University of South Bohemia in České Budějovice

Faculty of Science

Colour pattern does not play a key role in forming a mimetic complex of red-and-black insects. Experiments with naïve and adult great tits

Master thesis

Bc. Tereza Drábková

Supervisor: RNDr. Petr Veselý, Ph.D.

České Budějovice 2015

Drábková, T., (2015): Colour pattern does not play a key role in forming a mimetic complex of red-and-black insects. Experiments with naïve and adult great tits. Mgr. Thesis, in English with Czech introduction – 37 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Reactions of wild-caught adult and naïve great tits (*Parus major*) to colour patterns of seven chosen aposematic insect prey species were studied in laboratory tests. Conspicuous patterns were transferred to palatable prey using paper stickers to test their effects on the reactions of predators and to determine the importance of a colour pattern in the formation of a mimetic complex.

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, dne 10. 12. 2015 .....

Na tomto místě bych chtěla vyjádřit svůj velký dík a neskonalý vděk mému školiteli, který se mě před lety ujal a bez jehož trpělivosti a mnohých rad by tato práce nemohla vzniknout, děkuju mnohokrát, Petře. Dále bych chtěla poděkovat naší pracovní skupině, jmenovitě Jáje, Lucce, Báře, Nele a dalším, za velkou pomoc s ručním odchovem malých sýkorek, který mnohdy nebyl úplně jednoduchý, díky za váš čas a energii, které jste museli ukrojit ze svého zkouškového a hlavně z nabitého letního programu! Děkuji svým přátelům, kteří mě svými slovy podpořili v krizových situacích bezmoci a beznaděje a statečně přetrpěli dočasnou ignoranci jejich osoby z mé strany po dobu psaní této práce. Na závěr samozřejmě děkuji mým rodičům a rodině, kteří mi vytvořili úžasné prostředí a podmínky pro mé studium, které zahrnovalo mnohem víc než jen napsání této práce.

Obsah

1 Úvod 1
1.1 Aposematismus 1
1.2 Výstražné signály 1
1.3 Mimikry 4
1.4 Vrozenost 10
1.5 Testovaná zvířata 12
1.6 Literatura 15
2 Manuscript 20
2.1 Abstract 20
2.2 Introduction 20
2.3 Material and methods 22
Predator 22
Prey 23
Experimental equipment 24
Trials 24
Statistical analysis 25
2.4 Results 25
Attack rate in the first trial 25
Number of prey attacked 26
2.5 Discussion 28
2.6 References 32
2.7 Přílohy 35

1 Úvod

1.1 Aposematismus

Kořist využívá ke svému přežití nejrůznější antipredační strategie. Nejlogičtěji zvolenou strategií se může zdát ukrytí před predátorem, ať už ve formě změny denního režimu (aktivita ve dne nebo v noci), životem pod zemí či kamufláží nebo nenápadným zbarvením (Ruxton et al. 2004). Naproti tomu stojí aposematismus, opačná strategie, kdy kořist, která je vybavena sekundárními obrannými mechanismy, signalizuje predátorovi přítomnost této obrany pomocí různých výstražných signálů (Ruxton et al. 2004).

Nad primárním významem těchto varovných signálů se zamýšleli v druhé polovině devatenáctého století už Charles Darwin a Alfred Wallace. Darwin se v té době kromě jiného zabýval pestrým zbarvením u různých druhů hmyzu, které bylo dle něj zapříčiněno pohlavním výběrem. Když ovšem narazil na pestře zbarvené housenky, tedy larvální stádium, kde pohlavní výběr nemohl být brán v sebemenší potaz, obrátil se na Wallace s prosbou o radu ohledně možného vysvětlení tohoto fenoménu. Ten si uvědomil, že k tomu, aby se kořist se sekundárními obrannými mechanismy vyvarovala zbytečných napadení, potřebuje si vytvořit charakteristické znaky, které umožní predátorovi ji snáze rozeznat od kořisti jedlé (Ruxton et al. 2004). Takže Wallace záhy přišel s domněnkou, že toto zbarvení je určeno opticky orientovaným predátorům, které má informovat o obranných mechanismech (např. toxicita, nechutnost), kterými je kořist vybavena (Komárek 2000). Následně byla tato hypotéza zformulovaná jako ucelená teorie varovných zbarvení (Wallace 1870, převzato z Komárek 2000). E. B. Poulton následně rozvedl tuto teorii a doplnil ji o názor, že výstražné zbarvení nejen podporuje rozeznání nejedlé kořisti již zkušeným predátorem, ale navíc i zvyšuje efektivitu učení a zapamatování si nevýhodnosti napadání chráněné kořisti (Poulton 1890, převzato z Ruxton et al. 2004). Poulton také vytvořil nomenklaturu škály antipredační ochrany (Poulton 1890, převzato z Ruxton et al. 2004), kde byl poprvé použit termín „aposematismus“ (Poulton 1890, převzato z Komárek 2000).

1.2 Výstražné signály

Kořist může predátora upozorňovat na svojí obranu jedním či více způsoby, kdy častější je právě kombinace několika komponentů, neboli multimodální signalizace (Exnerová et al. 2008; Rowe a Guilford 1999). Poulton si původně myslel, že aposematická kořist upozorňuje predátora na své obranné mechanismy pouze vizuálně, nicméně v průběhu let bylo toto poznání rozšířeno a již je všeobecně známo, že v rozpoznání nebezpečnosti kořisti hrají roli i další smysly než jen zrak. Signalizace predátorovi je tedy vlastně kombinací vizuálních vjemů,

zvuků, pachů, chuti, případně i nějaké typické morfologie kořisti a stylu chování (Ruxton et al. 2004). Pokud tyto složky od sebe oddělíme, může se stát, že obrana kořisti mnohonásobně poklesne a predátor ji začne mnohem více napadat. Marples et al. (1994) testovali reakce křepelek japonských (*Coturnix coturnix japonica*, Temminck a Schlegel 1849) na jednotlivé komponenty obrany slunéčka sedmitečného (*Coccinella septempunctata*, L. 1758), kdy prezentovali buď celé slunéčko v nezměněné podobě, nebo prezentovali naopak chutnou kořist, na kterou byl přenesen vždy pouze vzor, pach či chuť slunéčka. Proti napadení predátorem nebyla žádná složka ani v páru, ani sama o sobě tak účinná jako reálné slunéčko se všemi znaky, které bylo chráněno před napadením nejvíce.

I přes multimodální charakter signalizace, jsou některé její složky významnější než ty zbývající. Primární roli hraje signalizace vizuální, která je určena pro opticky orientované predátory (Edmunds 1974), kterými jsou v případě terestrických bezobratlých nejčastěji ptáci (Sillén-Tullberg et al. 1982; Collins a Watson 1983; Roper a Marples 1997; Exnerová et al. 2006; Veselý a Fuchs 2009). Tento typ vizualizace se ještě navíc skládá z několika podsložek. První z nich je barva (Collins a Watson 1983; Sillén-Tullberg 1985; Ritland 1998; Exnerová et al. 2006; Průchová et al. 2014). Proto, aby si predátor co nejrychleji uvědomil význam spojení mezi zbarvením kořisti a jejími obrannými mechanismy (např. toxicitou), musí být barvy a jejich kombinace co nejjasnější (Coppinger 1969; Harvey et al. 1982), kdy nejvíce výstražně působí kombinace barev s červenou, oranžovou, žlutou barvou, vzácněji i bílou barvou, a kontrastní černou, popřípadě tmavě hnědou, modrou (Cott 1940).

Barevné kombinace pak většinou tvoří nějaký jasně definovaný kontrastní vzor, který ještě víc umocňuje účinnost varovného signálu (Lindström et al. 1999; Endler et al. 2005) a může mít i význam pro vnitrodruhovou komunikaci (Wallace 1889, převzato z Komárek 2000). Nicméně i přes svojí výhodnost je význam vzoru až na druhém místě, neboť je to barva a kombinace barev, které zřejmě hrají primární a nejdůležitější roli v rozpoznávání kořisti. Aronsson a Gamberale-Stille (2008) testovaly reakce naivních kuřat (*Gallus gallus domesticus*, L. 1758) na uměle vytvořenou kořist s různým vzory. Kuřata se naučila odmítat nechutnou kořist označenou tyrkysovou barvou od chutné kořisti označené barvou šedou, nicméně reakce na různé vzory nesené nechutnou kořistí se od sebe průkazně nelišily.

Kromě kontrastní kombinace barev má vzor i další parametry, jako je jeho symetrie a velikost, kdy čím větší a symetričtější vzor je, tím je i účinnější a pro predátora snáze rozpoznatelný a zapamatovatelný (Forsman a Merilaita 1999). Vzor může nést ještě další charakteristické prvky či tvary, které se nezávisle objevují u různých skupin živočichů, jsou to například oční skvrny (Meadows 1993; Lyytinen et al. 2003).

Nicméně některé studie (Wuster et al. 2004; Niskanen a Mappes 2005) naznačují, že výstražný signál nemusí nutně zahrnovat nápadné zbarvení proto, aby účinně odradil predátora. Takovým příkladem jsou jedovatí hadi, konkrétně zmije, kteří se mohou ocitnout jak v roli kořisti, tak v roli predátora, kdy potřebují zůstat nenápadní, ale zároveň potřebují avizovat svoji nebezpečnost případným ptačím predátorům. Svojí jedovatost dávají najevo pomocí vzoru klikaté čáry nesoucího na zádech, což prokázaly pokusy s umělými hady s klikatým vzorem či bez, kdy kořist nesoucí vzor byla průkazně více chráněná (Wuster et al. 2004).

Kromě barvy a vzoru existují i další možnosti, jak může kořist opticky dát najevo svojí nevýhodnost. Je to například typický tvar těla, kdy byl význam této složky prokázán u vos (Kauppinen a Mappes 2003) či slunéčka sedmitečného (Dolenská et al. 2009), či charakteristické končetiny a tykadla u mravenců (Merrill a Elgar 2000; Nelson et al. 2006).

Vizuální signalizace může být doplněna signalizací akustickou, která může podpořit proces učení a zapamatování si aposematické kořisti ve spojení s výstražným zbarvením (Rowe 2002). Zvukový signál je také nezbytný pro kořist s noční aktivitou, kde vizuální signalizace v podobě výstražného zbarvení jaksi ztrácí svůj primární význam. Takovým příkladem jsou můry, které varují netopýry před svojí nechutností (Hristov a Conner 2005).

Dalším typem signalizace je signalizace pachová. Ta je způsobena vylučováním chemických látek do okolí kořisti. Častým původcem pachové signalizace jsou pyraziny, o kterých je známo, že mohou spouštět vrozené odmítavé reakce predátorů na aposematickou kořist, kteří by jinak bez přítomnosti pyrazinů výstražně zbarvenou kořist napadali (Lindström et al. 2001). Tento typ signalizace je přítomný například u výše zmíněných slunéček, která při napadení reflexivně krvácí a dospělci vypouštějí tuto tekutinu z tibio-femorálních spojů (Marples et al. 1994; Dolenská et al. 2009). Dalšími živočichy, kteří jsou vybaveni tímto typem výstražného signálu, jsou různí zástupci ploštic (Heteroptera), jmenovitě např. ruměnice pospolná (*Pyrrhocoris apterus,* L. 1758), ploštička pestrá (*Lygaeus equestris,* L. 1758), ploštička luční (*Spilostethus saxatilis,* Scopoli 1763), kněžice páskovaná (*Graphosoma lineatum,* L. 1758) a další (Exnerová et al. 2008).

Za typ signalizace můžeme považovat i typické chování živočicha. Dobrým příkladem takovéhoto výstražného signálu, a vůbec celkové multimodality signalizace, je třeba černo-bíle zbarvený skunk skvrnitý (*Spilogale putorius,* L. 1758), který při setkání s predátorem začne dupat a zdvihne svůj huňatý ocas do vztyčené polohy, či severoamerický urzon (*Erethizon dorsatum*, L. 1758), který svojí mechanickou obranu dává najevo změnou chování, pachovým signálem i akusticky (Ruxton et al. 2004).

Kombinování různých druhů signálů umožňuje predátorovi snadnější rozpoznání kořisti, učení a její zapamatování (Aronsson a Gamberale 2008). Signál zároveň musí být kontrastní vůči podkladu, aby mohl být predátorem co nejsnadněji a nejrychleji rozpoznán (Gamberale-Stille 2001). Jedinci aposematického druhu navíc často vytvářejí shluky, které ještě více zvyšují sílu výstražného signálu (Alatalo a Mappes, 1996; Lindström et al. 1999; Hatle a Salazar 2001). Ve výsledku pak predátor po objevení kořisti útočí později a méně, naučí se vyhýbat této kořisti rychleji, takže i k zabití kořisti dochází méně často (Gamberale-Stille 2000).

Pokud se predátor naučí a zapamatuje si určité znaky kořisti, které si spojil s její nevýhodností, nechutností či nebezpečností, a je pak schopný tuto znalost přenést na jinou více či méně podobnou kořist, mluvíme o jeho schopnosti generalizovat (Sillén-Tullberg et al. 1982; Hotová Svádová et al. 2013).

1.3 Mimikry

Schopnost generalizace umožnila vznik mimeze. Pojem mimeze (z řeckého *mimésis* – napodobení) či mimikry (Kirby a Spence 1817, převzato z Komárek 2000) označuje jev, kdy dva nepříbuzné organismy sdílí za účelem ochrany vzhledovou podobnost způsobenou selekčním tlakem predátorů (Komárek 2000). Mimikry se dále dělí do dvou hlavních skupin podle vztahů mezi jejich příslušníky.

Müllerovská mimeze zahrnuje jedince různých druhů, kteří jsou vybaveni obrannými mechanismy a sdílí společné znaky, např. podobné výstražné zbarvení, což jim poskytuje vzájemnou ochranu (Müller 1879, převzato z Komárek 2000; MacDougall a Dawkins 1998). Tato strategie je založena na předpokladu, že naivní predátor potřebuje usmrtit pouze omezený počet jedinců, aby se naučil nový nevýhodný druh rozpoznávat, a také na tom, že pokud dva a více chráněných druhů sdílí výstražný signál, sdílí zároveň i cenu této ochrany. Případné náklady v podobě vlastního uhynutí jsou tak minimalizovány, zatímco počet chráněných druhů je maximalizován díky sdílení varovného signálu (Speed 1999). Batesovská mimeze (Bates 1862, převzato z Komárek) zahrnuje druhy, které nemají obranné mechanismy, nejsou pro predátora nebezpeční, ale naopak výhodní, jenže svým vzhledem připomínají aposematické druhy, jejichž ochrany využívají a na kterých parazitují. Klasickým příkladem Batesovské mimeze je podobnost zbarvení mezi monarchou stěhovavým (*Danaus plexippus,* L. 1758) a bělopáskem (*Limenitis archippus,* Crammer 1776; Ruxton et al. 2004). Dalším příkladem jsou například endemičtí australští mravenci (Merrill a Elgar 2000) či černo-žluté varovné zbarvení

mezi vosami (Hymenoptera) a pestřenkami (Diptera), kde ovšem není podobnost úplně dokonalá (Lindström et al. 1997).

Batesovská mimeze je v přírodě poměrně vzácná, což naznačuje, že tento systém může fungovat jen za určitých předpokladů. Zaprvé, populace aposematického modelu musí být vyšší než populace mimiků, aby predátor měl dostatečné šance se setkat s modelem a naučil se ho odmítat na základě spojení jeho výstražného signálu a nevýhodnosti. Pokud by byl počet mimiků příliš vysoký, snižuje se kvalita tohoto spojení a predátor začne napadat jak mimika, tak samotný model, čímž celý systém mimeze ztrácí na účinnosti (Turner 1987). V práci Lindström et al. (1997) byl tento význam vyšší frekvence výskytu modelového organismu potvrzen, kdy počet napadení modelu i mimika predátorem, zde sýkora koňadra (*Parus major,* L. 1758), závisel na počtu modelových organismů. Navíc se zde uplatnila i míra nebezpečnosti modelu, kdy čím více byl model pro predátora nechutný, tím více byl chráněn i mimik napodobující tento model.

Kromě frekvence výskytu modelového organismu má na efektivitu Batesovké mimeze vliv také s jakou přesností je výstražný signál modelu imitován (Sherratt 2002). Čím přesnější je signál imitátora, tím vyšší bude pravděpodobnost, že ho predátor zamění za model. Nicméně tento vztah není úplně lineární, takže i zde je určitá tolerance v odlišnosti od modelového organismu. Mimik nemusí příliš investovat do imitace, pokud je model velmi nevýhodný a nebezpečný (Sherratt 2002). Batesovská mimeze se více objevuje v přítomnosti velice nevýhodných modelů, kde právě jeho nebezpečnost může ovlivňovat míru podobnosti. Existují důkazy, že i nedokonalý mimik může přežít, pokud jeho model je extrémně nevýhodný (Duncan & Sheppard 1956, převzato z Lindström et al. 1997). Odlišnost se toleruje také v případě, pokud je mimik, jak výše zmíněno, celkem vzácný nebo když mimik není až tak výhodný, např. může být složité ho chytit (Sherratt 2002). Nicméně je v zájmu mimika, aby jeho podobnost byla co nejvyšší, jelikož postrádá právě ty nebezpečné prvky svého modelu a s tím i jeho ochranu.

Kromě těchto dvou základních typů mimeze se ovšem vyskytuje ještě další typ, tzv. quasi-Batesovské mimeze, který se v přírodě objevuje zřejmě vůbec nejčastěji (Speed 1993; Speed 1999; Speed a Turner 1999). Aposematické navzájem si podobné druhy totiž vytvářejí Müllerovské komplexy založené na předpokladu, že všechny druhy tohoto komplexu jsou chráněné stejnou měrou a vkládají tak stejné množství energie do své ochrany. Speed (1993) ovšem tvrdí, že teoreticky žádné Müllerovské komplexy neexistují, protože skutečnost, že se všechny druhy podílejí v komplexu stejnou měrou, je velice nepravděpodobná. Pomocí počítačových simulací dokázal, že i drobné rozdíly v nebezpečnosti mezi jednotlivými

nevýhodnými druhy způsobí snížení ochrany i jiných vysoce nevýhodných druhů. Tyto druhy, které jsou také chráněné, ale i tak poškozují své modely, nazval právě quasi-Batesovskými mimiky (MacDougall a Dawkins 1998; Speed a Turner 1999).

V práci Lindström et al. (2006) byly testovány reakce sýkory koňadry na umělé mimetické komplexy, ve kterých se komimikové lišili vizuálně a v míře nechutnosti. Ukázalo se nejen, že oba tyto faktory ovlivňují predakční tlak na členy komplexů, ale navíc i skutečnost, že rozdíly v nechutnosti zvyšovaly míru predace i u vysoce chráněné kořisti. V další práci s obdobným výsledkem (Rowland et al. 2010) byly opět testovány reakce sýkor koňader na umělou kořist, kdy bylo potvrzeno, že mimikry mezi rozdílně chráněnými komimiky nemají mutualistický charakter. Zároveň byl potvrzen výše zmíněný fakt o zvýšené abundanci mimiků a jeho vlivu na zvýšené napadání modelové kořisti.

Aposematické druhy jsou zahrnovány do mimetického komplexu na základě jejich vizuální podobnosti a antipredačních ochranných mechanismů. Abychom mohli pochopit vztahy mezi jednotlivými členy tohoto komplexu, je nutné otestovat sílu jejich varovného signálu a obranných mechanismů na jejich reálných predátorech (Hotová Svádová et al. 2013). Pokusy Evanse et al. (1987) ukázaly, že křepelka polní (*Coturnix coturnix*, L. 1758) je schopná generalizovat mezi třemi druhy řádu polokřídlí (Hemiptera): *Caenocoris nerii* (Germar 1847), *Eurydema decoratum* (Herrich-Schaeffer 1833) a *Cercopis intermedia* (Kirschbaum 1868), které sdílí červeno-černé zbarvení, ale liší se vzorem a tvarem těla. Oproti tomu sýkory koňadry v práci Sillén-Tullberg et al. (1982) nebyly schopny generalizovat mezi dospělci a larvami ploštičky pestré, které se liší velikostí a přítomností výstražného vzoru. Navíc je možné, že existence jednotlivých mimetických okruhů je podmíněna druhem predátora a že v rámci jedné skupiny mimetických druhů existuje hned několik různých mimetických okruhů definovaných různými druhy predátorů. (Hotová Svádová et al. 2010).

Existuje předpoklad, že středoevropské aposematické druhy černo-červeně zbarveného hmyzu tvoří společně mimetický komplex (Exnerová et al. 2008). Většina členů tohoto komplexu patří do podřádu ploštic (Heteroptera) a má podobné multimodální antipredační obranné mechanismy, jako je výstražné zbarvení, varovná stridulace či chemická obrana různé úrovně. Kromě ploštic sem zřejmě patří i slunéčka (Coleoptera, Coccinellidae) a pěnodějky (*Cercopis,* Homoptera). Nicméně ani v případě tohoto komplexu nejde o čistě Müllerovskou mimezi, jelikož jednotlivé druhy hrají i zde různé role.

Za modely v tomto komplexu jsou považovány nejvíce chráněné druhy ploštička pestrá a ploštička luční. V práci Hotové Svádové et al. (2010) byly sledovány reakce ptačích predátorů právě na tyto druhy společně ještě s dvěma dalšími, s ruměnicí pospolnou a kněžicí

páskovanou, které jsou též zahrnovány do středoevropského mimetického komplexu. Sýkory koňadry se vyhýbaly všem těmto druhům už při zpozorování z dálky; červenky (*Erithacus rubecula* L. 1758) napadaly nejvíce ruměnici a zbytku se téměř striktně vyhýbaly; strnadi (*Emberiza citrinella,* L. 1758) reagovali na různé druhy odlišně, ale nejvíce napadali také ruměnici, paradoxně však i chráněnou ploštičku pestrou; kos černý (*Turdus merula,* L. 1758) pak často napadal všechny druhy bez rozdílu.

Reakce sýkor koňader na larvy ploštičky pestré byly sledovány i v práci Sillén-Tullberg (1985). Tentokrát kořist představovaly dvě formy larev tohoto hmyzu – jedna aposematická a druhá mutantní šedá forma. Ptáci se naučili vyhýbat oběma formám (protože jsou obě stejně chemicky chráněné), nicméně míra přežití aposematické kořisti byla mnohem vyšší díky zvýšené počáteční neochotě napadnout tuto kořist, díky rychlejšímu naučení vyhýbat se této kořisti a díky menšímu počtu usmrcených aposematických jedinců. U larev tohoto druhu a také u ploštičky tolitové (*Tropidothorax leucopterus,* Goeze 1778; Hemiptera: Lygeidae) byla studována jejich závislost na hostitelské rostlině ve vztahu ke kvalitě jejich chemické obrany. Pokud byla ploštička pestrá krmena tolitou lékařskou, byla predátorem (kuřata) napadána méně, než pokud jí byla dána alternativní potrava. Naproti tomu ploštička tolitová byla chráněna v obou případech stejně, což naznačuje přítomnost alternativních obranných mechanismů (Sillén-Tullberg et al. 2000).

Ploštička tolitová je dalším druhem, který je zahrnován do tohoto možného mimetického komplexu. Larvy tohoto druhu byly použity jako kořist i v práci Gamberale-Stille (2000), která sledovala vliv kompetice (přítomnosti druhého predátora) a pospolitosti (*gregariousness*) na rozhodování predátora. Tím byla kuřata, u kterých se ukázalo, že v přítomnosti druhého jedince napadají aposematickou kořist rychleji a častěji, a zároveň jim trvá déle naučit se této kořisti vyhýbat. Další výsledek ukázal, že pokud byla kořist prezentována ve skupině více jedinců, kuřata se naopak učila rychleji a snížila se rychlost i počet napadení. K podobnému výsledku došel další experiment s touto kořistí a naivními kuřaty jako predátorem (Gamberale a Sillén-Tullberg 1998), který sledoval, zda se liší reakce kuřat v závislosti na počtu prezentovaných jedinců aposematické kořisti (skupiny larev ploštičky tolitové po 3, 9 a 27 jedincích). Se zvětšující se velikostí skupiny se zde snižovala pravděpodobnost napadení, což naznačuje zesílení signálu nechutnosti díky vyššímu počtu aposematických jedinců prezentovaných pohromadě. V jiné práci těchto autorek (Gamberale a Sillén-Tullberg 1996) byly sledovány reakce na tři různé larvální instary ploštičky tolitové, které se lišily svou velikostí, a která ukázala, že s rostoucí velikostí kořisti rostla i neochota kuřat napadat předloženou kořist.

Dalším druhem zahrnovaným do středoevropského mimetického komplexu je kněžice páskovaná. Dospělí jedinci tohoto druhu využívají obou druhů ochranných zbarvení. V pozdním létě před vstupem do diapauzy nesou dospělci kryptický černo-rezavý páskovaný vzor, který jim umožňuje zůstat nenápadní, když se vyskytují na svých hostitelských miříkovitých rostlinách (Johansen et al. 2010). Na jaře se pak probouzí z diapauzy s nápadným černo-červeným výstražným zbarvením. Vliv těchto zbarvení na změny reakcí predátorů byl sledován v pracích Gamberale-Stille et al. (2010) a Johansen et al. (2010). V první práci byla jako predátor použita naivní kuřata, kterým byl prezentován jeden ze tří typu kořisti – krypticky zbarvený pátý larvální instar, krypticky zbarvený dospělý jedinec či aposematicky zbarvený dospělý jedinec. Ten byl nejvíce odmítán, následován dospělcem kryptickým a larvami, kterým se predátor vůbec nevyhýbal a ani se to později nenaučil. Dospělé formy se ptáci naučili odmítat obě. Pokud se pták nejprve setkal s dospělou formou, byly následně před jeho útoky chráněny i larvy, což v opačném případě neplatilo. V druhé práci (Johansen et al. 2010) představovala predátora sýkora koňadra, u které byla zjišťována schopnost najít a odhalit obě dospělé formy kněžice páskované v jejich přirozeném prostředí (suchá vegetace). Výsledky ukázaly, že najít krypticky zbarvenou dospělou kněžici v tomto substrátu trvá sýkorám déle než u aposematicky zbarvené formy, což ukazuje na funkční význam změny zbarvení u tohoto druhu.

Vlivem kontrastu pozadí, na kterém je kněžice páskovaná prezentována predátorovi, se zabývala také práce Veselého et al. (2006). Predátorem zde byly sýkory modřinka (*Cyanistes caeruleus*, L. 1758) a koňadra, kterým byla nabízena aposematická a neaposematická na hnědo natřená forma kněžice, a to buď na kontrastním bílém pozadí, nebo na vzorovaném pozadí odpovídajícím vzoru miříkovitého květenství. Modřinky se vyhýbaly oběma formám kněžice nezávisle na jejich zbarvení, zatímco koňadry napadaly obě formy, přičemž aposematickou formu o něco méně než hnědou. Zároveň pokud aposematická forma byla prezentována na vzorovaném podkladu, byla napadaná o něco více, než pokud se nacházela na kontrastním bílém pozadí.

Dolenská et al. (2009) testovali reakce sýkor koňader na další potenciální modelový druh - na sluníčko sedmitečné, které bylo koňadrou napadeno jen v pětině případů, takže je velmi dobře chráněno. Reakce na tuto kořist byly sledovány i u křepelek japonských ve výše zmíněné práci Marples et al. (1994), kdy bylo slunéčko různě modifikováno, nicméně nejlépe chráněné se ukázalo být vždy jen v jeho přirozené formě, tedy v přítomnosti všech výstražných signálů. V pokusech Průchové et al. (2004) byly testovány opět reakce sýkor koňader, tentokrát ovšem na invazní slunéčko východní (*Harmonia axyridis*, Pallas 1773), jehož

barevný vzor byl modifikován a ptákům byly prezentovány různé barevné formy, které se lišily ve zbarvení: přírodní forma a barevné modifikace natřené černou, červenou a hnědou barvou. Koňadry se nejvíce vyhýbaly černým a černým formám, zatímco slunéčka natřená na hnědo byla chráněná méně. Pokud ovšem bylo slunéčko natřeno hnědou barvou a zároveň neslo i charakteristický vzor slunéčka, tedy černé tečky, bylo chráněno lépe než slunéčka bez vzoru.

Ruměnice pospolná je kvůli nižšímu stupni chemické obrany zřejmě quasi-Batesovským mimikem navrhovaného mimetického komplexu (Exnerová et al. 2003; 2008). Variabilitu jejího zbarvení a reakce různých ptačích predátorů na ni testoval experiment Exnerové et al. (2006). Jako kořist byla použitá divoká červeno-černá forma, mutanti s bílým, žlutým a oranžovým zbarvením a ještě divoká forma nabarvená na hnědo. Výsledky ukázaly, že červeno-černá a oranžovo-černá forma jsou chráněny stejně a také že pro predátory je pro správné rozpoznání určité aposematické kořisti specifické zbarvení zásadní a vzor sám o sobě nestačí.

Sýkory koňadra a modřinka byly použity jako predátoři v pokusu, který sledoval jak velikost kořisti i predátora a barevný vzor kořisti ovlivňují účinnost varovného signálu, kterým je kořist vybavena (Prokopová et al. 2010). Tu zde představovaly dospělci a dva larvální instary ruměnice pospolné. V prvním setkáním s kteroukoli z kořistí neměla její velikost vliv na to, zda ji predátor napadl či ne. V dalších opakováních začala být napadána a usmrcována častěji menší kořist. Zároveň větší sýkory koňadry napadly a sežraly více ruměnic (nezávisle na formě) než menší sýkory modřinky. Zde se tedy předpokládá, že velikost kořisti ovlivňuje predátora skrze množství nechutných látek spíše než velikostí optického varovného signálu. Nicméně i ten zde hrál svojí roli, protože černo-červený vzor dospělců jim poskytuje dostatečnou ochranu, zatímco odlišné černo-červené zbarvení larev ruměnice nefunguje jako plnohodnotný optický signál a tak jsou larvy napadány více než dospělá forma.

Výše zmíněná práce Hotové Svádové et al. 2010 sledovala reakce v přírodě odchycených sýkor koňader na čtyři druhy aposematických ploštic (Heteroptera) z předpokládaného mimetického komplexu: ploštičku pestrou, ploštičku luční, ruměnici pospolnou a kněžici páskovanou, které jsou vybaveny různým stupněm ochrany. Tento pokus byl pak zopakován s naivními sýkorami koňadrami (Hotová Svádová et al. 2013). Sýkory v prvním testu nevykazovaly téměř žádné rozdíly ve vrozené averzi vůči těmto plošticím. V dalších testech záleželo na druhu ploštice, se kterým se sýkory setkaly a naučily se mu vyhýbat. Nejméně chráněný vybraný druh (ruměnice pospolná) tak těžil ze zkušeností ptáků, kteří se dříve setkali s lépe chráněným druhem, protože tito ptáci prodloužili latenci napadání,

byli v napadání opatrnější a došlo k menšímu počtu úhynu kořisti. Naopak prvotní setkání s ruměnicí nesnižovalo riziko mortality pro další více chráněné druhy, takže i zde se zřejmě jedná o quasi-Batesovský vztah.

1.4 Vrozenost

Hmyzožraví ptáci jsou schopni v přirozených podmínkách rozlišit nechutnou kořist třemi odlišnými způsoby ve třech odlišných stádiích (Pinheiro 2003). Kořist mohou odmítnout hned po rozpoznání jako v případě výše zmíněných reakcí sýkory koňadry na různé druhy ploštic. Toto je ovšem finálním stádium predátorova učícího procesu, kdy už je pták schopen spojit si nechutnost kořisti a výstražný signál (zbarvení, tvar, atd.) a na základě tohoto spojení je schopen identifikovat model a jeho mimiky jako nevýhodnou kořist.

Další dvě stádia najdeme spíše u naivních predátorů. V druhém stádiu je kořist zpozorována, napadena, ale odmítnuta a nesežrána. Poslední stádium nastává až po pozření kořisti, po kterém predátor trpí účinky chemické obrany kořisti a kdy může následovat např. vyzvrácení kořisti a další averzivní druhy chování. Naivní ptáci tak napadají kořist, aby si ji otestovali, vytvořili si pojem o její nechutnosti a získali tak zkušenosti do budoucna pro další setkání.

Ve finálním stádiu predátorova učícího procesu se tedy uplatňují faktory, jako je učení, paměť či schopnost generalizace, jejichž míra a uplatnění je u různých jedinců individuální. U některých ptáků může docházet ke zvýšené opatrnosti při setkání s novou kořistí, která může být vrozená a která může být spuštěna například kombinací vizuálních signálů a obranných mechanismů (Hotová Svádová et al. 2013).

Naivním kuřatům (Marples a Roper 1996) byla nabízena voda a jídlo, které byly obarvené a nesly jeden z pěti různých druhů pachů a představovaly pro ně neznámou kořist. Kuřata se vyhýbala vodě i potravě, pokud byly obarvené a se zápachem pyrazinů. Pouhý zápach k vyvolání averze nestačil. U jiného nepříbuzného ptačího druhu - zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*, Vieillot 1817) došli Kelly a Marples (2004) ke stejnému výsledku, tedy že neznámá potrava výstražně zbarvená a se zápachem pyrazinů byla více odmítaná než ta, u které výstražné zbarvení chybělo.

Je možné si všimnout, že vrozená averze k aposematické kořisti byla většinou zkoumána u několika málo nepříbuzných druhů ptačích predátorů. Exnerová et al. (2007) naproti tomu testuje averzi u evropských druhů sýkor z čeledi Paridae. Ptáci této čeledi jsou, jak je patrno z předchozího textu, oblíbenými predátory hojně využívanými v aposematických

studiích. Nicméně i takto blízce příbuzné druhy vykazují rozdíly v původu jejich averze ke kořisti. Zdá se, že u některých druhů je naučená a u jiných vrozená.

Byly vybrány druhy: sýkora koňadra, sýkora modřinka, sýkora parukářka (*Lophophanes cristatus*, L. 1758), sýkora uhelníček (*Periparus ater*, L. 1758), sýkora lužní (*Poecile montanus*, Conrad 1827) a sýkora babka (*Poecile palustris*, L. 1758). V pokusech s v přírodě odchycenými ptáky odmítala většina druhů více aposematickou formu ruměnice pospolné oproti neaposematické hnědě nabarvené formě. Následně byl stejný pokus proveden s naivními ptáky čtyř druhů sýkor. Sýkory modřinka a uhelníček se chovaly podobně jako v přírodě odchycení ptáci, zatímco reakce naivních koňader i parukářek se lišily od reakce zkušených ptáků, koňadry dokonce napadaly oba typy kořisti téměř ve všech případech. Protože modřinky i uhelníčci byli schopni odmítat i hnědou neaposematickou formu ruměnice, může se zde jednat spíš o vrozenou neofobii než o vrozenou averzi vůči varovnému zbarvení.

V již zmíněných pracích (Hotová Svádová et al. 2010; Hotová Svádová et al. 2013) byly sledovány reakce naivních a v přírodě odchycených sýkor koňader na čtyři aposematické druhy ploštic (ploštička pestrá, ploštička luční, ruměnice pospolná, kněžice páskovaná). Zkušené sýkory se vyhýbaly všem těmto druhům ihned po rozpoznání kořisti. Tato reakce může být založena buď na individuální zkušenosti jednotlivých ptáků s každým z vybraných druhů ploštic, nebo na zkušenostech s jakýmkoli červeno-černým druhem z mimetického komplexu opřených o širokou schopnost generalizovat. Naproti tomu naivní ptáci nevykazovali žádnou vrozenou averzi k jednotlivým druhům a až v následném generalizačním pokusu odmítali aposematickou kořist v závislosti na jejich předchozích zkušenostech s určitým druhem.

Byly také srovnávány reakce koňader na sluníčko sedmitečné (Dolenská et al. 2009), kdy v přírodě odchycení ptáci napadali tuto kořist ve 20 % případů a naivní pak v 60 % případů, což naznačuje částečnou vrozenou averzi k této kořisti. Podobné pokusy s dalším červeno-černě zbarveným aposematickým druhem ruměnicí pospolnou (Wiklund a Järvi 1982; Exnerová et al. 2007) tak výraznou vrozenou averzi neprokázaly. Možný vysvětlením je chemická obrana obou druhů, kdy pozření ruměnice může sice vyvolat nějakou nepříjemnou reakci (zvracení), nicméně neohrozí to sýkoru koňadru na životě. Naproti tomu slunéčko, které je vybaveno kvalitnější chemickou obranou (alkaloidy), je pro sýkory velmi jedovaté, takže selekční tlak pro vznik vrozené averze na slunéčka byl silnější oproti averzi na ruměnici pospolnou. Je tedy možné říci, že přítomnost vrozené averze se odvíjí od druhu predátora a zároveň jeden predátor může mít různou míru vrozené averze vůči různým druhům hmyzu.

1.5 Testovaná zvířata

V mé práci je jako predátor použita již několikrát výše zmíněná sýkora koňadra. Je to hmyzožravý pták, s délkou těla okolo 14 cm a o váze 14-23 g, který se vyskytuje napříč Evropou, Asií i severní Afrikou. Je oblíbeným predátorem v pracích studujících aposematické signály bezobratlých díky jeho běžnému výskytu, snadné technice odchytu a rychlému přivykání na nové laboratorní podmínky (Dingemanse 2002). Vyskytuje se v otevřených smíšených a listnatých lesích a jejich okrajích. Můžeme ji nalézt i na jednotlivých stromech, v kulturní krajině pak i v parcích a zahradách. V nižší míře se vyskytuje i v jehličnatých porostech, Jedná se spíše o nížinný druh, nicméně její rozšíření může sahat až na horní hranici lesa. Co se týče chování, tak je to poměrně odvážný druh, je běžně k vidění a příliš se nebojí (Harrap 1996).

Kořist v mých pokusech představuje druhý a třetí larvální instar švába argentinského (*Blaptica dubia*, Serville 1839, Dictyoptera: Blaberidae), na kterého je přenesen výstražný barevný vzor jednoho ze sedmi vybraných druhů aposematického červeno-černě zbarveného hmyzu a který velikostně odpovídá těmto reálným druhům. Tato metodika již dříve prokázala, že švábi se vzorem ruměnice pospolné jsou dobře chráněni před predátorem, pokud se šváby neměl předchozí skutečnosti (Veselý a Fuchs 2009). Šváb není vybaven chemickou obranou, pouze v ohrožení může vyvrhnout obsah volete, což ale nevyvolává u sýkor žádnou averzi.

Švábi pak v pokusech nesli na zádech jeden ze sedmi typů papírových štítků. Ty měli na sobě výstražný červeno-černý vzor reálného aposematického druhu. Vybrány byly druhy z navrhovaného středoevropského mimetického komplexu červeno-černých aposematických druhů (Exnerová et al. 2008) tak, aby pokrývaly diverzitu výstražných vzorů.

První druh, jehož vzor byl použit, je ruměnice pospolná (*Pyrrhocoris apterus*, Hemiptera: Pyrrhocoridae). Jedná se o synantropní druh žijící, na rozdíl od dalších vybraných druhů ploštic, na zemi, často v blízkosti lip či slézovitých rostlin, od nížin až po horské pásmo (Javorek 1978). Je to běžný druh střední Evropy, který obývá listnaté porosty, parky, zahrady, často i otevřenou krajinu, kde rostou jejich hostitelské rostliny (lípa, trnovník akát, sléz; Exnerová et al. 2007), z kterých pak získává chemickou obranu skládající se převážně z krátkých řetězců aldehydů (Farine et al. 1992). Je vybavena červeno-černým zbarvením typickým pro většinu coreoidních ploštic (Heteroptera: Coreoidea) doplněné navíc očními skvrnami. V navrhovaném mimetickém komplexu hraje roli spíše quasi-Batesovského mimika kvůli nižšímu stupni chemické obrany (Exnerová et al. 2003, 2008; Hotová Svádová et al. 2013).

Dalším vybraným druhem je kněžice páskovaná (*Graphosoma lineatum*, Hemiptera: Pentatomidae), která se nejčastěji vyskytuje na miříkovitých rostlinách, ze kterých získává obranné látky, jako jsou alkany a 2-alkenaly (Stránský et al. 1998). Je to teplomilný druh, který žije na lokalitách stepního charakteru a u nás se vyskytuje v nížinách až pahorkatinách (Javorek 1978). Její vzor se skládá z podélných červených a černých pruhů. Ještě než získá toto červeno-černé zbarvení, jsou dospělí jedinci nejprve černo-hnědí a teprve v průběhu hibernace se hnědá barva změní na červenou (Johansen et al. 2010). Pokud je v ohrožení, vypouští odpuzující sekret a to i na větší vzdálenost. Stejně jako ruměnice tvoří ve volné přírodě shluky. Kromě zbarvení jí chrání ještě poměrně dobře sklerotizovaná kutikula, takže jako člen mimetického komplexu je též dobře chráněna (Exnerová et al. 2008).

Vroubenkovka červená (*Corizus hyoscyami*, L. 1758, Hemiptera: Rhopalidae) je další vybraný druh. Můžeme ji nalézt od nížinných poloh až po hory na suchých slunných lokalitách. Preferuje hvězdnicovité živné rostliny (Javorek 1978). Její zbarvení je velmi podobné ruměnici pospolné, tvar těla je ovšem protáhlejší a podobný spíš dalšímu vybranému druhu – ploštičce pestré.

Ploštička pestrá (*Lygaeus equestris*, Hemiptera: Lygeidae) také preferuje slunné lokality nížin (Javorek 1978), najdeme ji buď na zemi, ale spíše na jejích hostitelských rostlinách, ze kterých sekvestruje účinné obranné látky kardenolidy a kterými jsou tolita lékařská (*Vincetoxicum hirundinaria*) a hlaváček (*Adonis spp*.; Hotová Svádová et al. 2010; 2013). Kromě těchto toxických látek je vybavena i dalšími chemickými látkami repelentního charakteru. Výstražné zbarvení je též červeno-černé, tentokrát ovšem doplněné i o prvky bílé barvy. Díky kvalitní chemické obraně tohoto druhu je považován za modelový organismus středoevropského mimetického komplexu (Exnerová et al. 2008).

Ze stejné čeledi je i další vybraný druh ploštička tolitová (*Tropidothorax leucopterus*, Hemiptera: Lygeidae). Tento druh je teplomilný, žije v oblastech výskytu jeho živné rostliny tolity lékařské a také klejichy hedvábné (*Aclepias syriaca*). Zbarvení je černo-červené s bílou skvrnkou ve střední části krovek. Stejně jako u ploštičky pestré sekvestruje látky z hostitelské rostliny, takže je též vybavenou chemickou ochranou. Kromě chemických látek sekvestrovaných z hostitelské rostliny je zřejmě vybavena i dalšími alternativními obrannými mechanismy (Sillén-Tullberg et al. 2000).

Kromě ploštic byl vybrán i zástupce křísů pěnodějka červená (*Cercopis vulnerata*, Rossi 1807, Homoptera: Cercopidae). Ta je jarním druhem travnatých porostů nížin i horských stráních, bodlácích, vrbovkách a stéblech trav (Javorek 1978). Její zbarvení je převážně černé s dvěma páry červených skvrn a červenou páskou. Přímo o její chemické obraně není příliš

známo, nicméně u 44 druhů novosvětských pěnodějek bylo potvrzeno reflexní krvácení, což ve spojení s výstražným zbarvením naznačuje, že můžeme pěnodějky považovat za aposematický hmyz (Peck 2000).

Posledním vybraným druhem je slunéčko sedmitečné (*Coccinella septempunctata*, Coleoptera: Coccinellidae), které představuje nejběžnějšího zástupce slunéček v ČR, žije běžně na rostlinách v polích, lesích a zahradách od nížin až po hory (Zahradník 2004). Jeho zbarvení je poměrně variabilní, krovky jsou hlavně červené, někdy jsou ale až oranžové či nažloutlé; dalším důležitým rozpoznávacím prvkem pro predátory je jeho typický tvar s konvexně vypouklými krovkami (Dolenská et al. 2009). Na krovkách se dále nachází 7 černých skvrn a na černé hrudi dvě bílé větší oválné skvrny. Je vybavené účinnou chemickou ochranou složenou převážně z alkaloidů (Dixon 2000), takže v mimetickém komplexu je též považován za model (Exnerová et al. 2008).

1.6 Literatura

Alatalo R V., Mappes J (1996) Tracking the evolution of warning signals. Nature 382:708–710.

Aronsson M, Gamberale-Stille G (2008) Domestic chicks primarily attend to colour, not pattern, when learning an aposematic coloration. Anim Behav 75:417–423.

Collins CT, Watson A (1983) Field Observations of Bird Predation on Neotropical Moths. Biotropica 15:53–60.

Coppinger RP (1969) The Effect of Experience and Novelty on Avian Feeding Behavior with Reference to the Evolution of Warning Coloration in Butterflies . II . Reactions of Naïve Birds to Novel Insects. Am Nat 104:323–335.

Cott H (1940) Adaptive colouration in animals. Methuen, London

Dingemanse N (2002) Repeatability and heritability of exploratory behaviour in great tits from the wild. Anim Behav 64:929–938.

Dixon AFG (2000) Insect predator-prey dynamics: ladybird beetles and biological control. Cambridge University Press, Cambridge

Dolenská M, Nedvěd O, Veselý P, et al (2009) What constitutes optical warning signals of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) towards bird predators: Colour, pattern or general look? Biol J Linn Soc 98:234–242.

Edmunds M (1974) Defence in animals. A survey in antipredator defences. Longman, Harlow

Endler JA, Westcott DA, Madden JR, Robson T (2005) Animal visual systems and the evolution of color patterns: sensory processing illuminates signal evolution. Evolution 59:1795–1818.

Evans DL, Castoriades N, Badruddine H (1987) The degree of mutual resemblance and its effect on predation in young birds. Ethology 74:335–345.

Exnerová A, Landová E, Štys P, et al (2003) Reactions of passerine birds to aposematic and non-aposematic firebugs (*Pyrrhocoris apterus*; Heteroptera). Biol J Linn Soc 78:517–525.

Exnerová A, Svádová K, Fousová P, et al (2008) European birds and aposematic Heteroptera: Review of comparative experiments. Bull Insectology 61:163–165.

Exnerová A, Svádová K, Štys P, et al (2006) Importance of colour in the reaction of passerine predators to aposematic prey: experiments with mutants of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera). Biol J Linn Soc 88:143–153.

Exnerová A, Štys P, Fučíková E, et al (2007) Avoidance of aposematic prey in European tits (Paridae): Learned or innate? Behav Ecol 18:148–156.

Farine J, Bonnard O, Brossut R, Le Quére J-L (1992) Chemistry of defensive secretions in nymphs and adults of fire bug, *Pyrrhocoris apterus* L. (Heteroptera, Pyrrhocoridae). J Chem Ecol 18:1673–1682.

Forsman A, Merilaita S (1999) Fearful symmetry: Pattern size and asymmetry affects aposematic signal efficacy. Evol Ecol 13:131–140.

Gamberale G, Sillén-Tullberg B (1998) Aposematism and gregariousness: the combined effect of group size and coloration on signal repellence. Proc R Soc London B 265:889–894.

Gamberale G, Sillén-Tullberg B (1996) Evidence for a peak-shift in predator generalization among aposematic prey. Proc R Soc B Biol Sci 263:1329–1334.

Gamberale-Stille G (2000) Decision time and prey gregariousness influence attack probability in naïve and experienced predators. Anim Behav 60:95–99.

Gamberale-Stille G (2001) Benefit by contrast: an experiment with live aposematic prey. Behav Ecol 12:768–772.

Gamberale-Stille G, Johansen AI, Sillén-Tullberg B (2010) Change in protective coloration in the striated shieldbug *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae): Predator avoidance and generalization among different life stages. Evol Ecol 24:423–432.

Harrap S (1996) Tits, nuthatches & treecreepers. Helm, London

Harvey PH, Bull JJ, Pemberton M, Paxton RJ (1982) The evolution of aposematic coloration in distasteful prey: a family model. Am Nat 119:710–719.

Hatle JD, Salazar BD (2001) Aposematic Coloration of Gregarious Insects Can Delay Predation by an Ambush Predator. Environ Entomol 30:51–54.

Hotová Svádová K, Exnerová A, Kopečková M, Štys P (2013) How do predators learn to recognize a mimetic complex: Experiments with naive great tits and aposematic Heteroptera. Ethology 119:814–830.

Hotová Svádová K, Exnerová A, Kopečková M, Štys P (2010) Predator dependent mimetic complexes: Do passerine birds avoid Central European red-and-black Heteroptera? Eur J Entomol 107:349–355.

Hristov NI, Conner WE (2005) Sound strategy: acoustic aposematism in the bat–tiger moth arms race. Naturwissenschaften 92:164–169.

Javorek V (1978) Kapesní atlas ploštic a křísů. Státní pedagogické nakladateství, Praha

Johansen AI, Exnerová A, Hotová Svádová K, et al (2010) Adaptive change in protective coloration in adult striated shieldbugs *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae): Test of detectability of two colour forms by avian predators. Ecol Entomol 35:602–610.

Kauppinen J, Mappes J (2003) Why are wasps so intimidating: field experiments on hunting dragonflies (Odonata: *Aeshna grandis*). Anim Behav 66:505–511.

Kelly DJ, Marples NM (2004) The effects of novel odour and colour cues on food acceptance by the zebra finch, *Taeniopygia guttata*. Anim Behav 68:1049–1054.

Komárek S (2000) Mimikry, aposematismus a příbuzné jevy: mimetismus v přírodě a vývoj jeho poznání. Vesmír, Praha

Lindström L, Alatalo RV., Mappes J (1997) Imperfect Batesian mimicry - the effects of the frequency and the distastefulness of the model. Proc R Soc B Biol Sci 264:149–153.

Lindström L, Alatalo RV., Mappes J (1999) Reactions of hand-reared and wild-caught predators toward warningly colored, gregarious, and conspicuous prey. Behav Ecol 10:317 –322.

Lindström L, Rowe C, Guilford T (2001) Pyrazine odour makes visually conspicuous prey aversive. Proc Biol Sci 268:159–162.

Lyytinen A, Brakefield PM, Mappes J (2003) Significance of butterfly eyespots as an anti-predator device in ground-based and aerial attacks. Oikos 100:373–379.

MacDougall A, Dawkins MS (1998) Predator discrimination error and the benefits of Müllerian mimicry. Anim Behav 55:1281–1288.

Marples NM, Roper TJ (1996) Effects of novel colour and smell on the response of naive chicks towards food and water. Anim Behav 51:1417–1424.

Marples NM, van Veelen W, Brakefield PM (1994) The relative importance of colour, taste and smell in the protection of an aposematic insect *Coccinella septempunctata*. Anim. Behav. 48:967–974.

Meadows D (1993) Morphological variation in eyespots of the foureye butterflyfish (*Chaetiodon capistratus*) – implications for eyespot function. Copeia 1:235–240.

Merrill DN, Elgar MA (2000) Red legs and golden gasters: Batesian mimicry in Australian ants. Naturwissenschaften 87:212–215.

Nelson XJ, Jackson RR, Li D, et al (2006) Innate aversion to ants (Hymenoptera: Formicidae) and ant mimics: experimental findings from mantises (Mantodea). Biol J Linn Soc 88:23–32.

Niskanen M, Mappes J (2005) Significance of the dorsal zigzag pattern of *Vipera latastei gaditana* against avian predators. J Anim Ecol 74:1091–1101.

Peck DC (2000) Reflex Bleeding in Froghoppers (Homoptera: Cercopidae): Variation in Behavior and Taxonomic Distribution. Ann Entomol Soc Am 93:1186–1194.

Pinheiro CEG (2003) Does Müllerian Mimicry Work in Nature? Experiments with Butterflies and Birds (Tyrannidae). Biotropica 35:356–364.

Prokopová M, Veselý P, Fuchs R, Zrzavý J (2010) The role of size and colour pattern in protection of developmental stages of the red firebug (*Pyrrhocoris apterus*) against avian predators. Biol J Linn Soc 100:890–898.

Průchová A, Nedvěd O, Veselý P, et al (2014) Visual warning signals of the ladybird (*Harmonia axyridis*): the avian predators' point of view. Entomol Exp Appl 151:128–134.

Ritland DB (1998) Mimicry-Related Predation on Two Viceroy Butterfly (*Limenitis archippus*) Phenotypes. Am Midl Nat 140:1–20.

Roper T, Marples N (1997) Odour and colour as cues for taste-avoidance learning in domestic chicks. Anim Behav 53:1241–50.

Rowe C (2002) Sound improves visual discrimination learning in avian predators. Proc R Soc B Biol Sci 269:1353–1357.

Rowe C, Guilford T (1999) The evolution of multimodal warning displays. Evol Ecol 13:655–671.

Rowland HM, Mappes J, Ruxton GD, Speed MP (2010) Mimicry between unequally defended prey can be parasitic: evidence for quasi-Batesian mimicry. Ecol Lett 13:1494–1502.

Ruxton GD, Sherratt TN, Speed MP (2004) Avoiding attack: The evolutionary ecology of crypsis, warning signals, and mimicry. Oxford University Press Inc., New York

Sherratt TN (2002) The evolution of imperfect mimicry. Behav Ecol 13:821–826.

Sillén-Tullberg B (1985) Higher survival of an aposematic than of a cryptic form of a distasteful bug. Oecologia 67:411–415.

Sillén-Tullberg B, Gamberale-Stille G, Solbreck C (2000) Effects of food plant and group size on predator defence: differences between two co-occurring aposematic Lygaeinae bugs. Ecol Entomol 25:220–225.

Sillén-Tullberg B, Wiklund C, Järvi T (1982) Aposematic coloration in adults and larvae of *Lygaeus equestris* and its bearing on müllerian mimicry: an experimental study on predation on living bugs by the great tit *Parus major*. Oikos 39:131–136.

Speed MP (1999) Batesian, quasi-Batesian or Müllerian mimicry? Theory and data in mimicry research. Evol Ecol 13:755–776.

Speed MP (1993) Müllerian mimicry and the psychology of predation. Anim Behav 45:571–580.

Speed MP, Turner JRG (1999) Learning and memory in mimicry: II. Do we understand the mimicry spectrum? Biol J Linn Soc 67:281–312. doi: DOI: 10.1006/bijl.1998.0310

Stránský K, Valterová I, Ubik K, et al (1998) Volatiles from Stink Bug, *Graphosoma lineatum* (L.), and from Green Shield Bug, *Palomena prasina* (L.), (Heteroptera: Pentatomidae). J High Resolut Chromatogr 21:475–476.

Turner JRG (1987) The evolutionary dynamics of Batesian and Müllerian mimicry: similarities and differences. Ecol Entomol 12:81–95.

Veselý P, Fuchs R (2009) Newly emerged Batesian mimicry protects only unfamiliar prey. Evol Ecol 23:919–929.

Veselý P, Veselá S, Fuchs R, Zrzavý J (2006) Are gregarious red-black shieldbugs, *Graphosoma lineatum* (Hemiptera : Pentatomidae), really aposematic? An experimental approach. Evol Ecol Res 8:881–890.

Wiklund C, Järvi T (1982) Survival of Distasteful Insects After Being Attacked by Naïve Birds: A Reappraisal of the Theory of Aposematic Coloration Evolving Through Individual Selection. Evolution 36:998–1002.

Wuster W, Allum CSE, Bjargardottir IB, et al (2004) Do aposematism and Batesian mimicry require bright colours? A test, using European viper markings. Proc R Soc B Biol Sci 271:2495–2499.

Zahradník J (2004) Hmyz. Aventinum, Praha

2 Manuscript

2.1 Abstract

A mimetic complex of red-and-black insects is proposed to occur in central Europe. In our study, we tested the importance of a colour pattern as the main factor in the formation of this putative mimetic by transferring patterns of seven members of this ring onto a palatable prey using paper stickers. Wild-caught adult and hand-reared naïve great tits (*Parus major*) were used as predators. In general, reactions of birds to palatable prey carrying a conspicuous pattern differed from their reactions to the real insect species demonstrated in previous studies. Naïve great tits showed no innate avoidance to any of our colour patterns. Adult birds avoided most often pattern Pyrrhocoris, supposedly because of their individual experience with the real insect from the wild, since it is the most common amongst our chosen species. The second least attacked pattern was pattern Corizus that is very similar to Pyrrhocoris and birds could generalize them. Hence these two patterns can be considered as the only ones forming a mimetic complex defined on the basis of the colour pattern. In the rest of patterns, most of great tits were not able to recognize the real insect species, contrary; a significant portion of them was able to reveal the edible roach under the sticker. This could be explained by their higher willingness of birds to examine the suspicious prey probably because the imperfection of the visual signal. The body shape is supposed to affect the perfection of the visual signal.

2.2 Introduction

Aposematic animals use visual warning signals to advertise their unprofitability to optical orienting predators (Edmunds 1974). To constitute a clear connection between chemical defences and bright coloration due to which predator quickly learns to avoid this unpalatable prey, the colours used and also their combinations must be highly conspicuous (Coppinger 1969). The importance of colour was confirmed in many studies (Sillén-Tullberg 1985; Exnerová et al. 2006; Aronsson and Gamberale-Stille 2008; Cibulková et al. 2014; Průchová et al. 2014). Efficacy of bright coloration is enhanced by forming a distinctive contrasting and symmetric colour pattern (e.g. Marples et al. 1994; Forsman and Merilaita 1999, Průchová et al. 2014) optimally encompassing specific features, e.g. eyespots (Lyytinen et al. 2003). If a connection between visual traits and the unpalability of prey is established, predator might then be able to transfer his learned avoidance to another more or less visually similar species and thus generalize between them (Sillén-Tullberg et al. 1982; Hotová Svádová et al. 2013; Veselý et al. 2013a, b). A colour pattern is only one of the components of multimodal warning displays, nevertheless, it seems to be the most important together with chemical signals. Other

prey distinguishing features may be a typical body shape (Kauppinen and Mappes 2003), a shape of antennae and legs (Merrill and Elgar 2000; Nelson et al. 2006), deimatic behaviour (Pomini et al. 2010), and acoustic signals (Hristov and Conner 2005). Colour patterns are most effective in the mimicry antipredator strategy, both Müllerian and Batesian, which is the case of black-and-yellow warning colouration of wasps (Hymenoptera) and their mimic hoverflies (Diptera; Howarth and Edmunds 2000) or monarchs (*Danaus plexippus*, L. 1758) and their mimics, viceroys (*Limenitis archippus*, Crammer 1776; Ruxton et al. 2004). Aposematic species that possess similar warning signals and share the same predators form mimetic rings (Ruxton et al. 2004). However, the quality of chemical defence differs among species of these mimetic rings which results in their different roles – Müllerian model or Batesian mimic. Nevertheless, Speed (1993) claims that there is no such thing as a Müllerian complex since the probability that all species in one ring share the same costs and are equally protected is very low. Such species that possess some kind of defensive mechanisms, but they are not as well defended as the models, are called quasi-Batesian mimics (Speed 1993). Moreover, quasi-Batesian mimicry appears to be the most common type of mimicry in the natural environment (Speed 1993; MacDougall and Dawkins 1998; Speed 1999).

European aposematic species of Heteroptera are supposed to form such a kind of mimetic complex (Exnerová et al. 2008) since coreoid heteropterans possess noticeably similar red-and-black patterns including markings on the hemielytra and scutellum. Nonetheless, Exnerová et al. (2008) proposes that this mimetic complex includes all red-and-black insect species including ladybirds (Coccinellidae, Coleoptera) and froghoppers (Cercopidae, Homoptera). Smaller insectivorous passerines can be supposed to be the main predators of this mimetic complex (Exnerová et al. 2008). Most of experiments was conducted with great tits (*Parus major*, L., 1758), which strongly avoided *Lygaeus equestris* (L., 1758; Sillén-Tullberg et al. 1982; Hotová Svádová et al. 2010, 2013), *Spilostethus saxatilis* (Scopoli, 1763; Hotová Svádová et al. 2010, 2013), but also *Coccinella septempunctata* (Marples et al. 1994; Dolenská et al. 2009). Another well-protected species is *Graphosoma lineatum* (L., 1758) with its strongly sclerotized cuticle and ability to spray chemicals on distance (Schlee 1986; Veselý et al. 2006; Johansen et al. 2010), while a rather weakly defended red firebug *Pyrrhocoris apterus* is supposed to play a role of quasi-Batesian mimic in this complex (Exnerová et al. 2003, 2006, 2007). Concerning *Cercopis vulnerata* (Rossi 1807), Evans et al. (1987) in their experiments with naïve common quails (*Coturnix coturnix*, L. 1758) showed that froghoppers, specifically *Cercopis intermedia* (Kirschbaum 1868), were very well

protected since birds attacked them in less than 30 % of cases, and similarly, Exnerová et al. (2008) suppose it plays a model role in the putative mimetic complex.

Apart from learned avoidance, birds can distinguish and then reject unpalatable prey on the basis of innate wariness that can be triggered during the first encounter with a new prey species (Marples and Roper 1996; Pinheiro 2003; Kelly and Marples 2004). Exnerová et al. (2007) showed that innate aversion may substantially differ among different predator species while one species (great tit) may differ in the innateness of aversion towards different prey, namely *P. apterus* vs. *C. septempunctata* – Exnerová et al. (2007) vs. Dolenská et al. (2009). Considering other members of the putative mimicry ring mentioned above, Hotová Svádová et al. (2013) showed that naïve great tits show almost no innate wariness against *L. equestris, S. saxatilis, P. apterus,* and *G. lineatum*.

In the present study we tested reactions of wild-caught adult and naïve great tits to seven colour patterns of red-and-black insect species that represent the pattern diversity among these species. The pattern was transferred onto a paper sticker and then placed on palatable prey to eliminate the effects of other cues (body shape, chemical defence, etc.). This method was successfully used to protect palatable prey against a predator (Veselý a Fuchs 2009; Veselý et al. 2013a).

If the colour pattern is the main factor affecting the formation of mimicry concerning this mimetic ring, we expect that adult great tits do not attack any of the presented patterns (acting like those are real insects). Similarly, we would expect that naïve birds show some variance in the avoidance to particular patterns, at least to pattern Coccinella. Supposedly, patterns Lygaeus and Graphosoma should be also avoided a little more than pattern Pyrrhocoris concerning reactions of naïve great tits to these real insect species (Hotová Svádová et al. 2013).

2.3 Material and methods

Predator

The great tit (*Parus major*) is an insectivorous bird commonly used in experiments testing the efficacy of antipredator signals of invertebrates (Dolenská et al. 2009; Veselý & Fuchs 2009; Hotová Svádová et al. 2010, 2013) owing to their ability to quickly accustom themselves to the laboratory conditions.

Adult great tits were caught with mist nets near České Budějovice (South Bohemia, Czech Republic) over the years 2013 – 2015 with the exception of the breeding seasons (from May to July). The birds were kept in standard birdcages for one to three days prior to the

experiments to get accustomed to the laboratory conditions and diet, at lowered indoor temperature and under light conditions corresponding with the outdoor period. During their acclimatisation, birds were offered water, sunflower seeds, and mealworms (larvae of *Tenebrio molitor*, L. 1758). The tits were ringed and immediately released right after the experiments at the place of their capture.

During 2012 – 2015, naïve great tits were obtained from nest boxes situated in the same woods where the adult birds were caught. From each box, four individuals were taken at the age of 12 days, and they were put into standard bird cages, one family group per one cage. Their diet consisted from mealworms, commercial feeding for insectivorous birds, and a mash made of grated boiled eggs, grated carrots, curd cheese, and crushed egg shells. Water was provided *ad libitum*. The birds could be tested when they started to feed themselves independently, approximately at the age of 7 weeks.

Prey

The Guyana spotted roach (*Blaptica dubia*, Audinet-Serville, 1838) was used as the palatable prey. We used the second and third larval instar which has approximately the same size as the real individuals of the insect species we used for creating of the pattern, and subsequently stickers with these patterns (see below). Roaches of these instars are brown-grey with pale and dark spots, with light brown legs and antennae. Although they use the crop evacuation as an antipredator defence, our roaches were fed fresh vegetables, and the birds weren't affected with this excretions; the roaches were thus considered as a palatable prey.

Appearance of the roaches was modified by using paper stickers with the conspicuous pattern placed on their back. The stickers can successfully imitate the aposematic prey and thus create a functional Batesian mimic (Veselý & Fuchs 2009). This method erases other possible clues for visual identification of a real insect individual because it unites the visual appearance concerning the body posture and the shape of legs and antennae. Of course, this modification removes effects of other cues, especially the chemical ones. Furthermore, it also does not affect the movement of roaches.

As the colour pattern, we chose seven species whose patterns were printed on paper stickers (Fig. 1). The species were chosen to cover pattern diversity of European red-and-black aposematic species who are members of the proposed mimetic complex (Exnerová et al. 2008). Moreover, great tits are familiar with most of these species since all the species are more or less common in the wild of the Czech Republic. Our patterns represent these species: seven-spot ladybird *Coccinella septempunctata*, froghopper *Cercopis vulnerata*, striated shield bug

Graphosoma lineatum, red firebug *Pyrrhocoris apterus*, black-and-red-bug *Lygaeus equestris*, *Tropidothorax leucopterus*, and *Corizus hyoscyami*.

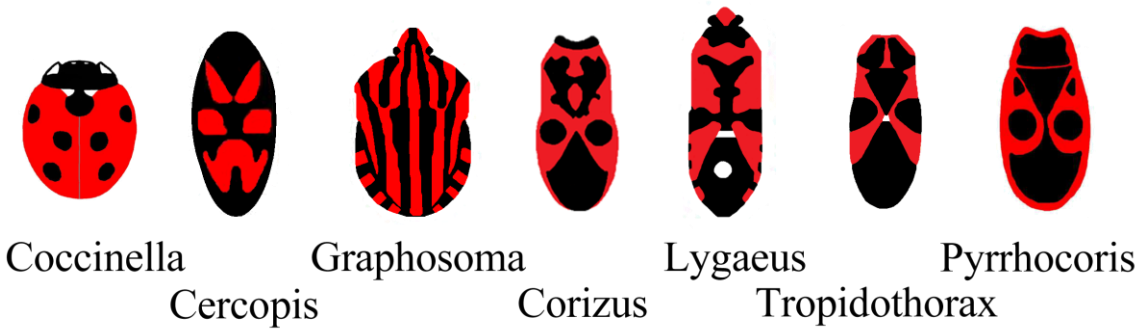


Figure 1: Experimental patterns presented on paper stickers carried by roaches and derived from chosen aposematic species. From left to right patterns of species *Coccinella septempunctata*, *Cercopis vulnerata*, *Graphosoma lineatum*, *Corizus hyoscyami*, *Lygaeus equestris*, *Tropidothorax leucopterus*, and *Pyrrhocoris apterus*.

Experimental equipment

The experimental cage was made of wooden cubic frames (70 cm x 70 cm x 70 cm) with the front wall made from a one-way mirror while the others were covered with fine wire mesh (2 mm x 2 mm). The cage was equipped with a perch, a bowl of water, and a rotating circular feeding tray containing small cups where only the cup nearest to the perch contained a prey during each trial. The bottom of the cups was white to provide a sufficient contrast for the birds to distinguish the prey. The distance between the tray and the perch was approximately 25 cm. Standard illumination was obtained by a light source (LUMILUX COMBI 18 W, OSRAM) that simulates full daylight spectrum including UV radiation.

Trials

The 140 tested adult great tits were divided into seven groups with 20 individuals each. Each group was tested on a different sticker with the pattern of an aposematic unpalatable prey. Similarly, naïve great tits were divided into seven groups with 13 individuals each, only the group confronted with pattern Corizus had only eight individuals.

The bird was placed into the cage several hours prior the experiment to accustom itself to the environment and was offered several mealworms in order to learn to search for them in the cups and to attack them. After being trained to attack the offered mealworm immediately, the bird was deprived of food for two hours. To verify that it is ready for the trial, the bird was

offered another small mealworm. If it attacked the mealworm immediately, the trial could start. If not, we prolonged the starvation time for about another 30 minutes.

The experiment consisted of a sequence of ten successful consecutive five-minute trials when the bird was offered alternately a mealworm or a roach with the specific sticker (mealworm, roach, mealworm, roach, etc.). Altogether there were five mealworm trials and five roach/pattern trials. The mealworm trials were performed to check for the motivation of birds to attack insect prey and were not further analysed. In all mealworm trials, the mealworm was attacked quickly after the offering.

Statistical analysis

In our analysis we focused on one element of a bird's behaviour – attacking the prey, which can be described as when a bird touched the prey with its bill and seized it. This behaviour was included in further analyses in two forms.

Firstly, we run a generalized linear model with an occurrence of attacking the roach in the very first trial with the roach as a response variable (binomial data). The interaction of categorical factors pattern type (one of the seven insects' patterns) and the bird age (naïve vs. adult) was included as the predictor variable. Likelihood ratio test following the binomial distribution with the Chi square test was used to assess the effect of the predictor variable. One-tailed Pearsons Chi square test with the Bonfferoni adjustment was used as the post-hoc test comparing the numbers of naïve and adult birds attacking particular patterns.

Secondly, we run a generalized linear model with the number of trials (out of five) during which the roach was attacked as the response variable (Poisson distribution). The interaction of categorical factors pattern type and the bird age was included as the predictor variable. Likelihood ratio test following the Poisson distribution with the Chi square test was used to assess the effect of the predictor variable. Post hoc test following the Poisson distribution with the Tukey correction was used to compare the numbers of naïve and adult birds attacking particular patterns as well as to compare the number of birds of particular age attacking individual patterns.

All computations were performed in the R software (version R 3.2.1).

2.4 Results

The attack rate in the first trial

The number of birds attacking the offered roaches in the first roach trial was significantly affected by the interaction of factors pattern type and bird age (GLM, Likelihood ratio test,

Chi = 28.56, DF = 13, P << 0.001). There were no differences in the attack rate to individual patterns within naïve as well as adult birds (Fig. 2). Nevertheless, there were differences in the attack rate of adult and naïve birds towards particular patterns. Pattern Corizus and Pyrrhocoris were attacked by significantly more naïve birds than adults (Corizus: Chi = 5.18, DF = 1, P = 0.023; Pyrrhocoris: Chi = 6.95, DF = 1, P = 0.008). This difference was marginally significant in the case of Cercopis (Chi = 4.14, DF = 1, P = 0.042) and Lygaeus pattern (Chi = 4.14, DF = 1, P = 0.042). Other patterns were attacked equally often by naïve as well as adult birds (Tropidothorax: Chi = 1.53, DF = 1, P = 0.216; Coccinella: Chi = 1.87, DF = 1, P = 0.172; Graphosoma: Chi = 1.19, DF = 1, P = 0.275).

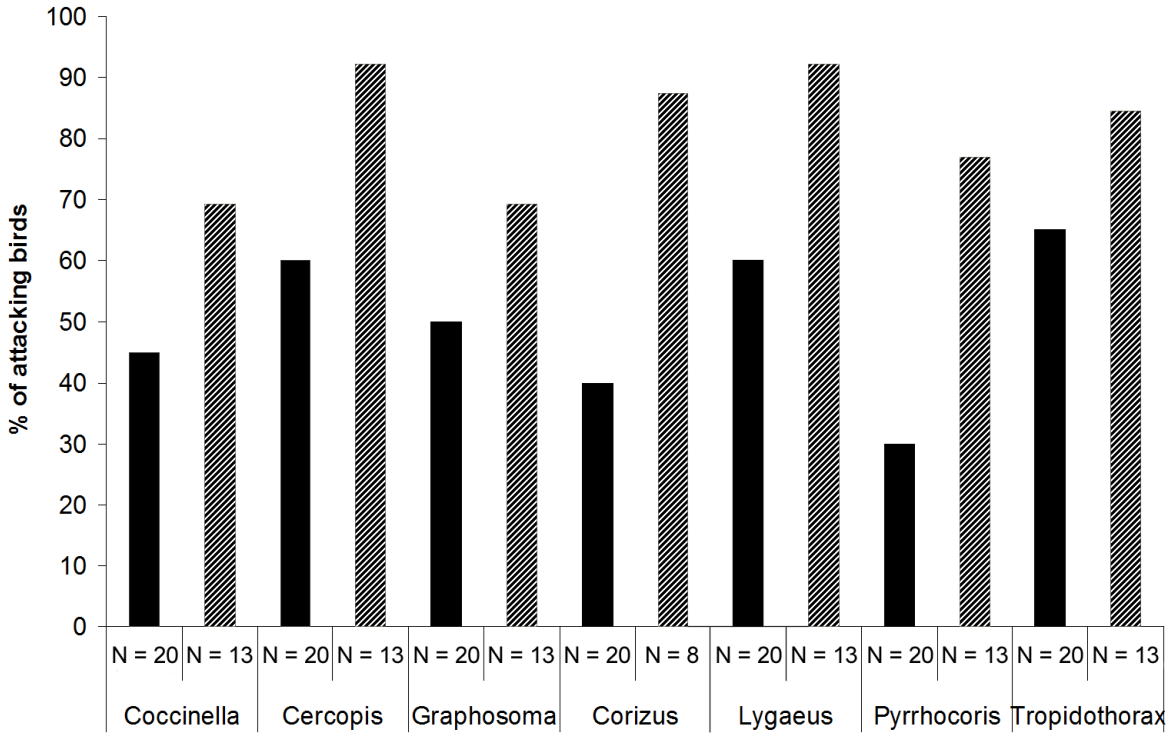


Figure 2: Comparison of attack rates to individual patterns within wild-caught (adult) and hand-reared (naïve) birds in the first trial.

Number of prey attacked

The number of prey attacked by particular birds (out of five) was significantly affected by the interaction of factors pattern type and bird age (GLM, Likelihood ratio test, Chi = 45.21, DF = 13, P << 0.001). There were no differences in the attack rate to individual patterns within naïve birds (Fig. 3). When considering adult birds (Fig. 4), the most attacked patterns were Cercopis (significantly differing from Corizus: Z = 2.35, P = 0.022 and Pyrrhocoris: Z = 2.57, P = 0.013) and Lygaeus (significantly differing from Corizus: Z = 2.35, P = 0.022 and

Pyrrhocoris: Z = 2.57, P = 0.013). Other pattern comparisons within adult birds were not significant. Pattern Corizus was attacked by significantly more naïve birds than adults (Z = 3.62, P = 0.020). This difference was marginally significant in the case of Pyrrhocoris (Z = 3.16, P = 0.088) and Tropidothorax pattern (Z = 3.24, P = 0.070).

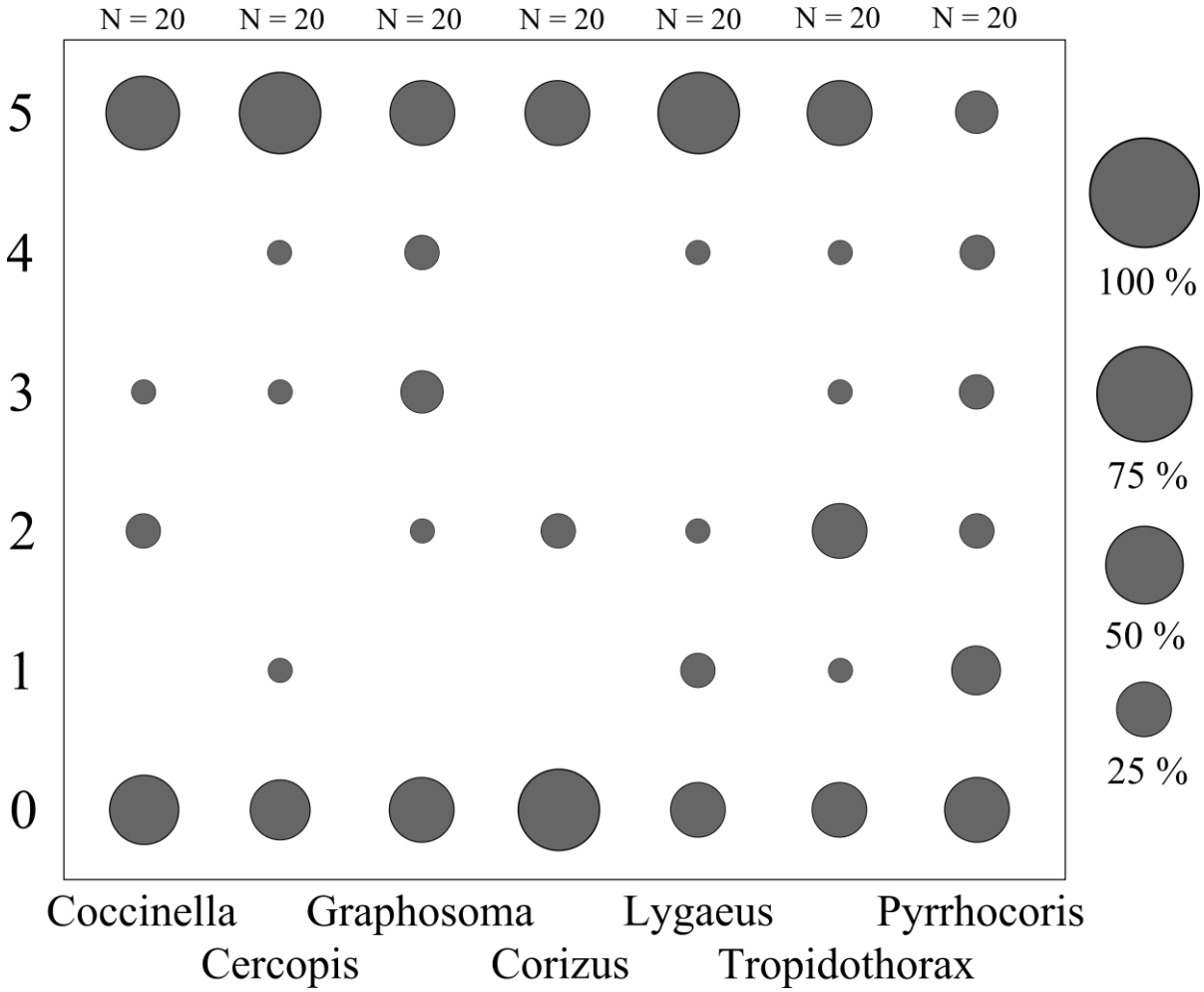


Figure 3: Number of prey attacked by naïve birds (0 – no attack, minimum; 5 – five attacks, maximum). Size of the circle indicates how many birds attacked that number of prey; the bigger the circle, the more birds attacked the particular number of prey.

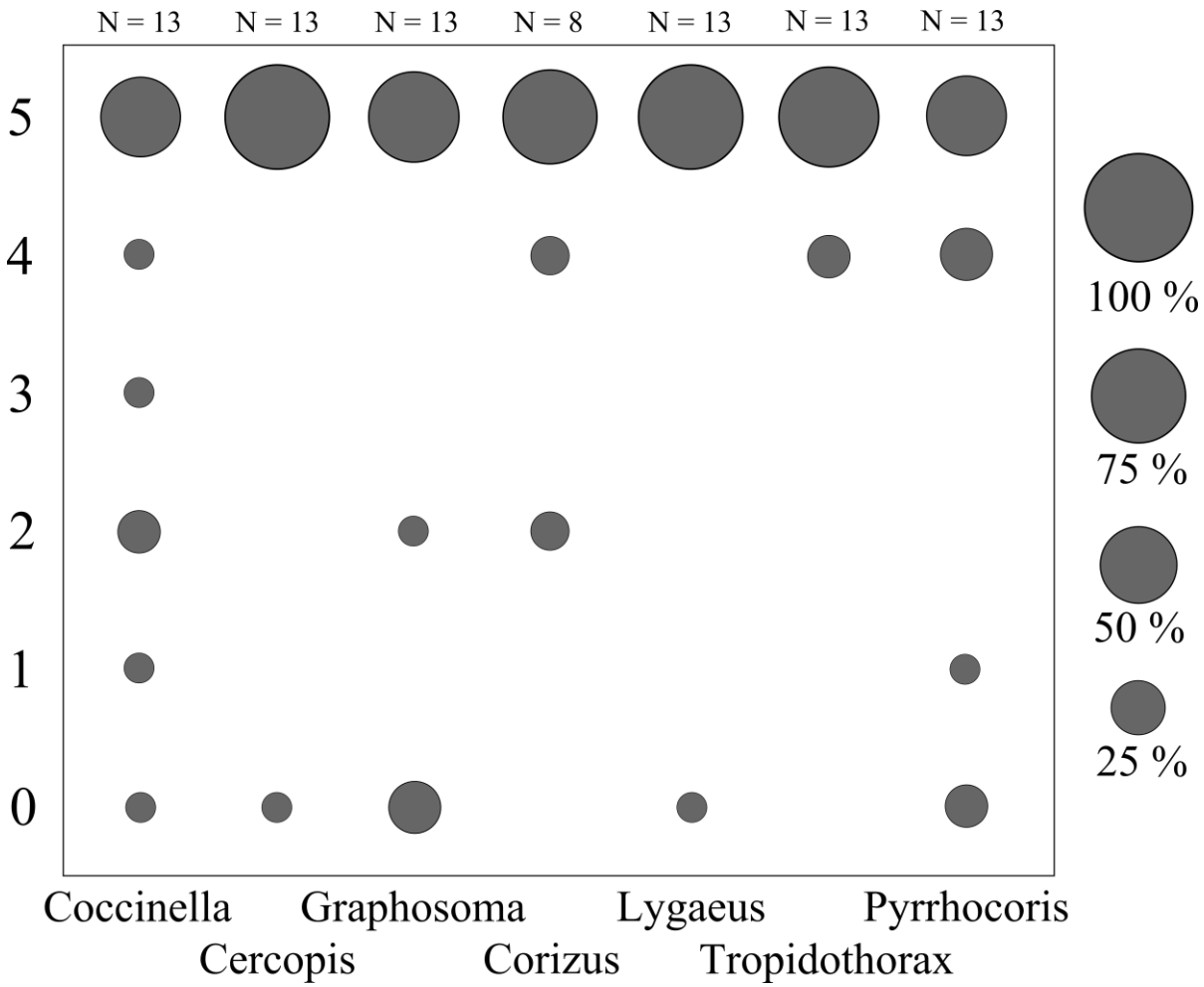


Figure 4: Number of prey attacked by wild-caught birds (0 – no attack, minimum; 5 – five attacks, maximum). Size of the circle indicates how many birds attacked that number of prey; the bigger the circle, the more birds attacked the particular number of prey.

2.5 Discussion

In this study, we showed no innate aversion to any of our colour patterns. That agrees with reactions of naïve great tits to the real aposematic form of *P. apterus* where they also show no initial avoidance and have to learn to avoid the aposematic prey, while the wild-caught great tits are able to avoid them already on sight (Exnerová et al. 2007; Hotová Svádová et al. 2010, 2013). Concerning reactions of naïve birds to real forms of *L. equestris* and *G. lineatum,* no innate aversion was demonstrated (Hotová Svádová et al. 2013). Reactions of our naïve birds to pattern Coccinella are also in concordance with reactions to real *C. septempunctata* observed in Dolenská et al. (2009). In their experiments, naïve birds showed partial innateness of aversion to ladybirds attacking the prey in 60 % cases. Pattern Coccinella was attacked least often in our study, at the first encounter 32 % of birds avoided attacking it. Nevertheless, only one bird did not attack this pattern at all. Other birds realized the presence of edible roach

under the shield. Nevertheless, based on these results we cannot definitely affirm if the birds were able to recognize the real insect species in our artificial prey only by the colour pattern.

Our artificially prepared warningly coloured prey lacks any chemical defence, so there was no penalty for attacking birds which subsequently did not experience any discomfort. As previously mentioned, there was showed no innate aversion in naïve great tits in Hotová Svádová et al (2013), but as the used insect prey was equipped with chemical protection, the tested birds were able to learn the avoidance. The learning of *P. apterus* took longer than the learning of *G. lineatum* and *L. equestris* which was probably caused by the different effects of various defensive mechanisms possessed by these species. Nevertheless, the willingness of birds to attack palatable prey carrying a paper sticker with a warning pattern may decrease after some time as well. Cibulková et al. (2014) showed that great tits stop attacking the artificially prepared blue and black coloured edible prey. This was probably caused by the setup of the experiment where the experimental prey was alternated with a mealworm which, being delicious and familiar prey, may later become preferred to a weird-looking cockroach with paper on its back. Obviously, this was not our case although we used the same method (alternating the experimental prey with preferred mealworms). This indicates that most of naïve great tits did not perceive our patterns as a warning signal, not even as a suspicious one.

We further showed that adult birds differ in their reactions to our pattern. Their reactions in the first trials did not differ significantly among the patterns, although some differences can be observed (Fig. 2), but in general, one half of wild-caught tits attacked every pattern. Concerning the number of prey attacked, there were more noticeable differences. The largest portion of birds never attacked the patterns Corizus and Pyrrhocoris. Moreover, the reactions of naïve and wild-caught tits differ only for patterns Corizus and Pyrrhocoris, which can again be influenced by the ability of wild-caught birds to generalize their previous individual experience with real *P. apterus* to these patterns. *P. apterus* is the most common and easiest to find amongst our chosen Heteroptera species, since it is a widespread terrestrial species occurring on the ground, herbal layer, and trees and shrubs as well (Socha 1993). On the other hand, the occurrence of *Corizus hyoscyami* is much lower; it inhabits the herb layer in warmer parts of the middle Europe (Aukema and Rieger 2006), so that the probability of co-occurrence with great tits is quite low. These two patterns are quite similar in their appearance thanks to which adult birds with previous individual experience with a real individual of *P. apterus* could generalise their knowledge to the Pyrrhocoris pattern and subsequently to the very similar Corizus pattern as well. We can thus presume a formation of a small mimetic complex of these two patterns.

The most attacked patterns were Cercopis, Lygaeus, and Tropidothorax. Both their real model species are relatively abundant, inhabiting an herb layer though, so the degree of wild birds' familiarity with them is not quite clear. Concerning the chemical defence of *C. vulnerata*, not much is known, but reflex bleeding was described in New World froghoppers which, in tandem with warning odours and conspicuous coloration, may function as defence mechanisms (Peck 2000). It is also supposed to play a model role in the putative mimetic complex of red-and-black insect species (Exnerová et al. 2008). In our experiments, it is possible that the pattern Cercopis was not recognized by birds, since the artificial prey carrying a flat sticker was lacking the typical body shape of a real *C. vulnerata* (characteristic funnel-shaped body). *Lygaeus equestris* is also a member of the proposed mimetic complex, representing the model role and possessing very effective chemical defences (Exnerová et al. 2008; Sillén-Tullberg et al. 2000; Hotová Svádová et al. 2010, 2013). The real pattern of *L. equestris* is rather red-and-grey than red-and-black as our pattern was. With respect to this fact, our birds were probably not able to identify this pattern as an individual of *L. equestris*, or to generalize this pattern with another species well-known to them, *P. apterus*. Similarly to this, *Tropidothorax leucopterus* is also very well-protected and as proposed by Sillén-Tullberg et al. (2000) possesses besides chemical defence sequestrated from their host plants alternative defence mechanisms. We may speculate that our great tits were not familiar with this insect species from the wild (this is the scarcest species in the Czech Republic). This also suggests that our great tits were not able to generalize the aversion to the *P. apterus* on this pattern although they are quite similar in their appearance (black spots on hemielytra and scutellum). Nevertheless, the spots on hemielytra are not rounded, and *T. leucopterus* possesses a conspicuous white spot in the middle of the abdomen. This could probably prevent birds from generalizing these patterns.

Patterns Graphosoma and Coccinella were also attacked by a significant portion of birds. A cockroach with a sticker on its back lacks the typical shape of these real insects which may also serve as an important visual trait in prey recognition (Kauppinen and Mappes 2003; Dolenská et al. 2009). The lack of the typical body shape may then result in a higher number of attacks to patterns of these insects.

In case of almost all patterns (except for Pyrrhocoris) reactions of birds are dual. One significant portion of birds attacked every individual prey presented while the other large group avoided presented prey in all trials. We may suggest that the first groups of birds was able to find the palatable cockroach under a sticker. This finding does not agree with Veselý and Fuchs (2009) where authors used the paper sticker method successfully creating a Batesian

mimic of a red firebug. If the predator had no prior experience with a cockroach, a cockroach with a firebug sticker placed on its back was very well protected. According to this, in our experiment a cockroach with Pyrrhocoris pattern was uncovered in the least of cases. Since *P. apterus* is a very common insect species and most of tested great tits were probably familiar with it and its pattern, bird does not feel the need to examine the artificial prey carrying this pattern. If the pattern was unfamiliar or imperfect, the birds decided to examine it more closely revealing the hidden palatable cockroach. Therefore, we can measure the warning meaning of the pattern according to the willingness of birds to inspect the prey in detail. Additionally, a significant proportion of birds avoid the artificial prey of almost all patterns in all trials. These results may thus suggest the existence of a mimetic ring of all red-and-black patterns.

To sum up, reactions of great tits to palatable prey carrying a conspicuous pattern differ from their reactions to the real insect species. The pattern itself does not suffice to discourage most of birds from attacking the prey which need to possess other characteristic features to create a sufficient warning signal. Also naïve birds do not find the red-and-black pattern itself conspicuous enough to avoid it. Most of wild-caught birds can ignore those patterns and reveal a palatable cockroach. However, birds that decide not to attack avoid then all the patterns similarly. Moreover, wild-caught great tits distinguish Pyrrhocoris pattern the best since the real species is well-known to them. They reject this pattern on sight, so without any further examination they do not find the palatable prey. A significant proportion of these birds may generalize this avoidance also to Corizus pattern and avoid it too. Hence we can conclude that Pyrrhocoris and Corizus pattern form a mimetic ring which is defined only on the basis of the colour pattern. This cannot be applied to the rest of patterns without doubt.

2.6 References

Aronsson M, Gamberale-Stille G (2008) Domestic chicks primarily attend to colour, not pattern, when learning an aposematic coloration. Anim Behav 75:417–423.

Aukema B, Rieger C (2006) Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region. 5, Pentatomomorpha II. Netherlands Entomological Society, Amsterdam

Cibulková A, Veselý P, Fuchs R (2014) Importance of conspicuous colours in warning signals: The great tit's (*Parus major*) point of view. Evol Ecol 28:427–439.

Coppinger RP (1969) The Effect of Experience and Novelty on Avian Feeding Behavior with Reference to the Evolution of Warning Coloration in Butterflies. II. Reactions of Naïve Birds to Novel Insects. Am Nat 104:323–335.

Dolenská M, Nedvěd O, Veselý P, et al (2009) What constitutes optical warning signals of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) towards bird predators: Colour, pattern or general look? Biol J Linn Soc 98:234–242.

Edmunds M (1974) Defence in animals. A survey in antipredator defences. Longman, Harlow

Evans DL, Castoriades N, Badruddine H (1987) The degree of mutual resemblance and its effect on predation in young birds. Ethology 74:335–345.

Exnerová A, Landová E, Štys P, et al (2003) Reactions of passerine birds to aposematic and non-aposematic firebugs (*Pyrrhocoris apterus*; Heteroptera). Biol J Linn Soc 78:517–525.

Exnerová A, Svádová K, Fousová P, et al (2008) European birds and aposematic Heteroptera: Review of comparative experiments. Bull Insectology 61:163–165.

Exnerová A, Svádová K, Štys P, et al (2006) Importance of colour in the reaction of passerine predators to aposematic prey: experiments with mutants of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera). Biol J Linn Soc 88:143–153.

Exnerová A, Štys P, Fučíková E, et al (2007) Avoidance of aposematic prey in European tits (Paridae): Learned or innate? Behav Ecol 18:148–156.

Forsman A, Merilaita S (1999) Fearful symmetry: Pattern size and asymmetry affects aposematic signal efficacy. Evol Ecol 13:131–140.

Hotová Svádová K, Exnerová A, Kopečková M, Štys P (2013) How do predators learn to recognize a mimetic complex: Experiments with naive great tits and aposematic Heteroptera. Ethology 119:814–830.

Hotová Svádová K, Exnerová A, Kopečková M, Štys P (2010) Predator dependent mimetic complexes: Do passerine birds avoid Central European red-and-black Heteroptera? Eur J Entomol 107:349–355.

Howarth B, Edmunds M (2000) The phenology of Syrphidae (Diptera): are they Batesian mimics of Hymenoptera? Biol J Linn Soc 71:437–457.

Hristov NI, Conner WE (2005) Sound strategy: acoustic aposematism in the bat–tiger moth arms race. Naturwissenschaften 92:164–169.

Johansen AI, Exnerová A, Hotová Svádová K, et al (2010) Adaptive change in protective coloration in adult striated shieldbugs *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae): Test of detectability of two colour forms by avian predators. Ecol Entomol 35:602–610.

Kauppinen J, Mappes J (2003) Why are wasps so intimidating: field experiments on hunting dragonflies (Odonata: *Aeshna grandis*). Anim Behav 66:505–511.

Kelly DJ, Marples NM (2004) The effects of novel odour and colour cues on food acceptance by the zebra finch, Taeniopygia guttata. Anim Behav 68:1049–1054.

Lyytinen A, Brakefield PM, Mappes J (2003) Significance of butterfly eyespots as an anti-predator device in ground-based and aerial attacks. Oikos 100:373–379.

MacDougall A, Dawkins MS (1998) Predator discrimination error and the benefits of Müllerian mimicry. Anim Behav 55:1281–1288.

Marples NM, Roper TJ (1996) Effects of novel colour and smell on the response of naïve chicks towards food and water. Anim Behav 51:1417–1424.

Marples NM, van Veelen W, Brakefield PM (1994) The relative importance of colour, taste and smell in the protection of an aposematic insect *Coccinella septempunctata*. Anim. Behav. 48:967–974.

Merrill DN, Elgar MA (2000) Red legs and golden gasters: Batesian mimicry in Australian ants. Naturwissenschaften 87:212–215.

Nelson XJ, Jackson RR, Li D, et al (2006) Innate aversion to ants (Hymenoptera: Formicidae) and ant mimics: experimental findings from mantises (Mantodea). Biol J Linn Soc 88:23–32.

Peck DC (2000) Reflex Bleeding in Froghoppers (Homoptera: Cercopidae): Variation in Behavior and Taxonomic Distribution. Ann Entomol Soc Am 93:1186–1194.

Pinheiro CEG (2003) Does Müllerian Mimicry Work in Nature? Experiments with Butterflies and Birds (Tyrannidae). BIOTROPICA 35:356–364.

Pomini AM, Machado G, Pinto-da-Rocha R, et al (2010) Lines of defense in the harvestman *Hoplobunus mexicanus* (Arachnida: Opiliones): Aposematism, stridulation, thanatosis, and irritant chemicals. Biochem Syst Ecol 38:300–308.

Průchová A, Nedvěd O, Veselý P, et al (2014) Visual warning signals of the ladybird (*Harmonia axyridis*): the avian predators' point of view. Entomol Exp Appl 151:128–134.

Ruxton GD, Sherratt TN, Speed MP (2004) Avoiding attack: The evolutionary ecology of crypsis, warning signals, and mimicry. Oxford University Press Inc., New York

Schlee MA (1986) Avian Predation on Heteroptera: Experiments on the European Blackbird *Turdus m. merula* L. Ethology 73:1–18.

Sillén-Tullberg B (1985) Higher survival of an aposematic than of a cryptic form of a distasteful bug. Oecologia 67:411–415.

Sillén-Tullberg B, Gamberale-Stille G, Solbreck C (2000) Effects of food plant and group size on predator defence: differences between two co-occurring aposematic Lygaeinae bugs. Ecol Entomol 25:220–225.

Sillén-Tullberg B, Wiklund C, Järvi T (1982) Aposematic coloration in adults and larvae of *Lygaeus equestris* and its bearing on müllerian mimicry: an experimental study on predation on living bugs by the great tit *Parus major*. Oikos 39:131–136.

Socha R (1993) *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera) - an experimental model species: a review. Eur. J. Entomol. 90:241–286.

Speed MP (1999) Batesian, quasi-Batesian or Müllerian mimicry? Theory and data in mimicry research. Evol Ecol 13:755–776.

Speed MP (1993) Müllerian mimicry and the psychology of predation. Anim Behav 45:571–580.

Veselý P, Fuchs R (2009) Newly emerged Batesian mimicry protects only unfamiliar prey. Evol Ecol 23:919–929.

Veselý P, Luhanová D, Prášková M, Fuchs R (2013a) Generalization of Mimics Imperfect in Colour Patterns: The Point of View of Wild Avian Predators. Ethology 119:138–145.

Veselý P, Veselá S, Fuchs R (2013b) The responses of Central European avian predators to an allopatric aposematic true bug. Ethol Ecol Evol 25:275–288.

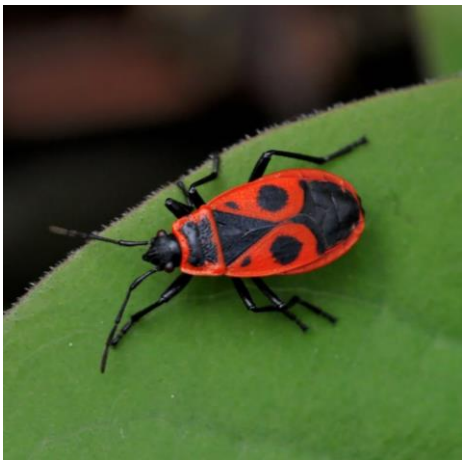
Veselý P, Veselá S, Fuchs R, Zrzavý J (2006) Are gregarious red-black shieldbugs, *Graphosoma lineatum* (Hemiptera : Pentatomidae), really aposematic? An experimental approach. Evol Ecol Res 8:881–890.

2.7 Přílohy

Mimetický komplex

Zástupci navrhovaného mimetické komplexu středoevropského červeno-černě zbarveného hmyzu (Exnerová et al. 2008). Červeně jsou označeny druhy, jejichž vzory byly vybrány pro tuto práci.

Pyrrhocoris apterus (L.) [1]



Pyrrhocoris marginatus (Kolenati) [2]

Scantius aegyptius (L.) [3]

Lygaeus equestris (L.) [4]

Spilostethus saxatilis (Scopoli) [5]

Tropidothorax leucopterus (Goeze) [6]

Corizus hyoscyami (L.) [7]

Horvathiolus superbus (Pollich) [8]

Eurydema ornatum (L.) [9]

Eurydema oleraceum (L.) [10]

Graphosoma lineatum (L) [11]

Cercopis vulnerata (Rossi) [12]

Coccinella septempunctata (L.) [13]

Propylaea quatuordecimpunctata (L.) [14]

Zdroje obrázků:

1. http://static.panoramio.com/photos/large/35475082.jpg
2. http://macroid.ru/mdata/11/CRW_17851.jpg
3. https://c1.staticflickr.com/9/8329/8382122878_193e24439f_b.jpg
4. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/49/Lygaeus_equestris01.jpg
5. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/30/Lygaeidae_-_Spilostethus_saxatilis.JPG
6. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a6/Lygaeidae_-_Tropidothorax_leucopterus.JPG
7. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/02/Corizus_hyoscyami01.jpg
8. https://c2.staticflickr.com/8/7418/10005056223_af48fd1eec.jpg
9. https://c1.staticflickr.com/7/6205/6033474828_09c661d505_b.jpg
10. http://www.miridae.dk/andre/2/eurydema_oleracea2.jpg
11. http://cdn.megapixel.cz/gallery/w1180h1180/6/153886.jpg
12. http://www.biolib.cz/IMG/GAL/120884.jpg
13. http://www.destigianni.com/images/Varie/insetti/coccinellaseptempunctata08.jpg
14. http://www.insects.ch/php/mhscms/apps/mhsUploader/data/t_news/118/UP_UPL_Image4/de/org/propylaea_quatuordecimpunctata_brione_verz_1_080503.jpg

Experimentální kořist

Šváb s nalepeným štítkem nesoucím jeden ze sedmi vybraných vzorů.

Coccinella

Cercopis

Graphosoma

Corizus

Lygaeus

Tropidothorax

Pyrrhocoris