

nejczer



WARSZTATY METODOLOGICZNE
Z BIOLOGII EWOLUCYJNEJ
25.-30.04.2014, OCHOTNICA GÓRNA

Skład numeru: Natalia Derus

Zdjęcia: dr hab. Joanna Rutkowska

Okładki czasopism: Wojciech Tokarz

Justyna Kierat

Okładka numeru: Natalia Derus

SPIS TREŚCI

1 Uczestnicy Warsztatów	4
2 Organizatorzy i Recenzenci	5
3 Zaproponowane tematy projektów	6
4 Grupy i wybrane tematy	7
5 Projekty i recenzje	9
5.1. „Wrony”	9
5.1.1. Pierwsza wersja projektu	9
5.1.2. Recenzje	16
5.1.3. Ostateczna wersja projektu	23
5.2. „Placebo”	32
5.2.1. Pierwsza wersja projektu	32
5.2.2. Recenzje	37
5.2.3. Ostateczna wersja projektu	46
5.3. „Nornice”	54
5.3.1. Pierwsza wersja projektu	54
5.3.2. Recenzje	59
5.3.3. Ostateczna wersja projektu	69
5.3. „Słowiki”	75
5.3.1. Pierwsza wersja projektu	75
5.3.2. Recenzje	77
5.3.3. Ostateczna wersja projektu	85
6. Kiksy	90
7. Galeria	91

1. UCZESTNICY WARSZTATÓW

Andrzej Antoń

andrzej.antol@uj.edu.pl

Zespół Ewolucji Strategii Życiowych, Instytut Nauk o Środowisku UJ

Natalia Derus

natalia.derus@uj.edu.pl

Zespół Ewolucji Strategii Życiowych, Instytut Nauk o Środowisku UJ

Justyna Kierat

justyna.kierat@uj.edu.pl

Zespół Ekologii Behawioralnej, Instytut Nauk o Środowisku UJ

Wioleta Kocerba-Soroka

wioleta.kocerba@uj.edu.pl

Zespół Ekologii Mikroorganizmów Wodnych, Instytut Nauk o Środowisku UJ

Aleksandra Piontek

ola.piontek@uj.edu.pl

Zespół Ochrony Przyrody, Badań łowieckich i Edukacji Środowiskowej, Instytut Nauk o Środowisku UJ

Mateusz Sobczyk

mateusz.sobczyk@uj.edu.pl

Zespół Ekologii Mikroorganizmów Wodnych, Instytut Nauk o Środowisku UJ

Wojciech Tokarz

wojciech.tokarz@uj.edu.pl

Zespół Ochrony Przyrody, Badań łowieckich i Edukacji Środowiskowej, Instytut Nauk o Środowisku UJ

Beniamin Waclawik

beniamin.waclawik@uj.edu.pl

Zakład Entomologii, Instytut Zoologii UJ

2. PROWADZĄCY I RECENZENCI

Organizator i Prowadząca Warsztaty:

dr hab. Joanna Rutkowska

joanna.rutkowska@uj.edu.pl

Zespół Ekologii Populacyjnej, Instytut Nauk o Środowisku UJ

Recenzenci:

prof. dr hab. Adam Łomnicki

adam.lomnicki@uj.edu.pl

Instytut Nauk o Środowisku UJ

prof. dr hab. Mariusz Cichoń

mariusz.cichon@uj.edu.pl

Zespół Ekologii Populacyjnej, Instytut Nauk o Środowisku UJ

dr Szymon Drobniak

szymon.drobniak@uj.edu.pl

Zespół Ekologii Populacyjnej, Instytut Nauk o Środowisku UJ

dr Rafał Martyka

martyka@iop.krakow.pl

Instytut Zoologii, Instytut Ochrony Przyrody PAN

dr Hajnalka Szentgyörgyi

hajnalka.szentgyorgyi@uj.edu.pl

Zespół Ekologii Behawioralnej, Instytut Nauk o Środowisku UJ

dr Marta Szulkin

marta.szulkin@zoo.ox.ac.uk

Marie Curie Fellow CEFÉ CNRS, Montpellier & University of Oxford

mgr Aleksandra Wróblewska

awroblewska123@gmail.com

koordynator badań klinicznych

mgr Agnieszka Gozdek

aga.gozdek@uj.edu.pl

Zespół Ewolucji Strategii Życiowych, Instytut Nauk o Środowisku UJ

mgr Ewa Prawdzik

ewa.prawdzik@uj.edu.pl

Zespół Fizjologii Ewolucyjnej, Instytut Nauk o Środowisku UJ

mgr inż. Julia Wyszowska

julia.wyszowska@uj.edu.pl

Zespół Fizjologii Ewolucyjnej, Instytut Nauk o Środowisku UJ

...oraz uczestnicy Warsztatów ☺

3. ZAPROPONOWANE TEMATY PROJEKTÓW

1. Wpływ głodu na popęd seksualny samców
2. Wpływ selektywnego odławiania ryb na zmianę tempa dojrzewania i wielkość ciała
3. Czy można nauczyć dziecko preferencji pokarmowych?
4. Tempo uczenia się szczurów laboratoryjnych i dzikich
5. Wpływ zapasowania na aktywność leniwców
6. Zgodność deklarowanej tuszy z rzeczywistym BMI u kobiet na wsi i w mieście
7. Wpływ czasu odstawienia od matki na agresywność u psów
- 8. Związek między urbanizacją a inteligencją u ptaków krukowatych**
9. Dobieranie się par na zasadzie podobieństwa u ludzi
10. Wpływ różnorodności strategii obronnych roślin na różnorodność roślinożerców w strefie umiarkowanej i tropikalnej
11. Wpływ użytkowania łąk na bioróżnorodność grzybów
12. Efektywność zapylania w stanie nieważkości
13. Strategie żerowania u ptaków przed i w trakcie migracji
14. Wpływ zainfekowania bakterią Wolbachia na sukces rozrodczy u ryjkowców
- 15. Reakcja na zapach moczu drapieżników rodzimych i obcych na przykładzie nornicy rudej**
16. Wpływ zanieczyszczenia środowiska na częstość ciąży mnogich u ludzi
17. Długość okresu karmienia piersią a zdrowie noworodków i dzieci
18. Wpływ kairomonów różnych drapieżników na strategie życiowe racicznicy zmiennej
- 19. Wpływ faz księżyca na rozród u słowików**
20. Wpływ leków homeopatycznych na czas trwania choroby
21. Wpływ diety wyjca na jego wokalizację
22. Wpływ spożycia alkoholu na przyrost naturalny w różnych skalach przestrzennych
23. Wpływ treningu metodą klikerową na nośność i poziom stresu u kur
- 24. Czy placebo jest skuteczne u zwierząt domowych?**

Po zebraniu zaproponowanych tematów, uczestnicy Warsztatów w drodze głosowania wybrali najciekawsze z nich i podzielili się na cztery dwuosobowe grupy. Rozpoczęła się intensywna praca umysłowa: tematy przekuto w hipotezy, a w głowach doktorantów zaczęły się formułować projekty...

4. GRUPY I WYBRANE TEMATY



Beniamin Waclawik i Wojciech Tokarz

Wpływ urbanizacji siedliska na inteligencję kognytywną ptaków krukowatych na przykładzie wrony siwej (*Corvus cornix*) (str. 11)

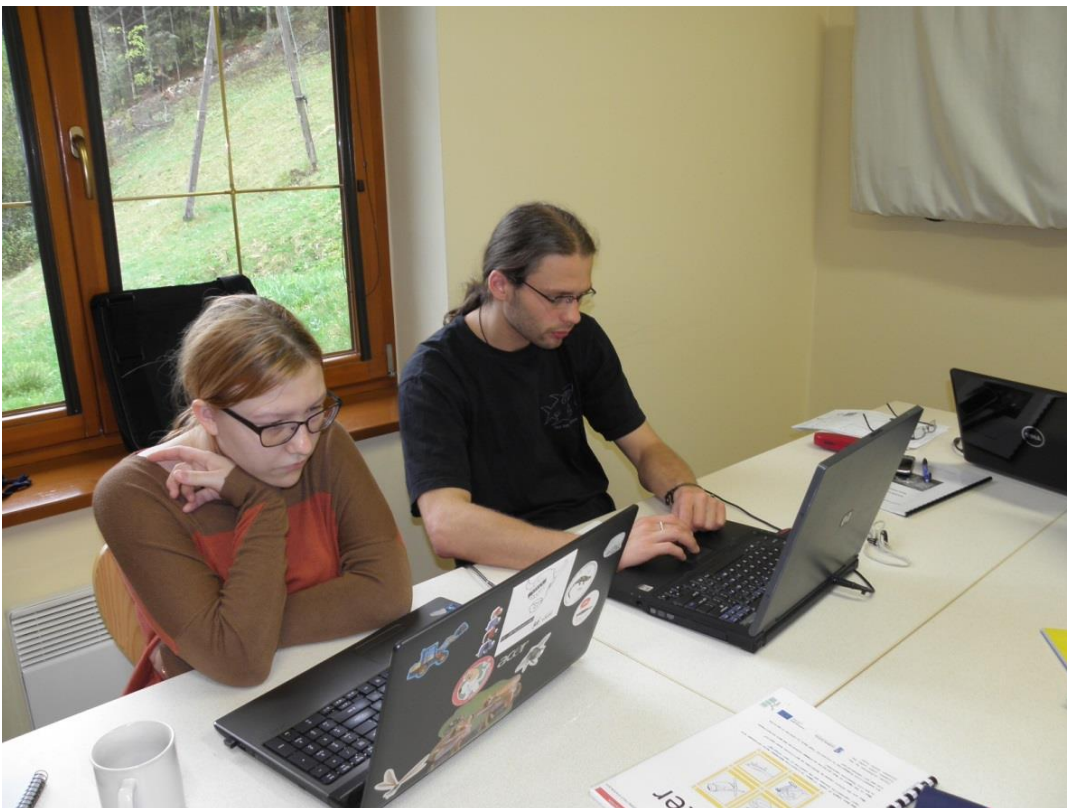


Justyna Kierat i Andrzej Antoł

Mechanizm działania placebo u zwierząt domowych (str. 35)



Wioleta Kocerba-Soroka i Aleksandra Piontek
Reakcja na zapach moczu drapieżników rodzimych i obcych na przykładzie
nornicy rudej (str. 58)



Natalia Derus i Mateusz Sobczyk
Wpływ natężenia światła emitowanego przez Księżyc na sukces reprodukcyjny
słowika rdzawego (*Luscinia megarhynchos*) (C. L. Brehm, 1831) (str. 80)

5. PROJEKTY I RECENZJE

5.1. Wpływ urbanizacji siedliska na inteligencję kognitywną ptaków krukowatych na przykładzie wrony siwej (*Corvus cornix*)

Autorzy: Wojciech Tokarz i Beniamin Waćławik

5.1.1. Pierwsza wersja projektu

Streszczenie projektu

Inteligencja kognitywna zwierząt jest jednym z najbardziej złożonych i frapujących problemów biologicznych. Mimo wielu lat badań, stopień jej rozwoju w poszczególnych grupach taksonomicznych, jak i czynniki które na nią wpływają jest wciąż tematem niedostatecznie zgłębnym. Celem przedstawionego projektu jest poznanie wpływu urbanizacji siedliska na rozwój inteligencji kognitywnej i związanych z nią umiejętności u krukowatych, na przykładzie żyjącej w Nowej Kaledonii wrony brodatej, gatunku u którego zaobserwowano wiele zachowań wskazujących na wysoki poziom zdolności kognitywnych. Postawione hipotezy badawcze dotyczą: przewidywanej większej inteligencji kognitywnej u ptaków z obszarów zurbanizowanych, oraz wrodzonego pochodzenia tej inteligencji. W tym celu zostaną zbadane cztery grupy ptaków tego gatunku : młode i dorosłe z terenów zurbanizowanych oraz młode i dorosłe z terenów niezurbanizowanych. Zostaną wykonane trzy testy badające kolejno: pamięć przestrzenną, zdolność do używania narzędzi i umiejętność rozumowania. Na podstawie różnicy wyników poszczególnych grup zostaną wyciągnięte wnioski na temat różnic w inteligencji kognitywnej pomiędzy ptakami siedlisk zurbanizowanych i niezurbanizowanych oraz na temat tego w jakim stopniu jest ona u tych ptaków wrodzona, a w jakim stopniu nabyta.

Cel naukowy projektu

Inteligencja kognitywna jest zdolnością występującą u wielu gatunków zwierząt kręgowych, a jedną z grup systematycznych, u której jest to cecha w znacznym stopniu rozwinięta są ptaki krukowate (Corvidae). Określa ona możliwości osobników do tzw. myślenia skutecznego, nastawionego na wykorzystywanie wiedzy i informacji w celu rozwiązywania problemów. W przypadku ptaków inteligencja kognitywna przejawia się w szczególnie widoczny sposób w postaci złożonych zachowań związanych z żerowaniem, takich jak wydobywanie pokarmu za pomocą wykonanych wcześniej prostych narzędzi czy zapamiętywaniu miejsc ukrycia zgromadzonych zapasów. Istnieje wiele hipotez dotyczących genezy tej cechy jednak wciąż niewiele wiadomo na temat czynników, które mogłyby promować jej wykształcanie . Brak również informacji, czy zmieniające się środowisko, w tym również postępująca urbanizacja siedlisk może mieć wpływ na wykształcanie się inteligencji kognitywnej u zwierząt. Problemem podejmowanym przez autorów projektu jest pytanie czy rodzaj siedliska może wpływać na wykształcanie się większych zdolności kognitywnych, mierzonych zdolnością uczenia się i efektywnością rozwiązywania złożonych zadań.

Hipotezy badawcze:

- 1) Wrony występujące w siedliskach miejskich wykazują większą inteligencję kognitywną niż wrony z populacji dzikich.
- 2) Zdolności kognitywne (wyrażane poprzez radzenie sobie ze skomplikowanymi problemami wynikającymi ze złożoności siedliska) wynikają z wrodzonych predyspozycji a nie są nabywane na drodze doświadczenia w trakcie rozwoju osobniczego.

Znaczenie projektu

Postępująca urbanizacja prowadzi nie tylko do zmian w bioróżnorodności, ale również w wybieraniu strategiach życiowych i behawiorze wielu gatunków zwierząt, w tym przedstawicieli ptaków (Miranda i in. 2013, Nemeth i Brumm 2009). Wiąże się to w dużej mierze z promowaniem przez dobór naturalny pewnych cech, zachowań i sposobów działania na terenach miejskich (Carette 2001, Croci 2008), jak również z uczeniem się różnych zachowań w konfrontacji z człowiekiem i jego wytworami (Clucas i Marzluff, 2012). U populacji ptaków żyjących w miastach od dziesięcioleci obserwowane są zachowania świadczące o wysokich zdolnościach kognitywnych (Maple 1974, Lefebvre 1994, Nihei 2001). Większość z nich związana jest z umiejętnością rozwiązywania problemów, które osobniki mogą napotkać jedynie w siedliskach zurbanizowanych. Wiele ze wspomnianych doniesień dotyczy ptaków krukowatych, przy czym u tej grupy gatunków stwierdzono również tendencję do osiągania większego sukcesu rozrodczego w pobliżu ludzkich siedlisk (Marzluff i Neatherlin 2006). Z drugiej strony, krukowate należą do najbardziej inteligentnych ptaków, a dotyczy to takich zdolności bezpośrednio opartych na inteligencji kognitywnej, takich jak pamięć przestrzenna (Jacobs 2014, Bednekolff i Balda 2014) umiejętność używania różnych przedmiotów, zarówno w prosty sposób, (Cheke i in. 2011), jak i używanie narzędzi i zdolność do ich modyfikacji (Chapel i Kacelnik 2004, Balda i Kamil, 2006, Wimpenny i in 2009), a nawet używania wytworzonych narzędzi jako broni w walce z innymi osobnikami (Balda 2007). Dlatego też ta grupa ptaków wydaje się być właściwym modelem do zbadania wpływu urbanizacji na możliwe zmiany w poziomie inteligencji kognitywnej. Ważnym aspektem naszego projektu jest poruszenie kwestii pochodzenia tychże zdolności, a dokładniej próba odpowiedzi na pytanie, czy są one nabyte czy też przekazywane genetycznie. Dotychczasowe badania na ptakach sugerują udział obu tych czynników w powstawaniu umysłowych zdolności (Clayton 1994), choć niektóre sugerują brak udziału doświadczenia w powstawaniu niektórych z nich (Stafford i in 2005).

Wpływ urbanizacji na rozwój inteligencji kognitywnej zwierząt jest zbadany jedynie w niewielkim stopniu. Poznanie różnic w pamięci, umiejętności rozwiązywania problemów czy uczenia się wykształconych pod wpływem życia w siedliskach miejskich, pozwoli na lepsze zrozumienie sposobu adaptacji zwierząt do środowiska zmieniającego się pod wpływem działalności człowieka. Wyniki badań, planowanych w ramach opisywanego projektu, wniosą nową wiedzę na temat ewolucyjnych i środowiskowych podstaw rozwoju inteligencji kognitywnej. Jednym z przewidywanych skutków projektu jest dodanie nowego głosu do dyskusji na temat pochodzenia inteligencji kognitywnej zwierząt i kwestii rozróżnienia, czy zdolność ta jest cechą warunkowaną genetycznie, czy też może wykształcać się i być modyfikowana pod wpływem czynników zewnętrznych, w tym zmian w środowisku i charakterystyce siedlisk.

Koncepcja i plan badań

Obiektem badań będą osobniki wrony brodatej (*Corvus moneduloides*), gatunku należącego do rodziny krukowatych (*Corvidae*). Jest to endemit występujący na terenie Nowej Kaledonii i Wysp Lojalności, na Oceanie Spokojnym. U tego gatunku wielokrotnie potwierdzono wysoki poziom zdolności kognitywnych. Wrony brodate są zdolne do wytwarzania, używania i modyfikowania narzędzi, służących głównie zwiększaniu efektywności pozyskiwania pokarmu. Stwierdzono, iż mogą

one wytwarzać przynajmniej 4 typy narzędzi (Hunt 1996, 2002, 2004), a ponadto obserwowano u nich szereg innych zdolności jak rozwiązywanie zadań wymagających znacznych zdolności pamięciowych, czy kreatywne znajdowaniu sposobów na pozyskanie trudno dostępnego pokarmu.

W ramach planowanego projektu zakłada się przeprowadzenie odłowów czterech grup wron brodatych, przy czym podział na grupy jest oparty na wieku (poziomie doświadczenia) ptaków oraz rodzaju siedliska, tj.:

- a) Młode wrony ze środowiska niezurbanizowanego
- b) Dorosłe wrony ze środowiska niezurbanizowanego
- c) Młode wrony ze środowiska zurbanizowanego
- d) Dorosłe wrony ze środowiska niezurbanizowanego

Jako osobniki młode rozumiane są ptaki w młodym wieku, potrafiące już latać, których czas dotychczasowego samodzielnego życia jest krótki i przekłada się na niskie prawdopodobieństwo wykształcenia zdolności nabytych przez doświadczenie. Osobniki dorosłe to osobniki starsze, Każda z grup powinna docelowo liczyć 50 osobników, a całkowita wielkość odławianej grupy będzie wynosić 200 osobników. Jeśli możliwe będzie dokonanie większej liczby odłowów w przeznaczonym na ten cel etapie projektu, odłowów będą nadal wykonywane z nastawieniem na wyrównanie ewentualnych dysproporcji liczby osobników przyporządkowanych do poszczególnych grup. Młode i dorosłe ptaki ze środowiska zurbanizowanego będą pochodzić z jednej populacji, podobnie jak ptaki ze środowiska niezurbanizowanego. Dlatego też populacja „miejska” żyje na południu wyspy w terenie silnie zurbanizowanym, natomiast populacja dzika żyje na wyspie Maré, na której znajduje się jedynie kilka niewielkich osad ludzkich. Na odłowionych ptakach zostanie przeprowadzony zestaw trzech testów, badających: pamięć przestrzenną, zdolność do użycia narzędzi, zdolność do rozwiązywania prostych problemów. Na podstawie porównania wyników przeprowadzonych testów zostaną wyciągnięte wnioski na temat wpływu urbanizacji siedliska na zdolności kognitywne ptaków (porównanie populacji z terenów zurbanizowanych i niezurbanizowanych) oraz stopnia w jakim te zdolności są dziedziczone lub nabywane (porównanie populacji młodych i dorosłych).

Metodyka badań

Miejsce badań

W badaniach zostaną użyte osobniki z dwóch populacji występujących w siedliskach zurbanizowanym i niezurbanizowanym. Będą to kolejno: populacja występująca w mieście Numea, na Nowej Kaledonii oraz populacja z wyspy Maré (jedna z wysp w grupie Wysp Lojalności). Wybór miejsc badań jest podyktowany zasięgiem występowania gatunku, ale również koniecznością uwzględnienia odpowiednich siedlisk i populacji ptaków możliwie jak najbardziej różniących się pod względem wykorzystania siedlisk o danej charakterystyce. Wybór populacji odrębnych geograficznie był oparty na założeniu, iż dla potrzeb projektu optymalne byłoby wykluczenie możliwości wykorzystywania jednocześnie różnych siedlisk przez osobniki należące do jednej populacji. Numea jest największym miastem Nowej Kaledonii, a ciekawe zachowania wron brodatych świadczące o wysokim poziomie inteligencji kognitywnej były obserwowane wielokrotnie u osobników występujących w miejskiej populacji tych zwierząt. Wyspa Maré jest położona w odległości około 100km od Nowej Kaledonii, a na jej terenie występuje oddzielona geograficznie od nowokaledońskiej populacja wrony brodatej, bytująca w siedliskach o bardzo niskim stopniu zurbanizowania (gęstość zaludnienia ok. 12 osób/km²).

Odławianie, przetrzymywanie i znakowanie osobników

Ptaki będą systematycznie odławiane przy pomocy automatycznych pułapek sieciowych, reagujących na obecność osobnika w miejscu gdzie wcześniej zostanie wystawiona przynęta (StClaire i Rutz 2014). Miejsca, gdzie zastawione zostaną pułapki będą systematycznie kontrolowane przez

eksperymentatorów, a jednocześnie zastosowany zostanie system powiadamiania eksperymentatora o zwolnieniu spustu pułapki. Ma to na celu zminimalizowanie zagrożenia dla zdrowia i życia odławianych ptaków, przez skrócenie czasu ich narażenia na długotrwały stres związany z unieruchomieniem oraz na zwiększone ryzyko drapieżnictwa. Po odłowieniu ze stanu dzikiego osobniki będą przetrzymywane w zbudowanym wcześniej, przystosowanym do tego celu awiarium, nie dłużej niż przez czas 8 dni. Długość okresu przetrzymywania ptaków wynika z założeń testów behawioralnych, opisaney w dalszej części metodyki. Po wykonaniu testów behawioralnych osobniki będą wypuszczane w miejscach odłowu i znakowane za pomocą obrączek umieszczanych na skoku, celem uniknięcia ponownego wykorzystywania tych samych osobników w testach.

Metodyka eksperymentów behawioralnych

- **Test pamięci przestrzennej.**

Test będzie polegał na określaniu zdolności osobników do zapamiętywania układu przestrzennego pomieszczenia, poprzez pozwolenie im na ukrycie jedzenia i odnalezieniu go przy ponownym wpuszczeniu do pokoju, po określonym przez eksperymentatorów czasie. Układ eksperymentalny będzie wzorowany na układach użytych w badaniach przeprowadzanych z udziałem innych ptakówkrukowatych (Balda i Kamil 2006, Bednekoff i Balda 2013, Jacobs i in. 2014). Eksperyment będzie wykonywany w przygotowanym w tym celu pomieszczeniu doświadczalnym o wymiarach 3,4 m x 3,7 m x 2,6 m, w którym zamontowana zostanie podnoszona podłoga z 237 otworami (5,5 cm średnicy, odległość pomiędzy otworami 21 cm) w układzie 17 kolumn i 14 rzędów, które posłużą jako miejsca ukrywania pokarmu przez badane osobniki pomieszczeniu umieszczone zostaną punkty orientacyjne (kamienie, deski it.. elementy różnej wielkości), a w jego centralnej części zamontowany zostanie karmnik, w którym przed rozpoczęciem każdej sesji eksperymentalnej będzie wykładany pokarm (kawałki mięsa). Ptaki przed eksperymentem trzymane będą pojedynczo w zewnętrznych awiariach o wymiarach 15-30 m³ z dodatkowym ogrzewanym pomieszczeniem (oznaczone dalej jako P1) o wymiarach około 7 m³, w których będą mieć nieograniczony dostęp do wody i jedzenia. Pomieszczenie eksperymentalne (oznaczone jako P2) będzie miało bezpośrednie połączenie z wewnętrzną częścią awiarium.

Eksperyment będzie składał się z dwóch sesji, przeprowadzonych w odstępie 7 dni. 24 godziny przed każdą z sesji ptaki będą pozbawione dostępu do jedzenia (z utrzymaniem dostępu do wody), a następnie wezmą udział w sesji eksperymentalnej, przeprowadzanej według następującego schematu:

1. przeniesienie ptaka do wewnętrznej części awiarium
2. otwarcie przejścia z P1 do P2
3. zgaszenie światła P1, zapalenie światła w P2 (impuls do przelotu do pomieszczenia eksperymentalnego)
4. sesja eksperymentalna:
 - a. sesja I: ptak zabiera jedzenie i chowa je w skrytkach, sesja kończy się po wypełnieniu 10 skrytek, lub po 20 minutach; notowane są miejsca umieszczenia pokarmu przez konkretnego osobnika
 - b. sesja II: ptak szuka skrytek, w których wcześniej umieścił pokarm, notowana jest proporcja odnajdywania skrytek z jedzeniem w stosunku do wszystkich odwiedzonych skrytek. Sesja trwa 20 minut. Sesja jest poprzedzona umieszczeniem przez eksperymentatorów pokarmu w miejscach, gdzie dany osobnik wcześniej je ukrył (zabieg konieczny ze względu na użytkowanie pomieszczenia eksperymentalnego do badania wielu osobników)

- Test zdolności używania narzędzi

W tym teście zostanie zbadana możliwość stosowania przez osobniki narzędzi w celu zdobycia pokarmu. Eksperyment został zaprojektowany w oparciu o wykonane wcześniej badania nad wroną brodatą (Chapell i Kacelnik 2002). Badany osobnik zostanie wpuszczony do klatki, w której znajdować się będzie przytwierdzona do ścianki rurka z przezroczystego materiału, o średnicy 5 cm, na dnie której umieszczony zostanie pokarm. Będzie on widoczny dla osobnika, ale ze względu na średnicę i rozmiar rurki ptak nie będzie miał do niego dostępu. Aby dostać się do pokarmu, osobnik musi użyć odpowiedniej długości patyka. Różnych rozmiarów patyki, którymi może się w tym celu posłużyć będą znajdowały się w jego zasięgu wzroku. Postępy w wykonaniu zadania będą obserwowane przez eksperymentatora i notowana będzie proporcja wyborów właściwej długości patyka na wszystkie podjęte próby, która jest zakładaną miarą zdolności do sprawnego używania narzędzi do poradzenia sobie z problemem w pozyskaniu pokarmu.

- Test zdolności do wyciągania wniosków

Jako badanie zdolności do rozumowania opartego na wyciąganiu wniosków użyty zostanie standardowy test Krushynski'ego (Krushynski 1986). W tym teście zostanie zbadana umiejętność radzenia sobie ze stosunkowo prostym problemem.. Badany osobnik zostanie wpuszczony do klatki przedzielonej na pół przedziałką, za którą znajdować się będą dwie miski: z jedzeniem (po lewej) i pusta (po prawej), widziane dla ptaka przez szczelinę w przedziałce. Gdy ptak zainteresuje się jedzeniem, miski zostaną przesuwane, pełna w lewo, a pusta w prawo. Wartością mierzoną przez eksperymentatora będzie czas potrzebny osobnikowi na dotarcie do pokarmu, będący założoną w tym eksperymencie miarą zdolności do rozumowania opartego na wyciąganiu wniosków.

Analiza wyników

Za pomocą testów statystycznych zanalizowane zostaną różnice pomiędzy średnią dokładnością ptaków poszczególnych grup w wykonywaniu dwóch pierwszych zadań oraz między średnim czasem jakiego ptaki poszczególnych grup potrzebowały do wykonania trzeciego zadania.

Ramy czasowe projektu

Projekt zostanie rozpoczęty w styczniu 2015 roku i potrwa 3 lata (36 miesięcy). W pierwszym miesiącu trwania projektu zostaną wybudowane awiaryum do przetrzymywania odłowionych ptaków oraz pokój eksperymentalny konieczny do wykonywania testów behawioralnych. Po zakończeniu tego etapu przygotowane zostaną miejsca wabienia i odłowu ptaków. Odłowy będą prowadzone przez większość czasu trwania projektu: od zakończenia etapu przygotowawczego, aż do 33 miesiąca trwania projektu. Przez 3 ostatnie miesiące zebrane dane zostaną zanalizowane i podsumowane, po czym zostanie przygotowana publikacja naukowa stanowiąca opracowanie wyników projektu.

Literatura

Balda, R.P. (2007) Corvids in Combat: With a Weapon? *The Wilson Journal of Ornithology* 119, 100–102.

Balda, R.P., Kamil, A. & Brown, M.F. (2006) Linking Life Zones, Life History Traits, Ecology, and Spatial Cognition in Four Allopatric Southwestern Seed Caching Corvids *Animal Spatial Cognition*: and.

Bednekoff, P. a & Balda, R.P. (2014) Clark's nutcracker spatial memory: The importance of large, structural cues. *Behavioural processes* 102, 12–7.

Carrete, M. & Tella, J.L. (2011) Inter-individual variability in fear of humans and relative brain size of the species are related to contemporary urban invasion in birds. *PLoS ONE* 6.

- Chappell, J. & Kacelnik, A. (2004) Selection of tool diameter by New Caledonian crows *Corvus moneduloides*. *Animal cognition* 7, 121–7.
- Cheke, L.G., Bird, C.D. & Clayton, N.S. (2011) Tool-use and instrumental learning in the Eurasian jay (*Garrulus glandarius*). *Animal cognition* 14, 441–55.
- Croci, S., Butet, A. & Clergeau, P. (2008) Does Urbanization Filter Birds on the Basis of Their Biological Traits? *The Condor* 110, 223–240.
- Hunt, G.R. (1996) Manufacture and use of hook-tools by New Caledonian crows. *Nature* 379, 249–251.
- Hunt, G.R. & Gray, R.D. (2002) Species-wide manufacture of stick-type tools by New Caledonian Crows. *Emu* 102, 349–353.
- Jacobs, I.F., Osvath, M., Osvath, H., Mioduszewska, B., von Bayern, A.M.P. & Kacelnik, A. (2014) Object caching in corvids: Incidence and significance. *Behavioural processes* 102, 25–32.
- Lefebvre, L. (1995) The opening of milk bottles by birds : Evidence for accelerating of cultural transmission. 34, 43–53.
- Maple, T. (1974) Do crows use automobiles as nutcrackers? *West Birds*, 97–98.
- Marzluff, J.M. & Neatherlin, E. (2006) Corvid response to human settlements and campgrounds: Causes, consequences, and challenges for conservation. *Biological Conservation* 130, 301–314.
- Miranda, A.C., Schielzeth, H., Sonntag, T. & Partecke, J. (2013) Urbanization and its effects on personality traits: a result of microevolution or phenotypic plasticity? *Global change biology* 19, 2634–44.
- Nemeth, E. & Brumm, H. (2009) Blackbirds sing higher-pitched songs in cities: adaptation to habitat acoustics or side-effect of urbanization? *Animal Behaviour* 78, 637–641.
- Nihei H (1997) When and where did crows learn to use automobiles as nutcrackers. *Toiku Psychologia Folia*.
- Stafford, B.L., Balda, R.P. & Kamil, A.C. (2006) Does Seed-Caching Experience Affect Spatial Memory Performance by Pinyon Jays? *Ethology* 112, 1202–1208.
- Weir, A.A.S., Kenward, B., Chappell, J. & Kacelnik, A. (2004) Lateralization of tool use in New Caledonian crows (*Corvus moneduloides*). *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 271 Suppl , S344–S346.

Kosztorys

Lp.	Treść	Planowane koszty w roku			
		2015	2016	2017	... Razem
1	2	3	4	5	7
1	Koszty bezpośrednie	1083333zł	98333,3zł	98333,3zł	305 000zł
	w tym: 1) wynagrodzenia z pochodnymi 2) inne koszty realizacji projektu	108333,3zł	98333,3zł	98333,3zł	98333,3zł
2	Koszty pośrednie (30%kosztów innych niż aparatura)	29500zł	29500zł	29500zł	88500zł
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowanych na naukę (1+2)	137833,3zł	127833,3zł	127833,3zł	393499,9zł
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	0	0	0	0
5	Koszty ogółem (3+4)	137833,3zł	127833,3zł	127833,3zł	393499,9zł

Uzasadnienie kosztów projektu:

1. Koszty podróży wykonawców projektu:

2 osoby * 3 lata projektu * 2 przeloty w obie strony między Polską-Nową Kaledonią * 4500zł = 54 000 zł

2. Koszty pobytu wykonawców w miejscu badań:

2 osoby * 36 miesięcy * 1500zł = 108000zł

3. Koszty transportu w trakcie badań (wyjazdy na odłowy):

200 zakładanych odłowów * 50 zł (oszacowany koszt paliwa) = 10000zł

4. Koszty środków nietrwałych:

- a. Budowa awiarium i pomieszczenia eksperymentalnego:

10000zł

- b. Pokarm dla przetrzymywanych ptaków:

200 odłowionych ptaków * 40zł (oszacowany koszt żywienia i przynęty w testach) = 8000zł

- c. Drobne narzędzia, obrączki:

5000zł

d. Środki farmaceutyczne (apteczka dla odławianych ptaków)

2000zł

5. Wynagrodzenia wykonawców projektu:

2 osoby * 36 miesięcy * 1500zł = 108000

5.1.2. Recenzje

prof. dr hab. Adam Łomnicki

W tym projekcie pewne sprawy nie zostały przemyślane do końca.

1. Wiadomo, że wrony brodate są bardzo inteligentne i autorzy chcą sprawdzić hipotezę, czy to wynika z życia w mieście a nie na terenach wiejskich. W tym celu chcą badać populacje w mieście Numea w Nowej Kaledonii i na jednej z sąsiednich wysp o niewielkim zaludnieniu. To, że w Numea wrony brodate są bystre to już wiemy, zatem eksperyment ma tylko sprawdzić, czy na tej wyspie są głupsze, czy równie bystre. Wrony w zasadzie są mądre i ich sukces intelektualny w Numea polega na tym, że jest tam Uniwersytet i są tam ludzie skłonni badać inteligencje wron. Na tej wyspie tacy się nie znaleźli a ci z Uniwersytetu albo nie mieli na to pieniędzy, albo byli za leniwi i na wyspie badań nie zrobili. Dlatego autorzy chcą tę lukę wypełnić badając równocześnie wrony i w mieście i na wyspie. W ten sposób dowiedzą się jak różni się inteligencja wron między tą konkretną wyspą i jednym konkretnym - miastem Numea, ale nie dowiedzą się jak te różnice wyglądają między terenami zurbanizowanymi i wiejskimi, bo na to trzeba badać ptaki z kilku terenów zurbanizowanych i wiejskich. Tylko takie badania mogą przynieść ważne wyniki, bo różnice które chcą wykryć mogą być głównie interesujące tylko dla mieszkańców Nowej Kaledonii.
2. W tym projekcie brakuje mi przekonującego wyjaśnienia dlaczego takich badań nie można przeprowadzić w Polsce. Fakt, że w Nowej Kaledonii znaleźli się badacze którzy stwierdzili, że wrony brodate mają wysoki poziom inteligencji kognitywnej, nie wyklucza, że w Polsce wrony siwe, gawrony lub kawki są równie bystre. Czy autorzy mają jakieś wyniki badań, że ptaków krukowatych w Europie nie ma sensu badać, bo to wszystko głupole. Moje doświadczenia przeczą temu.
3. Rzeczą bardzo trudną może być ustalenie, które testy na inteligencje kognitywną powinny być tak zaprojektowane aby nie faworyzować ptaków z konkretnego siedliska. Dziury w podłodze to których można schować pokarm lub rurka przezroczysta (na przykład porzucona na śmietniku butelka) w której kryje się coś do zjedzenia to są problemy miejskie. W lesie i na łące chowanie pokarmu przed konkurentami może wymagać nieco innych umiejętności a inteligencja kognitywna może polegać na oszukaniu drapieżnika, innego ptaka którego piskłeta chcemy zjeść lub jego miejsce do gniazdowania zająć. W ten sposób jaki autorzy proponują badana inteligencja jako adaptacja do życia w mieście a nie ogólna inteligencja kognitywna. A ponieważ ludzie żyją bardziej w mieście niż w lesie i obserwują ptaki w mieście, to nie wiem czy jesteśmy zdolni do zaprojektowania testów nie faworyzujących inteligencji potrzebnej w miastach.
4. Ale powiedzmy, że z problemami tu przedstawionymi poradzimy sobie. Pozostaje pytanie, po co takie badania robić? Co z nich może wynikać dla pomysłowości rodzaju ludzkiego, dla ochrony środowiska i dla postępu w nauce. Czy jest jakaś wielka teoria ewolucyjna, biologiczna i psychologiczna, która może być przyjęta lub obalona w wyniku tych badań?

Mało ambitny jest ten projekt, ale to powszechne zjawisko w Polsce, nie stawia się przed młodymi ludźmi ambitnych celów i nie skłania ich, aby takie ambitne zadania podejmowali. Dlatego młodzi ludzie uważają, że nauka to taka dziedzina gdzie każdy coś tam sobie dłubie i nie wychyla się. Chyba, że tym projekcie chodzi tylko o to, aby polecieć do Nowej Kaledonii. Ale na to jest prostszy sposób, nie trzeba zostawać uczonym, a wystarczy być pilotem wycieczek turystycznych i jeśli się jest bardzo sprawnym w tym zawodzie, to i do Nowej Kaledonii można polecieć.

5. Niektóre moje uwagi zostały umieszczone w komentarzach przy maszynopisie projektu

mgr Agnieszka Gozdek

Projekt dotyczy ważnego zagadnienia biologii jakim jest inteligencja kognitywna zwierząt. Autorzy zamierzają sprawdzić hipotezę, że wrony brodate zamieszkujące tereny zurbanizowane posiadają większą inteligencję kognitywną, oraz że jest ona wrodzona.

Streszczenie projektu napisane jest poprawnie, a po jego przeczytaniu recenzent wie dlaczego autorzy zajęli się problemem, jakie hipotezy postawili oraz przy pomocy jakich narzędzi chcą je testować. W rozdziale dotyczącym znaczenia projektu, poprzez odpowiednie cytacje, Autorzy potwierdzają, że wynikami swoich badań wpłyną na obecny stan wiedzy nt. inteligencji kognitywnej zwierząt. Wnioski pochodzące z dotychczasowych badań nie są jednoznaczne.

Badania będą prowadzone na endemicznym gatunku wrony. Czy odłowienie stu młodych osobników i stu osobników starszych nie wpłynie na kondycję całej populacji? Jeżeli nie będzie takich przeciwności, a populacje tego gatunku ptaków są wystarczająco liczne to Autorzy powinni zastanowić się nad wychowaniem w izolacji młodych osobników z jaj pochodzących z terenów zurbanizowanych oraz środowiska niezurbanizowanego. Taki zabieg pozwoli na całkowite wykluczenie możliwości nabywania zdolności kognitywnych np. przez obserwację rodziców. W punkcie "d" dotyczącym podziału zwierząt na grupy eksperymentalne popełniono błąd. Podążając za wcześniejszymi przesłankami dorosłe wrony powinny pochodzić ze środowiska zurbanizowanego.

Test pamięci przestrzennej oraz test zdolności używania narzędzi opisane są stosunkowo niejasno. W teście pamięci przestrzennej, sesji II należy wziąć pod uwagę, że nie zawsze będzie ona trwała 20 minut. Co jeśli ptak odnajdzie wszystkie skrytki już po 10 minutach? Bardzo ważnym elementem podczas wszystkich testów jest zebranie informacji o czasie wykonania danej czynności. W teście dot. zdolności używania narzędzi eksperymentator będzie notował tylko postępy w wykonaniu zadania? Ważny jest nie tylko wybór odpowiedniej długości patyka ale również końcowy sukces (zdobycie pożywienia). Testu zdolności do wyciągania wniosków nie rozumiem. Analiza wyników opisana jest mało precyzyjnie. Co Autorzy rozumieją pod porównaniem średniej dokładności? Kosztorys sporządzony jest poprawnie, a wysokie koszty realizacji projektu uzasadnia miejsce badań.

Proponowaną problematykę badawczą uważam za interesującą. Po naniesieniu poprawek sugerowanych przeze mnie i innych recenzentów oraz dopracowaniu testów projekt powinien uzyskać finanse na realizację.

dr Marta Szulkin

1. Ocena merytoryczna projektu

Projekt naukowy badań określam jako wysoki. Nie spotkałam się jeszcze z badaniami związanymi z inteligencją kognitywną w kontekście wpływów urbanizacji, i eksperymenty zaproponowane przez autorów mogą w znaczący sposób wpłynąć na rozwój tej dyscypliny naukowej.

Co prawda mam pewne zastrzeżenia, nie widzę jednak przeszkód, aby przy niewielkich zmianach w budżecie w znaczący sposób usprawnić badania:

1. Autorzy zakładają, że środowiska miejskie wpłyną korzystnie na inteligencje kognitywną ptaków – nie do końca przekonuje mnie to przypuszczenie (można sobie wyobrazić, że np. stres związany z hałasem ogranicza rozwój umiejętności kognitywnych), a jeżeli zostało ono już wcześniej ustalone, ważne jest przywołanie odpowiedniej literatury. Tak czy siak, hipoteza badawcza w tym kontekście powinna być moim zdaniem symetryczna, nie zaś jednokierunkowa (zakładająca, że siedliska miejskie zwiększy inteligencję kognitywną ptaków).
2. Autorzy wspominają o chęci odpowiedzi na pytanie, czy inteligencja kognitywna jest cecha nabytą czy też przekazywaną genetycznie, ale nie wydaje mi się, aby eksperymenty odpowiadały na to pytanie (skupiają się przede wszystkim na porównaniu siedlisk). Autorzy przedstawiają więc tezę badawczą bez pokrycia eksperymentalnego (aby odpowiedzieć na to pytanie, potrzebne by były rodowody lub cross-fostery aby oszacować wariację cechy, którą można przyporządkować pokrewieństwu (czyli bazie genetycznej)).
3. Brak replikacji populacji (patrz punkt 5 recenzji)
4. Pytanie techniczne: czy planowana jest budowa jednego, czy dwóch awiariów? Jeżeli odławiane są ptaki z 2 populacji oddalonych od siebie stoma kilometrami i morzem, widzę poważne kłopoty logistyczne związane z pobieraniem złapanych ptaków i przetrzucaniem je bezstresowo do awiariów.
5. Czas trzymania ptaków w awiariu: dlaczego autorzy zdecydowali się na 8 dni? Czy w takim przypadku nie warto przytrzymać ptaka na 48 godzin (zamiast 24), zanim przeprowadzi się pierwszą rundę testów?
Dodatkowo obliczyłam, że projekt przeznaczają 30 miesięcy na 200 osobników – czyli c. 6.6 osobników testowanych w miesiącu. To dużo czasu poświęconego na zebranie nie tak wielkiej próby. Czy nie dałoby rady zbudować awiariu, które jest w stanie przetrzymać kilka osobników równocześnie – pozwoliłoby to zwielokrotnić próbę niewiele większym wysiłkiem.
6. Dodatkowo, autorzy nie wspominają o zbieraniu dodatkowych, dokładnych danych środowiskowych w czasie, gdy przeprowadzane są próby odławiania (idealnie w paru populacji miejskich, i paru lokalizacjach o niskim indeksie urbanizacji) – tego typu informacje mogłyby być bardzo pomocne przy interpretacji wyników.

2. Ocena kosztorysu

Kosztorys jest rozsądny, są jednak 2 punkty do rozpatrzenia: Trzeba uwzględnić w budżecie koszty podróży na zjazdy / konferencje naukowe. Dodatkowo, trzeba pamiętać o tym, że jeżeli wynagrodzenie wykonawców projektu jest około 1500 zł (zakładam, że „na rękę”), to kwotę tą trzeba podwoić, aby uwzględnić koszty zatrudnienia, płacenie składek ZUS itp.

3. Ocena możliwości wykonania

Wysoka. Sugeruję jednak rozpocząć analizę wyników tak wcześnie, jak będzie to możliwe (nie czekając na zakończenie zbierania danych), i postarać się o wypuszczenie wstępnych prac (np. opisujących metodologię projektu) w trakcie trwania projektu.

4. Mocne strony wniosku

Jest to dobrze napisany projekt, doceniam przejrzystą strukturę wniosku i solidny opis tematyki badawczej. Osadzenie eksperymentów z zakresu inteligencji kognitywnej w kontekście urbanizacji siedliska uważam za bardzo ciekawy.

5. Słabe strony wniosku

„Experimental design” można by usprawnić – przy niewiele większym wysiłku można by znacznie powiększyć próbę. Poza tym, potrzebne są replikacje środowiska zarówno miejskiego jak i nisko zurbanizowanego – inaczej zaobserwowane różnice pomiędzy próbami nie sposób przyporządkować *stricte* urbanizacji (może działać np. efekt wyspiarski, wpływ innej zmiennej ekologicznej itp) – można pokusić się o problem związany z pseudoreplikacją gdyż mamy jedną populację zurbanizowaną i jedną niezurbanizowaną.

Drobniejsze uwagi wspomniane są też w pozostałych punktach recenzji.

mgr Andrzej Antoń

Przedstawiony przez panów Beniamina Waclawika i Wojciecha Tokarza projekt badań zdolności kognitywnych wrony brodatej jest projektem wartym uwagi i wykonania. Dotyka interesującego problemu jakim jest posiadanie zdolności kognitywnych przez zwierzęta (nie muszę wspominać, że człowiek chętnie widziałby siebie jako najmądrzejszy twór ewolucji). Oprócz tego problemu, autorzy zwracają uwagę na wpływ człowieka na ewolucję tych zachowań. Wszyscy znamy przykłady wron używających samochodów do rozłupywania orzechów. Zwierzęta zasiedlają miasta i świetnie sobie radzą w tych zupełnie dla nich nowych (z ewolucyjnego punktu widzenia) siedliskach.

Autorzy proponują jasny i klarowny eksperyment mający na celu po pierwsze stwierdzenie, czy ptaki miejskie są bardziej inteligentne, a po drugie proponują sposób weryfikacji hipotezy, czy ewentualne wyższe zdolności kognitywne u ptaków miejskich są wrodzone (czyli można, by się spodziewać efektu działania doboru naturalnego faworyzującego bardziej inteligentne ptaki), czy też są nabywane z doświadczeniem. Proponują trzy eksperymenty badające różne aspekty zdolności kognitywnych ptaków. Nie mam zastrzeżeń metodycznych do zaproponowanych sposobów przetestowania postawionych hipotez.

Przedstawiony kosztorys wydaje się być rozsądny (nie licząc oczywiście błędów edytorskich, do których wróczę).

Projekt wydaje się być możliwy do zrealizowania, z tym, że (jak to bywa w badaniach terenowych) może być problem z uzyskaniem pożądanej wielkości próby.

Jak wspomniałem mocną stroną projektu jest postawienie jasnych i klarownych hipotez oraz sposobu ich weryfikacji. Autorzy powołują się na szereg pozycji literaturowych, co sugeruje ich dobre merytoryczne przygotowanie.

Słabą stroną projektu jest to, że autorzy nie zaproponowali żadnej metody statystycznej, która miałaby posłużyć do analizy uzyskanych wyników (powinni to wiedzieć już na etapie planowania). Innym rozdziałem są błędy edytorskie i ogólna niechlujność projektu. Stwarza to wrażenie, że

autorzy pisali projekt na "kolanie". Pozwolę sobie wypisać zauważone przeze mnie błędy. W celu naukowym projektu brak cytacji (błąd nieedytorski), co jest o tyle dziwne, że bibliografia zawiera 18 pozycji i podejrzewam, że w którejś z nich znalazłoby się potwierdzenie stwierdzeń przytaczanych przez autorów. Wiersz 70 – użyto zły przypadek, wiersz 73 – brak cytowanej pozycji w bibliografii, wiersz 76 – w publikacji Nihei nie zgadza się rok w cytacji z rokiem podanym w spisie literatury, wiersz 113 – użyto złej odmiany, wiersz 131 – "Dlatego też populacja „miejska” żyje na południu wyspy w terenie silnie zurbanizowanym" – sugeruje, że populacja miejska żyje w mieście na południu wyspy, bo będzie wybierana do badań, a nie na odwrót, słowo pochodzi zamiast żyje było tutaj lepsze, wiersz 190 – brak litery w, wiersz 223 – brak spacji, wiersze 235 i 141 – podwójna kropka, wiersz 138 – w języku polskim nie istnieje słowo przesuwanięte, wiersz 251 – brak dwukropka. W nazwiskach Marzluff, Chappell i Carrete są, inaczej zapisane w bibliografii, a inaczej w cytacjach. Dwie publikacje: Hunt i Gray (2002) i Weir i in. (2004) nie są cytowane (lub są z takim błędem, że nawet wpisanie początku nazwiska w funkcji wyszukaj nie daje rezultatu). W publikacji Stafforda i in. rok podany w bibliografii nie zgadza się z rokiem podanym w cytacji. W kosztorysie brakuje przecinka, co sugeruje, że autorzy chcą wydać w 2015 roku 1083333zł.

Projekt ogólnie jest dobry i wart realizacji, ale sugeruję autorom przemyślenie go na spokojnie i na przyszłość unikanie pisania czegokolwiek "za pięć dwunasta".

mgr Justyna Kierat

Ocena merytoryczna projektu

Planowane badania wniosą wkład w stan wiedzy na temat zdolności kognitywnych u zwierząt, ale również w zrozumienie wpływu urbanizacji na dzikie zwierzęta. Zaletą projektu jest próba odpowiedzi na pytanie, czy wpływ środowiska miejskiego na zdolności kognitywne – o ile zostanie wykazany – jest jedynie na poziomie fenotypowym, czy też ma podłoże genetyczne. Planowany projekt badawczy ma szansę otworzyć drogę do kolejnych badań nad wpływem środowiska miejskiego na zdolności kognitywne zwierząt.

Ocena kosztorysu

Biorąc pod uwagę, że badania zostaną przeprowadzone na Nowej Kaledonii, koszty wydają się uzasadnione.

Ocena możliwości wykonania

Na podstawie opisu metodyki, oceniam projekt jako możliwy do zrealizowania. Można się obawiać, czy uda się odłowić odpowiednią liczbę ptaków (brak informacji o tym, jak liczny jest to gatunek), oraz czy nie ma znaczącej dysproporcji między liczbą ptaków starych i młodych, co mogłoby powodować trudności z uzyskaniem porównywalnych wielkości grup eksperymentalnych.

Mocne strony wniosku

Wniosek jasno napisany. Zaletą jest wyczerpujący przegląd obecnego stanu wiedzy zawarty w części dotyczącej znaczenia projektu. Projekt jest dobrym uzupełnieniem istniejących badań i wypełni istniejącą lukę w dotychczasowej wiedzy.

Słabe strony wniosku

Generalnie wniosek bardzo mi się podoba. Poza literówkami i podobnymi drobnymi błędami redakcyjnymi mam następujące uwagi dotyczące metodyki:

w. 208 – czas zakończenia sesji I: czy kończymy po 20 minutach jeśli ptak nie wypełni 10 skrytek, a jeśli wypełni to wcześniej, czy odwrotnie – czekamy przynajmniej 20 minut, chyba że ptak nie zdąży wypełnić wszystkich skrytek? Jeśli to pierwsze, to czy to nie za krótki czas, szczególnie że ptaki będą głodzone i prawdopodobnie najpierw będą chciały się najeść, a dopiero potem ukrywać jedzenie? Poza tym będzie to dla nich nowe pomieszczenie, więc prawdopodobnie najpierw będą się po prostu w nim rozglądać.

Nie zostało również opisane, w jakim wieku będą ptaki młode. Czy będą to osobniki w pierwszym kalendarzowym roku życia, z jaką dokładnością i w jaki sposób będzie określany ich wiek. Zakładam, że da się odróżnić ptaki w pierwszym roku życia od ptaków w drugim i kolejnych latach. Jeśli odłowy będą przeprowadzane w trybie ciągłym, to młode osobniki będą się różnić wiekiem w miarę upływu czasu.

mgr Aleksandra Piontek

Celem projektu jest zbadanie wpływu środowiska na rozwój inteligencji kognitywnej u ptaków na przykładzie wrony brodatej. Projekt dotyczy bardzo ciekawego zagadnienia, które nie zostało jeszcze dobrze poznane i może dostarczyć ważnych danych na temat wpływu urbanizacji na inteligencję u dzikich zwierząt w mieście. Autorzy jasno określili cel swojego projektu i dostosowali do niego planowane eksperymenty.

Wybranie wrony brodatej do eksperymentu, jest uzasadnione we wniosku (wysoka inteligencja, wcześniejsze wykonywanie testów na tym gatunku, odseparowanie populacji dzikich i miejskich), choć brakuje mi precyzyjnego wyjaśnienia, dlaczego odrzucona została możliwość badania rodzimych ptaków z rodziny krukowatych. Nie znam się na tym gatunku, ale zakładam, że istnieje skuteczna metoda określenia wieku złapanych ptaków (np. po upierzeniu). Warto byłoby o niej wspomnieć. Odłowienie tak dużej liczby ptaków z populacji może dostarczyć trudności, choć sam gatunek, pomimo bycia endemitem, jest opisywany jako pospolity w zasięgu swojego występowania.

Nie jestem przekonana, czy wyłącznie miara proporcji sukcesów do wszystkich prób podjętych przez osobnika w trakcie rozwiązywania problemu jest wystarczająca. Przy obliczaniu proporcji sukcesów do wszystkich podjętych prób, wynik dla osobnika, który podjął jedną nieudaną próbę i „podał się” i osobnika, który podejmował wiele różnych prób niezakończonych powodzeniem będzie taki sam. Tymczasem wydaje mi się, że różnica w intensywności podejmowanych przez ptaka prób może też w pewnym stopniu świadczyć o jego inteligencji i warto tę różnicę wziąć pod uwagę przy wyciąganiu wniosków z eksperymentu. Dodatkowe odnotowywanie, na przykład, czasu od początku eksperymentu do podjęcia pierwszej próby rozwiązania problemu też mogłoby dostarczyć dodatkowych danych. Poza tym, przy przeprowadzaniu eksperymentu tak wymagającego pod względem logistyki warto użyć różnych miar zachowania, gdyż, w razie gdyby zaproponowana metoda mierzenia inteligencji ptaków okazała się zawodna, szanse powtórzenia eksperymentu w przyszłości są niewielkie.

Czy w czasie eksperymentu ptaki będą w stanie dostrzec obserwatora, czy będzie on dla nich niewidoczny? Istnieje możliwość, że dla ptaków z „dzikiej” populacji widok człowieka będzie traktowany jako duże zagrożenie i osobniki te nie będą zainteresowane rozwiązywaniem problemów

w stresującej dla nich sytuacji. Wtedy wykazana potencjalnie w wynikach wyższa inteligencja ptaków miejskich mogłaby być związana z ich mniejszą bojaźliwością.

Brakuje informacji jakie testy statystyczne będą użyte do analizy wyników. Czym jest „dokładność” (w 244) ptaków w wykonywaniu zadania? Domyślam się, że chodzi w tym wypadku wyłącznie o proporcję sukcesów do wszystkich podejmowanych prób, tak jak było to podane w opisach eksperymentów, ale warto byłoby to doprecyzować w kontekście planowanych testów. Duża liczba cytacji świadczy o zgłębieniu się autorów projektu w tematykę związaną z problemem badawczym. Kosztorys wydaje się przemyślany i nie zawyżony, choć nie jestem zorientowana w różnicach cenowych między Nową Kaledonią a Polską :)

Z drobnych uwag: brakuje cytacji w spisie literatury (praca z w 165), oraz występują drobne błędy stylistyczne i językowe (np. w 131, w 238).

Ogólnie oceniam projekt jako ciekawy i dobrze rozplanowany, choć mogący napotkać trudności na początkowych etapach realizacji (odłów ptaków). Uważam, że wyniki mogą znacząco przyczynić się do poszerzenia stanu wiedzy na temat zależności inteligencji u zwierząt od warunków środowiska i zainspirować do podobnych badań na innych grupach systematycznych.

mgr Mateusz Sobczyk

Ocena merytoryczna projektu

Uważam, że proponowany projekt porusza ciekawy problem ewolucyjny który jednocześnie wiąże się z obecną sytuacją cywilizacyjną. Rozwój „supermiast” spowodowany stale zwiększającym się zaludnieniem, odbywa się kosztem terenów „dzikich” gdzie zamieszkujące je zwierzęta muszą dostosować się do zmieniających się warunków środowiskowych. Zwierzęta, które najszybciej i najlepiej zaadaptują się do nowego środowiska zwiększą swoje dostosowanie. Z biologicznego punktu widzenia ważna jest również odpowiedź na pytanie czy inteligencja kognitywna pomagająca ptakom krukowatym egzystować w miastach jest dziedziczona przez potomstwo czy też jest nabywana wraz z wiekiem i doświadczeniem osobnika.

W celu projektu autorzy wspominają, że proponowane przez nich badania pozwolą uzyskać odpowiedź na pytanie : ”Czy rodzaj siedliska może wpływać na wykształcanie się większych zdolności kognitywnych, mierzonych zdolnością uczenia się i efektywnością rozwiązywania złożonych zadań”. Jednak w późniejszym opisie metodyki badawczej nie znajduje ani jednego doświadczenia które sprawdzałoby zdolności uczenia się osobników wrony brodatej.

Ocena kosztorysu

Ciężko ocenić kosztorys ponieważ pełen jest błędów matematycznych, i niestety nie udało mi się wyłapać ostatecznej, całkowitej kwoty projektu. Mimo to uważam, że poszczególne koszty projektu zostały poprawnie uzasadnione po za przelotem którego cena wydaje mi się zaniżona. Dziwi mnie brak uwzględnienia kosztów konferencji w projekcie planowanym na trzy lata.

Ocena możliwości wykonania

Wszystkie zaproponowane badania były wcześniej wykonywane przez innych badaczy, a część z nich jest standardowymi procedurami dlatego uważam, że nie ma podstaw do wątpienia w

możliwość ich wykonania. Obawiam się jednak, że 2 osoby do zrealizowania wszystkich zaprojektowanych eksperymentów i odłowów to za mało.

Mam nadzieję że wykonawcy projektu mają wyrozumiałe rodziny, które zaakceptują jednorazowe odwiedziny w ciągu roku w przeciągu trzech kolejnych lat.

Biorąc pod uwagę zbyt małą w moim odczuciu liczbę osób zaangażowanych w realizację zadań badawczych, poprawne wykonanie projektu w zaprezentowanej formie wydaje mi się mało prawdopodobne.

Mocne strony wniosku

- Ciekawa tematyka badawcza, dobrze wpisująca się w obecna problematykę badań biologicznych
- Jasno opisana metodyka planowanych badań behawioralnych

Słabe strony wniosku

- Logistyka - zbyt mało osób zaangażowanych w projekt, aby mógł być zrealizowany tak jak zaplanowali badacze.
- Brak jednoznacznej informacji o tym jak będą interpretowane wyniki z eksperymentów porównujące czy inteligencja kognitywna jest wrodzona czy nabyta.

Wpływ urbanizacji siedliska na inteligencję kognitywną ptaków krukowatych na przykładzie wrony siwej (*Corvus cornix*)

5.1.3. Ostateczna wersja projektu

Streszczenie projektu

Inteligencja kognitywna zwierząt jest jednym z najbardziej złożonych i frapujących zagadnień biologicznych. Mimo wielu lat badań, stopień jej rozwoju w poszczególnych grupach taksonomicznych, jak i czynniki które na nią wpływają, jest wciąż tematem niedostatecznie zgłębnym. Celem przedstawionego projektu jest poznanie wpływu urbanizacji siedliska na rozwój inteligencji kognitywnej i związanych z nią umiejętności u krukowatych, na przykładzie wrony siwej (*Corvus cornix*), gatunku który jest znany z wysokiego poziomu zdolności kognitywnych. Postawione hipotezy badawcze dotyczą: przewidywanej większej inteligencji kognitywnej u ptaków z obszarów zurbanizowanych, oraz wrodzonego pochodzenia tej inteligencji. W tym celu zostaną zbadane cztery grupy ptaków tego gatunku : młode i dorosłe z terenów zurbanizowanych oraz młode i dorosłe z terenów niezurbanizowanych. Zostaną wykonane trzy testy badające kolejno: pamięć przestrzenną, zdolność do używania narzędzi i umiejętność rozumowania. Na podstawie różnic wyników poszczególnych grup zostaną wyciągnięte wnioski na temat różnic w inteligencji kognitywnej pomiędzy ptakami siedlisk zurbanizowanych i niezurbanizowanych oraz na temat tego w jakim stopniu jest ona u tych ptaków wrodzona, a w jakim nabyta.

Cel naukowy projektu

Inteligencja kognitywna jest zdolnością występującą u wielu gatunków zwierząt kręgowych, a jedną z grup systematycznych, u której jest to cecha w znacznym stopniu rozwinięta są ptaki krukowate

(Corvidae). Określa ona możliwości osobników do tzw. myślenia skutecznego, nastawionego na wykorzystywanie wiedzy i informacji w celu rozwiązywania problemów. W przypadku ptaków inteligencja kognitywna przejawia się w szczególnie widoczny sposób w postaci złożonych zachowań związanych z żerowaniem, takich jak wydobywanie pokarmu za pomocą wykonanych wcześniej prostych narzędzi czy zapamiętywaniu miejsc ukrycia zgromadzonych zapasów. Istnieje wiele hipotez dotyczących genezy tej cechy jednak wciąż niewiele wiadomo na temat czynników, które mogłyby promować jej wykształcanie. Brak również informacji, czy zmieniające się środowisko, w tym również postępująca urbanizacja siedlisk może mieć wpływ na wykształcanie się inteligencji kognitywnej u zwierząt. Problemem podejmowanym przez autorów projektu jest pytanie czy rodzaj siedliska może wpływać na wykształcanie się większych zdolności kognitywnych, mierzonych zdolnością uczenia się i efektywnością rozwiązywania złożonych zadań.

Hipotezy badawcze:

- 3) Wrony występujące w siedliskach miejskich wykazują większą inteligencję kognitywną niż wrony z populacji dzikich.
- 4) Zdolności kognitywne (wyrażane poprzez radzenie sobie ze skomplikowanymi problemami wynikającymi ze złożoności siedliska) wynikają z wrodzonych predyspozycji, a nie są nabywane na drodze doświadczenia w trakcie rozwoju osobniczego.

Znaczenie projektu

Postępująca urbanizacja prowadzi nie tylko do zmian w bioróżnorodności, ale również w wybieraniu strategii życiowych i behawiorze wielu gatunków zwierząt, w tym ptaków (Miranda *et al.* 2013; Nemeth & Brumm 2009). Wiąże się to w dużej mierze z promowaniem przez dobór naturalny pewnych cech, zachowań i sposobów działania na terenach miejskich (Carrete & Tella 2011; Croci *et al.* 2008), jak również z uczeniem się różnych zachowań w konfrontacji z człowiekiem i jego wytworami (Marzluff & Clucas 2012). U populacji ptaków żyjących w miastach od dziesięcioleci obserwowane są zachowania świadczące o wysokich zdolnościach kognitywnych (Lefebvre 1995; Maple 1974; Nihei H 1997). Większość z nich związana jest z umiejętnością rozwiązywania problemów, które osobniki mogą napotkać jedynie w siedliskach zurbanizowanych. Wiele ze wspomnianych doniesień dotyczy ptaków krukowatych, przy czym u tej grupy gatunków stwierdzono również tendencję do osiągania większego sukcesu rozrodczego w pobliżu ludzkich siedlisk (Marzluff & Neatherlin 2006)). Z drugiej strony, krukowate należą do najbardziej inteligentnych ptaków, a dotyczy to takich zdolności bezpośrednio opartych na inteligencji kognitywnej, takich jak: pamięć przestrzenna (Bednekoff & Balda 2014; Jacobs *et al.* 2014), umiejętność używania różnych narzędzi (Cheke *et al.* 2011) oraz zdolność do ich modyfikacji (Balda *et al.* 2006; Chappell & Kacelnik 2004), a nawet używania wytworzonych narzędzi jako broni w walce z innymi osobnikami (Balda 2007). Dlatego też ta grupa ptaków wydaje się być właściwym modelem do zbadania wpływu urbanizacji na możliwe zmiany w poziomie inteligencji kognitywnej. Ważnym aspektem naszego projektu jest poruszenie kwestii pochodzenia tychże zdolności, a dokładniej próba odpowiedzi na pytanie, czy są one nabyte czy też przekazywane genetycznie. Dotychczasowe badania na ptakach sugerują udział obu tych czynników w powstawaniu umysłowych zdolności (Clayton 1996) choć niektóre sugerują brak udziału doświadczenia w powstawaniu niektórych z nich (Stafford *et al.* 2006).

Wpływ urbanizacji na rozwój inteligencji kognitywnej zwierząt jest zbadany jedynie w niewielkim stopniu. Poznanie różnic w pamięci, umiejętności rozwiązywania problemów czy uczenia się wykształconych pod wpływem życia w siedliskach miejskich, pozwoli na lepsze zrozumienie sposobu adaptacji zwierząt do środowiska zmieniającego się pod wpływem działalności człowieka. Wyniki badań, planowanych w ramach opisywanego projektu, wniosą nową wiedzę na temat ewolucyjnych i środowiskowych podstaw rozwoju inteligencji kognitywnej. Jednym z

przewidywanych skutków projektu jest dodanie nowego głosu do dyskusji na temat pochodzenia inteligencji kognitywnej zwierząt i kwestii rozróżnienia, czy zdolność ta jest cechą warunkowaną genetycznie, czy też może wykształcać się i być modyfikowana pod wpływem czynników zewnętrznych, w tym zmian w środowisku i charakterystyce siedlisk.

Koncepcja i plan badań

Obiektem badań będą osobniki wrony siwej (*Corvus cornix*), gatunku należącego do rodziny krukowatych (Corvidae). Jest to gatunek o wysokiej liczebności populacji, powszechnie występujący na terenie Europy Środkowej i Wschodniej, od Półwyspu Apenińskiego i rzeki Łaby na zachodzie, po Ural na wschodzie. U tego gatunku wielokrotnie potwierdzono wysoki poziom zdolności kognitywnych.

W ramach planowanego projektu zakłada się przeprowadzenie odłowów czterech grup wron siwych, przy czym podział na grupy jest oparty na wieku (poziomie doświadczenia) ptaków oraz rodzaju siedliska, tj.:

- a. Młode wrony ze środowiska niezurbanizowanego
- b. Dorosłe wrony ze środowiska niezurbanizowanego
- c. Młode wrony ze środowiska zurbanizowanego
- d. Dorosłe wrony ze środowiska zurbanizowanego

Jako osobniki młode rozumiane są ptaki potrafiące już latać, ale niedoświadczone, tzn. takie, których czas dotychczasowego samodzielnego życia jest krótki, a co się z tym wiąże nie miały one wystarczająco dużo czasu, żeby wyuczyć się złożonych zachowań w czasie rozwoju osobniczego. Osobniki dorosłe to ptaki starsze, które przez kilka sezonów żyją samodzielnie w danym siedlisku. Odłowy będą prowadzone w dwóch typach siedlisk (zurbanizowane i niezurbanizowane), w pięciu powtórzeniach (łącznie 5 miast i 5 terenów o niskim zaludnieniu), a w obrębie każdego siedliska odłowionych zostanie 10 ptaków (5 dorosłych i 5 młodych). Łączna liczba odłowionych ptaków powinna więc wynosić 100 osobników: 50 z terenów zurbanizowanych i 50 z terenów niezurbanizowanych, a w obrębie tych grup proporcja osobników starych do młodych powinna wynosić 50:50. Jeśli możliwe będzie dokonanie większej liczby odłowów w przeznaczonym na ten cel etapie projektu, odłowy będą nadal wykonywane z nastawieniem na wyrównanie ewentualnych dysproporcji liczby osobników przyporządkowanych do poszczególnych grup. Młode i dorosłe ptaki ze środowiska zurbanizowanego będą pochodzić z jednej populacji, podobnie jak ptaki ze środowiska niezurbanizowanego. Na odłowionych ptakach zostanie przeprowadzony zestaw trzech testów behawioralnych, badających: zdolność zapamiętywania, zdolność do użycia narzędzi, zdolność do rozwiązywania prostych problemów. Na podstawie porównania wyników przeprowadzonych testów zostaną wyciągnięte wnioski na temat wpływu urbanizacji siedliska na zdolności kognitywne ptaków (porównanie populacji z terenów zurbanizowanych i niezurbanizowanych) oraz stopnia w jakim te zdolności są dziedziczne lub nabywane (porównanie populacji młodych i dorosłych).

Metodyka badań

Miejsce badań

W badaniach zostaną użyte osobniki z 10 populacji występujących w siedliskach zurbanizowanych i niezurbanizowanych. Siedliska, które wybrano jako miejsca odłowów to:

- Tereny zurbanizowane
5 miast: Kraków, Lwów, Kijów, Bukareszt, Bratysława,
- Tereny niezurbanizowane
5 obszarów wyznaczonych na terenach o niskim zaludnieniu na terenie Karpat, tj. Beskid Niski (Polska), zachodni Kraj Koszycki (Słowacja), Okręg Alba (Rumunia), Okręg Mures (Rumunia), Obwód Zakarpacki (Ukraina),

Wybór miejsc badań jest podyktowany i) zasięgiem występowania badanego gatunku, ii) charakterystyką siedlisk, iii) koniecznością uwzględnienia populacji ptaków możliwie jak najbardziej osiadłych w siedliskach zurbanizowanych lub niezurbanizowanych. Wybór populacji odległych geograficznie był więc oparty na założeniu, iż dla potrzeb projektu optymalne byłoby wykluczenie możliwości wykorzystywania jednocześnie różnych siedlisk przez osobniki należące do jednej populacji. Wybrane obszary zurbanizowane charakteryzują się wysoką gęstością zaludnienia (jedne z największych miast w regionach, w których się znajdują) i ścisłą, typowo miejską zabudową, rozciągającą się na znacznych powierzchniach, stanowiąc dla zwierząt tam bytujących charakterystyczne siedlisko. Obszary niezurbanizowane wybrano natomiast spośród terenów o niskim zaludnieniu, z przewagą terenów niezabudowanych, a jednocześnie możliwie oddalonych od większych miast.

Odławianie, przetrzymywanie i znakowanie osobników

Ptaki będą odławiane przy pomocy standardowo stosowanej metody pętlowej. Polega ona na umieszczeniu w karmnikach pętli z żyłki elastycznej, i zaciąganiu jej przez odławiającego w momencie, kiedy znajdzie się tam odławiany osobnik. Następnie osobnik zostaje unieruchomiony i i przygotowany do transportu. Na terenach niezurbanizowanych umieszczane będą karmniki, w których systematycznie będzie uzupełniany pokarm dla ptaków. Praca ta będzie wykonywana przez pięciu pomocników technicznych, przy czym na każdy niezurbanizowany teren odłowów przypadają będzie jeden pomocnik techniczny, zrekrutowany na czas trwania projektu spośród lokalnych mieszkańców. Na terenach zurbanizowanych odłowy będą prowadzone przez wykonawców projektu, tą samą metodą, ale z zastosowaniem przynęty zadawanej ptakom bezpośrednio (karmienie z ręki). Zastosowanie tej metody pozwala na zminimalizowanie zagrożenia dla zdrowia i życia odławianych ptaków. Szybkie wykonanie odłowu przez eksperymentatorów, a nie za pomocą użycia pułapek powoduje, iż ptaki nie będą narażone na długotrwały stres związany z unieruchomieniem oraz na zwiększone ryzyko drapieżnictwa.

Każdorazowo odławiane osobniki będą przewożone w odpowiednio przygotowanych klatkach transportowych do wolier, w których będą wykonywane testy behawioralne. Po odłowieniu ze stanu dzikiego osobniki będą przetrzymywane w wolierach używanych do hodowli ptactwa (bażantarnie), które zostaną w tym celu wynajęte na potrzeby projektu, w 5 miejscach położonych możliwie najbliżej terenów, gdzie będą prowadzone odłowy. Każdy ptak będzie przetrzymywany w wolierze przez okres 14 dni, z czego pierwsze 3 dni będą stanowiły okres aklimatyzacji do warunków zamkniętego środowiska, a w czasie kolejnych dni wykonywane będą testy behawioralne, opisane w dalszej części metodyki. Po wykonaniu testów behawioralnych osobniki będą wypuszczane w miejscach odłowu i znakowane za pomocą obrączek umieszczanych na skoku, celem uniknięcia ponownego wykorzystywania tych samych osobników w testach.

Metodyka eksperymentów behawioralnych

Test zdolności używania narzędzi.

W tym teście zostanie zbadana możliwość stosowania przez osobniki uproszczonego analogu narzędzia w celu zdobycia pokarmu. Eksperyment został zaprojektowany w oparciu o wykonane wcześniej badania nad wieloma grupami zwierząt, w tym (Bagotskaya *et al.* 2011; Wardenich & Huber 2006). Ogólna koncepcja badania polega na zaprezentowaniu zwierzęciu kilku sznurków, z których jeden ma umieszczony na końcu pokarm. W tym teście osobnik aby dostać się do pokarmu musi skojarzyć, czynność pociągnięcia sznurka z pozyskaniem pokarmu. Miarą zdolności do używania narzędzi jest tutaj procent prawidłowych wyborów sznurka za który pociąga zwierzę. Nasz model eksperymentalny opiera się bezpośrednio na tym wykorzystanym przez Wandernicha i Hubera w 2004 roku. 24 h przed testem każdy ptak będzie pozbawiony dostępu do pokarmu. Eksperyment zostanie przeprowadzony w klatce. Ptakowi zostanie zaprezentowana platforma z trzema lub większą ilością sznurków, przy czym jeden z nich będzie zawierał na końcu pokarm. Ptak będzie miał dostęp do każdego ze sznurków, ale pokarm będzie dla niego niedostępny (platforma

zostanie wsunięta przez otwór w dole klatki, przez co ptak będzie widział pokarm. Miarą zdolności używania narzędzi będzie odsetek jego poprawnych wyborów pociągnięcia sznurka na 32 próby.

Eksperyment 1: trzy sznurki, jeden z przyczepionym na końcu jedzeniem.

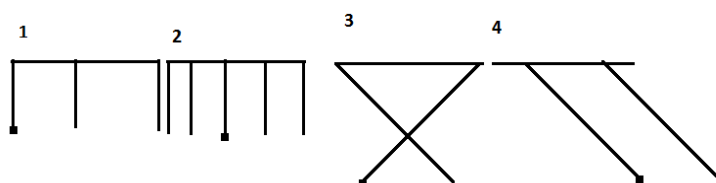
Eksperyment 2: pięć sznurków, jeden z przyczepionym na końcu jedzeniem.

Eksperyment 3: do dwa sznurki, jeden z przyczepionym na końcu jedzeniem. Sznurki są skrzyżowane i usztywnione w tej pozycji, przez co pokarm znajduje się bezpośrednio za miejscem przyczepu pustego sznurka.

Eksperyment 4: do belki przybite są dwa sznurki, jeden z przyczepionym na końcu jedzeniem.

Sznurki są usztywnione w pozycji kąta 45° do platformy, przez co pokarm znajduje się bezpośrednio za miejscem przyczepu pustego sznurka.

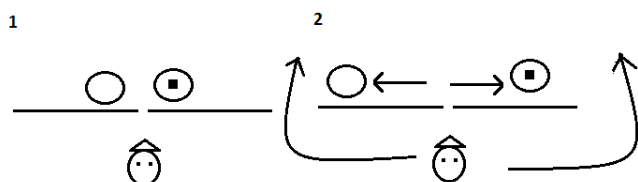
Miarą zdolności wykorzystywania analogów narzędzia będzie pociągnięcie przez ptaka właściwego sznurka. Platforma zostanie wsunięta 32 razy w ramach testu dla każdego osobnika. Pociągnięcie sznurka będzie uznane za wykonanie pojedynczej próby.



Rys.1 Schemat układu eksperymentalnego dla poszczególnych wariantów w teście zdolności użycia narzędzi.

Test zdolności do wyciągania wniosków

Jako badanie zdolności do rozumowania opartego na wyciąganiu wniosków użyty zostanie standardowy test Krushynski'ego (1986). W tym teście zostanie zbadana umiejętność radzenia sobie ze stosunkowo prostym problemem. Badany osobnik zostanie wpuszczony do klatki przedzielonej na pół przedziałką, za którą znajdować się będą dwie miski: z jedzeniem (po prawej) i pusta (po lewej), widziane dla ptaka przez szczelinę w przedziałce. Gdy ptak zainteresuje się jedzeniem, miski zostaną przesunięte, pełna w prawo, a pusta w lewo. Aby dostać się do pokarmu ptak musi obejść przedziałkę i dotrzeć do miski. Wartością mierzoną przez eksperymentatora będzie czas potrzebny osobnikowi na dotarcie do pokarmu, będący założoną w tym eksperymencie miarą zdolności do rozumowania opartego na wyciąganiu wniosków.



Rys.2. Schemat wykonania testu zdolności do wyciągania wniosków

Test pamięci i uczenia się

Celem eksperymentu jest zbadanie zdolności pamięciowych oraz uczenia się u badanych zwierząt. W tym celu zostanie wykorzystany test ósmioramiennego tunelu, stosowany od lat w badaniach nad szczurami (Olton & Samuelson 1976) ale także nad innymi zwierzętami, w tym ptakami (Lipp *et al.* 2001). Tunel został zaprojektowany zgodnie z projektem uniwersalnego tunelu dla wielu gatunków zwierząt (Lipp *et al.* 2001)). 24 h przed testem każdy ptak będzie pozbawiony

dostępu do pokarmu. W każdym z 8 ramion labiryntu będą znajdować się 2 miski z jedzeniem (robaki), jedna w pobliżu centralnej części tunelu, druga na samym końcu ramienia. Badanie będzie polegało na umieszczeniu osobnika w centralnej części labiryntu i mierzeniu jego poprawności odwiedzania kolejnych ramion tunelu. Za błąd uznawane będzie ponowne odwiedzenie ramienia tunelu przez ptaka. Eksperyment składał się będzie z 10 sesji, przeprowadzanych dzień po dniu. W ramach każdej z nich będzie obserwowane 15 wizyt ptaka w ramionach tunelu. Sesja zostanie zakończona wcześniej, jeśli osobnik odwiedzi wszystkie osiem ramion. Jeśli osobnik nie będzie wchodził w ramiona tunelu, sesja zostanie zakończona po 35 minutach. Począwszy do drugiego dnia, osobniki zostaną poddane 10-sekundowemu zamknięciu (wewnętrzny system bramek), po powrocie z pierwszego odwiedzonego ramienia tunelu. Zbadana zostanie poprawność wyborów osobnika (pamięć), oraz jej zmienność wraz z kolejnymi próbami (zdolność do nauki). Miarą tego będzie ilość dobrych wyborów na pierwsze 8 prób, oraz ilość błędów na wszystkie 10 prób.

Analiza wyników

W wyniku wykonanych eksperymentów zostaną zmierzone wartości świadczące o poszczególnych aspektach inteligencji kognitywnej ptaków. W teście 1 i 3 będzie to proporcja właściwie dokonanych wyborów spośród całkowitej liczby podjętych prób, a w teście 2: czas potrzeby do rozwiązania zadania. Wartości te zostaną użyte w analizie statystycznej (test T dla prób niezależnych) celem porównania, osobników należących do poszczególnych grup badawczych (młode vs. stare, odłowione z siedlisk zurbanizowanych vs. odłowione z siedlisk niezurbanizowanych).

Ramy czasowe projektu

Projekt zostanie rozpoczęty w maju 2014 roku i potrwa ok. 10-12 miesięcy. Data rozpoczęcia projektu ma związek z biologią badanego gatunku i koniecznością uwzględnienia faktu, kiedy w środowisku zaczynają być obecne osobniki młode, pochodzące z lęgu w danym roku (optymalne byłoby pozyskanie do badań osobników młodych z lęgu z bieżącego roku). Pierwszy miesiąc zostanie przeznaczony na rekonesans terenowy i rekrutację pomocników terenowych oraz wynajęcie woiher do badań behawioralnych, a także wyposażenie ich w urządzenia umożliwiające przeprowadzenie eksperymentów. Następnie działania założone w metodyce projektu będą odbywać się w następującej sekwencji:

1. Tydzień 1 i 2 - Rozpoczęcie wykładania przynęty do karmników w pierwszym obszarze odłowów na terenie niezurbanizowanym.
2. Tydzień 3 – wyjazd wykonawców do miejsca odłowów na terenie zurbanizowanym położonym najbliżej terenu niezurbanizowanego, w którym rozpoczęto wabienie. Przeprowadzenie odłowów w mieście przez okres 1 tygodnia lub krócej, kiedy uda się odłowić zakładaną liczbę 5 osobników
3. Tydzień 4 – przejazd wykonawców na teren niezurbanizowany, gdzie jest wykonywane wabienie i wykonanie tam odłowów, wraz z pomocnikiem terenowym
4. Tydzień 5 – rozpoczęcie wykładania przynęty w kolejnym obszarze niezurbanizowanym
5. Tydzień 7 – odłowy w kolejnym miejscu zurbanizowanym, podobnie jak w Tygodniu 3
6. Tydzień 8 – odłowy w drugim miejscu niezurbanizowanym (podobnie jak w tygodniu 4)
7. Powtórzenie sekwencji pkt. 1-4 dla jeszcze jednego obszaru zurbanizowanego i niezurbanizowanego.

Testy behawioralne będą wykonywane na bieżąco, każdorazowo przez jednego w wykonawców, podczas gdy drugi z nich, wraz z pomocnikami terenowymi, będzie zajmował się odłowami ptaków w kolejnych lokalizacjach oraz transportem osobników z miejsca odłowu i do miejsca wypuszczenia. Przy zastosowaniu opisanego wyżej schematu czasowego odłowów, biorąc pod uwagę, iż sekwencja zdarzeń będzie powtarzana pięciokrotnie (wabienie i odłowy na łącznie 5 terenach niezurbanizowanych, a w trakcie wabienia również odłowy na 5 terenach zurbanizowanych), całkowity czas wykonania odłowów i przeprowadzania testów behawioralnych szacuje się na ok. 20 tygodni, czyli ok 4,5 miesiąca (z możliwością wydłużenia lub skrócenia tego

okresu ze względu na nieprzewidziane uwarunkowania środowiskowe w trakcie odłowów). Po zakończeniu tego etapu, nastąpi okres rozliczenia z zatrudnionymi w projekcie osobami, opracowania uzyskanych danych oraz przygotowania publikacji podsumowującej wyniki badań. Zakończenie projektu przewidywane jest na maj 2015r. Wynika to z konieczności zachowania marginesu czasu, przeznaczonego np. na wykonanie dodatkowych odłowów i nieprzewidziane sytuacje terenowe.

Literatura:

Bagotskaya, M.S., Smirnova, A. & Zorina, Z. (2011) Corvidae Can Understand Logical Structure in Baited String-Pulling Tasks. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 42, 36–42.

Balda, R.P. (2007) Corvids in Combat: With a Weapon? *The Wilson Journal of Ornithology* 119, 100–102.

Balda, R.P., Kamil, A. & Brown, M.F. (2006) Linking Life Zones, Life History Traits, Ecology, and Spatial Cognition in Four Allopatric Southwestern Seed Caching Corvids *Animal Spatial Cognition: and. Papers in Behaviour and Biological Sciences*.

Bednekoff, P. & Balda, R.P. (2014) Clark's nutcracker spatial memory: The importance of large, structural cues. *Behavioural processes* 102, 12–7.

Carrete, M. & Tella, J.L. (2011) Inter-individual variability in fear of humans and relative brain size of the species are related to contemporary urban invasion in birds. *PLoS ONE* 6.

Chappell, J. & Kacelnik, A. (2004) Selection of tool diameter by New Caledonian crows *Corvus moneduloides*. *Animal cognition* 7, 121–7.

Cheke, L.G., Bird, C.D. & Clayton, N.S. (2011) Tool-use and instrumental learning in the Eurasian jay (*Garrulus glandarius*). *Animal cognition* 14, 441–55.

Clayton, N.S. (1996) Development of food-storing and the hippocampus in juvenile marsh tits (*Parus palustris*). *Behavioural Brain Research* 74, 153–159.

Croci, S., Butet, A. & Clergeau, P. (2008) Does Urbanization Filter Birds on the Basis of Their Biological Traits? *The Condor* 110, 223–240.

Jacobs, I.F., Osvath, M., Osvath, H., Mioduszewska, B., von Bayern, A.M.P. & Kacelnik, A. (2014) Object caching in corvids: Incidence and significance. *Behavioural processes* 102, 25–32.

Lefebvre, L. (1995) The opening of milk bottles by birds: Evidence for accelerating of cultural transmission. *Behavioural Processes* 34, 43–53.

Lipp, H.P., Pleskacheva, M.G., Gossweiler, H., Ricceri, L., Smirnova, a a, Garin, N.N., Perepiolkina, O.P., Voronkov, D.N., Kuptsov, P. a & Dell'Omo, G. (2001) A large outdoor radial maze for comparative studies in birds and mammals. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 25, 83–99.

Maple, T. (1974) Do crows use automobiles as nutcrackers? *West Birds*, 97–98.

Marzluff, B. & Clucas, J. (2012) Attitudes and actions toward birds in urban areas: Human cultural differences influence bird behavior. *The Auk* 129, 8–16.

Marzluff, J.M. & Neatherlin, E. (2006) Corvid response to human settlements and campgrounds: Causes, consequences, and challenges for conservation. *Biological Conservation* 130, 301–314.

Miranda, A.C., Schielzeth, H., Sonntag, T. & Partecke, J. (2013) Urbanization and its effects on personality traits: a result of microevolution or phenotypic plasticity? *Global change biology* 19, 2634–44.

Nemeth, E. & Brumm, H. (2009) Blackbirds sing higher-pitched songs in cities: adaptation to habitat acoustics or side-effect of urbanization? *Animal Behaviour* 78, 637–641.

Nihei H (1997) When and where did crows learn to use automobiles as nutcrackers. *Toiku Psychologia Folia*.
Olton, D.S. & Samuelson, R.J. (1976) Remembrance of places passed: Spatial memory in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 2, 97–116.

Stafford, B.L., Balda, R.P. & Kamil, A.C. (2006) Does Seed-Caching Experience Affect Spatial Memory Performance by Pinyon Jays? *Ethology* 112, 1202–1208.

Werdenich, D. & Huber, L. (2006) A case of quick problem solving in birds: string pulling in keas, *Nestor notabilis*. *Animal Behaviour* 71, 855–863.

Kosztorys

Lp.	Treść	Planowane koszty w roku		
		2014	2015	Razem
1	2	3	4	5
1	Koszty bezpośrednie	123500zł	14000zł	137500zł
	w tym: 1) wynagrodzenia z pochodnymi 2) inne koszty realizacji projektu	1) wykonawcy: 24000zł pomocnicy: 37500zł łącznie: 61500zł 2)62000zł	1) wykonawcy: 12000zł 2)2000zł	1) wykonawcy: 36000zł pomocnicy: 37500zł 2)64000zł
2	Koszty pośrednie (30%kosztów innych niż aparatura)	57300zł	2000zł	59300zł
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowanych na naukę (1+2)	180800zł	16000zł	196800zł
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	0zł	0zł	0zł
5	Koszty ogółem (3+4)	180800zł	16000zł	196800zł

Uzasadnienie kosztów projektu:

Koszty podróży wykonawców projektu:

2 osoby*15000zł = 30000zł (dojazd na pierwsze miejsce odłowów i przejazdy pomiędzy kolejnymi miejscami)

Koszty pobytu wykonawców w miejscu badań:

2 osoby*6 miesięcy*1500zł = 18000zł

Koszty aparatury i środków nietrwałych:

Wynajem woliery:

5*2000zł = 10000zł

Zakup materiałów do budowy zestawu eksperymentalnego (siatka do budowy przedziału woliery do wykorzystania w eksperymentach, budowa labiryntów i zestawów do wykonania innych testów):

5*1700zł=3200zł

Pokarm/przynęta dla ptaków

5*1000zł=5000zł

Środki farmaceutyczne (apteczka)

800zł

Klatki do transportu ptaków

5szt.*300zł=1500zł

Wynagrodzenia

wykonawców projektu:

2*12 miesięcy*1500zł=36000zł

pomocników terenowych

5*5miesiący*1500zł=37500zł

5.2. Mechanizm działania placebo u zwierząt domowych

Autorzy: Andrzej Antoń i Justyna Kierat

5.2.1. Pierwsza wersja projektu

Streszczenie projektu

Efekt placebo jest znany u ludzi, gdzie każdy medyczny test opiera się na porównaniu działania leku z działaniem placebo. Występowaniu tego efektu u zwierząt poświęca się zdecydowanie mniej uwagi. U człowieka działanie placebo można tłumaczyć różnymi mechanizmami opierającymi się na świadomości (jak np. autosugestia), natomiast działania placebo u zwierząt nie da się wyjaśnić w ten sposób. Badania sugerują jednak, że mechanizm ten nie jest jedynym możliwym i u zwierząt może on być zastąpiony innymi. Jednakże, według naszej wiedzy, nie podjęto dotychczas próby systematycznego rozróżnienia między możliwymi mechanizmami wystąpienia efektu placebo dla zwierząt.

Proponowane badania mają na celu przetestowanie możliwych mechanizmów mogących stać za zjawiskiem działania placebo u zwierząt: a) większy kontakt fizyczny z opiekunem (np. głaskanie) w czasie choroby, b) warunkowanie (kojarzenie czynności związanych z procesem leczenia z poprawą stanu zdrowia), c) stres towarzyszący leczeniu jako czynnik stymulujący działanie naturalnej obrony organizmu, i d) wpływ zachowania właściciela i jego błędnej percepcji stanu zdrowia zwierzęcia na wyniki badań.

Odkrycie podłoża działania efektu placebo u zwierząt może przyczynić się do lepszego poznania psychiki zwierząt oraz dać teoretyczne podstawy do ulepszania metodyki przeprowadzania testów klinicznych z udziałem zwierząt.

Cel naukowy projektu

Wpływ czynników psychicznych na stan zdrowia jest od dawna znany w medycynie (Beecher 1955). Efekt placebo występuje, kiedy u pacjenta następuje poprawa po podaniu substancji niebędącej lekiem w taki sposób, by pacjent wierzył, że otrzymuje lek. Badania wskazują, że analogiczny efekt występuje również u zwierząt (Munana i in. 2002). O ile u ludzi efektowi placebo poświęca się dużo uwagi, to o wiele mniej wiadomo o występowaniu analogicznego zjawiska u zwierząt. U człowieka dużą rolę odgrywa bezpośrednia sugestia (poprzez rozmowę z pacjentem), ten mechanizm nie może jednak z oczywistych przyczyn działać u zwierząt. Celem badań jest wyodrębnienie mechanizmu działania placebo u zwierząt. Sprawdzone zostaną trzy czynniki, które mogą być czynnikami bezpośrednimi wywołującymi efekt placebo u zwierząt:

- 1) pieśczoćy ze strony właściciela; Kontakt fizyczny z opiekunem ma pozytywny wpływ na zwierzę (Jeziński i in. 1999). W czasie choroby zwierzę domowe może doświadczać większej uwagi ze strony opiekuna.
- 2) warunkowanie; jeśli zwierzę kojarzy zabiegi związane z leczeniem (np. podawanie leków, wizyty u weterynarza) z następującą później poprawą swojego stanu, przy kolejnej chorobie może reagować na same zabiegi jak na terapię.
- 3) zwiększenie możliwości układu odpornościowego organizmu wskutek stresu; dla zwierzęcia terapia jest związana ze stresem, który może powodować mobilizację naturalnej obrony organizmu.

Dodatkowo, sprawdzona zostanie hipoteza, czy występowanie efektu placebo u zwierząt nie jest artefaktem wynikającym z metodyki badań klinicznych. W badaniach oceny skuteczności leków poprawa stanu zwierzęcia może być oceniana na podstawie wywiadu z właścicielem (Shepphard and Mills 2003, Gaultier et al. 2005). Jeśli opiekun myśli, że zwierzę otrzymuje lek, może interpretować objawy zaobserwowane u zwierzęcia jako wskazujące na większą poprawę, niż nastąpiła faktycznie. W niniejszych badaniach zamierzamy oddzielić efekt subiektywnej oceny właściciela od faktycznej poprawy stanu zwierzęcia, aby sprawdzić, jak wiarygodna jest ocena postępów leczenia dokonywana przez właściciela.

Znaczenie projektu

Badanie efektu placebo wnosi wkład w zrozumienie złożonych zależności między psychiką a funkcjonowaniem organizmu. Podawanie placebo pacjentom powoduje nie tylko poprawę samopoczucia, ale może również skutkować mierzalnymi zmianami fizjologicznymi (Mayberg i in. 2002). Efekt placebo jest również ważnym czynnikiem, który powinien być brany pod uwagę w czasie badań klinicznych, gdzie kluczowe jest wyodrębnienie efektu działania badanej substancji (leku) i wykluczenie możliwego wpływu innych czynników. O ile w badaniach z udziałem człowieka stosowanie próby ślepej i kontroli placebo jest standardem, to w przypadku badań na zwierzętach ten problem jest zdecydowanie słabiej dostrzegany (McMillan 1999, Munana i in. 2010, Clausen i in. 2013)). Z jednej strony argumentuje się, że u zwierząt nie może działać mechanizm placebo oparty na sugestii, tak jak jest w przypadku człowieka (tzn. pacjent wierzy w skuteczność podawanego środka). Istnieją jednak przesłanki sugerujące, że u zwierząt efekt placebo może być wywoływany przez inne mechanizmy. Jednym z nich jest warunkowanie (Clark 2004). Leczone zwierzę może skojarzyć proces podawania leku z poprawą swojego stanu, i późniejsze podanie placebo w ten sam sposób może skutkować reakcją analogiczną do reakcji na lek (Miller i in. 2013). Inną przyczyną poprawy stanu zdrowia zwierzęcia może być większa częstotliwość pozytywnych interakcji z opiekunem w czasie choroby. Głaskanie przez osobę znaną zwierzęciu w sytuacji stresowej powoduje zmniejszenie częstotliwości uderzeń serca, co świadczy o pozytywnym wpływie kontaktu z opiekunem w redukowaniu stresu (Jeziński i in. 1999). Kolejną możliwą przyczyną wystąpienia efektu placebo może być stres związany z zabiegami weterynaryjnymi. Stres, szczególnie długotrwały, jest uznawany za czynnik negatywnie wpływający na zdrowie, jednak stres ostry może również działać stymulująco na układ odpornościowy (Fleshner i in. 2002). W naszych badaniach sprawdzimy również, czy efekt placebo obserwowany u zwierząt nie jest jedynie artefaktem wynikającym ze sposobu oceny zdrowienia zwierząt. Jeżeli ocena skuteczności leku przeprowadzana jest na podstawie wywiadu z właścicielem, to obserwowany efekt placebo może wynikać z nieobiektywnej interpretacji objawów zwierzęcia przez właściciela. Opiekun, który spodziewa się, że dany lek zadziała na jego zwierzę, może raportować szybsze postępy w jego zdrowieniu niż faktycznie następują.

Wyniki badań przyczynią się do zwiększenia stanu wiedzy na temat występowania efektu placebo u zwierząt i jego mechanizmu. Pozwoli to lepiej zrozumieć zależność między psychiką a funkcjonowaniem organizmu u zwierząt i wniesie wkład w psychologię zwierząt. Przeprowadzone badania przyczynią się również do lepszego planowania testów klinicznych z udziałem zwierząt.

Koncepcja i plan badań

Istnienie każdego z trzech hipotetycznych mechanizmów działania placebo zostanie sprawdzone w trzech osobnych eksperymentach (1-3). W każdym z nich zwierzęta zostaną rozdzielone losowo do trzech grup badawczych: kontrola (w której nie będzie podawany lek), placebo (w której testowany będzie wpływ badanego czynnika bezpośredniego na proces zdrowienia) oraz leczone (w której podawany będzie konwencjonalny lek). W grupie leczonej konwencjonalnym lekiem, czynnik placebo nie będzie działał, co pozwoli na oddzielenie wpływu leku i placebo. U

każdego zwierzęcia zostanie ocenione tempo zdrowienia. Szybsze tempo zdrowienia w grupie placebo w porównaniu z kontrolą będzie świadczyć o działaniu efektu placebo poprzez badany w danym eksperymencie mechanizm. Porównanie zabiegu placebo ze zwierzętami leczonymi konwencjonalnie pozwoli na oszacowanie wielkości efektu placebo względem tradycyjnego leku.

Sprawdzenie, czy efekt placebo u zwierząt wynika z subiektywnej interpretacji objawów zdrowienia przez właścicieli, zostanie przeprowadzone w osobnym eksperymencie. Zwierzęta będą otrzymywać lek konwencjonalny bądź placebo. Każda z tych dwóch grup zostanie podzielona na 2 podgrupy: 1) właściciel zostanie poinformowany, czy zwierzę otrzymuje lek czy placebo, zgodnie ze stanem faktycznym; 2) właściciel zostanie błędnie poinformowany o przynależności zwierzęcia do grupy zabiegowej (właściciele zwierząt otrzymujących lek zostaną poinformowani, że zwierzę otrzymuje placebo, i odwrotnie). Eksperyment ten pozwoli na rozróżnienie pomiędzy trzema hipotezami: a) właściciel ocenia stan zwierzęcia zgodnie ze stanem faktycznym; ocena stanu zdrowia zwierzęcia na podstawie raportu właściciela nie jest obciążona błędem; b) przekonanie właściciela na temat leku podawanego zwierzęciu wpływa na ocenę stanu zwierzęcia, c) przekonanie właściciela wpływa na proces leczenia; jeśli właściciel wierzy, że zwierzę zostanie wyleczone, jego zachowanie może mieć wpływ na zwierzę. W tym eksperymencie hipoteza c) jest scenariuszem, w którym przewidywany jest rzeczywisty efekt placebo (czynnikiem placebo jest w tym wypadku zachowanie właściciela spowodowane jego przekonaniami). Wyniki przewidywane w przypadku prawdziwości każdej z trzech hipotez zostały zebrane w tabeli 1.

Tab. 1

Leczenie	Wiedza właściciela	Właściciel dobrze ocenia stan zdrowia psa		Właściciel źle ocenia stan zdrowia zwierzęcia		Działa „sugestia właściciela”	
		Pies	Deklaracja właściciela	Pies	Deklaracja właściciela	Pies	Deklaracja właściciela
1. Lek	Lek	zdrowy	„zdrowy”	zdrowy	„zdrowy”	zdrowy	„zdrowy”
3. Lek	Placebo	zdrowy	„zdrowy”	zdrowy	„chory”	chory	„chory”
4. Placebo	Placebo	chory	„chory”	chory	„chory”	chory	„chory”
6. Placebo	Lek	chory	„chory”	chory	„zdrowy”	zdrowy	„zdrowy”

Metodyka badań

Do badań zostaną wykorzystane psy rasy golden retriever (jedna z najpopularniejszych hodowanych w Polsce ras psów, zwierzęta szybko się uczące). Badania będą przeprowadzone na terenie całej Polski, w wypadku małej liczby zgód badania zostaną rozszerzone na teren Unii Europejskiej w ciągu dwóch lat, w miesiącach maj-wrzesień (w celu wyeliminowania wpływu niskich temperatur). Właściciele zostaną wynagrodzeni za udostępnienie zwierząt do badań i pomoc przy ich wykonaniu. Do badań będą wybierane psy, które wcześniej nie chorowały. Za zgodą właściciela, na wewnętrznej stronie tylnej nogi każdego psa zostanie wygolony fragment skóry o powierzchni 5 x 5 cm, który zostanie podrażniony przy użyciu drobnoziarnistego papieru ściernego. Powstała rana będzie powodować dyskomfort, jednak nie będzie zagrażała ogólnemu zdrowiu zwierzęcia. U zwierząt leczonych będzie stosowana maść Solcoseryl, która jest środkiem używanym w leczeniu skaleczeń zarówno u zwierząt jak i u ludzi. Rana będzie kontrolowana w odstępach trzydniowych, sprawdzana będzie niezagojona powierzchnia. Badania będą prowadzone aż do momentu całkowitego

zagojenia rany. Na każdy zabieg eksperymentalny, w każdym eksperymencie będzie użyte przynajmniej 10 psów, nie planuje się robienia dwóch eksperymentów na tym samym psie (za wyjątkiem eksperymentu z warunkowaniem).

Traktowanie poszczególnych grup zabiegowych w eksperymentach 1-3 zostało podsumowane w tabeli 2.

Tab.2

	kontrola	placebo	leczone
Pieszczoty ze strony właściciela	ograniczenie kontaktu fizycznego ze zwierzęciem	szczególne zajmowanie się zwierzęciem (głaskanie, pieszczoty)	ograniczenie kontaktu fizycznego ze zwierzęciem
Warunkowanie	Wszystkie eksperymentalne zwierzęta zostaną zranione papierem ściernym w opisany powyżej sposób. W czasie leczenia maścią Solcoseryl będzie parowane z neutralnym bodźcem: pojawieniem się w domu eksperymentatora (dla danego zwierzęcia, przy każdym podaniu leku będzie to ta sama osoba, ubrana w ten sam sposób). Po sześciu miesiącach zwierzęta zostaną ponownie zranione i przydzielone do trzech zabiegów, których traktowanie przedstawiono poniżej.		
	brak bodźca	wizyty osoby, która przy poprzedniej chorobie była obecna przy podawaniu leku zwierzęciu (bodziec warunkujący); wizyty w takich samych odstępach czasowych jak w czasie pierwszej choroby	brak bodźca
Stres	Brak bodźca	Wożenie psa do lekarza weterynarii, pies otrzymuje zastrzyk z soli fizjologicznej	Brak bodźca

W eksperymencie mającym na celu sprawdzenie wpływu właściciela na leczenie psa będą przeprowadzone 4 zabiegi eksperymentalne wg poniższego schematu:

Tab.3

Leczenie	Wiedza właściciela
1. Rana smarowana codziennie maścią Solcoseryl	Właściciel wie co jest podawane psu.
2. Rana smarowana codziennie maścią Solcoseryl	Właściciel jest informowany, że psu jest podawane placebo.
3. Rana smarowana codziennie wazeliną	Właściciel wie co jest podawane psu.
4. Rana smarowana codziennie wazeliną	Właściciel jest informowany, że psu jest podawany lek.

Wielkość rany będzie sprawdzana co trzy dni. Będzie notowany czas potrzebny do zagojenia się rany. Rana będzie fotografowana, a później będzie mierzona powierzchnia rany w programie do analizy obrazu (ImageJ). Przed sprawdzeniem rany przez eksperymentatora, właściciel będzie proszony o udzielenie odpowiedzi czy pies jest w.g. niego zdrowy. Będzie notowany czas jaki był potrzebny psu do wyzdrowienia według właściciela.

Analiza statystyczna:

Czas potrzebny do wyzdrowienia w eksperymentach 1-4 będzie analizowany przy użyciu jednoczynnikowej analizy wariancji, z czasem potrzebnym do zabliznienia jako zmienna zależną i zabiegiem jako zmienną niezależną. Zmiany w powierzchni rany będą analizowane przy pomocy ogólnego modelu liniowego (GLM), z powierzchnią rany jako zmienną zależną, zmienną niezależną będzie zabieg eksperymentalny, poszczególne psy będą traktowane jako czynnik zagnieżdżony w zabiegu eksperymentalnym. W czwartym eksperymencie czas faktycznego wyzdrowienia psa z czasem podanym przez właściciela będą porównywane przy pomocy testu t Studenta dla par związanych dla każdego zabiegu osobno. Zabiegi nie będą porównywane między sobą.

Literatura

1. H.K. Beecher, **The powerful placebo.** *The Journal of the American Medical Association*, 1955, ;159: 1602–1606
2. G. Sheppard, D.S. Mills, Evaluation of dog-appeasing pheromone as a potential treatment for dogs fearful of fireworks. *Veterinary Record*, 2003, 152: 432–436
3. E. Gaultier, L. Bonnafous, L. Bougrat, C. Lafont, P. Pageat, Comparison of the efficacy of a synthetic dog-appeasing pheromone with clomipramine for the treatment of separation-related disorders in dogs. *Veterinary Record*, 2005, 156,: 533
4. H.S. Mayberg, J.A. Silva, S.K. Brannan, J.L. Tekell, R.K. Mahurin, S. McGinnis, P.. Jerabek, The Functional Neuroanatomy of the Placebo Effect, *American Journal of Psychiatry*, 2002, 159:728-737. doi:10.1176/appi.ajp.159.5.728

5. F.D. McMillan , The placebo effect in animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1999, 215:992–999.
6. K.R. Munana,, D. Zhang, E. E. Patterson, Placebo effect in canine epilepsy trials. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2010, 24: 166-170.
7. R.E. Clark, The classical origins of Pavlov’s conditioning. *Integrative Physiological & Behavioral Science* 2004, 39: 279-294.
8. F.G. Miller (red.), *The placebo: a reader*, , Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2013.
9. T. Jezierski, Z. Jaworski, A. Górecka, Effects of handling on behaviour and heart rate in Konik horses: comparison of stable and forest reared youngstock, , *Applied Animal Behaviour Science*, 1999, 62: 1-11
10. M. Fleshner , J. Campisi , T. Deak , B.N. Greenwood , J.A. Kintzel , T.H. Leem , T.P. Smith, B.Sorensen, Acute stressor exposure facilitates innate immunity more in physically active than in sedentary rats, *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2002, 282, doi:: 10.1152/ajpregu.00661.2001
11. J. Clausen, H. Albrecht, R. T. Mathie. *Veterinary Clinical Research Database for Homeopathy: Placebo-controlled trials. Complementary therapies in medicine* 2013, 21: 115-120.

5.2.2. Recenzje

Prof. dr hab. Mariusz Cichoń

Ocena merytoryczna:

Projekt jest napisany w sposób zrozumiały i logiczny. Zawiera wszystkie wymagane pod względem formalnym części. Jednak widać, że był przygotowany w dużym pośpiechu. Nie przekonał mnie dlaczego warto podjąć badania dotyczące efektu placebo u zwierząt. Nie wiem, czy autorzy widzą ten projekt w dziedzinie nauk podstawowych czy w naukach stosowanych. Jeśli to pierwsze, to jaką nową wiedzę o funkcjonowaniu zwierząt przyniosą wyniki planowanych badań, a jeśli to drugie to jakie zastosowanie może mieć informacja o działaniu placebo u zwierząt? Czy autorzy zakładają, że konwencjonalne leczenie można zastąpić placebo?

Czytając cele projektu odnosi się wrażenie, że autorzy z góry zakładają występowanie efektu placebo u zwierząt i są zainteresowani mechanizmem działania tego efektu. Efekt placebo jest jednak tylko statystycznym i występuje w ściśle określonych sytuacjach. Nie można go z góry zakładać dla każdej sytuacji interwencji medycznej/weterynaryjnej. Pytanie podstawowe, które jest kluczowe dla planowanych tu badań brzmi: czy efekt placebo jest obecny w sytuacji gojenia się zadrapań spowodowanych papierem ściernym. Jeśli odpowiedź jest negatywna to cele „biorą w łeb”.

Mam wątpliwości co do koncepcji badań. Przede wszystkim czy można w ogóle oczekiwać jakiegokolwiek efektu placebo przy leczeniu zadrapań papierem ściernym?! Czy zdrapanie papierem ściernym można w ogóle uznać za stan chorobowy? Mnie byłoby to obojętne i nawet plasterka bym nie nakleił, a co dopiero psu (chyba że pies jest bardziej wrażliwy niż ja i odbiera zdrapanie jako zagrożenie życia). Czy wazelina używana w grupie placebo na pewno jest obojętna dla leczenia się

rany? Można mieć poważne wrażliwości. Nie bardzo rozumiem, dlaczego wożenie psa do weterynarza i zastrzyk z soli fizjologicznej miałby ktoś uważać za stres? Jakies przesłanki? Jeśli coś miałyby wzmacniać odporność to stresse fizjologiczne a nie psychiczne, te podnoszą poziom kortyzolu, który działa ewidentnie immunosupresyjnie! Poza tym co ma odporność do gojenia się delikatnej rany (niezakażonej bakteriami chorobotwórczymi).

Dodatkowo, w badaniach wpływu właściciela na postępy w leczeniu jest problem z grupą kontrolną. Jeśli właściciel wie o celu badań to sama ta wiedza może wpływać na efekty bez względu na to czy ma prawdziwą informację o przebiegu leczenia.

Nie rozumiem tabeli 2. Tytuł powinien zawierać informację, że efekt placebo będzie badany u psów. Nie można generalizować efektów obserwowanych u psów na wszystkie zwierzęta domowe. Nie można na ptaki, a co dopiero patyczaki i inne go rodzaju domowe pets. O psach dowiadujemy się dopiero na 3 stronie projektu i nawet abstrakt o gatunku badawczym nie informuje, choć tu można się już domyślić, że będzie to jakieś zwierzę z futerkiem, bo np. patyczaków się chyba nie głaszczce.

Nie bardzo rozumiem analizy statystyczne. Czegoś brakuje w opisie analizy GLM, albo błędnie ją zaplanowano. Pies chyba ma być czynnikiem losowym, bo planowane jest powtarzanie pomiarów na tym samym psie, a głównym czynnikiem zainteresowań chyba interakcja czasu (którego nie zdefiniowano w modelu) z eksperymentem. Coś na kształt analizy z powtarzaniem pomiarów? Nie jasny jest także planowany test t-Studenta dla par związanych. Rozumiem, że planuje się wykonanie kilku takich testów, co nie jest do końca poprawne. Trzeba wykonać jeden test GLM.

Kosztorys:

Bardzo drogie i długotrwałe badania jak na taki temat. Badania są wykonalne w 1 rok za 1/3 planowanego budżetu. Takie zaplanowanie budżetu mocno obniża wiarygodność wnioskodawców. Nie podano podstawowej informacji o planowanej wielkości próby, ale można się tylko domyślać, że będzie bardzo duża jeśli na maści zaplanowano aż 2000zł!!!!. Na papier ścierny aż 500zł. Tyle papieru ściernego to chyba nie zużyje budowlaniec budujący dom, no chyba, że buduje dom drewniany. Skąd wynikają koszty wynagrodzeń? Jaka jest podstawa zakupu benzyny za 20000zł? Żeby ją użyć trzeba wykazać potrzebę użycia samochodu i kalkulację kilometrów. Na czym będzie polegała konsultacja weterynarza?

Wykonalność:

Projekt jest wykonalny, ale bardzo ryzykowny. 300tys zł może zostać zmarnowane jeśli się okaże, że w planowany systemie placebo w ogóle nie działa!!!

Mocne strony:

Stosunkowo proste badania. Nieźle napisany projekt

Słabe strony:

Projekt słabo przemyślany z mocno zawyżonym kosztorysem

mgr Aleksandra Wróblewska

Projekt przedstawiony mi do zaopiniowania ma na celu ocenę wpływu efektu placebo u zwierząt. Skrócowa analiza projektu nasunęła mi następujące spostrzeżenia:

- Termin „zwierzę” jest nieokreślony; płynnie przechodzi w termin „zwierzę domowe” – w tytule i w „pies”. „Pies” pojawia się po raz pierwszy dopiero w tabelach i tam dowiadujemy się, że psy będą obiektem badań, bez słowa wyjaśnienia dlaczego. Czy mamy rozumieć, że wyniki eksperymentu będzie można ekstrapolować na wszystkie gatunki zwierząt?
- W streszczeniu projektu założono, że każdy test medyczny opiera się ma porównaniu leku badanego z placebo – obecnie odchodzi się od tego modelu jako nieetycznego (pacjent wylosowany do ramienia z placebo nie otrzymuje leczenia) w kierunku badań porównawczych: lek badany versus lek alternatywny – jeśli to tylko możliwe, nie ma ramienia placebo)
- W opisie celu naukowego projektu stwierdzono, że efekt placebo występuje, gdy pacjent wierzy, że otrzymuje leczenie – w rzeczywistości standardem jest podwójnie zaślepiony schemat badania (tzw. double blind study) gdy pacjent jak i badacz nie wiedzą, czy pacjent otrzymuje lek badany, lek porównawczy czy placebo. Nikt nikomu nic nie wmawia.
- Znaczenie projektu należałoby chyba zawęzić do badań nad gatunkiem pies domowy, a nawet tylko do rasy golden retriever (wspominano o psychice gatunku). Rozszerzenie na całe królestwo zwierząt jest zdecydowanie zbyt daleko idące.
- Koncepcja i plan badań są ciekawe i chyba na tym aspekcie autorzy skupili swą uwagę. Trzeba było jednak wczytać się głęboko, aby zrozumieć 3 eksperymenty, grupy badawcze, podgrupy, hipotezy.
- W moim mniemaniu jednak gdy podamy pacjentowi lek (grupa leczona konwencjonalnym lekiem) w żadnym razie nie możemy stwierdzić za autorami, że „czynnik placebo nie będzie działał”. Zaprzecza to całej koncepcji.
- Celowe wprowadzanie w błąd właścicieli psów czy pupil dostaje lek czy placebo jest nie do przyjęcia, jest to nieetyczne. Można z powodzeniem zastąpić ten manewr sprawdzoną metodą ślepej próby – delikwent jest rzetelnie poinformowany, że ma 50% szans trafić do każdej z grup i nie dowie się, do której został wylosowany. Jeszcze lepiej, gdyby był to wspomniany przeze mnie, powszechnie stosowany w badaniach klinicznych schemat podwójnie zaślepiony – badacz też nie wie.
- Metodyka badań – chyba tego nie przemyślano. Celowe zadawanie ran – nietyczne, niehumanitarne, niebezpieczne. Żadna komisja bioetyczna ani odnośne władze (Departament Rejestracji i Badań Klinicznych Produktów Leczniczych Weterynaryjnych) nie wyraził zgody na takie metody. A opiekun, który za pieniądze zgodziłby się na zadawanie ran swemu psu, powinien z góry być wykluczony. Rekrutacja powinna odbywać się zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Klinicznej – spośród psów, które odniosły podobne, tego samego typu rany, zostały przyprowadzone do weterynarzy, spełniły ściśle określone kryteria włączenie do badania klinicznego a przede wszystkim ich właściciele wyrazili na to świadomą zgodę.
- W związku z tym z kosztorysu powinno zniknąć wynagrodzenie dla właścicieli a powinny pojawić się koszty szeroko zakrojonej rekrutacji psów w licznych gabinetach weterynaryjnych.

mgr Ewa Prawdzik

Ocena merytoryczna projektu

Poznanie mechanizmu odpowiedzialnego za efekt placebo u zwierząt ma ogromne znaczenie dla rozwoju kilku dziedzin nauki w tym weterynarii i medycyny. Opis doświadczeń wskazuje, że autorzy dogłębnie przemyśleli zagadnienie, a zaproponowane eksperymenty pozwolą zanalizować problem z kilku perspektyw. Gratuluję świetnego pomysłu, niemniej mam kilka wątpliwości co do zaplanowanych badań.

Eksperyment 1. Według mnie metoda użyta w tej części nie jest dostatecznie sprecyzowana, przez co może prowadzić do trudnych w interpretacji wyników. Ograniczenie kontaktu fizycznego ze zwierzęciem (w grupie „leczone”) może wywołać reakcję stresową zwierzęcia, który zawsze był dopieszczany przez właściciela, gdy tymczasem pieszczoła ograniczona będzie w mniejszym lub większym stopniu do wcierania maści w bolące miejsce. Być może wystąpi tu interakcja czynnika stresowego (ograniczony kontakt) i leku. Można sobie też wyobrazić sytuację, gdy pies na co dzień troszkę zaniechany (wydaje się, że właściciele właśnie takich czworonogów będą zgłaszać się do eksperymentu, gdzie w gruncie rzeczy za pieniądze okaleczą się pupila) w grupie „placebo” jest nagle głaskany z nienaturalną częstotliwością. Może wprowadzić kontrolę odpowiedzi psa na takie pieszczoły (pomiar rytmu serca)? Z metodologicznego punktu widzenia chyba warto wprowadzić 4 grupę eksperymentalną: głaskane i leczone.

Dodałabym jeszcze jedną grupę eksperymentalną: bodziec + leczenie w eksperymencie 2 i grupę: zastrzyk + leczenie w eksperymencie 3 dla lepszej kontroli badanych efektów. W Waszym modelu, pies chyba nie może być czynnikiem zagnieżdżonym, bo zabraknie Wam źródła wariacji błędu.

Ocena kosztorysu

Koszty są zaplanowane rozsądnie. Dużą część funduszy pochłonie wynagrodzenie dla właścicieli psów, co jest w pełni uzasadnione, gdyż trzeba przekonać właścicieli czworonogów do wzięcia udziału w eksperymencie. Strasznie droga wazelina ;).

Ocena możliwości wykonania

Zakres badań i czas, w jakim miałyby być przeprowadzone jest słuszny. Największą trudnością wydaje się być znalezienie tylu chętnych na okaleczenie swoich psów. Może łatwiej byłoby pozyskać uczestników, gdyby leczenie dotyczyło choroby typu nadwaga kotów po sterylizacji (koty mają już nadwagę, więc nie nabywają żadnego schorzenia podczas eksperymentu, a i podawanie placebo w tym przypadku nie będzie wywoływać takiego oburzenia, jak przy eksperymencie dotyczącym np.: cukrzycy).

Mocne strony wniosku

Prostota zaplanowanych badań.

Eksperymenty dotyczące kilku aspektów problemu badawczego.

Słabe strony wniosku

Sposób przeprowadzenia eksperymentów wywołujący moralny sprzeciw.

Trudno mierzalne zabiegi („szczególne zajmowanie się zwierzęciem”), które mogą doprowadzić do trudnych w interpretacji wyników lub nie wystarczająca „kontrola” badanych efektów.

mgr Natalia Derus

Ocena merytoryczna projektu

Projekt charakteryzuje się dużym potencjałem, ponieważ jak do tej pory nikt w tak kompleksowy sposób nie zbadał działania efektu placebo u zwierząt. W przypadku powodzenia eksperymentu istnieje prawdopodobieństwo wniesienia znacznej wiedzy na temat metodologii badań klinicznych. W proponowanych badaniach uwzględnionych zostaje wiele czynników mogących mieć wpływ na wyniki badań prowadzonych na zwierzętach.

Ocena kosztorysu

Planowane koszty są zasadne, być może, w niektórych przypadkach, nieco za niskie. Proponuję zwiększenie nieco kwoty, jaka miałaby zostać przeznaczona na koszty wizyt weterynaryjnych – może się okazać, że rany niektórych psów będą trudno się goić, a nawet wda się zakażenie. Konieczne wówczas będzie zapewnienie takiemu psu profesjonalnej opieki lekarskiej.

Ocena możliwości wykonania

Proponowane badania charakteryzują się relatywnie wysokim stopniem skomplikowania – badanych będzie kilka zabiegów, w różnych kombinacjach (maść/wazelina, wiedza/niewiedza właściciela itd. Itp.). Znalezienie odpowiednio dużej liczby odpowiednich zwierząt do badań może narażać pewne trudności i spowodować ryzyko przeciągnięcia się badań w czasie. W przypadku otrzymania niejednoznacznych wyników trudne będzie powtórzenie/wznowienie eksperymentu bez poniesienia dodatkowych kosztów. Istotne jest także znalezienie takich psów, których właściciele będą chętnie współpracować z badaczami (wiarygodność ich relacji, jakość obserwacji).

Mocne strony wniosku

Projekt przewiduje wiele zmiennych, które mogłyby potencjalnie wpływać na zwierzę, a także na opinię właściciela o stanie zdrowia zwierzęcia (np. wiedza/niewiedza właściciela o zastosowaniu placebo). Proponowane badania są dobrze uzasadnione, uzyskane informacje pozwolą na zmodyfikowanie i unowocześnienie metod stosowanych w badaniach klinicznych leków.

Słabe strony wniosku

Niejednorodność środowisk, w jakich żyją psy (pochodzące z różnych domów, a być może i państw – jeśli projekt zostanie rozszerzony) może wpływać na zróżnicowanie ich reakcji, tempa leczenia itd. Użycia maści, która dla psa na pewno ma charakterystyczny zapach może być nieco ryzykowane – psy warunkowane (Tab. 2.) traktowane początkowo Solcoserylem, a następnie

wazeliną mogą zareagować w nie do końca zgodny z przewidywaniami sposób. Uzyskanie mieszanek nie będącej badaną maścią, a o takim samym zapachu może być nieosiągalne.

Także czas, po jakim planowane jest ponowne poddanie psów zabiegowi (6 miesięcy) budzi wątpliwości. Czy po tak długim czasie pies nadal będzie kojarzył obecność obcej osoby z procesem leczenia?

Konieczne jest znalezienie psów, których właściciele będą rzetelni i wiarygodni.

mgr Wioleta Kocerba-Soroka

Ocena merytoryczna projektu

Celem projektu jest zbadanie mechanizmów mogących stać za zjawiskiem działania efektu placebo u zwierząt. Pomysł jest nowatorski ze względu na brak wiedzy w tej dziedzinie. Obecnie wiele już wiadomo, że u człowieka działanie efektu placebo opiera się głównie na autosugestii. Autorzy projektu skupili się nie tyle na rozpoznaniu występowania placebo u zwierząt, co na głębszym poznaniu jego mechanizmu.

Sugerowany przez autorów wybór czynników wydaje się być wyczerpujący. Bardzo cenne jest to, że autorzy oprócz czynników bezpośrednich, (które moim zdaniem zasługują bardziej na miano czynników mechanicznych), takich jak: pieszczoły, zabiegi związane z leczeniem, stres, zwrócili także uwagę na możliwość błędu całego badania wynikający z właściwej oceny właściciela o faktycznym stanie zdrowia pupila. Jest to jednak niezwykle trudne do zastosowania w praktyce. Wydaje się również, że wynagrodzenie dla właścicieli psów będzie tylko pogłębiało problem, ponieważ może sugerować się żeby mówić, że pies zawsze zdrowieje, bo będzie wydawało mu się, że tak powinien, bo za to mu płacą.

Mam również wrażenie, że autorzy nie są również bezstronni jeśli chodzi o efekt placebo (nie wierzą w skuteczność placebo u zwierząt), sugerując w tabeli 1, że jeżeli podane zostanie placebo i właściciel też będzie wiedział, że to placebo i nie będzie nas chciał oszukać, to pies będzie „chory”. W tym momencie musimy przyjąć dwa założenia: albo że pies będzie „chory” (placebo nie działa) albo „zdrowy” (placebo działa).

Mam dwie uwagi co do samej metodyki eksperymentu:

- 1) Jak będzie mierzone tempo zdrowienia? Czy tylko rozmiarem rany, czy eksperymentator również będzie oceniał stan zdrowotny zwierzęcia wizualnie?
- 2) W projekcie nie jest napisane czy po wywołaniu rany papierem ściernym będzie ona opatrzona i zawinięta bandażem (choć bandaż pojawia się w kosztorysie). Jeśli nie to co z efektem wylizywania rany przez psa. Wiadomo przecież, że nadmierne rozlizywanie, do którego psy mają skłonność, opóźnia gojenie. W trakcie wylizywania wraz ze śliną do rany dostają się bakterie obecne w jamie ustnej psa, powodując zakażenie rany. Przy zakażeniu dochodzi do procesu zapalnego. Poza świadem pojawia się jeszcze ból, obrzęk, zwiększona temperatura i zaczerwienienie, pomimo to zwierzę coraz intensywniej zaczyna lizać ranę. W skrajnych wypadkach (pozwalając na dalszy kontakt rany ze śliną) pies może nawet odgryźć sobie łapę. Z drugiej strony jeśli autorzy owiną ranę psa, może on odczuwać pewien dyskomfort związany z obecnością bandaża na łapie, co również może zakłócić przebieg eksperymentu.

Zdanie (wiersz 98): „Wyniki badań przyczynią się do zwiększenia stanu wiedzy na temat występowania efektu placebo u zwierząt” wydaje się być za wzniosłe, ponieważ autorzy skupiają się na badaniach mechanizmu placebo tylko na jednym gatunku, w obrębie którym wybrali tylko jedną rasę psa. Wybór rasy jest dobrze uzasadniony.

Niezwykle nowatorskim charakterem projektu jest wykorzystanie wyników eksperymentów do dalszych testów klinicznych z udziałem zwierząt. Choć na pierwszy rzut oka wydawać by się mogło, że ma to charakter aplikacyjny, to wyniki badań autorów staną się jedynie podstawą do planowania dalszych doświadczeń w tym temacie. Biorąc po uwagę dotychczasowy stan wiedzy, za mało jeszcze wiadomo, aby rezultat pracy od razu zastosować w testach klinicznych w weterynarii.

Ocena kosztorysu

Ogólnie kosztorys (oprócz wynagrodzenia dla właścicieli psów) jest uzasadniony. Rażąca jest jednak proporcja pomiędzy wynagrodzeniami, a pozostałymi kosztami. Wydaje się że projekt jest napisany dla korzyści finansowych. Autorzy nie przewidują również dłuższego pobytu i kosztów z tym związanych w miejscu znacznie oddalonym od miejsca ich zamieszkania. Rozumie się przez to, że kontrolowanie stanu zwierzęcia przez nich samych będzie ograniczone. Może warto jednak poświęcić kilka dni na obserwację „okaleczonego” psa, który bytuje w np. w Gdańsku. Za mało przewidziano pieniędzy na konsultacje weterynaryjne.

Autorzy przewidują wyjazd na konferencję międzynarodową w drugim roku czasu trwania projektu. Zakładają przez to, że eksperymenty dadzą im ciekawe i warte pokazania przez środowisko naukowe rezultaty. Z drugiej strony sami nie do końca mają przekonanie do działania placebo u zwierząt. (patrz. Tabela 1-uwagi wcześniej), może chcą tylko potwierdzić brak wpływu efektu placebo u zwierząt?

Ocena możliwości wykonania

Na podstawie recenzowanego projektu stwierdzam, że jest możliwa jego realizacja. Sam pomysł początkowo wydaje się groteskowy, ale po wglębnieniu się w problematykę efektu placebo i jego możliwości zastosowania, stwierdza się, że może to być jeden ze sposobów leczenia niekonwencjonalnego. Zapewne każdy właściciel zwierzęcia domowego chciałby móc leczyć swojego pupila w sytuacji zachorowania kolejny raz na tą samą chorobę lub skaleczenia, które są częste u zwierząt, bez kłopotliwych i drogich wizyt u lekarza weterynarii.

mgr Aleksandra Piontek

Celem projektu jest przetestowanie działania różnych mechanizmów, które mogą być odpowiedzialne za występowanie efektu placebo u zwierząt. Autorzy projektu zmierzali się z niezwykle ciekawym, ale też skomplikowanym w badaniu zagadnieniem. Starano się dostrzec różnorodne możliwe przyczyny stojące za tym zjawiskiem i wybrać eksperymenty dopasowane do każdej z nich. Uważam, że autorzy projektu starannie i ze zrozumieniem podeszli do planowania eksperymentów, choć niektóre ich aspekty budzą moje zastrzeżenia.

Mam wątpliwości co do metody wybranej do wprowadzenia „choroby” u psów w badaniu. Jeśli chcecie badać efekt placebo wyłącznie w kontekście tempa gojenia się rany, to jest to dobra metoda pod względem łatwości wykonania zabiegu i późniejszej obserwacji. Może ona jednak wydawać się właścicielom zbyt inwazyjna i zmniejszyć ich chęć do wzięcia udziału w badaniu. Trudno też będzie wybrać obiektywną liczbę czy siłę potarć papierem o skórę, by wywołać podobną ranę u wszystkich badanych psów. Sugerowałabym w zamian wybranie jakiejś substancji w formie płynu lub maści, która, podana w ustalonej ilości, w kontakcie ze skórą wywoła jej podrażnienie. Wydaje mi się też, że przerwy trzydniowe w kontroli gojenia się rany są za długie, gdyż takie

zranienia mogą się goić w dość szybkim tempie. Na miejscu autorów rozważyłabym też zastosowanie opatrunków ochronnych na miejsce zranienia, by wyeliminować możliwość wpływu innych czynników na tempo gojenia się ran (wylizywanie rany, kontakt z podłożem). Wybór jednej rasy psa (golden retriever) jest zasadny w tego typu badaniu, gdyż jest to liczna rasa w Polsce i innych krajach europejskich, znana z dużych zdolności do uczenia się i wrażliwości na zachowanie się opiekuna. Nie jestem przekonana co do wynagrodzenia pieniężnego dla właścicieli psów. Nie widzę też potrzeby wybierania do badania zwierząt, które „wcześniej nie chorowały”, ponieważ autorzy projektu chcą wykorzystać w badaniach jedynie mało inwazyjne podrażnienie skóry, a bardzo wiele chorób przebytych w przeszłości przez zwierzęta nie powinna mieć wpływu na tempo gojenia się takiej rany. Z badań można wyeliminować psy cierpiące na alergię i choroby skóry, oraz mające tendencję do uporczywego wylizywania ran.

Pierwszy eksperyment zakłada, że zwiększona uwaga właściciela (objawiająca się np. częstszym głaskaniem) może przyspieszać proces zdrowienia psa. W grupie psów leczonych prawdziwym lekiem autorzy zalecają ograniczenie kontaktu opiekuna z psem. Jeśli jest to rozumiane jako zmniejszenie kontaktu w stosunku do tego, co pies otrzymuje w codziennych warunkach, może mieć to efekt odwrotny od stosowania placebo – pies w wyniku ograniczenia kontaktu z właścicielem będzie gorzej znosił proces leczenia i rana będzie goić się wolniej. Eksperyment z warunkowaniem jest dobrym pomysłem, choć możliwe, że jedno powtórzenie to za mało, by wywołać reakcję skojarzeniową u psa, chyba że każdorazowe podanie maści będzie przynosić psu czasową ulgę. Eksperyment, mający na celu sprawdzenie, czy stres nie wywołuje polepszenia się stanu zdrowia, jest interesujący i dobrze przemyślany. Pytanie „czy pies jest zdrowy?” kierowane do właściciela w ostatnim eksperymencie jest zbyt ogólnikowe. Miałoby sens, gdyby wprowadzona choroba powodowała znaczące zmiany w zachowaniu (np. apatia, brak apetytu), jednak w tym eksperymencie nie oczekuje się tak widocznego efektu. Lepsze byłoby zapytanie, czy według właściciela rana się zagoiła. Sposób pomiaru wielkości rany za pomocą programu ImageJ jest dobrym i obiektywnym rozwiązaniem.

Kosztorys nie jest zawyżony, choć występuje dość znaczna dysproporcja między wynagrodzeniem a innymi kosztami.

Z drobnych uwag: zastąpiłabym słowo „zabliźnienie” (w 186) słowem „zagojenie”.

Ogólnie projekt wydaje mi się niezwykle ciekawy, a jego wyniki mogą dostarczyć bardzo cennych informacji na temat mechanizmu działania placebo u zwierząt, zwłaszcza, że jest zagadnienie słabo jeszcze poznane. Nie jest to projekt łatwy do zrealizowania ze względu na liczbę eksperymentów i konieczność pracy ze zwierzętami domowymi (i ich właścicielami), na które badacze mają bardziej ograniczony wpływ, niż na zwierzęta w warunkach laboratoryjnych. Uważam jednak, że po udoskonaleniu metodyki, projekt ten ma szansę powodzenia i jest warty realizowania.

mgr Beniamin Wacławik

Ocena merytoryczna projektu

Projekt jest bardzo ciekawy i nowatorski. Autorzy chcą zbadać kilka możliwych sposobów działania efektu placebo u zwierząt. Starają się wziąć po uwagę wszystkie możliwości- tak, aby wyniki mogły pozwolić na wyciąganie mocnych wniosków na temat tego czy efekt placebo występuje. Trudno się do tego przychylić, wydaje się, że rzeczywiście wyodrębnili 4 główne możliwości działania placebo u badanego gatunku (psa). Oczywiście należy pamiętać, że pies jako

gatunek udomowiony i silnie związany z człowiekiem, niekoniecznie musi być dobrym modelem do badania występowania placebo pod wpływem sygnałów społecznych u wielu innych, mniej lub wcale nie związanych z człowiekiem gatunków- ta uwaga dotyczy hipotezy pieszczot i opinii właściciela. Jednak wyniki mogą stanowić na pewno dobry punkt wyjścia do dalszych badań, a wyniki dotyczące hipotezy „stresowej” i „warunkowej” mogą być uznane za o wiele bardziej uniwersalne. Hipotezy są dobrze postawione a plan badania właściwie wykonany. Mój niepokój budzi jednak kilka spraw dotyczących podstawy eksperymentu, czyli leczonej „choroby” - obtarcia skóry. Pierwsza dotyczy eksperymentu z opinią właściciela na temat stanu zdrowia zwierzęcia. O ile łatwo jest dokonać takiego badania w sytuacji rzeczywistej choroby (zwierzęciu „stan się poprawia” lub „pogarsza” co jest dość subiektywnym odczuciem), w tym wypadku miarą zdrowienia zwierzęcia jest gojenie się rany, łatwo obserwowalne dla właściciela. Może to skutkować tym, że człowiek nie da się nabrać- sprawdzi się hipoteza I, ale ten wynik będzie dość słaby (w przypadku innej choroby, wyglądałoby to inaczej). Drugi poważniejszy problem, tyczy się działania placebo na gojenie się rany. O ile w wypadku wielu innych chorób działanie placebo jest mocno potwierdzone to w tym wypadku, nie jest to rzecz tak oczywista. Przykładem na to mogą być badania „Expectation-induced placebo responses fail to accelerate wound healing in healthy volunteers: results from a prospective controlled experimental trial” (Vins i inni) z 2013 roku. Użycie choroby “niepewnej” z punktu widzenia działania placebo, może doprowadzić do znacznego zafałszowania wyników a nawet do wyciągnięcia całkiem błędnych wniosków. Jest to znaczny minus tego projektu.

Ocena kosztorysu

Koszty projektu są dość wysokie (ponad 150 tys. na rok), jednak biorąc pod uwagę obiekt i sposób badania, wydaje się to uzasadnione. Wysokie wydatki na benzynę są nie do uniknięcia przy przyjętych założeniach, a przewidywana zapłata dla właścicieli zwiększa szanse wykonania projektu ☺

Ocena możliwości wykonania

Biorąc pod uwagę dobrze wykonany plan badania, wydaje się, że jest ono możliwe do wykonania. Pewnym problemem może być brak zgody ze strony właścicieli psów, jednak biorąc pod uwagę popularność wybranej rasy, odpowiednia ilość powinna się znaleźć.

Mocne strony wniosku

Ciekawy, nowatorski i naukowo ważny problem

Dobrze postawione hipotezy

Dobrze zaplanowane badanie

Prawidłowy, uzasadniony kosztorys

Słabe strony wniosku

Wybrana choroba może zaburzyć wyniki czwartego eksperymentu

Wybrana choroba wydaje się nie być właściwą do tego rodzaju eksperymentu.

Mechanizm działania placebo u zwierząt domowych

5.2.3. Ostateczna wersja projektu

Streszczenie projektu

Efekt placebo jest znany u ludzi, gdzie każdy medyczny test opiera się na porównaniu działania leku z działaniem placebo. Występowaniu tego efektu u zwierząt poświęca się zdecydowanie mniej uwagi. U człowieka działanie placebo można tłumaczyć różnymi mechanizmami opierającymi się na świadomości (jak np. sugestia na podstawie rozmowy z lekarzem), natomiast działania placebo u zwierząt nie da się wyjaśnić w ten sposób. Badania sugerują jednak, że mechanizm ten nie jest jedynym możliwym i u zwierząt może on być zastąpiony innymi. Jednakże, według naszej wiedzy, nie podjęto dotychczas próby systematycznego rozróżnienia między możliwymi mechanizmami wystąpienia efektu placebo u zwierząt.

Proponowane badania mają na celu przetestowanie możliwych mechanizmów mogących stać za zjawiskiem działania placebo u psów domowych: a) większy kontakt fizyczny z opiekunem (np. głaskanie) w czasie choroby, b) warunkowanie (kojarzenie czynności związanych z procesem leczenia z poprawą stanu zdrowia), c) stres towarzyszący leczeniu jako czynnik stymulujący działanie naturalnej obrony organizmu, i d) wpływ zachowania właściciela i jego błędnej percepcji stanu zdrowia zwierzęcia na wyniki badań.

Odkrycie podłoża działania efektu placebo u psów może przyczynić się do lepszego poznania psychiki zwierząt oraz dać teoretyczne podstawy do ulepszania metodyki przeprowadzania testów klinicznych z udziałem zwierząt.

Cel naukowy projektu

Wpływ czynników psychicznych na stan zdrowia jest od dawna znany w medycynie (Beecher 1955). Efekt placebo występuje, kiedy u pacjenta następuje poprawa po podaniu substancji niebędącej lekiem w taki sposób, by pacjent wierzył, że otrzymuje lek. Badania wskazują, że analogiczny efekt występuje również u zwierząt (Munana i in. 2002). O ile u ludzi efektowi placebo poświęca się dużo uwagi, to o wiele mniej wiadomo o występowaniu analogicznego zjawiska u zwierząt. U człowieka dużą rolę odgrywa bezpośrednia sugestia (poprzez rozmowę z pacjentem), ten mechanizm nie może jednak z oczywistych przyczyn działać u zwierząt. Celem badań jest wyodrębnienie mechanizmu działania placebo u zwierząt. Sprawdzone zostaną trzy czynniki, które mogą być czynnikami bezpośrednimi wywołującymi efekt placebo u zwierząt:

pieszczoty ze strony właściciela; kontakt fizyczny z opiekunem ma pozytywny wpływ na zwierzę (Jeziński i in. 1999). W czasie choroby zwierzę domowe może doświadczać większej uwagi ze strony opiekuna.

warunkowanie; jeśli zwierzę kojarzy zabiegi związane z leczeniem (np. podawanie leków, wizyty u weterynarza) z następującą później poprawą swojego stanu, to przy kolejnej chorobie może reagować na same zabiegi jak na terapię.

zwiększenie możliwości układu odpornościowego organizmu wskutek stresu; dla zwierzęcia terapia jest związana ze stresem, który może powodować mobilizację naturalnej obrony organizmu.

Dodatkowo, sprawdzona zostanie hipoteza, czy występowanie efektu placebo u zwierząt nie jest artefaktem wynikającym z metodyki badań klinicznych. W badaniach oceny skuteczności leków poprawa stanu zwierzęcia może być oceniana na podstawie wywiadu z właścicielem (Shepphard i Mills 2003, Gaultier i in. 2005). Jeśli opiekun myśli, że zwierzę otrzymuje lek, może interpretować objawy zaobserwowane u zwierzęcia jako wskazujące na większą poprawę, niż nastąpiła faktycznie.

W niniejszych badaniach zamierzamy oddzielić efekt subiektywnej oceny właściciela od faktycznej poprawy stanu zwierzęcia, aby sprawdzić, jak wiarygodna jest ocena postępów leczenia dokonywana przez właściciela. Badania przeprowadzone zostaną na psach, ponieważ efekt placebo był u nich obserwowany (Munana i in. 2010), a jako zwierzęta socjalne i nawiązujące ścisły kontakt z opiekunem mogą być szczególnie podatne na wpływ interakcji z człowiekiem (np. głaskania) na proces leczenia.

Znaczenie projektu

Badanie efektu placebo wnosi wkład w zrozumienie złożonych zależności między psychiką a funkcjonowaniem organizmu. Podawanie placebo pacjentom powoduje nie tylko poprawę samopoczucia, ale może również skutkować mierzalnymi zmianami fizjologicznymi (Mayberg i in. 2002). Efekt placebo jest również ważnym czynnikiem, który powinien być brany pod uwagę w czasie badań klinicznych, gdzie kluczowe jest wyodrębnienie efektu działania badanej substancji (leku) i wykluczenie możliwego wpływu innych czynników. O ile w badaniach z udziałem człowieka stosowanie próby ślepej i kontroli placebo jest standardem, to w przypadku badań na zwierzętach ten problem jest zdecydowanie słabiej dostrzegany (McMillan 1999, Munana i in. 2010, Clausen i in. 2013)). Z jednej strony argumentuje się, że u zwierząt nie może działać mechanizm placebo oparty na sugestii, tak jak jest w przypadku człowieka (tzn. pacjent wierzy w skuteczność podawanego środka, ponieważ powiedziano mu o tym, że otrzymuje lek). Istnieją jednak przesłanki sugerujące, że u zwierząt efekt placebo może być wywoływany przez inne mechanizmy. Jednym z nich jest warunkowanie (Clark 2004). Leczone zwierzę może skojarzyć proces podawania leku z poprawą swojego stanu, i późniejsze podanie placebo w ten sam sposób może skutkować reakcją analogiczną do reakcji na lek (Miller i in. 2013). Inną przyczyną poprawy stanu zdrowia zwierzęcia może być większa częstotliwość pozytywnych interakcji z opiekunem w czasie choroby. Głaskanie przez osobę znaną zwierzęciu w sytuacji stresowej powoduje zmniejszenie częstotliwości uderzeń serca, co świadczy o pozytywnym wpływie kontaktu z opiekunem w redukowaniu stresu (Jeziński i in. 1999). Kolejną możliwą przyczyną wystąpienia efektu placebo może być stres związany z zabiegami weterynaryjnymi. Stres, szczególnie długotrwały, jest uznawany za czynnik negatywnie wpływający na zdrowie, jednak pewne badania sugerują, że krótkotrwały stres może również działać stymulująco na układ odpornościowy (Fleshner i in. 2002, Dhabhar i McEwen 1996, 1997).

W naszych badaniach sprawdzimy również, czy efekt placebo obserwowany u zwierząt nie jest jedynie artefaktem wynikającym ze sposobu oceny zdrowienia zwierząt. Jeżeli ocena skuteczności leku przeprowadzana jest na podstawie wywiadu z właścicielem, to obserwowany efekt placebo może wynikać z nieobiektywnej interpretacji objawów zwierzęcia przez właściciela. Opiekun, który spodziewa się, że dany lek zadziała na jego zwierzę, może raportować szybsze postępy w jego zdrowieniu niż faktycznie następują.

Wyniki badań przyczynią się do zwiększenia stanu wiedzy na temat występowania efektu placebo u zwierząt domowych i jego mechanizmu. Pies jest w tych badaniach gatunkiem modelowym, a proponowane przez nas mechanizmy mają na tyle ogólny charakter, że jeśli zostaną odkryte u psów, to da to podstawy do przypuszczania, że istnieją również u innych gatunków. To, czy dany mechanizm ograniczać się będzie do zwierząt domowych (co można przypuszczać w przypadku głaskania, gdzie ważna jest więź z opiekunem), czy też można go uogólnić również na inne gatunki (co jest prawdopodobne w przypadku warunkowania), będzie wymagało odrębnych badań. Badania wniosą wkład w zrozumienie zależności między psychiką a funkcjonowaniem organizmu u zwierząt. Przyczynią się również do lepszego planowania testów klinicznych z udziałem zwierząt, ponieważ zwrócą uwagę na problem kontrolowania efektu placebo w takich testach.

Koncepcja i plan badań

Istnienie każdego z trzech hipotetycznych mechanizmów działania placebo zostanie sprawdzone w trzech osobnych eksperymentach (1-3). W każdym z nich zwierzęta zostaną rozdzielone losowo do czterech grup badawczych: kontrola (w której nie będzie podawany lek), placebo (w której testowany będzie wpływ badanego czynnika bezpośredniego na proces zdrowienia), leczone (w której podawany będzie konwencjonalny lek) oraz placebo + leczone (aby kontrolować ewentualną interakcję pomiędzy wpływem zabiegu placebo i konwencjonalnego leku). W grupie leczonej tylko konwencjonalnym lekiem, czynnik placebo nie będzie działał, co pozwoli na oddzielenie wpływu leku i placebo. U każdego zwierzęcia zostanie ocenione tempo zdrowienia. Szybsze tempo zdrowienia w grupie placebo w porównaniu z kontrolą będzie świadczyć o działaniu efektu placebo poprzez badany w danym eksperymencie mechanizm. Porównanie zabiegu placebo ze zwierzętami leczonymi konwencjonalnie pozwoli na oszacowanie wielkości efektu placebo względem tradycyjnego leku.

Sprawdzenie, czy efekt placebo u zwierząt wynika z subiektywnej interpretacji objawów zdrowienia przez właścicieli, zostanie przeprowadzone w osobnym eksperymencie. Zwierzęta będą otrzymywać lek konwencjonalny bądź placebo. Każda z tych dwóch grup zostanie podzielona na 2 podgrupy: 1) właściciel zostanie poinformowany, czy zwierzę otrzymuje lek czy placebo, zgodnie ze stanem faktycznym; 2) właściciel zostanie błędnie poinformowany o przynależności zwierzęcia do grupy zabiegowej (właściciele zwierząt otrzymujących lek zostaną poinformowani, że zwierzę otrzymuje placebo, i odwrotnie). Eksperyment ten pozwoli na rozróżnienie pomiędzy trzema hipotezami: a) właściciel ocenia stan zwierzęcia zgodnie ze stanem faktycznym; ocena stanu zdrowia zwierzęcia na podstawie raportu właściciela nie jest obciążona błędem; b) przekonanie właściciela na temat leku podawanego zwierzęciu wpływa na ocenę stanu zwierzęcia, c) przekonanie właściciela wpływa na proces leczenia; jeśli właściciel wierzy, że zwierzę zostanie wyleczone, jego zachowanie może mieć wpływ na zwierzę. W tym eksperymencie hipoteza c) jest scenariuszem, w którym przewidywany jest rzeczywisty efekt placebo (czynnikiem placebo jest w tym wypadku zachowanie właściciela spowodowane jego przekonaniami). Wyniki przewidywane w przypadku prawdziwości każdej z trzech hipotez zostały zebrane w tabeli 1.

Tab. 1

Leczenie	Wiedza właściciela	Właściciel dobrze ocenia stan zdrowia psa		Właściciel źle ocenia stan zdrowia zwierzęcia		Działa „sugestia właściciela”	
		Pies	Deklaracja właściciela	Pies	Deklaracja właściciela	Pies	Deklaracja właściciela
1. Lek	Lek	zdrowy	„zdrowy”	zdrowy	„zdrowy”	zdrowy	„zdrowy”
3. Lek	Placebo	zdrowy	„zdrowy”	zdrowy	„chory”	chory	„chory”
4. Placebo	Placebo	chory	„chory”	chory	„chory”	chory	„chory”
6. Placebo	Lek	chory	„chory”	chory	„zdrowy”	zdrowy	„zdrowy”

Metodyka badań

Do badań zostaną wykorzystane psy, które zostały pogryzione. Będą one rekrutowane spośród psów przyprawdzanych do klinik weterynaryjnych po pogryzieniu, ich właściciele zostaną poinformowani o celu i przebiegu badania oraz wyrażą zgodę na udział w nich. Wiadomo, że leczenie zranień jest podatne na różne czynniki, w tym psychologiczne (Broadbent i Koschwanez 2012). Co prawda ostatnie badania (Vits i in. 2014) nie wykazały efektu placebo w leczeniu ran u człowieka, ale placebo wywoływano w nich przez fałszywą informację ustną na temat otrzymywanego przez pacjenta leczenia. Był to jedyny mechanizm, przez który mógłby działać w tych badaniach efekt placebo, a nie może on działać u zwierząt. Z tego powodu badania Vit i in. nie wykluczają zasadności wyboru schorzenia w naszym eksperymencie (rany gryzione).

Badania będą prowadzone na terenie całej Polski. U zwierząt leczonych będzie stosowana maść Solcoseryl, która jest środkiem używanym w leczeniu skaleczeń zarówno u zwierząt, jak i u ludzi. Wszystkie zwierzęta będą mieć ranę oczyszczoną i odkażoną oraz dostaną antybiotyk. Rana będzie kontrolowana i fotografowana w odstępach jednodniowych. Zdjęcia zrobione zaraz po pogryzieniu zostaną ocenione przez dwóch weterynarzy pod względem tego, jak poważna była rana, na skali od 1 (lekkie pogryzienie) do 5 (poważne pogryzienie). Zwierzęta będą przydzielane do zabiegów w ten sposób, żeby osobniki z ranami o różnej punktacji były rozdzielone równomiernie między zabiegami. Punktacja będzie również brana pod uwagę w analizie jako kowariata. Badania będą prowadzone aż do momentu całkowitego zagojenia rany. Na każdy zabieg eksperymentalny, w każdym eksperymencie będzie użyte przynajmniej 10 psów.

Jeżeli zostanie zauważone, że w zabiegu u psa nieleczzonego jego stan się pogarsza, pies zostanie wykluczony z eksperymentu i jego leczenie będzie kontynuowane na koszt badacza.

W eksperymencie 1 (kontakt fizyczny z właścicielem) i 3 (stres), w zabiegu, w którym podawany będzie tylko konwencjonalny lek, będzie on podawany przez badacza, który zawsze będzie tak samo ubrany. Ma to na celu wywołanie skojarzenia leczenia z neutralnym bodźcem, jakim jest obecność eksperymentatora w domu. Właściciele tych psów będą później proszeni o zgłoszenie się w wypadku jeśli zwierzę zostanie pogryzione lub zrani się w inny sposób w ciągu kolejnych 6 miesięcy. Zwierzęta te wezmą udział w eksperymencie 2 (warunkowanie), który będzie przebiegał w 4 grupach eksperymentalnych podobnie jak eksperymenty 1 i 3. W pozostałych eksperymentach każde zwierzę będzie badane tylko jeden raz.

Traktowanie poszczególnych grup zabiegowych w eksperymentach 1-3 zostało podsumowane w tabeli 2.

Tab.2

	kontrola	placebo	leczone	placebo+lечение
Pieszczoty ze strony właściciela	ograniczenie kontaktu fizycznego ze zwierzęciem	szczególne zajmowanie się zwierzęciem (głaskanie, pieszczoty)	ograniczenie kontaktu fizycznego ze zwierzęciem	Szczególne zajmowanie się + lek
Warunkowanie	W eksperymencie wezmą udział zwierzęta, które były leczone przez eksperymentatora w ramach eksperymentu 1 lub 3, i które w późniejszym okresie zostały ponownie poranione.			
	brak bodźca	wizyty osoby, która przy poprzedniej chorobie była obecna przy podawaniu leku zwierzęciu (bodziec warunkujący); wizyty w takich samych odstępach czasowych jak w czasie pierwszej choroby	brak bodźca	warunkowanie+lek
Stres	Brak bodźca	Wożenie psa do lekarza weterynarii, pies otrzymuje zastrzyk z soli fizjologicznej	Brak bodźca	stres+lek

W eksperymencie 4, mającym na celu sprawdzenie wpływu właściciela na wynik badań, wszystkie zabiegi związane z leczeniem rany będą analogiczne do tych używanych w poprzednich trzech eksperymentach. Przed każdorazowym sprawdzeniem rany przez eksperymentatora, właściciel będzie proszony o udzielenie odpowiedzi czy pies jest wg niego zdrowy. Przed rozpoczęciem badań właściciel zostanie poinformowany, że jego pies losowo zostanie przydzielony do grupy otrzymującej placebo lub konwencjonalny lek. Właściciel będzie musiał wyrazić zgodę na piśmie na udział psa w badaniach. Następnie będzie informowany, jaki środek jego pies dostaje, z tym, że część właścicieli zostanie oszukana (tab. 4). Dopiero po zakończeniu badań właściciele zostaną poinformowani o faktycznym celu i metodyce badań. Właściciel przed rozpoczęciem eksperymentu zostanie poinformowany, że powinien klasyfikować psa jako „chorego”, jeśli wykazuje on jakiegokolwiek objawy świadczące o chorobie – zarówno ogólne (np. apatia, zmiany w zachowaniu, zmniejszony apetyt) jak i świadczące o tym, że rana jeszcze się nie zagoiła (np. interesowanie się raną, oznaki świadczące o odczuwanym bólu). Będzie notowany czas, jaki był potrzebny psu do

wyzdrowienia według właściciela, tzn. do momentu, gdy właściciel zaklasyfikuje zwierzę jako „zdrowe”. Właściciele nie będą mogli oglądać rany, ponieważ będzie ona pod opatrunkiem. Oprócz tego rana będzie fotografowana przez badacza tak samo jak w eksperymentach 1-3, i sprawdzony zostanie czas potrzebny do całkowitego jej zagojenia się. Czas oszacowany przez badacza i przez właściciela zostanie później porównany w każdym z czterech zabiegów (tab. 4). Badacz oceniający tempo gojenia się rany nie będzie wiedział, do jakiego zabiegu przypisany jest dany pies.

W eksperymencie będą przeprowadzone 4 zabiegi eksperymentalne wg poniższego schematu:

Tab.3

Leczenie	Wiedza właściciela
1. Rana smarowana codziennie maścią Solcoseryl	Właściciel wie, co jest podawane psu.
2. Rana smarowana codziennie maścią Solcoseryl	Właściciel jest informowany, że psu jest podawane placebo.
3. Rana smarowana codziennie wazeliną	Właściciel wie, co jest podawane psu.
4. Rana smarowana codziennie wazeliną	Właściciel jest informowany, że psu jest podawany lek.

Analiza statystyczna:

Czas potrzebny do wyzdrowienia w eksperymentach 1-4 będzie analizowany przy użyciu ogólnego modelu liniowego, z czasem potrzebnym do zagojenia jako zmienną zależną i zabiegiem oraz punktacją przydzieloną zgodnie z wielkością rany jako zmiennymi niezależnymi, oraz masą ciała psa jako kowariatą. W eksperymencie 4 w analizie GLM różnica między czasem wyzdrowienia a czasem podanym przez właściciela będzie traktowana jako zmienna zależna, zabieg i punktacją przydzielona do wielkości rany jako zmienne niezależne, a masa ciała psa jako kowariata.

Literatura

1. H.K. Beecher, **The powerful placebo**. *The Journal of the American Medical Association*, 1955, ;159: 1602–1606
2. E. Broadbent,, H.E. Koschwanez, The psychology of wound healing, *Current opinion in psychiatry*, 2012, 25: 135-140.
3. R.E. Clark, The classical origins of Pavlov’s conditioning. *Integrative Physiological & Behavioral Science* 2004, 39: 279-294.
4. J. Clausen, H. Albrecht, R. T. Mathie. *Veterinary Clinical Research Database for Homeopathy: Placebo-controlled trials. Complementary therapies in medicine* 2013, 21: 115-120.
5. F.S. Dhabhar, B.S. Mcewen, Acute Stress Enhances while Chronic Stress Suppresses Cell-Mediated Immunity in Vivo: A Potential Role for Leukocyte Trafficking, *Brain, behavior, and immunity*, 1997, 11: 286-306.
6. M. Fleshner , J. Campisi , T. Deak , B.N. Greenwood , J.A. Kintzel , T.H. Leem , T.P. Smith , B.Sorensen, Acute stressor exposure facilitates innate immunity more in physically active than in sedentary rats,

American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2002, 282, doi: 10.1152/ajpregu.00661.2001

7. E. Gaultier, L. Bonnafous, L. Bougrat, C. Lafont, P. Pageat, Comparison of the efficacy of a synthetic dog-appeasing pheromone with clomipramine for the treatment of separation-related disorders in dogs. *Veterinary Record*, 2005, 156,: 533
8. T. Jezierski, Z. Jaworski, A. Górecka, Effects of handling on behaviour and heart rate in Konik horses: comparison of stable and forest reared youngstock, , *Applied Animal Behaviour Science*, 1999, 62: 1-11
9. H.S. Mayberg, J.A. Silva, S.K. Brannan, J.L. Tekell, R.K. Mahurin, S. McGinnis, P.. Jerabek, The Functional Neuroanatomy of the Placebo Effect, *American Journal of Psychiatry*, 2002, 159:728-737. doi:10.1176/appi.ajp.159.5.728
10. F.D. McMillan , The placebo effect in animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1999, 215:992–999.
11. F.G. Miller (red.), *The placebo: a reader*, , Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2013.
12. K.R. Munana,, D. Zhang, E. E. Patterson, Placebo effect in canine epilepsy trials. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2010, 24: 166-170.
13. G. Sheppard, D.S. Mills, Evaluation of dog-appeasing pheromone as a potential treatment for dogs fearful of fireworks. *Veterinary Record*, 2003, 152: 432–436
14. S. Vits, J. Dissemond., D. Schadendorf, L. Kriegler, A. Körber, M. Schedlowski, E. Cesko 2013. Expectation-induced placebo responses fail to accelerate wound healing in healthy volunteers: results from a prospective controlled experimental trial. *International wound journal*, 2013

Kosztorys

Lp.	Treść	Planowane koszty w roku
		2014
1	2	3
1	Koszty bezpośrednie	116375
	w tym:	
	1) wynagrodzenia z pochodnymi	96000
	2) inne koszty realizacji projektu	29810
2	Koszty pośrednie (30%kosztów innych niż aparatura)	37743
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowanych na naukę (1+2)	
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	
5	Koszty ogółem (3+4)	163553

Wyszczególnione wydatki

Koszt realizacji projektu	2014
Materiały:	
-maści (tubka maści na jednego psa)	2400
-strzykawki	60
-wazelina (pudełko na psa)	150
-bandaże (jeden bandaż na psa)	3200
-benzyna (15000 km. do przejechania, spalanie – 10l/km)	9000
Usługi zewnętrzne	
- konferencja międzynarodowa	5000
-leczenie psów w przypadku choroby	10000

5.3. Reakcja na zapach moczu drapieżników rodzimych i obcych na przykładzie nornicy rudej

Autorzy: Wioleta Kocerba-Soroka i Aleksandra Piontek

5.3.1. Pierwsza wersja projektu

Abstrakt

Strategie obrony i ucieczki w obecności zapachu drapieżnika są powszechną cechą u ssaków, jednakże zagadnienie różnic między reakcjami na zapach drapieżników rodzimych i obcych jest słabo poznane. Głównym celem projektu jest porównanie zachowania nornicy rudej (*Myodes glareolus*) w obecności moczu drapieżnika rodzimego, obcego, wprowadzonego do środowiska w niedalekiej przeszłości i gatunku obcego, z którym populacja nornic nie miała wcześniej kontaktu.

Eksperyment będzie polegał na wpuszczeniu pojedynczych nornic (n = 50) kolejno do klatek nastrzykniętych moczem trzech różnych drapieżników, dwóch ssaków roślinożernych i klatki bez moczu. Przez określony czas będzie obserwowane zachowanie się nornic (ucieczkę, ukrywanie się, częstość i czas żerowania). Spodziewamy się, że nornice są w stanie prawidłowo rozpoznać mocz wszystkich trzech gatunków drapieżników i zareagować na niego w odpowiedni sposób (skrócony czas żerowania, unikanie miejsca nastrzykniętego moczem). Strategia ucieczki powinna być skuteczna w odpowiedzi na strategię polowania psowatych (zamieranie w bezruchu, ukrywanie się). Nie przewidujemy wystąpienia reakcji obronnych po kontakcie z moczem ssaków roślinożernych.

Wyniki naszego eksperymentu mogą znacząco przyczynić się do poszerzenia ogólnej wiedzy na temat strategii obronnych drobnych ssaków. Mogą stanowić podstawę do dalszych badań nad mechanizmami rozpoznawania konkretnych gatunków drapieżników u zwierząt.

Cel naukowy projektu

Nornica ruda (*Myodes glareolus*) w warunkach naturalnych stanowi pokarm wielu różnych drapieżników, przez co jest ona przystosowana do rozpoznawania konkretnych gatunków drapieżników i stosowania wobec nich różnych strategii obronnych, takich jak ucieczka, wspinanie się na gałęzie, zamieranie w bezruchu (Ylonen i in. 1992). Różne aspekty zachowania i fizjologii nornicy rudej w obecności substancji zapachowych rodzimego drapieżnika są stosunkowo dobrze poznane. Mało jednak wiadomo na temat reakcji na zapach moczu drapieżnika obcego pochodzenia, z którym kontakt jest niemożliwy ze względu na zasięg występowania.

Głównym celem projektu jest porównanie zachowania nornic w obecności moczu drapieżnika i) rodzimego (lis rudy, *Vulpes vulpes*), ii) obcego pochodzenia wprowadzonego do środowiska stosunkowo niedawno (jenot, *Nyctereutes procyonoides*), iii) obcego, nie będącego w ogóle w kontakcie z dzikimi populacjami nornic (wilk grzywiasty, *Chrysocyon brachyurus*). Będziemy testować hipotezę, że nornice są w stanie prawidłowo rozpoznać mocz wszystkich drapieżników, odczytać go jako zagrożenie i przyjąć odpowiednią strategię obrony. Oczekujemy, że nornice zareagują w taki sposób, jaki pozwoli im najskuteczniej uniknąć zagrożenia ze danej rodziny drapieżników. Badane będą dwa aspekty zachowania nornic: i) sposób ucieczki, ii) czas spędzony na żerowaniu i jego efektywność.

Znaczenie projektu

Unikanie zapachu drapieżnika obserwuje się u wielu ssaków takich jak; szczury, myszy, nornice, króliki, susły, oposy i owce. Ofiary posiadają specyficzne adaptacje, które pozwalają na

rozpoznawanie, unikanie, czy obronę przeciwko drapieżnikom. Przykładowo zapachy kotów, psów czy łasicowatych wywołują wrodzone reakcje u gryzoni, czyli ucieczkę oraz pobudzają oś podwzórce-przysadka-nadnercza odpowiedzialną za uwalnianie hormonów steroidowych w odpowiedzi na stres (Apfelbach i in. 2005). Problem pojawia się wtedy, kiedy do środowiska wprowadza się drapieżnika obcego pochodzenia. W takiej sytuacji ofiary mogą początkowo nie rozpoznać zagrożenia z jego strony lub stosować nieefektywne strategie obrony (Banks i Dickman 2007). Niewiele wiadomo na temat stopnia w jakim obcy drapieżnik może różnić się ewolucyjnie od gatunków rodzimych by zostać prawidłowo rozpoznany przez ofiarę (Cox i Lima 2006).

Zagadnienie skutecznej obrony ssaków przed drapieżnikami, z którymi nie miały wcześniej kontaktu ze względu na zasięg geograficzny jest słabo poznane. W zaplanowanym eksperymencie nowatorskim aspektem jest zbadanie takiego wpływu wśród drobnych gryzoni. Wcześniej badano już wpływ drapieżnika nierodzimego, ale na torbaczach (Parson i in 2007). Autorzy wykazali, że w obecności moczu dingo (drapieżnik rodzimy) kangur szary (*Macropus fuliginosus*) częściej reagował ucieczką, niż w obecności moczu kojota (drapieżnik obcy). W kontroli zarówno mocz człowieka jak i woda nie spowodowały reakcji obronnej u ofiary.

Istnieją badania reakcji zwierząt na obecność drapieżników rodzimych i inwazyjnych, ale rzadko sprawdza się reakcje zwierząt na obecność drapieżników obcego pochodzenia, z którym badana populacja nie mogła mieć wcześniej kontaktu. Porównanie reakcji zwierząt na wszystkie trzy typy drapieżników nie było wcześniej realizowane, przez co nasz projekt może znacząco przyczynić się do poszerzenia wiedzy w tej dziedzinie.

Koncepcja i plan badań

Eksperyment będzie polegał na wpuszczeniu pojedynczych nornic do odpowiednio wyposażonych klatek (opis i schemat w metodyce), a następnie obserwacji ich zachowania przez określony czas.

Zachowania, które będą odnotowywane, to:

1. Zachowanie związane z żerowaniem

- a) czas, który upłynął od początku eksperymentu do pierwszego podejścia do karmnika
- b) łączna liczba podejść do karmnika
- c) łączny czas spędzony w strefie blisko karmnika

2. Zachowanie związane z ucieczką przed drapieżnikiem

- d) czas, który upłynął od początku eksperymentu do pierwszego wejścia w strefę daleką od karmnika
- e) łączny czas spędzony w strefie dalekiej od karmnika, na drabince, w tunelu
- f) łączny czas spędzony z bezruchu

Gatunki drapieżników zostały wybrane tak, by spełniały następujące kryteria:

- a) reprezentują gatunki rodzime, gatunki obcego pochodzenia wprowadzone do środowiska stosunkowo niedawno, oraz gatunki obce, nie będące w ogóle w kontakcie z dzikimi populacjami nornic
- b) znaczącą część ich diety powinny stanowić drobne gryzonie
- c) strategia polowania na drobne ssaki powinna być podobna
- d) gatunki powinny należeć do dość odległych linii ewolucyjnych w obrębie rodziny, by różnice w zapachu moczu były potencjalnie jak największe

Badania wykazały, że zapach moczu jest dobrym sygnałem obecności drapieżnika dla gryzoni (Jędrzejewski i Jędrzejewska 1990). Przewidujemy, że nornice są w stanie rozpoznać zapach moczu wszystkich trzech gatunków drapieżników i odpowiednio na niego zareagować. Powinno się to objawiać skróceniem czasu żerowania, unikaniem części klatki bliżej źródła zapachu drapieżnika oraz preferowaniem przebywania w oddalonej części klatki. Ponadto spodziewamy się, że nornica prawidłowo rozpozna zapach drapieżnika jako należącego do rodziny psowatych. Z badań wynika, że strategią obronną w kontakcie z lisem powinno być zamarcie w bezruchu lub unikanie części klatki blisko źródła zapachu drapieżnika, nie powinno się za to obserwować ucieczki na drabinkę ani unikania wchodzenia do tunelu, czyli strategii stosowanych w obronie przed drapieżnikami z rodziny łasicowatych (Ylonen i in. 1992; Jędrzejewski i in. 1993).

Inne wyniki eksperymentu, których możemy się spodziewać, to zróżnicowane zachowanie nornic w odpowiedzi na zapach różnych drapieżników. W kontakcie z zapachem lisa rudego reakcje obronne nornic mogą być najsilniej przejawiane, gdyż wspólna koewolucja mogła szczególnie uwrażliwić te gryzonie na obecność tego drapieżnika. Jenot został wprowadzony do Polski w latach 50. ubiegłego stulecia; od tego czasu nornice w warunkach naturalnych mogły nauczyć się prawidłowo rozpoznawać zapach tego drapieżnika, jednak możliwe jest, że czas ten może być za krótki do utrwalenia się zachowania w populacji. Dlatego możliwe jest, że badane nornice będą przejawiać mniejszy strach przed zapachem jenota niż lisa, co prowadziłoby na przykład do dłuższego czasu przebywania w strefie blisko karmnika. Wilk grzywiasty, jako gatunek całkowicie odseparowany od populacji nornic w naturze może być w ogóle nie rozpoznawany jako drapieżnik, wtedy nornice powinny zachowywać się tak jak przy ekspozycji na zapach królika. Innym rezultatem może być rozpoznanie zagrożenia, ale nie powiązanie go ze znanymi rodzimymi psowatymi. W takim wypadku spodziewamy się, że nornica będzie stosowała przypadkowe strategie ucieczki, którymi może być zarówno chowanie się do tunelu, zamieranie w bezruchu lub wspinalczka na drabinę.

Użycie prób kontrolnych z moczem królika i aguti ma pozwolić stwierdzić, w jaki sposób nornice będą zachowywać się w obecności zapachu zwierzęcia innego gatunku, nie będącego dla nich zagrożeniem (Jędrzejewski i in. 1993). W przypadku prawidłowego rozpoznania zapachu, zachowanie nornic nie powinno się różnić w obu próbach kontrolnych. Wystąpienie reakcji ucieczki po kontakcie z zapachem aguti (gatunku obcego, z którym lokalne populacje nornic nie mogły mieć wcześniej do czynienia), przy jednoczesnym ich braku po kontakcie z zapachem królika, sugerowałoby, że sama obcość zapachu niespotkanego wcześniej gatunku ssaka wywołuje zmianę zachowania nornic, natomiast nornice nie rozróżniają obcego drapieżnika od roślinożercy. Próba kontrolna bez moczu innego gatunku ma wykazać sposób zachowania się nornicy w sytuacji występowania potencjalnie stresujących czynników nie związanych bezpośrednio z eksperymentem (np. stres związany z przeniesieniem do klatki, obecność obserwatora).

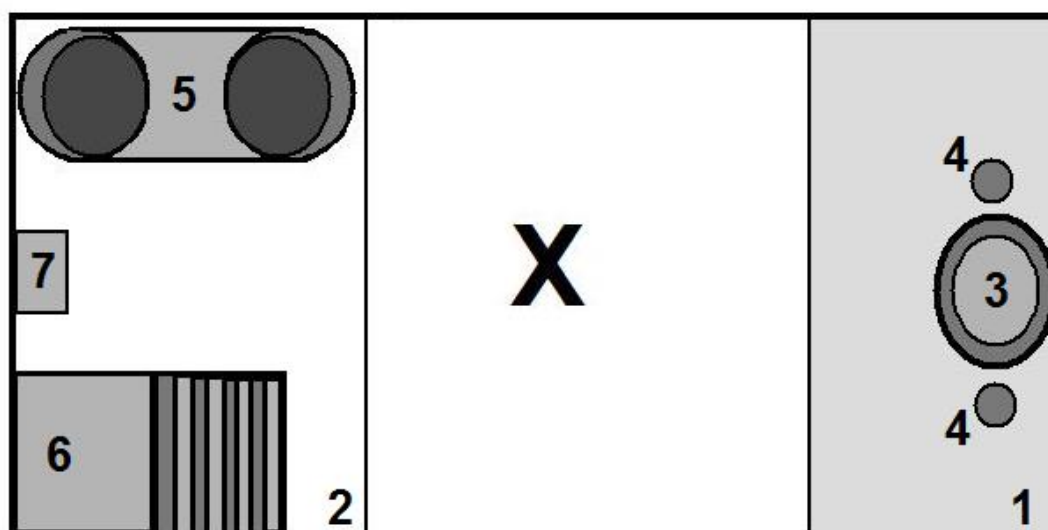
Metodyka badań

Obiektem badań będzie nornica ruda (*Myodes glareolus*), będąca jednym z modelowych gatunków w biologii behawioralnej. Należy do rodziny chomikowatych Cricetidae, podrodziny nornikowatych Arvicolinae. Jest jednym z najpospolitszych drobnych ssaków żyjących na wolności na terenie całej Europy. Zamieszkuje prawie wszystkie typy lasów oraz śródpolne zarośla. Żywi się pokarmem mieszanym z przewagą pokarmu pochodzenia roślinnego (liście, nasiona, kora, pąki, porosty).

Nornice użyte w doświadczeniu będą odłowione z terenów Puszczy Niepołomickiej. Odłowy będą przeprowadzone w lutym, aby schwytane zwierzęta były nieaktywne seksualnie (Borowski 1998). Odłowione zostanie 25 samic i 25 samców, po czym dalsza część eksperymentu odbędzie się w warunkach laboratoryjnych. W celu oswojenia się nornic ze środowiskiem sztucznym zwierzęta będą przechowywane w klatkach o wymiarach 60x30x30 cm przez okres 3 dni przed rozpoczęciem właściwego doświadczenia. Warunki w klatkach będą takie same jak te w czasie eksperymentu (16°C, światło naturalne, dostęp do poideła z wodą, pokarm dla gryzoni w granulacie uzupełniony kawałkami owoców) (Borowski 1998).

W celu stworzenia symulacji warunków w obecności drapieżnika wykorzystamy mocz 3 wybranych gatunków ssaków drapieżnych z rodziny psowatych – lisa rudego, jenota i wilka grzywiastego, oraz 2 ssaków roślinożernych – królika (*Oryctolagus cuniculus*) i aguti (*Dasyprocta punctata*). Mocz będzie pozyskany w krakowskim ogrodzie zoologicznym (wilk grzywiasty, aguti, królik), ogrodzie zoologicznym w Ostrawie (jenot) i lecznicy dla dzikich zwierząt w Przemyślu (lis).

Eksperyment będzie przeprowadzony w klatkach (rys 1.), do których będziemy wpuszczać po jednej nornicy, nie karmionej wcześniej przez 6 godzin. Każdy osobnik będzie przechodził jednokrotnie przez każdą z 6 klatek eksperymentalnych (3 próby z moczem różnych drapieżników, 2 z moczem ssaków roślinożernych oraz 1 pusta) będą przeprowadzone w 5 powtórzeniach. Jeden eksperyment będzie trwał 4 godziny, po tym czasie nornica będzie przenoszona z powrotem do swojej klatki. Po usunięciu nornicy z klatki zważony zostanie pozostały pokarm w karmniku w celu określenia, ile pokarmu zostało zjedzonego przez zwierzę. Każde powtórzenie będzie nagrywane kamerą, a następnie analizowane przez eksperymentatorów. Wybór kolejności klatek eksperymentalnych dla każdego osobnika będzie losowy, by wyeliminować ewentualny związek między kolejnością prezentowanych zapachów a późniejszą reakcją nornic. W przerwach między wpuszczaniem nornic do kolejnych klatek eksperymentalnych, będą one trzymane pojedynczo w klatkach, by uniknąć kontaktu z zapachem, który może utrzymywać się na ciele innych nornic.



Rys 1. Schemat klatki eksperymentalnej. 1 – strefa blisko karmnika, 2 – strefa oddalona od karmnika, 3 – karmnik z pokarmem, 4 – miejsca nastrzyknięcia moczu, 5 – tunel (kryjówka), 6 – drabinka prowadząca na podest, 7 – poidełko z wodą, X – miejsce wpuszczenia nornicy do klatki.

Sprzęt i urządzenia wykorzystywane w eksperymencie:

- 6 wyposażonych klatek, które będą wykorzystane do eksperymentu
- 50 klatek do przechowywania zwierząt przed i po eksperymencie
- żywołapki do odłowu w terenie (100)
- kamera do nagrywania eksperymentu
- stoper

Analiza statystyczna

Do analizy statystycznej użyte zostanie jednoczynnikowa ANOVA, gdzie zmienną niezależną będą poszczególne zabiegi i kontrole (klatki z różnymi sygnałami zapachowymi), a zmiennymi zależnymi poszczególne rodzaje zachowań ofiary, wymienione w rozdziale Koncepcja i plan badań.

Wyniki zostaną opracowane przy użyciu programu statystycznego StatSoft Statistica wersja 7.

Kosztorys projektu badawczego

klatki z wyposażeniem (x56)	11 200 zł	
trociny		300 zł
pokarm dla nornic	200 zł	
żywołapki (x100)	2 500 zł	
pojemniki do przechowywania moczu	20 zł	
kamera cyfrowa ze statywem	2 400 zł	
stoper	20 zł	
lodówka turystyczna	150 zł	
wyjazdy terenowe		
a) Kraków	20 zł	
b) Puszcza Niepołomska	150 zł	
c) Ostrava	400 zł	
d) Przemyśl	250 zł	

RAZEM

17 610 zł

Literatura

Apfelbach R., Blanchard C.D., Blanchard R.J., Hayes R.A., McGregor I.S. (2005) The effects of predator odors in mammalian prey species: A review of field and laboratory studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **29**: 1123–1144

Banks, P. B., Dickman, C. R. (2007) Alien predation and the effects of multiple levels of prey naiveté. *Trends in ecology & evolution*, **22**: 229-230.

Borowski, Z. (1998) Influence of predator odour on the feeding behaviour of the root vole (*Microtus oeconomus* Pallas, 1776). *Canadian Journal of Zoology* **76**: 1791-1794.

Cox, J. G., Lima, S. L. (2006). Naiveté and an aquatic–terrestrial dichotomy in the effects of introduced predators. *Trends in Ecology & Evolution*, **21**: 674-680.

Jędrzejewski W., Jędrzejewska B. (1990) Effect of a predator's visit on the spatial distribution of bank voles: experiments with weasels. *Canadian Journal of Zoology*, **68**: 660-666.

Jędrzejewski, W., Rychlik, L., and Jędrzejewska, B. (1993). Responses of bank voles to odours of seven species of predators: experimental data and their relevance to natural predator – vole relationships. *Oikos*, **68**: 251–257

Parsons M.H., Lamont B.B., Kovacs B.R., Davies S.J.J.F. (2007) Effects of novel and historic predator urines on semi-wild western gray kangaroos. *Journal of Wildlife Management* **71**: 1225-1228

Ylönen, H., Jedrzejewska, B., Jedrzejewski, W., Heikkilä, J. (1992) Antipredatory behaviour of *Clethrionomys voles* - David and Goliath'arms race. *Annales Zoologici Fennici* **29**: 207-216.

Kosztorys

Lp.	Treść		
		2015	Razem
1	2	3	4
1	Koszty bezpośrednie	77 610	77 610
	w tym:	60 000	60 000
	1) wynagrodzenia z pochodnymi		
	2) inne koszty realizacji projektu	17 610	17 610
2	Koszty pośrednie (30%kosztów innych niż aparatura)	23 283	23 283
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowanych na naukę (1+2)	100 893	100 893
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	0	0
5	Koszty ogółem (3+4)	100 893	100 893

5.3.2. Recenzje

prof. dr hab. Mariusz Cichoń

Ocena merytoryczna:

Projekt jest napisany w sposób zrozumiały i logiczny. Zawiera wszystkie wymagane pod względem formalnym części.

Nie jestem ekspertem w dziedzinie adaptacji antydrapieżniczych u gryzoni, ale należy zakładać, że taki nie-ekspert byłby potencjalnym recenzentem projektu w NCN. Piszę to dlatego, że projekt mnie jako nie-eksperta nie przekonuje. Nie potrafię sobie wyobrazić jakie znaczenie dla rozwoju nauki będą miały wyniki zebrane w ramach tego projektu. Szczególnie nie zachęca postawiona hipoteza, która zakłada, że nornice są w stanie rozpoznawać mocz potencjalnych drapieżników i zastosować odpowiednią strategię obronę. Do tego nie wiadomo co to jest ta

tajemnicza odpowiednia strategia, skoro potencjalni drapieżnicy są z tej samej rodziny i zapewne polują podobnie. Będą badane 2 zachowania (antydrapieżnicze?): ucieczka i żerowanie. Po pierwsze jak zdefiniować ucieczkę w zamkniętym małym pomieszczeniu. Można najwyżej unikać zapachów a nie uciekać, bo ucieka się przed realnym zagrożeniem, a mocz przecież nim nie jest. Sikający lis może być kilka kilometrów dalej od wążającej normicy (tu nawet około 250!;-)), zatem zapach może być co najwyżej sygnałem zagrożenia każącym normicy być na baczności, a nie koniecznie sygnałem ucieczki. Po drugie czy czas żerowania to strategia antydrapieżnicza? Autorki oczekują, że normice zareagują w taki sposób, jaki pozwoli im najskuteczniej uniknąć zagrożenia z danej rodziny drapieżników. Jak za pomocą tych dwóch miar behawioralnych można na zweryfikować takie oczekiwanie? Moim zdanie nie da się! Nawet jeśli zaobserwują jakiegokolwiek różnice w zachowaniu normic, to takie wyniki nie dadzą podstaw wnioskowania o skuteczności jakiegokolwiek strategii.

Metodyka:

Czy autorki nie martwią się tym, że wykorzystując wielokrotnie tą samą klatkę eksperymentalną normice będą narażone na zapachy poprzednich normic, co może mieć wpływ na wyniki badań, dodatkowo czy mocz testowy nie wietrzeje? Będzie uzupełniany? Dlaczego miejsce nastrzyknięcia położone jest przy jedzeniu? Normice mogą niechętnie przyjmować pokarm w obecności nieprzyjemnych zapachów i może to nie mieć żadnego związku z zachowaniami antydrapieżniczymi.

Analizy statystyczne są chyba nieprzemyślane. Z opisu eksperymentu rysuje się znacznie bardziej skomplikowany model statystyczny niż jednoczynnikowa ANOVA. Każdy osobnik wygeneruje 6 pomiarów dla każdego z badanych zachowań, które nie będą od siebie niezależne, bo obciążone wcześniejszym doświadczeniem. Do tego te dwa badane zachowanie nie są do końca niezależne, bo normica nie może „uciekać” jak przyjmuje pożywienie. Jakie są konkretne przewidywania w kontekście analizy danych?

Kosztorys:

Bardzo tanie badania, aż za tanie, żeby NCN zawracał sobie głowę takim wnioskiem. Takie koszty można pokryć z Działalności Statutowej Instytutu, szczególnie, że koszty można znacznie obniżyć pożyczając klatki, żywołapki, kamerę i ograniczając „wycieczki” do Ostrawy i Przemyśla. Do tego, jakie jest uzasadnienie wynagrodzeń w wysokości 60tys zł? Kto na otrzymać to wynagrodzenie i za co? Cały eksperyment zostanie wykonany w kilka dni, zatem zakłada się, dość znaczne koszty pracy.

Klatki i wyposażenie powinny być traktowane jako aparatura a nie środki nietrwałe.

Wykonalność:

Projekt jest wykonalny, ale pytanie czy warty finansowania.

Mocne strony:

Stosunkowo tanie badania, możliwe do wykonania w bardzo krótkim czasie.

Słabe strony:

Projekt trochę mało konkretny, pisany okrągłymi zdaniami, z których nic nie wynika. Nieprzemyślane do końca eksperymentalny setup, a w szczególności analiza danych.

dr Hajnalka Szentgyörgyi

Ocena merytoryczna projektu

Przedstawiony projekt dobrze wpisuje się w nurt badań na temat strategii obronnych i rozpoznawanie drapieżnika przez ofiarę. Jednak testowanie zapachu drapieżnika obcego (wilka grzywiastego) u drobnych gryzoni nie jest nowatorskim pomysłem jak go określają autorzy. Większość badań rozpoznawania zapachu drapieżnika wśród ssaków zostało przeprowadzone na szczurach i myszach, ale także na nornicach, więc na drobnych grzyoniach. Wprowadzenie całkiem obcego zapachu drapieżnika, może wydawać się ciekawym pomysłem, jednak bez dokładnych badań chemicznych składu moczu/czy innego źródła zapachu takie badanie czysto behawioralne nie odpowie nam na pytanie, czy psowate są ogólnie rozpoznawalne dla nornicy, jako pewien typ drapieżnika. Nie jest to wykluczone. Możliwe, że wszystkie psowate wydzielają w moczu np. TMT – tzw. zapach lisi. Jednak bez badań chemicznych odpowiedź na to pytanie będzie czystą spekulacją, nawet stosując takie grupy kontrolne jak aguti i królik.

Natomiast o wiele ciekawszym i bardziej nowatorskim pomysłem jest zbadanie reakcji nornic na zapach jeszcze nowego, ale już obecnego w ich środowisku drapieżnika inwazyjnego, jakim jest jenot. Zapach całkiem obcego drapieżnika, nawet jeśli wywoła jakąkolwiek reakcję obronną będzie tylko świadczyła o odróżnieniu go od znanych już zapachów środowiska i potraktowanie go przez nornicę, jako nieznaną, więc teoretycznie potencjalnie groźną. Natomiast reakcja obronna na zapach jenota może faktycznie odpowiedzieć na pytanie, czy w tak krótkim czasie od pierwszego kontaktu z nowym drapieżnikiem nornice zdążyły nauczyć się rozpoznać i wykształcić jakąś strategię obronną przeciwko niemu (może nawet niekończenie podobną jak u lisa). Zamiast dodawać zapachu całkiem obcego drapieżnika, lepiej poszukać populacje nornic na terenach występowania jenota, oraz populacje dziewicze, nie mogące mieć jeszcze kontakt z tym drapieżnikiem i porównać różnice w ich reakcji na ten zapach. Takie porównanie miałyby o wiele większe znaczenie zarówno w badaniach nad strategiami obronnymi, jak i w badaniach nad gatunkami inwazyjnymi.

Ocena kosztorysu

Koszty samych badań (materiały i podróże) są rozsądnie zaplanowane i zasadne. Ewentualnie można by było zastąpić zagraniczny wyjazd po materiał badawczy wyjazdem do którejś hodowli krajowej zwierząt futerkowych. Koszty wynagrodzeń są zawyżone, nawet zakładając długi czas potrzebny na odłów zwierząt, wykonanie eksperymentu i opracowanie wyników, stawka wynagrodzeń powinien się mieścić w granicach pół etatu, a nie całego.

Ocena możliwości wykonania

Założenia projektu i przedstawione metody pozwolą na uzyskanie zaplanowanych wyników, jednak jak wspomniałam w opisie merytorycznej projektu, pewne zmiany w metodach pozwoliłyby na uzyskanie bardziej wartościowych i ciekawszych rezultatów.

Mocne strony wniosku

Autorzy logicznie i jasno zbudowali ogólny plan eksperymentu kontrolując możliwe zmienne badanych czynników. Szczególnie dobranie grup kontrolnych zapachem zwierząt roślinożernych jest dobrze przemyślane. Pozwoli to na łatwe opracowanie wyników. Także opisana metoda statystyczna powinna umożliwić prawidłową analizę uzyskanych wyników.

Słabe strony wniosku

Projekt jest mało ambitny. Rozszerzenie projektu o dodatkową grupę ofiar (nornice nie mające kontakt do tej pory jenotem), oraz wykonanie poza testem behawioralnym także analiz składu chemicznego prezentowanych zapachów, pozwoliłoby na bardziej dogłębną analizę przyczyn wykazanych strategii obronnych nornic. Badania mogłyby także odpowiedzieć na pytanie, jak szybko są w stanie nornice dostosować swoje zachowanie do nowego gatunku drapieżnika w ich otoczeniu.

Mimo dobrego ogólnego planu badawczego, pewne szczegóły metodologiczne wymagają dopracowania.

Nie wiadomo czy przedstawiony plan klatek eksperymentalnych jest nowatorskim pomysłem, czy standardowym sposobem prowadzenia takich badań.

Dlaczego akurat przez 4 godziny są zwierzęta testowane? Czy nie wystarczyłoby mniej czasu?

Czy mocz od drapieżników będzie pobrany od jednego, czy od wielu osobników i jak będzie przechowane do czasu eksperymentu?

Co oznacza, że osobniki będą przechodzić przez klatki eksperymentalne jednokrotnie w pięciu powtórzeniach?

dr Szymon Drobniak

Przedstawiony projekt badawczy dotyczy zdolności gryzoni do rozpoznawania zagrożenia ze strony dużych ssaków drapieżnych na podstawie obecności substancji zapachowych obecnych w moczu. Modelowym gatunkiem w proponowanym projekcie będzie nornica – gatunek dobrze poznany i często wykorzystywany w badaniach behawioralnych. Pomysł na zaprezentowane badania jest ciekawy, dotyczą one także ważnego z punktu widzenia ochrony przyrody problemu gatunków introdukowanych. Nie można jednak nie zwrócić uwagi na kilka czynników których autorzy nie wzięli pod uwagę proponując temat badań.

Ocena merytoryczna projektu

Wstęp i cel badań. Z punktu widzenia wkładu w istniejący stan wiedzy projekt z całą pewnością ma szansę na wygenerowanie publikacji publikowalnych w dobrych czasopismach z listy filadelfijskiej. Problem, jaki podjęli badacze dotyczy bardzo aktualnego problemu jakim jest rozprzestrzenianie się inwazyjnych gatunków drapieżnych i ich wpływ na ekologię i cechy behawioralne natywnych gatunków zwierząt. Ogólnie więc temat projektu jest dobrze osadzony w aktualnej tematyce badawczej w dziedzinie behawioru reakcji na drapieżniki. We wstępie brakuje jednak bardziej szczegółowych i konkretnych przykładów – pojawia się kilka ogólnikowych stwierdzeń, bez podania szczegółowego przykładu bliskiego taksonomicznie proponowanemu systemowi badań. Stwierdzenia typu „istnieją badania...” należałoby poprzeć 1-2 przykładami na faktycznie istniejące tego typu prace.

Koncepcja badań i metodyka. Zaproponowany układ eksperymentalny został zaprojektowany z właściwymi założeniami – co istotne badacze wzięli pod uwagę 2 grupy kontrolne, dzięki którym uda się rozdzielić wpływ 2 aspektów eksperymentu (obcość gatunku oraz pozycja taksonomiczna gatunku). Wydaje się jednak, że powinna znaleźć się tutaj także dodatkowa sytuacja w której nornica wpuszczana jest do klatki bez moczu, ewentualnie z zupełnie niezwiązanym z innymi zwierzętami zapachem. Ponieważ nornica jest przed eksperymentem głodzona, różne osobniki mogą w różny sposób alokować swoje zachowanie pomiędzy śmiałością w zdobyciu pokarmu i ucieczką przed drapieżnikiem. Badania prowadzone w ostatnich latach nad tzw. osobowością gryzoni czy ptaków

wskazują na ogromną zmienność takich cech osobowości i co więcej – na istnienie kompromisów między ekspresją takich cech osobowości jak śmiałość, zachowanie eksploratorskie, asekuracyjność etc. Innymi słowy – na wpływ stworzonych grup eksperymentalnych może nałożyć się osobowość poszczególnych osobników, potencjalnie zacierając różnice między grupami eksperymentalnymi. Dodatkowym czynnikiem mogącym stwarzać pewne problemy może być też umieszczenie poidła po przeciwnej stronie do pokarmu: głodzona nornica może być (w zależności od wyjściowej kondycji) bardziej odwodniona niż głodna – wtedy bodziec pokarmowy może być słabszy niż bodziec związany z pragnieniem, co również może wpłynąć na wynik eksperymentu. Problemu te mogłyby być rozwiązane przez zastosowanie pilotażowych obserwacji zachowania się nornic w proponowanym układzie doświadczalnym bez zapachu drapieżników.

Kolejnym elementem jaki może być istotny – i mocno wpłynie na ogólność wyciąganych wniosków – jest wykorzystanie tylko 1 populacji nornic. Z wielu prac wiadomo, że zmienność geograficzna behawioru i cech osobowości zwierząt jest ogromna. Można także spodziewać się, że w zależności od składu gatunkowego fauny drapieżniej poszczególne populacje nornic mogą istotnie się różnić swoimi reakcjami na różne drapieżniki. Należałoby więc postarać się o zwierzęta z kilku populacji, najlepiej oddalonych od siebie, w celu porównania wpływu zmienności geograficznej na badaną cechę. Jest to szczególnie ważne biorąc pod uwagę, że wnioskodawcy wyraźnie podkreślają znaczenie swoich badań w ochronie przyrody – a więc ich uniwersalny charakter.

Wreszcie trzeci problem – w badaniach wykorzystane zostaną zwierzęta z populacji, która już doświadczyła introdukcji nowego drapieżnika (jenota?) – czy możliwe by było odnalezienie w populacji, gdzie z dużym prawdopodobieństwem takie zdarzenie nie zaszło? Zwierzęta z populacji bez znanego wprowadzonego drapieżnika mogą inaczej odpowiadać na inny nowy i obcy gatunek; wydaje mi się, że taka „dziewicza” populacja bez kontaktu z obcym drapieżnikiem byłaby wręcz bardziej interesująca z punktu widzenia samego pomysłu na badania.

Inne drobne kwestie wymagające lepszego uzasadnienia w projekcie:

- czy królik jest faktycznie tak dobrze znanym nornicy gryzoniem? Tzn. – czy w Puszczy Niepołomickiej faktycznie występują powszechnie króliki (gatunek łąkowy i terenów otwartych?) – potrzebne jest tutaj uzasadnienie na podstawie znanych danych
- jak powszechnie w Puszczy Niepołomickiej występuje jenot?
- analiza statystyczna wydaje się trochę powierzchowna – interesujące może być zastosowanie metod biorących pod uwagę korelacje między obserwowanymi cechami (np. MANOVA) ponieważ może się okazać, że odpowiedzią na określonego drapieżnika może nie być tylko 1 typ obserwowanego zachowania ale ogólny „syndrom behawioralny” czyli całościowy zestaw związanych ze sobą zachowań.
- wielkość próby: w opisie metod powinny pojawić się informacje o spodziewanych wielkościach efektów jakie eksperyment będzie mieć na zachowanie się nornic – oraz czy zaproponowana próba jest wystarczająca do wykrycia przewidywanych efektów.

Ocena kosztorysu

Kosztorys wydaje się być bardzo ostrożny lub wręcz zaniżony (koszty samych badań stanowią nie ponad ¼ wynagrodzeń)! W szczególności zaniżone wydają się koszty prac terenowych (na pewno byłyby one wyższe, choćby biorąc pod uwagę koszty diet, dojazdu i poruszania się na miejscu etc.) W zupełności kosztorys mógłby być nie tylko powiększony biorąc pod uwagę przedstawiony zarys

badania, ale także wręcz podwojony/potrojony jeśli badacze zdecydowaliby się na pobranie prób z więcej niż 1 populacji. Wysokość wynagrodzeń jest bez zarzutu.

Ocena możliwości wykonania

Projekt oceniam jako wykonalny – przede wszystkim ze względu na prostotę zaproponowanych metod. Badania proste odpowiadające jednocześnie na ważne i ciekawe pytania mają z reguły największy potencjał publikacji w wysoko punktowanych czasopismach. Pewne obawy może budzić brak przewidzianych dodatkowych osób do realizacji – wydaje mi się, że 1 dodatkowa osoba byłaby dobrym zabezpieczeniem siły roboczej potrzebnej do realizacji wszystkich zadań. Jak wspominałem, kosztorys wydaje się być bardzo ostrożny – jest to jedyny aspekt projektu który każe mieć wątpliwości co do jego wykonalności – wydaje mi się że dla sprawnego wykonania projektu nakłady na jego realizację powinny być jednak większe.

Mocne strony

- ciekawy i dobrze przemyślany eksperyment
- powiązanie badań laboratoryjnych ze zwierzętami pochodzącymi z dzikiej populacji
- istotność problemu badań w kontekście współczesnych problemów w wprowadzeniem do siedlisk naturalnych nowych, obcych gatunków zwierząt
- niewygórowany kosztorys (ale patrz komentarz dotyczący wykonywalności)

Słabe strony

- brak wzięcia pod uwagę możliwe zmienności między populacjami (także z punktu widzenia różnej ekspozycji różnych populacji na różne zestawy fauny drapieżnej)
- brak dyskusji tego jak głodzenie nornic może wpłynąć na badane zachowania
- nieco ogólnikowa dyskusja we wstępie – brakuje kilku bardziej szczegółowych danych, które by utwierdziły czytelnika w przekonaniu, że jest to słabo zbadany ale obiecujący temat dla nowego projektu badawczego
- szereg stylistycznych potknięć w tekście (np. „nornice będą przechowywane”, „zagrożenia Z danej rodziny drapieżników”, „ma pozwolić stwierdzić”)

mgr Andrzej Antoł

Przedstawiony projekt badawczy Aleksandry Piontek i Wiolety Kocerby-Soroki ma dotyczyć ciekawego zagadnienia, jak zwierzęta lądowe reagują na sygnał o zagrożeniu drapieżnictwem (traktowanej tutaj jako model małego gryzonia proponuje się nornicę rudą) zarówno ze strony drapieżnika rodzimego jak i inwazyjnego oraz zupełnie obcego. Myślę, że w kontekście rosnącego problemu występowania gatunków inwazyjnych w rodzimej florze i faunie takie badania są bardzo potrzebne. Pozwalają nam one zbadać mechanizmy stojące za obserwowanymi przez nas zaburzeniami w ekosystemach powstałymi w wyniku inwazji. Oprócz tego (nieco aplikacyjnego) znaczenia również ciekawe jest zbadanie, czy 50 lat kontaktu między nornicami i jenotami jest dla doboru naturalnego wystarczające do utrwalenia lęku przed tymi gatunkami. Przedstawiony eksperyment co prawda, według mnie, nie daje możliwości udzielenia jednoznacznej odpowiedzi na postawione wyżej pytanie, co jest jego słabą stroną. Można sobie wyobrazić, że reakcja uciekania przed zapachem drapieżnika jest u nornic wyuczona. Mechanizmem warunkowania mogłyby być

obserwacje, kiedy osobnik tego samego gatunku ginie lub własne doświadczenie, kiedy dany osobnik miał kontakt z drapieżnikiem, ale doszło do nieudanego polowania. Testem na tę hipotezę mogłoby być powtórzenie tych badań na zwierzętach wyhodowanych w laboratorium. Jednakże wyżej przedstawione zarzuty nie przekreślają proponowanego eksperymentu.

Interakcje drapieżnik-ofiara, nawet, jeśli nie prowadzą do śmierci ofiary (tzw. non-consumptive effect) mogą nieść za sobą konsekwencje, widoczne na o wiele wyższym poziomie niż schowanie się nornicy do kryjówki. Są znane korelacje między wprowadzeniem wilków do środowiska, a zmianą miejsca żerowania jeleni wapiti (park Yellowstone), co pociągnęło za sobą dalsze zmiany w ekosystemie. Prowadzenie eksperymentów na jeleniach jest niewątpliwie trudne. Wpływ obecności drapieżnika na zachowania ofiar i na ekosystemy bada się na często organizmach wodnych (pierwotniaki, mięczaki itp.). Przedstawiony projekt może być zaczątkiem prowadzenia badań takich reakcji u zwierząt lądowych.

Przedstawiony kosztorys projektu ze względu na relatywnie niskie koszty środków nie budzi moich wątpliwości.

Uważam projekt za możliwy do wykonania przy założonym budżecie.

Do mocnych stron wniosku należy też prostota wykonania i jasne kryteria odrzucania poszczególnych hipotez. Słabą stroną jest jak wspominałem, skupianie się na zwierzętach tylko dzikich. Poza tym nie jest do końca przekonująco wyjaśnione dlaczego autorki uważają, że niezbadanie reakcji na mocz drapieżnika u gryzoni jest takie ważne, że należy przeprowadzić proponowane badania. Mam też wątpliwości, czy ewolucyjna odległość lisa i wilka grzywiastego bezpośrednio implikuje inny skład moczu, co sugerują autorki (choć uprawdopodobnia takie zjawisko).

Autorki nie uchroniły się też przed pewnymi niedociągnięciami edytorskimi. W wierszu 43 brakuje słowa strony. W wierszu 52 po wyliczeniu gatunków unikających drapieżnika przydałaby się jakaś cytacja. W wierszu 66 w cytacji widnieje nazwisko Parson, w czasie, gdy w spisie literatury Parsons. Łacińska nazwa królika i aguti powinna się pojawić wcześniej, w wierszu 132. Zaproponowana analiza statystyczna nie bierze pod uwagę wpływu kilkakrotnego testowania tego samego osobnika (proponuję ogólny model liniowy z osobnikiem jako czynnikiem losowym i zabiegiem jako czynnikiem ustalonym).

Podsumowując uważam badania za ciekawe i ważne, ale proponuję autorkom wzięcie pod uwagę innych czynników (a nawet przeprowadzenie większej ilości eksperymentów) i dopracowanie projektu pod tym kątem.

mgr Natalia Derus

Ocena merytoryczna projektu

Zaproponowane w projekcie badania są stosunkowo nieskomplikowane i obejmują jeden eksperyment behawioralny, sprawdzający reakcje zwierząt na drapieżniki. Pomysł jest nowatorski, do tej pory nie były realizowane badania sprawdzające reakcje modelowego gatunku gryzonia na drapieżniki, z którymi miały (bądź nie miały) styczność w różnym stopniu. Jednak, jak już wspomniano, w skład projektu wchodzi niewielka liczba zadań (w zasadzie na poziomie skomplikowania eksperymentu do prac magisterskich, a nie projektu rozmiarów chociażby grantu Preludium). Realizując badania tego rodzaju można by pokusić się o sprawdzenie reakcji gryzoni także na drapieżniki z innych rodzin. Nie skomplikowałoby to znacznie eksperymentu, a zdecydowanie bardziej rozbudowałoby wiedzę na badany temat.

Ocena kosztorysu

Kosztorys planowanego eksperymentu opiewa na relatywnie niską kwotę. Rozbudowa eksperymentu o inne grupy drapieżników nie podniosłaby znacznie kosztów. W kosztorysie powinny zostać ujęte koszty zakupu pojemników na mocz i środków czyszczących do klatek (patrz: część „Słabe strony wniosku”).

Czy badacze dokonywali rozeznania na temat potencjalnych kosztów zdobycia moczu drapieżników z ZOO? Czy mocz będzie darmowy?

Wynagrodzenia dla eksperymentatorów?

Ocena możliwości wykonania

Projekt nie jest bardzo wymagający czasowo i finansowo. Istnieje pewne ryzyko, iż dane uzyskane w eksperymencie mogą okazać się niejednoznaczne (np. poprzez duże zróżnicowanie reakcji nornic na mocz), jednak w takim wypadku pozyskanie nowych osobników nornic i nowych próbek moczu nie powinno stanowić dużego problemu.

Mocne strony wniosku

- 1) Łatwość pozyskania materiałów
- 2) Niskie koszty
- 3) Istotna tematyka

Słabe strony wniosku

- 1) Klatki eksperymentalne powinny być dezynfekowane po każdej próbie reakcji nornicy na mocz drapieżnika. Zestresowane zwierzęta mogą pozostawiać na terenie klatki zapach, który może wpływać na zachowanie kolejnych badanych osobników
- 2) Mały stopień rozbudowania eksperymentu.
- 3) Nie uwzględnienie pewnych kosztów w kosztorysie.

mgr Mateusz Sobczyk

Ocena merytoryczna projektu

Proponowany projekt porusza ciekawy aspekt z ważnej biologicznie problematyki interakcji drapieżnik – ofiara. W moim odczuciu jednak autorki zbyt silnie akcentują, że problem badawczy projektu związany jest z badaniem konkretnych gatunków drapieżników i ofiary. Takie podejście obniża pozytywny odbiór całości projektu, gdyż odnosi się wrażenie, że autorki interesuje tylko ta konkretna interakcja a nie kompleksowe podejście do tematu i potraktowanie swoich badań jako modelu pomagającego wyjaśnić ważny problem biologiczny. Niemniej włączenie do badań drapieżnika obcego pochodzenia niedawno zasiedlającego terytorium ofiary uważam za bardzo pomysłowe posunięcie, które przyczyni się do poszerzenia wiedzy o gatunkach inwazyjnych i ich wpływie na gatunki rodzime.

Ocena kosztorysu

Kosztorys dobrze zaplanowany, wydatki dobrze uzasadnione. Kwota 20 zł na wyjazd terenowy do Krakowa wydaje się lekko zaniżona.

Ocena możliwości wykonania

Uważam, że wnioskowany projekt w zaprezentowanej formie ma duże szanse realizacji. Sugerowałbym badaczkom dodatkowo ważyć nornice przed i po eksperymencie. Otrzymana różnica w masie osobnika będzie miarą asymilacji zjedzonego pokarmu i bezpośrednio da nam informacje o efektywności żerowania. Domyślam się, że każda z klatek eksperymentalnych będzie przeznaczona stale do jednego rodzaju moczu, jeżeli nie to sugerowałbym opracowanie jakiegoś sposobu czyszczenia klatek pomiędzy zabiegami. Z drugiej strony należy wziąć pod uwagę czy przypisanie klatki tylko do jednego zabiegu nie spowoduje, że z kolejnymi próbami zapach moczu będzie stale wzrastał.

Mocne strony wniosku

- Oryginalny pomysł włączenia do badań drapieżnika obcego pochodzenia niedawno zasiedlającego terytorium ofiary.
- Staranny i przemyślany opis alternatywnych reakcji nornic na zapach moczu trzech różnych rodzajów drapieżnika

Słabe strony wniosku

- Wąska tematyka badawcza projektu, skupienie się tylko na jednym aspekcie świadczącym o obecności drapieżnika tzn. moczu, tylko jeden eksperyment to trochę mało jak na projekt badawczy.
- Zbyt dużo zmiennych monitorowanych w czasie eksperymentu, brak jednej miary określającej zachowanie nornicy na zapach moczu drapieżnika, co może skutkować problemami z analizą i interpretacją otrzymanych wyników.

mgr Wojciech Tokarz

1. Ocena merytoryczna projektu

Projekt porusza ciekawy i istotny problem z zakresu ewolucji przystosowań zwiększających dostosowanie osobników pod presją drapieżniczą. Autorki właściwie uzasadniają doniosłość badań i znaczenie możliwych do uzyskania wyników. Planowane badania nie są co prawda nastawione na rozwiązanie kluczowych problemów w dziedzinie ewolucji, ale mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia subtelnych, acz istotnych aspektów tego zjawiska, tzn. elementów procesu wykształcania się zdolności rozpoznawania przez ofiary sygnałów zapachowych pozostawianych przez drapieżniki w postaci moczu.

2. Ocena kosztorysu

Wszystkie przedstawione w kosztorysie wydatki będą potrzebne do właściwego wykonania projektu. Zastrzeżenia może budzić duża liczba klatek do przetrzymywania zwierząt i żywołapek - w

przypadku wykonania odłowów w kilku turach nie trzeba byłoby kupować ich tak dużo, a koszty logistyczne zwiększyłyby się jedynie nieznacznie.

Znacznie przesadzona jest jednak wnioskowana kwota wynagrodzenia dla wykonawców projektu. Z opisanej metodyki wynika, iż czas trwania projektu będzie stosunkowo bardzo krótki (nawet poniżej 1 miesiąca, przy wysokiej efektywności odłowów), a co się z tym wiąże, również nakład pracy wykonawców będzie stosunkowo niewielki, z pewnością nie zasługujący na wynagrodzenie rzędu 30 tys. zł na osobę. Po zmianie tej kwoty na niższą i adekwatną, można będzie stwierdzić, że kosztorys jest jedną z największych zalet projektu, ze względu na stosunkowo niskie koszty badań.

3. Ocena możliwości wykonania

Projekt stosunkowo łatwy do zrealizowania, przygotowany dokładnie, z uwzględnieniem w metodyce praktycznych aspektów realizacji. Wnioskując z opisu, brak zauważalnych „słabych punktów”, mogących uniemożliwić wykonanie badań. Metodyka właściwie dobrana, nastawiona na zebranie odpowiednich danych i próbę rozwiązania sformułowanego problemu.

4. Mocne strony wniosku

- a) Wyczerpujące i dobrze skonstruowane streszczenie projektu
- b) Jasne i zrozumiałe przedstawienie celu badań i planowanych sposobów jego osiągnięcia
- c) Wyczerpująco opisany dotychczasowy stan wiedzy na temat omawianego zagadnienia
- d) Bardzo czytelnie opisane przewidywania i założenia projektu
- e) Zastosowanie dokładnie przemyślanych rozwiązań w metodyce projektu (np. ustalenie skąd dokładnie zostanie pozyskany mocz do użycia w eksperymentach) i szczegółowy jej opis
- f) Fachowy styl opisu, umiejętnie zastosowane zabiegi systematyzujące tekst (np. formatowanie wycień: „i), ii)” itd.).

Generalnie rzecz ujmując poza niewielkimi niedociągnięciami, które ewidentnie wynikają raczej z przeoczenia niż zaniedbania, wniosek został przygotowany bardzo dobrze.

5. Słabe strony wniosku

Ważne:

- a) Zbyt mała zakładana wielkość próby odłowionych zwierząt (n=50). Zważając na to, że jest to gatunek o niewielkich rozmiarach ciała i stosunkowo łatwy do odłowu ze stanu dzikiego, niewiele większym nakładem sił i środków można zwiększyć próbę i uzyskać w wyniku eksperymentu znacznie mocniejsze wyniki.
- b) Niedokładnie opisane ramy czasowe projektu: po odłowieniu nornic i 3-dniowej aklimatyzacji wykonywane są eksperymenty, a nie wiadomo ile to przypuszczalnie może trwać i co później dzieje się ze zwierzętami (czy wypuszczenie? jeśli tak, to gdzie i kiedy?)
- c) Przeszacowanie kosztów sprzętu i znaczna przesada w wysokości proponowanego wynagrodzenia

Drugorzędne:

- d) Pojedyncze kolokwializmy („zamieranie w bezruchu”, „problem pojawia się wtedy, kiedy...”)
- e) W niektórych miejscach brakuje odniesień do literatury (np. zdania kończące się w wersach: 34, 53)

Dodatkowe uwagi korekcyjne:

Wers 35 – wydaje się, że czas spędzony na żerowaniu i efektywność żerowania to jednak dwa osobne czynniki. Wg mnie lepiej byłoby w tym miejscu mówić po prostu o efektywności żerowania, a w metodyce rozbić na części pierwsze co będzie w ramach tego czynnika mierzone.

Wers 60 – chodzi chyba bardziej o różnice w składzie moczu, a nie generalnie „różnice ewolucyjne”

Wers 95 – literówka: z zamiast w („z bezruchu”)

Wers 152 – Nazwy łacińskie kursywą

Wersy 17-171 – lepiej bezosobowo np. „Eksperyment będzie przeprowadzany w klatkach (rys 1.), do których każdorazowo wpuszczana będzie jedna nornica, nie karmiona wcześniej przez 6 godzin.”

Wers 198 – powinno być „użyta” zamiast „użyte”

Wers 200 – zmienną zależną nie może być sam „rodzaj zachowania ofiary” ale jakieś jego miary

Reakcja na zapach moczu drapieżników rodzimych i obcych na przykładzie nornicy rudej

5.3.3. Ostateczna wersja projektu

Abstrakt

Strategie obrony i ucieczki w obecności zapachu drapieżnika są powszechną cechą u ssaków, jednakże zagadnienie różnic między reakcjami na zapach drapieżników rodzimych i obcych jest słabo poznane. Głównym celem projektu jest porównanie zachowania nornicy rudej (*Myodes glareolus*) w obecności moczu drapieżnika rodzimego, obcego, wprowadzonego do środowiska w niedalekiej przeszłości i gatunku obcego, z którym populacja nornic nie miała wcześniej kontaktu.

Eksperyment będzie polegał na wpuszczeniu pojedynczych nornic (n = 150) kolejno do klatek nakropione moczem trzech różnych drapieżników, dwóch ssaków roślinożernych i klatki bez moczu. Przez określony czas będzie obserwowane zachowanie się nornic (unikanie źródła zapachu, ukrywanie się, częstość i czas żerowania). Spodziewamy się, że nornice są w stanie prawidłowo rozpoznać mocz wszystkich trzech gatunków drapieżników i zareagować na niego w odpowiedni sposób (skrócony czas żerowania, unikanie miejsca skropionego moczem). Strategia unikania powinna być skuteczna w odpowiedzi na strategię polowania psowatych (pozostawanie w bezruchu, ukrywanie się). Nie przewidujemy wystąpienia reakcji obronnych po kontakcie z moczem ssaków roślinożernych.

Wyniki naszego eksperymentu mogą znacząco przyczynić się do poszerzenia ogólnej wiedzy na temat strategii obronnych drobnych ssaków. Mogą stanowić podstawę do dalszych badań nad mechanizmami rozpoznawania konkretnych gatunków drapieżników u zwierząt.

Cel naukowy projektu

Nornica ruda (*Myodes glareolus*) w warunkach naturalnych stanowi pokarm wielu różnych drapieżników, przez co jest ona przystosowana do rozpoznawania konkretnych gatunków drapieżników i stosowania wobec nich różnych strategii obronnych, takich jak ucieczka, wspinanie

się na gałęzie, przyjmowanie pozycji w bezruchu (Ylonen i in. 1992). Różne aspekty zachowania i fizjologii nornicy rudej w obecności substancji zapachowych rodzimego drapieżnika są stosunkowo dobrze poznane. Mało jednak wiadomo na temat reakcji na zapach moczu drapieżnika obcego pochodzenia, z którym kontakt jest niemożliwy ze względu na zasięg występowania.

Głównym celem projektu jest porównanie zachowania nornic w obecności moczu drapieżnika *i*) rodzimego (lis rudy, *Vulpes vulpes*), *ii*) obcego pochodzenia wprowadzonego do środowiska stosunkowo niedawno (jenot, *Nyctereutes procyonoides*), *iii*) obcego, nie będącego w ogóle w kontakcie z dzikimi populacjami nornic (wilk grzywiasty, *Chrysocyon brachyurus*). Będziemy testować hipotezę, że nornice są w stanie prawidłowo rozpoznać mocz wszystkich drapieżników, odczytać go jako zagrożenie i przyjąć strategię obrony. Oczekujemy, że nornice zareagują w taki sposób, jaki pozwoli im najskuteczniej uniknąć zagrożenia ze danej rodziny drapieżników. Badane będą dwa aspekty zachowania nornic: *i*) sposób ucieczki, *ii*) czas spędzony na żerowaniu i jego efektywność.

Znaczenie projektu

Unikanie zapachu drapieżnika obserwuje się u wielu ssaków takich jak; szczury, myszy, nornice, króliki, susły, oposy i owce. Ofiary posiadają specyficzne adaptacje, które pozwalają na rozpoznawanie, unikanie, czy obronę przeciwko drapieżnikom. Przykładowo zapachy kotów, psów czy łośnicowatych wywołują wrodzone reakcje u gryzoni, czyli ucieczkę oraz pobudzają oś podwzórce-przysadka-nadnercza odpowiedzialną za uwalnianie hormonów steroidowych w odpowiedzi na stres (Apfelbach i in. 2005). Problem pojawia się wtedy, kiedy do środowiska wprowadza się drapieżnika obcego pochodzenia. W takiej sytuacji ofiary mogą początkowo nie rozpoznać zagrożenia z jego strony lub stosować nieefektywne strategie obrony (Banks i Dickman 2007). Niewiele wiadomo na temat stopnia w jakim obcy drapieżnik może różnić się ewolucyjnie od gatunków rodzimych by zostać prawidłowo rozpoznany przez ofiarę (Cox i Lima 2006).

Zagadnienie skutecznej obrony ssaków przed drapieżnikami, z którymi nie miały wcześniej kontaktu ze względu na zasięg geograficzny jest słabo poznane. W zaplanowanym eksperymencie nowatorskim aspektem jest zbadanie takiego wpływu wśród drobnych gryzoni. Wcześniej badano już wpływ drapieżnika nierodzimego, ale na torbaczach (Parsons i in 2007). Autorzy wykazali, że w obecności moczu dingo (drapieżnik rodzimy) kangur szary (*Macropus fuliginosus*) częściej reagował ucieczką, niż w obecności moczu kojota (drapieżnik obcy). W kontroli zarówno mocz człowieka, jak i woda nie spowodowały reakcji obronnej u ofiary. Istnieją badania reakcji zwierząt na obecność drapieżników rodzimych i inwazyjnych, ale rzadko sprawdza się reakcje zwierząt na obecność drapieżników obcego pochodzenia, z którym badana populacja nie mogła mieć wcześniej kontaktu. Porównanie reakcji zwierząt na wszystkie trzy typy drapieżników nie było wcześniej realizowane, przez co nasz projekt może znacząco przyczynić się do poszerzenia wiedzy w tej dziedzinie.

Koncepcja i plan badań

Eksperyment będzie polegał na wpuszczeniu pojedynczych nornic do odpowiednio wyposażonych klatek (opis i schemat w metodyce), a następnie obserwacji ich zachowania przez określony czas.

Zachowania, które będą odnotowywane, to:

1. Zachowanie związane z żerowaniem
 - a) czas, który upłynął od początku eksperymentu do pierwszego podejścia do karmnika
 - b) łączna liczba podejść do karmnika
 - c) łączny czas spędzony w strefie blisko karmnika
2. Zachowanie związane z ucieczką przed drapieżnikiem

- d) czas, który upłynął od początku eksperymentu do pierwszego wejścia w strefę daleką od karmnika
- e) łączny czas spędzony w strefie dalekiej od karmnika, na drabince, w tunelu
- f) łączny czas spędzony w bezruchu

Gatunki drapieżników zostały wybrane tak, by spełniały następujące kryteria:

- e) reprezentują gatunki rodzime, gatunki obcego pochodzenia wprowadzone do środowiska stosunkowo niedawno, oraz gatunki obce, nie będące w ogóle w kontakcie z dzikimi populacjami nornic
- f) znaczącą część ich diety powinny stanowić drobne gryzonie
- g) strategia polowania na drobne ssaki powinna być podobna
- h) gatunki powinny należeć do dość odległych linii ewolucyjnych w obrębie rodziny, by różnice w zapachu moczu były potencjalnie jak największe

Badania wykazały, że zapach moczu jest dobrym sygnałem obecności drapieżnika dla gryzoni (Jędrzejewski i Jędrzejewska 1990). Mocz różnych drapieżników różni się składem chemicznym. Przykładowo istnieje substancja TMT czyli tzw. zapach lisi (Fendt i Endres 2008). Przewidujemy, że nornice są w stanie rozpoznać zapach moczu wszystkich trzech gatunków drapieżników i odpowiednio na niego zareagować. Powinno się to objawiać skróceniem czasu zerowania, unikaniem części klatki bliżej źródła zapachu drapieżnika oraz preferowaniem przebywania w oddalonej części klatki. Ponadto spodziewamy się, że nornica prawidłowo rozpozna zapach drapieżnika jako należącego do rodziny psowatych. Z badań wynika, że strategią obronną w kontakcie z lisem powinno być zamarcie w bezruchu lub unikanie części klatki blisko źródła zapachu drapieżnika, nie powinno się za to obserwować ucieczki na drabinkę ani unikania wchodzenia do tunelu, czyli strategii stosowanych w obronie przed drapieżnikami z rodziny łąsicowatych (Ylonen i in. 1992; Jędrzejewski i in. 1993).

Inne wyniki eksperymentu, których możemy się spodziewać, to zróżnicowane zachowanie nornic w odpowiedzi na zapach różnych drapieżników. W kontakcie z zapachem lisa rudego reakcje obronne nornic mogą być najsilniej przejawiane, gdyż wspólna koewolucja mogła szczególnie uwrażliwić te gryzonie na obecność tego drapieżnika. Jenot został wprowadzony do Polski w latach 50. ubiegłego stulecia i obecnie występuje na terenie całego kraju. Od tego czasu nornice w warunkach naturalnych mogły nauczyć się prawidłowo rozpoznawać zapach tego drapieżnika, jednak możliwe jest, że czas ten może być za krótki do utrwalenia się zachowania w populacji. Dlatego możliwe jest, że badane nornice będą przejawiać mniejszy strach przed zapachem jenota niż lisa, co prowadziłoby na przykład do dłuższego czasu przebywania w strefie blisko karmnika. Wilk grzywiasty, jako gatunek całkowicie odseparowany od populacji nornic w naturze może być w ogóle nie rozpoznawany jako drapieżnik, wtedy nornice powinny zachowywać się tak jak przy ekspozycji na zapach królika. Innym rezultatem może być rozpoznanie zagrożenia, ale nie powiązanie go ze znanymi rodzimymi psowatymi. W takim wypadku spodziewamy się, że nornica będzie stosowała przypadkowe strategie ucieczki, którymi może być zarówno chowanie się do tunelu, zamieranie w bezruchu lub wspinaczka na drabinę.

Użycie prób kontrolnych z moczem królika i aguti ma pozwolić stwierdzić, w jaki sposób nornice będą zachowywać się w obecności zapachu zwierzęcia innego gatunku, nie będącego dla nich zagrożeniem (Jędrzejewski i in. 1993). W przypadku prawidłowego rozpoznania zapachu, zachowanie nornic nie powinno się różnić w obu próbach kontrolnych. Wystąpienie reakcji ucieczki po kontakcie z zapachem aguti (gatunku obcego, z którym lokalne populacje nornic nie mogły mieć wcześniej do czynienia), przy jednoczesnym ich braku po kontakcie z zapachem królika, sugerowałoby, że sama obcość zapachu niespotkanego wcześniej gatunku ssaka wywołuje zmianę zachowania nornic, natomiast nornice nie rozróżniają obcego drapieżnika od roślinożercy. Próba kontrolna bez moczu innego gatunku ma wykazać sposób zachowania się nornicy w sytuacji

występowania potencjalnie stresujących czynników nie związanych bezpośrednio z eksperymentem (np. stres związany z przeniesieniem do klatki, obecność obserwatora).

Jeśli w badaniach wyjdą istotne różnice, planuje się powtórzenie eksperymentu z wykorzystaniem zapachu drapieżników z innych rodzin (kotowate, łasicowate).

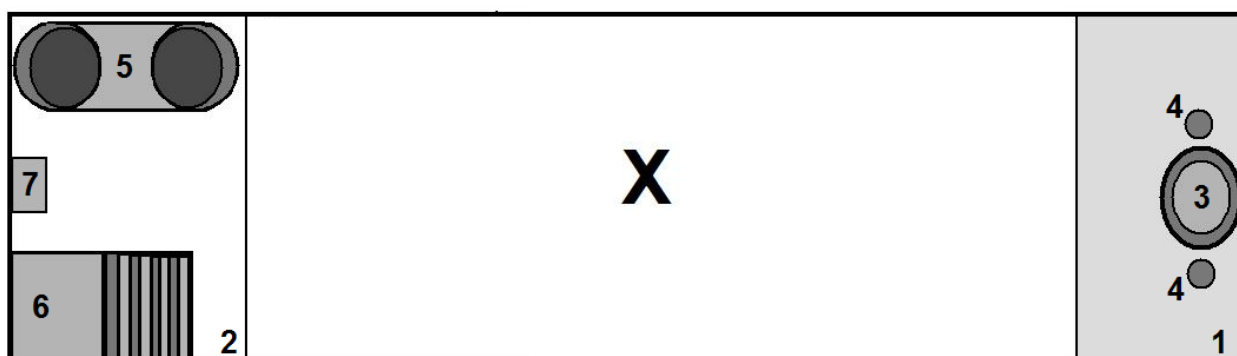
Metodyka badań

Obiektem badań będzie nornica ruda (*Myodes glareolus*), będąca jednym z modelowych gatunków w biologii behawioralnej. Należy do rodziny chomikowatych *Cricetidae*, podrodziny nornikowatych *Arvicolinae*. Jest jednym z najpospolitszych drobnych ssaków żyjących na wolności na terenie całej Europy. Zamieszkuje prawie wszystkie typy lasów oraz śródpolne zarośla. Żywi się pokarmem mieszanym z przewagą pokarmu pochodzenia roślinnego (liście, nasiona, kora, pąki, porosty).

Nornice użyte w doświadczeniu będą odłowione z terenów Puszczy Niepołomickiej. Odłowy będą przeprowadzone w lutym, aby schwytane zwierzęta były nieaktywne seksualnie (Borowski 1998). Odłowione zostanie 75 samic i 75 samców, po czym dalsza część eksperymentu odbędzie się w warunkach laboratoryjnych. W celu oswojenia się nornic ze środowiskiem sztucznym zwierzęta będą przechowywane w klatkach o wymiarach 60x30x30 cm przez okres 3 dni przed rozpoczęciem właściwego doświadczenia. Warunki w klatkach będą takie same jak te w czasie eksperymentu (16°C, światło naturalne, dostęp do poideła z wodą, pokarm dla gryzoni w granulacie uzupełniony kawałkami owoców) (Borowski 1998), natomiast rozmiar klatki eksperymentalnej się zmieni.

W celu stworzenia symulacji warunków w obecności drapieżnika wykorzystamy mocz 3 wybranych gatunków ssaków drapieżnych z rodziny psowatych – lisa rudego, jenota i wilka grzywiastego, oraz 2 ssaków roślinożernych – królika (*Oryctolagus cuniculus*) i aguti (*Dasyprocta punctata*). Mocz będzie pozyskany w krakowskim ogrodzie zoologicznym (wilk grzywiasty, aguti, królik), ogrodzie zoologicznym w Ostrawie (jenot) i lecznicy dla dzikich zwierząt w Przemyślu (lis). W celu zachowania właściwości chemicznej moczu, będzie on przechowywany w zamrażalce. W eksperymencie mocz ten będzie nakropiony w bliskim sąsiedztwie karmnika, aby dostarczyć zwierzęciu motywacji do zbliżenia się do źródła zapachu. W ten sposób możemy zaobserwować czy w danych warunkach silniejszym bodźcem nornicy jest chęć pożywienia się czy chęć uniknięcia kontaktu z drapieżnikiem.

Eksperyment będzie przeprowadzony w klatkach (100x40x30) (rys 1), do których każdorazowo wpuszczana będzie jedna nornica, nie karmiona wcześniej przez 6 godzin. Każdy osobnik będzie przechodził jednokrotnie przez każdą z 6 klatek eksperymentalnych (3 próby z moczem różnych drapieżników, 2 z moczem ssaków roślinożernych oraz 1 pusta). Jeden eksperyment będzie trwał 4 godziny, po tym czasie nornica będzie przenoszona z powrotem do swojej klatki. Po usunięciu nornicy z klatki zważony zostanie pozostały pokarm w karmniku w celu określenia, ile pokarmu zostało zjedzonego przez zwierzę. Również nornice będą ważone przed i po eksperymencie, co pokaże rzeczywistą ilość zasymilowanego pokarmu. Każde powtórzenie będzie nagrywane kamerą, a następnie analizowane przez eksperymentatorów. Wybór kolejności klatek eksperymentalnych dla każdego osobnika będzie losowy, by wyeliminować ewentualny związek między kolejnością prezentowanych zapachów, a późniejszą reakcją nornic. W przerwach między wpuszczaniem nornic do kolejnych klatek eksperymentalnych, będą one trzymane pojedynczo w klatkach, by uniknąć kontaktu z zapachem, który może utrzymywać się na ciele innych nornic. Następnie klatki eksperymentalne będą dokładnie czyszczone i dezynfekowane. Po zakończeniu eksperymentu nornice będą wypuszczone w miejscu wcześniejszego złapania.



Rys 1. Schemat klatki eksperymentalnej. 1 – strefa blisko karmnika, 2 – strefa oddalona od karmnika, 3 – karmnik z pokarmem, 4 – miejsca nastrzyknięcia moczu, 5 – tunel (kryjówka), 6 – drabinka prowadząca na podest, 7 – poidelko z wodą, X – miejsce wpuszczenia nornicy do klatki.

Sprzęt i urządzenia wykorzystywane w eksperymencie:

- 6 wyposażonych klatek, które będą wykorzystane do eksperymentu
- 50 klatek do przechowywania zwierząt przed i po eksperymencie
- żywołapki do odłowu w terenie (50)
- kamera do nagrywania eksperymentu
- stoper

Analiza statystyczna

Użyte analizy statystyczne będą różnić się w zależności od rodzaju zmiennych zależnych. Jeśli weźmiemy pod uwagę czas jaki nornica spędza w bezruchu, spędzony na żerowaniu i w kryjówce użyta zostanie jednoczynnikowa ANOVA, gdzie zmienną niezależną będą poszczególne zabiegi i kontrole (klatki z różnymi sygnałami zapachowymi), Z kolei jeśli chcemy analizować liczbę podejść do kryjówki i karmnika zastosowany zostanie uogólniony model liniowy. Wyniki zostaną opracowane przy użyciu programu statystycznego StatSoft Statistica wersja 7.

Kosztorys projektu badawczego

klatki do przechowywania nornic (x6)	1 500 zł	
klatki eksperymentalne z wyposażeniem (50)	7 500 zł	
trociny		400 zł
pokarm dla nornic	300 zł	
żywołapki (x50)	1 250 zł	
pojemniki do przechowywania moczu	20 zł	
kamera cyfrowa ze statywem	2 400 zł	
stoper	20 zł	
lodówka turystyczna	150 zł	
wyjazdy terenowe		
e) Kraków	100 zł	
f) Puszcza Niepołomska	600 zł	
g) Ostrava	500 zł	
h) Przemyśl	250 zł	

RAZEM 14 990 zł

Literatura

Apfelbach R., Blanchard C.D., Blanchard R.J., Hayes R.A., McGregor I.S. (2005) The effects of predator odors in mammalian prey species: A review of field and laboratory studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 29: 1123–1144

Banks, P. B., Dickman, C. R. (2007) Alien predation and the effects of multiple levels of prey naiveté. *Trends in ecology & evolution*, 22: 229-230.

Borowski, Z. (1998) Influence of predator odour on the feeding behaviour of the root vole (*Microtus oeconomus* Pallas, 1776). *Canadian Journal of Zoology* 76: 1791-1794.

Cox, J. G., Lima, S. L. (2006). Naiveté and an aquatic–terrestrial dichotomy in the effects of introduced predators. *Trends in Ecology & Evolution*, 21: 674–680.

Fendt, M., Endres, T. (2008). 2, 3, 5-Trimethyl-3-thiazoline (TMT), a component of fox odor—Just repugnant or really fear-inducing?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32: 1259-1266

Jędrzejewski W., Jędrzejewska B. (1990) Effect of a predator's visit on the spatial distribution of bank voles: experiments with weasels. *Canadian Journal of Zoology*, 68: 660-666.

Jędrzejewski, W., Rychlik, L., and Jędrzejewska, B. (1993). Responses of bank voles to odours of seven species of predators: experimental data and their relevance to natural predator – vole relationships. *Oikos*, 68: 251–257

Parsons M.H., Lamont B.B., Kovacs B.R., Davies S.J.J.F. (2007) Effects of novel and historic predator urines on semi-wild western gray kangaroos. *Journal of Wildlife Management* 71: 1225-1228

Ylönen, H., Jędrzejewska, B., Jędrzejewski, W., Heikkilä, J. (1992) Antipredatory behaviour of *Clethrionomys* voles - David and Goliath's arms race. *Annales Zoologici Fennici* 29: 207-216.

Kosztorys

Lp.	Treść	2015	Razem
1	2	3	4
1	Koszty bezpośrednie	34 990	34 990
	w tym:	20 000	20 000
	1) wynagrodzenia z pochodnymi		
	2) inne koszty realizacji projektu	14 990	14 990
2	Koszty pośrednie (30% kosztów innych niż aparatura)	1 797	1 797
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowanych na naukę (1+2)		
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	0	0
5	Koszty ogółem (3+4)	36 787	36 787

5.4. Wpływ natężenia światła emitowanego przez Księżyc na sukces reprodukcyjny słowika rdzawego (*Luscinia megarhynchos*) (C. L. Brehm, 1831)

Autorzy: Natalia Derus i Mateusz Sobczyk

5.4.1. Pierwsza wersja projektu

Streszczenie projektu

Charakter naukowy projektu

Kwestia wyboru partnera do rozrodu jest jednym z kluczowych i wciąż intensywnie badanych problemów biologicznych. Właściwy wybór samca dokonany przez samicę ma bardzo duży wpływ na jakość potomstwa i sukces reprodukcyjny pary. U ptaków wybór samca do rozrodu uwarunkowany jest między innymi jakością jego śpiewu. Śpiew jest kosztowny energetycznie i może wabić drapieżniki, dlatego jakość i czas wykonania piosenek traktowane są jako miara kondycji samca.

Celem proponowanych badań jest sprawdzenie czy natężenie światła księżycowego pośrednio wpływa na sukces reprodukcyjny słowika rdzawego (*Luscinia megarhyncho*). Zakładamy, że samce śpiewające podczas jaśniejszych nocy będą mieć większy sukces rozrodczy, ze względu na ich potencjalnie lepszą kondycję (śpiew podczas jasnych nocy jest bardziej ryzykowny ze względu na lepsze oświetlenie i lepszą widoczność samca dla drapieżników). Miarą sukcesu reprodukcyjnego pary będzie ilość wyprowadzonych z gniazda młodych.

Przewidujemy, że samce, które będą wabić śpiewem partnerki podczas jasnych nocy osiągną większy sukces reprodukcyjny niż samce śpiewające podczas ciemniejszych faz Księżyca.

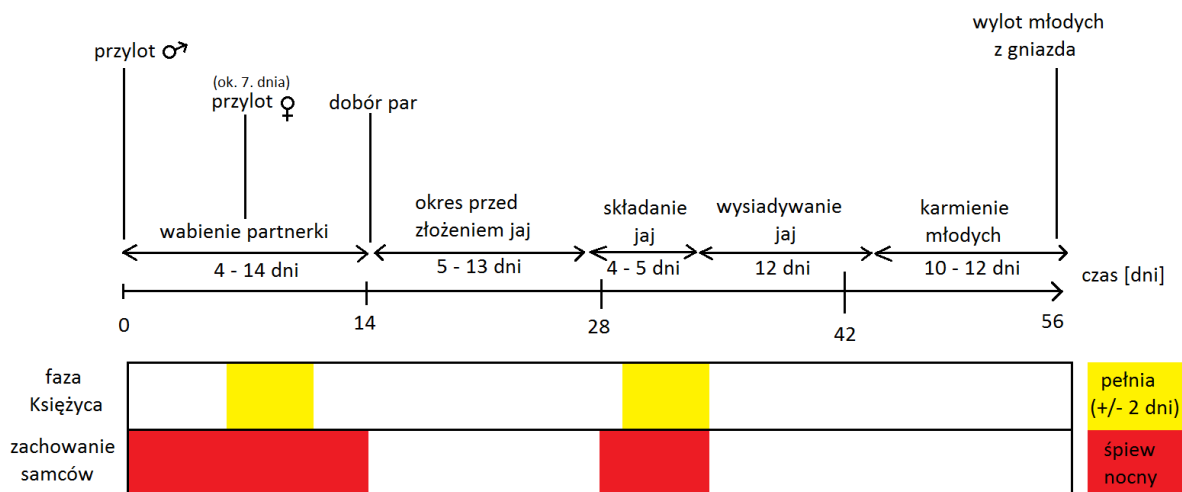
Zaobserwowano także (Amhrein, 2002), że nocne piosenki wykonywane są przez samce także w okresie składania jaj przez samicę. W ten sposób samiec ponawia komunikat o swojej dobrej kondycji i może w ten sposób stymulować samicę do składania większej liczby jaj, szczególnie, jeśli wykonywanie piosenek odbywałoby się podczas jasnych nocy.

Znaczenie projektu

Słowik (*Luscinia sp.*) pojawia się w sztuce i kulturze jako jeden z symboli miłości i romantyczności. Jego wieczorne śpiewy trwale związały go w społecznej świadomości z romantycznymi chwilami i są kojarzone ze spacerami przy świetle Księżyca. Od wielu pokoleń ludzie dopatrują się związku pomiędzy fazą księżyca a intensywnością śpiewu słowika. Istnieje powszechne przekonanie, że słowik śpiewa szczególnie intensywnie podczas pełni. Dotychczas nie przeprowadzono jednak badań mających sprawdzić tę hipotezę. Zbadano, że podczas pełni niektóre ptaki wróblowate o świcie śpiewają dłużej (cytat). Z kolei ptaki z gatunku *Puffinus opisthomelas* były mniej aktywne i rzadziej nawoływały się podczas jasnych nocy ze względu na zwiększoną aktywność drapieżników (cytat). Brak jest danych, które jednoznacznie określiłyby wpływ fazy Księżyca na intensywność śpiewu ptaków śpiewających. Słowik stanowi idealny model do sprawdzenia wpływu tego czynnika – śpiewa w nocy (cytat), a zatem potencjalny wpływ Księżyca może być większy niż w przypadku ptaków wykonujących swoje piosenki w ciągu dnia bądź np. jedynie o świcie. Ponadto Księżyc może pośrednio (np. poprzez świecenie w pełni, a co za tym idzie zwiększenie widoczności

osobników oraz ich gniazd dla drapieżników) wpływać na różne aspekty życia słowików. Znaczne oddziaływanie na zachowanie czy sukces rozrodczy słowików sugerowałoby, że w przyszłych badaniach z zakresu nauk biologicznych należy uwzględnić fazę Księżyca jako ważny czynnik mogący wpływać na uzyskiwane wyniki.

Koncepcja i plan badań



Rys. 1. Przewidywania zależności poszczególnych etapów okresu rozrodczego słowika w zależności od fazy Księżyca. Na podstawie Armhein i in. 2004.

Na podstawie danych o rozmieszeniu słowika rdzawego (*Luscinia megarhynchos*) na terenie Polski południowo-zachodniej wyznaczonych zostanie pięć obszarów, na terenie których wybrane zostaną do obserwacji samce wykonujące piosenki wabiące samice na terytorium samca. Badania prowadzone będą przez okres od przylotu słowików z zimowisk (kwiecień) do chwili wyprowadzenia młodych z gniazd (czerwiec-lipiec). Obserwacje będą prowadzone przez dwa kolejne sezony. Nierównoczesne zakładanie gniazd i przystępowanie do rozrodu pozwoli na sprawdzenie badanych przez nas parametrów w czasie trwania różnych faz księżyca.

Na podstawie obserwacji sprawdzane będą daty oraz ilość dni wykonywania śpiewu nocnego przez samce. Przewidujemy, że samce śpiewające podczas jaśniejszych nocy będą w lepszej kondycji, a co za tym idzie osiągną większy sukces reprodukcyjny. Ponadto sprawdzone zostanie, czy śpiew nocy wykonywany w okresie składania jaj przez samice zbiega się w czasie z występowaniem pełni Księżyca.

Pod koniec badania odnotowana zostanie liczba piskląt opuszczających gniazdo – pozwoli to na określenie sukcesu reprodukcyjnego danego samca.

Uzyskane przez nas wyniki zostaną skorelowane z natężeniem oświetlenia badanego obszaru przez Księżyc. Pozwoli to na statystyczne sprawdzenie istnienia oraz siły wpływu Księżyca na badane przez nas parametry. Podczas trwania badań rejestrowana będzie temperatura, opady oraz zachmurzenie.

Metodyka badań

Planowane badania będą prowadzone na pięciu obszarach lęgowych słowika rdzawego w południowo-zachodniej Polsce. Wielkość obszaru będzie uwarunkowana liczebnością występujących

na nim osobników słowika rdzawego, minimum 15 par na obszar badawczy. Obszary będą w dużych odległościach od siebie aby wykluczyć wpływ warunków pogodowych na natężenie światła księżyca. Istnieje większe prawdopodobieństwo, że w sytuacji niekorzystnej dla naszych obserwacji (zachmurzenie, opady) na odległych obszarach będą panować odmienne - lepsze warunki pogodowe pozwalające zebrać dane. Informacje o potencjalnych obszarach zasiedlanych przez największe populacje słowika, a także to czy populacje są zaobrączkowane zostaną pozyskane od lokalnych ornitologów. Obserwacje słowików będą prowadzone przez cztery sezony (2015-2018) aby uzyskać odpowiednią liczbę osobników, a także zniwelować wpływ zmienności warunków pogodowych na natężenie światła księżyca. Na każdym z badanych obszarów do zbierania danych zostanie zatrudniony dwuosobowy zespół ornitologów w sumie do prac terenowych zostanie zaangażowane 10 osób. W kolejnych sezonach zespoły będą się wymieniać w obrębie badanych obszarów aby wykluczyć efekt obserwatora. Obserwacje i nasłuchiwanie słowików będą prowadzone codziennie w nocy między godziną 24 a 3 kiedy samce wykonują swoje nocne piosenki. Obserwacje i nasłuchiwanie będą prowadzone od momentu przylotu pierwszych samców (początek kwietnia) do wylotu młodych z gniazda (koniec czerwca). Na pierwszym etapie badań w czasie nocnych wyjść terenowych obserwatorzy będą nasłuchiwać nocnych pieśni samców słowika i jednocześnie przy pomocy luksometrów będą mierzyli natężenie światła w pobliżu śpiewającego ptaka. Po dobraniu się ptaków, pary będą obserwowane na gniazdach aby uchwycić moment składania jaj przez samicę. W tym okresie również będzie badane natężenie światła księżyca. Następnie będzie sprawdzane czy osobniki w czasie składania jaj przez samicę rozpoczynają nocne śpiewy i jakie jest w tym okresie natężenie światła księżyca.

Literatura

- 1) York, Singing in the moonlight - dawn song performance of a diurnal bird varies with lunar phase, Biol. Lett. 2014
- 2) Amrhein I in. 2002, nocturnal and diurnal singing activity in the nighting

5.4.2. Recenzje

prof. dr hab. Adam Łomnicki

Hipoteza proponowana do sprawdzenia przez autorów postuluje, że samce słowika rdzawego będące w dobrej kondycji, w dobrym terytorium, mogące mieć wyższe lęgi, będą śpiewać w nocy także w czasie pełni księżyca i dużego natężenia światła, ponieważ w mniejszym stopniu niż samce słabsze będą się obawiały drapieżnika.

1. Jakość samca może powodować nie tylko śpiew przy pełni księżyca, ale także śpiew trwający dłużej i w czasie pełni i w innych porach. W jakiej mierze te dwa czynniki: czas śpiewu i natężenie światła mogą się zastępować? Autorzy nie dyskutują tego i nie proponują jak mają zamiar ten problem rozwiązać.
2. Metody badawcze zostały opisane bardzo ogólnikowo i zupełnie nie podano kosztów przeprowadzenia tych badań. Po prostu wybierzemy w Polsce południowo-zachodniej wiele miejsc, zatrudnimy wielu ludzi przez kilka lat i będzie badać wszystko, czas śpiewu, natężenie światła, sukces rozrodczy i coś z tego może wyjdzie. Nie ma słowa o tym jakimi metodami statystycznymi te dane opracujemy.
3. Projekty młodych ludzi powinny być ambitne, a nie takie sobie. Nie jest dla mnie jasne po co takie badania prowadzić. Jakie korzyści dla gospodarki człowieka, ochrony gatunkowej słowika, ochrony środowiska i postępu w nauce wynikać mogą z przyjęcia lub odrzucenia

hipotezy o korelacji światła księżycy na sukces rozrodczy słowika? Bo stwierdzenie, że pełnia księżycy może być ważnym czynnikiem w biologii to już wiemy. Gliwicz (1986, *Ecology* 7: 1-52) stwierdził to dawno przy wyjaśnianiu pionowych migracji planktonu, ale są także inne badania to potwierdzające.

4. Nie wiem co ma wynikać z ryc. 1 i jak to się ma do stwierdzenia autorów: Nierównoczesne zakładanie gniazd i przystępowanie do rozrodu pozwoli na sprawdzenie badanych przez nas parametrów w czasie trwania różnych faz księżycy.
5. Brak odnośników do literatury i spisu literatury. Nie pamiętam abym kiedyś czytał tak źle napisany projekt z Ochotnicy.

dr Rafał Martyka

Ocena merytoryczna projektu

Przedstawiony do recenzji projekt dotyczy badań mających na celu ocenę wpływu natężenia światła księżycy na sukces reprodukcyjny słowika rdzawego *Luscinia megarhynchos*. Autorzy projektu postawili hipotezę, że samce śpiewające podczas jaśniejszych nocy będą mieć większy sukces rozrodczy, co ma wynikać z ich lepszej kondycji. Generalnie oceniam pomysł badań jako ciekawy i dość nowatorski, zważywszy na fakt, iż dotychczas tego typu zagadnienia były podejmowane przez niewielu badaczy. Sądzę, że wyniki uzyskane z tego projektu mogą wnieść interesujący wkład do poznania zachowań ptaków związanych z rozrodem. Jednakże, muszę zwrócić uwagę na pewne kwestie, które obniżają w mojej ocenie szanse powodzenia tego projektu:

1. Autorzy traktują fazy księżycy i natężenie światła emitowanego przez księżyc jako tożsame wartości, które są ze sobą skorelowane. Po części jest to prawda, ale nie do końca, ponieważ ilość światła emitowanego przez księżyc w pierwszej i drugiej kwadrze jest podobna, a istotne różnice występują między nowiem i pełnią. Ponadto, czymś zupełnie innym jest problem wpływu fazy księżycy na sukces reprodukcyjny, a czymś innym problem natężenia światła emitowanego przez ciała niebieskie w nocy (gwiazdy też emitują światło, które wystarcza, np. sówom do wizualnego lokalizowania zdobyczy). Przypomnę tylko, że poszczególne fazy księżycy związane są nie tylko z ilością emitowanego światła, ale także z innymi oddziaływaniami, np. grawitacyjnymi, które też mogą wpływać na organizmy żywe. Pytanie jest zatem, czy autorzy chcą zbadać wpływ faz księżycy na sukces reprodukcyjny samców słowika, czy też wpływ natężenia światła emitowanego przez ciała niebieskie, w tym księżyc. Z tego co przeczytałem wnioskuję, że chodzi o to drugie, ale obecnie te dwa aspekty są wymieszane i tak do końca nie wiadomo, co faktycznie ma być badane (tak czy inaczej oba te aspekty są bardzo ciekawe w sensie ich wpływu na zachowanie ptaków).

2. Założenia merytoryczne projektu wskazują, że tylko samce w dobrej kondycji (wysokiej jakości) powinny śpiewać w jasne noce, a te o słabej kondycji (słabej jakości) w nocie ciemne. Z uwagi na to, że właściwie nic nie wiemy o aktywności śpiewu słowików w zależności od natężenia światła w nocy, autorzy powinni przeprowadzić proste badania pilotażowe, zanim podejmą się testowania postawionej hipotezy. Przykładowo, na powierzchniach badawczych można sprawdzić czy liczba śpiewających samców i ich aktywność śpiewu różni się w zależności od tego czy mamy noc jasną czy ciemną. Jeśli w nocie jasnej liczba śpiewających samców lub aktywność śpiewu byłaby mniejsza w porównaniu do nocy ciemnych to już mamy wskazówkę, że idziemy w dobrym kierunku (zakładając, że samce w słabej kondycji/jakości śpiewają tylko przy niskim natężeniu światła w nocy, a samce w dobrej kondycji/jakości zarówno w nocie jasnej, jak i ciemnej). Brak takiego pilota i rozeznania się w sytuacji powoduje, że projekt staje się bardzo ryzykowny i może zakończyć się niepowodzeniem.

3. Obawiam się także, że trudne będzie uzyskanie informacji o sukcesie reprodukcyjnym samców, co najmniej z dwóch powodów. Po pierwsze, wynika to z faktu, że mamy tu do czynienia z gatunkiem, który buduje gniazda na ziemi, w gęstych krzewach lub zaroślach, co wymaga olbrzymiego wysiłku i czasu, a które to nakłady mogą być niewspółmierne do uzyskanej próby. Po drugie, poszczególne samce i samice z pary muszą być indywidualnie rozpoznawalne (znakowane), tak aby uniknąć sytuacji, w której nie wiemy czy mamy do czynienia z tym samym ptakiem, czy też nie. Samo wyłapanie ptaków na powierzchniach i ich znakowanie też jest bardzo pracochłonne, poza tym pozostaje kwestia rozpoznania samców podczas nocnych kontroli. Brak takiego rozeznania wśród samców na powierzchniach badawczych będzie skutkowało pseudoreplikacją (te same osobniki mogą się powtarzać kilkukrotnie w zebranej próbie, zwłaszcza jeśli badania będą prowadzone przez kilka sezonów), co w sensie statystycznym jest metodologicznie niepoprawne.

4. Jeśli jakość/kondycja samca ma być określana na podstawie śpiewu to należy nagrywać ten śpiew dla każdego osobnika, a później przeanalizować nagrania w celu określenia różnych jego charakterystyk (np. tempo śpiewu, długość piosenki, itd.). Sama aktywność śpiewu (tak przy okazji to autorzy nie podają żadnych informacji jak dokładnie chcą mierzyć tę aktywność i co będzie jej miarą) wydaje mi się, że przy tak dużych nakładach pracy jest szczątkową informacją, dlatego powinno się dokonać pomiarów różnych parametrów śpiewu.

5. Zdaję sobie sprawę z krótkiego czasu na napisanie projektu, ale kwestie metodologiczne powinny być bardziej przemyślane i dopracowane. Przykładowo, autorzy raz informują, że prace badawcze będą trwały 2 sezony, a w innym miejscu, że 4 sezony. Brak jest zupełnie informacji o tym jak będzie wyglądało statystyczne opracowanie wyników (proponowane metody statystyczne, modele, zmienne, które będą analizowane), jaka jest spodziewana wielkość próby, która posłuży do analiz, itd. Podobnie autorzy nie wskazują dokładnie jak zamierzają określić aktywność śpiewu samców (co będzie miarą tej aktywności).

Ocena kosztorysu

Brak sporządzonego kosztorysu planowanych badań.

Ocena możliwości wykonania

Autorzy projektu są bardzo dużymi optymistami jeśli chodzi o wyszukiwanie gniazd słowika. W mojej wieloletniej karierze ornitologa, tylko raz udało mi się znaleźć gniazdo słowika poprzez żmudne wyczekiwanie i śledzenie samicy budującej gniazdo, co zajęło sporo czasu. Dlatego uważam, że dużym ograniczeniem, które zmniejsza szanse na realizację tego projektu i zebranie odpowiedniej próby jest właśnie trudność i czasochłonność znalezienia gniazda, nawet przy dużym zespole doświadczonych osób biorących udział w badaniach (co nie oznacza, że jest to niemożliwe). Kolejną sprawą są też planowane w projekcie kilkugodzinne kontrole nocne trwające codziennie od kwietnia do czerwca. Z własnego doświadczenia wiem, iż takie kontrole nocne są bardzo męczące i nie wyobrażam sobie, że dwie osoby będą każdej nocy wykonywać taką kontrolę przez kolejne 3 miesiące. To jest po prostu olbrzymie obciążenie fizyczne i psychiczne, szczególnie jeśli te same osoby miałyby jeszcze prowadzić wyszukiwanie gniazd w ciągu dnia (w efekcie może to powodować zmniejszenie efektywności pracy takich osób). Sadzę, że autorzy powinni jeszcze raz przemyśleć i urealnić zakres i harmonogram prac terenowych, który zapewni szansę zrealizowania planowanych badań.

Mocne strony wniosku

Podjęcie ciekawego i nowatorskiego problemu badawczego.

Słabe strony wniosku

Niedopracowana strona metodyczna projektu, wynikająca zapewne z braku doświadczenia autorów w pracy terenowej na ptakach.

mgr Julia Wyszowska

Zaproponowany przez Was problem naukowy dotyczy ciekawego zjawiska, jednak metody, którymi chcecie się posłużyć według mnie są nieoptymalne ;) To właśnie ten punkt uważam za najsłabszą część projektu.

Mój główny zarzut dotyczy próby określenia sukcesu reprodukcyjnego samca poprzez odniesienie się do liczby młodych wyprowadzonych z gniazda. To właśnie okres od złożenia jaj do wylęgania i karmienia młodych jest najbardziej atrakcyjny dla drapieżników, ponieważ jaja/pisklęta są wartościowym a łatwym łupem. Intuicja podpowiada więc, że jeżeli skupiamy się na oświetleniu i drapieżnikach, to widoczność gniazd/ jaj/ piskląt będzie miała znaczny wpływ na przeżywalność młodych (do momentu opuszczenia gniazda), a nie to, w jakiej kondycji był ich ojciec. Pomiar jasności światła księżycowego podczas wabienia samicy daje więc raczej informację o tym, jak mocno samiec jest „odważny” (zdesperowany?) by zdobyć partnerkę, z kolei pomiar w okresie wylęgania i karmienia informuje o zagrożeniu przetrwania młodych. [Swoją drogą – cały czas wspominacie o pomiarze intensywności światła Księżycy ale nie zamierzacie raportować fazy cyklu księżycowego... ;)] Zastanówcie się więc proszę, co tak naprawdę chcecie zbadać i jak powinna rzeczywiście wyglądać hipoteza badawcza.

Inną kwestią jest, że ptaki nie przybywają na raz na miejsca lęgowe tego samego dnia. Moim zdaniem jest wątpliwe, by samce (choćby w najlepszej kondycji), które przyleciały w nowiu zwlekały z wabieniem partnerki do pełni.

Forma Waszego projektu jest jeszcze mocno niedopracowana – szczególnie brakuje mi streszczenia. Przygotowane choćby w paru zdaniach dałoby recenzentom możliwość szybkiej weryfikacji hipotez i stawianych celów. Nie zamieściliście też w projekcie choćby wstępnego oszacowania kosztów. Brak jest również wielu cytowań. Przygotowując ostateczną wersję projektu zwróćcie proszę uwagę na stylistykę, liczne literówki i powtórzenia treści (np. wersy 21-25 i 26-28) lub niespójności (np. w „koncepcji i planie badań” deklarujecie pomiary przez dwa sezony, a w „metodyce” już przez cztery).

mgr Justyna Kierat

Ocena merytoryczna projektu

Ciekawy jest pomysł zbadania wpływu światła księżycowego na sukces rozrodczy ptaków. Badany jest wpływ zanieczyszczenia światłem na ptaki śpiewające, natomiast równie ważne jest sprawdzenie, czy ptaki reagują na zmiany natężenia naturalnego nocnego światła. Słowik jest bardzo dobrym gatunkiem modelowym do takich badań, ponieważ śpiewa również w nocy, co pozwala przypuszczać, że światło księżycowe może mieć większy wpływ na jego reprodukcję w porównaniu z gatunkami, które śpiewają tylko w dzień.

Mam wątpliwości co do sprawdzenia, czy śpiew w czasie składania jaj będzie zbiegał się z pełnią księżyca (w.78-79). Gdyby pełnia i śpiew w okresie składania jaj nakładały się czasowo, mogłoby to przemawiać za hipotezą stawianą w badaniach, że ptaki preferują śpiew w czasie pełni z powodu większego oświetlenia. Jednak z drugiej strony nie wiem, czy można byłoby wykluczyć, że jest to po prostu wynik zbiegnięcia się w czasie pełni i składania jaj. Innymi słowy, czy gdyby słowiki nie zwracały uwagi na pełnię księżyca, to takiej synchronizacji na pewno nie zaobserwujecie? Być może nie, bo np. różne ptaki przystępują do lęgów w bardzo różnym czasie, albo w kolejnych latach daty przylotów albo czas pełni będą się różnić na tyle, że przypadkowa synchronizacja jest mało prawdopodobna. Jeśli tak, to warto o tym napisać w projekcie. Podobnie na rysunku 1 warto dodać trzeci pasek, ze zobrazowanym scenariuszem, w którym słowiki nie synchronizują swojego śpiewu z pełnią księżyca.

Ocena kosztorysu -

Ocena możliwości wykonania

Badania terenowe zostały zaplanowane rozsądnie, na kilka sezonów i na kilku obszarach lęgowych. Dzięki temu zmniejsza się ryzyko niepowodzenia badań z powodów losowych, związanych z terenem badań albo sezonem. Metodyka jest prosta i jasno określona, moim zdaniem zaplanowane badania są w pełni wykonalne. Pewną trudność może sprawić obserwacja gniazd słowików, ponieważ istnieje zagrożenie, że obserwacje zakłócą lęg ptaków. Niektóre gatunki są wrażliwe na manipulacje, czy nawet samą obecność w pobliżu gniazda. Im wcześniejszy etap lęgu, tym większe jest ryzyko jego porzucenia. Sugerowałabym podjęcie współpracy w ramach projektu z ornitologiem, który pomoże opracować najodpowiedniejszą metodę obserwacji.

Mocne strony wniosku

Dostrzeżona została luka w wiedzy na temat wpływu oświetlenia na reprodukcję ptaków śpiewających. Badania te mają na celu ją zapełnić. W badaniach wpływ księżyca na sukces lęgowy będzie sprawdzany bezpośrednio, ale również zostaną zbadane aspekty korelujące z nim (długość śpiewu), co – w przypadku wykrycia zależności między oświetleniem księżycowym a sukcesem – pozwoli dodatkowo wskazać lub wykluczyć możliwy mechanizm tej zależności.

Słabe strony wniosku

Widać, że słabości wniosku wynikają głównie z tego, że autorom zostało dane zdecydowanie zbyt mało czasu na jego opracowanie, szczególnie na przegląd literatury i aktualnego stanu wiedzy. Brakowało mi również wymienienia alternatywnych hipotez (nie tylko tej głównej) i opisu, jakich wyników należy się spodziewać dla każdej z nich.

mgr Wioleta Kocerba-Soroka

Ocena merytoryczna projektu

Autorzy projektu będą próbowali sprawdzić czy natężenie światła księżyca wpływa na sukces reprodukcyjny słowika rdzawego. Pomysł jest poparty zasłyszonymi wierzeniami ludowymi, że słowiki dłużej i częściej śpiewają podczas pełni Księżyca. Autorzy chcą potwierdzić „mit” lub obalić „prawdę” popierając się badaniami naukowymi. Okazuje się jednak to trudne w wykonaniu z powodu braku odpowiedniej metody, która przyniosłaby reprezentatywne wyniki. Założenia, które przyjęli są

nie są poparte danymi literaturowymi. W kilku miejscach (wiersz 47, 49, 51) brakuje cytacji, pozytywne jest jednak to tego że sami Autorzy są świadomi tego braku. Czy wynikało to z braku czasu? Czy z braku odpowiedniej literatury? Ponadto szczerzy jest także spis literatury na końcu projektu.

Zdanie stwierdzające, że „samce śpiewające podczas jaśniejszych nocy będą mieć większy sukces rozrodczy, ze względu na ich potencjalnie lepszą kondycję (śpiew podczas jasnych nocy jest bardziej ryzykowny ze względu na lepsze oświetlenie i lepszą widoczność samca dla drapieżników)” (wiersz 21-24) jest trochę zaprzeczeniem samym w sobie, ponieważ skoro są lepiej widoczne dla drapieżnika w jasną noc, to jak ma to zwiększyć jego sukces reprodukcyjny? Chodzi o to, że samica będzie bardziej wybierała tego który głośno śpiewa w nocy, pomimo tego że ten śpiewaniem zwiększa ryzyko spotkania z drapieżnikiem. Niestety Autorzy nie napisali tego wprost, skazując się na domysły recenzenta. Czy stwierdzenie, że kiedy samiec wykonuje piosenki także w okresie składania jaj przez samice, stymuluje ją do składania większej ilości jaj jest poparte w literaturze? Czy ilość jaj składanych przez samice w jednym okresie lęgowym nie jest uwarunkowana biologią tego gatunku?

W metodologii lepiej uwzględnić nagrywanie śpiewów ptaków między godziną 24 a 3 w nocy, co pozwoli później na wielokrotne przesłuchiwanie nagrań i dokładne zmierzenie czasu śpiewu.

Brakuje informacji jakim testem statystycznym będzie wykazana istotność lub jej brak w eksperymencie.

Minusem projektu jest również brak streszczenia projektu (abstraktu) na początku.

Tekst wymaga edycji oraz poprawy pod względem stylistycznym i interpunkcyjnym.

Ocena kosztorysu

Brak kosztorysu dla projektu.

Ocena możliwości wykonania

Ogólnie projekt jest możliwy do zrealizowania, ale należałoby udoskonalić jego główne założenia i metodykę badań. Jednym ze sposobów i technik realizacji tego rodzaju projektów jest obserwacja przyrody w warunkach naturalnych. Nie jest wtedy możliwe porównanie wyników z kontrolą w ściśle określonych warunkach. Nie znaczy to że badania takie są bezwartościowe. Wyniki z regularnej (np. sezonowo) obserwacji przyrody również mogą być bardzo cenne oraz publikowane w czasopismach zajmujących się odpowiednią dziedziną.

mgr Wojciech Tokarz

1. Ocena merytoryczna projektu

(Poziom naukowy badań lub zadań przewidzianych do realizacji, Nowatorski charakter projektu, Wpływ realizacji projektu badawczego na rozwój dyscypliny naukowej)

Projekt dotyczy ciekawego zagadnienia ekologii ptaków, jakim jest wpływ czynników środowiskowych na behavior, a pośrednio na sukces reprodukcyjny ptaków. Jest to dziedzina, w której wciąż wiele jest niejasnych aspektów, na co autorzy zwracają uwagę w opisie zamieszczonym we wniosku projektowym. Z pewnością zasadne jest podjęcie badań nad tym tematem, istnieją natomiast wątpliwości dotyczące akuratności planowanej metodyki badawczej pozwalającej na sprawdzenie podejmowanych hipotez. Projekt ma charakter nowatorski,

ponieważ jest nacełowany na zbadanie nierozstrzygniętych dotychczas kwestii wpływu księżyca na reprodukcję ptaków. Ponadto, zastosowanie skomplikowanej ze względów merytorycznych i praktycznych metodyki badań terenowych również świadczy o nowatorskim charakterze projektu. Dobrze zaplanowane i właściwie zrealizowane badania w ramach poruszanego zagadnienia mogłyby dać wyniki stanowiące cenny wkład w badania nad aspektami czynnikami w ewolucji rozrodu u ptaków.

2. Ocena kosztorysu

Brak kosztorysu, więc trudno ocenić ☺

3. Ocena możliwości wykonania

Temat jest ciekawy i warto byłoby wykonać takie badania, ale trzeba przyznać, że metodyka wymaga dopracowania. Kilka spraw, które najbardziej rzucają się w oczy, a uniemożliwiają określenie na ile projekt jest wykonalny przy tej metodyce:

- a) Nie jest jasno napisane jaką przewidujecie docelową wielkość próby - wspominać, że chcecie min. 15 par z jednego obszaru, czyli w sumie 75 par czy więcej?
- b) Nie piszecie wiele o logistyce, a w takich badaniach to dość ważny aspekt. Tzn. trzeba opisać szczegółowo poszczególne działania. I tak będziecie to musieli z grubsza założyć, żeby określić kosztorys.
- c) Nie ma pewności, że założona metodyka pozwoli na zebranie danych w praktyce. Z tego co jest napisane wynika, że będziecie sami to wszystko robić (obserwacje, nasłuchy) co jest dość nierealne jeśli miałyby to być codzienne kontrole w terenie (nawet dla 10 osób na raz i nawet jeśli to tylko 3 godziny na noc... 4 miesiące z odwróconym cyklem okołodobowym dobrze Wam raczej nie zrobi ☺). Przy tym nie wiem czy uda się przy liczbie tylko 10 wykonawców zaobserwować tyle ptaków, ile zakładacie jako minimum (zakładam, że jeden obserwator w ciągu sezonu obserwacji może zajmować się tylko jednym ptakiem/parą, czyli to daje taki rachunek: 2 osoby*4 lata = 8 samców/par, a chcecie min. 15 par
- d) Kwestia przemieszczania się pomiędzy obszarami badań: nie ma protokołu obserwacji, a z tekstu nie wynika dlaczego macie przemieszczać się pomiędzy obszarami badań kiedy jest zła pogoda. Wg mnie to nie jest ani uzasadnione (nie ma pewności, że pogoda nie zmieni się szybko i wyjechaliście bez potrzeby z danego obszaru, albo że na innym obszarze też może nie być dobrej pogody) ani w ogóle możliwe (jak się w razie zmiany pogody przemieście skoro macie tylko 3h obserwacji/noc, a nawet jeśli to będziecie obserwować nowe, wcześniej nieobserwowane ptaki i tylko przez jakiś czas, a nie cały sezon tak jak zakładacie, bo po polepszeniu pogody obserwatorzy będą wracać do „swoich” słowików. Najlepiej zastanówcie się nad taką metodą, żeby zminimalizować wpływ czynnika pogodowego na wykonanie badań.
Dobra rada wujka Tokarza:
Głosy można nagrywać, np. po zlokalizowaniu terytorium samca montować tam dyktafon i później analizować przy komputerze (użyć programu do obróbki audio, żeby powycinać z trwającej kilka godzin ścieżki same trele słowika i sprawdzać długość każdego z nich, przypisując przy okazji do pory nocy, warunków pogodowych i naświetlenia światłem księżyca)
- e) Pomiar natężenia światła księżycowego w nocy – piszecie, że będzie mierzony, ale nie piszecie w jakich warunkach i kiedy („w pobliżu śpiewającego ptaka”). Nie da się w terenie zmierzyć nic w pobliżu ptaka, bo istnieje ryzyko jego spłoszenia. Najlepiej tutaj też jakoś standaryzować pomiar.
Dobra rada wujka Tokarza:

Można byłoby np. w czasie 3h obserwacji co 15 min (albo jakiś inny sensowny odstęp) zmierzyć luksometrem natężenie światła, na otwartej przestrzeni, żeby uniknąć wpływu zacienienia spowodowanego obecnością drzew, a później uwzględnić w analizie uśrednioną wartość natężenia światła dla całej obserwacji w danym dniu.

- f) Są niejasności związane z ramami czasowymi projektu, np. obserwacje mają być prowadzone od kwietnia, ale skąd będzie wiadomo, że słowiki już przyleciały? Trzeba założyć trochę wcześniejsze rozpoczęcie, żeby nie tracić możliwości obserwacji zaraz po przylocie ptaków
- g) Błędne założenie co do miary sukcesu reprodukcyjnego (zakładam, że badacie jednak sukces reprodukcyjny samca). Nie można tego zmierzyć liczbą wyprowadzanych młodych. Sukces reprodukcyjny samca to liczba jaj będących jego potomstwem. Może on mieć dzieci nie tylko ze swoją partnerką, której gniazdo będzie obserwowane, ale też w związkach pozapartnerskich, więc żeby sprawdzić jego sukces reprodukcyjny należałoby określić ile w sumie spłodził potomstwa, co jest ekstremalnie trudnym zadaniem. Poza tym, liczba młodych wyprowadzonych z gniazda nie daje jasnej informacji o sukcesie rozrodczym samca z powodu występowania dodatkowych czynników zewnętrznych, mogących wpływać na obniżenie przeżywania młodych w czasie przebywania w gnieździe (mierzymy ile przeżyło, z różnych powodów, a nie ile faktycznie miał dzieci).

4. Mocne strony wniosku

- a) Autorzy podejmują się tematu trudnego do wykonania ze względów zarówno merytorycznych (konieczność skonstruowania metodyki dopasowanej do zmiennych warunków terenowych) jak i logistycznych, co odzwierciedla ich niestrudzenie i zaangażowanie, graniczące z heroizmem.
- b) Duży wkład pracy autorów wniesiony w poznanie nowej dla nich tematyki badań
- c) Akcenty humorystyczne, np. „(cyt.)”

5. Słabe strony wniosku

- a) W tytule projektu wskazuje się, że badanie dotyczy sukcesu reprodukcyjnego słowika, później we wstępie wspomniano o sukcesie reprodukcyjnym samców, a w metodach jest mowa o mierze sukcesu reprodukcyjnego par słowika. Nie wiadomo co dokładnie będzie badane.
- b) Niejasna, niedopracowana metodyka, budząca wątpliwości co do możliwości wykonania projektu
- c) Brak opisu planów co do analizy uzyskanych danych
- d) W rozdziale „Koncepcja i plan badań” sporo informacji, które powinny znaleźć się w rozdziale dotyczącym metodyki
- e) Nie możecie pisać, że wyniki zostaną „skorelowane” z natężeniem księżyca, bo to automatycznie wnosi, że jest jakiś związek, a przecież to właśnie badacie
- f) Niska liczba cytacji, sporo niepopartych naukowo stwierdzeń (np. wersy 42-45)
- g) Niejasny opis założeń projektu – temat jest doniosły, a badania zasadne, ale z opisu założeń to nie wynika
- h) Nieco chaotyczne opisy w poszczególnych punktach
- i) Brak kosztorysu

Wpływ natężenia światła emitowanego przez Księżyc na sukces reprodukcyjny słowika rdzawego (*Luscinia megarhynchos*) (C. L. Brehm, 1831)

5.4.3. Ostateczna wersja projektu

Streszczenie projektu

Wpływ cyklicznych zmian faz Księżyca został stwierdzony w przypadku wielu organizmów żywych, jednak jak do tej pory badania skupiały się na organizmach typowo nocnych. Do tej pory podjęto niewiele prób zbadania związku faz księżyca z sukcesem reprodukcyjnym ptaków dziennych. W proponowanym projekcie obiektem badań będzie słowik rdzawy (*Luscinia megarhynchos*) – gatunek dzienny, którego behawior rozrodczy jest związany z nocą: samce wykonują wtedy piosenki mające na celu przywabienie partnerki. Samice dokonują wyboru partnera na podstawie jakości piosenki samca, która jest dobrą miarą jego kondycji. Dokonanie właściwego wyboru pozwala na maksymalizację sukcesu rozrodczego – na przykład liczby wyprowadzonego z gniazda potomstwa.

Przewidujemy, że pary słowicze, z których samce częściej śpiewały w jasne noce będą miały większy sukces reprodukcyjny – jest to związane z ich lepszą kondycją. Intensywny śpiew w jasne noce jest bardzo dużym wydatkiem energetycznym dla ptaka i dodatkowo może zwiększać prawdopodobieństwo wykrycia i złapania go przez drapieżnika, dlatego na taki śpiew mogą sobie pozwolić tylko samce w najlepszej kondycji.

Planowane badania zostaną przeprowadzone na trzech terenach lęgowych słowika w południowo-zachodniej Polsce. Każdy z trzech terenów będzie monitorowany przez trzy kolejne sezony. W czasie okresu rozrodczego będą nagrywane nocne śpiewy samców i jednocześnie będzie mierzone natężenie światła nocnego. Następnie po doborze partnerów i założeniu gniazd będą liczone wyprowadzone młode danej pary lęgowej. Ilość własnych młodych zostanie skorelowana z intensywnością światła nocnego przy której śpiewał ojciec. Wyniki proponowanych badań pozwolą lepiej poznać kolejny aspekt z dziedziny zachowań rozrodczych ptaków, a także stworzą nowe możliwości do planowania przyszłych badań behawioralnych słowików i innych ptaków.

Cel naukowy projektu

Kwestia wyboru partnera do rozrodu jest jednym z kluczowych i wciąż intensywnie badanych problemów biologicznych. Właściwy wybór samca dokonany przez samicę ma bardzo duży wpływ na jakość i ilość potomstwa, a co za tym idzie na sukces reprodukcyjny pary. U ptaków wybór samca do rozrodu uwarunkowany jest jakością jego śpiewu. Śpiew jest kosztowny energetycznie (Thomas 2002), dlatego charakterystyka i sposób wykonania piosenek traktowany jest jako miara kondycji samca.

Celem proponowanych badań jest sprawdzenie czy natężenie światła emitowanego przez Księżyc pośrednio wpływa na sukces reprodukcyjny słowika rdzawego (*Luscinia megarhynchos*). Spodziewamy się, że samce śpiewające intensywniej w jasne noce mają lepszą kondycję, ponieważ podejmują ryzyko śpiewu w sytuacji, gdy są lepiej widoczne dla drapieżników, a także ponoszą większy koszt energetyczny. Dzięki temu mogą być chętniej wybierane przez samice. W konsekwencji pary, w których samiec śpiewał w jasne noce wyprowadzą więcej młodych i w związku z tym będą miały większy sukces reprodukcyjny niż pary, u których samce śpiewały w noce ciemniejsze.

Hipoteza badawcza: pary słowicze, z których samce intensywniej śpiewały w jasne noce będą miały większy sukces reprodukcyjny.

Znaczenie projektu

Słowik pojawia się w sztuce i kulturze jako jeden z symboli miłości i romantyczności. Jego wieczorne śpiewy trwale związały go w społecznej świadomości z romantycznymi chwilami i są kojarzone ze spacerami przy świetle Księżycy. Od wielu pokoleń ludzie dopatrują się związku pomiędzy księżycowymi nocami a intensywnością śpiewu słowików. Istnieje powszechne przekonanie, że słowik śpiewa szczególnie intensywnie podczas pełni. Tym, co mogłoby powodować istnienie takiego związku, mógłby być zwiększony sukces reprodukcyjny samców, które szczególnie często śpiewają podczas jaśniejszych nocy (np. z pełnią Księżycy). Dotychczas nie przeprowadzono jednak żadnych badań naukowych pozwalających na zweryfikowanie tego poglądu.

Fazy księżyca są ważnym czynnikiem w biologii wielu organizmów od bezkręgowców po ssaki (Kronfeld-Schor i in. 2013). Wszystkie przeprowadzone do tej pory badania sprawdzające wpływ faz i światła księżyca na reprodukcję, komunikację i żerowanie u ptaków dotyczyły gatunków nocnych, głównie lelków i sów. Do tej pory nikt nie próbował zbadać związku faz księżyca z sukcesem reprodukcyjnym ptaków dziennych.

Aktywność żerowania puchacza jest największa w czasie nocy z pełnią (Penteriani in. 2011). Kilka gatunków lelków synchronizuje swój cykl gniazdowy z cyklami księżyca. Lelkowiec krzykliwy (*Caprimulgus vociferous*) wysiada swoje jaja w czasie nocy podczas których księżyc jest w nowiu, z kolei czynności wymagające większego nakładu energetycznego, jak żerowanie są związane z nocami kiedy jest pełnia (Mills 1986). Samice lelka śniadego (*Caprimulgus pectoralis*) zaczynają składać jaja w czasie pełni. Skutkuje to tym, że rodzice karmią swoje młode w czasie zmierzchu i nocy z pełniami księżyca. Taka strategia pozwala im dłużej żerować w okresie gdy zapotrzebowanie energetyczne piskląt jest największe (Jackson 1985).

Niedawno zbadano jak fazy księżyca wpływają na śpiew ptaków dziennych. Okazało się, że samce dziergacza białobrzewego (*Plocepasser mahali*) zaczynają śpiewać wcześniej o świcie poprzedzonym pełnią księżyca (York i in. 2014). Natomiast u sikory modrej (*Cyanistes caeruleus*) samce rozpoczynające „zierzchową piosenkę” wcześniej mają większy sukces reprodukcyjny – zdobywają więcej partnerek oraz częściej dochodzi u nich do kopulacji pozapartnerskich. Wynika to przypuszczalnie stąd, że samice uznają moment rozpoczęcia pieśni za wyznacznik jakości samca (Poesel i in. 2006). Łącząc obie te informacje można przypuszczać, że fazy księżyca mogą mieć pośredni wpływ na sukces reprodukcyjny ptaków dziennych. Słowik rdzawy (*Luscinia megarhynchos*) wydaje się idealnym gatunkiem, przy pomocy którego można przetestować powyższe przypuszczenia. Jego piosenka nocna ma za zadanie zwabić partnerkę i jest wykonywana w godzinach gdy księżyc jest najwyżej. Wyniki z proponowanego projektu mogą wnieść nowe informacje o zachowaniach związanych z rozrodem u ptaków. Nowa informacja z zakresu zachowań rozrodczych u ptaków opublikowana w prasie popularnonaukowej może zainteresować spore kręgi ludzi na co dzień nie związanych z nauką (mamy tu na myśli ornitologów-amatorów, których grupy są liczne w wielu państwach). Jeżeli wyniki naszych badań potwierdzą nasze przewidywania, że samce śpiewające w jasne noce to te „najlepsze”, może to otworzyć nowe możliwości do planowania przyszłych badań z zakresu zachowań słowików i innych ptaków.

Koncepcja i plan badań

Głównym celem projektu będzie zbadanie intensywności (tempo, czas trwania, częstota powtarzania piosenki, długość przerw pomiędzy piosenkami) śpiewu samców słowika rdzawego (*Luscinia megarhynchos*) w zależności od intensywności natężenia światła gwiazd i Księżycy, a także określenie sukcesu reprodukcyjnego par słowików tworzonych przez badane samce.

Zakładamy, iż śpiew podczas jaśniejszych nocy jest bardziej ryzykowny (ze względu na lepszą widoczność dla drapieżników), więc może świadczyć o dobrej kondycji samca (teoria „dobrych

genów”, Hamilton i Zuk 1982). Nasze przypuszczenia przewidują, że samce wykazujące większą niż pozostałe osobniki aktywność wokalną podczas relatywnie jasnych nocy będą mieć większy sukces reprodukcyjny. Nocne piosenki są wykonywane przez samce nie tylko podczas wabienia potencjalnych partnerek, ale również w okresie gdy samica składa jaja. Samica jest w stanie wówczas dostosować swój wysiłek (ilość złożonych jaj) do jakości piosenki, a co za tym idzie kondycji samca (Armhein i in. 2002).

Planowane badania zostaną przeprowadzone na naturalnej populacji zasiedlającej tereny południowo-zachodniej Polski. Na podstawie danych o rozmieszczeniu słowika rdzawego wyznaczone zostaną powierzchnie badawcze. Pomiary i obserwacje będą prowadzone przez trzy kolejne sezony w celu uzyskania odpowiedniej ilości danych o osobnikach i ich piosenkach. Na wybranych stanowiskach tuż po powrocie słowików z zimowisk (kwiecień) zostaną odłowione i zaobrączkowane samce i samice, które zostaną następnie wypuszczone do środowiska naturalnego. Odłowy prowadzone będą przez cały okres powrotów z migracji. Na podstawie obserwacji wyznaczone zostaną miejsca, które samce objęły jako swoje terytoria. W pobliżu tych miejsc zamontowane zostaną mikrofony, które następnie będą rejestrować nocne (w godzinach 0:00-3:30) piosenki samców. Odłowy, obrączkowanie, wypuszczanie i instalacja mikrofonów odbywać się będą przez cały okres powrotów ptaków z zimowisk. Równocześnie przy pomocy automatycznych luksometrów z data-loggerami odnotowywana będzie co noc intensywność naświetlenia badanego terenu przez Księżyc w celu późniejszego zbadania związku pomiędzy tym parametrem a intensywnością śpiewu słowika.

Po znalezieniu przez obserwowane samce partnerek, założeniu gniazda, i zniesieniu jaj przez samicę zostaną policzone jaja w celu późniejszego określenia sukcesu reprodukcyjnego pary. Wznowiona zostanie także rejestracja nocnych piosenek słowika w okresie składania jaj przez samicę. Po wykluciu się piskląt zostaną pobrane próbki DNA w celu potwierdzenia, iż są one dziećmi obserwowanej pary. Pod koniec badań terenowych odnotowana zostanie ilość piskląt wyprowadzonych przez parę z gniazda.

Metodyka badań

Proponowane przez nas badania wymagają prowadzenia ich przez trzy kolejne sezony (2015-2017). Okres dobierania się słowików pary jest krótki, także odnalezienie i stale obserwowanie konkretnego samca, a następnie pary jest czasochłonne i bywa niezwykle trudne, zatem ilość materiału dźwiękowego z pojedynczego sezonu byłaby niewystarczająca do przeprowadzenia analiz statystycznych. Ponadto podczas krótkiego okresu powrotów ptaków z migracji może być trudno odłowić odpowiednią liczbę osobników. Badania prowadzone będą na trzech obszarach lęgowych słowika rdzawego w południowo-zachodniej Polsce.

Od miejscowych ornitologów pozyskane zostaną informacje na temat dat pierwszych powrotów słowików z migracji w poprzednich latach. Na tej podstawie wyznaczony zostanie termin, od którego grupy zaczną działać w terenie oczekując na przylot ptaków z migracji. Słowiki będą odławiana w miarę przylotu na miejsce badań. Niezaobrączkowane do tej pory samce i samice zostaną zaobrączkowane, a następnie wypuszczone. Prowadzone będą obserwacje, które miejsca zostają wybrane przez samce na ich terytoria.

Okres przylotu słowików obejmuje około 1 miesiąc, przy czym pierwsze przylatują samce. Odłów ptaków będzie prowadzony w sposób ciągły przez cały czas trwania ich powrotów z migracji. Liczba odłowionych i zaobrączkowanych ptaków będzie uzależniona od liczby osobników powracających na teren badań, jednak wielkość zespołu na jeden obszar badawczy – 10 osób – pozwala na przeprowadzenie efektywnych odłowów: około 5 par w ciągu sezonu, co daje w sumie na cały okres badań (5 gniazdujących par w ciągu roku, 3 powierzchnie badawcze, 3 sezony badań) 45 par (obliczenia w oparciu o pracę Armheina i in. 2002, gdzie w czasie czterech sezonów zbadano 18 par na jednym obszarze badawczym).

W pobliżu terytoriów wybranych przez samce zainstalowane zostaną mikrofony oraz luksomierze – 1 mikrofon rejestrujący nocne piosenki samca w godzinach 00:00-3:30 oraz 3 luksomierze dokonujące automatycznego pomiaru natężenia światła co 15 minut w tych samych godzinach (godziny na podstawie danych Kunc i in. 2005). Dźwięk rejestrowany będzie przez urządzenie nagrywające do późniejszych analiz aż do momentu znalezienia przez badanego samca partnerki.

Po dobraniu się sówików w pary ich gniazda obserwowane będą w ciągu dnia przez grupy terenowe w celu odnotowania przybliżonego momentu rozpoczęcia składania jaj przez samicę. Równocześnie ponownie rozpocznie się nagrywanie nocnych piosenek samców, które będzie trwać przez cały okres składania jaj przez samicę (ok. 5 dni). Po złożeniu jaja zostaną policzone. Po wykluciu się piskląt pobrane zostaną od nich i od obojga rodziców próbki krwi do badań genetycznych mających na celu ustalenie jaka liczba piskląt jest faktycznym potomstwem obserwowanej pary. Pisklęta zostaną zaobrączkowane w celu późniejszej identyfikacji. Gniazdo będzie obserwowane do momentu wyprowadzenia piskląt z gniazda. Ich liczba także zostanie odnotowana – będzie to miara sukcesu reprodukcyjnego pary.

Po zakończeniu badań terenowych zostanie dokonana analiza zebranych danych. Nagrania dźwiękowe zostaną przeanalizowane pod kątem i) czasu trwania pojedynczej piosenki samca, ii) częstości wykonywania piosenki w ciągu minuty oraz iii) długości przerw pomiędzy piosenkami. Zbadamy korelację pomiędzy tymi parametrami a sukcesem reprodukcyjnym pary, do której należał samiec wykonujący daną piosenkę nocą. W pierwszej kolejności zbadamy czy istnieje korelacja pomiędzy tymi trzema cechami piosenki a natężeniem światła wyrażonym w luksach, o którym informacja pochodzić będzie z luksomierzy. Dla tych cech piosenki, które będą istotnie korelowały z natężeniem światła, zostaną wyliczone wartości resztkowe. Następnie zostanie przeprowadzona analiza regresji otrzymanych wartości resztkowych z sukcesem reprodukcyjnym pary, którego miarą będzie ilość własnych młodych opuszczająca gniazdo.

Literatura

- Amrhein V., Korner P., Naguib M., 2002, Nocturnal and diurnal singing activity in nightingale: correlations with mating status and breeding cycle. *Animal Behaviour* 64:939-944
- Amrhein V., Kunc P.H., Naguib M., 2004, Seasonal patterns of singing activity vary with time of day In the nightingale (*Luscinia Megarhynchos*). *The Auk* 121:110-117
- Hamilton W.D., Zuk M., 1982, Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* 218:384-387
- Jackson H.D., 1985, Aspects of the breeding biology of the fierynecked nightjar. *Ostrich* 56:263-276
- Kronfeld-Schor N., Dominoni D., de la Iglesia H., Levy O., Herzog E.D., Dayan T., Helfrich-Forster C., 2013, Chronobiology by moonlight. *Proceedings of the Royal Society B* 280(1765),20123088
- Mills A.M., 1986, The influence of moonlight on the behavior of goatsuckers (Caprimulgidae). *Auk* 103:370-378
- Penteriani V., Kuparinen A., Delgado M.D., Lourenco R., Campioni L., 2011, Individual status, foraging effort and need for conspicuousness shape behavioural responses of a predator to moon phases. *Animal Behaviour* 82:413-420
- Poesel A., Kunc H.P., Foerster K., Johnsen A., Kempenaers B., 2006, Early birds are sexy: male age, dawn song and extrapair paternity in blue tits, *Cyanistes* (formerly *Parus*) *caeruleus*. *Animal Behaviour* 72:531-538
- Thomas R.J., 2002, The costs of singing in nightingales. *Animal Behaviour* 63:959-966

Kosztorys

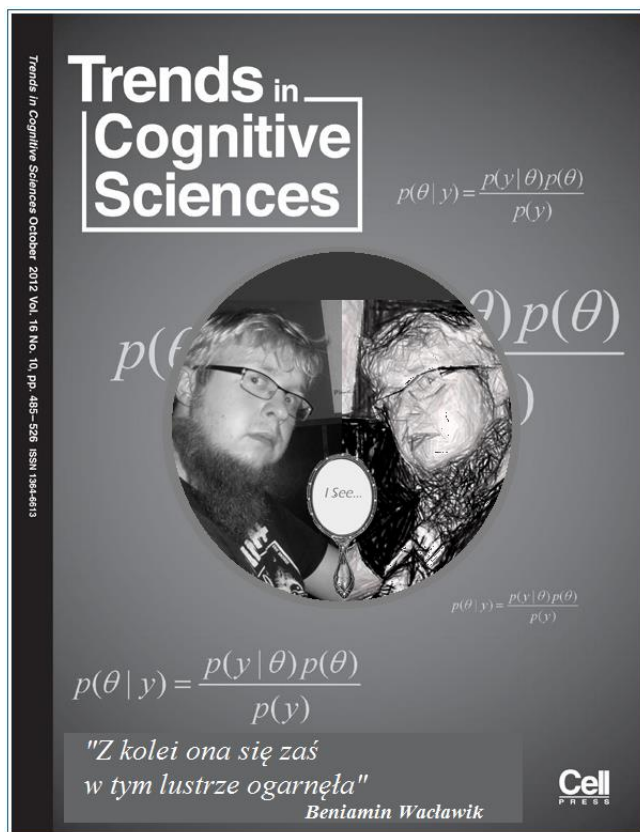
	2015	2016	2017	suma
Koszty bezpośrednie w tym:	117250	69100	69300	255650
wynagrodzenie	60000	60000	60000	180000
aparatura	39000	0	0	39000
inne koszty bezpośrednie	18250	9100	9300	36650
koszty pośrednie	23475	20730	20790	64995
ogółem	140725	89830	90090	320645

Wynagrodzenie dla 30 pracowników terenowych	180000
luksomierze 60 sztuk po 20 na 1obszar badawczy	12000
lornetki 15 sztuk	12000
zestawy do nagrywania śpiewu ptaków 15sztuk	15000
siatka 9 sztuk	2700
Transport (koszty paliwa)	10000
analizy DNA ok. 350 analiz	17500
obrączki	150
program do analizy i obróbki dźwięku	9000

6. KIKSY

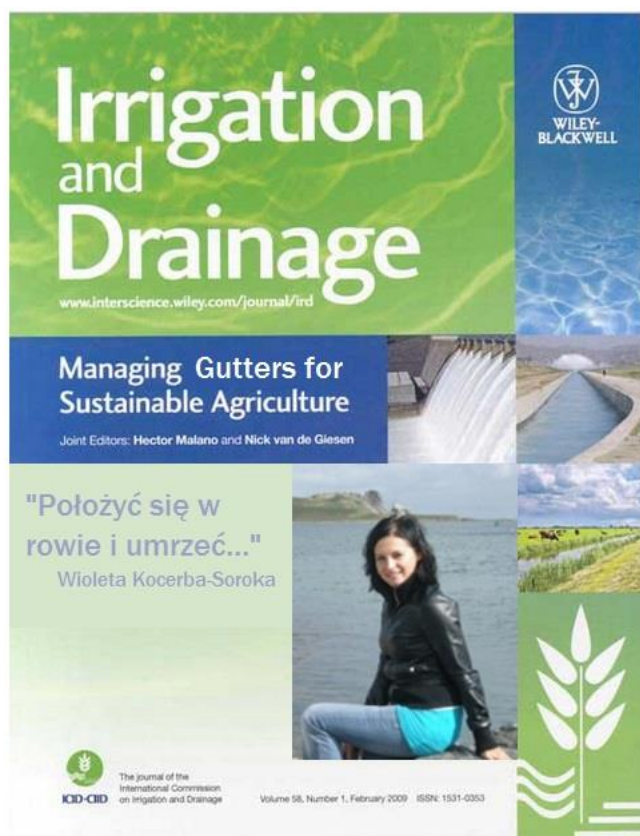
- Jeśli sex, to tylko ratio (ND do AA, który wykrył zaburzenia proporcji płci u prosionków, na których robi badania)
- Zapyłacze bardzo chcą (JK)
- Andrzej nie chłapie tutaj niczym (WKS)
- Ile pijesz tygodniowo, to znaczy ile miałeś dziewczyn w życiu (AA)
- Każdy miał swoją kurę (MS)
- Wtedy wyjdą półgłówki, z mądrych i głupich (ND)
- Leczenie psa z dzwonkiem (AA)
- Wiezienie [psa] do weteryniarza (AA)
- To macie trzy hipotezy w obrębie czwartej (WT)
- Zwierzę zaczyna głaskać właściciela i właściciel ma placebo (AA)
- Na Wschodzie masz bardziej dziką dzicz (AA)
- Z kolei ona się zaś w tym lustrze ogarnęła (BW, o wronie i testach na samoświadomość zwierząt)
- A najmądrzejsze ptaki przeniosły się na wieś, żeby mieć trochę spokoju (JR o inteligencji miejskich krukowatych)
- Nasz projekt jest ważny, ponieważ na Nowej Kaledonii nikt tego nie badał (WT i AA)
- Przepraszam, ja nieświadomie wywołuję śmiech (AA)
- Czego nie wiadomo? Nie wiadomo tego, co chcemy zbadać w naszym projekcie (MS)
- Może recenzenci będą romantyczni (WKS do ND i MS)
- To jest ptak... to nie Chińczyk w czapce (BW o rysunkach w swoim schemacie)
- Często się widzi zabandażowanie psy (AA)

7. GALERIA



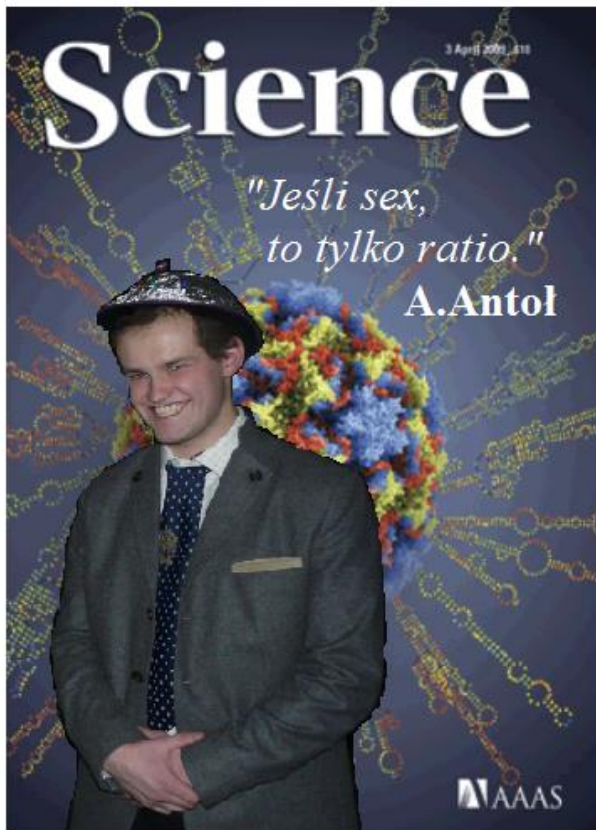
Beniamin Waclawik

Opisywał projekt związany z uczeniem się na ptaków. Z wielkimi emocjami przekazywał Wojciechowi świeżo zdobytą z literatury wiedzę (cytat na okładce).



Wioleta Kocerba-Soroka

Bardzo przejęła się losem psów, które miały być kaleczone w projekcie związanym z placebo. Zwróciła uwagę na problem uciekania skaleczonych psów, które mogą szukać samotności czując nadchodzącą śmierć (takie zachowanie psów mogłoby być możliwe w czasie trwania eksperymentu, a to utrudniałoby badania).



Andrzej Antoń

Na co dzień bada między innymi stosunek płci w miotach u prosionka szorstkiego (*Porcellio scaber*).



Natalia Derus

Już do końca życia będzie odczuwać dreszcze słysząc śpiew słowika.



Wojciech Tokarz

Uzdolniony plastycznie (wykonał wszystkie pozostałe okładki – tę zmontowała nie mniej utalentowana Justyna Kierat), ponadto wykonuje swym iście proboszczowym głosem psalmy o tematyce genetycznej.



Górny rząd: Aleksandra Piontek, Beniamin Waclawik, Natalia Derus, Andrzej Antoł, Wojciech Tokarz, Matusz Sobczyk

Dolny rząd: Justyna Kierat, Wioleta Kocerba-Soroka, dr hab. Joanna Rutkowska



Wojciech Tokarz i Beniamin Waclawik



Aleksandra Piontek i Wioleta Kocerba-Soroka



Justyna Kierat i Andrzej Antoł



Natalia Derus i Mateusz Sobczyk



Cierpienia młodych biologów...



Pośród wytężonej pracy umysłowej zdarzały się jednak i chwile szczęśliwości ☺