

Kukačka vs. hostitelé:

Konkrétní ekologický příklad s obecným poučením



Tomáš Grim

Katedra zoologie

UP, Olomouc



Human Frontier Science Program

Koevoluční závody ve zbrojení mezi hostitelem a parazitem

- adaptace ↔ protiadaptace
- závody ve zbrojení (arms-races)

Stadium hnízdění	Vývojové stadium parazita	Adaptace hostitele	Adaptace parazita
Kladení	Dospělec	Agresivita	Nenápadnost
Inkubace	Vejce	Odmítání vajec	Mimikry vajec
Mláďata	Mláďě	Odmítání mláďat	Mimikry mláďat



O co půjde?



- host selection
- obranné mechanismy
- ... jako záminka k poučení:
- časté chyby v ekol. bádání
- jak „prodat“ svou práci

Konkrétní příklady jen ilustrují obecné principy, problémy a doporučení!



Výběr hostitele a využívání zdrojů *Od obecného k ještě obecnějšímu*



- krypte
- aposematismus
- mimikry
- ale co nápadní a nechránění?



Extrémní příklad: kukačka vs. EU „drozdi“

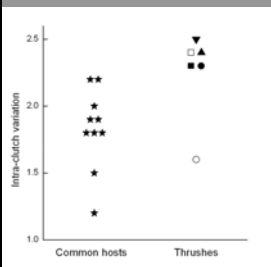
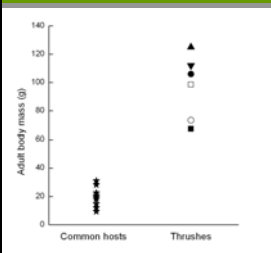


Absence/vzácnost parazitismu: alternativní vysvětlení

Nevhodnost hostitele	Důvod	Koevoluce
Primární	Life-history znaky	Nebyla
Sekundární	Proti-parazitická obrana	Byla



Life-history a koevoluční znaky: běžní hostitelé vs. „drozdi“



- 17 *obecných* life-history znaků
- 6 *specifických* koevol. znaků
- bez kontroly pro fylogenezi
- „gentes“ polyfyletické

Soler et al. Oecologia 1999; Hurlbert Ecol. Monogr. 1984

Life-history a koevoluční znaky: běžní hostitelé vs. „drozdi“

- srovnávání dvou skupin...
- pseudoreplikace?
- chyba *analýzy* (ne designu!)
- hranice inference
- na co se ptáme?:
- obecná hypotéza...
- vs. ... konkrétní rozdíl
- „location differences“

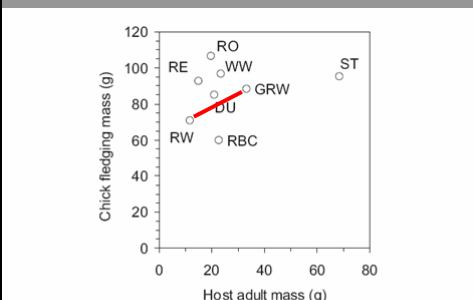


Fig. 2 Cuckoo chick fledging mass plotted against the host adult mass (sexes averaged). *DU* dunnoek, *GRW* great reed warbler, *RBC* rufous bush chat, *RE* redstart, *RO* robin, *RW* reed warbler, *ST* song thrush, *WW* white wagtail

Kleven et al. Behav. Ecol. Sociobiol. 1999; Grim Behav. Ecol. Sociobiol. 2006

Asi nejběžnější chyba v ekologických studiích... *Statistická chyba (ne chyba designu!)*



PSEUDOREPLICATION AND THE DESIGN OF ECOLOGICAL FIELD EXPERIMENTS¹

STUART H. HURLBERT

*Department of Biology, San Diego State University,
San Diego, California 92182 USA*

Abstract. Pseudoreplication is defined as the use of inferential statistics to test for treatment effects with data from experiments where either treatments are not replicated (though samples may be) or replicates are not statistically independent. In ANOVA terminology, it is the testing for treatment effects with an error term inappropriate to the hypothesis being considered. Scrutiny of 176 experimental studies published between 1960 and the present revealed that pseudoreplication occurred in 27% of them, or 48% of all such studies that applied inferential statistics. The incidence of pseudoreplication is especially high in studies of marine benthos and small mammals. The critical features of controlled experimentation are reviewed. Nondemonic intrusion is defined as the impingement of chance events on an experiment in progress. As a safeguard against both it and preexisting gradients

No one would now dream of testing the response to a treatment by comparing two plots, one treated and the other untreated.

— R. A. Fisher and J. Wishart (1930)

Hurlbert Ecol. Monogr. 1984

Asi nejběžnější chyba v ekologických studiích... *Statistická chyba (ne chyba designu!)*



RESEARCH PAPERS

Why Does the Frequency of Nest Parasitism by the Cuckoo Differ Considerably Between Two Populations of Warblers Living in the Same Habitat?

Andrzej Dyrzc & Konrad Halupka

Department of Avian Ecology, University of Wrocław, Wrocław, Poland

Parent birds were not marked individually. To avoid pseudoreplication (i.e. testing the same individual more than once), we studied each species only within a single season and refrained from repetitive nest searching in the same reed-bed.

Dyrzc & Halupka Ethology 2007

Asi nejběžnější chyba v ekologických studiích... *Statistická chyba (ne chyba designu!)*



797

Invited Perspectives in Physiological Zoology

Why Not to Do Two-Species Comparative Studies: Limitations on Inferring Adaptation

Theodore Garland, Jr.¹

Stephen C. Adolph²

¹Department of Zoology, 430 Lincoln Drive, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin 53706; ²Department of Biology, Harvey Mudd College, 301 E. Twelfth Street, Claremont, California 91711

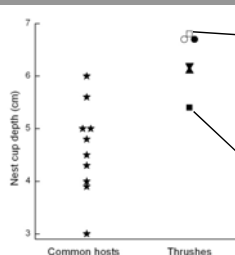
Accepted 3/9/94

One thing cannot be evaluated unless it can be compared with another. This is, of course, why degrees of freedom in statistics are the number of observations minus one. [BRADSHAW 1987a, p. 71]

Adaptation can only be measured and indeed discussed on a comparative basis. . . . Adaptation is entirely a comparative concept. [BRADSHAW 1987a, p. 71]

Garland & Adolph Physiol. Zool. 1994

Life-history a koevoluční znaky: běžní hostitelé vs. „drozdi“



- průměr maskuje druhově specifické rozdíly!
- explorační srovnání
- bez statistiky
- range vs. *konkrétní* druhy

Mann-Whitney $P = 0.002$

Welch t-test $P = 0.0003$

Ruxton Behav. Ecol. 2006

Experimenty: sympatrie vs. alopatrie

Stadium hnízdění	Vývojové stadium parazita	Hostitelské chování
Kladení	Dospělec	Agresivita
Inkubace	Vejce	Odmítání vajec
Mláďata	Mláďě	Kompetice



Davies 2000: Cuckoos, cowbirds and other cheats. TA&D Poyser, London.

Metodika: variabilita prediktorů & velikost vzorku

- proč ne-mimetická vejce?
- definice mimikry: dichotomizace kontinuální variability



“... good design can make such a difference
to how big the sample must be”
(Martin & Bateson 2008)

Materiál & analýza dat

Náhodné efekty jako *hypotéza* o závislosti dat



- prostorové replikáty (12 pop.)
- 1986-2009
- 1016 hnízd
- 1211 pokusů

- zobecněné lin. mix. modely

In all our models, the random effects of year and locality were very small (likelihood ratio tests; Bolker *et al.* 2009), i.e. there was no significant spatio-temporal variation in the data. When removed, the resulting simpler models with the same structure of fixed effects had a dramatically better fit (much lower AIC_c) and very similar parameter estimates. Hence, we decided to present results of the models without random effects (Bolker *et al.* 2009).

Bolker et al. Trends Ecol. Evol. 2009

1. obranná linie:

Jsou „drozdi“ příliš agresivní u hnízda?



- nízká agresivita a/nebo
- kukačka $\leq$ vrána
- sympatrie $\sim$ alopatrie
- „drozdi“ $<$ běžní hostitelé

Grim et al. J. Anim. Ecol. 2011

2. obranná linie:

Odmítají „drozdi“ cizí vejce příliš často/rychle?



- **frekvence** odmítání ~50%
- sympatrie ~ alopatrie
- „drozdi“ $\leq$ běžní hostitelé
- **latence** k odmítání ~2-3 dny
- sympatrie ~ alopatrie
- „drozdi“ $\geq$ běžní hostitelé

Grim et al. J. Anim. Ecol. 2011

3. obranná linie:

Mláděcí perioda

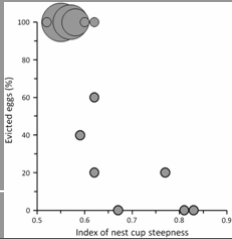
- nevhodná potrava?
- obrana ~ collateral damage



Grim Behav. Ecol. Sociobiol. 2006

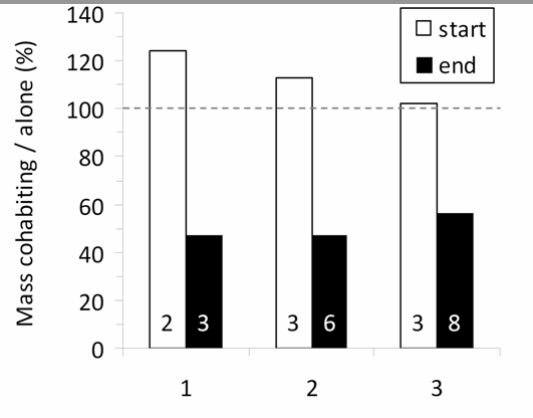
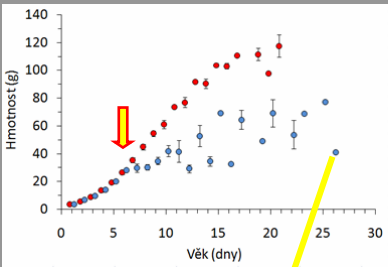
Design hnízda a úspěch při vytlačovacím chování: interaktivní vliv?

Hnízdo	Co vytlačuje	n	Úspěch (%)
Rákosník obecný	Vejce – rákosník o.	99	100
	Vejce – drozd z.	7	100
Kos černý	Vejce – kos č.	10	80
Drozd zpěvný	Vejce – rákosník o.	4	0
	Vejce – drozd z.	10	10
	Mláďata – drozd z.	3	33
Drozd kvičala	Vejce – drozd k.	3	0
	Mláďata – drozd k.	3	0



Grim et al. Behav. Ecol. 2009; Grim et al. J. Anim. Ecol. 2011

Fatální kompetice



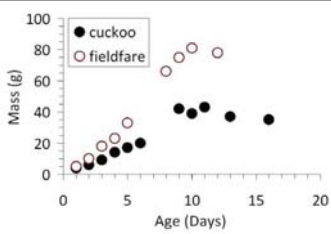
Grim et al. J. Anim. Ecol. 2011; Grim et al. Ethology 2009

Fatální kompetice

Hostitel	Kukaččí mládě	n	Přežívání (%)
Drozd zpěvný	Samo	3 (+3)	100
	S hostitelem	3	0
Drozd kvičala	Samo	-	-
	S hostitelem	3	0
Kos černý	Samo	6 (+4)	0
	S hostitelem	-	-
Rehek zahradní	Samo	16	100
	S hostitelem	9	44

➤ ... ale miniaturní vzorky!

Grim et al. J. Anim. Ecol. 2011



Malý vzorek ≠ chybný výsledek, ale nejistota!

Biologia, Bratislava, 56/5: 549–556, 2001

Differences in behaviour of closely related thrushes (*Turdus philomelos* and *T. merula*) towards common cuckoo *Cuculus canorus*

Tomáš GRIM¹ & Marcel HONZA²

¹Laboratory of Ornithology, Faculty of Sciences, Palacký University, Trnava, Czech Republic; e-mail: grim@upfsc.upol.cz
²Institute of Vertebrate Biology, AS CR, Květná 8, CZ-60365 Brno
honza@brno.cas.cz

GRIM, T. & HONZA, M., Differences in behaviour (*Turdus philomelos* and *T. merula*) towards common cuckoo *Cuculus canorus*. Biologia, I ISSN 0006-3088
The common cuckoo *Cuculus canorus* parasitizes common species sympatric with the brood parasites. Potential host species may escape brood parasites by high rejection of cuckoo eggs or birds agents

	n	Effect size (%)
Kos	6	66.7
Drozd	12	58.3

Journal of Animal Ecology

Journal of Animal Ecology 2011, 80, 508–518

doi: 10.1111/j.1365-2656.2010.01798.x

Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts?

Tomáš Grim¹*, Peter Samaš¹, Csaba Moskát², Oddmund Kleven³, Marcel Honza⁴, Arne Moksnes^{5,6}, Elvin Røskoft^{5,6} and Bård G. Stokke^{5,6}

¹Department of Zoology and Laboratory of Ornithology, Palacký University, Trnava, Svobody 26, CZ-771 46 Olomouc, Czech Republic; ²Animal Ecology Research Group of the Hungarian Academy of Sciences, c/o Hungarian Natural History Museum, H-1083 Budapest, Ludovika tér 2, Hungary; ³National Centre for Biosystematics, Natural History Museum, University of Oslo, P.O. Box 1172 Blindern, N-0318 Oslo, Norway; ⁴Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Květná 8, CZ-603 65 Brno, Czech Republic; ⁵Department of Biology, Norwegian University of Science and Technology, NTNU, N-7491 Trondheim, Norway; and ⁶Centre for Advanced Study, CAS, N-0271 Oslo, Norway

Summary

1. Why are some common and apparently suitable resources avoided by potential users? This interesting ecological and evolutionary conundrum is vividly illustrated by obligate brood para-

Grim & Honza Biologia 2001 vs. Grim et al. J. Anim. Ecol. 2011

Velký vzorek $\neq$ ctnost!

- větší vzorek není automaticky lepší
- kvalita sběru dat
- matoucí proměnné
- časoprostorová reprezentativnost (roky, populace)
- rostoucí vzorek =
- benefit – větší reprezentativnost
- cost – větší výdaje (čas, úsilí, peníze, etika)

Taborsky Ethology 2010 + zdravý rozum☺

„Vzorek? Čím větší tím lepší“ = nesmysl!

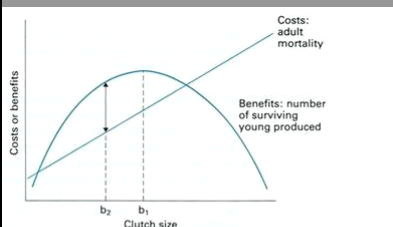
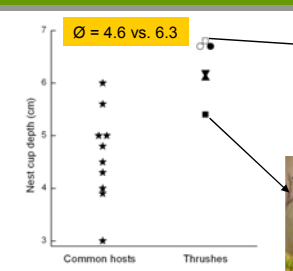


Fig. 1.6 The influence of adult mortality on the optimal clutch size. The number of young produced versus clutch size follows a curve, as in Fig. 1.5, with b_1 being the clutch size which maximizes the number of young produced per brood. Increased clutch size, however, has the cost of increased adult mortality, shown here for simplicity as a straight line. The clutch size which maximizes lifetime reproductive success is b_2 , where the distance between the benefit and cost curves is a maximum. This is less than the clutch size b_1 , which maximizes reproductive success per brood. From Charnov and Krebs [1974].

process, indicating scope for improvement. We should be aware of the fact that **choosing sample size is an optimization process**. ‘The more samples, the better’ is not a sensible strategy, because it may waste resources and undermine ethical concerns. The sample size used in a study can be too small, which would compromise statistical power and might render the research effort useless, and it can be too large: **‘while wasting time and energy on badly designed experiments is foolish, causing more human or animal suffering or more disturbance to an ecosystem than is absolutely necessary is inexcusable’** (Ruxton & Colegrave 2006, p. 4). There may be cases where very large sample sizes are required because the effect size aimed to be identified is obscure or intentionally small, the random variation in underlying data cannot be reduced by prudent experimentation, or because there are important ethical, economical or societal reasons to minimize the Type-II error (β). Such causes typically apply in medical research, where, for instance, the intended effects or side-effects of a new drug are to be scrutinized. In basic research on behaviour, however, these conditions might be rare, and the temptation to inflate sample size for unjustified reasons should be countered (Still 1982).

Taborsky Ethology 2010

Předešlé studie – tradiční omyly



- velikost těla (tato studie)
- velikost vejce (tato studie)
- velikost host. juv
- potrava
- **obecné** life-history znaky

- „drozd“ je log. chyba - **reifikace**
- druhově **specifická** vysvětlení

„drozdi“ jsou primárně nevhodní hostitelé kukačky

Moksnes et al. 1991; Kleven et al. 1999

Proč kukačka neparazituje konkrétní „drozdy“?



- drozd zpěvný
- design hnízdní kotlinky?!
- drozd kvíčala
- *velikost* hnízda (nikoli design)
- kos černý
- odmítá mláďata!
- ... ale rarer enemy effect

Grim et al. J. Anim. Ecol. 2011; Grim Evol. Ecol. Res. 2006

Adaptivní výběr hostitele



- kategorie – vhodný/nevhodný
- *kontinuální* (ne)vhodnost hostitele
- „threshold“, aditivita a interakce
- preference pro *lepší* hostitele



Kleven et al. Behav. Ecol. Sociobiol. 1999; De Mársico & Reboreda Proc. R. Soc. 2008

Tradiční přístup vs. „drozdí“ studie

- **jeden** modelový druh
- **jedna** stud. populace
- **jedna** hypotéza
- ignorování interakcí
- **jedno** vývojové stadium par.
- srovnání **nebo** pokusy
- **obecná** vysvětlení

= typické nedostatky ekologických studií!

- taxonomické replikáty
- prostorové replikáty
- mnoho hypotéz
- testování interakcí faktorů
- **všechna** výv. stadia parazita
- srovnání **a** pokusy
- druhově **specifická** vysvětlení



Grim et al. J. Anim. Ecol. 2011

Tradiční přístup vs. „drozdí“ studie

- typicky 10-20 hnízd/treatment ➤ n vycpaniny = 543
 - n vejce = 421
 - n juv = 247



Taborsky Ethology 2010

Nedostatky „drozdí“ studie

- chybí **kontrola** u exp. s vejci
- ... ale viz analýza dat
- chybí kontrola u exp. s vycpaninami
- ... ale viz testovaná otázka
- malé **vzorky** u exp. s mláďaty
- ... ale viz konzistence závěrů a etika
- neznáme stáří symp. vs. alopatrie
- špatné plánování = „látání“ studie

Grim et al. J. Anim. Ecol. 2011

Submitace – raději přestřelit než ... litovat☺

CAREERS

CHOICE Choosing the right path after finishing a postdoc is tricky **▶ 25**

ETHNOBIOLOGY Biotechnology and space science drive research in Belgium **▶ 29**

NOTES For the latest career findings and advice **▶ www.nature.com**



Publish like a pro

Prolific authors and journal editors share how to get manuscripts noticed, approved and put in print.

BY KENDALL POWELL

Mark Hauber sent a paper by one of his students to *Nature* in 2007. The paper, on predation of an island sea bird, came back unreviewed. Next it went to *Science*. Again, it was not reviewed. Discouraged, the student, Matt Rayner, suggested that they send it to what is commonly regarded as their field's second-tier journal, *Conservation Biology*. But Hauber had enough experience to know better. Instead, with a few clicks, he submitted it to the higher-profile *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. Several weeks later it was accepted.

"I've really learned that you've got to take rejection at face value," says Rayner, now a postdoc at the National Institute of Water and Atmospheric Research in Auckland, New Zealand. "If you've got the gut feeling that you've got good stuff, you've just got to be persistent. Getting into *PNAS* was fantastic," he says. "The refereeing process can be lightened," agrees Hauber, an animal behaviorist now at Hunter College, City University of New York. The moral of the story

© 2010 Macmillan Publishers Limited. All rights reserved.

➤ J. Ethol. vs. J. Anim. Ecol.



"It's worth the effort of sending your paper to the highest journals where it belongs."

Mark Hauber

Powell Nature 2010

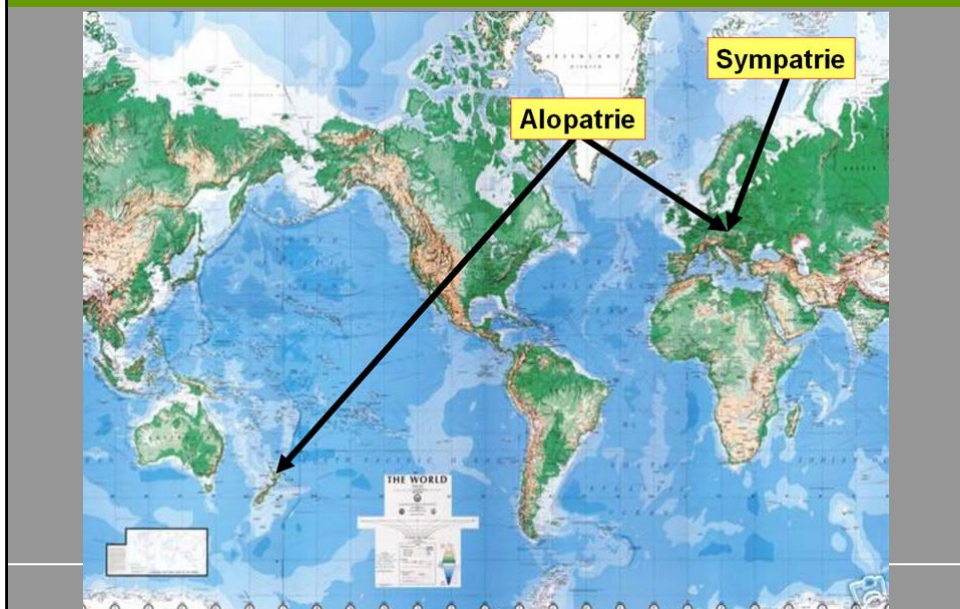
Proč *nevhodní* hostitelé *odmítají* parazitismus?!

- interspecific parasitism (IP)
- conspecific parasitism (CP)
- IP + CP
- ghost of evolutionary past



Grim et al. (MS)

Kde známe stáří alopatrie a intenzitu gen. toku?



Predikce

	CP (drozdi)	IP (kukačka)
Odmítání CP	+	—
Ejection costs/errors	+	—
Frekvence odmítání	$S \leq A$	$S > A$
Latence k odmítání	$S \geq A$	$S < A$

Výsledky

**opouštění hnízd (~20%) není
reakce na parazitismus**



	CP (drozdi)	IP (kukačka)
Odmítání CP	+	
Ejection costs/errors	+	
Frekvence odmítání	$S = A$	
Latence k odmítání	$S = A$	

Výsledky

**opouštění hnízd (~10%) není
reakce na parazitismus**



	CP (drozdi)	IP (kukačka)
Odmítání CP	+	
Ejection costs/errors	+	
Frekvence odmítání	$S = A$	
Latence k odmítání	$S = A$	

Proč to nakonec dává smysl?

Hostitel	Kukačka	Energetický <i>cost</i> výchovy (jednotka: konsp. juv)
Rákosník obecný	sama	6.45
Drozd zpěvný	sama	2.11
	spolubydlící	0.15
Kos černý	sama	0.06

u kosů a drozdů je CP mnohem *dražší* než IP!!!

Grim (in prep.)

Sedmero poučení



- obecný rámec
- pseudoreplikace
- velikost vzorku (+/-)
- prostorové replikáty
- metareplikace (modelové druhy)
- kontrolní skupiny
- „multiple hypotheses“

... + Chamberlin Science 1890

Poděkování

➤ Pomoc v terénu:

T. Csorgo, A. Dvorská,
Z. Karcza, L. Polačiková,
P. Procházka, **P. Samaš**,
Z. Strachoňová



➤ Finanční podpora:

MSM6198959212
GAČR 206/03/D234
IAA600930605
HFSP award (RGY69/07)



Human Frontier Science Program