

Tadeusz Zajac

Zakład Ochrony Przyrody
i Zasobów Naturalnych PAN
ul. Lubicz 46
31-512 Kraków

Wiarołomstwo u ptaków i metody oceny jego częstości, czyli o mariażu ekologii behawioralnej z biochemią

On cuckoldry frequency among birds
and methods of its estimation:
the marriage between
behavioural ecology and biochemistry

1. Wstęp

Wspomniane w tytule wiarołomstwo samic (ang. cuckoldry, extra pair copulations) to takie zachowanie, w którym samica kopuluje z obcym, nie skojarzonym z nią samcem. W powszechnej praktyce hipotezy są weryfikowane na podstawie sukcesu rozrodczego, u ptaków rozumianego jako liczba potomstwa w gnieździe, do którego przypisujemy rodziców. Tymczasem prawdziwy sukces rozrodczy może być dużo większy w przypadku samca kopulującego z samicami, z którymi nie jest on skojarzony (nazwijmy go umownie „bałamu-tem”), lub też mniejszy (zdradzone samce). Decyduje o tym częstość wiarołomstwa samic. Także odziedziczalność poddawana jest ocenie w oparciu o założenie, że zawartość gniazda jest potomstwem samca przypisanego przez badacza do danego gniazda. Brak znajomości prawdziwego sukcesu rozrodczego może prowadzić do fałszywych wniosków. Na przykład, u niektórych gatunków uznano istnienie pomocników przy gnieździe, podczas gdy nie ma pewności, czy samica nie dopuściła się aktu wiarołomstwa z którymś z pomocników, karmiącym potem własne potomstwo. Płochacz pokrzywnica, *Prunella modularis*, jest wymieniany w książce *W o o l f e n d e n a i F i t z p a t r i c k a* (1984, str. 378) jako gatunek, u którego występują pomocnicy; tymczasem badania *D a v i e s a* (1985) wykazują, że nie spokrewnione osobniki przy gnieździe to poliandrycznie skojarzone samce.

W przypadku „bałamuta” mamy do czynienia z niezwykle efektywną ewolucyjnie strategią behawioralną — może on bowiem zwiększać liczbę potomstwa bez wielkich nakładów. Strategia ta powinna prowadzić do licznych adaptacji napotykających kontradaptacje ze strony oszukiwanych samców. Jest to więc szerokie pole do działania dla badaczy ewolucji zachowań rozrodczych. By jednak cokolwiek powiedzieć o ewolucyjnym znaczeniu wiarołomstwa, trzeba zbadać jego częstość i odpowiedzieć na pytanie, czy obserwowane kopulacje rzeczywiście prowadzą do pozostawienia potomstwa.

Kopulacje samic z obcymi im samcami stwierdzono u ponad 100 gatunków ptaków (F o r d 1983, B i r k h e a d i in. 1987), jednakże okazało się, że niezwykle trudno ocenić, jaka jest częstość tego zachowania, a przede wszystkim, jak często kopulacje poza parą rodziczą prowadzą do płodzenia potomstwa. Określenie na podstawie samych obserwacji, czy kopulacje prowadzą do zapłodnienia jest niemożliwe. Opierano się więc na przesłankach — na przykład stwierdzano istnienie międzygatunkowego hybryda w gnieździe, którym opiekowała się para jaskółek dymówek, *Hirundo rustica* (M a r t i n 1980). Stwierdzono także, na podstawie analizy markerów morfologicznych, że kopulacje poza parą prowadzą do zapłodnienia, jak w przypadku badań L a n k a i in. (1989), którzy w gniazdach homozygotycznej i dominującej niebieskiej formy gęsi śnieżnej, *Anser caerulescens*, znajdowali pisklęta recesywnej formy białej i na odwrót. Są to jednak metody przypadkowe i nie dają godnych zaufania, ilościowych wyników.

2. Zastosowanie odziedziczalności w ocenie częstości wiarołomstwa

Ostatnie lata przyniosły rozwój genetyki cech ilościowych. Jest to jeden z tych obszarów biologii, gdzie eksperymenty ścisłością metod dorównują fizyce. Bardzo liczne ostatnio badania odziedziczalności cech ilościowych są właśnie próbą przeniesienia ścisłego podejścia genetyki ilościowej, opracowanego dla populacji hodowlanych, na populacje naturalne.

Opierając się na badaniach odziedziczalności, trzech szwedzcy ornitologowie: Rauno Alatalo, Lars Gustafsson i Arne Lundberg (A l a t a l o i in. 1984) mogli znaleźć niezwykle pomysłowy sposób oceny stopnia wiarołomstwa u muchołówki białoszyjej, *Ficedula albicollis* i muchołówki żałobnej, *Ficedula hypoleuca*.

Odziedziczalność (h^2 , F a l c o n e r 1960) jest wskaźnikiem stopnia genetycznego podobieństwa potomstwa do rodziców — w jakim stopniu cechy występujące u rodziców przejawiają się w fenotypach ich potomstwa. W praktyce szuka się kowariancji pod względem badanej cechy między osobnikami spokrewnionymi, np. między potomstwem a jednym z rodziców. Najczęściej wykonuje się regresję średnich pomiarów cechy u potomstwa, na średnią wartość cechy rodziców. Nachylenie osi regresji daje oszacowanie odziedziczalności.

Możliwość badania odziedziczalności cechy dla każdego z rodziców z osobna dała okazję do oceny stopnia wiarołomstwa samic.

Pomijając kwestię pasożytnictwa lęgowego (podrzucanie jaj, Y o m - T o v 1980), można przyjąć, że samica zawsze wychowuje własne potomstwo. Samiec, w przypadku wiarołomstwa samicy, może wychowywać w danym lęgu oprócz swojego także potomstwo obcego samca. Zatem odziedziczalność cechy samca, mierzona dla całego lęgu (bez rozróżnienia potomstwa zdradzonego samca i „bałamuta”), powinna być niższa niż dla samicy. Częstość wiarołomstwa może

być wtedy oceniona na podstawie różnic między samcem a samicą w nachyleniu osi regresji.

Kluczowe jest założenie, że odziedziczalność badanej cechy, w tym przypadku długości skoku, jest równa dla obu płci. Wiadomo, że wartość danej cechy u potomstwa może być podobna do występującej u jednego z rodziców, z przyczyn pozagenetycznych (Falconer 1960). Część takich niepożądanych związków można wykluczyć. Niektóre korelacje środowiskowe są trudne do wyeliminowania, np. tzw. wpływ matczyny (ang. maternal effect). Jeżeli duża samica składa duże jaja, to młode z takich jaj mogą wyrosnąć większe nie przez dziedziczenie, ale na skutek korzystania we wczesnych stadiach rozwoju z większej ilości materiałów zapasowych zgromadzonych w dużym jaju. Wymienieni powyżej badacze szwedzcy twierdzą, że w ich badaniach efekt matczyny nie miał miejsca, ponieważ jakość jaja ma wpływ na długość skoku młodych, więc powinna mieć również wpływ na ciężar ich ciała. Zatem powinna zachodzić korelacja między długością skoku samicy a ciężarem ciała młodych, a takiej korelacji nie stwierdzono. Pozwala to przyjąć założenie, że odziedziczalność danej cechy jest równa dla obu płci, a ewentualne różnice byłyby rezultatem wiarołomstwa.

Wyniki badań, opartych na 331 rodzinach (pisklęta + rodzice) muchołówki żałobnej i 171 muchołówki białoszyjej, wykazały wyższą dla samic niż dla samców odziedziczalność długości skoku. Różnica wynosiła przeciętnie 24% i podano, że jest statystycznie istotna.

U muchołówek z rodzaju *Ficedula* do wiarołomstwa dochodzi na skutek istnienia poligynii politerytorialnej (Alatalo i in. 1981). Samiec wcześniej przybyły na lęgowiska kojarzy się z jedną z pierwszych przylatujących tam samic i zapładnia jej zniesienie. W tym czasie na lęgowiska przybywają następne samice. Samiec zajmując wtedy terytorium odległe od pierwszego o kilkaset metrów może, udając kawalera, skojarzyć się ponownie i osiągnąć w ten sposób prawie podwójny sukces lęgowy. Im wcześniej podejmie on starania o drugą samicę, tym większe ma szanse na sukces. Prowadzi to do tego, że samce zajmują drugie terytorium, zanim pierwsza samica ukończy składanie jaj. Opuszczają ją więc w okresie, gdy jest ona receptywna i może być zapłodniona przez innego samca. Tracą wtedy ojcostwo części lęgu i karmią potem nie spokrewnione z nimi potomstwo, jednakże skojarzenie się z drugą samicą powinno skompensować te straty.

Dotychczas obserwowane w terenie „zaszłości” między skojarzoną samicą muchołówki a obcym samcem dotyczyły samicy i jej najbliższego sąsiada. Sprawdzono zatem, czy rzeczywiście to sąsiedzi są odpowiedzialni za wiarołomstwo. Dla każdej rodziny obliczono średnie odchylenie długości skoku potomstwa od spodziewanego z regresji: średnia rodziców na średnią z potomstwa. Jeżeli to sąsiedzi są przeważnie „bałamutami”, to powinniśmy się spodziewać, że to odchylenie będzie pozytywnie korelowało z różnicą w długości skoku pomiędzy prawowitym ojcem lęgu a sąsiadem. Otrzymano bardzo nieznacznie

zaznaczony pozytywny związek, który był statystycznie istotny. Gdy w analogiczny sposób porównano samice: matkę lęgu i sąsiadkę, nie otrzymano żadnych istotnych statystycznie związków. Podobne rezultaty uzyskano, gdy obliczono regresję wielokrotną pomiędzy średnią długością skoku młodych z danego lęgu, średnią długością skoku ich rodziców, a długością skoku sąsiada lub sąsiadki. Otrzymano istotny związek długości skoku młodych z rodzicami, na nieco niższym poziomie istotności z sąsiadem i brak istotnego związku długości skoku młodych z sąsiadką.

Metodę tę zastosował też Møller (1987). Na podstawie 64 rodzin jaskółki dymówki, *Hirundo rustica*, stwierdził, że odziedziczalność dla samic jest o 26% wyższa niż dla samców. Zatem metoda przeszła niezależną weryfikację.

Kłopoty spotkały ją przy powtórnej, bardzo dobrze zaprojektowanej weryfikacji, przeprowadzonej przez Lifjeld i Slagsvolda (1989).

Badali oni odziedziczalność długości skoku w dwóch populacjach różniących się między sobą pod względem liczebności płci: w Trondheim 34% samców nie znalazło sobie partnerki do rozrodu, a częstość poligynii wynosiła mniej niż 2%, w Oslo prawie wszystkie samce (91%) były skojarzone z samicami, a 29% z nich skojarzyło się z dwiema lub trzema samicami. Te różnice w proporcji płci powinny powodować różnice w częstości wiarołomstwa. Jeżeli w Trondheim szanse na skojarzenie się z drugą samicą są bardzo małe, to samce powinny powściągnąć politerytoriaalne zapędy i pilnować ojcostwa pierwszego lęgu, przeganiając „bałamutów” od pierwszej samicy. Powinniśmy się zatem spodziewać, że w tej populacji nie będzie wiarołomstwa, a oceny odziedziczalności dla samca i samicy będą bardzo podobne. Natomiast w Oslo korzyści z politerytorializmu powinny dalece przewyższać straty powodowane utratą ojcostwa części lęgu. Zatem w tej populacji częstość wiarołomstwa powinna być wysoka i należy oczekiwać dużych różnic między płciami w ocenach odziedziczalności długości skoku.

Tymczasem w żadnej z dwu populacji, w ciągu 4 lat badań, nie znaleziono istotnych statystycznie różnic między płciami w odziedziczalności długości skoku, a w populacji w Oslo (gdzie teoretycznie spodziewano się większej częstości wiarołomstwa) długość skoku młodych koreluje nawet silniej z długością skoku samca niż samicy (jednakże jest to różnica statystycznie nieistotna).

Lifjeldowi i Slagsvoldowi (1989) nie udało się potwierdzić skuteczności tej metody oceny wiarołomstwa, lecz, co ciekawe, udało im się dowiedzieć, że pomysłodawcy nie sprawdzili proponowanej przez siebie metody. Lifjeld i Slagsvold (l.c.), stosując dane opublikowane przez Alatalo i in. (1984) oraz przeliczając je ponownie za pomocą tych samych testów statystycznych, udowodnili, że nie ma statystycznie istotnych różnic między płciami w odziedziczalności długości skoku w żadnym z sezonów badań ani też w globalnej puli danych. Zakładając, że różnica w odziedziczalności jest równa 24%, a błąd standardowy równy 0,15, trzeba by mieć próbę rzędu 1600 rodzin muchołówek, aby uzyskać istotność statystyczną na poziomie 0,05.

Podobnie sprawdzili dane z pracy Møllera (1987). Analizując powtórnie opublikowaną przez niego tabelę, jeszcze raz wykazali brak różnic między płciami w odziedziczalności długości skoku. Niskie nachylenie prostych regresji uzyskanych przez Møllera (dla samic $h^2 = 0,27$, dla samców $h^2 = 0,20$, czyli połowa oczekiwanych wartości odziedziczalności) prawdopodobnie odzwierciedla silny wpływ środowiska na długość skoku młodych. Jaskółki odżywiają się prawie wyłącznie owadami poruszającymi się w powietrzu, a zasobność tego źródła pokarmu bardzo zależy od warunków atmosferycznych.

W pracy Alatalo i in. (1984) znajduje się zbiór danych dotyczący muchołówki białoszyjej, dla której wyliczono podobną częstość wiarołomstwa jak dla muchołówki żałobnej. W jednej z nowszych prac Gustafsson (1986) opisuje specyficzne dla płci wartości odziedziczalności czterech innych cech morfologicznych. Są to długości: skrzydła, ogona, pierwszej lotki i dzioba, zebrane w tej samej populacji muchołówki białoszyjej. Dla długości ogona i dzioba oceny odziedziczalności są wyższe dla samców niż dla samic. Lifjeld i Slagsvold (1989) zadają pytanie: dlaczego 24-procentowa częstość wiarołomstwa nie zmniejszyła odziedziczalności tych dwu cech po samcu, skoro zazwyczaj cechy te osiągają wysokie wartości odziedziczalności?

Lifjeld i Slagsvold (l.c.) nie ustosunkowali się jasno do stwierdzonego przez badaczy szwedzkich związku między odchyleniem długości skoku młodych od oczekiwanego a różnicą w długościach skoku samca stowarzyszonego z gniazdem i jego sąsiadem. A jest to zależność potwierdzająca rezultaty Alatalo i in. (1987). Skrytykowali oni także nie tylko metodę oceny częstości, ale i w ogóle możliwość występowania wiarołomstwa u muchołówek z rodzaju *Ficedula*. Twierdzą, że obserwacje kopulacji z osobnikami nie skojarzonymi nie świadczą o zapłodnieniu — samica może nie dopuścić do efektywnego kontaktu kloak. Brak także jakichkolwiek adaptacji przeciw wiarołomstwu, zazwyczaj stwierdzanych u innych gatunków, u których obserwowano kopulacje poza parą, jak np. pilnowanie samic w okresie kojarzeń przez samce z nimi skojarzone. Jednakże ten argument nie jest przekonujący — samce muchołówek nie muszą być zainteresowane pilnowaniem pierwszych samic, bowiem zyski z powtórnego kojarzenia mogą daleko przewyższyć ewentualne straty spowodowane dzielonym ojcostwem pierwszego lęgu. Ponadto, jak udowodnili Birkhead i in. (1988), samce, które kopulują później od poprzednika, mają znacznie większe szanse na zapłodnienie jaja. Sperma od kopulującego samca nie zapładnia od razu jaja, ale jest gromadzona przez samicę w specjalnym pęcherzyku nasiennym. Samiec może nie być zainteresowany pilnowaniem samicy, bowiem kopulacja odbyta najpóźniej, zatem w najbardziej stosownym do zapłodnienia momencie, eliminuje wpływ ewentualnych wcześniejszych kopulacji z „bałamutem”.

Krytyka Lifjelda i Slagsvolda (l.c.) dowiodła (i jest to ogromna zaleta tej pracy), że dotychczasowe badania częstości wiarołomstwa na podstawie różnic w odziedziczalności między płciami były wykonane źle

i przedstawiono błędne rezultaty. Czy jednak ich eksperyment świadczy o tym, że metoda jest zła, czy też, że w badanej przez nich populacji brak wiarołomstwa? Nie można udzielić jednoznacznej odpowiedzi na to pytanie. Ekologia to, niestety, nie matematyka — może budzić wątpliwości. Zawsze można powiedzieć, że norwescy badacze pracowali na populacji, w której nie znane im i nie kontrolowane czynniki środowiska utrudniły uzyskanie pozytywnych wyników, podczas gdy w rzeczywistości wiarołomstwo było tam częste. Na omawianej populacji przeprowadzali oni wiele różnorodnych eksperymentów, które mogły prowadzić do powstania zmienności utrudniającej uzyskanie istotnych różnic między płciami w odziedziczalności długości skoku. Nie ma jak dotąd badań rozstrzygających ten problem. Na obecnym etapie rozwoju metoda oceny częstości wiarołomstwa w oparciu o odziedziczalność może budzić poważne zastrzeżenia.

3. Metody biochemiczne

By rozwiązać problem wiarołomstwa, trzeba było znaleźć metody ściślejsze, bardziej jednoznaczne i powtarzalne, co ułatwił szybki rozwój biologii molekularnej.

Pierwszą próbą na tym polu było określanie ojcostwa na podstawie polimorfizmu genetycznego enzymów. Metoda polega na wykrywaniu za pomocą elektroforezy (rozdzieleniu białek wykorzystującego ich właściwości elektryczne, opis metody — patrz K r z a n o w s k a i in. 1982) różnych białek będących produktem działania alleli tego samego locus. Wykorzystując te informacje, porównuje się te same loci u rodziców i potomstwa. Dziedziczenie „enzymatycznych” cech organizmu podlega powszechnie znanym prawom mendlowskim, zatem np. potomstwo dwu homozygot recesywnych w danym locus nie może być heterozygotą. Jeżeli w taki właśnie sposób genotyp potomstwa nie odpowiada genotypowi rodziców, to mamy pewność, że ów odmienny genotypowo potomek został poczęty przez samca nie związanego z rodziną. Np. w przypadku badań G a v i n a i B o l l i n g e r a (1985) czterech polimorficznych loci u amerykańskiego łuszcza, *Dolichonyx oryzivorus*, wykazano, że dwa lęgi na dwanaście (16,7%) miały więcej niż jednego ojca. S h e r m a n i M o r t o n (1988) badając podobną liczbę loci u wróbla białogłowego, *Zonotrichia leucophrys*, wykryli, że przynajmniej 14% piskląt pochodzi „z nieprawego łoża”.

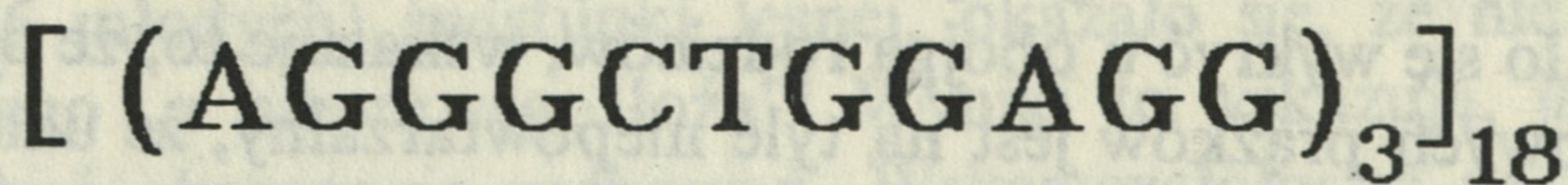
Jednakże metoda ta, pominiwszy już to, że jest droga, nie daje oczekiwanych rezultatów. Wiele systemów enzymatycznych można wyizolować dopiero po uśmierceniu osobnika, co zmniejsza użyteczność metody. Liczba polimorficznych loci jest u ptaków bardzo mała, np. w porównaniu z płazami. Prawdopodobnie z tej przyczyny wielu przypadków wiarołomstwa nie udaje się wykryć, bowiem najczęściej większość osobników w populacji ma ten sam genotyp. Genotyp obcego samca, z którym kopulowała samica, nie jest wtedy odróżnialny od genotypu samicy bądź jej małżonka. Jeżeli nawet genotyp „bałamuta” jest różny od genotypów rodziców, to i tak trudno go ziden-

tyfikować, bowiem wiele samców ma podobne genotypy. Prawdopodobieństwo prawidłowej oceny ojcostwa jest w przypadku badań polimorfizmu genetycznego zbyt niskie – wynosi ono zazwyczaj od 0,3 do 0,6 (B u r k e 1989); takie wartości nie są zadowalające. Podobnie jak w przypadku badań odziedziczalności konieczne jest założenie o braku pasożytnictwa lęgowego, bowiem za pomocą metody analizy polimorfizmu nie można odróżnić jaj podrzuconych przez obce samice od jaj zapłodnionych przez obcego samca. Potrzebna jest zatem metoda, która identyfikowałaby genetyczny przekaz od ojca z bardzo dużą precyzją, musiałoby to być coś genetycznie tak niepowtarzalnego, jak niepowtarzalne są odciski ludzkich palców.

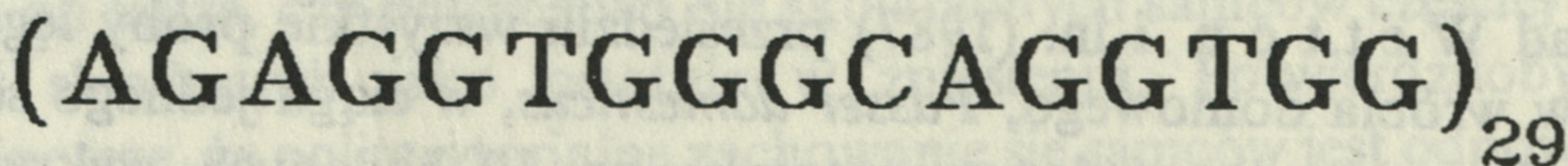
Istnieje metoda, która spełnia te wymagania. Jest to bezpośrednia ocena zgodności bardzo zmiennych indywidualnie odcinków DNA (ang. DNA fingerprinting) u rodziców i potomstwa (J e f f r e y s i in. 1985).

Owe indywidualnie zmienne odcinki kodu genetycznego to tzw. minisatelitarny DNA – sekwencja DNA, zazwyczaj mniejsza niż 20 000 par zasad, zawierająca wiele kopii jednego, krótkiego odcinka (sekwencji rdzeniowej), nie przekraczającego 65 par zasad (rys. 1, H i l l 1987). Organizacja minisatelitarnego DNA jest zatem podobna do satelitarnego DNA, a różnica polega jedynie na znacznie większej skali zjawiska u tego ostatniego. Pojedyncze loci minisatelitarne określane są jako „hiperzmienne”, ponieważ zawierają najbardziej polimorficzne sekwencje DNA, jakie kiedykolwiek wykryto. Przyczyną jest wysoka częstość mutacji, polegającej na utracie lub dołączeniu powtarzającej się sekwencji rdzeniowej. W najbardziej zmiennym locus w próbie 79 ludzi wykryto co najmniej 77 różnych alleli, heterozygotyczność oceniono na 97%, a tempo mutacji równe jest 0,003 na gametę (B u r k e 1989).

Sonda "33.6"
(Probe "33.6")



Sonda "33.15"
(Probe "33.15")



Rys. 1. Budowa dwu najczęściej używanych, standardowych sond minisatelitarnego DNA. Składają się one z wielokrotnie powtórzonych, krótkich sekwencji nukleotydowych (H i l l 1987)
The structure of the two, most common probes of minisatellite DNA. They consist of repeats of short nucleotic sequences (H i l l 1987)

W 1985 r. Alec Jeffreys i jego współpracownicy (Jeffreys i in. 1985), analizując gen mioglobiny ludzkiej, wykryli nowy rodzaj minisatelitarnych sekwencji, które charakteryzowały się posiadaniem tej samej sekwencji rdzeniowej, przedstawionej na rys. 1. Wykazali oni, że ten minisatelitarny DNA może być wykorzystywany jako sonda wykrywająca równocześnie hiperzmienne odcinki minisatelitarnego DNA w wielu oddzielnych loci (Hill 1987). Procedura ta (Burke 1989) polega na izolacji kwasu dezoksyrybonukleinowego z erytrocytów i rozdrobnieniu helisy na krótkie odcinki za pomocą enzymów restrykcyjnych, które tną nić cząsteczki w każdym miejscu, gdzie pojawia się specyficzna dla enzymu kombinacja nukleotydów. Następnie powstałe odcinki segreguje się według wielkości przy użyciu elektroforezy. Potem krótkie odcinki podwójnej helisy są denaturowane do pojedynczych nici i osadzane na nitrocelulozowej błonie. Podobnie postępuje się ze wspomnianą wyżej standardową sondą minisatelitarnego DNA, z tym że dodatkowo znakuje się każdy odcinek zdenaturowanej nici radioaktywnym fosforem. Następnie wykonuje się hybrydyzację w roztworze odcinków pojedynczej nici standardowej sondy z badanymi fragmentami pojedynczej nici DNA, osadzonymi na nitrocelulozowej błonie. Dochodzi wtedy do łączenia się komplementarnych odcinków sondy i badanego DNA. Za pomocą autoradiografu wykrywa się później, które odcinki badanego DNA połączyły się z odcinkami sondy. Teoretyczne prawdopodobieństwo, że ten sam zbiór połączonych odcinków badanego DNA i standardowej sondy zostanie wykryty u dwojga osobników (z wyjątkiem bliźniąt) jest niezwykle niskie. Dla wróbla domowego wynosi ono 6×10^{-34} (Hill 1987). Rozkład prążków otrzymany na autoradiografie jest zatem charakterystyczny dla osobnika i jego najbliższych krewnych. To jest ów dezoksyrybonukleinowy odcisk palca.

Analizę prążków przeprowadza się podobnie jak w przypadku danych z elektroforezy białek. Jeżeli u danego potomka występują prążki, których brak u matki i domniemanego ojca, oznaczające wykrycie odcinków DNA, których nie udało się wykryć u obojga rodziców, wskazuje to, że ojcem jest ktoś trzeci. Zbiór owych prążków jest na tyle niepowtarzalny, że udaje się spośród wielu potencjalnych kandydatów wyłowić prawdziwego ojca. Prawdopodobieństwo uznania nie spokrewnionego osobnika za ojca jest bardzo niskie — w przypadku użycia dwóch sond minisatelitarnego DNA wynosi od 10^{-2} do 10^{-8} (Burke 1989).

Jest już kilka konkretnych badań wykonanych przy użyciu tej metody. Na przykład Wotton i in. (1987) prześledzili wszystkie próby lęgowe dwóch samców wróbla domowego, *Passer domesticus*, w ciągu jednego sezonu lęgowego. W przypadku jednego potomka na 19 badanych wykryto, że jego prawdziwym ojcem nie jest samiec przypisany do lęgu. Podobną analizę ojcostwa przeprowadzono dla płochacza pokrzywnicy, *Prunella modularis* (Burke i in. 1989). Wykryto, że samiec nie skojarzony z daną samicą był ojcem tylko jednego pisklęcia na 133 zbadane.

Także na przykładzie płochacza wykazano, za pomocą badań zgodności minisatelitarnego DNA, że wysiłek rozrodczy samca zależy od sukcesu kojarzeniowego. U płochacza najczęściej obserwowanym systemem kojarzeń jest poliandria, gdzie jedna samica kojarzy się z dwoma samcami (D a v i e s 1985). Między tymi samcami wytwarza się hierarchiczny układ dominacji — samiec większy i silniejszy stara się nie dopuścić do dzielenia ojcostwa lęgu z samcem podporządkowanym. Analiza zgodności minisatelitarnego DNA wykazała, że samiec podporządkowany karmi młode w gnieździe, jeżeli jest ojcem chociaż części lęgu. Intensywność tej opieki jest proporcjonalna do czasu, w jakim miał on wyłączny dostęp do samicy w okresie kopulacji (B u r k e i in. 1989).

W świetle powyżej opisanej dyskusji na temat różnic między płciami w odziedziczalności długości skoku jako wskaźnika wiarołomstwa, interesująca jest praca G y l l e n s t e n a i in. (1990) na temat wiarołomstwa samic u dwóch gatunków świstunek. Pierwsza z nich to piecuszka, *Phylloscopus trochilus*, gatunek monogamiczny, z rzadko zdarzającą się poligynią (mniej niż 5% na obszarze badań). U tego gatunku często obserwowano wkraczanie obcych samców na terytorium pary lęgowej, a na 30 obserwowanych kopulacji, czterokrotnie stwierdzono kopulacje samicy z obcym samcem, przy czym dochodziło do kontaktu kloak. Częstość wiarołomstwa oceniana na podstawie obserwacji powinna zatem wynosić ok. 13%. Druga to świstunka leśna, *Phylloscopus sibilatrix*, gatunek w zasadzie poligyniczny — 23% samców w danym sezonie kojarzy się z więcej niż jedną samicą. Jest to poligynia politerytoriałna, podobnie jak u muchołówek z rodzaju *Ficedula*. Jedenaście samców, spośród trzynastu obserwowanych, założyło nowe terytoria zanim skojarzone z nimi samice ukończyły składanie jaj, a dwa pozostałe zaczęły intensywnie śpiewać na skraju pierwszego terytorium. Takie dzielenie czasu pomiędzy dwa terytoria powinno prowadzić do wiarołomstwa wśród nie pilnowanych samic. Gdy sprawdzono zgodność minisatelitarnego DNA między rodzicami a potomstwem w 19 rodzinach (120 młodych) piecuszka i 13 rodzinach (56 młodych) świstunki leśnej, okazało się, że nie wykryto ani jednego młodego „z nieprawego łoża”! Wyniki te wskazują, jak dalece zwodnicze mogą być obserwacje zachowań. Wskazywałoby to na słuszość krytyki L i f j e l d a i S l a g s v o l d a (1989), jednakże sprawę ostatecznie rozstrzygną podobne badania muchołówek, które już są prowadzone przez Ola Akerströma (inf. ustna) z Instytutu Genetyki na Uniwersytecie w Uppsali. Oprócz stwierdzenia rzeczywistej częstości wiarołomstwa u tego gatunku, sprawdza on także, czy potomstwo nie skojarzonych samców częściej wykluwa się z jaj składanych jako ostatnie w zniesieniu. Potwierdziłoby to lub obaliło hipotezę, że politerytoriałne zachowanie się samców jest odpowiedzialne za wiarołomstwo.

Na razie najważniejszą przeszkodą na drodze rozwoju i upowszechnienia tej metody jest jej olbrzymi koszt. Jego głównym składnikiem jest bardzo droga praca laborantów (B u r k e 1989). Jednakże i tutaj możemy patrzeć w przy-

szłość z nadzieją — niewątpliwa użyteczność tej metody w ustalaniu ojcostwa u ludzi (Jeffreys i in. 1985) przyniesie jej rozpowszechnienie, a tym samym mniejszy koszt. Znaczną redukcję kosztów można osiągnąć przez łączenie projektów — kilka grup badawczych razem sprowadza sprzęt i odczynniki, a pracując w jednym laboratorium efektywniej je wykorzystuje.

Metoda „DNA-fingerprinting” znajduje się obecnie w stadium „zarodkowym”. Możliwe, że przyszłość przyniesie znaczne jej uproszczenie i automatyzację samego procesu chemicznego. Obecnie duże problemy sprawia analiza prążków na autoradiografie, ponieważ jest bardzo czasochłonna. Jeżeli jednak już obecnie reklamy sekwenserów DNA mówią: „Zapomnij o odczytywaniu autoradiografów” (Nature, nr 6212, 1989), bowiem „sekwenser osobisty zrobi to za ciebie”, to możemy mieć nadzieję, że już wkrótce analiza autoradiografów nie będzie problemem. Także odcinki sondy o z góry zaplanowanej sekwencji można produkować przy użyciu maszyny, która składa zaprogramowany łańcuch DNA z pojedynczych nukleotydów (O. Akerström, inf. ustna).

Zatem w poszukiwaniach ścisłości zstąpiliśmy do samego DNA. Rozwiązanie problemu wiarołomstwa i rzeczywistego sukcesu rozrodczego osobników znaleziono dopiero po sięgnięciu do fizyki i chemii procesów związanych z reprodukcją osobników. Za pomocą tej metody, na podstawie kombinacji nukleotydów, możemy bezpośrednio śledzić, co dzieje się w populacji z osobnikami. Być może wkrótce będziemy śledzić losy nie osobnika w populacji, ale genu w puli genowej? Marzenie dla ekologa — ewolucjonisty. Jedno jest niewątpliwe: ożenek ekologii z biochemią bardzo się tej pierwszej opłacił.

Autor pragnie bardzo serdecznie podziękować mgr Agnieszce Cichoń, mgr Irenie Szczygieł, mgr. Mariuszowi Cichoniowi, dr. Ryszardowi Koronie i dr. hab. Janowi Rafińskiemu za wszystkie krytyczne uwagi dotyczące tej pracy. Ponieważ nie zostały one uwzględnione w całej rozciągłości, za wszelkie niedociągnięcia winić należy tylko i wyłącznie autora.

Piśmiennictwo

- Alatalo R. V., Carlson A., Lundberg A., Ulfstrand S. 1981 — The conflict between male polygamy and female monogamy: the case with the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca* — Am. Nat. 117: 738—753.
- Alatalo R. V., Lundberg A., Gustafsson L. 1984 — High frequency of cuckoldry in pied and collared flycatchers — Oikos, 42: 41—47.
- Birkhead T. R., Atkin L., Moller A. P. 1987 — Copulation behaviour of birds — Behaviour, 101: 101—138.
- Birkhead T. R., Pellatt J., Hunter F. M. 1988 — Extra-pair copulations and sperm competition in the zebra finch — Nature, 334: 60—62.
- Burke T. 1989 — DNA fingerprinting and other methods for the study of mating success — TREE, 4: 139—144.
- Burke T., Davies N. B., Bruford M. W., Hatchwell B. J. 1989 — Parental care and mating behaviour of polyandrous dunnocks *Prunella modularis* related to paternity by DNA fingerprinting — Nature, 338: 249—252.

- Davies N. B. 1985 — Co-operation and conflict among dunnocks, *Prunella modularis*, in a variable mating system — *Anim. Behav.* 33: 628—648.
- Falconer D. S. 1960 — Introduction to quantitative genetics — Oliver & Boyd, Edinburgh.
- Ford N. L. 1983 — Variation in mate fidelity in monogamous birds (W: Current ornithology. Red. R. F. Johnston) — Plenum Press, New York, 329—356.
- Gavin A., Bollinger E. K. 1985 — Multiple paternity in a territorial passerine: the Bobolink — *Auk*, 102: 550—555.
- Gustafsson L. 1986 — Lifetime reproductive success and heritability: empirical support for Fisher's fundamental theorem — *Am. Nat.* 128: 761—764.
- Gyllenstein U. B., Jakobsson S., Temrin H. 1990 — No evidence for illegitimate young in monogamous and polygynous warblers — *Nature*, 343: 168—170.
- Hill W. G. 1987 — DNA fingerprints applied to animal and bird populations — *Nature*, 327: 98—99.
- Jeffreys A. J., Brookfield J. F. Y., Semonoff R. 1985 — Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints — *Nature*, 317: 818—819.
- Krzanowska H., Łomnicki A., Rafiński J. 1982 — Wprowadzenie do genetyki populacji — PWN, Warszawa.
- Lank D. B., Mineau P., Rockwell R. F., Cook F. 1989 — — Intraspecific nest parasitism and extra-pair copulation in lesser snow gees — *Anim. Behav.* 37: 74—89.
- Lifjeld J. T., Slagsvold T. 1989 — How frequent is cuckoldry in pied flycatchers *Ficedula hypoleuca* — Problem with use of heritability estimates of tarsus length — *Oikos*, 54: 205—210.
- Martin R. F. 1980 — Analysis of hybridization between the hirundinid genera *Hirundo* and *Petrochelidon* in Texas — *Auk*, 97: 148—159.
- Møller A. P. 1987 — Behavioural aspects of sperm competition in swallows (*Hirundo rustica*) — *Behaviour*, 100: 92—104.
- Sherman P. W., Morton M. L. 1988 — Extra-pair fertilizations in mountain white-crowned sparrows — *Behav. Ecol. Sociobiol.* 22: 413—420.
- Wetton J. H., Carter R. E., Parkin D. T., Walters D. 1987 — Demographic study of a wild house sparrow population by DNA fingerprinting — *Nature*, 327: 147—149.
- Wolfenden G. E., Fitzpatrick J. W. 1984 — The Florida scrub jay: demography of cooperative-breeding bird — Princeton University Press, New Jersey.
- Yom-Tov Y. 1980 — Intraspecific nest-parasitism in birds — *Biol. Rev.* 55: 93—108.

Summary

The cuckoldry is a behaviour occurring when a female copulates with the male, not mated with her. This phenomenon can lead to the wrong breeding success or heritability estimates, interpretation of behaviour or social relations between individuals. We can reach an effective approach to these problems only using the technics allowing error-free identification of the phenomenon and estimation of its frequency.

The phenomenon is accepted as wide-spread but there is a lack of the data on frequency and effectiveness of females copulations with males mated with them. In practice, it is impossible to recognize only on the basis of observations, if copulations are effective.

Alatalo et al. (1984) tried to estimate cuckoldry frequency in the case of flycatchers of the *Ficedula* genus, on the basis of differences between parents in the heritability values of tarsus length. If a female committed an act of cuckoldry, tarsus length heritability for the male should be lower than for the female, because the male shared the paternity of the brood with another, strange male. The cuckoldry value estimated on this basis was 24%.

The method was used again in similar studies by Møller (1987); he performed them on the barn swallow.

This method was more precisely verified by Lifjeld and Slagsvold (1989). By manipulation of the sex ratio, they obtained two populations, differing in the probability of cuckoldry. However, they didn't find significant differences between sexes in the heritability of tarsus length in both populations. They found errors in statistical analyses in the papers of the previous researchers on cuckoldry, who used the method of differences between sexes in the heritability of tarsus length.

More exact methods are supplied by molecular biology. The method of cuckoldry frequency estimating on the basis of enzyme genetical polymorphism analysis was used several times but it is of a little value in detecting and cuckoldry frequency estimating. It happens because of the small proteine genetical variability in birds.

The method of DNA-fingerprinting (Jeffreys et al. 1985), derived from molecular biology, effectively and unequivocally detects a cuckoldry. By using a standard probe (Fig. 1) joining complementary sections of minisatellite DNA, one can detect differences in structure of minisatellite DNA, between progeny of the strange male and putative parents.

An example of the method application was investigation of all breeding attempts of two males of house sparrow during one season. Only one young (out of 19) was fathered by strange male. In the case of similar studies of dunnock (Burke 1989) only one young fathered by strange male was detected, in the sample of 133 studied individuals. Similarly, the studies of DNA fingerprinting made on dunnock (Burke et al. 1989) showed, that males which were subordinated to dominative males in poliandry mating system, fed young in a nest only if they managed to copulate with the female and there was their progeny in the nest as well.

In the studies of Gyllenstein et al. (1990) made on the sample of 19 families of willow warbler and 13 families of wood warbler, no one young was detected, which would be a result of cuckoldry.

(wpłynęło: 26 XI 1990 r.)

Summary

The cuckoldry is a behaviour occurring when a female copulates with the male, but another male fertilizes her egg. This phenomenon can lead to the wrong breeding success or territoriality disturbance. We can reach an effective estimation of its frequency only using the technique allowing for the identification of the progeny and the parents. The present study is a pilot study on the data on frequency and the probability of cuckoldry in the population of house sparrow. The results show that the probability of cuckoldry is low in this population. The method was used again in similar studies by M. A. P. (1987) on the house sparrow.