLEK¹

¹ *Department of Ecology, Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, Prague CZ 16521, Czech Republic*

² *Corresponding author. E-mail: vojar@fzp.czu.cz*

³ *Department of Zoology and Fish Farming, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 957, Prague CZ 165 21, Czech Republic*

Abstract.—Size-assortative mating (SAM) is a widespread phenomenon, closely related to individual fitness. It has been usually detected by using the statistical significance of the correlation between the body sizes of males and females in pairs. In our study we examined the appearance of SAM and the effect of sex ratio and mate availability on SAM in wild populations of two explosively breeding anurans, the common frog, *Rana temporaria*, and the common toad, *Bufo bufo*. Though the body lengths of the paired males and females correlated positively in most of the frog samples, the coefficients of determination explained only small proportions of the variation in this size relationship. Increasing male-male competition in our study, assessed via the male-biased operational sex ratio (OSR), resulted in a stronger correlation in frogs only. However, multiple comparisons among the correlation coefficients showed non-significant differences in both species. The body lengths of males and females decreased similarly during the reproduction period in frog but not in toad and their body sizes covaried in time.

Keywords: *Bufo bufo*; Correlation; Explosive breeders; Male-male competition; Nonrandom mating; OSR; *Rana temporaria*; Sexual selection

Nonrandom mating pattern has been found in many populations of amphibian species, including anurans (e.g. Arak, 1983; Halliday and Tejedo, 1995; Bionda et al., 2011; Gramapurohit and Radder, 2012), as a consequence of mate choice or competition for mates (Andersson, 1994). Nevertheless, different causes of nonrandom mating play the role in prolonged and explosive breeding anurans. In prolonged breeders, where the reproduction period takes off about several months, females choice for bigger males with better territories. It leads to the size-dependent mating pattern, and larger than average-sized males usually achieve the higher reproductive success (Wells 1977; Howard, 1978; Arak, 1983; Sullivan, 1986).

On the other hand, pairing in explosive breeders has been considered as a result of male-male competition rather than female choice, because females have limited opportunities to choose potential mates among competitive males (Wells, 1977; Davies and Halliday, 1979; Arak, 1983). Mating and spawning take there only a few hours or days, when males struggle for females and often attack paired males, attempting to dislodge rivals from females and adopt their positions (e.g., Davies and Halliday, 1978; Gittins et al., 1980a; Lu et al., 2008; Greene and Funk, 2009). Only size-corresponding male (in relation to the female) can resist take-overs by other males under intense male-male competition (Wells, 1979; Arak, 1983). Such mating pattern, where body size of males and females correlate in pairs, is well known as size-assortative mating (SAM), the most documented nonrandom mating pattern in animals (Andersson, 1994). The SAM increases species fitness (Burley, 1983), because pairs consisting of the partners well matched for size have also higher proportion of fertilized eggs (Davies and Halliday, 1977; Bastos and Haddad, 1996).

The intensity of competition for mates in explosive breeders varies in time and space (Andersson, 1994; Wells, 2007), particularly due to changes in operational sex ratio

(OSR, the ratio of sexually competing males to fertilizable females) (Emlen and Oring, 1977; Kvarnemo and Ahnesjö, 1996; Reynolds, 1996). It has been shown that an increasing male-biased OSR leads to a more intensive male-male competition (Tejedo, 1988; Höglund, 1989; Boll and Linsenmair, 1998; Lee and Park, 2009). If only pairs consisting of male and female well matched for size can resist take-overs by other males, then the increasing OSR and male-male competition should enhance the intensity of SAM, expressed as the tightness of correlation between body size of males and females in pairs (Wells 1979; Arak 1983). However, only a few studies have investigated the effect of OSR on intensity of SAM in explosively breeding anurans (Arak, 1982; Elmberg, 1991; Yu and Lu, 2010). Furthermore, none of them analyzed the statistical differences among the correlation coefficients obtained from samples with different OSR. Instead, these studies compared the levels of significances, which in fact do not reflect the strength of the correlations but simply predicate that the relationship exists, even if the correlation is weak (e.g., when the analyzed samples are large) (Cooper and Hedges, 1994; Bishara and Hittner, 2012).

Furthermore, some incidental effects, such as size-related pattern of arriving at a breeding pond, can influence the correlation between body size of males and females in pairs (Flindt and Hemmer, 1968), well known as the mate availability hypothesis (Crespi, 1989). For instance, if both large males and large females arrive earlier than smaller individuals at a breeding pond, the correlation may be date-biased. No attention has been given to this potential cause of SAM in amphibians, though it has been studied in other species, particularly in invertebrates (Crespi, 1989; Rowe and Arnqvist, 1996; Harari et al., 1999; Urfi, 2011).

Therefore, we examined the effect of different OSR on SAM and tested mate availability hypothesis in wild populations of the most common explosively breeding

European anurans, the common frog (*Rana temporaria*) and the common toad (*Bufo bufo*).

MATERIALS AND METHODS

Study Area.—The study was carried out at Nový Tuchoraz pond (1.37 ha), near Český Brod, Central Bohemia, Czech Republic (50°03'N, 14°51'E, 210 m a.s.l.). The pond had a permanent water column during the field work, with a maximum water depth of 1.1 m. Emergent vegetation covering 25% of the water surface was concentrated on shallow (mostly 0.6 m deep) parts of the pond, which also attracted most of the individuals in the two anuran populations under study here.

Sampling of Anurans.—Both amplexant and single anurans were captured daily throughout the reproduction season from March to April 2004. Netting was performed using modified circle landing-nets until all observed frogs were caught. Pairs and singles were placed separately into plastic tanks with shallow water for a short period before measuring and marking. In total, we sampled 1,013 frogs (460 single males, 83 single females and 235 pairs) and 2,330 toads (1,560 single males, 16 single females and 377 pairs). The snout-vent length (SVL) was measured by a plastic ruler to the nearest mm. All firstly captured anurans were uniformly marked by toe-clipping of only the last third of the outer phalange, wiped with alcohol, kept for several minutes in plastic tanks, and finally released at the site of capture. All marked anurans behaved normally after releasing, so we assume that toe-clipping did not have any harmful impact on their breeding activity. Only adults were included in the study.

The breeding season of the common frog lasted 15 days (from 20 March to 3 April). However, 93% of paired individuals and 86% of singles were captured during short period of four successive days between 30 March and 2 April (the main reproduction season, MRS). The breeding season of the common toad was much longer (33 days, between 20 March and 21 April) with the six-day period (from 3 to 8 April) of the MRS, when 82% of pairs and 75% of singles were sampled. The OSR was expressed in both species for each sampling day of the MRS.

Data Analysis.—The differences in the numbers of adult males and females (OSR) among sampling days of the MRS were analyzed by chi-squared test of homogeneity. To compare OSRs during MRS between frogs and toads, we used non-parametric Wilcoxon two sample test. Because of normal SVL distribution in all samples of both species, we examined the existence of SAM by Pearson's correlation coefficient. For each sampling day of the MRS, we calculated the sample correlation coefficient between SVL of males and females in pairs, r , and corresponding 95% confidence intervals for population correlation coefficient, ρ , using the Fisher z -transformation (Zar, 1984). Fisher z -transformation was also used for comparison of sample correlation coefficients within MRS of particular species.

To test mate availability hypothesis, as the first step, we used simple linear regression with SVL as response variable, and the number of days from the beginning of the breeding season as explanatory variable. Separate linear regression was performed for each sex of both species, taking the whole breeding season into account, but with the exclusion of recaptured individuals. Afterwards, we compared sample regression coefficients, b , i.e. slopes of regression lines for males and females by test of parallelism of two regression lines. All statistical analyses were performed in R statistical software, version 2.15.0 (R Development Core Team 2009).

RESULTS

Sex Ratio and Size-assortative Mating.—The OSR was always skewed in favour of males and varied significantly during the MRS from 1.41 to 3.44 in frogs (Table 1a; $\chi^2_3 = 19.56$, $P < 0.001$) and from 3.31 to 12.22 in toads (Table 1b; $\chi^2_5 = 32.32$, $P < 0.001$). The OSRs in the common toad were significantly greater than in the common frog during the MRS ($W = 1$, $P = 0.02$). The sample correlation coefficients, calculated for each sampling day of the MRS, were positive and significant in three of four days with the higher OSR in the common frog (Table 1a), but were not significant in any of six days in the common toad (Table 1b). Furthermore, we did not find significant differences among sample correlation coefficients either in frogs or in toads (frogs: $P = 0.19$; toads: $P = 0.99$).

Mate Availability Hypothesis.—The body size of frogs and toads arriving at breeding pond decreased during reproduction period (Fig. 1, 2). All regression coefficients, i.e. for males and females of both species from the relationship between body length and arrival date, were significant (Table 2). The slopes of regression lines for males and females did not differ in frogs ($t_{1090} = -1.65$, $P = 0.1$), but significantly differed in toads ($t_{2327} = -2.72$, $P = 0.007$). Therefore, we accepted mate availability hypothesis only for the common frog.

DISCUSSION

The Variability in Presence of SAM.—We found differences in the presence of SAM between the common frog (significant correlation in most of day-samples within MRS) and the common toad (none significant correlation). Furthermore, the presence

of SAM varied also within the population of the common frog, and occurred in three of four day-samples with the higher OSR.

In explosive breeders, great variability in mating patterns has been observed among species (Duellman and Trueb, 1994; Sullivan et al., 1995; Wells, 2007), among populations of the same species (Davies and Halliday, 1977; Gittins et al., 1980a) or even in time within the same population (Olson et al., 1986; Wagner and Sullivan, 1995). Apart from the effect of species-specific ecology, the variability within species or population in the presence and intensity of SAM is affected by the difference in population densities and mainly in OSRs (e.g., Emlen and Oring, 1977; Tejedo, 1988; Boll and Linsenmair, 1998; Lee and Park, 2009). Due to short breeding period, OSR and population density are more susceptible to changes in environmental conditions. Hence, explosive breeders are more prone to variable mating pattern than prolonged breeders (Olson et al., 1986; Briggs, 2008), and different results on the presence and intensity of SAM have been found here. In the common frog and the common toad, SAM has been observed in some populations (frogs: Arak, 1982; Vieites et al., 2004; toads: Davies and Halliday, 1977), while not in others (frogs: Arak, 1983; Elmberg, 1987, 1991; Ryser, 1989; toads: Arak, 1983; Marco and Lizana, 2002).

Despite the significant positive correlation in most of the frog samples, the coefficients of determination, R^2 , were generally low here, explained only a little of the (co)variance of male-female body size (from 1% to 25% in frogs and from 1% to 5% in toads, Table 1 a, b). Shine et al. (2001) have already pointed out that there is great 'noise' in such relationships. Because the significance of the correlation is not a measure of the tightness of the correlation and depends not only on the value of the correlation coefficient but also on the sample size, we should not be satisfied merely

with a significant correlation. For instance, a very weak correlation can provide a significant result if the sample size is large enough and, conversely, a relatively high correlation could not be revealed due to small sample size (Fisher, 1921; Zar, 1984). This implies that we must handle the results with care and consider the amount of explained variation. It follows from the previous discussion that not only variability in the environmental conditions and demographic parameters but also misleading interpretation of correlation results may be the reason for ambiguous findings on the existence of SAM in particular studies.

The Effect of OSR on Size-assortative Mating.—Though the OSRs were higher and varied greatly in toads, we detected positive correlation between body length of males and females in pairs in frogs only. Furthermore, sample correlation coefficients reflected increasing OSR only in frogs, but not in toads (Table 1a, b). However, multiple comparisons among the correlation coefficients within MRS showed non-significant differences in both frog and toad samples.

Although both the common frog and the common toad are typical representatives of explosive breeding anurans (Arak, 1983), the differences in the existence and intensity of SAM related to OSR probably reflect their species-specific ecology. For instance, the length of MRS in frogs was shorter than in toads (four or six days, respectively) in our study. In case of the total length of breeding season, the difference was even much greater (15 vs. 33 days). It is consistent with findings of some authors (Arak, 1983; Elmberg, 1990). The length of breeding season affects population density and OSR at a breeding site. During the shorter reproduction period, the occurrence of reproductive active females is concentrated at a breeding site only in a few days. It could lead to the relatively high daily proportions of females and decline of OSR. On the other hand, during the longer reproduction

period of the common toad, there were probably fewer females at the breeding site on any one day. This is reflected in the heavily male-biased OSR (Emlen and Oring, 1977; Arak, 1983). The OSR is usually higher in the common toad, between 2 and 8 (Davies and Halliday, 1979; Reading, 2001; Brede and Beebee, 2006), than in the common frog (from 1 to 7, Elmberg, 1990, 1991). Hence, intensive male-male competition may naturally start at lower OSRs in frogs than in toads due to the shorter breeding period. Furthermore, the intensity of the competition could be also affected by male population densities or species-specific locomotion abilities and overall activity (Eshel, 1979; Crowley et al., 1991; Jirotkul, 1999).

Within a certain anuran explosive breeder, the combination of high male density and the relatively high proportion of females at a breeding site favours active male searching and male-male competition (Arak, 1983). It has been found that the higher is OSR the more intensive sexual selection through male-male competition occurs (Arak, 1983; Tejedo, 1988; Höglund, 1989; Elmberg, 1991; Sztatecsny et al., 2006; Lee and Park, 2009).

A few studies have analyzed the effect of different OSRs on the significance of correlation or the presence of SAM, respectively, in amphibians (Arak, 1982; Elmberg, 1991; Yu and Lu, 2010).

Mate Availability Hypothesis.—The SVL of frogs and toads arriving at the breeding pond decreased significantly during the reproduction period (Fig. 1, Table 2). Such an arriving pattern can influence the correlation of body sizes of sexes in pairs or intensity of SAM, respectively (Crespi, 1989). However, the regression slopes between males and females decreased similarly in frogs only, thus confirming only here mate availability hypothesis.

Much attention has been paid to arriving pattern of the two species, particularly in males. To compare our results connected with mere arriving pattern of the two species, they correspond with most of the available studies on males of the common frog (Elmberg, 1990) and also of the common toad (Loman and Madsen, 1986). Gittins et al. (1980b) revealed the opposite tendency in male toads and no such relationship in females. A four-year study on the common toad produced open-ended results (Kovář, 1999). In *Rana sylvatica* there was a tendency for larger males to arrive earlier (Howard and Kluge 1985). This can be applied also to *Bufo bufo* (Loman and Madsen 1986). There are many attempts to explain each type of arriving pattern for males (Gittins et al., 1980b; Andersson, 1994; Eggert and Guyétant, 2003; Poole and Murphy, 2007), but none for females. Morbey and Ydenberg (2001) stated that larger individuals are probably able to resist the severe weather conditions at the beginning of breeding season better than smaller individuals.

On the other hand bigger males can displace smaller males from amplexus more easily, therefore later arrival on the reproductive site does not threaten their reproductive success so much as in smaller males. But energy required for ejection of amplexed male is probably higher than cost of earlier arriving at the breeding site.

However, no studies have addressed to arriving pattern in relation to mate availability hypothesis, even across all amphibian species. In the studies on other taxa, particularly on invertebrates (Crespi, 1989; Rowe and Arnqvist, 1996; Harari et al., 1999; Urfi, 2011), it has been found that while there was no difference in size between early and late arriving individuals (Harari et al., 1999; Urfi, 2011), there have been other relationships, such as between arrival date and tarsus or clutch size in *Mycteria leucocephala* (Urfi, 2011). Furthermore one of Crespi's (1989) hypothesis, which says that large females are more noticeable (available) than

smaller females may be the case in more frequent mating of large females in Gerridae species (Rowe and Arnqvist, 1996).

However, the only way to separate temporal covariation as the cause of SAM seems to be by a manipulative experiment (Rowe and Arnqvist, 1996).

Acknowledgments.—We thank L. Čuhelová and V. Kos for their great help with the field work, and Robin Healey and G. A. Kirking for useful comments on the manuscript. The study was supported by a grant from the University of Life Sciences (42900/1312/3166).

References

- Andersson, M. 1994. *Sexual Selection*. Princeton University Press, USA.
- Arak, A. 1982. Male-male competition and mate choice in frogs and toads. Ph.D. thesis, University of Cambridge, UK.
- Arak, A. 1983. Male-male competition and mate choice in anuran amphibians. Pp. 181–210 in P. Bateson (ed.), *Mate Choice*. Cambridge University Press, UK.
- Bastos, R. and C. Haddad. 1996. Breeding activity of the neotropical treefrog *Hyla elegans* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* 30: 355–360.
- Beeching, S.C., and A.B. Hopp. 1999. Male mate preference and size-assortative pairing in the convict cichlid. *Journal of Fish Biology* 55:1001–1008.
- Bierbach, D., M. Schulte, N. Herrmann, M. Tobler, S. Stadler, C.T. Jung, B. Kunkel, R. Riesch, S. Klaus, M. Ziege, J.R. Indy, L. Arias-rodriguez, and M. Plath. 2011. Predator-induced changes of female mating preferences: innate and experiential effects. *BMC Evolutionary Biology* 11:190.
- Bionda, C.L., R.C. Lajmanovich, N.E. Salas, A.L. Martino, and E. Tada. 2011. Reproductive Ecology of the Common South American Toad *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae): Reproductive Effort, Clutch Size, Fecundity, and Mate Selection. *Journal of Herpetology* 45:261–264.
- Bishara, A.J., and J.B. Hittner. 2012. Testing the significance of a correlation with nonnormal data: Comparison of Pearson, Spearman, transformation, and resampling approaches. *Psychological Methods* 17:399–417.

Boll, S., and K.E. Linsenmair. 1998. Size-dependent male reproductive success and size-assortative mating in the midwife toad *Alytes obstetricans*. *Amphibia-Reptilia* 19:75–89.

Brede, E.G., and T.J.C. Beebee. 2006. Large variations in the ratio of effective breeding and census population sizes between two species of pond-breeding anurans. *Biological Journal of the Linnean Society* 89:365–372.

Budaev, S.V., D.D. Zworykin, and A.D. Mochek. 1999. Individual differences in parental care and behaviour profile in the convict cichlid: a correlation study. *Animal Behaviour* 58:195–202.

Burley, N. 1983. The meaning of assortative mating. *Ethology and Sociobiology* 4:191–203.

Cooper, H.M., and L.V. Hedges. 1994. *The Handbook of Research Synthesis*. Russell Sage Foundation, USA.

Crespi, B.J. 1989. Causes of assortative mating in arthropods. *Animal Behaviour* 38:980–1000.

Crowley, P.H., S.E. Travers, M.C. Linton, S.L. Cohn, A. Sih, and R.C. Sargent. 1991. Mate density, predation risk, and the seasonal sequence of mate choices: a dynamic game. *American Naturalist* 137:567–596.

Davies, N.B., and T.R. Halliday. 1977. Optimal mate selection in the toad *Bufo bufo*. *Nature* 269:56–58.

Davies, N.B., and T.R. Halliday. 1978. Deep croaks and fighting assessment in toads *Bufo bufo*. *Nature* 274:683–685.

Davies, N.B., and T.R. Halliday. 1979. Competitive mate searching in male common toads, *Bufo bufo*. *Animal Behaviour* 27:1253–1267.

Eggert, Ch., and R. Guyétant. 2003. Reproductive behaviour of spadefoot toads (*Pelobates fuscus*): daily sex ratios and males' tactics, ages, and physical condition. *Canadian Journal of Zoology* 81:46–51.

Elmberg, J. 1987. Random mating in a boreal population of European common frogs *Rana temporaria*. *Holarctic Ecology* 10:193–195.

Elmberg, J. 1990. Long-term survival, length of breeding season and operational sex ratio in a boreal population of common frogs, *Rana temporaria*. *Canadian Journal of Zoology* 68:121–127.

Elmberg, J. 1991. Factors affecting male yearly mating success in the common frog, *Rana temporaria*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 28:125–131.

Emlen, S.T., and L.W. Oring. 1977. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science* 197:215–223.

Eshel, I. 1979. Sexual selection, population density, and availability of mates. *Theoretical Population Biology* 16:301–314.

Ferrer, M., and V. Penteriani. 2003. A process of pair formation leading to assortative mating: passive age-assortative mating by habitat. *Animal Behaviour* 66:137–143.

Fisher, R.A. 1921. On the “Probable Error” of a Coefficient of Correlation Deduced from a Small Sample. *Metron* 1:3–32.

Flindt, R., and H. Hemmer. 1968. Beobachtungen zur Dynamik einer Population von *Bufo bufo* und *Bufo calamita*. Zoologische Jahrbücher (Systematik) 94:162–186.

Freeberg, T.M. 1996. Assortative mating in captive cowbirds is predicted by social experience. *Animal Behaviour* 52:1129–1142.

Gittins, S.P., A.G. Parker, and F.M. Slater. 1980a. Mate assortment in the common toad (*Bufo bufo*). *Journal of Natural History* 14:663–668.

Gittins, S.P., A.G. Parker, and F.M. Slater. 1980b. Population characteristics of the common toad (*Bufo bufo*) visiting a breed site in Mid-Wales. *Journal of Animal Ecology* 49:161–173.

Gramapurohit, N.P., and R.S. Radder. 2012. Mating Pattern, Spawning Behavior, and Sexual Size Dimorphism in the Tropical Toad *Bufo melanostictus* (Schn.). *Journal of Herpetology* 46:412–416.

Greene, A.E., and W.C. Funk. 2009. Sexual Selection on Morphology in an Explosive Breeding Amphibian, the Columbia Spotted Frog (*Rana luteiventris*). *Journal of Herpetology* 43:244–251.

Halliday, T.R., and M. Tejedo. 1995. Intrasexual Selection and Alternative Mating Behaviour. Pp. 419–468 in H. Heatwole, and B. K. Sullivan (Eds.), *Amphibian Biology. Vol.2. Social Behaviour*. Surrey Beatty and Sons, UK.

Harari, A.R., A.M. Handler, and P.J. Landolt. 1999. Size-assortative mating, male choice and female choice in the curculionid beetle *Diaprepes abbreviatus*. *Animal Behaviour* 58:1191–1200.

Helfenstein, F., E. Danchin, and R.H. Wagner. 2004. Assortative mating and sexual size dimorphism in black-legged kittiwakes. *Waterbirds* 27:350–354.

Höglund, J. 1989. Pairing and spawning patterns in the common toad, *Bufo bufo* – the effects of sex-ratios and the time available for male-male competition. *Animal Behaviour* 38:423–429.

Howard, R.D. 1978: The evolution of mating strategies in bullfrogs, *Rana catesbeiana*. *Evolution* 32:850–871.

Jirotkul, M. 1999. Population density influence male-male competition in guppies. *Animal Behaviour* 58:1169–1175.

Jones, T.M., G. Arnqvist, K.B. McNamara, and M.A. Elgar. 2012. Size-assortative pairing across three developmental stages in the Zeus bug, *Phoreticovelia disparata*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 66:995–1003.

Kovář, R. 1999. Reproduction strategy of the common toad (*Bufo bufo*). (In Czech). Ph.D. thesis, Czech University of Life Sciences, Czech Republic.

Kvarnemo, Ch., and I. Ahnesjö. 1996. The dynamics of operational sex ratios and competition for mates. *Trends in Ecology and Evolution* 11:404–408.

Lee, J., and D. Park. 2009. Effects of body size, operational sex ratio, and age on pairing by the Asian toad, *Bufo stejnegeri*. *Zoological Studies* 48:334–342.

Loman, J., and T. Madsen. 1986: Reproductive tactics of large and small male toads *Bufo bufo*. *Oikos* 46:57–62.

Lu, X., X. Ma, Y. Li, and L. Fan. 2008. Breeding behavior and mating system in relation to body size in *Rana chensinensis*, a temperate frog endemic to northern China. *Journal of Ethology* 27:391–400.

Marco, A., and M. Lizana. 2002. The absence of species and sex recognition during mate search by male common toads, *Bufo bufo*. *Ethology Ecology & Evolution* 14:1–8.

Marco, A., J.M. Kiesecker, D.P. Chivers, and A.R. Blaustein. 1998. Sex recognition and mate choice by male western toads, *Bufo boreas*. *Animal Behaviour* 55:1631–1635.

Mills, S.C., and J.D. Reynolds. 2003. Operational sex ratio and alternative reproductive behaviours in the European bitterling, *Rhodeus sericeus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 54:98–104.

Morbey, Y.E., and R.C. Ydenberg. 2001. Protandrous arrival timing to breeding areas: a review. *Ecology Letters* 4:663–673.

Olson, D.H., A.R. Blaustein, and R.K. O’Hara. 1986. Mating pattern variability among western toad (*Bufo boreas*) populations. *Oecologia* 70:351–356.

Poole, K.G., and Ch.G. Murphy. 2007. Preferences of female barking treefrogs, *Hyla gratiosa*, for larger males: univariate and composite tests. *Animal Behaviour* 73:513–524.

R Development Core Team. 2009. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Austria.

Reading, C.J. 2001. Non-random pairing with respect to past breeding experience in the common toad (*Bufo bufo*). *Journal of Zoology* 255:511–518.

Reynolds, J.D. 1996. Animal breeding systems. *Trends in Ecology and Evolution* 11:68–72.

Ridley, M. 1983. *The Explanation of Organic Diversity*. Clarendon Press, UK.

Rintamäki, P.T., A. Lundberg, R.V. Alatalo, and J. Höglund. 1998. Assortative mating and female clutch investment in black grouse. *Animal Behaviour* 56:1399–1403.

Rowe, L., and G. Arnqvist. 1996. Analysis of the causal components of assortative mating in water striders. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 38:279–286.

Ryser, J. 1989. The breeding migration and mating system of a Swiss population of the common frog *Rana temporaria*. *Amphibia-Reptilia* 10:13–21.

Santos, P.S.C., J.A. Schinemann, J. Gabardo, and M.D. Bicalho. 2005. New evidence that the MHC influence odor perception in humans: a study with 58 Southern Brazilian students. *Hormones and Behaviour* 47:384–388.

Shine, R., D. O'Connor, M.P. Lemaster, and R.T. Mason. 2001. Pick on someone your own size: ontogenetic shifts in mate choice by male garter snakes result in size-assortative mating. *Animal Behaviour* 61:1133–1141.

Sokal, R.R., and F.J. Rohlf. 1981. *Biometry. The Principles and Practise of Statistics in Biological Research*. 2nd edn. W. H. Freeman and Company, USA.

Sullivan, B.K. 1986. Intra-Populational Variation in the Intensity of Sexual Selection in Breeding Aggregations of Woodhouse's Toad (*Bufo woodhousei*). *Journal of Herpetology* 20:88–90.

Sztatecsny, M., R. Jehle, T. Burke, and W. Hödl. 2006. Female polyandry under male harassment: the case of the common toad (*Bufo bufo*). *Journal of Zoology* 270:517–522.

Tejedo, M. 1988. Fighting for females in the toad *Bufo calamita* is affected by the operational sex ratio. *Animal Behaviour* 36:1765–1769.

Urfi, A.J. 2011. *The Painted Stork*. Springer New York, USA.

Vieites, D.R., S. Nieto-Roman, M. Barluenga, A. Palanca, M. Vences, and A. Meyer. 2004. Post-mating clutch piracy in an amphibian. *Nature* 431:305–308.

Wells, K.D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour* 25:666–693.

Wells, K.D. 1979. Reproductive behaviour and male mating success in a neotropical toad, *Bufo typhonius*. *Biotropica* 11:301–307.

Wilkinson, G. 1987. Equilibrium analysis of sexual selection in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 41:11–21.

Yu, T.L., and X. Lu. 2010. Mating patterns of Minshan's toad (*Bufo minshanicus*) from three populations along an altitudinal gradient. *Zoological Science* 27:856–860.

Zar, J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*. 2nd edn. Prentice-Hall, Inc, USA.

Table 1 a, b.—Examination of size-assortative mating in the common frog and the common toad during the main part of the breeding season (MRS).

n_m – the total number of males, n_f – the total number of females, OSR – operational sex ratio measured as total number of males to total number of females on each sampling day during MRS, n_p – number of pairs, r – correlation coefficients, 95% CI for ρ – 95% confidence limits for population correlation coefficient ρ , R^2 – coefficients of determination, t – test statistic, P – significance of correlation.

(a) The common frog									
Date	n_m	n_f	OSR	n_p	r	95% CI for ρ	R^2	t	P
30 March	109	58	1.88	41	0.34	0.04–0.59	0.12	2.27	0.029
31 March	111	79	1.41	62	0.11	–0.14–0.35	0.01	0.86	0.39
1 April	212	96	2.21	75	0.36	0.15–0.54	0.13	3.31	0.001
2 April	189	55	3.44	39	0.50	0.22–0.70	0.25	3.54	0.001

(b)

The common toad

Date	n_m	n_f	OSR	n_p	r	95 % CI for ρ	R^2	t	P
3 April	220	18	12.22	16	0.22	-0.31-0.65	0.05	0.85	0.41
4 April	298	90	3.31	87	0.12	-0.09-0.32	0.01	-1.08	0.28
5 April	192	50	3.84	48	0.17	-0.12-0.43	0.03	1.18	0.24
6 April	285	60	4.75	58	0.21	-0.05-0.44	0.04	1.63	0.11
7 April	259	69	3.75	67	0.14	-0.10-0.37	0.02	1.12	0.27
8 April	225	34	6.62	33	0.23	-0.12-0.53	0.05	1.29	0.21

Table 2.—Results of linear regressions between the body lengths of males and females (response variables) and the number of days from the beginning of the breeding period. Separate regression was computed for each sex and species.

	The common frog			The common toad		
Sex	<i>n</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>n</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Males	695	-4.69	<0.001	1937	-8.47	<0.001
Females	398	-2.12	0.035	393	-2.29	0.023

Fig. 1.—Decreasing of the body size of males / females of *Rana temporaria* in amplexus with number of days since the start of the breeding season

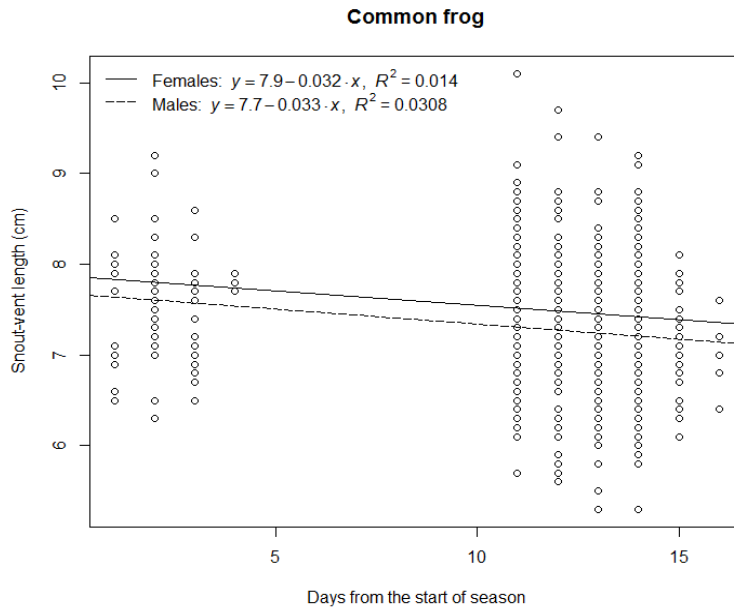


Fig. 2.—Decreasing of the body size of males / females of *Bufo bufo* in amplexus with number of days since the start of the breeding season

