

University of South Bohemia in České Budějovice
Faculty of Science



**Recognition of inconspicuous prey: importance of
additional visual cues**

Master thesis

Bc. Zuzana Karlíková

Supervisor: RNDr. Petr Veselý, Ph.D.

České Budějovice 2012

Master thesis:

Karlíková, Z. (2012). Recognition of inconspicuous prey: importance of additional visual cues. Mgr. Thesis, in English with Czech introduction. - 32 p., Faculty of Science, University of South Bohemia in České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

The ability of wild caught great tits (*Parus major*) to discriminate between equally coloured edible (roach - *Blaptica dubia*) and inedible prey (firebug - *Pyrrhocoris apterus*) was tested with respect to other visual traits (shape of legs, antennae, means of locomotion). To simulate more natural conditions, three different experiment types were carried out. Prey was presented either alternately (first roach or firebug) or simultaneously. Additionally, the effect of learning and memory was tested by the use of trial repetition during one session, and session repetition after one week.

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 23. 4. 2012

.....

Níže podepsaní potvrzují, že autorka magisterské práce, Zuzana Karlíková se většinou podílela na vzniku manuskriptu článku „Recognition of inconspicuous prey: importance of additional visual cues“.

.....

RNDr. Petr Veselý, Ph.D

.....

RNDr. Roman Fuchs, CSc.

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především Petrovi Veselému za ochotu a trpělivost a Andrew Giandomedico a Christopher Steer mají můj velký dík za pomoc s anglickým textem.

OBSAH

Úvod	1
Interakce kořist – predátor	1
Kryptické zbarvení	1
Výstražné zbarvení.....	4
Evoluce aposematismu	5
Rozpoznávací schopnosti ptáků	6
Ptačí smysly	7
Psychologie ptačích predátorů	7
Publikace citované v úvodu	10
Manuscript	15
Abstract	16
Introduction	17
Inconspicuous prey recognition	17
Effect of experience, learning and memory on recognition	18
Material and methods	19
Predators	19
Prey	20
Experimental equipment	20
Trials	21
Data and analyses	21
Results	22
Attacking	22
Killing	22
Discussion	23
References	27
Appendices	31

ÚVOD

INTERAKCE KOŘIST – PREDÁTOR

Střetnutí kořisti s predátorem probíhá vždy ve stejném sledu událostí. Predátor nejdříve kořist objeví, pak ji rozpozná podle charakteristických znaků a následně se predátor kořisti zmocní a pozře ji (Endler 1986). V každém z těchto kroků může ovšem dojít k přerušení interakce. Pro kořist je tato interakce většinou nebezpečnější (v sázce je život) než pro predátora (v sázce je hladovění), takže je na kořist vyvíjen velký tlak, aby se predaci nějakým způsobem bránila (Abrams 2000). Jedny z nejběžnějších obranných strategií kořisti jsou buď odstrašení predátora, nebo skrytí se.

Kryptické zbarvení

Organismy, u kterých je vysoké riziko predace, mohou jako ochranu před predátory využívat kamufláž. Díky ní si predátor pravděpodobně všimne nápadnějšího kolegy a kryptický organismus tak získává obrovskou výhodu (Edmunds 1990). Maskování mohou ale organismy využívat také ke znesnadnění odhalení nebo rozpoznání možnou kořistí či parazitem (Stevens & Merilaita 2009a). Kamufláž se hojně vyskytuje u často predovaných organismů, pokud jsou ovšem náklady na její vytvoření pro organismus únosné (Ruxton et al. 2004). Organismy mohou kamufláže dosahovat různými způsoby, které jsou následně detailněji rozebrány.

Aby byl organismus na podkladu co nejméně nápadný a nevzbuzoval pozornost, musí s tímto pozadím co nejlépe splývat (Endler 1978 ex Ruxton et al. 2004). Pro organismy je vhodné použít taktiku ***splynutí s pozadím*** v prostředí, které je jednoduché a jednotvárné. Pouze tehdy mají totiž vysokou pravděpodobností úspěšného napodobení tohoto pozadí. V rozmanitém prostředí už pro organismus není vhodné volit zbarvení, které odpovídá náhodnému výběru z pozadí. Kořist, která barevně splývá s náhodně vybraným vzorkem pozadí, pak totiž nemusí snížit pravděpodobnost odhalení predátorem. Naopak kořist, která je špatně odhalitelná, nemusí být zbarvena úplně stejně jako pozadí (Merilaita & Lind 2005). Zvířata se však neomezují pouze na maskování barvami. Ke krypsí přispívají také různé morfologické struktury nebo zvířata mohou k maskování využít různé materiály, které se v jejich okolí běžně nacházejí (Stevens & Merilaita 2009a).

Na první pohled podobným mechanismem je *maškaráda*. V tomto případě však nejde o to být neviditelný, ale spíše nedůležitý. Zvířata využívající maškarádu totiž mohou být nápadná, ale vypadají jako nejedlý a často i neživý předmět, jako například větvička, trn, list, kámen nebo dokonce ptačí trus (Skelhorn et al. 2010). Například pakobylky jsou velmi známým zástupcem hmyzu využívajícího maškarády k ochraně před predátory (Skelhorn et al. 2010). Tělo mořského koníka s výmluvným jménem řasovník rozedraný (*Phyllopteryx eques*) pokrývá množství výrůstků, které z koníka vytvářejí objekt podobný mořským řasám (Ruxton et al. 2004). Ptačí mistři v maškarádě jsou někteří zástupci lelků (řád *Caprimulgiformes*), jako například američtí potuové (čeleď *Nyctibiidae*) nebo indo-australští lelkouni (čeleď *Podargidae*), kteří se podobají pahýlům větví (Burnie & Hoare 2007).

Disruptivní zbarvení je soubor skvrn, které vytvářejí mylnou iluzi okrajů a hranic. Optickým rozbitím těla organismu je znesnadněna jeho detekce a také rozpoznání obrysu a tvaru těla (Stevens & Merilaita 2009b). K vytvoření dojmu okraje nebo hranice tam kde není, organismy využívají kombinaci kontrastních barev umístěných vedle sebe. Götmark & Hohlřält (1995 ex Ruxton et al. 2004) zkoumali schopnost lidí objevit samici a samce lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*) na stromě. Výsledky původně naznačovaly, že samec je špatně odhalitelný díky disruptivnímu černobílému zbarvení, zatímco hnědá samička splývá s hnědým pozadím. Nicméně hra světla a stínu, která mezi listím a větvemi vytváří kontrastní pozadí, může samečkovi posloužit ke krypsí stejně jako hnědá kůra v případě samice.

Vhodným kombinováním kontrastních a nekontrastních barev jsou určité části těla výrazné a přitahují pozornost, kdežto jiné části jsou velmi nenápadné (Cott 1957). Disruptivní zbarvení je také využíváno k zamaskování pouze určité části těla. Velmi běžné je ukryvání očí, které jsou citlivým, velmi potřebným a nenahraditelným orgánem (Ruxton et al. 2004). Strnadi podhorští (*Emberiza sulphurata*) směřují útok nejčastěji na hlavu červa. Nicméně když byly na červech nakresleny malé skvrny napodobující oči, ptáci klovali převážně do míst s těmto umělými očima (Blest 1957). Oči jsou maskovány díky různým kontrastním pruhům a jiným útvarům a naopak falešné oční skvrny jsou vytvářeny na jiných částech těla. U zástupců klipek (rod *Chaetodon*) se maskování očí vyskytuje u převážně většiny druhů. Kromě disruptivní funkce může sloužit také k signalizaci nejedlosti (Neudecker 1989). Skvrny vytvořené na křídlech kryptické kořisti zvýšily nebezpečí napadení predátorem. Když ale byly tyto skvrny nakresleny na křídlech nápadné kořisti, predátoři se této kořisti vyhýbali (Stevens et al. 2008). Oční skvrny, pokud jsou dostatečně

velké, mohou predátorovi připomenout oči pro něj nebezpečného zvířete. Tento efekt může být ještě umocněn, pokud se oční skvrny, které jsou normálně skryté za nenápadnou částí těla, náhle objeví (Tinbergen 1974 ex Stevens 2005).

Countershading je název pro jev, který organismy využívají ke zrušení kontrastu mezi osvětlenou a zastíněnou částí svého těla, při pohledu z boku. Ta polovina těla, na kterou svítí slunce, je zbarvena tmavěji než ta, která je ve stínu. Organismus tím dosáhne vyrušení přechodu mezi světlem a stínem a snižuje tak svou nápadnost. Na pozorovatele působí méně plasticky a je tedy těžší ho identifikovat jako živý trojrozměrný objekt (Thayer 1896). Ve studii Rowlandové et al. (2007) byly různě zbarvené umělé housenky předkládány ptačím predátorům. Housenky, které měly tmavší vrchní stranu, byly před predátory chráněny mnohem lépe než jednobarevné housenky, které pouze splývaly s pozadím. Pro housenky zdržující se na spodních stranách listů je vhodnější mít tmavěji zbarvenou břišní stranu těla, která je v tomto případě více osvětlena. A tyto housenky byly opravdu lépe chráněny než jednobarevné krypticky zbarvené housenky (Rowland et al. 2008). Vodní živočichové mohou světlejšího zbarvení na ventrální straně a tmavějšího zbarvení na dorzální straně využívat pro matení pozorovatele, který se dívá zespodu nebo shora. V tomto případě se ale jedná o výše zmiňované splnutí s pozadím (Ruxton et al. 2004).

Krypse nemusí působit pouze na vizuálně se orientující živočichy. Proti predátorům, kteří svou kořist vyhledávají sluchem, je účinným způsobem ochrany určité omezení vokalizace po dobu vysokého predáčnického tlaku. To však může mít dopad na mnoho oblastí života ať už je to lákání partnera, nebo například obhajoba teritoria. Někteří živočichové si proto vyvinuli jiné mechanismy pro svou ochranu. Jsou to různě modifikované hlasy, které je obtížnější zaměřit a umožňují tedy svému původci určitou míru kypse (Ruxton 2009). Tento jev je běžný u varovných hlasů ptáků (Klump et al. 1986). Chemickou kypsi využívají ke své ochraně housenky *Mechanitis polymnia* (čeleď *Nymphalidae*), jejichž predátory jsou mravenci *Camponotus crassus* (čeleď *Formicidae*). Hostitelskou rostlinou housenek je *Solanum tuberosum* (čeleď *Solanaceae*) a právě kutikulární lipidy této rostliny jsou podobné lipidům v kutikule housenek *M. polymnia*. Díky tomu, pokud se housenka nachází na této rostlině, mravenci po ní přecházejí jako po větvičce a nechávají ji bez sebemenšího zájmu (Portugal & Tringo 2005).

Výstražné zbarvení

Výstražné zbarvení je hojně využíváno pro svou schopnost odrazovat predátory (Cott 1957). Na jednu stranu toto zbarvení poutá pozornost a zvyšuje pravděpodobnost odhalení (Ruxton et al. 2004). Na stranu druhou je ale nápadnost jasným signálem toho, že se jedná o kořist určitým způsobem nevhodnou (Cott 1957, Ruxton 2004). Kořist s výstražným zbarvením je odhalitelná na delší vzdálenost než kryptická, což by mělo predátorovi poskytnout delší čas na rozmyšlení a rozpomenutí na negativní zkušenost se stejně vypadající kořistí. Větší vzdálenost mezi predátorem a kořistí při jejím objevení by také měla zamezit chybám při rozpoznávání kořisti. Predátor má totiž při včasném objevení kořisti více času a může si tuto kořist detailněji prohlédnout. Tato vlastnost výstražného zbarvení však může fungovat pouze na predátory, kteří již mají s touto kořistí dostatečnou zkušenost a tuto zkušenost si stále pamatují (Endler 1978, Guilford 1985).

Nápadné signály by měly splňovat několik podmínek, především snadnou rozpoznatelnost a zapamatovatelnost (Wallace 1870). Podoba nápadných signálů může být různá, nejčastěji se užívá nápadné zbarvení, ale úspěšně se při odrazení predátora mohou uplatnit také signály chemické, akustické či taktilní (Rowe & Guilford 1999). Nicméně výstražné zbarvení je zdaleka nejstudovanějším fenoménem (Guilford 1990). Mezi nápadné barvy využívané při aposematické signalizaci patří bezesporu černá, žlutá, červená a oranžová (Endler 1988) a tyto barvy jsou velmi často společně kombinovány do nápadných vzorů (Poulton 1890).

Nicméně různí pozorovatelé mohou určitý objekt považovat za nenápadný na rozdílných pozadích. Heiling et al. (2003) ve svém experimentu použili pavouka běžníka (*Thomisus spectabilis*), který loví na kopretinovci dřevnatém (*Argyranthemum frutescens*) a svou bílou barvou zaniká na bílých okvětních lístcích této rostliny. Alespoň pro lidské oko tomu tak je. Hmyz schopný vidět UV záření, jako jsou například včely (*Apis mellifera*), však pavouka vidí jako nápadně kontrastujícího. Ačkoliv je běžník predátorem opylovačů, jako jsou zmíněné včely, jeho přítomnost na květech je neodrazuje, ale naopak více láká ke květu přiletět. To je dáno zřejmě slabostí včel pro květy s barevnými vzory (Heiling et al. 2003). Některé organismy mohou z dálky působit krypticky, ale po přiblížení pozorovatele vysílají aposematické signály. Housenky otakárka fenyklového (*Papilio machaon*) byly lidem ukazovány v různých vzdálenostech. Na krátkou vzdálenost byly housenky snadno odhalitelné, stejně jako upravené housenky, které byly černo-oranžové. S rostoucí vzdáleností byly ale stále více nenápadné a hůře odhalitelné, ve srovnání s černo-oranžovými

jedinci (Sillén-Tullberg et al. 2005). Kořist může být výstražná nejen svým zbarvením. Nevhodnost může být signalizována také například zápachem kořisti (Marples & Ropper 1996, Lindström et al. 2001), zvuky, které kořist vydává (Rowe 2002, Hauglund 2006), typickým tvarem těla (Hough-Goldstein et al. 1993, Kauppinen & Mappes 2003, Dolenská et al. 2009) nebo postojem (Leal & Rodriguez-Robles 1997).

EVOLUCE APOSEMATISMU

Kořist, která je oproti ostatním kryptickým soudruhům výstražná, je vystavena vyššímu riziku predace. Jednak kvůli ztrátě nenápadnosti, jednak kvůli naivním predátorům, kteří se musí teprve naučit o nevhodnosti této pro ně neznámé kořisti. Nicméně hojnost aposematických druhů dokazuje, že výstražné signály mají určité speciální vlastnosti, které kořist přesto zvýhodňují (Speed 2001).

Otázkou zůstává, jakou selekcí se aposematismus vyvinul. Aposematictí jedinci jednoho druhu se často sdružují a vytvářejí shluky. Tyto shluky také umožňují lepší ochranu před predátory díky zesílení aposematického signálu (Alatalo & Mappes 1996, Gamberale & Sillén-Tullberg 1996, Gamberale-Stille 2000, Riipi et al. 2001). Na jednu stranu, pokud by v této skupině byli příslušníci jedné rodiny a jeden člen by zemřel po napadení predátorem, ostatní by se pravděpodobně zachránili. Predátor by totiž zřejmě, odrazen negativní zkušeností, nechal zbytek rodiny být (Fisher 1930). V tomto případě by se jednalo o kin selekci.

Na druhou stranu, aposematismus mohl umožnit shlukování také jedinců nepříbuzných. V tomto případě by šlo o „green beard“ selekci, kdy si „pomáhají“ jedinci, kteří nejsou nutně příbuzní, avšak jsou si podobní (Guilford 1985). Predátor by se tedy podle této teorie měl po zkušenosti s aposematickým jedincem vyhýbat podobným jedincům. Z toho by pak měli těžit jedinci podobní, ať už příbuzní, či nepříbuzní.

Oproti tomu ale existují také práce, které potvrzují vyšší pravděpodobnost přežití soliterního aposematického jedince po napadení predátorem, v porovnání s jedincem kryptickým (Järvi et al. 1981, Wiklund & Järvi 1982). Pravděpodobnost přežití by měla být u aposematické kořisti zvýšena tuhým odolným tělem a také větší opatrností predátorů při manipulaci s touto kořistí (Evans 1987). V tomto případě by šlo o individuální selekci. Pokud by byli tito jedinci kryptičtí, kvůli snížení nápadnosti by se zřejmě zdržovali každý sám. Aposematickým jedincům ale nehrozí ztráta nenápadnosti kvůli shlukovitému výskytu, naopak ze své nápadnosti těží. Nic by jim proto nemělo bránit shromažďovat se a využívat

výhod, které život ve skupině umožňuje (Guilford & Rowe 1996). Není proto jasné, zda se aposematictí jedinci shlukují kvůli lepší ochraně nebo jestli samotné shlukování nebylo právě ten jev, který rozšíření a udržení aposematismu umožnil (Guilfor & Rowe 1996).

S otázkou, zda se při vzniku aposematismu jednalo o kin nebo individuální selekci, souvisí také otázka, jestli vzniklo dříve výstražné zbarvení nebo nechutnost. Geny pro nechutnost by měly být podpořeny individuální selekcí, protože nechutnost by měla zvýhodnit jedince, u kterého se objevila. To ale platí pouze v případě, že tento jedinec přežije. Pokud by ale přišel o život, výhodu by mohli mít příbuzní vyskytující se poblíž (Harvey & Paxton 1981). Podle studie Guilforda (1988) by vznik výstražného zbarvení u již nechutné kořisti nemohlo podpořit teorii že aposematismus vznikl díky kin selekci. Ta by podle něj mohla být uvažována v případě, že by zbarvení a nechutnost vznikly společně. Avšak právě vznik výstražného zbarvení u již nechutné kořisti je hypotézou, která je také nejvíce podporovaná (Harvey & Paxton 1981, Guilford 1988, Alatalo & Mappes 1996, Sillén-Tullberg 2000). Nechutnost se totiž může vyvinout poměrně jednoduchými způsoby. Může to být díky přechodu organismu na jedovatou živnou rostlinu nebo díky ukládání toxinů v těle organismu. Pokud by pak tato kořist svou nechutností dostatečně odpuzovala predátory, vznik znaku urychlujícího učení a posilujícího paměť predátorů by byl pro kořist velkou výhodou (Marples et al. 2005). Nicméně díky potravnímu konzervatismu mnohých predátorů nejsou nemožné ani další dvě hypotézy. První hypotéza předpokládá společný vznik nechutnosti a výstražnosti (Ruxton et al. 2004). Druhá hypotéza pak uvažuje nejdříve o vzniku výstražného zbarvení, za kterým teprve následoval vznik nechutnosti (Marples et al. 2005).

ROZPOZNÁVACÍ SCHOPNOSTI PTÁKŮ

Pro přežití všech predátorů je schopnost najít a také získat vhodnou kořist nezbytná. A k tomu jsou důležité nejen dovednosti fyzické, ale významný vliv mají také schopnosti sensorické a kognitivní. Ty jsou velmi důležitým činitelem při evoluci aposematismu, protože ovlivňují evoluci designu signálů vysílaných kořistí (Guilford & Dawkins 1991). Ve studiích zkoumajících interakce predátorů a kořisti jsou nejčastěji používanými predátory ptáci, jejichž sensorické a kognitivní schopnosti se ovšem výrazně liší od schopností lidských.

Ptačí smysly

Ptáci se stejně jako lidé orientují převážně podle svého zraku. To však neznamená, že se na věci díváme stejnýma očima. Zrakové schopnosti ptáků se totiž značně odlišují od zraku lidského (Cuthill et al. 2000). Ptáci mají v čípcích minimálně čtyři typy fotopigmentů a někteří ptáci jsou navíc schopni vidět UV oblast spektra (Cuthill et al. 2000). Čich u většiny ptáků není velmi dobře vyvinut a upřednostňovanými smysly jsou zrak a sluch (Roper 1997). Ptáci mají ve srovnání s jinými obratlovci málo chuťových pohárků a tedy ani chuť není na moc vysoké úrovni (Sturkie & Whittow 2000). Naopak sluchové schopnosti ptáků jsou velmi dobré a obecně odpovídají komplexním vokálním schopnostem (Dooling & Popper 2000).

Psychologie ptačích predátorů

Při studiu reakcí ptačích predátorů na různou kořist bylo odhaleno několik procesů, které ochotu ptáků napadnout tuto kořist výrazně ovlivňují. Často se tak děje bez ohledu na kvalitu kořisti (zbarvení, ochrana), avšak tyto procesy musí být nutně zohledněny při studiu evoluce výstražných signálů (Guilford & Dawkins 1991).

Neofobie a potravní konzervatismus

V obou případech jde o odmítání potravy neznámé. Neofobie se vyskytuje u predátorů naivních a jde o odmítavou reakci na neznámou potravu. Kuřata přistupovala k nově zbarvené kořisti i vodě po delším váhání než k potravě a vodě známé barvy (Marples & Roper 1996). Pokud je však tato potravina jedlá a predátor získá pozitivní zkušenost, neofobie velmi brzy vymizí (Marples & Kelly 1999). Potravní konzervatismus je odmítavá reakce dospělých zkušených ptáků na novou potravu. Na odbourání této reakce predátor potřebuje poměrně dlouhou dobu, a pokud je v nabídce známá kořist, nemusí predátor novou kořist přijmout nikdy. K odbourání potravního konzervatismu dochází v několika krocích, kdy se predátor zpočátku ke kořisti přibližuje velmi váhavě (Marples & Kelly 1999).

Vrozená averze

U některých predátorů může být odmítavá reakce na výstražné zbarvení vrozená (Schuler & Hesse 1985, Roper & Cook 1989, Roper 1990). V experimentu Ropera (1990) kuřata představující naivní ptačí predátory odmítala napadat výstražně zbarvenou hmyzí kořist ať už byla tato kořist nabízena na kontrastním pozadí, nebo na pozadí ve stejné barvě jako kořist. Ke stejným výsledkům dospěly také experimenty s naivními sýkorami (Lindström et al. 1999). Sýkory si nevybíraly kořist na základě kontrastu s pozadím, ale orientovaly se

čistě podle jejího zbarvení. Nezkušení ptáci se tedy museli orientovat podle vrozené preference nebo averze vůči určité barvě.

Učení

Někteří predátoři se naopak musí o nevhodnosti aposematické kořisti učit. Aposematická kořist přitom může toto učení ovlivnit. V práci Gittlemana a Harveyho (1980) se predátoři naučili bez problému vyhýbat výstražné nechutné kořisti. Jenomže ve stejném experimentu se tito ptačí predátoři naučili vyhýbat také nevýstražné nechutné kořisti. Výhodou výstražného zbarvení ale bylo, že se predátoři naučili této kořisti vyhýbat mnohem rychleji (Gittleman & Harvey 1980). Stejně se predátoři učili také v experimentu Sillén-Tullbergové (1985), ale protože byla v tomto případě použita živá kořist, bylo také možné pozorovat vliv zbarvení kořisti na její přežívání. Výstražné ploštičky pestré (*Lygaeus equestris*) přežívaly setkání s predátory v daleko větší míře, než nevýstražné mutantní ploštičky. Zajímavé je, že i poměrně příbuzné druhy sýkor vykazují naprosto odlišnou potřebu učit se signálům nechutné hmyzí kořisti (Exnerová et al. 2007). Zatímco sýkora koňadra se učit musí, sýkory modřinky mají odmítavou reakci vrozenou.

Paměť

Pokud se predátor naučí, že daná kořist je nevhodná, je pro něj velmi důležité si tuto informaci uchovat. Proto je výstražné zbarvení, které má vliv také na paměť, nechutnou kořistí hojně využíváno. Predátoři si totiž negativní zkušenost spojí silněji s výrazným zbarvením kořisti. Při dalším setkání s tímto výstražným signálem si pak predátor svou zkušenost vybaví a to jej následně odradí od útoku. Navíc bylo prokázáno, že zkušenost s výstražnou kořistí si predátoři pamatují déle, než zkušenost s kořistí nevýstražnou (Roper & Redston 1987). Na paměť může mít vliv také zápach kořisti. Některé zápachy spojené s negativní zkušeností predátora mohou ovlivnit jeho chování dokonce ve větší míře než barva kořisti (Roper & Marples 1997).

Search image

Většina predátorů musí umět rozlišovat mezi více druhy kořisti (Yumiko & Masakazu 2010). Pokud je kořist kryptická, není pro predátora jednoduché ji odhalit. Úspěšnost odhalení takové kořisti může predátor zlepšit, pokud se naučí rysy, které jsou charakteristické pro daný typ kořisti – vytvoří si search image (van Leeuwen & Jansen 2010). Takto se může predátor zaměřit na nejčastěji se vyskytující typ kořisti a ostatní kořisti, která není tak hojná, je přehlížena (Yumiko & Masakazu 2010). Na jednu stranu je vytvoření search image možné v jeden okamžik jen pro jeden typ kořisti (Bond 1983). Sojky

chocholaté (*Cyanocitta cristata*) byly méně úspěšné při vyhledávání dvou typů kořisti, než když se musely naučit soustředit pozornost jen na jeden typ kořisti. Na druhou stranu byly sojky schopné přepínat search image mezi dvěma typy kořisti, pokud byly nabízeny postupně a toto přepínání nemělo žádný vliv na rychlost hledání kořisti (Dukas 2001).

Housenky živící se na listech rostlin zanechávají tyto listy viditelně poničené. Někteří ptačí predátoři mohou využívat tento signál přítomnosti housenek k jejich snadnějšímu nalezení. Tento způsob hledání kořisti podle jejích pozůstatků je výhodnější než využití search image. Predátoři mohou totiž tímto způsobem nalézt větší škálu kořisti (Heinrich & Collins 1983). Nicméně poškození listů může být na různých stromech způsobeno různými housenkami. Zatímco na některých druzích stromů žijí housenky jedlé, na jiných druzích stromů jsou housenky jedovaté. Zřejmě také z tohoto důvodu jsou někteří ptáci schopni rozlišovat mezi druhy stromů (Heinrich & Collins 1983).

PUBLIKACE CITOVANÉ V ÚVODU

- Abrams, P. A. 2000.** The evolution of predator-prey interactions: theory and evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **31**: 79-105.
- Alatalo, R. V., Mappes, J. 1996.** Tracking the evolution of warning signals. *Nature* **382**: 708- 710.
- Blest , A. D. 1957.** The function of eyespot patterns in the lepidoptera. *Behaviour* **11**: 209-256.
- Bond, A. B. 1983.** Visual search and selection of natural stimuli in the pigeon: the attention threshold hypothesis. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* **9**: 292- 306.
- Burnie, D., Hoare, B. 2007.** *Bird, The Definitive Visual Guide*. Dorling Kindersley, London.
- Cott, H. B. 1957.** *Adaptive Coloration in Animals*. Methuen, London.
- Cuthill, I. C., Partridge, J. C., Bennett, A. T. D., Church, S. C., Hart, N. S., Hunt, S. 2000.** Ultraviolet vision in birds. *Advances in the Study of Behavior* **29**: 159- 214.
- Dolenská, M., Nedvěd, O., Veselý, P., Tesařová, M., Fuchs, R. 2009.** What constitutes optical warning signals of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) towards bird predators: colour, pattern or general look? *Biological Journal of the Linnean Society* **98**: 234-242.
- Dooling, R. J., Popper, A. N. 2000.** Comparative hearing: Birds and reptiles. *Springer Handbook of Auditory Research* **13**: 1-12.
- Dukas, R., Kamil, A. C. 2001.** Limited attention: the constraint underlying search image. *Behavioral Ecology* **12**: 192- 199.
- Edmunds, M. 1990.** The evolution of cryptic coloration. In *Insect defenses* (ed. Evans, D. L., Schmidt, J. O.), 3-22. State University of New York Press.
- Endler, J. A. 1978.** A predator's view of animal color patterns. *Evolutionary Biology* **11**: 319-364.
- Endler, J. A. 1986.** Defense against predation. In: *Predator-prey relationships, perspectives and approaches from the study of lower vertebrates* (ed. Feder, M. E., Lauder, G. V.), 109-134. University of Chicago Press.
- Endler, J. A. 1988.** Frequency-dependent predation crypsis and aposematic coloration. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* **319**: 505-523.
- Evans, D. L. 1987.** Tough, harmless cryptics could evolve into tough, nasty aposematics: an individual selectionist model. *Oikos* **48**: 114-115.

- Exnerová, A., Štys, P., Fučíková, E., Veselá, S., Svádová, K., Prokopová, M., Jarošík, V., Fuchs, R., Landová, E. 2007.** Avoidance of aposematic prey in European tits (Paridae): learned or innate? *Behavioral Ecology* **18**: 148- 156.
- Fisher, R. A. 1930.** *The genetical theory of natural selection*. Clarendon, Oxford.
- Gamberale- Stille, G. 2000.** Decision time and prey gregariousness influence attack probability in naive and experienced predators. *Animal Behaviour* **60**: 95- 99.
- Gamberale, G., Sillén- Tullberg, B. 1996.** Evidence for more effective signal in aggregated aposematic prey. *Animal Behaviour* **52**: 597- 601.
- Gittleman, J. L., Harvey, P. H. 1980.** Why are distasteful prey not cryptic? *Nature* **286**: 149- 150.
- Götmark, F., Hohlfält, A. 1995.** Bright male plumage and predation risk in passerine birds: are males easier to detect than females? *Oikos* **74**: 475-484.
- Guilford, T. 1985.** How do 'warning colours' work? Conspicuousness may reduce recognition errors in experienced predators. *Animal Behaviour* **34**: 286- 288.
- Guilford, T. 1988.** The evolution of conspicuous coloration. *American Naturalist* **131**: 7-21.
- Guilford, T. 1990.** The evolution of aposematism. In *Insect defenses* (ed. Evans, D. L., Schmidt, J. O.), 23-62. State University of New York Press.
- Guilford, T., Dawkins, M. S. 1991.** Receiver psychology and the evolution of animal signals. *Animal Behaviour* **42**: 1- 14.
- Guilford, T., Rowe, C. 1996.** Unpalatable evolutionary principles. *Nature* **382**: 667-668.
- Harvey, P. H., Paxton, R. J. 1981.** The evolution of aposematic coloration. *Oikos* **37**: 391- 396.
- Hauglund, K., Hagen, S. B., Lampe, H. M. 2006.** Responses of domestic chicks (*Gallus gallus domesticus*) to multimodal aposematic signals. *Behavioral Ecology* **17**: 392- 398.
- Heiling, A. M., Herberstein, M. E. & Chittka, L. 2003.** Pollinator attraction: Crab-spiders manipulate flower signals. *Nature* **421**: 334.
- Heinrich, B., Collins, S. L. 1983.** Caterpillar leaf damage, and the game of hide-and-seek with birds. *Ecology* **64**: 592-602.
- Hough-Goldstein, J. A., Geiger, J., Chang, D., Saylor, W. 1993.** Palatability and toxicity of the colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to domestic chickens. *Annals of the Entomological Society of America* **86**: 158-164.
- Järvi, T., Sillén- Tullberg, B., Wiklund, Ch. 1981.** Individual versus kin selection for aposematic coloration: a reply to Harvey and Paxton. *Oikos* **37**: 393- 395.

- Kauppinen, J., Mappes, J. 2003.** Why are wasps so intimidating: field experiments on hunting dragonflies (Odonata: *Aeshna grandis*). *Animal Behaviour* **66**: 505-511.
- Klump, G. M., Kretzschmar, E., Curio, E. 1986.** The hearing of an avian predator and its avian prey. *Behavior, Ecology and Sociobiology* **18**: 317-323.
- Leal, M., Rodriguez-Robles, J. A. 1997.** Signalling displays during predatory-prey interactions in a Puerto Rican anole *Anolis cristatellus*. *Animal Behaviour* **54**: 1147-1154.
- Lindström, L., Alatalo, R. V., Mappes, J. 1999.** Reactions of hand-reared and wild-caught predators toward warningly colored, gregarious, and conspicuous prey. *Behavioral Ecology* **10**: 317- 322.
- Lindström, L., Rowe, C., Guilford, T. 2001.** Pyrazine odour makes visually conspicuous prey aversive. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **268**: 159- 162.
- Marples, N. M., Kelly, D. J. 1999.** Neophobia and dietary conservatism: two distinct processes? *Evolutionary Ecology* **13**: 641- 653.
- Marples, N. M., Kelly, D. J., Thomas, R. J. 2005.** Perspective: the evolution of warning coloration is not paradoxical. *Evolution* **59**: 933-940.
- Marples, N. M., Roper, T. J. 1996.** Effects of novel colour and smell on the response of naive chicks towards food and water. *Animal Behaviour* **51**: 1417- 1424.
- Merilaita, S., Lind, J. 2005.** Background-matching and disruptive coloration, and the evolution of cryptic coloration. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **272**: 665-670.
- Neudecker, S. 1989.** Eye camouflage and false eyespots: chaetodontid responses to predators. *Environmental Biology of Fishes* **25**: 143-157.
- Portugal, A. H. A., Trigo, J. R. 2005.** Similarity of cuticular lipids between a caterpillar and its host plant: a way to make prey undetectable for predatory ants? *Journal of Chemical Ecology* **31**: 2551 - 2561.
- Poulton, E. B. 1890.** *The colours of animals: Their meaning and use especially considered in the case of insects*. Gegan Paul, Trench, Trubner & Co. Ltd, London.
- Riipi, M., Alatalo, R. V., Lindström, L., Mappes, J. 2001.** Multiple benefits of gregariousness cover detectability costs in aposematic aggregations. *Nature* **413**: 512-514.
- Roper, T. J. 1990.** Responses of domestic chicks to artificially coloured insect prey: effects of previous experience and background colour. *Animal Behaviour* **39**: 466-473.

- Roper, T. J., Cook, S. E. 1989.** Responses of chicks to brightly coloured insect prey. *Behaviour* **110**: 276- 293.
- Roper, T. J., Marples, N. M. 1997.** Odour and colour as cues for taste-avoidance learning in domestic chicks. *Animal Behaviour* **53**: 1241-1250.
- Roper, T. J., Redston, S. 1987.** Conspicuousness of distasteful prey affects the strength and durability of one-trial avoidance learning. *Animal Behaviour* **35**: 739-747.
- Rowe, C. 2002.** Sound improves visual discrimination learning in avian predators. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **269**: 1353–1357.
- Rowe, C., Guilford, T. 1999.** The evolution of multimodal warning displays. *Evolutionary Ecology* **13**: 655- 671.
- Rowland, H. M., Cuthill, I. C., Harvey, I. F., Speed, M. P., Ruxton, G. D. 2008.** Can't tell the caterpillars from the trees: countershading enhances survival in a woodland. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **275**: 2539-2545.
- Rowland, H. M., Speed, M. P., Ruxton, G. D., Edmunds, M., Stevens, M., Harvey, I. F. 2007.** Countershading enhances cryptic protection: an experiment with wild birds and artificial prey. *Animal Behaviour* **74**: 1249-1258.
- Ruxton, G. D. 2009.** Non-visual crypsis: a review of the empirical evidence for camouflage to senses other than vision. *Philosophical Transactions of the Royal Society London, Series B* **364**: 549 557.
- Ruxton, G. D., Sherratt, T. N., Speed, M. P. 2004.** *Avoiding attack: The evolutionary ecology of crypsis, warning signals, and mimicry*. Oxford University Press, Oxford.
- Schuler, W., Hesse, E. 1985.** On the function of warning coloration: A black and yellow pattern inhibits prey- attack by naive domestic chicks. *Behavior, Ecology and Sociobiology* **16**: 249- 255.
- Sillén-Tullberg, B. 1985.** The significance of coloration per se, independent of background, for predator avoidance of aposematic prey. *Animal Behaviour* **33**: 1382- 1384.
- Sillén-Tullberg, B., Leimar, O., Gamberale- Stille, G. 2000.** Did aggregation favour the initial evolution of warning coloration? A novel world revisited. *Animal Behaviour* **59**: 281- 287.
- Sillén-Tullberg, B., Merilaita, S., Wiklund, C. 2005.** Aposematism and crypsis combined as a result of distance dependence: functional versatility of the colour pattern in the swallowtail butterfly larva. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **272**: 1315- 1321.

- Skelhorn, J., Rowland, H. M., Speed, M. P., Ruxton, G. D. 2010.** Masquerade: Camouflage without crypsis. *Science* **327**: 51.
- Speed, M. P. 2001.** Can receiver psychology explain the evolution of aposematism? *Animal Behaviour* **61**: 205-216.
- Stevens, M. 2005.** The role of eyespots as anti-predator mechanisms, principally demonstrated in the Lepidoptera. *Biological Reviews* **80**: 573-588.
- Stevens, M., Stubbins, C. L., Hardman, C. J. 2008.** The anti-predator function of 'eyesspots' on camouflaged and conspicuous prey. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **62**: 1787-1793.
- Stevens, M., Merilaita, S. 2009a.** Animal camouflage: current issues and new perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society London, Series B* **364**: 423-427.
- Stevens, M., Merilaita, S. 2009b.** Defining disruptive coloration and distinguishing its functions. *Philosophical Transactions of the Royal Society London, Series B* **364**: 481-488.
- Sturkie, P. D., Whittow, G. C. 2000.** *Sturkie's avian physiology*. Academic Press, San Diego.
- Thayer, A. H. 1896.** The law which underlies protective coloration. *The Auk* **13**: 124-129.
- Tinbergen, N. 1974.** *Curious Naturalists*. Penguin Education Books, Middlesex.
- van Leeuwen, E., Jansen, V. A. A. 2010.** Evolutionary consequences of a search image. *Theoretical Population Biology* **77**: 49-55.
- Wallace, A. R. 1870.** *Natural Selection*. Macmillan, London.
- Wiklund, C., Järvi, T. 1982.** Survival of distasteful insects after being attacked by naive birds: a reappraisal of the theory of aposematic coloration evolving through individual selection. *Evolution* **36**: 998- 1002.
- Yumiko, I., Masakazu, S. 2010.** The effect of learning and search images on predator-prey interactions. *Populatio Ecology* **52**: 27-35.

MANUSCRIPT

RECOGNITION OF INCONSPICUOUS PREY: IMPORTANCE OF ADDITIONAL VISUAL CUES

ZUZANA KARLÍKOVÁ, PETR VESELÝ AND ROMAN FUCHS

*Department of Zoology, University of South Bohemia, Branišovská 31, České Budějovice,
Czech Republic*

ABSTRACT

Several studies have proposed the use of features other than conspicuous colouration in prey recognition. We tested the ability of wild caught great tits (*Parus major*) to discriminate between equally coloured edible (roach - *Blaptica dubia*) and inedible prey (firebug - *Pyrrhocoris apterus*) according to other visual traits (shape of legs, antennae, means of locomotion). Moreover, the simulation of more natural conditions where the predators may encounter more prey items at once or in a short time was used in three different experimental types. In the first, both prey types were offered simultaneously; the bird could see both at the same time. In the second and third type, the prey types were presented alternately, starting with firebug or roach, the bird seeing only one prey item during each trial. Additionally, the effect of learning and memory was tested by the use of trial repetition during one session, and session repetition after one week. Our results showed that birds are able to discriminate between firebugs and roaches. Although this effect was not significant in sequential experiments starting with roaches, in sequential experiments starting with firebugs the birds were able to discriminate the roach earlier (during the first session). These results suggest the high importance of positive or negative experience in the recognition of edible and inedible prey. In preferential experiments, both prey types were attacked less often than in sequential experiments. This suggests that unpalatable prey provides some protection to the edible prey, but also that the presence of the edible prey brings some profit to the unpalatable one. The additional visual features provided by the firebug carrying a roach pattern are obviously sufficient for discrimination of firebugs from roaches, but it probably does not act as a warning signal, and may not even be used in recognition of the red firebug. The importance of (neo) phobia in avoidance to inconspicuous inedible prey is discussed.

INTRODUCTION

Inconspicuous prey recognition

The ability of prey to avoid attack by predators is of vital importance. Organisms can use antipredatory defensive coloration, which either reduces the probability of detection (Cott 1957) or reduces the probability of attack after detection (Ruxton et al. 2004). Warning colours are frequently used in order to warn and discourage predators because when such a visual caution is present in encountered prey there is the probability of an accompanying behavioural, morphological or chemical defence (Ruxton et al. 2004). The ways in which animals advertise their unpalatability have been studied for decades and have been proved to be quite complex (e.g. Coppinger 1969, Sillén-Tullberg et al. 1982, Alatalo & Mappes 1996, Hauglund et al. 2006, Higginson & Ruxton 2010).

Although it is profitable to develop warning coloration in order to advertise unpalatability, there are species that have repellent defence traits without warning colouration (Sillén-Tullberg & Hunter 1996, Krall et al. 1999, Endler & Mappes 2004, Lindstedt et al. 2011). It, therefore, seems to follow that being conspicuous can be risky in some situations. Three potential costs connected with warning coloration have been suggested. First, that there may be physiological costs in the production of the conspicuous signal (Speed & Ruxton 2007). Second, when prey encounters naïve predators individuals that are more conspicuous may be attacked at a higher rate (Gittleman et al. 1980, Alatalo & Mappes 1996). Finally, that predator who has overcome the prey's defences will prefer prey that is easy to find (Endler & Mappes 2004). However, signals other than warning coloration are usually not sufficiently distinctive and it is not easy to recognize such prey (Sillén-Tullberg 1985 a, b).

Nonetheless, when the prey is protected the ability to communicate this to the predator in some way or other remains essential. In accordance to this, prey lacking warning coloration can also signal information in other, less conspicuous, ways for use in prey recognition by predators. Similar protecting qualities can be advertised to predators in many ways whether individually or, in many cases, 'multimodally' (Rowe & Guilford 1999). These features such as odour (Marples & Ropper 1996, Lindström et al. 2001), sound (Rowe 2002, Hauglund 2006), luminance (Prudic et al. 2007), shape (Hough-Goldstein et al. 1993, Kauppinen & Mappes 2003, Dolenská et al. 2009) or posture (Leal & Rodriguez-Robles 1997) may deter predators as much as warning coloration. Nevertheless, some of these signals, such as odour

and sound, are not sufficient deterrents alone and are usually combined with warning coloration (Lindström et al. 2001, Hauglund 2006). Some behavioural abilities such as a typical warning posture or movements, or eliciting a startle response in the predator can be other means to demonstrate unprofitability to predators. This behaviour was observed in both vertebrates (Brodie 1977, Leal & Rodriguez Robles 1997) and more commonly invertebrates (Peckarsky & Penton 1988, Scrimgeour et al. 1994, Bedford 1976, Blest 1957, Schlenoff 1985, Ingalls 1993).

Some animals have relatively unique distinct body contours so that predators can recognize the unsuitability of such prey thanks to its specific shape. We can find examples among beetles (*Coleoptera*) such as ladybirds (*Coccinellidae*) or some leaf beetles (*Chrysomelidae*) which have broad and convex elytra and broad pronotum, and both are unpalatable and toxic (Hough-Goldstein et al. 1993, Dolenská et al. 2009). Predators can be similarly discouraged by the unique shape of wasps (*Vespula norvegica*, Kauppinen & Mappes 2003) or ants (Hymenoptera: Formicidae; Nelson et al. 2006, Nelson & Jackson 2009).

Effect of experience, learning and memory on recognition

The effect of previous experience with prey on the predator's future foraging behaviour was proved repeatedly, but different types of prey have different influences on a predator's learning and memory. The clear warning features of colourful unpalatable prey speed up learning and intensify memory whereas the features of inconspicuous unpalatable prey do not (Gittleman & Harvey 1980, Roper & Redston 1987). There is even the suggestion that a cryptic appearance in cause prey to forget faster (Speed 2000). Experiments using the "novel world" design (see Alatalo and Mappes 1996 for details) are useful for the simulation of evolutionary novel prey for birds, which are experienced in terms of either ontogeny or evolution. These experiments with Müllerian mimics showed that the presence of alternative palatable cryptic prey speed up avoidance learning (Lindström et al. 2004). Novel world experiments as well as experiments with natural prey proved the positive influence of alternative edible cryptic prey on the survival of inedible conspicuous prey (Schuler & Hesse 1985, Lindström et al. 1999). However, in preference experiments experience with unpalatable prey can even provide protection for palatable prey (Sillén-Tullberg et al. 2000).

In the present study we carried out experiments confronting wild caught great tits (*Parus major*, Linnaeus, 1758, Passeriformes: Paridae) with unpalatable red firebugs (*Pyrrhocoris*

apterus, Linnaeus, 1758, Heteroptera: Pyrrhocoridae) and palatable Guyana spotted roaches (*Blaptica dubia*, Audient-Serville, 1839, Blattodea: Blaberidae) both deprived of warning coloration thanks to paper sticker shields disguising them as roaches. This method has been proved to reliably alter tested prey and elicit appropriate responses in avian predators (Veselý and Fuchs 2009). We tested the ability of birds to use additional visual features in prey recognition. Firebugs stood upright and possess conspicuous black legs and antennae, whereas roaches were nestled against the ground and their legs and antennae were inconspicuous. To test the effect of experience with alternative prey both prey types were presented simultaneously or alternately. Prey was presented repeatedly, in order to observe learning and memory.

We set up five null hypotheses to test:

- 1) Inconspicuous edible prey is protected less than inconspicuous inedible prey.
- 2) Inconspicuous edible prey presented alone is protected less than inconspicuous edible prey presented together with inconspicuous inedible prey.
- 3) Inconspicuous inedible prey presented alone is protected less than inconspicuous inedible prey presented together with inconspicuous edible prey.
- 4) Inconspicuous edible prey is protected less when presented repeatedly to the predator and with time delay.
- 5) Inconspicuous inedible prey is protected better when presented repeatedly to the predator and with time delay.

MATERIAL AND METHODS

Predators

Sixty-nine adult wild caught great tits (*Parus major*) were used as predators. Tits are quite generalist insectivorous birds easily accustomed to the laboratory conditions. This is why they are commonly used in experiments studying the antipredatory signals of invertebrates (e.g. Järvi et al. 1981, Wiklund & Järvi 1982, Sillén-Tullberg 1985b, Lindström et al. 1999, Exnerová et al. 2007, Svádová et al. 2009). The birds were caught with mist nets at feeding stations situated near České Budějovice (South Bohemia, Czech Republic), during the non-breeding period (September – April) in 2009 – 2012. The tits were kept in standard birdcages to habituate them to laboratory conditions for one to three days prior to the experiments. The light conditions corresponded to the outdoor photoperiod and

the temperature was maintained at a lower level than usual indoor conditions (10-15°C). The birds were offered water, sunflower seeds and mealworms (larvae of *Tenebrio molitor* L., 1758) *ad libitum*. The tits were ringed and released immediately after the trials were finished.

Prey

Adult red firebugs (*Pyrrhocoris apterus*) and third larval instars of Guyana spotted roaches (*Blaptica dubia*) were used as prey for the experiments. Firebugs have red and black upper parts with black legs and antennae, which is sensed by great tits as a warning signal (Exnerová et al. 2003). When attacked, firebugs emit a defensive secretion from metathoracic glands (Farine et al. 1992) which deters great tits from eating them (Exnerová et al. 2003). Firebugs collected in September near Blovice (West Bohemia, Czech Republic), were reared on the crushed seeds of the linden tree (*Tilia cordata*) and were kept in glass jars at 25°C and a 16:8 hours photoperiod. The roach larvae used in the experiments are brown-grey with lighter and darker spots, with slender, light brown legs and antennae. When endangered, roaches may throw up content of their crops (containing partially digested vegetable matter), yet this species of roach is considered to be palatable. Cockroaches were kept in a glass terrarium and were reared on water, carrot and beetroot together with dry cat food.

The appearance of both firebugs and cockroaches was changed in the same way, using paper stickers placed on their backs (Fig 1 see Appendices). This method has already proved in predator-prey interactions (Veselý & Fuchs 2009). The stickers were made by printing a photograph of a cockroach body on paper shields. The stickers covered the whole insect body when seen from above, but legs and antennae were not hidden and the body posture remained unchanged.

Experimental equipment

The experimental cages were 71 cm wooden cubic frames covered with wire mesh (2 x 2 mm) with the front wall formed by a one-way mirror. The cages were equipped with a perch, a bowl with water, and a rotating circular feeding tray containing six small cups. Only one of the cups contained the prey during each individual trial. The distance between the perch and the tray was approximately 25 cm which prevents the bird from sensing any chemical stimuli provided by the prey. The colour of the bottom of the cups was white. Standard illumination

was obtained by a light source (LUMILUX COMBI 18W, OSRAM) simulating the full daylight spectrum.

Trials

Each individual bird was released into the experimental cage always at least one hour before the experiment to accustom itself to the new conditions. Each bird was trained to attack an offered mealworm in the experimental cage and then it was deprived of food for 1.5 – 2 hours to reinforce its interest in the experimental prey. After this time one small mealworm was offered to verify the bird's hunger. If the mealworm was refused, another twenty minutes of starvation succeeded until the bird ate the mealworm immediately after offering. However, two hours was mostly sufficient to make the bird hungry enough to forage, but not to place it under stress. Birds were divided into three groups (each group with 23 individuals). The first group was offered a firebug and a cockroach simultaneously, together in one cup. This type of experiment consisted of a sequence of 14 consecutive three minute trials with both prey types offered. Birds in the second and third group were offered only one prey item in each trial. Prey types were offered alternately; in the second group the experiment started with a firebug and in the third with a cockroach. In both types, 14 consecutive three minute trials were carried out, 7 trials with a firebug and 7 with a roach. In addition, to test the effect of memory, every experiment (in each group) was repeated after a one week interval.

Data and analyses

The behaviour of birds during the three minute trials were recorded using ethological software (Observer ver. 3, 1989 – 1992, ©Noldus). We analysed two responses, attacking (touching with the bill) and killing the prey. Attacking is understood as showing the effect of the visual signals on the bird's behaviour, while killing the prey, or not, as being affected also by the chemical defence of the prey. The occurrence of these behavioural elements was used in the statistical analyses (data of binomial distribution – presence or absence in one trial). Each trial was used as a repeated measure unit with the individual bird as a random factor. Generalized linear mixed models were used to evaluate the effect of the type of experiment (*preference* vs. *sequence starting with roach* vs. *sequence starting with firebug*), prey species (*roach* vs. *firebug*), set (first week *set A* vs. second week *set B*) and trial number (1-14 within each set) on the occurrence of both attacking and killing. Software R 2.14.1 for windows was used to carry out all computations, generalized linear mixed

models were formed using command *glmer* in package *lme4* (Bates et al. 2012). Post hoc Tukey HSD test were used to evaluate differences between particular levels of categorical variables with more than two levels (command *mcpsthoc.fnc* in package *LMERConvenienceFunctions* – Tremblay 2012). As the command *glmer* does not provide the general effect of particular factors on data variability, the p values of post hoc Tukey HSD tests are presented throughout the results.

RESULTS

Attacking

Firebugs were attacked at a lower rate than roaches ($p < 0.001$) regardless of the type of experiment and trial number (Fig. 2, 3 and 4 see Appendices). Additionally, the attacking rate on both firebugs and roaches rose after a one week interval. The difference between the attack rate of firebugs and roaches was more evident in set B ($p < 0.001$) compared to set A ($p = 0.064$). There was a significant difference between the attack rate of firebugs and roaches in the preference experiment ($p < 0.001$) and in the sequence experiment starting with a firebug ($p < 0.05$), but not in the sequence experiment starting with a roach ($p = 0.106$).

The prey was generally attacked at a lower rate in the preference experiment than in the sequence experiment starting with a roach ($p < 0.05$) and in the sequence experiment starting with a firebug ($p < 0.05$).

The prey was generally attacked in set B more than in set A ($p < 0.001$) but this effect was significant only in case of roaches ($p < 0.001$). This trend was evident in the sequence experiment starting with a roach ($p < 0.01$) and in the preference experiment ($p < 0.01$), but not in the sequence experiment starting with a firebug ($p = 0.166$). Firebugs were attacked in the same low rate in both sets and all three types of experiments.

With each consecutive trial the attacking rate rose ($p < 0.001$). This trend was evident in both sets and prey types and all types of experiment.

Killing

Firebugs were killed at a lower rate than roaches ($p < 0.001$) regardless of the type of experiment, set and trial number (Fig. 2, 3 and 4 see Appendices).

There was no difference in the killing rate among either type of experiment or set.

Roaches were killed in all types of experiments more than firebugs (sequence starting with roach, $p < 0.001$; sequence starting with firebug, $p < 0.001$; preference, $p < 0.001$) as well as in both sets (set A, $p \ll 0.001$; set B, $p \ll 0.001$).

In set B roaches were killed more than in set A ($p \ll 0.001$). Whereas this effect is valid for the preference experiment ($p < 0.01$) and sequence experiment starting with the roach ($p < 0.01$), in the sequence experiment starting with the firebug this effect was marginal ($p = 0.084$). Firebugs were killed in the same low rate in both sets ($p = 0.96$) and it was valid in all types of experiments.

With each consecutive trial the killing rate rose ($p \ll 0.001$). This trend was evident in both sets and prey types and all types of experiment.

DISCUSSION

Our experiments proved the ability of bird predators to discriminate between palatable and unpalatable prey on the basis of optical components other than warning coloration. Palatable roaches were attacked and killed at a higher rate than unpalatable firebugs. This result was more obvious in the case of killing, where the chemical protection assured tested birds of the preys' identity. Nevertheless, even the decision whether to attack the prey or not was affected by the presentation of a roach or a firebug, which suggests that long-distance signals (additional visual features) are used in recognition.

Our results are consistent with other papers where bird predators were offered prey both naturally and artificially lacking warning coloration. Hough-Goldstein et al. (1993) offered palatable mealworms and unpalatable Colorado potato beetles (*Leptinotarsa decemlineata*) alternately to chicks. Birds attacked and consumed intact beetles in a lower rate than beetles without elytra, but these were consumed in a lower rate than mealworms (Hough-Goldstein et al. 1993). Similarly, unmodified ladybird (*Coccinella septempunctata*) together with the artificial form, with elytra painted brown or without elytra, were offered to great tits in experiment of Dolenská et al. (2009). Birds attacked intact ladybirds the least, ladybirds with brown painted elytra at a higher rate and the same species without elytra was attacked most frequently. There are also similar results in experiments with predators other than birds. Dragonflies were able to recognize an unprofitable prey thanks to its typical shape (Kauppinen & Mappes 2003). Dragonflies (*Aeshna grandis*) were presented with flies (Sargophagidae) and wasps (*Vespula norwegica*) as prey. Beside the most aversive cue, the typical black-and-yellow stripes of wasps, the typical wasp shape acted as an aversive

stimulus almost as well. Similar results were obtained in a study comparing the responses of mantises to ants and their spider mimics (Nelson et al. 2006).

Firebugs in our experiment were always protected better than roaches except in the sequence experiments starting with roaches. This might indicate that a bird encountering a firebug for the first time compares the cockroach in the second trial with the previously encountered similar inedible prey possessing black legs and antennae. This comparison reassures the bird that the firebug is different from the cockroach and it shows a different pattern of reactions to both prey types. On the contrary, the positive experience with the novel palatable roach in the first trial can weaken the defence of the firebug offered subsequently, as similarly showed in a study of Veselý & Fuchs (2009) where the firebugs carrying sticker with a roach pattern (equal as in our study) were attacked significantly more frequently by birds with previous positive experience with the roach.. Several studies (Roper & Redston 1987, Roper 1990, Speed 2000, Stille & Sillén-Tullberg 2000) have shown that experience with a positive stimulus can encourage birds to attack conspicuous prey more readily than in the case of birds with no previous experience. This was mirrored by, a negative experience evoking avoidance learning, this learning being more effective when the prey was conspicuous. If we consider the legs and antennae of a firebug as a conspicuous signal, these results are consistent with ours.

In our preference experiments, both prey types presented together were attacked less often than in sequence experiments. This suggests that both of them gained some extra protection, probably due to the presence of the other prey in the same cup. The results of the study with mealworms and inedible moth larvae (Schuler & Hesse 1985) suggest that the inconspicuous prey weakened the protection of the conspicuous prey, which contradicts our results. The explanation may reside in the use of naïve chicks as predators in study of Schuler & Hesse, unfamiliar with the larvae of the moth, so its generally conspicuous protection did not suffice when presented together with an edible prey. Similarly to our results, “novel world” experiments with alternative prey indicate that the presence of inconspicuous palatable prey together with conspicuous unpalatable prey could enhance predator avoidance learning of this conspicuous unpalatable prey (Lindström et al. 2004). On the other hand, experiments with variously protected true bug species (Sillén-Tullberg 2000) showed that some protection is gained by the unprotected prey if presented together with the protected one. Our results confirm the existence of both these principles at the same time.

After one week, roaches were attacked more often, but firebugs were attacked at approximately the same low rate as in the first set. The same results were valid in the case of killing. Only in the sequence experiments starting with a firebug were the roaches attacked and killed at the same rate in both experimental sets. This may probably have been caused by a higher speed of learning during the first set when birds encounter a firebug as the first prey. Their discriminatory ability was, therefore, already well developed by the end of the first set and the rest of the birds which did not attack the roach in the first set did not usually attack it in the second set as well. The causes of better avoidance learning in the sequence experiment starting with a firebug have already been mentioned above.

A learning process was observed in connection to roaches only. The number of birds which were able to detect a roach as a suitable prey rose significantly during the experiment. Nevertheless, the number of attacked firebugs grew as well, which suggests that the additional visual features used for discrimination between the firebug and the roach cannot be considered as warning signals. Moreover, we cannot be sure that these traits are used in predator recognition of the red firebugs. Red firebugs deprived of their warning colouration by being painted with water colours (Exnerová et al. 2003) were commonly attacked, despite their legs and antennae remaining unchanged and apparent. This is in contrast to the very low attack rate on firebugs carrying paper stickers with a roach pattern (Veselý & Fuchs 2009). In our study firebugs in several first trials were attacked at a comparable rate to those in the study of Veselý & Fuchs (2009); nevertheless, the proportion of birds attacking them rose gradually throughout both sessions and all 14 trials (regardless of the type of experiment). At the end of the second session, the proportion of birds attacking the firebug was comparable to those in the study of Exnerová et al. (2003). We may therefore consider that birds refusing to attack firebugs carrying cockroach patterns (Veselý & Fuchs 2009) as being deterred by something other than the presence of the firebugs' legs and antennae. One possibility is a fear of the paper, which seems to last for a long time and five repetitions (in study Veselý & Fuchs 2009) could not remove this phobia, while during 28 repetitions in our study this fear was eliminated.

A similar phobia may be observed in trials with roaches. The proportion of birds attacking at least one of five offered roaches (carrying the roach pattern) in study Veselý & Fuchs (2009) was much higher when compared to our experiment. We observed that in the sequence experiments starting with a roach (comparable to design in Veselý & Fuchs 2009) only half of birds attacked the first roach. It may be caused partly by neophobia (see Marples

& Kelly 1999 for details) because our birds had no experience with roaches from their natural environment. This is consistent with the results of Veselý & Fuchs (2009), but in this study the number of attacking birds rose considerably in subsequent trials because the initial neophobia was deactivated. Marples & Kelly (1999) showed neophobia to be a short-term event, and five five-minute lasting repetitions (in study of Veselý and Fuchs) were suitable for removing this neophobia. In our experiment the deactivation of neophobia was stopped because a roach was presented alternately with a firebug. The firebug's identity, and palatability, then presented a puzzle to the birds as mentioned above.

REFERENCES

- Alatalo, R. V., Mappes, J. 1996.** Tracking the evolution of warning signals. *Nature* **382**: 708- 710.
- Bedford, G. O. 1976.** Defensive behaviour of the New Guinea stick insect *Eurycantha* (Phasmatodea: Phasmatidae: Eurycanthinae). *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* **100**: 218-222.
- Blest, A. D. 1957.** The function of eyespot patterns in the lepidoptera. *Behaviour* **11**: 209-256.
- Brodie, E. D. 1977.** Salamander antipredator postures. *Copeia* **3**: 523-535.
- Coppinger, R. P. 1969.** The effect of experience and novelty on avian feeding behavior with reference to the evolution of warning coloration in butterflies. *Behaviour* **35**: 45- 60.
- Cott, H. B. 1957.** *Adaptive Coloration in Animals*. Methuen, London.
- Dolenská, M., Nedvěd, O., Veselý, P., Tesařová, M., Fuchs, R. 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.
- Endler, J. A. 1990.** On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. *Biol. J. Linn. Soc.* **41**: 315-352.
- Endler, J. A., Mappes, J. 2004.** Predator mixes and the conspicuousness of aposematic signals. *Am. Nat.* **163**: 532-547.
- Exnerová, A., Landová, E., Štys, P., Fuchs, R., Prokopová, M., Cehláriková, P. 2003.** Reactions of passerine birds to aposematic and nonaposematic firebug (*Pyrrhocoris apterus*; Heteroptera). *Biological Journal of the Linnean Society* **78**: 517- 525.
- Exnerová, A., Štys, P., Fučíková, E., Veselá, S., Svádová, K., Prokopová, M., Jarošík, V., Fuchs, R., Landová, E. 2007.** Avoidance of aposematic prey in European tits (Paridae): learned or innate? *Behavioral Ecology* **18**: 148- 156.
- Farine, J. P., Bonnard, O., Brossut, R., Le Quere, J. L. 1992.** Chemistry of defensive secretions in nymphs and adults of fire bug, *Pyrrhocoris apterus* L. (Heteroptera, Pyrrhocoridae). *Journal of Chemical Ecology* **18**: 1673-1682.
- Gamberale-Stille, G., Sillén-Tullberg, B. 2000.** Experienced chicks show biased avoidance of stronger signals: an experiment with natural colour variation in live aposematic prey. *Evol. Ecol.* **13**: 579-589.

- Gittleman, J. L., Harvey, P. H. 1980.** Why are distasteful prey not cryptic? *Nature* **286**: 149- 150.
- Gittleman, J. L., Harvey, P. H., Greenwood, P. J. 1980.** The evolution of conspicuous coloration: some experiments in bad taste. *Animal Behaviour* **28**: 897- 899.
- Guilford, T. 1985.** How do 'warning colours' work? Conspicuousness may reduce recognition errors in experienced predators. *Animal Behaviour* **34**: 286- 288.
- Hauglund, K., Hagen, S. B., Lampe, H. M. 2006.** Responses of domestic chicks (*Gallus gallus domesticus*) to multimodal aposematic signals. *Behavioral Ecology* **17**: 392- 398.
- Higginson, A. D., Ruxton, G. D. 2010.** Optimal defensive coloration strategies during the growth period of prey. *Evolution* **64**: 53-67.
- Hough-Goldstein, J. A., Geiger, J., Chang, D., Saylor, W. 1993.** Palatability and toxicity of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to domestic chickens. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **86**: 158-164.
- Ingalls, V. 1993.** Startle and habituation responses of blue jays (*Cyanocitta cristata*) in a laboratory simulation of anti-predator defenses of *Catocala* moths (Lepidoptera, Noctuidae). *Behaviour* **126**: 77-96.
- Järvi, T., Sillén-Tullberg, B., Wiklund, Ch. 1981.** The cost of being aposematic. An experimental study of predation on larvae of *Papilio machaon* by the great tit *Parus major*. *Oikos* **36**: 267- 272.
- Kauppinen, J., Mappes, J. 2003.** Why are wasps so intimidating: field experiments on hunting dragonflies (Odonata: Aeshna grandis). *Animal Behaviour* **66**: 505-511.
- Krall, B. S., Bartelt, R. J., Lewis, C. J., Whitman, D. W. 1999.** Chemical defense in the stink bug *Cosmopepla bimaculata*. *Journal of Chemical Ecology* **25**: 2477-2494.
- Leal, M., Rodriguez-Robles, J. A. 1997.** Signalling displays during predatory-prey interactions in a Puerto Rican anole *Anolis cristatellus*. *Animal Behaviour* **54**: 1147-1154.
- Lindstedt, C., Huttunen, H., Kakko, M., Mappes, J. 2011.** Disentangling the evolution of weak warning signals: high detection risk and low production costs of chemical defences in gregarious pine sawfly larvae. *Evol. Ecol.* **25**: 1029-1046.
- Lindström, L., Alatalo, R. V., Lyytinen, A., Mappes, J. 2004.** The effect of alternative prey on the dynamics of imperfect Batesian and Müllerian mimics. *Evolution* **58**: 1294-1302.

- Lindström, L., Alatalo, R. V., Mappes, J. 1999.** Reactions of hand-reared and wild-caught predators toward warningly colored, gregarious, and conspicuous prey. *Behavioral Ecology* **10**: 317- 322.
- Lindström, L., Rowe, C., Guilford, T. 2001.** Pyrazine odour makes visually conspicuous prey aversive. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **268**: 159- 162.
- Marples, N. M., Kelly, D. J. 1999.** Neophobia and dietary conservatism: two distinct processes? *Evolutionary Ecology* **13**: 641- 653.
- Marples, N. M., Roper, T. J. 1996.** Effects of novel colour and smell on the response of naive chicks towards food and water. *Animal Behaviour* **51**: 1417- 1424.
- Nelson, X. J., Jackson, R. R. 2009.** Collective Batesian mimicry of ant groups by aggregating spiders. *Animal Behaviour* **78**: 123-129.
- Nelson, X. J., Jackson, R. R., Li, D., Barrion, A. T., Edwards, G. B. 2006.** Innate aversion to ants (Hymenoptera: Formicidae) and ant mimics: experimental findings from mantises (Mantodea). *Biol. J. Linn. Soc.* **88**: 23-32.
- Peckarsky, B. L., Penton, M. A. 1988.** Why do *Ephemerella* nymphs scorpion posture: a "ghost of predation past"? *Oikos* **53**: 185-193.
- Prudic, K. L., Skemp, A. K., Papaj, D. R. 2007.** Aposematic coloration, luminance contrast, and the benefits of conspicuousness. *Behavioral Ecology* **18**: 41-46.
- Roper, T. J. 1990.** Responses of domestic chicks to artificially coloured insect prey: effects of previous experience and background colour. *Animal Behaviour* **39**: 466-473.
- Roper, T. J., Redston, S. 1987.** Conspicuousness of distasteful prey affects the strength and durability of one-trial avoidance learning. *Animal Behaviour* **35**: 739-747.
- Rowe, C. 2002.** Sound improves visual discrimination learning in avian predators. *Proc. R. Soc. B* **269**: 1353–1357.
- Rowe, C., Guilford, T. 1999.** The evolution of multimodal warning displays. *Evolutionary Ecology* **13**: 655- 671.
- Ruxton, G. D., Sherratt, T. N., Speed, M. P. 2004.** *Avoiding attack: The evolutionary ecology of crypsis, warning signals, and mimicry*. Oxford University Press, Oxford.
- Scrimgeour, G. J., Culp, J. M., Cash, K. J. 1994.** Anti-predator responses of mayfly larvae to conspecific and predator stimuli. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **13**: 299-309.
- Schlenoff, D. H. 1985.** The startle responses of blue jays to *Catocala* (Lepidoptera: Noctuidae) prey models. *Animal Behaviour* **33**: 1057-1067.

- Schuler, W., Hesse, E. 1985.** On the function of warning coloration: a black and yellow pattern inhibits prey attack by naive domestic chicks. *Behavior, Ecology and Sociobiology* **16**: 249- 255.
- Sillén-Tullberg, B. 1985a.** The significance of coloration per se, independent of background, for predator avoidance of aposematic prey. *Animal Behaviour* **33**: 1382-1384.
- Sillén-Tullberg, B. 1985b.** Higher survival of an aposematic than of a cryptic form of a distasteful bug. *Oecologia* **67**: 411- 415.
- Sillén-Tullberg, B., Hunter, A. F. 1996.** Evolution of larval gregariousness in relation to repellent defences and warning coloration in tree-feeding Macrolepidoptera: a phylogenetic analysis based on independent contrasts. *Biol. J. Linn. Soc.* **57**: 253-276.
- Sillén-Tullberg, B., Leimar, O., Gamberale- Stille, G. 2000.** Did aggregation favour the initial evolution of warning coloration? A novel world revisited. *Animal Behaviour* **59**: 281- 287.
- 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 *P. major*. *Oikos* **39**: 131- 136.
- Speed, M. P. 2000.** Warning signals, receiver psychology and predator memory. *Animal Behaviour* **60**: 269-278.
- Speed, M. P., Ruxton, G. D. 2007.** How bright and how nasty: explaining diversity in warning signal strength. *Evolution* **61**: 623-635.
- Svádová, K., Exnerová, A., Štys, P., Landová, A., Valenta, J., Fučíková, A., Socha, R. 2009.** Role of different colours of aposematic insects in learning, memory and generalization of naive bird predators. *Animal Behaviour* **77**: 327-336.
- Veselý, P., Fuchs, R. 2009.** Newly emerged Batesian mimicry protects only unfamiliar prey. *Evol. Ecol.* **23**: 919-929.
- Wiklund, C., Järvi, T. 1982.** Survival of distasteful insects after being attacked by naive birds: a reappraisal of the theory of aposematic coloration evolving through individual selection. *Evolution* **36**: 998- 1002.

APPENDICES



Figure 1 – Guyana spotted roach (*Blaptica dubia* - left) and red firebug (*Pyrrhocoris apterus* - right) carrying the paper sticker with the pattern derived from the photo of the Guyana spotted roach. Scale line is 10 mm.

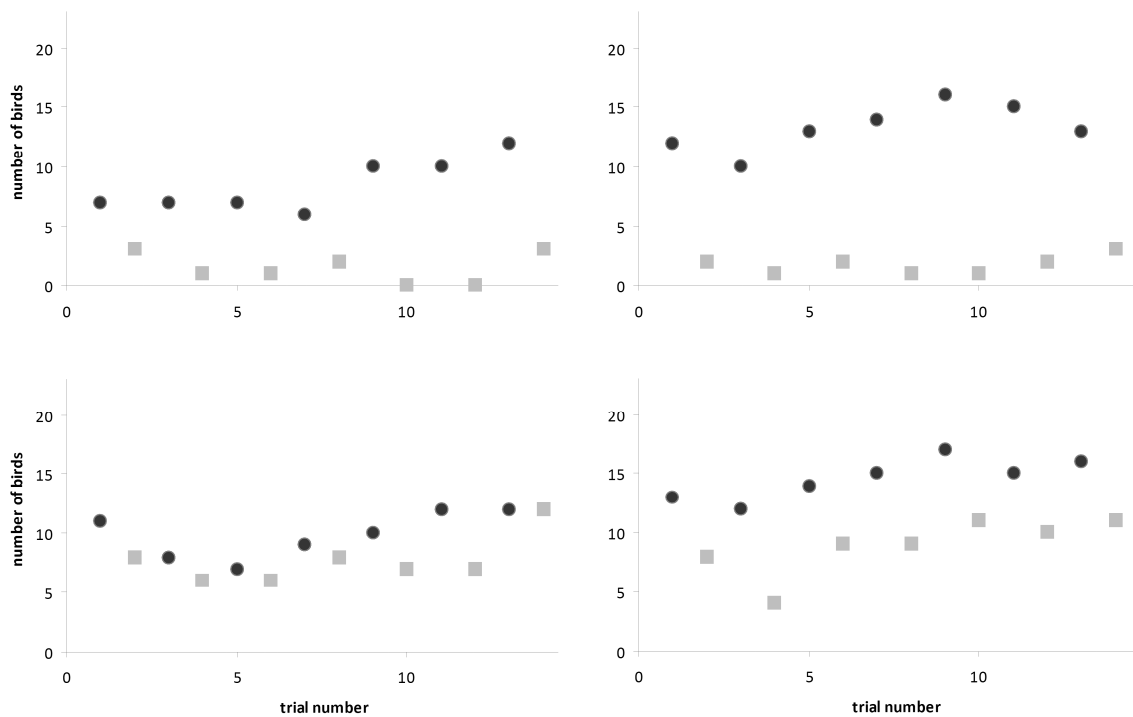


Figure 2 – Number of birds killing (upper part) and attacking (lower part) offered prey in the first (left part) and second (right part) set in experiments offering single prey item (type sequence) starting with roach. Circles refer to roaches squares to firebugs. Total number of birds is 23.

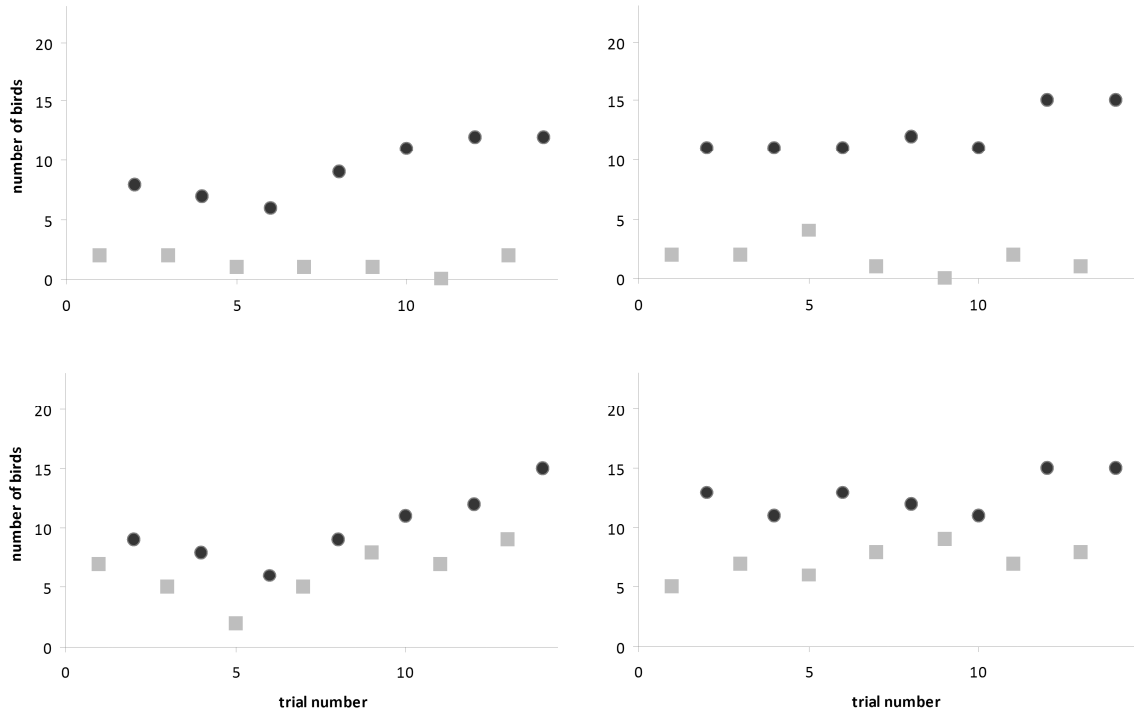


Figure 3 – Number of birds killing (upper part) and attacking (lower part) offered prey in the first (left part) and second (right part) set in experiments offering single prey item (type sequence) starting with firebug. Circles refer to roaches squares to firebugs. Total number of birds is 23.

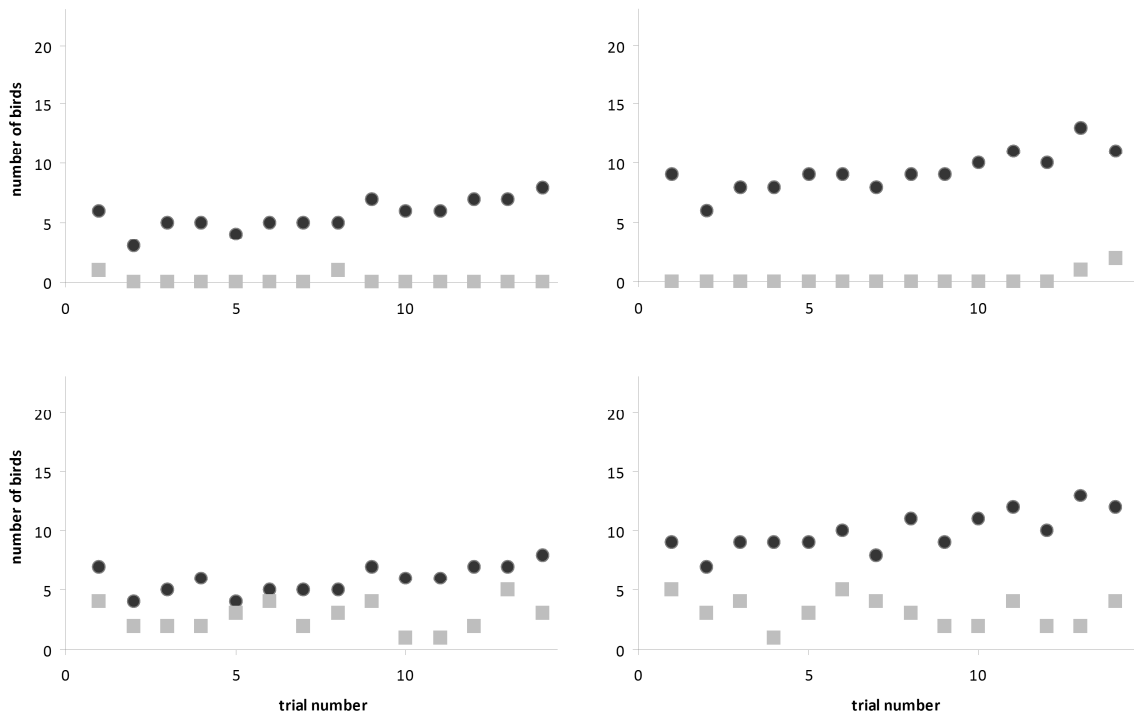


Figure 4 – Number of birds killing (upper part) and attacking (lower part) offered prey in the first (left part) and second (right part) set in experiments offering both prey items (type preference). Circles refer to roaches squares to firebugs. Total number of birds is 23.