

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI**

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra zoologie**



**Reakce kosa černého na kontinuální proměnlivost ve zbarvení cizích vajec**

Diplomová práce

Autor: **Karel Gern**

T15255 – Tělesná výchova a biologie  
prezenční studium

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

Olomouc 2017

**Prohlášení:**

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

V Olomouci dne

Podpis autora:

## **Poděkování**

Za zapůjčení potřebného vybavení a literatury, nezbytnou pomoc k teoretickému porozumění problematiky i ohledně terénní práce děkuji především vedoucímu mé diplomové práce Tomáši Grimovi. Dále velice děkuji za pomoc při práci v terénu a za poskytnutí pomoci při zpracování dat Danielu Hanleymu a za rady při statistickém zpracování děkuji Peteru Samašovi. Tato diplomová práce vznikla s podporou IGA grantů IGA\_PrF\_2016\_017 (hlavní řešitel: prof. Grim) a IGA\_PrF\_2017\_023 (hlavní řešitel: dr. Kundra).

# BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

**Jméno a příjmení autora:** Karel Gern

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

**Typ práce:** Diplomová práce

**Pracoviště:** Katedra zoologie

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

**Rok obhajoby práce:** 2017

## Abstrakt

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

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

**Počet stran:** 25

**Počet příloh:** 1

**Jazyk:** český, anglický

# **BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION**

**Autor's first name and surname:** Karel Gern

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

**Type of thesis:** Diploma thesis

**Department:** Department of zoology

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

**The year of presentation:** 2017

## **Abstract**

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

**Key words:** blackbird, brood parasitism, egg rejection, hue, saturation, *Turdus merula*

**Number of pages:** 25

**Number of supplementary materials:** 1

**Language:** Czech, English

## Obsah

<b>1. ÚVOD</b>	<b>1</b>
<b>2. CÍL</b>	<b>2</b>
<b>3. LITERÁRNÍ REŠERŠE</b>	<b>3</b>
<b>3.1. KOEVOLUCE A ZÁVODY VE ZBROJENÍ</b>	3
<b>3.2. HNÍZDNÍ PARAZITIZMUS</b>	3
<b>3.3. KOS ČERNÝ</b>	4
<b>3.4. OBRANNÉ CHOVÁNÍ HOSTITELSKÝCH DRUHŮ</b>	5
3.4.1. <i>Obranné mechanismy</i>	5
3.4.2. <i>Obranné problémy</i>	5
3.4.3. <i>Vlastnosti vejce</i>	6
<b>3.5. VÝZKUMNÉ METODY V OBLASTI HNÍZDNÍHO PARAZITIZMU</b>	6
3.5.1. <i>Experimentální modely</i>	6
3.5.2. <i>Počátky výzkumů hnízdniho parazitizmu</i>	7
3.5.3. <i>Nový pohled na využití modelů vajec v 90. letech 20 století</i>	7
3.5.4. <i>Spektrometr aneb průlom ve výzkumných metodách</i>	8
3.5.5. <i>Vizuální modelování v trojrozměrném prostoru</i>	12
<b>4. MATERIÁLY A METODY</b>	<b>14</b>
<b>4.1 MODELOVÁ VEJCE A BAREVNÁ ŠABLONA</b>	14
<b>4.2 MĚŘENÍ BAREV</b>	16
<b>4.3 TERÉNNÍ VÝZKUM</b>	16
<b>4.4 METODY VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ</b>	18
<b>5. VÝSLEDKY</b>	<b>20</b>
<b>6. DISKUZE</b>	<b>22</b>
<b>7. ZÁVĚR</b>	<b>24</b>
<b>8. LITERATURA</b>	<b>25</b>
<b>9. DIDAKTICKÁ SLOŽKA</b>	<b>32</b>
<b>10. PŘÍLOHY</b>	<b>33</b>

# 1. ÚVOD

Jako téma diplomové práce jsem zvolil studium hnízdního parazitizmu u kosa černého (*Turdus merula*). Na základě literárních poznatků jsem provedl studii zaměřenou na odmítavé chování hostitelských samic při použití parazitických modelových vajec různých barev, kdy jsem se snažil zjistit, které barvy mají šanci u hostitelů na přijetí a které barvy tuto šanci nemají.

Experiment jsem provedl ve městě Olomouci. Jako modelový druh pro tuto studii jsem vybral kosa černého, který je jedním z nejlépe urbanizovaných druhů ptáků v Evropě vůbec (Janzen 1980, Evans et al. 2010, 2012), včetně Olomouce (Samaš et al. 2013b). To mi usnadnilo nasbírání dostatečně velkého a reprezentativního vzorku.

V minulosti byla provedena pouze jediná studie zaměřena na výzkum reakce hostitelské samice v závislosti na kontinuální proměnlivosti ve zbarvení parazitických vajec (Hanley et al. 2017). Tato studie však ve svém výzkumu zahrnula pouze necelou část barev viditelného spektra kosa černého a právě nevyužité oblasti tohoto viditelného spektra má studie vyplňuje. Má studie je tedy rozšířením této předešlé studie (Hanley et al. 2017).

Předpokládám, že hostitelé budou mít tendenci přijímat modrozelené barvy vajec tak, že pravděpodobnost odmítnutí parazitického vejce bude vzrůstat se zvyšující se odchylkou odstínu barvy od barev modrozelených (viz Obr. S3 v Hanley et al. 2017). Dále předpokládám, že pravděpodobnost odmítání parazitických vajec se zvýší se zvětšující se sytostí barev.

## **2. CÍL**

Cílem této práce bylo vypracování literární rešerše o výzkumu odmítání parazitických vajec hostitelskou samicí a metody jejich studia.

Cílem experimentální části bylo otestovat, které z barev mají nejvyšší šanci na přijetí hostitelskou samicí a které z nich mají nejvyšší šanci na odmítnutí a tedy vyhození z hnízda.

Cílem této diplomové práce bylo také vypracování – v spolupráci se spoluautory – odborného článku týkajícího se reakce kosa černého na proměnlivé zbarvení parazitických vajec v důsledku hnízdního parazitizmu.



### 3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

#### 3.1. Koevoluce a závody ve zbrojení

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

#### 3.2. Hnízdní parazitizmus

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

o část snůšky nebo o celou svoji snůšku a bude nucen investovat energii do výchovy cizího mláděte (Davies 2000).

### 3.3. Kos černý

Kos černý (Obr. 1.) je jedním z nejméně prostudovaných ptáků v celé Evropě, ale vyskytuje se i mimo ni. Ačkoliv byl kos ještě v 19. stol. plachým druhem, který se zdržoval spíše v lesních oblastech (Partecke et al. 2006), postupem času se stal, jak jsem již výše uvedl, jedním z nejlépe urbanizovaných neboli městu přizpůsobených ptačích druhů s vysokou populační hustotou téměř v celé Evropě (Evans et al. 2010, 2012). Studie provedené na kosovi proběhly v mnoha evropských zemích, mezi které se řadí například Anglie (Magrath 1991), Španělsko (Fernández-Juricic a Tellería 2000, Ibáñez-Álamo a Soler 2010), Portugalsko (Møller et al 2014), Česká republika (Samaš et al. 2013b), Itálie (Møller et al 2014), Nizozemí (Vliet et al. 2009), Německo (Partecke a Gwinner 2006), Norsko (Møller et al 2014), Polsko (Wysocki 2005), Švýcarsko (Bussche et al. 2008) Litva a Estonsko (Evans et al. 2009), ale také mimo Evropu na Novém Zélandu (Hale a Briskie 2007), kam byl kos uměle zavlečen a úspěšně se zde v dnešní době reprodukuje (Samaš et al. 2014). V České republice je jedním z nejlépe dostupných druhů pro studium hnízdního parazitizmu (Grim a Honza 2001, Grim et al. 2011), jelikož jsou jeho hnízda obvykle pro člověka snadno přístupná, například v různých druzích porostů jakými jsou například jehličnaté stromy (např. tis červený) listnaté stromy (např. lípa) nebo keře (např. rododendron, Wysocki 2005).

**Obrázek 1.** Samice kosa černého. Autor: Tomáš Grim.



### 3.4. Obranné chování hostitelských druhů

#### 3.4.1. Obranné mechanismy

Většina hostitelských druhů odmítá alespoň část parazitických vajec, což vede k evoluci mimikry u parazitických vajec (Spottiswoode a Stevens 2010). Hostitelé totiž daleko častěji odmítají cizí vejce, která se liší od jejich vlastních více než jiná cizí vejce, která jsou jim podobnější. To znamená, že pokud hostitel registruje mezi vejci viditelné rozdíly, pak ta která jsou odlišná od ostatních vajec ze snůšky, daleko častěji odmítne. Výrazně odlišná vejce nazýváme nemimetická (angl. non-mimetic; Brooke a Davies 1988, Rutila et al. 2002, Antonov et al. 2006, Spottiswoode a Stevens 2010). Čím více a úspěšněji hostitel odmítá parazitické vejce, tím více a přesněji parazit přizpůsobuje během další evoluce vzhledem svá vejce hostitelovým, čímž se vejce parazita stávají více mimetickými (Brooke a Davies 1988, Stoddard a Stevens 2011).

Aby mohl hostitel odmítnout parazitické vejce, musí nejdříve poznat, která vejce jsou jeho a která cizí (Stevens et al. 2013). Proces rozpoznání může probíhat dvěma způsoby. První možností je odmítnout nejvíce odchylné vejce ze snůšky (angl. rejection by discordancy). Druhou možností je naučit se šablonu (angl. template), jak vlastní vejce vypadá, a na základě této šablony porovnat všechna vejce v hnízdě a odmítnout vejce, které vypadá jinak než vlastní (angl. true egg recognition; Hauber a Sherman 2001). Většina studií se přiklání k strategii založené na šablonách (Victoria 1972, Stokke et al 2007, Lyon 2007). Systém šablon je pro hostitele nákladný (Dukas 1998) a také šablona, kterou si hostitel zapamatuje na základě předešlých hnízdění, nemusí být aktuální pro vejce v současné snůšce (Stevens et al. 2013). Dále může být naučená šablona zkreslená podmínkami prostředí (světlo, stíny, úhel pohledu), které panovaly, když se je samice učila (Stevens et al. 2013).

#### 3.4.2. Obranné problémy

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

sníží šanci na odmítnutí cizího vejce (Stevens et al. 2013).

### 3.4.3. *Vlastnosti vejce*

Ptačí vejce, stejně jako většina přirozených objektů, obsahují svoji vlastní vizuální informaci (Spottiswoode a Stevens 2010). Tato informace se týká vnějšího vzhledu a podává zprávu o aktuálním stavu vejce (Dall et al. 2005). Vnější vzhled vejce zahrnuje jeho velikost, která je důležitá, poněvadž pokud je vejce příliš malé nebo velké, může dojít k odmítnutí, jelikož takové vejce je pro hostitele nápadné jak vizuálně, tak i hmatově (Rothstein 1982, Mason a Rothstein 1986). Dále jsou to skvrny na skořápce (Stoddard a Stevens 2011, Rothstein 1982) a barvy (Feeney et al. 2014), které jsou primárními podněty využívanými hostitelem při rozpoznávání, zda jsou vejce uvnitř hostitelovy snůšky jeho vlastní, nebo parazitická (Feeney et al. 2014). A v neposlední řadě jsou to různé druhy vzorů skořápky (Spottiswoode a Stevens 2010) zahrnující velikost, disperzi, kontrast a variaci barevných mimikry (Polačiková a Grim 2010, Stoddard a Stevens 2010).

## 3.5. Výzkumné metody v oblasti hnízdního parazitizmu

### 3.5.1. *Experimentální modely*

Jednou z osvědčených výzkumných metod, jak lépe pochopit závody ve zbrojení mezi parazity a hostiteli, jsou experimenty s vkládáním cizích vajec do hnízda (např. Brooke a Davies 1988, Rutila et al. 2002, Antonov et al. 2006, Grim et al. 2014, Hanley et al. 2017). Umělé modely vajec mohou být libovolného zbarvení a velikosti. Jedním z nejpoužívanějších v Evropě se stal světle modrý a bezskvrnný „rehčí“ umělý model (Davies 2000). Tento model velikostí a tvarem odpovídá vejcům kukačky, která parazituje rehka zahradního (*Phoenicurus phoenicurus*). Další používaný model je konspecifický model, který se má co nejvíce podobat vlastním hostitelským vejcům (Samaš et al. 2014). Výzkumníci také běžně používají skutečná vejce, ať už od stejného (konspecifické) nebo jiného ptačího druhu, než je druh testovaný (Liang et al. 2016).

Standardní testování reakcí hostitele tedy probíhá tak, že výzkumník vloží cizí vejce do hostitelského hnízda a sleduje, jak hostitel zareaguje. Nejběžnějšími reakcemi jsou akceptování, vyhození cizího vejce nebo opuštění hnízda (Davies a Brooke 1989). Opuštění hnízda ale nemusí být přímou reakcí na parazitismus ve všech případech (Samaš et al. 2014). Může jít o opuštění snůšky z důvodu vyšších životních nákladů, které přesahují například

výskyt potravy v okolí než jaké rodiče očekávali (Székely et al. 1996). Dále to může být také reakce na velký výskyt rušivých elementů v blízkém okolí hnízda či výskyt dravců v okolí hnízda (Ackerman a Eadie 2003, Soler et al. 2015). Při tomto testovacím postupu ovšem nastává situace, kdy se může výzkumník setkat s ptákem, který sedí v hníždě, a musí ho dostat z hnízda pryč. Do této situace se nejčastěji dostává, když samici zastihne v období inkubace (Hanley et al. 2015c). Hanley et al. (2015c) ukázali, že samice kosa černého, které se zdržují v blízkosti hnízda, mohou vidět, jak výzkumník vkládá vejce do hnízda. To způsobuje, že častěji a rychleji odmítají parazitické vejce, než samice, které svědky parazitizmu nebyly. Tedy jakékoliv nepokoje v okolí, ať už způsobené výzkumníkem (Trnka a Prokop 2010) nebo například kukačkou, experimentální kukačkou, mohou vyvolat podezřivé chování hostitelské samice zdržující se v blízkosti hnízda a tím i zvýšenou šanci na odhalení parazitního vejce (Požgayová et al. 2010).

### *3.5.2. Počátky výzkumů hnízdního parazitizmu*

Téměř všechny studie zabývající se problematikou hnízdního parazitizmu však spoléhaly na subjektivní posouzení vzhledu vajec na základě lidského zraku (Stoddard a Stevens 2011). Například Davies a Brooke (1989) ve své studii využili při experimentech mimetických a ne-mimetických modelů vytvořených pouze podle posouzení podobnosti s opravdovými hostitelskými vejci na základě lidského zraku.

Avšak zrak ptáků a člověka je velice odlišný (Bennett a Théry 2007). Barevné vidění u lidí je oproti ptákům na mnohem horší úrovni (Hart 2001). Ptáci mají dvojitě čípký, které hrají klíčovou roli v achromatických úkolech, které souvisejí s texturou a vzorem (Jones a Osorio 2004), přičemž jedním z nejdůležitějších rozdílů je oční sítnice obsahující část citlivou na ultrafialovou oblast spektra (Cuthill 2006). Jelikož ptáci vidí na rozdíl od člověka, který je trichromatický, i ultrafialovou oblast spektra, nazýváme jejich vidění tetrachromatické (Vorobyev et al. 1998).

### *3.5.3. Nový pohled na využití modelů vajec v 90. letech 20 století*

V 90. letech přišli Moksnes a Røskaft (1995) s vylepšením pro lepší posouzení barvy vejce pomocí lidského oka. Poprvé použili takzvaný Methuen Handbook of Colour (Kornerup a Wanscher, 1978). Byl to kruh složený z barev rozdělených do úseků obsahujících různé barvy číslované od 1 do 20, kdy 1-4 byly odstíny žlutočervené, 5-8 odstíny žluté, 9-12 barvy zelenožluté, 13-16 odstíny zelené a 17-20 modrozelené barvy. Přiložením vejce k tomuto

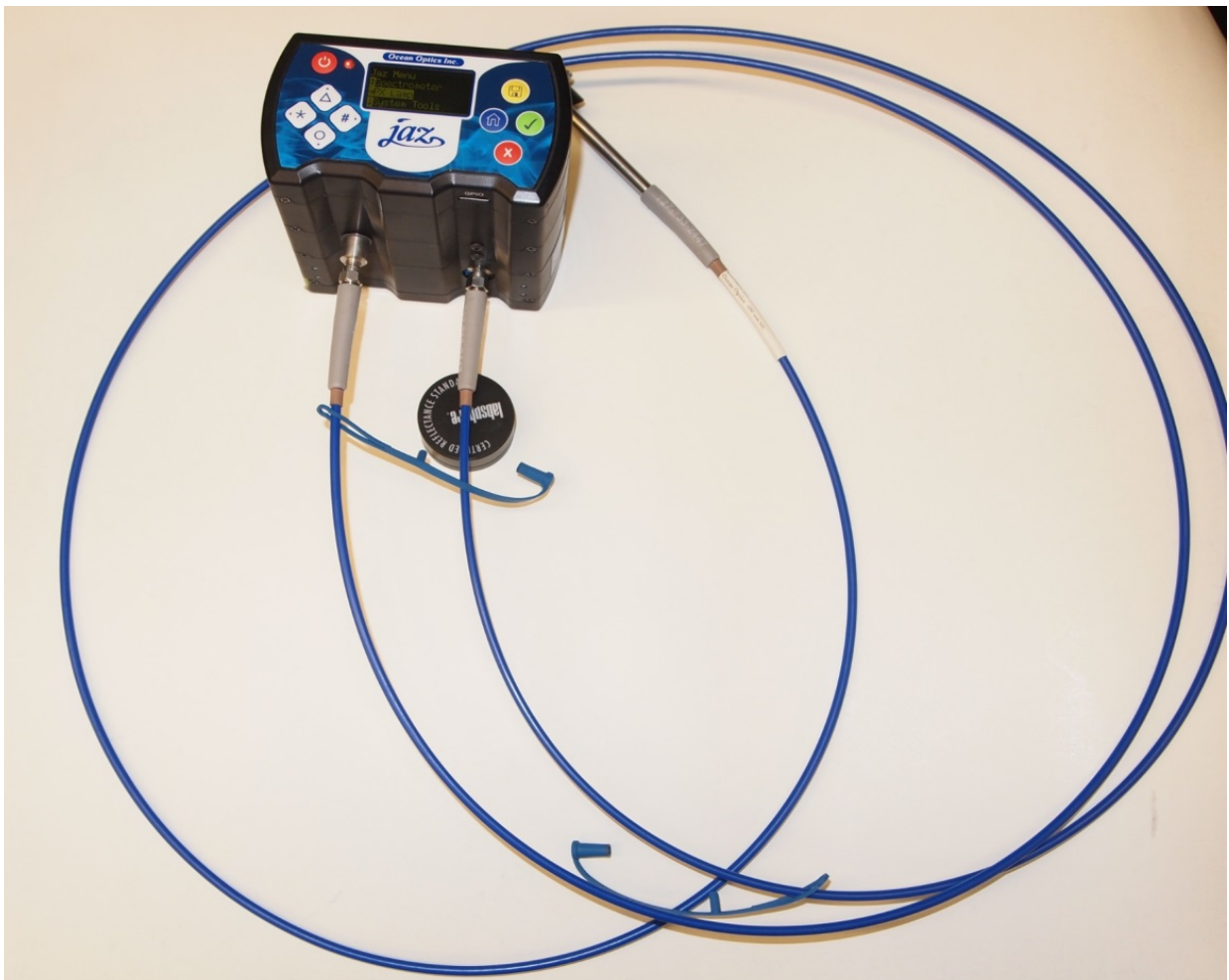
kruhu pomáhalo vědcům lépe posoudit, která barva je nejvíce podobná barvě testovaného vejce. I přesto, že tento přístup byl krokem vpřed, i nadále se jednalo pouze o posouzení barvy vejce na základě pozorování lidským okem (Moksnes a Røskaft 1995).

#### *3.5.4. Spektrometr aneb průlom ve výzkumných metodách*

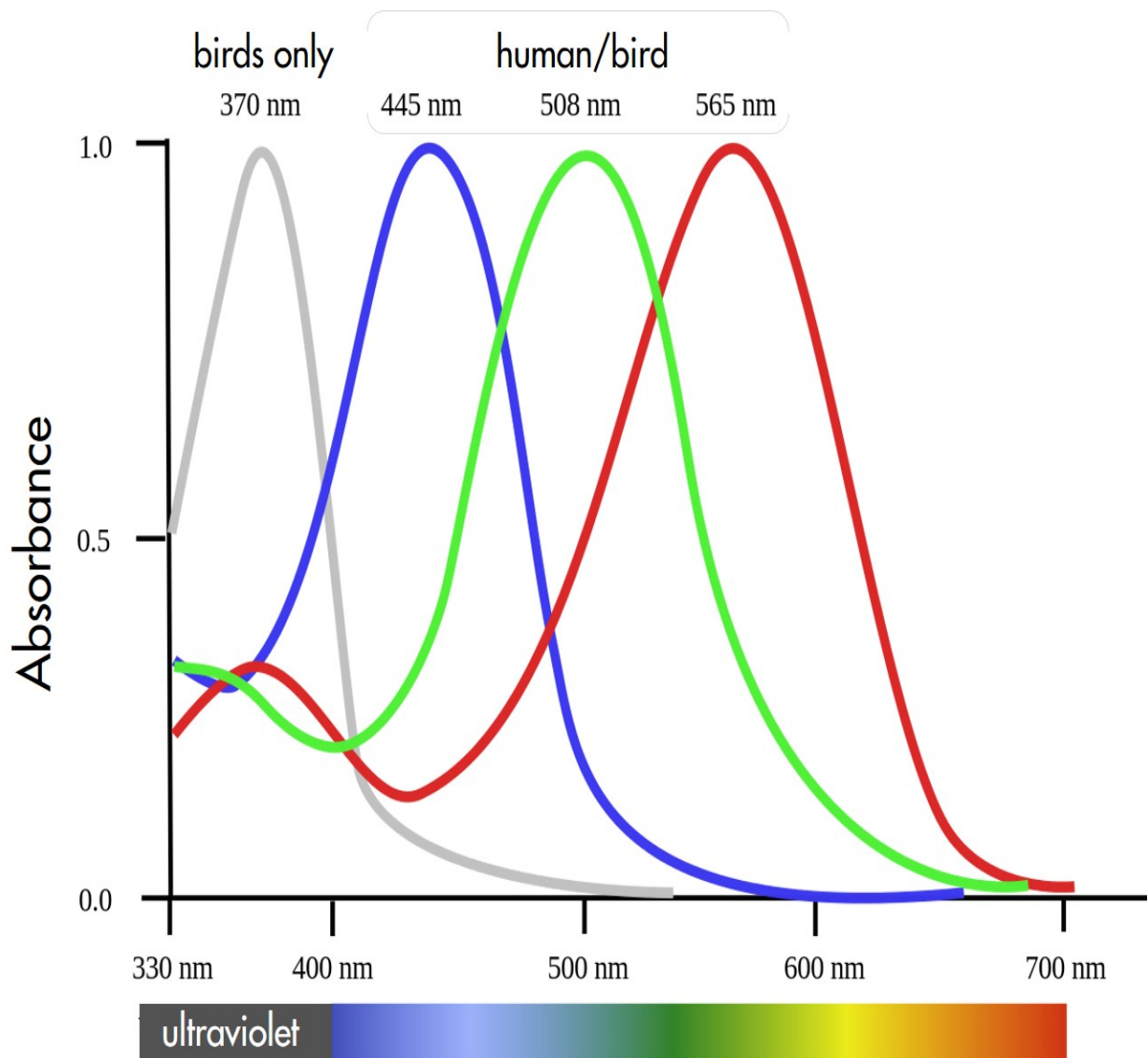
Jedním z nejzásadnějších zlomů v experimentech zaměřených na diskriminaci vajec hostitelem byl příchod přenosných spektrometrů (Obr. 2.). Spektrometry dokáží měřit přesné složení barvy v celém viditelném spektru ptáků (tj. 300–700 nm), což výrazně zvýšilo schopnost pochopit vnímání rozdílů ptačím pohledem (Bennett a Théry 2007). Jak již jsem výše uvedl, ptáci totiž kromě krátkých, středních a dlouhých vlnových délek dokáží na rozdíl od člověka vnímat i ultrafialové záření (300–400 nm; Stoddard a Stevens 2011).

První studií, která vzala v úvahu vlastnosti ptačího vizuálního vnímání, byla provedena teprve před několika lety. Cassey et al. (2008) demonstrovali vizuální diskriminaci vajec v experimentu, který byl proveden za použití různých experimentálních barev skořápky. Prokázali, že zachycení fotonů ultrafialového záření a záření o krátkých vlnových délkách (modrá barva) na sítnici ptáků ovlivňuje u hostitelů rozhodování o odmítnutí či přijetí parazitního vejce. Jiné vlnové délky vliv neměly. Získané výsledky ze spektrometru se vyobrazují v podobě takzvané spektrální křivky (Stoddard a Prum 2008, Hanley et al. 2017, Obr. 3,4.).

**Obrázek 2.** Spektrometr Ocean Optics Jaz, který jsem použil při měření barev v experimentu. Na obrázku je tělo spektrometru s displejem, který ukazuje výsledky měření. Dále jsou zde zachyceny kabely pro měření, jeden z kabelů je světelný a druhý optický. Světelný kabel vede světlo ze zdroje na měřený předmět a optický kabel vede odražené světlo z měřeného předmětu do spektrometru. V černém kruhovém víčku je uschován bílý standard využitý pro kalibraci spektrometrických měření. Černý standard na fotografii není zachycen (použil jsem tubus, uvnitř kterého byla tma, a ta umožnila kalibraci černé barvy). Autor: Daniel Hanley.

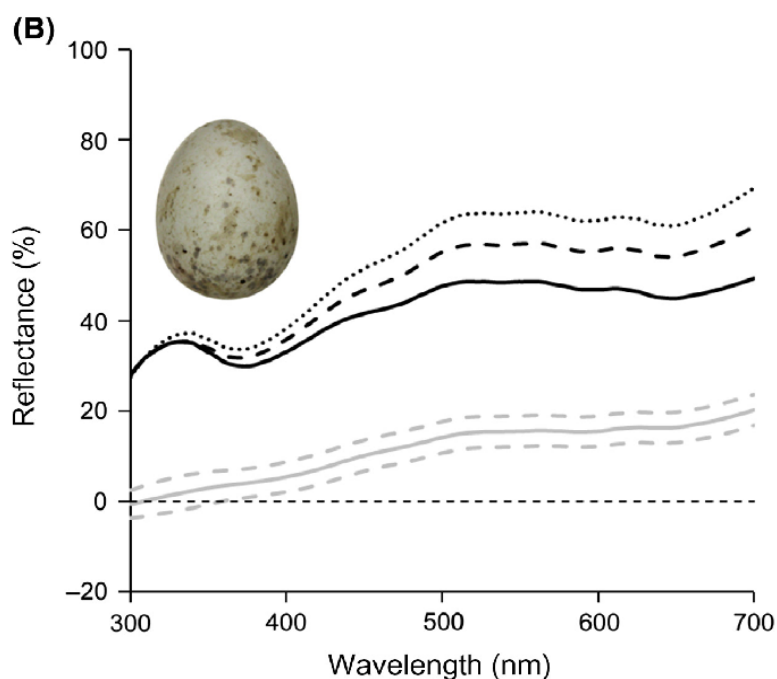
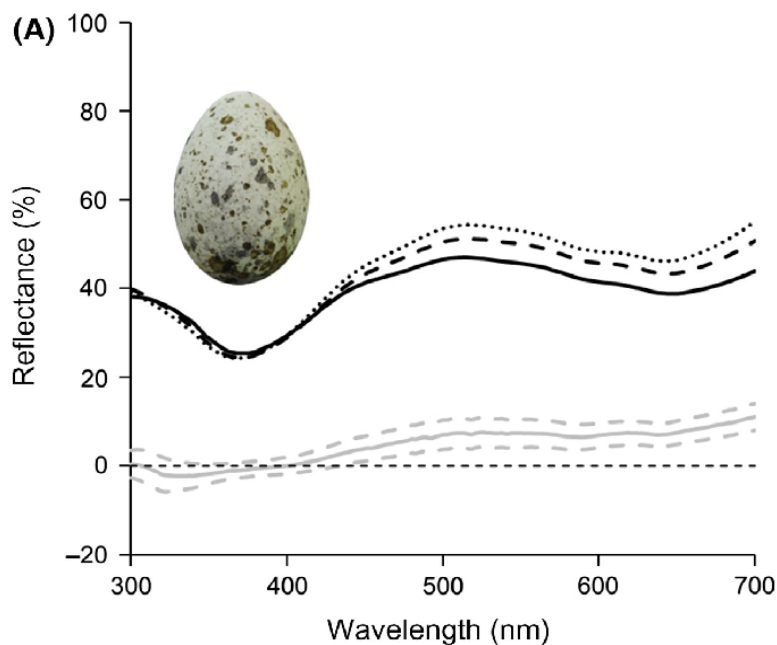


**Obrázek 3.** Ukázka spektrální křivky znázorňující rozdíl mezi lidským a ptačím zrakem. Každá z křivek znázorňuje citlivost na světlo o různých vlnových délkách každého ze 4 typů čípků, které se nacházejí v oku. 370 nm je ultrafialová vlnová délka, kterou vnímají pouze ptáci (šedá barva), 445 nm je krátká vlnová délka, která je vnímána i lidským zrakem (modrá), 508 nm je střední vlnová délka (zelená) a 565 nm je dlouhá vlnová délka (červená). Převzato z práce Smith (2017).





**Obrázek 4.** (A) Ukázka spektrální křivky vejce rákosníka velkého (*Acrocephalus arundinaceus*). (B) je spektrální křivka vejce jeho hnízdního parazita kukačky obecné. Plná křivka značí měření hned po naklazení vejce do hnízda, přerušovaná křivka byla naměřena 4 dny po naklazení vejce a tečkovaná křivka byla změřena 8 dní po naklazení vejce do hnízda. Šedá křivka nám zde ukazuje rozdíl mezi počáteční barvou vejce a barvou naměřenou po 8 dnech. Tato šedá křivka byla vytvořena po odečtení počátečního měření, tedy měření 1. dne od měření 8. dne. Přerušovaná šedá křivka znázorňuje 95% interval spolehlivosti. Převzato z Hanley et al. (2016).



### 3.4.5. Vizualní modelování v trojrozměrném prostoru

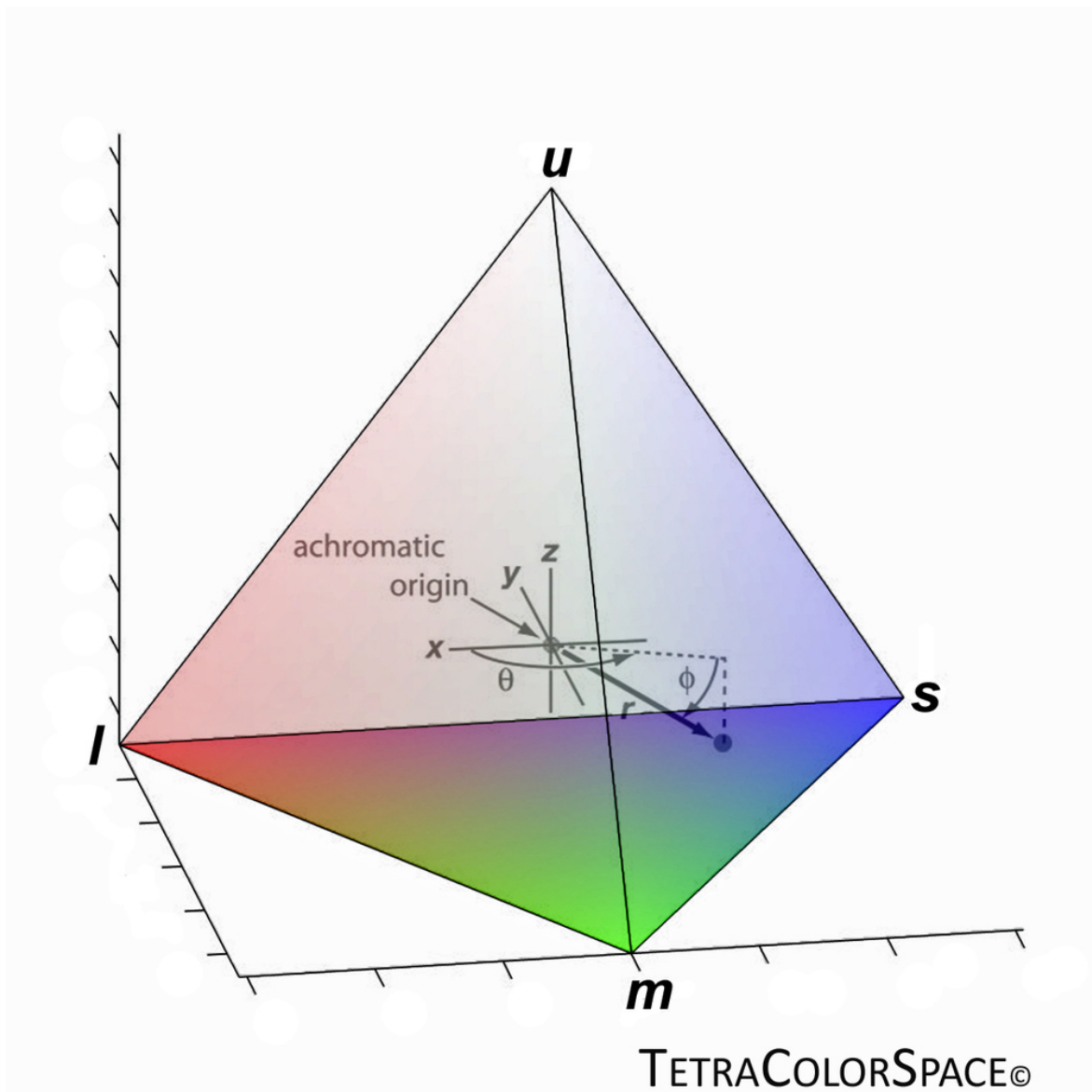
V závislosti na vzniku přenosných spektrometrů se vyvinul postup nazvaný vizuální modelování (Cassey et al. 2008). Při vizuálním modelování se využívá shromážděných dat o barvě ze spektrometru a následného přenesení této barvy do čtyřbokého barevného prostoru, tedy jehlanu (Spottiswoode a Stevens 2010, Obr 5.). Každý roh jehlanu odpovídá jedné ze čtyř barev, které ptáci vnímají (Stoddard a Prum 2008, Spottiswoode a Stevens 2010). Jsou to barvy krátkých vlnových délek (modrá), středních vlnových délek (zelená), dlouhých vlnových délek (červená) a ultrafialového záření (UV). Pomocí takto vyobrazeného prostoru můžeme zaznamenat přesnou pozici barvy v barevném prostoru, který ptáci vnímají (Hanley et al. 2017).

Pozice barvy v jehlanu se odvíjí od složek, kterými barva disponuje, ať už je to odrazivost UV či přesný odstín zvolené barvy (Stoddard a Prum 2008). Jehlan nám tedy umožňuje ukázat rozdíly mezi ptačím a lidským okem ve vnímání vybrané barvy a to pomocí přidání rozměru ultrafialových vlnových délek (Spottiswoode a Stevens 2010).

Navzdory těmto pokrokům se dodnes všechny pokusy s vejci provádějí pouze s kategorickými barvami, všechny modely jsou tedy nabarveny jedním odstínem, např. pouze modrou, nebo hnědou barvou (např. Samas et al. 2014). Ty jsou pak považovány za buď mimetické, nebo nemimetické; taková kategorizace je ale problematická, protože je vždy umělá (Grim 2005, 2013). Doposud pouze jediná studie využila kontinuitu barev u svých experimentů (Hanley et al. 2017).

V této studii jsem využil proměnlivosti ve zbarvení vejcí a tedy kontinuitu barev za použití modelů jak barev mimetických tak i barev nemimetických. Vytvořil jsem škálu barev zastupujících barvy z celého viditelného spektra kosa černého, které jsem přenesl na barevnou šablonu a následně i na modelová vejce. Přenesené barvy jsem měřil za pomoci spektrometrie za účelem získání dat o přesné odrazivosti jednotlivých barev. Pomocí získaných hodnot ze spektrometru jsem přenesl jednotlivé barvy do čtyřbokého jehlanu a tím také zaznamenal jejich rozložení v tomto 3D barevném prostoru. Tento postup jsem použil na základě nejnovějších poznatků o spektrometrii a vizuálním modelování.

**Obrázek 5.** Barvy, které ptáci vidí, lze zobrazit v prostoru pomocí jehlanu. U = ultrafialová část spektra, L = část spektra dlouhých vlnových délek, M = část spektra středních vlnových délek a S = část spektra krátkých vlnových délek. Pozici každé z barev v čtyřtění lze popsat koordinátami  $\theta$ ,  $\phi$  a  $r$ .  $\theta$  je horizontální úhel (azimut) mezi pozitivní osou X a vektorem směřujícím k dané barvě.  $\phi$  je vertikální (elevační) úhel mezi rovinou X-Y a vektorem směřujícím k dané barvě.  $\theta$  a  $\phi$  jsou analogické (zeměpisné) délce a šířce. Vzdálenost vektoru k barvě definuje  $r$ .  $\theta$  a  $\phi$  popisují barevný odstín (angl. hue) neboli směr vektoru k barvě a  $r$  vyjadřuje intenzitu barvy neboli sytost (angl. saturation), čímž definuje, nakolik se barva liší od achromatické hodnoty bílé/černé (Stoddard a Prum 2008). Převzato z webové stránky M. C. Stoddardové (2016).



## 4. MATERIÁLY A METODY

### 4.1 Modelová vejce a barevná šablona

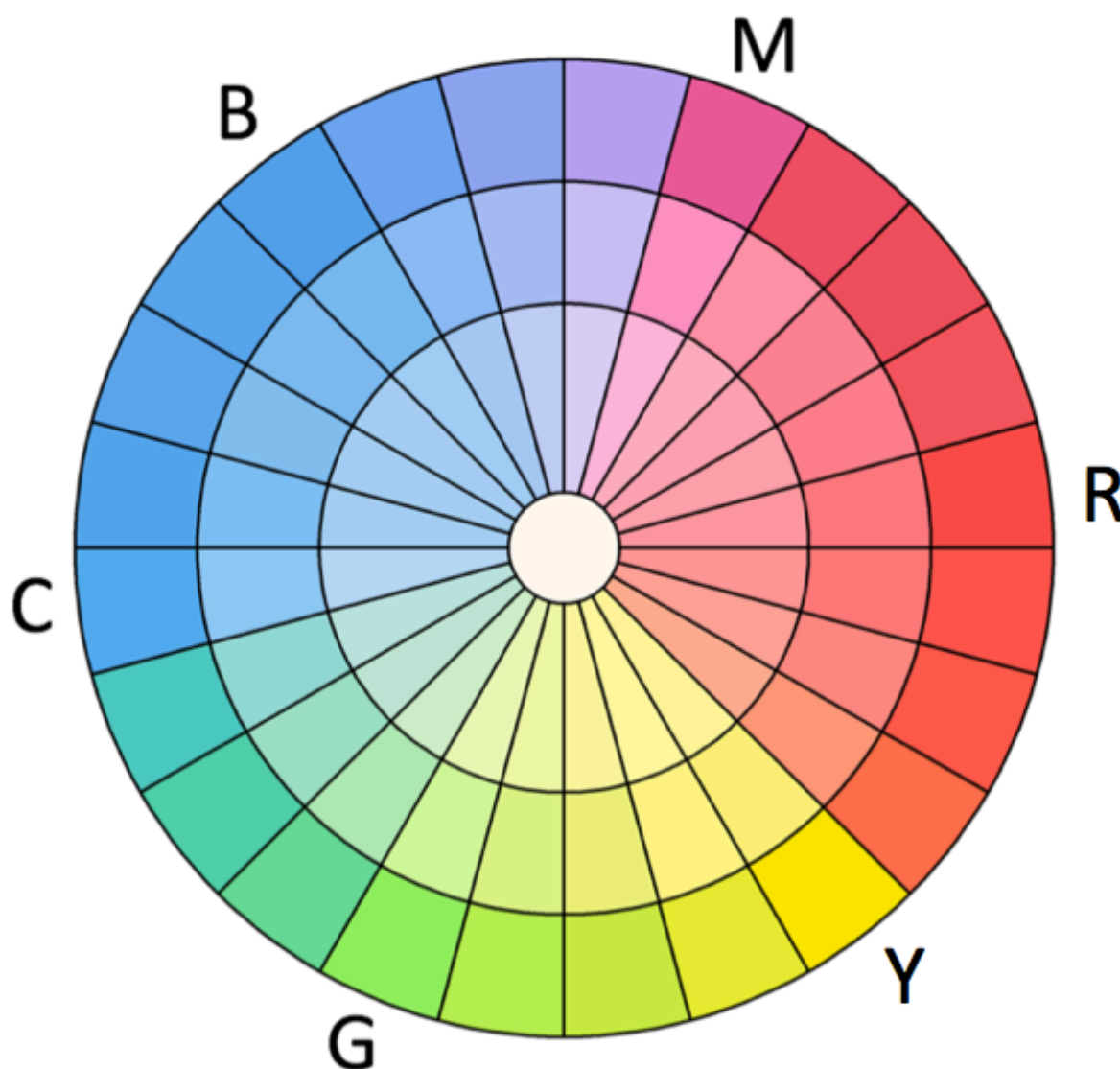
Ve studii jsem využil umělých modelových vajec nabarvených 73 rozdílnými akrylovými barvami (Koh-i-Noor, Obr. 6.), zvolenými podle předem připravené barevné škály (Obr. 7.). Od každé barvy jsem použil jedno unikátně zbarvené vejce.

Barevná škála obsahovala 7 základních barev a to bílou, modrou, azurovou, zelenou, žlutou, červenou a purpurovou. Dále pak zahrnovala také barvy vzniklé jejich vzájemným mísením. Škála obsahovala barvy napodobující jak barvy přirozeně se vyskytující (Hanley et al. 2015a), tak barvy, které se v přírodě nevyskytují a tedy jsou zcela nepřirozené (Hanley et al. 2017). Každý z těchto modelů byl tedy ručně nabarven jednou jedinečnou barvou dle vzoru barevné škály a pro každou barvu jsem vytvořil jedno modelové vejce. Nejdříve jsem však musel nabarvit modelové vejce bílou podkladovou barvou, nechat zaschnout a poté podkladovou barvu přetřít konkrétní krycí barvou z důvodu lepší přilnavosti výsledné krycí barvy k podkladu.

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



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



## 4.2 Měření barev

Jelikož je tato studie zaměřena na vliv barvy vejce na rozhodování a odpověď hostitelské samice na parazitické vejce, před experimentálním použitím vytvořených modelových vajec jsem nejdříve nabarvená modelová vejce měřil. Pro objektivní měření barevného složení modelů jsem použil odrazovou spektrometrii za využití spektrometru Ocean Optics Jaz (Ocean Optics, Dunedin, Florida) (Obr. 2), impulzního xenonového světelného zdroje (Jaz PX) a bílý odrazivý standard (WS-1).

Nejprve jsem vytvořil 20 barevných šablon, které jsem následně za pomoci spektrometru změřil. Pro každou z barev umístěných na těchto šablonách jsem provedl 3 měření. Každé jednotlivé měření jsem provedl v odlišném místě barevného pole. Poté jsem měřil nabarvená modelová vejce. Pro každý model jsem použil 9 měření a to 3 měření pro ostrý pól vejce, 3 měření v oblasti tupého pólu vejce a 3 měření ve střední části vejce. Každé jednotlivé měření jsem provedl na odlišném místě vejce z důvodu možné rozdílnosti v barevném složení v důsledku ručního barvení modelových vajec.

## 4.3 Terénní výzkum

Terénní experimenty jsem provedl v parcích města Olomouce (49°35'38" s. š., 17°15'3" v. d) v letech 2015 a 2016. Nejdříve jsem vyhledal hnízda kosa černého. Celkově za obě sezóny jsem našel 221 hnízd, z nichž jsem do studie zahrnul 97 hnízd jako hnízda vhodná pro experiment. Celkem z 97 vybraných hnízd jsem 15 hnízd použil jako hnízda kontrolní pro zjištění rozdílů v míře opouštění hnízda hostitelskými páry mezi experimentálními hnízdy a hnízdy, na nichž nebyl experiment proveden (Kosciuch 2006, Soler et al. 2015, Hanley et al. 2015b) Ze zbývajících 82 hnízd, která jsem použil pro samotný experiment rodičovské páry celkem 9 hnízd opustily. Opuštěná hnízda během tohoto 6-denního období jsem následně ze studie vyloučil, protože kontrolní vzorek prokázal, že opouštění není specifickou odpovědí na umělá modelová vejce použita při výzkumu hnízdního parazitizmu (Samas et al. 2014, Soler et al. 2015).

Vhodná hnízda jsem volil podle dosažení plné snůšky neboli maximálního možného počtu vajec pro daný pár, aniž by v hnízdě proběhla v průběhu kladení predace či bylo hnízdo opuštěno. U kosa černého v České republice jsou 4 vejce typickou konečnou velikostí snůšky (Samaš et al. 2013a). Dokončení snůšky jsem určoval pomocí předpokladu, že samice kosa černého snese jedno vejce denně a celkové inkubační období je 13 dní (Hanley et al. 2015b). Což znamená, že v případech kdy se ve 2 po sobě následujících dnech počet vajec nakladených

uvnitř hnízda neměnil, jsem tuto snůšku považoval za kompletní. Barevný model jsem přidával vždy den po ukončení kladení, respektive každý experiment začal první den inkubace. Abych se vyhnul ovlivnění hostitelské samice při jejím rozhodování, snažil jsem se experimentální vejce vkládat do hnízda vždy v moment, kdy byli hostitelé mimo hnízdo (Hanley et al. 2015a). Pro každý model jsem vybral a použil pouze jedno z hostitelských hnízd (Obr. 8.).

Po přidání experimentálního modelů do hnízda jsem tato hnízda navštěvoval denně po dobu následujících 6 dní (Grim et al. 2011). Při každé návštěvě jsem zaznamenával informaci o odpovědi samice na takto přidané parazitní vejce, protože pouze samice z hostitelského páru vyhazuje parazitické vejce z hnízda (Weiszensteinová 2012). Jako odpověď jsem považoval reakci, kdy samice vejce buď přijala a tedy ponechala model v hnízdě nebo odmítla, tedy vyhodila parazitické vejce z hnízda pryč.

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



#### 4.4 Metody vyhodnocení výsledků

Pro zpracování nasbíraných dat jsem využil statistického softwaru R verze 3.1.2.. Statistickou analýzu, konkrétně na základě zobecněného aditivního modelu (GAM), jsem vypracoval za pomoci Dr. Daniela Hanleyho (Department of Biology, Long Island University Post, Brookville, New York 11548, USA), který měl již předchozí zkušenosti s touto komplikovanou analýzou.

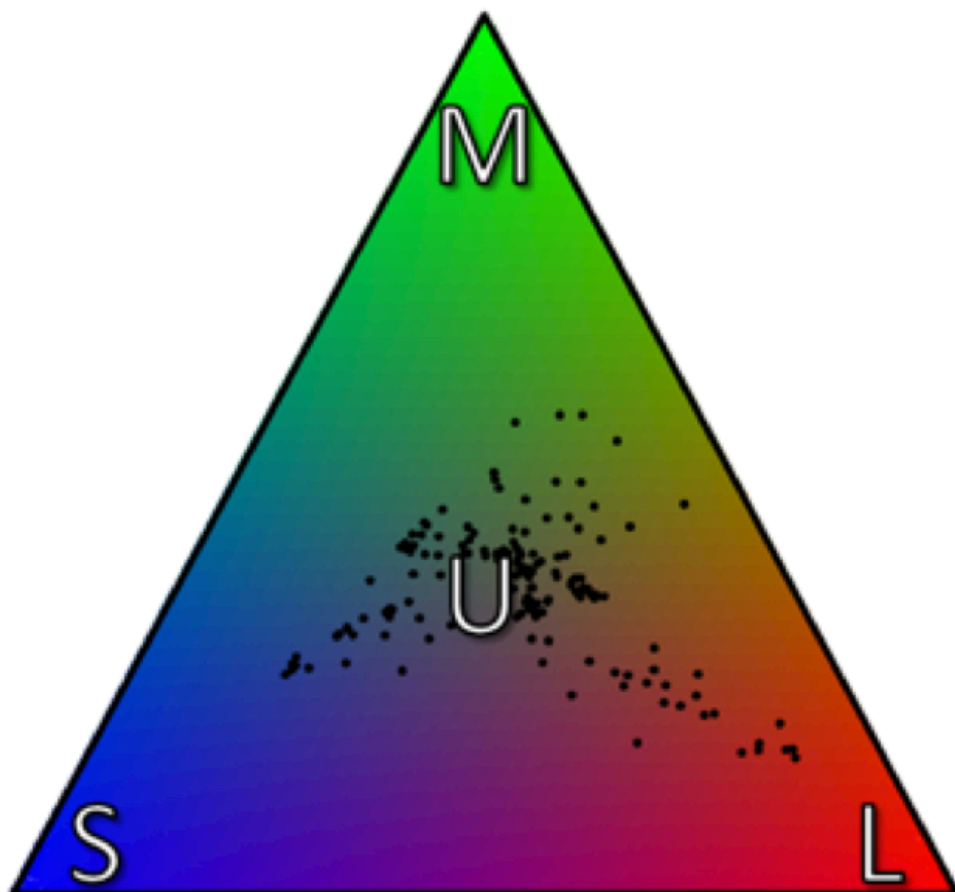
Nejprve jsme pro výpočet relativní citlivosti každého ze 4 ptačích fotoreceptorů (Hart a Vorobyev 2005, Govardovskii et al. 2000) použili statistický balíček „pavo“ R (Maia et al. 2013). Hodnoty barev jsme pak za pomoci tohoto balíčku převedli do trojrozměrného barevného prostoru čtyřbokého jehlanu (Stoddard a Prum 2008, Obr. 9.). V tomto prostoru lze použít několik sférických souřadnic pro definici umístění jakékoliv barvy. Jsou to  $\theta$ , která představuje odstín barvy nebo také barvy, které jsou umístěné podél barevného kolečka nacházejícího se v barevné šabloně (rozsah:  $-\pi$  to  $\pi$ ).  $\phi$  neboli úhel vzdálenosti barvy od UV receptoru (rozsah:  $-\pi/2$  na  $\pi/2$ ) a  $r$  představuje sytost barvy, měřenou jako relativní vzdálenost od achromatického bodu (rozsah: 0 až 1).

Pro předpověď reakce hostitelské samice, tedy zda-li vejce přijme či odmítne, jsme vzhledem k charakteru měřených hodnot odstínu, které jsou cirkulárního (kruhového) typu, použili zjednodušený binomický aditivní model (GAM). Tento model jsme použili jako funkci „gam“ v balíčku „mgcv“ verze 1.8-15 softwaru R (R Core Team 2016). Aby jsme vyhověli kruhovitému charakteru dat odstínu barvy, použili jsme penalizovanou kubickou regresní spline, která je vyhlazovací funkcí pro dosažení zapadnutí extrémních hodnot odstínu  $-\pi$  a  $\pi$  do sebe (Wood 2006). Na rozdíl od odstínu faktory  $\phi$  a saturace ( $r$ ) nejsou kruhového charakteru a tedy jsme je zahrnuli do analýzy jako fixní efekty v prediktivním modelu. Dále jsme několik dalších proměnných, které by mohly ovlivnit chování samice kosa proti cizímu vejci: konečná velikost snůšky (průměr  $\pm$  se:  $4,33 \pm 0,05$  vajec), zda jsem samici vyplašil nebo ne (ano nebo ne), stáří hnízda (průměr  $\pm$  se:  $6,46 \pm 0,17$  dne), rok experimentu (2015 nebo 2016).

Po vytvoření plného modelu, jsme pak použili zpětnou eliminaci nevýznamných prediktorů (Grafen a Hails 2002). Pouze tři hlavní prediktory, které popisují barvu vejce (odstín, UV-odstín a sytost), jsem v modelu ponechal bez ohledu na to, jestli byly statisticky významné (Grafen a Hails 2002). V práci ale prezentuji i plný model, protože to jiní autoři doporučují (Forstmeier a Schielzeth 2011).



**Obrázek 9.** Každá barva modelu byla přenesena a zakreslena uvnitř trojrozměrného prostoru čtyřbokého jehlanu, který vyobrazuje celé viditelné spektrum kosa černého.



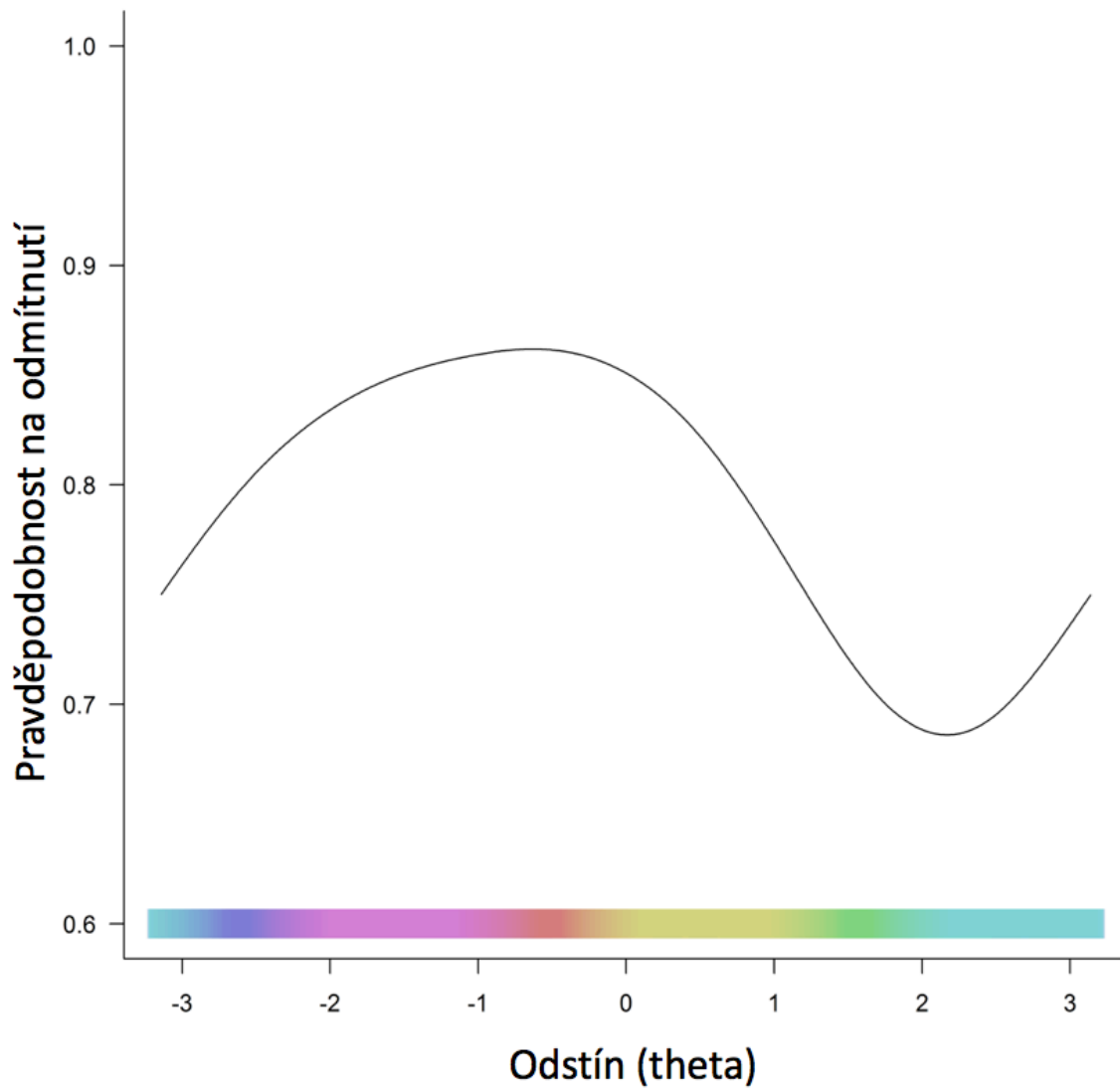
## 5. VÝSLEDKY

Chování hostitelské samice při rozhodování, zda-li parazitické vejce přijme či odmítne, zásadně ovlivňoval pouze jediný prediktor a to barevný odstín (Tab. 1.). Přesněji vejce s barevnými odstíny typu modrozelené byla spíše přijímána hostitelskou samicí, zatímco jiné odstíny barvy, jakými jsou především oranžová či purpurová, se ukázaly jako barvy mnohem více odmítané a tedy vyloučené z hnízda pryč. U modrozelených vajec (2.26, Obr. 10.) byla pravděpodobnost na odmítnutí 66% zatímco u vajec oranžové barvy (-0,34, Obr. 10.) šance na odmítnutí sahá až k 86%. Naproti tomu ultrafialová komponenta zbarvení a sytost barvy nebyly statisticky významnými prediktory, což znamená, že nehrály důležitou roli při rozhodování (Tab. 1). Také žádné z dalších měřených proměnných neměly zásadní vliv na rozhodování hostitelských samic (Tab. 1).

**Tabulka 1.** Výstup z použitého zobecněného aditivního modelu (GAM) předpovídající reakci kosa černého v přítomnosti experimentálního parazitismu. Tabulka zahrnuje jak kompletní tak i závěrečný model. Uvádím zde odhady parametrů s jejich standardní chybou, standardizovaným efektem (z-skóre), hodnoty Chi kvadrátu a jejich statistickou významnost. Významné prediktory jsou vyznačeny tučně.

Předpovědi	Kompletní model				Závěrečný model			
	Odhad ± SE	<i>z</i>	$\chi^2$	<i>P</i>	Odhad ± SE	<i>z</i>	$\chi^2$	<i>P</i>
Celý model ( $R^2 = 0.13$ , AICc = 171.24)					$(R^2 = 0.06$ , AICc = 166.39)			
Intercept	6.22±6.90	0.90	–	0.37	0.08±4.69	0.017	–	0.99
<b>Odstín</b>	–	–	<b>6.36</b>	<b>0.005</b>	–	–	<b>4.63</b>	<b>0.04</b>
UV-odstín	-1.10±1.29	-0.86	0.73	0.39	-0.42±1.12	-0.371	0.138	0.71
Sytost	-8.55±7.62	-1.12	1.26	0.26	0.95±4.74	0.200	0.040	0.84
Rok	-0.27±0.63	-0.43	4.12	0.67	–	–	–	–
Začátek snůšky	0.002±0.01	0.12	0.01	0.91	–	–	–	–
Velikost snůšky	0.34±0.34	0.99	0.98	0.32	–	–	–	–
Vyplašení samice	-1.23±0.83	-1.49	2.22	0.14	–	–	–	–
Stáří hnízda	-0.01±0.12	-0.12	0.01	0.90	–	–	–	–

**Obrázek 10.** Graf znázorňuje pravděpodobnost odmítnutí modelových vajec, která se liší vzhledem k odstínu barvy.



## 6. DISKUZE

Tato studie prokázala, že hlavním faktorem ovlivňujícím rozhodování samic kosa černého o parazitickém vejci je odstín barvy vejce. Samice kosa černého měly tendence více přijímat vejce, která jsou modrozelené barvy a naopak měly tendenci zvyšovat míru odmítání pro purpurové až žluté barvy, které se však v přírodě přirozeně nevyskytují, popřípadě se vyskytují jen vzácně (Hanley et al. 2015a). A právě tento důvod může být jednou z příčin, proč samice nejvíce odmítaly barvy nacházející se v tomto barevném rozmezí. Tato zjištění jsou v souladu s nezávislými experimenty z předešlé studie (Hanley et al. 2017) a také jsou obecně v souladu i s mou predikcí (kap. Cíle). Sytost barvy nerozhodovala o přijetí či odmítnutí vejce.

Přes řadu výzkumů potenciálních barevných proměnných, pouze odstín barvy výrazně ovlivňuje reakci hostitelské samice. Pokud bude mít samice dostatečné zkušenosti s odstínem barvy vajec v celé své snůšce, může být schopna rozhodovat o diskriminaci vejce na základě odstínu barvy, a to zejména nezávisle na sytosti barvy vejce. Tímto způsobem by mohla pravděpodobně snížit i riziko udělení chyby při odmítnutí neboli nedojde k odmítnutí vlastního vejce namísto vejce parazitického (Hanley et al. 2017).

Má studie také ukázala, že barva byla lepším prediktorem odezvy hostitelské samice než zda byla samice před pokusem vyplašena či nikoliv (Hanley et al. 2015c). Předchozí studie zjistily, že velikost snůšky je důležitým prediktorem rozhodování samice kosa černého (např. Ruiz-Raya et al. 2016); má studie to však neprokázala – velikost snůšky významně neovlivnila reakci hostitele při rozhodování o přijetí či odmítnutí vejce. Ve skutečnosti dokonce ani jiné barevné proměnné, které jsem do studie zahrnul, nejsou významně spojeny s vlivem na hostitelskou odpověď, což naznačuje, že kos černý by mohl používat relativně jednoduché pravidla založená na barvě vejce pro rozhodnutí o jeho přijetí či odmítnutí.

V této studii jsem použil modelová vejce, která jsou vytvořena z materiálu odolného vůči proklovnutí kosem. Ačkoliv je kos černý druhem, který odmítá zásadně vyhozením parazitického vejce z hnízda ven, nedávné studie přišly s výsledky, že hostitelské samice mohou parazitické vejce přijmout na základě toho, že jej nedokáží proklovnout a tedy rozbít (Martín-Vivaldi et al. 2002, Prather et al. 2007, Antonov et al. 2009). Navíc v jiné studii Soler et al. (2012) zjistili, že hostitelská odpověď spíše souvisí s motivací hostitele parazitické vejce odmítnout bez ohledu na to, z jakého materiálu jsou vejce vytvořeny. Celkově tedy tyto studie naznačují, že parazitní vejce mohou být rozpoznána hostitelem, ale i když je hostitel rozpozná, ne vždy je odmítne a vyhodí z hnízda (Antonov et al. 2009, Soler et al. 2012, Ruiz-

Raya et al. 2015). Nicméně tato zjištění by neměla mít vliv na výsledky mé studie, protože tyto poznatky jsou zaměřeny na vnitřní motivaci samice vejce vyloučit.

Na základě mých zjištění by budoucí studie měly zahrnout do výzkumů více druhů ptáků potýkajících se s hnízdním parazitizmem, aby se s určitostí zjistilo, zda-li má zjištění jsou obecná či pouze specifická pro druh nebo populaci kosa černého. V ideálním případě by budoucí výzkum měl zahrnout druhy, které čelí jak mezidruhovému (Davies a Brooke 1989), tak vnitrodruhovému parazitizmu (Samas et al. 2014). Dále by budoucí studie měly experimentálně testovat vliv předchozí zkušenosti hostitele s barvami parazitických vajec, což by mohlo u některých druhů ptáků ovlivňovat jejich rozhodnutí (Grim et al. 2014, Moskát et al. 2014). Ačkoliv jsem použil umělá modelová vejce, která nelze proklovnout, navrhuji, aby v budoucích studiích bylo využito i jiných typů modelových vajec či vajec reálných.

## 7. ZÁVĚR

Tato diplomová práce byla zaměřena na studium reakce samice kosa černého na kontinuální proměnlivost ve zbarvení parazitických vajec. Jako hlavní faktory, které by mohly ovlivňovat rozhodování samic, jsem zařadil odstín, ultrafialovou složku a sytost barvy. Rozhodování hostitelských samic podle výsledků této studie bylo ovlivňováno pouze jedním z těchto předem určených prediktorů a to odstínem. Odstín hrál statisticky významnou roli při rozhodování, ostatní prediktory ne. Celkově jsem zjistil, že největší šanci na přijetí hostitelskou samicí mají vejce vybavena modrozelenou barvou a šanci nejmenší mají vejce, která se nacházejí v gradientu převážně purpurových až žlutých barev.

Zjistil jsem, že další hlavní prediktory, kterými jsou ultrafialová komponenta světelného záření, kterou kos černý dokáže vnímat, a nasycení barvy, nemají zásadní vliv při rozhodování hostitelských samic. Tyto dva prediktory tedy zásadním způsobem neovlivňují samice při rozhodování o odpovědi, jak naloží s parazitickým vejcem. Z toho vyplývá, že na rozhodování samic o parazitickém vejci v jejich hníždě výrazněji a mnohem zásadněji působí odstín barvy a nikoliv ultrafialová komponenta či sytost.

Dále tato studie prokázala, že proměnné, jakými jsou rok experimentu, velikost snůšky, vyplašení samice nebo stáří hnízda neměly statisticky významný vliv. Což znamená, že tyto proměnné nepatří do kategorie faktorů, které by zásadním způsobem mohly ovlivňovat rozhodování hostitelských samic a tedy mít vliv na konečnou odpověď vůči cizímu vejci. Odstín barvy je důležitější faktor při rozhodování než plašení samice v průběhu experimentu, což odpovídá výsledkům předchozí studie (Hanley et al. 2015c). Naopak výsledky studie (Ruiz-Raya et al. 2016), že velikost snůšky je důležitým prediktorem, jsou v rozporu s výsledky mé studie, která prokázala, že velikost snůšky není důležitým prediktorem při rozhodování hostitelské samice v olomoucké populaci.

Výsledky tedy naznačují, že samotný odstín barvy hraje nejzásadnější roli v rozhodování hostitelských samic. Avšak pro zobecnění tohoto závěru by bylo vhodné provést studii na odlišných ptačích druzích. Studované druhy by pak měly být druhy, které se dnes potýkají s hnízdním parazitizmem. Bylo by také vhodné využít v těchto studiích i několika typů experimentálních modelů, co se jejich materiálu a složení týče. Určitě by stálo za to zohlednit i předchozí zkušenost samice s hnízdním parazitizmem. Tímto by se mohlo zjistit, jak velkou roli hrál umělý materiál experimentálních modelů v mé studii a zda-li jsou zjištěné výsledky obecné či aplikovatelné pouze na jediný druh a to kosa černého, nebo platí obecně.

## 8. LITERATURA

- Ackerman J. T., Eadie J. M. (2003). Current versus future reproduction: an experimental test of parental investment decisions using nest desertion by mallards (*Anas platyrhynchos*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 54: 264-273.
- Antonov A., Stokke B. G., Moksnes A., Røskaft E. (2006). Egg rejection in marsh warblers (*Acrocephalus palustris*) heavily parasitized by common cuckoos (*Cuculus canorus*). *Auk* 123: 419-430.
- Antonov A., Stokke B. G., Moksnes A., Røskaft E. (2009). Evidence for egg discrimination preceding failed rejection attempts in a small cuckoo host. *Biol. Lett.* 5: 169-171.
- Bennett A. T. D., Théry M. (2007). Avian color vision and coloration: multidisciplinary evolutionary biology. *Am. Nat.* 169: 1-6.
- Brooke M. L., Davies N. B. (1988). Egg mimicry by cuckoos *Cuculus canorus* in relation to discrimination by hosts. *Nature* 335: 630-632.
- Bussche J., Spaar R., Schmid H., Schröder B. (2008). Modelling the recent and potential future spatial distribution of the ring ouzel (*Turdus torquatus*) and blackbird (*T. merula*) in Switzerland. *J. Ornithol.* 149: 529-544.
- Cassey P., Honza M., Grim T., Hauber M. E. (2008). The modelling of avian visual perception predicts behavioural rejection responses to foreign egg colours. *Biol. Lett.* 4: 515-517.
- Cuthill I. C. (2006). Color perception. In: Hill G. E., McGraw K. J. (Eds.): *Bird coloration: Mechanism and measurements*, HUP London Vol. 1.
- Dall S. R. X., Gireldeau L. A., Olson O., McNamara J.M., Stephens D.W. (2005). Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends Ecol. Evol.* 20: 187-193.
- Davies N. B., Brooke M. L. (1989). An experimental study of co-evolution between the cuckoo, *cuculus canorus*, and its hosts. II. Host egg markings, chick discrimination and general discussion. *J. Anim. Ecol.* 58: 225-236.
- Davies N. (2000). *Cuckoos, cowbirds and other cheats*. T&AD Poyser, London.
- Dawkins R., Krebs J. R. (1979). Arms races between and within species. *Proc. R. Soc. Lond. B* 205: 489-511.
- Dukas R. (1999). Costs of memory: ideas and predictions. *J. Theor. Biol.* 197: 41-50.

- Evans K. L., Gaston K. J., Sharp S. P., McGowan A., Simeoni M., Hatchwell B. J. (2009). Effect of urbanisation on disease prevalence and age structure in blackbird *Turdus merula* populations. *Oikos* 118: 774-782.
- Evans K. L., Hatchwell B. J., Parnell M., Gaston K. J. (2010). A conceptual framework for the colonisation of urban areas: the blackbird *Turdus merula* as a case study. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 85: 643-667.
- Evans K. L., Newton J., Gaston K. J., Sharp S. P., McGowan A., Hatchwell B. J. (2012). Colonisation of urban environments is associated with reduced migratory behaviour, facilitating divergence from ancestral populations. *Oikos* 121: 634-640.
- Forstmeier W., Schielzeth H. (2011). Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner's curse. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65: 47-55.
- Fernández-Juricic E., Tellería J.L. (2000). Effect of human disturbance on spatial and temporal feeding patterns of blackbird *Turdus merula* in urban parks in Madrid, Spain. *Bird Study* 47: 13-21.
- Feeney W. E., Welbergen J. A., Langmore N. E. (2014). Advances in the study of coevolution between avian brood parasites and their host. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 45: 227-46.
- Govardovskii V.I., Fyhrquist N., Reuter T., Kuzmin, D. G., Donner K. (2000). In search of the visual pigment template. *Visual Neuroscience* 17: 509-528.
- Grafen A., Hails R. (2002). *Modern statistics for the life sciences*. Oxford University Press, Oxford.
- Grim T., Honza M. (2001). Differences in behavior of closely related thrushes (*Turdus philomelos* and *T. merula*) to experimental parasitism by the common cuckoo *Cuculus canorus*. *Biologia* 56: 549-556.
- Grim T. (2005). Mimicry vs similarity: which resemblances between brood parasites and their hosts are mimetic and which are not? *Biol. J. Linnean Soc.* 84: 69-78.
- Grim T. (2006). The evolution of nestling discrimination by hosts of parasitic birds: why is rejection so rare? *Evol. Ecol. Res.* 8: 785-802.
- Grim T. (2013). Perspectives and debates: mimicry, signalling and co-evolution (commentary on Wolfgang Wickler – Understanding mimicry – with special reference to vocal mimicry). *Ethology* 119: 270-277.
- Grim T., Samaš P., Moskát C., Kleven O., Honza M., Moksnes A., Røskaft E., Stokke B. G. (2011). Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts? *J. Anim. Ecol.* 80: 508-518.



- Grim T., Samaš P., Hauber M. E. (2014). The repeatability of avian egg ejection behaviors across different temporal scales, breeding stages, female ages and experiences. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 68: 749-759.
- Hale K., Briskie J. V. (2007). Response of introduced european birds in New Zealand to experimental brood parasitism. *J. Avian Biol.* 38: 198-204.
- Hanley D., Grim T., Cassey P., Hauber M. E. (2015a). Not so colourful after all: eggshell pigments constrain avian eggshell colour space. *Biol. Lett.* 11: 20150087.
- Hanley D., Samaš P., Hauber M. E., Grim T. (2015b). Who moved my eggs? An experimental test of the egg arrangement hypothesis for the rejection of brood parasitic eggs. *Anim. Cogn.* 18: 299-305.
- Hanley D., Samaš P., Heryán J., Hauber M. E., Grim T. (2015c). Now you see it, now you don't: flushing hosts prior to experimentation can predict their responses to brood parasitism. *Sci. Rep.* 5: 9060.
- Hanley D., Šulc M., Brennan P. L. R., Hauber M. E., Grim T., Honza M. (2016). Dynamic egg color mimicry. *Ecol. Evol.* 62: 4192-4202.
- Hanley D., Grim T., Igic B., Samaš P., Lopéz A. V., Shawkey M. D., Hauber M. E. (2017). Egg discrimination along a gradient of natural variation in eggshell coloration. *Proc. R. Soc. Lond. B* 284: 20162592.
- Hart N. S. (2001). The visual ecology of avian photoreceptors. *Prog. retin. Eye Res.* 20: 675-703.
- Hart N. S., Vorobyev M. (2005). Modelling oil droplet absorption spectra and spectral sensitivities of bird cone photoreceptors. *J Comp Physiol A* 191: 381-392.
- Hauber M. E., Sherman P. W. (2001). Self-referent phenotype matching: theoretical considerations and empirical evidence. *Trends Neurosci.* 24: 609-616.
- Hauber M. E., Moskát C., Bán M. (2006). Experimental shift in hosts acceptance threshold of inaccurate-mimic brood parasite eggs. *Biol. Lett.* 22: 177-80.
- Ibáñez-Álamo J. D., Soler M. (2010). Does urbanization affect selective pressures and life-history strategies in the common blackbird (*Turdus merula* L.)? *Biol. J. Linnean. Soc.* 101: 759-766.
- Janzen D. H. (1980). When is it Coevolution? *Evolution* 34: 611-612.
- Jones C., Osorio D. (2004). Discrimination of oriented visual textures by poultry chicks. *Vision Res.* 44: 83-89.
- Kornerup A. M., Wanscher J. H. (1978). *Handbook of colour.* (3rd edn). London: Eyre Methuen.

- Kosciuch K. L., Parker T. H., Sandercock B. K. (2006). Nest desertion by a cowbird host: an antiparasite behavior or response to egg loss? *Behav. Ecol.* 17: 917-924.
- Liang W., Møller A. P., Stokke B. G., Yang C., Kovařík P., Wang H., Yao Ch., Ding P., Lu X., Moksnes A., Røskaft E., Grim T. (2016). Geographic variation in egg ejection rate by great tits across 2 continents. *Behav. Ecol.* 27: 1405-1412.
- Luttbeg B., Langen T. A. (2004). Comparing alternative models to empirical data: cognitive models of western scrub-jay foraging behavior. *Amer. Nat.* 163: 236-276.
- Lyon B. (2007). Mechanism of egg recognition in defenses against conspecific brood parasitism: american coots (*Fulica americana*) know their own eggs. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61: 455-463.
- Magrath R. (1991). Nestling weight and juvenile survival in the blackbird, *Turdus merula*. *J. Anim. Ecol.* 60: 335-351.
- Maia R., Eliason C. M., Bitton P., Doucet S.M., Shawkey M. D. (2013). pavo: an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. *Methods Ecol. Evol.* 4: 906-913.
- Martín-Vivaldi M., Soler M., Møller A. P. (2002). Unrealistic high cost of rejecting artificial model eggs in Cuckoo *Cuculus canorus* hosts. *J. Avian. Biol.* 33: 295-301.
- Manson P., Rothstein S. I. (1986). Coevolution and avian brood parasitism: cowbird eggs show evolutionary response to host discrimination. *Evolution* 40: 1207-1214.
- Moksnes A., Roskaft E. (1995). Egg-morphs and host preference in the common cuckoo (*Cuculus canorus*): an analysis of cuckoo and host eggs from European museum collections. *J. Zool.* 236: 625-648.
- Moskát C, Hauber ME. (2007). Conflict between egg recognition and egg rejection decisions in common cuckoo (*Cuculus canorus*) hosts. *Anim. Cogn.* 10: 377-386.
- Moskát C., Bán M., Hauber M. E. (2014). Naïve hosts of avian brood parasites accept foreign eggs, whereas older hosts fine-tune foreign egg discrimination during laying. *Front. Zool.* 11: 45.
- Møller A. P., Jokimäki J., Skorpa P. (2014). Loss of migration and urbanization in birds: a case study of the blackbird (*Turdus merula*). *Oecologia* 175: 1019-1027.
- Partecke J., Gwinner E. (2006). Is urbanization of european blackbirds (*Turdus merula*) associated with genetic differentiation? *J. Ornithol.* 147: 549-552.
- Partecke J., Schwabl I., Gwinner E. (2006). Stress and the city: urbanization and its effects on the stress physiology in European blackbirds. *Ecology* 87: 1945-1952.
- Payne R. B. (1998). Brood parasitism in birds: strangers in the nest. *Bioscience* 48: 377-386.

- Polačiková L., Grim T. (2010). Blunt egg pole holds cues for alien egg discrimination: experimental evidence. *J. Avian Biol.* 41: 111-116.
- Požgayová M., Procházka P., Polačiková L., Honza M. (2010). Closer clutch inspection – quicker egg ejection: timing of host responses toward parasitic eggs. *Behav. Ecol.* 22: 46-51.
- Prather J. W., Cruz A., Weaver P. F., Wiley J. W. (2007). Effects of experimental egg composition on rejection by Village Weavers (*Ploceus cucullatus*). *Wilson. J. Ornithol.* 119: 703-711.
- Ruiz-Raya F., Soler M., Sánchez-Pérez L., Ibáñez-Álamo J. D. (2015). Could a factor that does not affect egg recognition influence the decision of rejection? *PloS One* 10: 0135624.
- Ruiz-Raya F., Soler M., Roncalli G., Abaurrea T., Ibáñez-Álamo J. D. (2016). Egg rejection in blackbirds *Turdus merula*: a by-product of conspecific parasitism or successful resistance against interspecific brood parasites? *Front. Zool.* 13: 16.
- Rutila J., Latja R., Kostela K. (2002). The common cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity nesting host, the redstart *Phoenicurus phoenicurus*: a peculiar cuckoo-host system? *J. Avian Biol.* 33: 414-419.
- Rothstein S. I. (1982). Mechanisms of avian egg recognition: which egg parameters elicit responses by rejecter species? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 11: 229-239.
- Rothstein S. I. (1990). A model system for coevolution: avian brood parasitism. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21: 481-508.
- Rothstein S. I., Robinson S. K. (1998). The evolution and ecology of avian brood parasites: 3-56. In: Rothstein S. I. A Robinson S. K., editors. *Parasitic birds and their hosts studies in coevolution*. Oxford University Press. New York.
- Samaš P., Grim T., Hauber M. E., Cassey P., Weidinger K., Evans K. L. (2013a). Ecological predictors of reduced avian reproductive investment in the southern hemisphere. *Ecography* 36: 809-818.
- Samaš P., Heryán J., Grim T. (2013b). Jak urbanizace ovlivňuje rozptylové chování kosa černého (*Turdus merula*)? *Sylvia* 49: 21-38.
- Samaš P., Hauber M. E., Cassey P., Grim T. (2014). Host responses to interspecific brood parasitism: a by-product of adaptations to conspecific parasitism? *Front. Zool.* 11: 34.

- Smith J. (2015). Your field guide is wrong: a bird's eye view of the world. *Srpen* 17. Dostupné z: <http://blog.nature.org/science/2015/08/17/field-guide-wrong-birds-eye-view-world-color-vision/>. Navštíveno 29.3.2017.
- Soler M., Fernández-Morante J., Espinosa F., Martín-Vivaldi M. (2012). Pecking but accepting the parasitic eggs may not reflect ejection failure: the role of motivation. *Ethology* 118: 662-672.
- Soler M., Ruiz-Raya F., Roncalli G., Ibáñez-Álamo J. D. (2015). Nest desertion cannot be considered an egg-rejection mechanism in a medium-sized host: an experimental study with the common blackbird *Turdus merula*. *J. Avian. Biol.* 46: 369-377.
- Spottiswoode C. N., Stevens M. (2010). Visual modeling shows that avian host parents use multiple visual cues in rejecting parasitic eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107: 8672-8676.
- Stevens M., Troscianko J., Spottiwoode C. N. (2013). Repeated targeting of the same hosts by a brood parasite compromises host egg rejection. *Nat. Commun.* 4: 2475.
- Stoddard M. C., Prum R. O. (2008). Evolution of avian plumage color in a tetrahedral color space: a phylogenetic analysis of new world buntings. *Amer. Nat.* 171: 755-776.
- Stoddard M. C., Stevens M. (2010). Pattern mimicry of host eggs by the common cuckoo, as seen through a bird's eye. *Proc. R. Soc. Lond. B* 277: 1387-1393.
- Stoddard M. C., Stevens M. (2011). Avian vision and the evolution of egg color mimicry in the common cuckoo. *Evolution* 65: 2004-2013.
- Stoddard M. C. (2016). Animal coloration and avian sensory ecology physiology and morphology. Dostupné z: <https://www.marycestoddard.com/>. Navštíveno 29. 3. 2017.
- Stokke B. G., Takasu F., Moksnes A., Røskaft E. (2007). The importance of clutch characteristics and learning for antiparasite adaptations in hosts of avian brood parasites. *Evolution* 61: 2212-2228.
- Székely T., Webb J. N., Houston A. I., McNamara J. M. (1996). An evolutionary approach to offspring desertion in birds. *Curr. Ornithol.* 13: 271-330.
- Trnka A., Prokop P. (2010). Does social mating system influence nest defence behaviour in great reed warbler (*Acrocephalus arundinaceus*) males? *Ethology* 116: 1075-1083.
- Victoria J. K. (1972). Clutch characteristics and egg discriminative ability of the African village weaverbird *Ploceus cucullatus*. *Ibis* 114: 367-376.
- Vliet J., Musters C.J.M., Ter Keurs W. J. (2009). Changes in migration behaviour of blackbirds *Turdus merula* from the Netherlands. *Bird Study* 56: 276-281.

- Vorobyev M., Osorio D., Bennett A. T. D., Marshall N. J., Cuthill I. C. (1998). Tetrachromacy, oil droplets and bird plumage colours. *J. Comp. Physiol. A* 183: 621-633.
- Weiszensteinová J. (2012). Metody odmítání parazitických vajec u hostitelů hnízdních parazitů. Univerzita Palackého v Olomouci, DP.
- Wood S. N. (2006). *Generalized Additive Models: an introduction with R*. CRC Press 16: 147-148.
- Wysocki D. (2005). Nest site selection in the urban population of Blackbirds *Turdus merula* of Szczecin (NW Poland). *Acta Ornithol.* 40: 61-69.
- Yom-Tov Y. (2001). An updated list and some comments on the occurrence of intraspecific nest parasitism in birds. *Ibis* 143: 133-143.

# 9. DIDAKTICKÁ SLOŽKA

## Hnízdní parazitizmus



Karel Gern

1

## Co je to hnízdní parazitizmus ?

- Příkladem koevolučního závodu ve zbrojení
- Parazit vs hostitel
- Mezidruhový vs vnitrodruhový



https://www.flickr.com/photos/ingridm/46142016/



https://www.flickr.com/photos/100001681/24763035966/

2

## Proč dochází k hnízdnímu parazitizmu?

- Kladou svá vejce do hnízd jiných druhů (hostitelů)
- Zbaví se tak : veškeré rodičovské zodpovědnosti
  - Životních výdajů na potomstvo
  - veškerou starostlivost přenechají hostitelským rodičům



https://www.flickr.com/photos/100001681/24763035966/

3

## Jak se bránit ?

- Odstranění parazitického vejce či mláděte z hnízda
- Schopnost rozpoznat parazitické vejce
- Předchozí zkušenost
- Vylepšování mimikry vejcí
- Vlastnosti vejcí : velikost, vzhled, skvrny, vzor



https://www.flickr.com/photos/100001681/24763035966/

4

## Jak studujeme hnízdní parazitizmus ?

- Modelová vejce
- Spektrometrie



https://www.flickr.com/photos/100001681/24763035966/

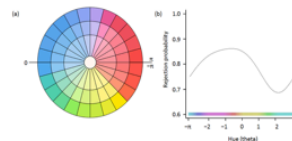


5



## Jak ptáci rozpoznávají cizí vejce ?

- Na základě rozdílu v odstínu barvy vejce



https://www.flickr.com/photos/100001681/24763035966/

6



## 10. PŘÍLOHY

Příloha obsahuje anglicky psaný rukopis ve formě odborné publikace, která vznikla na základě mé diplomové práce. Publikace vznikla za spolupráce čtyř spoluautorů. Spoluautoři podílející se na této publikaci jsou: Daniel Hanley, Karel Gern, Mark E. Haubert a Tomáš Grim. Autorské příspěvky jsou uvedeny v tomto přiloženém rukopisu. V rukopisu je uveden D. Hanley v části „sběr dat“, protože v rukopisu jsou zahrnuta další data z předešlých sezon a doplňují mnou sebraná data, která jsem použil ve své DP. Publikace má název Host responses to foreign eggs across the avian visual color space a v době odevzdání této diplomové práce se nachází v recenzním řízení v odborném časopise *The American Naturalist*.

## **Host responses to foreign eggs across the avian visual color space**

**Daniel Hanley<sup>1</sup>, Karel Gern<sup>2</sup>, Mark E. Hauber<sup>3,4</sup>, Tomáš Grim<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Biology, Long Island University - Post, Brookville, NY 11548, USA

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

<sup>3</sup>Department of Animal Biology, School of Integrative Biology, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA

<sup>4</sup>Department of Psychology, Hunter College and the Graduate Center of the City University of New York, New York, NY 10065, USA

Correspondence: [daniel.hanley@liu.edu](mailto:daniel.hanley@liu.edu)

Type: Article

Word count: 4,567

Number of Figures: 3

Number of Tables: 1



## **Abstract**

Despite extensive research on the sensory and cognitive processes of host recognition of avian brood parasites' eggs, the underlying perceptual mechanisms are not sufficiently understood. Most studies of host egg discrimination assume that hosts reject parasitic eggs from their nests based on the total perceived color differences between the parasitic egg and their own. A recent study used a continuous range of parasitic egg colors and discovered that hosts' were more likely to reject brown than blue-green parasitic eggs even when their absolute perceived color differences from the birds' own eggs' colors were similar. However, it remains unclear how these color-based biases are distributed throughout the avian perceivable color space. To address this, we built upon these previous studies by testing European blackbirds (*Turdus merula*) responses to model eggs spanning an unprecedented volume of the avian color space. We found that host decisions depended on human-visible hue of parasitic egg, but not either avian-visible UV-hue or saturation. Hosts generally accepted green and blue-green eggs more than any other colors. We suggest that future studies should replicate these novel approaches to experimental design in other bird species to determine how phylogenetically conserved such perceptual biases are among hosts of avian brood parasites.

*Keywords:* avian perception, brood parasitism, color vision, color categorization, European blackbird

## **Introduction**

Co-evolutionary arms-races are widespread in nature, and a driving force in evolution (Dawkins and Krebs 1979). Although there are many types of arms-races, those associated with the brood parasitism fall into two categories: intraspecific, in which many species of insects (e.g., bees *Osmia tricornis*, Field 1992), fishes (Taborsky et al. 1987) and birds (Yom-Tov 2001) lay their eggs inside the nests other individuals of the same species, and interspecific, in which these relationships manifest between different species, such as parasites and their hosts, for example parasite trematodes and their hosts mollusks (Becker 1980). A reciprocal arms-race can ensue because defense abilities select for counter adaptations to evade those defenses, and vice versa (Van Valen 1973).

Avian brood parasitism is a classic example of a co-evolutionary arms race between parasitic birds and their hosts (Rothstein 1990; Davies 2000; Stoddard and Hauber 2017). Brood parasitic birds lay their eggs in other birds' nests, leaving hosts to raise their offspring and provide all parental care (Rothstein 1990; Payne 1998). Brood parasitism selects for host defenses against parasitism, because if hosts fail to reject a parasite, they can lose some or all their offspring and only raise genetically unrelated parasite(s) (Davies 2000; Stoddard and Stevens 2011). Many hosts evade parasitism by one or more of a suite of adaptive defense behaviors (Feeney et al. 2014), of which the most commonly used strategy is rejecting foreign offspring from their nests as either eggs (reviewed in Medina and Langmore 2015) or young (reviewed in Grim 2006). Because hosts tend to reject less mimetic eggs, they inadvertently increase the fitness of those parasitic individuals that lay more mimetic eggs (Brooke and Davies 1988; Antonov et al. 2006; Spottiswoode and Stevens 2010; Bán et al. 2013; Samas et al. 2014; Hauber et al. 2015).

This arms-race makes a host's decision based on mimetic eggshell appearance by the parasite an increasingly difficult perceptual process; however, most eggs contain species- or

female-specific visual information that allow hosts to distinguish them (Lahti and Lahti 2002; Spottiswoode and Stevens 2010; Stoddard et al. 2014). Hosts can also draw upon prior experience with their own and brood parasitic eggs to make current egg rejection decisions and to improve future decisions (Hauber et al. 2006; Grim et al. 2014; Moskát et al. 2014). Eggshells provide the information through a range of cues, including size (Rothstein 1982), shape (Bán et al. 2011), pattern (Spottiswoode and Stevens 2010; Stoddard and Stevens 2011), and color (Cassey et al. 2008).

Recent work has determined that host rejection decisions are not simply based on the degree of perceived similarity (which is not necessarily synonymous with mimicry, see: Grim 2005) as traditionally thought (Stoddard and Stevens 2011). Instead host rejection responses are biased toward natural brown colors while eggs that are of a perceptually equally dissimilar blue-green color are more often accepted (Hanley et al. 2017; see also Dainson et al. 2017). Here, we examine host recognition responses across a larger avian color gamut than in the study of Hanley et al. (2017), where model egg color variation was limited to the naturally occurring range of avian eggshell coloration (described in Hanley et al. 2015a) and a single orthogonal axis of artificial egg colors, leaving large areas of avian color space unsampled. Thus, we here aim to determine a greater breadth and depth of these color-based biases than we (Hanley et al. 2017) or anyone else had done before. Specifically, majority of previous studies used only a single type of model or a few categories of model eggs which did not allow to assess host responses towards a continuum of egg colors (e.g., Davies and Brooke 1989; de la Colina et al. 2012; Bán et al. 2013; Hauber et al. 2015; Liang et al. 2016). A minority of previous studies used natural eggs, which naturally do show continuous variation (Lahti and Lahti 2002; Spottiswoode and Stevens 2010). However, such variation is typically limited and cannot be used to test host responses over much of the avian color space: even across whole avian phylogeny natural egg colors occupy only <0.1% of the avian perceivable

colour space (fig. 1 in Hanley et al. 2015a). Therefore, the use of artificial colors and models is inevitable and necessary if we are to understand avian color discrimination across avian visible color space (Hauber et al. 2015).

Specifically, we examined the behavioral responses of the European blackbird (*Turdus merula*) (hereafter: blackbird) to variably colored egg models spanning a broad array of colors (hues) and intensities (saturation). We predicted that hosts would be biased toward accepting blue-green egg colors, such that the rejection probability will increase as they deviate from blue-green colors (see fig. S3 in Hanley et al. 2017; see also Bán et al. 2013; Hauber et al. 2015). Based on results of previous studies (Honza et al. 2007; Cassey et al. 2008; Honza and Polačiková 2008) that showed that the song thrush (*Turdus philomelos*), a closely related congener of the blackbird, based their egg rejection decisions on ultraviolet (UV) colors, we predicted that greater perceived UV coloration will positively affect egg rejection rates by blackbirds. Finally, we predict that the rejection probability of model eggs will increase with increasing color saturation. Similar to hue and brightness, saturation represents a parameter perceivable to host birds that may differ between own and foreign eggs (or an internal template) and, consequently is valuable for hosts to inform their egg rejection decisions.

## **Material and Methods**

### ***Study area and experimental procedures***

To more fully sample across the avian perceivable color space, we complemented our previously collected data (Hanley et al. 2017) through a series of new experiments on blackbirds (total  $N = 155$ ). These new data were combined with identically collected data (Hanley et al. 2017) to provide a thorough coverage of avian color space. We collected these new data again in the city of Olomouc, Czech Republic (49°35'38" N, 17°15'3" E) between March and July in 2015 and 2016. We included 73 non-predated, non-deserted nests in our

analysis as well as data collected in 2014 on 82 nests in the same study population (Hanley et al. 2017). In 2015–2016 we additionally conducted 15 control trials where KG placed his hand over the nest for ten seconds without manipulating the clutch (Hanley et al. 2015b). We focused on nests that reached clutch completion without failure, due to desertion or predation.

We assumed blackbird females lay one egg per day and have a 13-day incubation period (Hanley et al. 2015b). In our population, clutches typically contain 4 or 5 eggs (Samaš et al. 2013), and we added experimental eggs  $2.13 \pm 0.17$  days (mean  $\pm$  SE) after the last laid egg. Similar to most other typical and potential Common Cuckoo (*Cuculus canorus*) hosts, blackbirds do not vary their egg rejection responses between laying and incubation stages (Grim et al. 2011 and references therein), including in our study population (Grim et al. 2014). To avoid influencing host rejection response (Hanley et al. 2015c), we tried to add the experimental egg when the host parents had flown away from the nest and left it unguarded. We did not always manage to do so; therefore, we statistically tested if flushing the host female affected rejection rates.

All of experimental nests were checked daily, for six days to determine if the egg was accepted or rejected (following Grim et al. 2011). Nests deserted during this 6-day period ( $N = 9$ ) were excluded (leaving 73 responses, either acceptances or ejections, to 73 unique colors), because nest desertion has been shown to be not a specific response to parasitism when a blackbird female was parasitized by artificial egg models in our and other populations (Samaš et al. 2014, Soler et al. 2015). Data from new 15 control nests supported these previous conclusions, showing that desertion rates at experimental nests (11%,  $N = 82$ , i.e., 73 responses and 9 desertions) did not differ from desertion rates at control nests (0%,  $N = 15$  control nests; Odds ratio = 0,  $CI_{0.95} = 0.00$  to 3.23,  $P = 0.35$ ). These rates were similar to those calculated by previous studies which showed that desertion rates of model eggs varied from ~6% to ~17% for blue and blue model eggs covered in brown spots, respectively (data from

fig. 3 in Samas et al. 2014) and did not differ from desertion rates at control nests in the same populations (~13%; data from fig. A1b in Appendices in Samas et al. 2014). Given our results (which are consistent with previous findings), and since only nine nests were deserted in the present study, we decided not to run another set of analyses including desertions as response (such re-analyses did not change results in previous studies: Samas et al. 2014).

### ***Experimental egg models***

Models were manufactured by Zora Šebestová who was commissioned to produce identical eggs to those she has supplied for all our blackbird studies in Olomouc and elsewhere previously (Grim et al. 2011, 2014; Samas et al. 2014; Hanley et al. 2015a, 2015b, 2017). These egg models were roughly the size of cuckoo eggs found in the nests of common redstarts *Phoenicurus phoenicurus* (mean  $\pm$  SD = 22.4 x 16.9 mm; Hanley et al. 2015b). They were either painted to mimic both natural eggshell colors (Hanley et al. 2015a) and unnatural color ranges (Hanley et al. 2017). However, unlike our previous study, our current goal was to more thoroughly sample the color space; therefore, we constructed a color wheel containing 73 colors, based on 6 main hues (blue, cyan, green, yellow, red and magenta) and white (fig. 2). Hues were mixed together at variable proportions with the next most similar hue; for example, 75% blue and 25% cyan, 50% blue and 50% cyan and 25% blue and 75% cyan. This resulted in 24 unique hues, for which each was displayed at three distinct shades created by mixing each paint mixture with variable proportions of white, such that the hue was pure (i.e., 0% white), 25% white, or 50% white (i.e., variable saturation). In addition, we included a single white egg model representing the center of the color wheel (fig. 2). Each egg model was painted using a single unique color.

### *Color measurement and visual models*

We used a spectrometer (Jaz, Ocean Optics, Dunedin, Florida) with a pulsed xenon light source (Jaz PX) and a white reflectance standard (WS-1), for reflectance spectrometry to objectively measure color. We then used the “pavo” R package (Maia et al. 2013) to calculate the relative sensitivity of each of the blackbird’s photoreceptors (Govardovskii et al. 2000; Hart et al. 2000), while accounting for oil droplet cut-offs (Hart and Vorobyev 2005), to make our procedures identical to those of Hanley et al. (2017). This neural noise-limited visual model (Vorobyev et al. 1998; Vorobyev and Osorio 1998) integrates stimulus reflectance, photoreceptor sensitivity, and a standard metric of daylight illumination to generate relative quantum catch estimates. We transformed quantum catch data into an avian tetrahedral color space (Stoddard & Prum 2008; Endler & Mielke 2005). This color space encompasses the range of colors visible to birds (including human-visible colors and UV-colors invisible humans) and such a chromaticity diagram lacks any brightness information (Stoddard and Prum 2011). The tetrahedral space is defined by four apices corresponding with each photoreceptor (fig. 1). Any color can be plotted within this space, and will be defined by its relative stimulation of each of these four photoreceptors, such that a stimulus that equally stimulates all four photoreceptors will be plotted at the achromatic point in the center of the tetrahedral space. Within this space the following spherical coordinates are sufficient to define the location of any color (fig. 1): *theta* represents the hue or colors around the color wheel (range:  $-\pi$  to  $\pi$ ), *phi* the angle from the UV receptor (range:  $-\pi/2$  to  $\pi/2$ ), and *r* (hereafter saturation) represents the intensity of the color, which is measured as the relative distance from the achromatic point (range: 0 to 1). Here *theta* (hereafter hue) represents human visible hues, while *phi* (hereafter UV-hue) represents a second hue dimension that would be visible to birds, but invisible to humans.

We used an anodized aluminum sleeve at the end of the probe to maintain a consistent distance between the measurement surface and the spectrometer's fiber optic cable. Unfortunately, during the course of our experiment this probe tip slid slightly, thus changing the distance between the probe tip and the egg. This altered the brightness of the measurements, and therefore, we instead measured the same paint mixtures that were applied to water color paper. First, we painted each color on water color paper 20 times and measured every color patch 3 times, taking the average of each color. We also measured 70 of the 73 colored eggs. These eggs were measured six times each (twice on the blunt pole, equator, and sharp pole). The colorimetric values for these colors were very similar to those measured on the paper (hue:  $r_s = 0.91$ ,  $CI_{0.95} = 0.86$  to  $0.94$ ,  $N = 70$ ,  $P < 0.0001$ ; UV-hue:  $r_s = 0.95$ ,  $CI_{0.95} = 0.92$  to  $0.97$ ,  $N = 70$ ,  $P < 0.0001$ ; saturation:  $r_s = 0.96$ ,  $CI_{0.95} = 0.94$  to  $0.98$ ,  $N = 70$ ,  $P < 0.0001$ ). The previously collected data used a different spectrometer (Hanley et al. 2017); therefore, to ensure comparability between the datasets prior to analysis all spectra were normalized such that the maximum reflectance was set to 100% for all spectra. This had no influence on the coordinates within a color space because the tetrahedral color space omits all brightness information (Stoddard and Prum 2008).

### ***Statistical analyses***

We examined whether rejection of the foreign egg can be predicted by the spherical parameters defining colors within the tetrahedral space. Because hue values represent circular data, we used a binomial generalized additive models (GAM) to predict host responses (acceptance or ejection), because these models, in contrast to GLM, can accommodate circular data. We conducted these models using the 'gam' function in the 'mgcv' package version 1.8-15 in R software (R Core Team 2016). To accommodate the circular nature of hue, we used a penalized cubic regression spline as a smoothing term, which produces a



smooth function such that the extreme values of hues at  $-\pi$  and  $\pi$  would match up (Wood 2006). Unlike hue, UV-hue and saturation were not circular and therefore UV-hue and saturation were included as fixed effects in the predictive model.

We performed a backward stepwise elimination procedure (following recommendations of Grafen and Hails 2002) to test for other potentially influential variables: clutch size (continuous; mean  $\pm$  SE:  $4.33 \pm 0.05$  eggs), whether the female was flushed or not (categorical; yes or no), nest age (continuous; mean  $\pm$  SE:  $6.46 \pm 0.17$  days), and year of the experiment (categorical; 2014, 2015, or 2016). We also included the laying date of the first egg (hereafter, laying date; continuous; 1 = 1<sup>st</sup> January), which we centered within each year to avoid seasonal biases (see Grim et al. 2011; Hanley et al. 2015c). We retained our main predictors of interest (hue, UV-hue, and saturation) in all steps of this selection process. We acknowledge that *P*-values from such selection procedures do not account for variable selection uncertainty (Marra and Wood 2011) and therefore should be viewed with caution; as always, more emphasis should be placed on effect sizes and confidence intervals (Nakagawa et al. 2007). We therefore also present the full model which includes all the predictors (Forstmeier and Schielzeth 2011). In GAM models, the dependent variable can be estimated using a smoothing function rather than using traditional parametric terms (Lehman et al. 2002); thus, for hue, which is a circular predictor, GAM does not estimate standard parametric terms (slope, standard error, and *z*) as it does for the fixed effects. All analyses were conducted in R v. 3.1.2.

## **Results**

As predicted, the hue of the foreign eggs predicted rejection behavior in blackbird females (Table 1). In contrast, neither UV-hue nor saturation (*r*) predicted host egg rejection rates (Table 1).

Specifically, blue to green egg models (i.e., including blue-green egg models) were accepted more compared to other colors, especially egg models that had magenta through orange colors (fig. 3). The hue (blue-green at 2.26, fig. 3) least likely to be rejected showed a rejection rate of 66% whereas the most often rejected hue (orange at  $-0.34$ , fig. 3) showed a rejection rate of 86%.

No other variables assessed in our full or final models predicted significantly the pattern of rejection behaviors in blackbird females (Table 1). Inclusion of these non-significant potential confounders did not affect the conclusion that hue is a statistically significant predictor of blackbird responses to variably colored foreign eggs (see full model in Table 1).

## **Discussion**

We demonstrate that the blackbird responses to foreign eggs are influenced by the hue of experimental foreign egg. Blackbird females often accepted blue, blue-green, and green eggs, relative to other colors. Eggs colored from magenta through yellow were especially likely to be rejected (fig. 3). This range of hue encompasses the brown coloration found on birds' eggs (Hanley et al. 2015a). This may be the reason why these colors were strongly rejected in the current, as well as previous studies (Hanley et al. 2017). Interestingly, despite examining a range of potential color traits (hue, UV-hue, and saturation) and context-dependence metrics (e.g., host female presence at the start of experiment), only hue significantly predicted host response. Contrary to our prediction, neither UV-hue nor saturation of eggshell colors influenced host decisions.

Our results on hue discrimination by blackbirds are similar to those found in other model species and for other discrimination tasks. Research on hue discrimination in birds has found that pigeons will classify color stimuli into two hues classes, independent of the

training light color (Wright and Cumming 1971; Jacobs 1981), and these correspond with the pigeon's wavelength discrimination function (Wright 1972). Further work on color categorization in poultry has documented a strong foraging preference for orange over blue (Ham and Osorio 2007). This strong response along a brown-blue dimension is consistent with previous findings on host egg discrimination (Hanley et al. 2017; see also Dainson et al. 2017); however, in these studies hosts responded by ejecting brown eggs over blue-green ones. In addition, the hue discrimination ability of two passerine species (*Motacilla flava* and *Luscinia svecica*) was best when discriminating orange colors (brown eggs are effectively dark orange: see Palmer and Schloss 2010), and poorest for blue-green colors (Peiponen 1992). Several hosts of brood parasites also respond strongly to orange/brown colors (Bán et al. 2013; Hanley et al. 2017), which might be due to an inherent heightened discriminability of these colors. A bird's color perception is markedly different than our own and therefore birds may rely on hue alone in making these decisions. Unfortunately, decisions based on hue are prone to recognition errors in the face of shifting light levels. This is a phenomenon known as the Bezold-Brücke hue shift where the hue of a stimulus changes along with the intensity of the light, and it is known to occur in birds (Wright 1976), which might explain why (at least in part) hosts that inspect their eggs for longer periods of time are more likely to reject those eggs than those that inspect the eggs only for a short time (Požgayová et al. 2011, but see Honza et al. 2004).

In addition to hue, birds have an additional dimension to their color vision leading to a potential UV-hue discrimination. It is unclear why the blackbird did not use UV-hue when discriminating eggs in this study, because ultraviolet signals have been found to be important for other hosts (Honza et al. 2007; Cassey et al. 2008; Honza and Polačiková 2008; Šulc et al. 2016). However, methods differed between our and these studies: previous studies either quantified UV-reflectance or experimentally varied UV independently of other parts of the

spectrum, whereas we examined UV-hue (as the angle  $\phi$ ). Generally, hosts may rely on perceived differences in absolute UV signals rather than UV-hue, which like hue is a descriptor of their visual space. Alternatively, the availability of UV light in this study, either the standardized illuminant used in the visual models or the reflectance of the paints themselves, may have been relatively low. Lastly, ultraviolet light contributes relatively less to solar irradiance than other wavelengths (Endler 1993), and diurnal variation in ultraviolet light is orders of magnitude greater than variation in human visible (400–700) light (Fligge et al. 2001), which potentially makes UV-hue an unreliable signal, at least in some bird species. We are unaware of any study that quantified light conditions at host nests at the biologically relevant time when hosts examine the clutch and make decisions to reject the foreign egg; previous studies either quantified only host clutch inspection behavior but not light conditions (e.g., Honza et al. 2004), or light conditions but not the inspection behavior (e.g., Honza et al. 2011). Future studies should record spectral irradiance at the nest at the time of a host's rejection response.

The lack of response to model eggs' saturation was surprising. One explanation for why blackbirds did not respond to saturation was because the variable lighting conditions found at every nest influenced each birds' decision in unique, site-specific ways (Stevens et al. 2013). Another explanation may be that a blackbird's ability to discriminate variation in saturation levels is not as strong as their ability to discriminate hue. In fact, Peiponen (1992) found that two passerines could more successfully discriminate hues than saturation levels. The intricacies of host recognition mechanisms have not yet been fully explored in any avian species; however, it is quite probable that hosts rely more heavily on some types of color information, such as hue, than on other types of color information, such as saturation. It is also possible that only certain wavelength ranges are used for egg discrimination (Cherry and

Bennett 2001), and that these result in the heightened or depressed rejection responses we detected here.

In general, the blackbirds' rejection rates were high across all colors which corresponds with previous studies using eggs colored in variable number of categories in various geographically independent populations (Davies and Brooke 1989; Moksnes et al. 1991; Polačiková and Grim 2010; Grim et al. 2011; Samas et al. 2014; Soler et al. 2015). However, considering that their eggs are speckled (fig. 1 in Soler et al. 2015) and the model eggs were not, this was not a surprising finding. Recent research on the American robin (*Turdus migratorius*), a related host species, has found that the chromatic contrast of spot colors to eggshell ground coloration was a significant predictor of rejection responses (Dainson et al. 2017). Future research should explore how spots modulate these hue-based rejection responses.

An ability to make decisions based upon hue alone may be adaptive for a number of reasons. First, birds' eggs take on a very limited range of hues (Hanley et al. 2015a) making decisions regarding egg color relatively simple. Second, if females experience pigment limitation across the laying sequence (uniformly with respect to both their eggshell pigments: biliverdin and protoporphyrin), or after multiple brood attempts, the ability to base decisions on hue discrimination, rather than saturation, may reduce the chance of rejection errors (i.e., rejecting their own eggs). Third, hue-based recognition does not necessarily rely on the presence of an own-egg in the nest for visual comparison, thereby allowing template-based recognition mechanisms to be utilized in the case of multiple parasitisms (Bán et al. 2013).

Such hue-based decisions may be the result of the underlying neural opponency mechanisms governing color vision (Cuthill 2006). A single cone (e.g., sensitive to blue light) might produce a weak signal in response to an intense light to which it is slightly sensitive (e.g., a near ultraviolet light). The same cone may produce an equally weak signal in response

to a faint light to which it is strongly sensitive (e.g., a blue light). In isolation, the output from this single cone cannot differentiate these two signals. Instead, the outputs of two cones (e.g., sensitive to ultraviolet and blue light) are compared in what is referred to as an opponent channel. Osorio et al. (1999) suggested three opponent mechanisms for avian color discrimination, and it is possible that hosts of avian brood parasites rely on a single chromatic opponency mechanism for egg rejection decision. For example, one such channel compares the output of the medium and long-wave sensitive cones with the output of short wave sensitive cones. This channel would provide valuable information on eggs that vary from blue-green to brown (which covers the gradient of natural egg coloration across whole avian phylogeny: Hanley et al. 2015a), and may explain why hosts appear to classify acceptable eggs as blue-green and unacceptable eggs as other colors, especially brown.

Our findings provide insights into the recognition process that hosts use for egg discrimination decisions. Here, we quantified avian-specific color descriptors (hue, UV-hue, and saturation) to describe host responses. These findings show that blackbirds classify egg colors based on hue only. These findings should encourage future studies examining host responses across their visual spaces in a wide array of host species to determine whether these mechanisms might be more general across avian phylogenetic diversity. Ideally, this future research should examine a range of hosts which face brood parasitism from both conspecifics (Samas et al. 2014) and heterospecifics parasites (Stoddard and Stevens 2011). It would be extremely useful to determine whether differing motivation levels (*sensu* Soler et al. 2012), experiences over different time-scales (Grim et al. 2014; Moskát et al. 2014), or avian perceptual-cognitive limitations (Peiponen 1992) govern host biases to remove a brown egg rather than an equally dissimilar green parasitic egg or an egg of an entirely novel color. Future studies would also benefit from taking into account other sources of selection on both host and parasite egg coloration, namely those unrelated to parasitism *per se* (e.g., Lahti and

Ardia 2016). These research avenues and more comprehensive attention to alternative selective pressures would allow to disentangle novel, and hitherto unexplored, selective constraints on the evolution of parasitic egg coloration.

### **Acknowledgements**

Our research methods were approved by the Research Ethics Committee of Palacký University (45979/2001–1020), and the research was done under licenses from the Department of Environment of the City of Olomouc (SMOL/018342/2014/OZP/PKZ/Kol, to TG). For funding, we thank the European Social Fund and the state budget of the Czech Republic (CZ.1.07/2.3.00/30.0041, to TG and DH), the Human Frontier Science Program (RGY83/2012, to MEH and TG) and Internal Grant Agency of Palacký University (IGA\_PrF\_2016\_017 and IGA\_PrF\_2017\_023, to TG and KG).

### Author Contributions

Concept: DH, MEH.

Experimental design: DH.

Data collection: KG, DH.

Data analysis: DH, PS.

Funding acquisition: TG, MEH.

Permits acquisition: TG.

Writing – original draft: KG, DH.

Writing – review & editing: DH, TG, MEH.

## References

- Antonov, A., B. G. Stokke, A. Moksnes, and E. Røskft. 2006. Egg rejection in marsh warblers (*Acrocephalus palustris*) heavily parasitized by common cuckoos (*Cuculus canorus*). *Auk* 123:419–430.
- Bán, M., Z. Barta, A. R. Muñoz, F. Takasu, H. Nakamura, and C. Moskát. 2011. The analysis of common cuckoo's egg shape in relation to its hosts' in two geographically distant areas. *Journal of Zoology* 284:77–83.
- Bán, M., C. Moskát, Z. Barta, and M. E. Hauber. 2013. Simultaneous viewing of own and parasitic eggs is not required for egg rejection by a cuckoo host. *Behavioral Ecology* 24:1014–1021.
- Becker, W. 1980. Metabolic interrelationship of parasitic trematodes and molluscs, especially *Schistosoma mansori* in *Biomphalaria glabrata*. *Zeitschrift Für Parasitenkunde* 63:101–111.
- Brooke, M. L., and N. B. Davies. 1988. Egg mimicry by cuckoos *Cuculus canorus* in relation to discrimination by hosts. *Nature* 335:630–632.
- Cassey, P., M. Honza, T. Grim, and M. E. Hauber. 2008. The modelling of avian visual perception predicts behavioural rejection responses to foreign egg colours. *Biology Letters* 4:515–517.
- Cherry, M. I., and T. D. Bennett. 2001. Egg colour matching in an African cuckoo, as revealed by ultraviolet-visible reflectance spectrophotometry. *Proceedings of the Royal Society B* 268:565–571.
- de la Colina, M. A., L. Pompilio, M. E. Hauber, J. C. Reboreda, and B. Mahler. 2012. Different recognition cues reveal the decision rules used for egg rejection by hosts of a variably mimetic avian brood parasite. *Animal Cognition* 15:881–889.
- Cuthill, I. C. 2006. Color perception. In: Hill G. E., McGraw K. J. (Eds.): *Bird coloration: Mechanism and measurements*, HUP London 1.
- Dainson, M., M. E. Hauber, A. V. López, T. Grim, and D. Hanley. 2017. Does contrast between eggshell ground and spot coloration affect egg rejection? *The Science of Nature* (doi: 10.1007/s00114-017-1476-2)
- Davies, N. B., and M. L. Brooke. 1989. An experimental study of co-evolution between the cuckoo, *Cuculus canorus*, and its hosts. II. Host egg markings, chick discrimination and general discussion. *Journal of Animal Ecology* 58:225–236.
- Davies, N. 2000. *Cuckoos, cowbirds and other cheats*. T&AD Poyser, London.



- Dawkins, R., and J. R. Krebs. 1979. Arms races between and within species. *Proceedings of the Royal Society B* 205:489–511.
- de la Colina, M. A., L. Pompilio, M. E. Hauber, J. C. Reboreda, and B. Mahler. 2012. Different recognition cues reveal the decision rules used for egg rejection by hosts of a variably mimetic avian brood parasite. *Animal Cognition* 15:881–889.
- Endler, J. A. 1993. The color of light in forests and its implications. *Ecological Monographs* 63:1–27
- Feeney, W. E., J. A. Welbergen, and N. E. Langmore. 2014. Advances in the study of coevolution between avian brood parasites and their host. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 45:227–246.
- Field, J. 1992. Intraspecific parasitism as an alternative reproductive tactic in nest-building wasps and bees. *Biological Reviews* 67:79–126.
- Fligge, M., S. K. Solanki, J. M. Pap, C. Fröhlich, and C. Wehrli. 2001. Variations of solar spectral irradiance from near UV to the infrared—measurements and results. *Journal of Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics* 63:1479–1487.
- Forstmeier, W., and H. Schielzeth. 2011. Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner’s curse. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 65:47–55.
- Govardovskii, V.I., N. Fyhrquist, T. Reuter, D. G. Kuzmin, K. Donner. 2000. In search of the visual pigment template. *Visual Neuroscience* 17: 509–528.
- Grafen, A., and R. Hails. 2002. *Modern statistics for the life sciences*. Oxford University Press, Oxford.
- Grim, T. 2005. Mimicry vs similarity which resemblances between brood parasites and their hosts are mimetic and which are not? *Biological Journal of the Linnean Society* 84:69–78.
- Grim, T. 2006. The evolution of nestling discrimination by hosts of parasitic birds: why is rejection so rare? *Evolutionary Ecology Research* 8:785–802.
- Grim, T., P. Samaš, and M. E. Hauber. 2014. The repeatability of avian egg ejection behaviors across different temporal scales, breeding stages, female ages and experiences. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 68:749–759.
- Grim, T., P. Samaš, C. Moskát, O. Kleven, M. Honza, A. Moksnes, E. Røskaft, and B. G. Stokke. 2011. Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts? *Journal of Animal Ecology* 80:508–518.

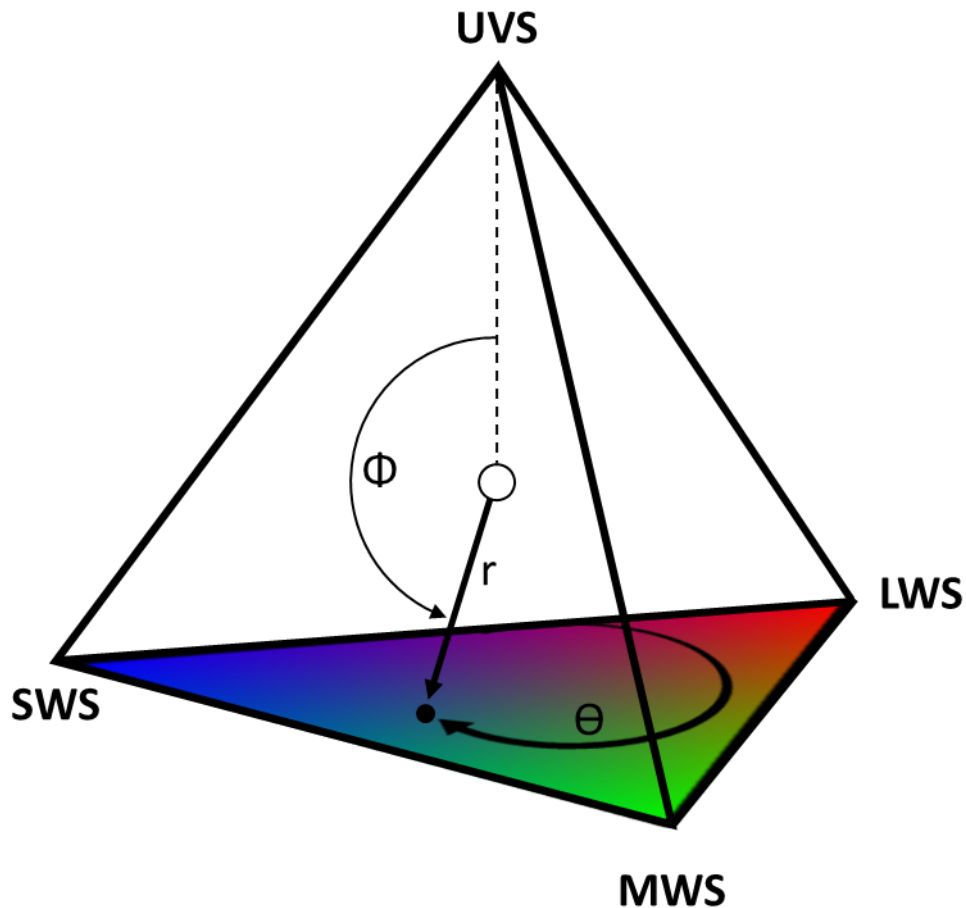
- Ham, A. D., and D. Osorio. 2007. Colour preferences and colour vision in poultry chicks. *Proceedings of the Royal Society B* 274:1941–1948.
- Hanley, D., T. Grim, P. Cassey, and M. E. Hauber. 2015a. Not so colourful after all: eggshell pigments constrain avian eggshell colour space. *Biology Letters* 11:20150087.
- Hanley, D., P. Samaš, M. E. Hauber, and T. Grim. 2015b. Who moved my eggs? An experimental test of the egg arrangement hypothesis for the rejection of brood parasitic eggs. *Animal Cognition* 18:299–305.
- Hanley, D., P. Samaš, J. Heryán, M. E. Hauber, and T. Grim. 2015c. Now you see it, now you don't: flushing hosts prior to experimentation can predict their responses to brood parasitism. *Scientific Reports* 5:9060.
- Hanley, D., T. Grim, B. Igić, P. Samaš, A. V. Lopéz, M. D. Shawkey, and M. E. Hauber. 2017. Egg discrimination along a gradient of natural variation in eggshell coloration. *Proceedings of the Royal Society B* 284:20162592.
- Hart, N.S., J. C. Partridge, I. C. Cuthill, A. T. D. Bennett. 2000. Visual pigments, oil droplets, ocular media and cone photoreceptor distribution in two species of passerine bird: the blue tit (*Parus caeruleus* L.) and the blackbird (*Turdus merula* L.). *Journal of Comparative Physiology A*, 186: 375–387.
- Hart, N. S. and M. Vorobyev. 2005. Modelling oil droplet absorption spectra and spectral sensitivities of bird cone photoreceptors. *Journal of Comparative Physiology A* 191:381–392.
- Hauber, M. E., C. Moskát, and M. Bán. 2006. Experimental shift in hosts acceptance threshold of inaccurate-mimic brood parasite eggs. *Biology Letters* 22:177–180.
- Hauber, M. E., L. Tong, M. Bán, R. Croston, T. Grim, G. I. N. Waterhouse, M. D. Shawkey, A. B. Barron, and C. Moskát. 2015. The value of artificial stimuli in behavioral research: making the case for egg rejection studies in avian brood parasitism. *Ethology* 121:521–528.
- Honza, M., T. Grim, M. Čapek, A. Moksnes, and E. Røskaft. 2004. Nest defence, enemy recognition and nest inspection behaviour of experimentally parasitised reed warblers *Acrocephalus scirpaceus*. *Bird Study* 51:256–263.
- Honza, M., and L. Polačiková. 2008. Experimental reduction of ultraviolet wavelengths reflected from parasitic eggs affects rejection behaviour in the blackcap *Sylvia atricapilla*. *Journal of Experimental Biology* 211:2519–2523.

- Honza, M., L. Polačiková, and P. Procházka. 2007. Ultraviolet and green parts of the colour spectrum affect egg rejection in the song thrush (*Turdus philomelos*). *Biological Journal of the Linnean Society* 92:269–276.
- Honza, M., P. Procházka, K. Morongová, M. Čapek, and V. Jelínek. 2011. Do nest light conditions affect rejection of parasitic eggs? A test of the light environment hypothesis. *Ethology* 117:539–546.
- Jacobs, G. H. 1981. *Comparative color vision*. Academic Press, New York.
- Jones, C., and D. Osorio. 2004. Discrimination of oriented visual textures by poultry chicks. *Vision Research* 44:83–89.
- Lahti D. C., and D. R. Ardia. 2016. Shedding light on bird egg color: pigment as parasol and the dark car effect. *American Naturalist* 187:547–563.
- Lahti, D. C., and A. R. Lahti. 2002. How precise is egg discrimination in weaverbirds? *Animal Behaviour* 63:1135–1142.
- Lehmann, A., J. McC. Oerton, and J. R. Leathwick. 2002. GRASP: generalized regression analysis and spatial prediction. *Ecological Modelling* 157:189–207.
- Liang, W., A. P. Møller, B. G. Stokke, C. Yang, P. Kovařík, H. Wang, C.-T. Yao, P. Ding, X. Lu, A. Moksnes, E. Røskaft, and T. Grim. 2016. Geographic variation in egg ejection rate by great tits across 2 continents. *Behavioral Ecology* 27:1405–1412.
- Maia, R., C. M. Eliason, P. Bitton, S. M. Doucet, and M. D. Shawkey. 2013. pavo: an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. *Methods in Ecology and Evolution* 4:906–913.
- Marra, G., and S. N. Wood. 2011. Practical variable selection for generalized additive models. *Computational Statistics and Data Analysis* 55:2372–2387.
- Medina, I., and N. E. Langmore. 2015. The costs of avian brood parasitism explain variation in egg rejection behaviour in hosts. *Biology Letters* 11:20150296.
- Moksnes, A., E. Røskaft, A. T. Braa, L. Korsnes, H. M. Lampe, and H. C. Pedersen. 1991. Behavioural responses of potential hosts towards artificial cuckoo eggs and dummies. *Behaviour* 116:64–89.
- Moskát, C., M. Bán, and M. E. Hauber. 2014. Naïve hosts of avian brood parasites accept foreign eggs, whereas older hosts fine-tune foreign egg discrimination during laying. *Frontiers in Zoology* 11:45.
- Osorio, D., M. Vorobyev, and C. D. Jones. 1999. Colour vision of domestic chicks. *Journal of Experimental Biology* 202:2951–2959.

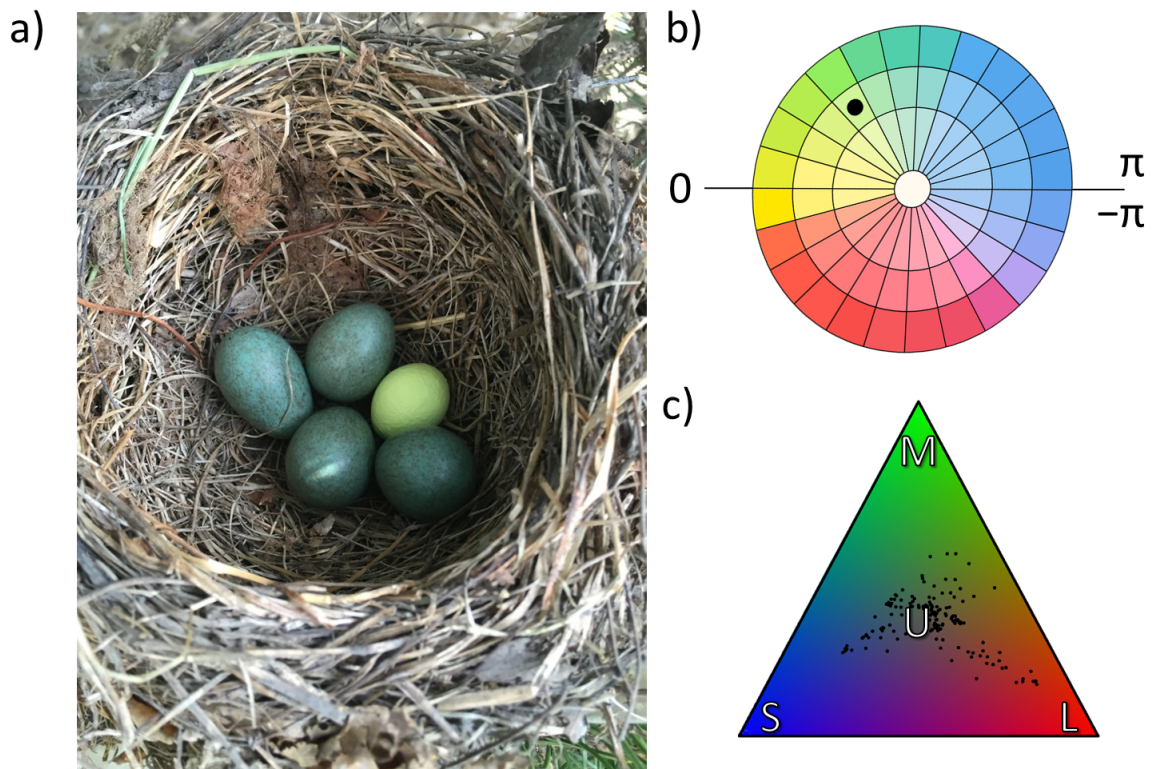
- Palmer, S.E., and K.B. Schloss. 2010. An ecological valence theory of human color preference. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:8877–888.
- Payne, R. B. 1998. Brood parasitism in birds: strangers in the nest. *Bioscience* 48: 377–386.
- Peiponen, V. A. 1992. Colour discrimination of two passerine bird species in the Munsell system. *Ornis Scandinavica* 23:143–151.
- Polačiková, L., and T. Grim. 2010. Blunt egg pole holds cues for alien egg discrimination: experimental evidence. *Journal of Avian Biology* 41:111–116.
- Požgayová, M., P. Procházka, L. Polačiková, and M. Honza. 2011. Closer clutch inspection – quicker egg ejection: timing of host responses toward parasitic eggs. *Behavioral Ecology* 22:46–51.
- Rothstein, S. I. 1982. Mechanisms of avian egg recognition: which egg parameters elicit responses by rejecter species? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 11:229–239.
- Rothstein, S. I. 1990. A model system for coevolution: avian brood parasitism. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:481–508.
- Rutila, J., R. Latja, and K. Kostela. 2002. The common cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity nesting host, the redstart *Phoenicurus phoenicurus*: a peculiar cuckoo-host system? *Journal of Avian Biology* 33:414–419.
- Samaš, P., T. Grim, M. E. Hauber, P. Cassey, K. Weidinger, and K. L. Evans. 2013. Ecological predictors of reduced avian reproductive investment in the southern hemisphere. *Ecography* 36:809–818.
- Samaš, P., M. E. Hauber, P. Cassey, and T. Grim. 2014. Host responses to interspecific brood parasitism: a by-product of adaptations to conspecific parasitism? *Frontiers in Zoology* 11:34.
- Soler, M., J. Fernández-Morante, F. Espinosa, and M. Martín-Vivaldi. 2012. Pecking but accepting the parasitic eggs may not reflect ejection failure: the role of motivation. *Ethology* 118:662–672.
- Soler, M., F. Ruiz-Raya, G. Roncalli, and J. D. Ibáñez-Álamo. 2015. Nest desertion cannot be considered an egg-rejection mechanism in a medium-sized host: an experimental study with the common blackbird *Turdus merula*. *Journal of Avian Biology* 46:369–377.
- Soler, M., F. Ruiz-Raya, G. Roncalli, and J. D. Ibáñez-Álamo. 2017. Relationships between egg-recognition and egg-ejection in a grasp-ejector species. *PLoS ONE* 12:e0166283.

- Spottiswoode, C. N., and M. Stevens. 2010. Visual modeling shows that avian host parents use multiple visual cues in rejecting parasitic eggs. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107:8672–8676.
- Stevens, M., J. Troscianko, and C. N. Spottiswoode. 2013. Repeated targeting of the same hosts by a brood parasite compromises host egg rejection. *Nature Communications* 4:2475.
- Stoddard, M. C., and M. E. Hauber. 2017. Colour, vision and coevolution in avian brood parasitism. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 372:20160339.
- Stoddard, M. C., R. M. Kilner, and C. Town. 2014. Pattern recognition algorithm reveals how birds evolve individual egg pattern signatures. *Nature Communications* 5:4117.
- Stoddard, M. C., and R. O. Prum. 2008. Evolution of avian plumage color in a tetrahedral color space: a phylogenetic analysis of New World buntings. *American Naturalist* 171:755–776.
- Stoddard, M. C., and R. O. Prum. 2011. How colorful are birds? Evolution of the avian plumage color gamut. *Behavioral Ecology* 22:1042–1052.
- Stoddard, M. C., and M. Stevens. 2011. Avian vision and the evolution of egg color mimicry in the common cuckoo. *Evolution* 65:2004–2013.
- Stokke, B. G., F. Takasu, A. Moksnes, and E. Røskaft. 2007. The importance of clutch characteristics and learning for antiparasite adaptations in hosts of avian brood parasites. *Evolution* 61:2212–2228.
- Šulc, M., P. Procházka, M. Capek, and M. Honza. 2016. Birds use eggshell UV reflectance when recognizing non-mimetic parasitic eggs. *Behavioral Ecology* 27:677–684.
- Taborsky, M., B. Hudde, and P. Wirtz. 1987. Reproductive behaviour and ecology of *Symphodus (Crenilabrus) ocellatus*, a European wrasse with four types of male behaviour. *Behaviour* 102:82–117.
- Van Valen, L. 1973. A new evolutionary law. *Evolutionary Theory* 1:1–30.
- Vorobyev M., D. Osorio, A. T. D. Bennett, N. J. Marshall, and I. C. Cuthill. 1998. Tetrachromacy, oil droplets and bird plumage colours. *Journal of Comparative Physiology A* 183:621–633.
- Wood, S. N. 2006. *Generalized Additive Models: an introduction with R*. CRC Press 16:147–148.
- Wood, S. N. 2011. Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society B* 73:3–36.

- Wright, A. A. 1972. Psychometric and psychophysical hue discrimination functions for the pigeon. *Vision Research* 12:1447–1464.
- Wright, A. A. 1976. Bezold- Brücke hue shift functions for the pigeon. *Vision Research* 16:765–774.
- Wright, A. A., and W. W. Cumming. 1971. Color-naming functions for the pigeon. *Journal of the experimental analysis of behavior* 15:7–17.
- Yom-Tov, Y. 2001. An updated list and some comments on the occurrence of intraspecific nest parasitism in birds. *Ibis* 143:133–143.

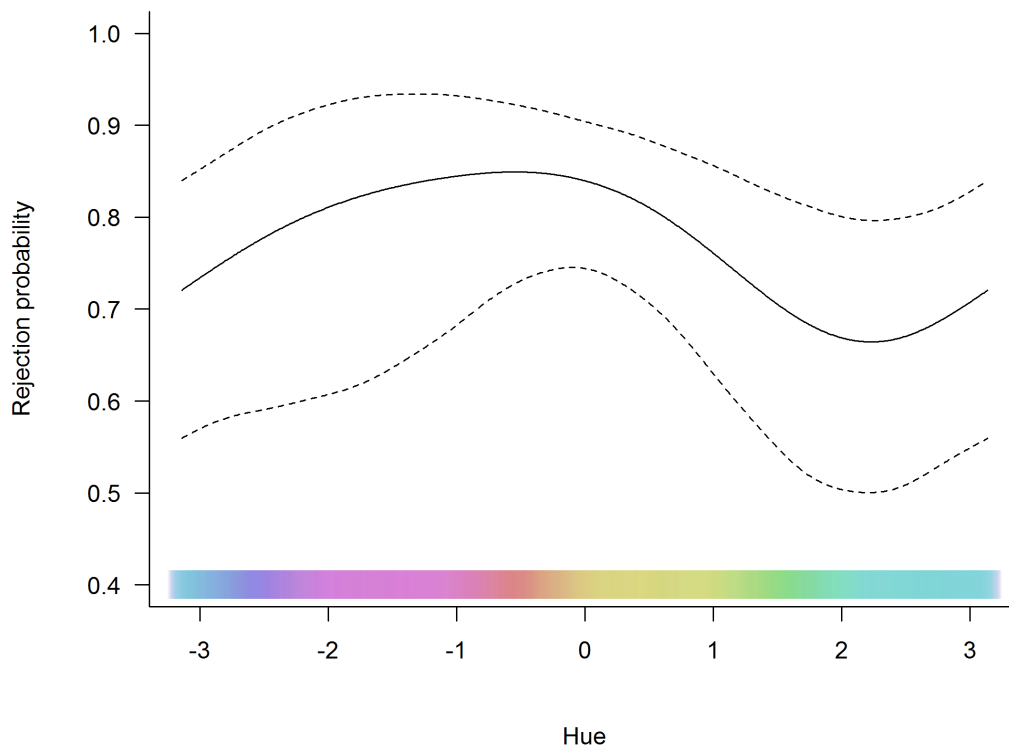


**Figure 1:** An avian tetrahedral color space where any stimulus (e.g., a blue-green egg represented by a black dot) can be plotted within this space based upon the relative stimulation of the ultraviolet (or violet; UVS) wavelength sensitive photoreceptors and each of the short- (SWS), medium- (MWS), and long-wave (LWS) sensitive photoreceptors. A stimulus' position within this space can be defined by angle *theta* ( $\Theta$ ) which represents hue and is depicted on the floor of the tetrahedron, angle *phi* ( $\Phi$ ) which represents an additional dimension of hue undetectable to human eyes (i.e., UV-component of light), and distance saturation ( $r$ ) which represents the intensity of the color from dull at the achromatic point (open circle) to intense (away from it).



**Figure 2:** An European blackbird clutch with an (a) example of the experimental egg (photo credit: KG). This egg is depicted (as a black dot) in (b) a custom-designed color wheel illustrating the colors used in the present study. Hue values found around the color wheel ranged from  $-\pi$  to  $+\pi$  (following Stoddard and Prum 2008). Colors were more saturated at the edge of the wheel and less saturated at the center. Each model egg's ( $N = 155$ ) color was transformed and plotted within (c) an avian tetrahedral color space (see fig.1) here viewed from above along the UV-axis. This includes novel egg colors (b) included in this study ( $N = 73$ ) as well as data ( $N = 82$ ) from models used in previous study (Hanley et al. 2017).





**Figure 3:** Rejection probabilities (solid line) based on a general additive model with 95% CIs (dashed line) for egg models varied predictably only with respect to hue. To better illustrate the probabilities the y-axis starts at 0.4.

**Table 1:** General additive model outputs predicting the behavioral response of blackbirds to experimental parasitism. We present both the full model (as recommended by Forstmeier and Schielzeth 2011) and the final model after a backward stepwise elimination procedure (as recommended by Grafen and Hails 2002). Here we present the estimates  $\pm$  standard error (SE), a measure of standardized effect ( $z$ ) and we bold significant ( $\alpha = 0.05$ ) predictors. Linear estimates are not available for hue, which was a circular continuous variable and therefore included as the smoothing term in the general additive model (see fig. 3). Full details are given at Materials and Methods section.

Predictor	Full model				Final model			
	Estimate $\pm$ SE	$z$	$\chi^2$	$P$	Estimate $\pm$ SE	$z$	$\chi^2$	$P$
Whole model ( $R^2 = 0.13$ , AICc = 171.24)	(Final model: $R^2 = 0.06$ , AICc = 166.39)							
Intercept	6.22 $\pm$ 6.90	0.90	–	0.37	0.08 $\pm$ 4.69	0.017	–	0.99
<b>Hue</b>	–	–	<b>6.36</b>	<b>0.005</b>	–	–	<b>4.63</b>	<b>0.04</b>
UV-hue	–1.10 $\pm$ 1.29	–0.86	0.73	0.39	–0.42 $\pm$ 1.12	–0.371	0.138	0.71
Saturation	–8.55 $\pm$ 7.62	–1.12	1.26	0.26	0.95 $\pm$ 4.74	0.200	0.040	0.84
Year	–0.27 $\pm$ 0.63	–0.43	4.12	0.67	–	–	–	–
Laying date	0.002 $\pm$ 0.01	0.12	0.01	0.91	–	–	–	–
Clutch size	0.34 $\pm$ 0.34	0.99	0.98	0.32	–	–	–	–
Flushed	–1.23 $\pm$ 0.83	–1.49	2.22	0.14	–	–	–	–
Nest age	–0.01 $\pm$ 0.12	–0.12	0.01	0.90	–	–	–	–