

Instytut Nauk o Środowisku, Uniwersytet Jagielloński

WARSZTATY METODYCZNE BIOLOGII EWOLUCYJNEJ



Ochotnica, 13 – 18 października 2005

*Całkiem możliwe, że po dziś dzień myśli
obracają się wokół tej jednej, która ciągle
jeszcze nikomu nie przyszła do głowy. Być
może wszystko zależy od tego, czy ktoś
wreszcie na nią wpadnie. Ale to wcale nie jest
takie pewne.*

Elias Canetii (1905 - 1994)

Zdjęcia: Łukasz Binkowski, Dominika Kustosz , Joanna Rutkowska, Darek Wiejaczka
Edycja raportu: Elżbieta Rożej i Marta Wantuch

SPIS TREŚCI

| | |
|---|----|
| Organizatorzy, recenzenci i uczestnicy warsztatów..... | 4 |
| Kiksy..... | 5 |
| Tematy zaproponowane przez uczestników..... | 6 |
| Projekty i recenzje..... | 7 |
| 1. „Czy wysiłek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia samic nornicy rudej <i>Clethrionomys glareolus</i> ?” – Dominika Chmolewska, Dominika Kustoszczyńska..... | 7 |
| 2. „Wpływ odpowiedzi immunologicznej na proces uczenia się śpiewu u zeberki <i>Taeniopygia guttata</i> ” – Marta Wantuch, Dariusz Wiejaczka..... | 18 |
| 3. „Wpływ uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycję rodziny pszczelej <i>Apis mellifera L.</i> ” – Łukasz Binkowski, Monika Ulman..... | 29 |
| 4. „Zależność liczby kleszczy przenoszących pasożyty krwi od warunków pogodowych” – Agnieszka Kloch, Elżbieta Rożej..... | 41 |
| Galeria..... | 51 |

ORGANIZATORZY I RECENZENCI WARSZTATÓW

Dr hab. Mariusz Cichoń, Zakład Ekologii Populacyjnej INOŚ UJ, cichon@eko.uj.edu.pl

Prof. dr hab. Adam Łomnicki, Zakład Ekologii Populacyjnej INOŚ UJ, lomnicki@eko.uj.edu.pl

Dr Piotr Nowicki, Zakład Ekologii Behawioralnej INOŚ UJ, nowic@eko.uj.edu.pl

Dr Joanna Rutkowska, Zakład Ekologii Populacyjnej INOŚ UJ, rutko@eko.uj.edu.pl

UCZESTNICZY WARSZTATÓW

Łukasz Binkowski, Zakład Monitoringu Środowiska INOŚ UJ, binko@poczta.onet.pl

Dominika Chmolewska, Zakład Ekotoksykologii INOŚ UJ, domenica@poczta.onet.pl

Agnieszka Kloch, Zakład Zoopsychologii i Etologii INOŚ UJ, akloch@eko.uj.edu.pl

Dominika Kustos, Instytut Botaniki PAN, ladylilith@o2.pl

Elżbieta Rożej, Zakład Ekologii Behawioralnej INOŚ UJ, toccata@tlen.pl

Monika Ulman, , Zakład Geografii Roślin IB UJ, ulmana@wp.pl

Marta Wantuch, Zakład Ekologii Behawioralnej INOŚ UJ, mwantuch@eko.uj.edu.pl

Dariusz Wiejaczka, Zakład Ekologii Populacyjnej INOŚ UJ, guitarist@op.pl

KIKSY

- To jest pierwszy kik. (Dominika Ch.)
- Spodziewane efekty projektu - manifestacje feministek (Dominika Ch.).
- Późna ciąża przedłuży życie (Agnieszka) To dobrze bo wszystkie jesteśmy już po optimum, cokolwiek zrobimy to będzie późna ciąża... (Joasia)
- To tutaj jest z opowieści Joasi, która nieraz oglądała jak nornice kopulują. (Dominika Ch. podczas omawiania swojego projektu)
- Są tam samice, które ulegają kopulacji. (Dominika Ch.) Czyli są uległe. (Mariusz)
- Stan wiedzy? (Mariusz) Stan naszej... mojej wiedzy jest... niewielki... (Ela)
- Wolalbym być pogryziony przez agresywnego samca niż dostać zastrzyk w kloakę. (Darek podczas rozmowy z Dominiką K. na temat jej projektu)
- Ja bym tego nie badała tylko ty byś to robiła... (Dominika Ch. w odpowiedzi na pytanie o jej własny projekt)
- Bez internetu czuję się jak bez połowy mózgu... bez lewej półkuli. (Darek)
- Pomyślałam sobie, że jesteśmy w Gorcach ale zapomniałam gdzie... (Agnieszka)
- Otwórzcie tutaj okno bo jak tak dalej pójdzie to ja bezpłodny będę. (Łukasz)
- Zakleszczyłyście się? (pytanie do autorek projektu o kleszczach)
- To już bardziej Łukasz wie o jakie choroby chodzi. Łukasz? Noooo...(długa przerwa) Wiem.... (cisza) (Monika i Łukasz podczas omawiania projektu)
- Napiszmy to na razie dobrze... tak byle jak... (Darek podczas pracy nad projektem)
- Żeby wydoić tę krowę to potrzebujesz chyba czekana. (Łukasz o krowie spotkanej na spacerze)
- A na koniec zrobimy... gulasz z nornic (Dominika K. podsumowując swój projekt)
- ... bo była tam nazwa gatunkowa długa, po łacinie, a tego nie trenowałam (Dominika Ch. tłumacząc dlaczego nie użyła nazwy łacińskiej nornicy podczas prezentacji projektu)
- Łukasz byś mi tu tę gałkę żeby woda... (bardzo zmęczona Ela prosząc Łukasza o odkręcenie kranu)
- Na twardo!... dzień zmarnowany... (Łukasz przy śniadaniu do Moniki, która ugotowała jajka na twardo)
- Ostatnie szczury zostają na tonącym zakręcie. (Dominika Ch. późną nocą o wyjeździe Mariusza)

TEMATY ZAPROPONOWANE PRZEZ UCZESTNIKÓW

1. **Efektywność kleszczy w przenoszeniu pasożytów krwi u gryzoni (AK)***
2. Czy i jak *Schistosoma* manipuluje zachowaniem żywicieli pośrednich? (AK)
3. Czy zanik bariery geograficznej może ujawnić różnice między lokalnymi populacjami traszki? (AK)
4. Wpływ pasterstwa na zasięg występowania *Rumex alpinus* w Karpatach i Alpach (DK)
5. Przyczyny zmian tras migracji bociana białego (DK)
6. Bioróżnorodność motyli nocnych u wybrzeży Zatoki Gwinejskiej (DK)
7. **Wpływ infekcji na zdolność uczenia się śpiewu u ptaków (DW)**
8. **Wysilek reprodukcyjny a długość życia u samic kameleona (DW)**
9. Wpływ snu na sukces reprodukcyjny u ptaków (DW)
10. Optymalizacja składu gatunkowego klombu a bioróżnorodność zapylaczy (ER)
11. Preferencje mikrosiedliskowe różnych gatunków nietoperzy zimujących (ER)
12. Parazytoidy jako biologiczna metoda zwalczania szrotówka kasztanowcowiaczka (ER)
13. Wpływ wieku drzewostanu na wielkość populacji borowca wielkiego (MW)
14. Różnice w odporności na choroby u dwu odmian świerka (MW)
15. Wpływ zalesiania na wielkość populacji orlika krzykliwego w Beskidzie Niskim (MW)
16. Wpływ grubości warstwy torfu pozostawionej po eksploatacji na zdolność odradzania się torfowiska wysokiego (MU)
17. Wpływ zagęszczenia populacji na sukces reprodukcyjny wilka (MU)
18. Związek między liczbą rodzeństwa a zdolnościami przywódczymi u ludzi (MU)
19. **Czy pszczoły w ulach styropianowych mają się gorzej niż w drewnianych? (ŁB)**
20. Wpływ liczby kogutów na wielkość i liczbę jaj znoszonych przez kury (ŁB)
21. Zawartość toksycznych węglowodorów aromatycznych w roślinach pobocza asfaltowej drogi (ŁB)
22. Wpływ wypalania łąk na bioróżnorodność gatunkową i kondycję mikroorganizmów glebowych (DCh)
23. Związek między bioróżnorodnością chwastów a bioróżnorodnością mikroflory w glebach uprawnych (DCh)
24. Wpływ obecności stacji terenowych na uszczuplenie lokalnych populacji rzadkich gatunków (DCh)

* Czcionka pogrubiona wskazuje tematy wybrane przez uczestników warsztatów do dalszego opracowania.

PROJEKTY I RECENZJE

1. „Czy wysiłek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia samic nornicy rudej *Clethrionomys glareolus*?” – Dominika Chmolowska, Dominika Kustosz

PIERWSZA WERSJA PROJEKTU

Czy wysiłek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia samic nornicy *Clethrionomys glareolus*?

Dominika Chmolowska, Dominika Kustosz

Streszczenie:

Przedstawiony projekt dotyczy zbadania wpływu wysiłku związanego z reprodukcją na długość życia samic nornicy rudej *Clethrionomys glareolus*. Na wysiłek reprodukcyjny wchodzi takie czynniki fizjologiczne jak: wyprodukowanie komórki jajowej, akt kopulacji, okres ciąży, poród, liczba młodych w miocie i ich wielkość oraz karmienie młodych. Przewidujemy, że samice, które posiadają młode żyją krócej od tych które nigdy ich nie miały. Doświadczenie ukaże także wpływ laktacji na długość życia samic. Zaprojektowaliśmy doświadczenie, które ma na celu sprawdzenie czy nasze przewidywania są prawdziwe.

Cele badań:

Hipoteza: Koszt jaki ponosi samica przy reprodukcji w konsekwencji prowadzi do skrócenia jej życia.

Przewidywania: Reprodukacja skraca życie samicy. Duże znaczenie w naszym doświadczeniu może mieć także masa ciała nornicy, od której to zależy wysiłek poniesiony z ciążą i porodem.

Otrzymamy możliwość faktycznej oceny poniesionych kosztów reprodukcji w trakcie całego życia samicy i odniesienie tychże wyników do innych gatunków tej gromady.

Dotychczasowe badania wykazały, że ciąża ma wpływ na stan zdrowia samicy oraz ewentualne nasilenie się chorób na starość, ale nikt jednoznacznie nie stwierdził czy wpływa na długość życia.

W 23 eksperymentach przeprowadzonych na nematoda i artropoda (na 19 gatunkach) wykazano, że dziewice żyją dłużej niż samice posiadające młode (Bell i Koufopanou, 1985). Takie same wyniki uzyskano w badaniach przeprowadzonych na rybach z gatunku *Syngnathus typhle* (Svensson, 1988). Badania myszy wykazały, iż dziewice żyją dłużej nawet o dwa sezony (Muhlbock, 1959; Suntzeff, 1962). Jednakże jak wykazały badania, dziewice szczurów żyją krócej od samic posiadających potomstwo (Slonaker, 1924; Drori i Folman, 1969).

Williams (1966) udowodnił, że gdy koszty reprodukcji są większe od kosztów inwestowanych w organizm, osobnik taki ma mniejsze szanse na przeżycie, a w konsekwencji na dalszą reprodukcję.

W innych doświadczeniach wykazano, że tylko 15 – 20% ryb (nazwy angielskie: capelin i bleakhead minnous) przeżywa więcej niż jedną reprodukcję (Markus, 1934; Wnters i Campbell, 1974).

W Finlandii przeprowadzane są badania polegające na zwiększeniu wysiłku reprodukcyjnego poprzez podrzucenie matkom dwóch młodych oraz na wyselekcjonowaniu dwóch linii rozwojowych o wysokim i niskim wysiłku reprodukcji (Tapio Mappes, Esa Koskela, Tulla Oksanen).

Pozytywne wyniki badań korelacji pomiędzy rozmiarem miotu a masą ciała matki były przedstawiane w wielu recenzjach o gryzoniach: *Peromyscus longicaudus* (Hamilton, 1962), *P. leucopus* (Svendsen, 1964; Lackey, 1978), *P. maniculatus* (Svendsen, 1964; Mayers i Master, 1983), *P. yucatanicus* (Lackey, 1976), *P. polinotus* (Kaufman I Kaufman, 1987), *Neotoma floridana* (McClure, 1981), oraz *Sigmodon hispidus* (McClanaghan i Gaines, 1978), *Microtus ochrogaster*

(Fitch, 1957; Keller i Krebs, 1970), *M. pennsylvanicus* (Keller i Krebs, 1970), *M. townsendii* (Anderson i Boonstra, 1979), oraz *Clethrionomys rufocanus* (Kalea, 1957).

Badania te jednak nie ukazują jaki wpływ ma sam okres ciąży na długości życia tych zwierząt.

Ze względu na to, że nornica ruda jest organizmem modelowym do badań nad ssakami otrzymane wyniki będzie można odnieść do innych gatunków tej gromady.

Metodyka:

Prace będą wykonywane za zgodą Komisji Etycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Przeprowadzimy doświadczenie polegające na sprawdzeniu jak koszty poniesione przez samice podczas trwania ciąży oraz okresu laktacji wpływają na długość jej życia.

Nornica ruda (*Clethrionomys glareolus* Schrber, 1780) jest gryzoniem szeroko rozpowszechnionym na terenie całej Europy. Zamieszkuje prawie wszystkie typy lasów oraz łąki. Na grzbiecie jest szaro – brunatnie ubarwiona, a od spodu jest jasna. Masa ciała dochodzi do 20 gram. Aktywna jest nocą ale pokarmu poszukuje również w ciągu dnia. Żywi się roślinami (nasionami, pąkami drzew, korzonkami, korą). Ostatnio przeprowadzono badania dotyczące wstępowania u nornicy drapieżnictwa, które wykazały, iż jedzą też drobne bezkręgowce – pasikoniki (P.Koteja). Buduje system korytarzy (nory) tuż pod powierzchnią ziemi, a w czasie zimy pod powierzchnią śniegu. Może być szkodnikiem upraw rolnych.

Nornice wykazują niewielki dymorfizm płciowy. Samice zajmują niezbyt duże terytoria, na których wychowują młode. Terytoria samców obejmują czasami kilka terytoriów samic. Nornice są poliskuistyczne.

Samica może mieć kilka miotów w roku. W jednym miocie jest od 4 do 7 młodych choć zdarza się czasami, że jest ich więcej. Zasadniczo samica może wykarmić 8 młodych gdyż posiada właśnie tyle sutków. Okres ciąży trwa dwa tygodnie, a karmienie ok. trzy tygodnie. Samica może być w ciąży podczas okresu laktacji.

Doświadczenie rozpoczniemy odłowieniem 30 samic i 15 samców nornicy rudej w celu założenia hodowli. Nornice zostaną odłowione z terenów Puszczy Niepołomickiej. Dzięki temu wyeliminujemy cechy powstałe podczas wielopokoleniowych hodowli. Populacja hodowlana zostanie odrobaczona, gdyż pasożyty mogą modyfikować płodność jak również żywotność badanych samic. Odłowione osobniki kojarzymy ze sobą. Od każdej matki bierzemy trzy siostry umieszczając każdą z nich w innej grupie badawczej. W ten sposób otrzymamy trzy grupy eksperymentalne po 30 samic w każdej z grup: grupę kontrolną, która nie będzie posiadała potomstwa oraz dwie grupy, które będą je posiadały. Zapewniamy im takie same warunki hodowli. Każdy osobnik będzie umieszczony w osobnej klatce. Każda klatka wyposażona będzie w poidełko oraz kołowrotek do zabaw. Nornice karmione będą standardowym pożywieniem dla myszy i szczurów laboratoryjnych. Utrzymywana będzie stała temperatura (20 – 23°C), wilgotność i 12 - godzinny fotoperiod. Podczas doświadczenia notowana będzie masa samicy przed zapłodnieniem, liczba młodych oraz ich masa po porodzie. W ciągu roku samica będzie 8-krotnie dopuszczona do samca i zapłodniona przez niego. Wzięto tu po uwagę długość ciąży, która wynosi dwa tygodnie oraz długość laktacji – trzy tygodnie. Jak również fakt, że nornice nie posiadają potomstwa w okresie zimy. Kontrolna grupa samic będzie kojarzona z wysterylizowanymi (poprzez podwiązanie nasieniowodów) samcami. Dzięki temu koszt związany z produkcją komórek jajowych oraz samą kopulacją nie będzie brany pod uwagę przy badaniu długości życia. W jednej z grup młode będą pozostawione z matkami na okres laktacji (karmienie młodych jest najbardziej kosztowne) a w drugiej grupie będą one oddzielane od matek zaraz po porodzie. Taki zabieg pozwoli nam stwierdzić w jakim stopniu sama ciąża wpływa na długość życia. Badania przewidywane są na trzy kolejne lata. W pierwszym roku wszystkie samice będą kopulowały, a w kolejnych latach prowadzona jest tylko hodowla (spisywana jest długość życia).

Dlaczego nornica:

- często wykorzystywana w badaniach laboratoryjnych
- jest organizmem modelowym do przeprowadzania badań laboratoryjnych na ssakach
- łatwa do złapania, powszechnie występuje w lasach
- łatwa w hodowli

- małe rozmiary ciała
- krótki okres ciąży, ok. 6 młodych w miocie, kilka miotów na rok (maksymalnie 10)

Forma przedstawienia wyników i analiza danych:

Otrzymane dane: masa ciała matek, liczba młodych, masa ich ciała, długość życia samic w dniach.

1. Porównanie danych dotyczących długości życia samic z grupy kontrolnej z samicami z obu grup, które posiadały potomstwo.
2. Porównanie długości życia samic, które karmiły młode z samicami, którym młode były odbierane po porodzie
3. Zbadanie korelacji masy ciała matki z liczbą młodych i ich masą, korzystając ze wzoru:

$$RE = \frac{l.m \times \acute{s}r.m.m}{m.c.m}$$

RE – reproductive effort

l.m – liczba młodych

śr.m.m. – średnia masa ciała młodych

m.c.m. – masa ciała matki

Do przeanalizowania dwóch pierwszych wyników użyta zostanie analiza wariancji jednokierunkowa. Jeśli w jej wyniku uzyskamy istotną zmienność między grupami zastosowany zostanie test post hoc Tukeya aby porównać średnie każdej z grup.

Efekty:

Przewidujemy, że przeprowadzone przez nas doświadczenie oraz wyniki w nim uzyskane wniosą duży wkład w dotychczasowy stan wiedzy na temat strategii życiowych. Uzyskane wyniki zostaną opublikowane w czasopismach naukowych oraz przedstawione na krajowych i zagranicznych konferencjach naukowych.

Kosztorys:

1. Wyjazd do Puszczy Niepołomickiej (przejazdy, diety, noclegi): 200 + 20 + 30
2. Żywołapki do odłowów (w ilości 45): 30*45= 1350 zł
3. Klatki do hodowli + ich wyposażenie (trociny - podłóże, pojemniki na wodę, kołowrotki, oświetlenie): 100 * 105 = 10500 zł
4. Pokarm: 3*365*3 = 3285 zł

Literatura:

1. *The Long-term Effect of Cadmium Exposure Throug Food on the Postnatal Development of the Bank Vole (Clethrionoys glareous Schreber, 1780)* D. Białońska, M. Zakrzewska, K. Sawicka-Kapusta, M. Konior, Folia Biologica (Kraków), vol.50 (2000), No 3-4
2. *Histopathologica changes in the liver, kidneys, and testes of bank voles environmentally exposed to heavy metal emission from the steelworks and zinc smelter in Poland* M. Damek-Poprawa, K. Sawicka-Kapusta, Environmental Research 96 (2004) 72-78
3. *Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników* A. Łomnicki, (2003) PWN.
4. *The Evolution of Life Histories Theory and Analysis* Derek A. Roff, Chapman I Hall (1992)
5. *The Evolution of Life Histories* Stephen C. Stearns, Oxford University Press (1995)
6. *An Introduction to Evolutionary Ecology* A. Cockburn, OxfordBleckwell Scientific Publications (1994)
7. Ustne konsultacje z Joasią i dr Mariuszem Cichoniem

RECENZJE

Adam Łomnicki

Recenzja projektu badawczego D. Chmolewskiej i D. Kustos pt. „Czy wysiłek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia samic nornicy rudej *Clethrionomys glareolus*?”

Ten ciekawy projekt jest bardzo niestarannie i nieprofesjonalnie przygotowany.

Str. 1: W badaniach empirycznych należy unikać terminów: prawdziwy i fałszywy, bo mają one pełny sens tylko w matematyce i logice formalnej. Nawet, jeśli jakiś wynik okaże się zgodny z naszą hipotezą, to inny wynik wykonany nawet w podobnych warunkach może być inny. Lepiej pisać, że eksperymenty (obserwacje) potwierdzą lub obalą naszą hipotezę.

Wyrażenie „w konsekwencji” przy opisie hipotezy jest zbędne. Natomiast dwa zdania pod tytułem „Przewidywania” powtarzają tylko to, co jest w hipotezie i choć wspominają o masie ciała samicy, to żadnych przewidywań w tej kwestii nie podają. Nie należy pisać akapitów jednozdaniowych, bo to robi wrażenie rozgonionych myśli autorów.

W tekście projektu trzeba być konsekwentnym. Nie można pisać, że otrzymamy ocenę (po co słowo „faktyczna”?) w ciągu całego życia, a równocześnie pozwalać samicom na reprodukcję tylko w jednym roku. W tym zdaniu mowa o odniesieniu wyników do innych gatunków tej gromady, co sugeruje, że na ssakach nikt takich badań nie prowadził, a następnie, że robione je na myszach i szczurach, ale wyniki nie są jednoznaczne. Zamiast popisywać się licznymi cytacjami dotyczącymi wielkości miotu i ciężaru matki, a nie mającymi nic do rzeczy szczegółami z biologii nornicy, należy wyjaśnić, dlaczego właśnie warto to robić na nornicy, a nie na myszach i szczurach, które są najłatwiejsze do hodowli i podać jakieś swoje hipotezy niejednoznaczności wyników dla myszy, które zdaniem autorek zostaną wyjaśnione dzięki badaniu nornic. Ja nie bardzo wierzę w ostatnie zdanie na tej stronie. Na pewno istnieją takie koszty reprodukcji, które zmniejszają szanse przeżycia, ale dlaczego mają być one większa od kosztów inwestowanych w organizm i co to w ogóle znaczy koszty inwestowania w organizm? Czy respiracja, aby utrzymać się przy życiu, to jest inwestowanie w organizm?

Str. 2: Tu znowu jednozdaniowe akapity i odnośniki do ryb, z których dla opisywanego projektu nic nie wynika. Mowa też o badaniach w Finlandii, tylko nie wiadomo czy o wspomnianych w poprzednim akapicie rybach czy o jakiś innych gatunkach, których nazwy i przynależności taksonomicznej nie podano. Znowu mowa o odniesieniu do innych ssaków (po co pisać o „innych gatunkach tej gromady”, gdy wiadomo że chodzi o ssaki?) i o tym że nornica jest gatunkiem modelowym. Nie podano, jednak żadnych argumentów, że właśnie nornica jest gatunkiem modelowym dla ssaków.

Pierwszy akapit Metodyki o Komisji Etycznej powinien moim zdaniem znaleźć się na końcu opisu metod. Natomiast drugi akapit nie mówi nic poza tym, co jest w tytule i o czym pisano w Celu Badań. Dalej jest o biologii nornicy rudej, ale bez dyskusji, jaki to ma związek z proponowaną metodą badawczą. Co na przykład wynika dla naszych badań z tego, że nornice wykazują niewielki dymorfizm płciowy a co z tego, że są promiskuityczne? Co to znaczy „poliskuityczne” nie wiem.

Str. 3: Jeśli temperatura ma być stała, to czy znaczy to, że wybierzemy jakąś temperaturę w granicach od 20 do 23 stopni, czy też będzie się wahać w tych granicach? A jeśli już podajemy jakiś zakres temperatury to, dlaczego nie zakres wilgotności, która też ma być kontrolowana? A w kosztorysie nie znalazłem kosztów utrzymania klimatyzacji, które mogą być poważne.

Poważnych tekstów (projektów, raportów) nie pisze się tak jak prezentacji w PowerPoincie tylko pełnymi zdaniami i wielozdaniowymi akapitami. Można je numerować, ale to ma sens wtedy, gdy na ten numer powołujemy się. Żaden z argumentów, dlaczego wybrano nornicę nie jest przekonujący i każdy można łatwo podważyć przykładem myszy laboratoryjnej lub myszy domowej. Słowo „złapać” nie jest dobre, lepiej pisać „odłowić”.

Korelacje bada się współczynnikami korelacji Pearsona lub Spearmana a nie wzorem na RE. Przy pisaniu wzorów matematycznych należy unikać symboli wieloliterowych i kropek w środku. To już lepiej napisać, że wysiłek reprodukcyjny można mierzyć stosunkiem masy wszystkich młodych do masy ciała matki. W którym okresie życia młodych?

Str. 4: Do badania przeżywalności dobre są testy nieparametryczne, szczególnie Kołmogorowa-Smirnowa, bo długości życia rzadko mają rozkład normalny. Natomiast jak autorki chcą badać korelacje masy matki z liczbą i masą młodych nie wiem.

Co to znaczy 200+20+30 w punkcie 1 kosztorysu? Czy to liczba wyjazdów, koszt w złotych, czy jeszcze coś innego? No i ten koszt utrzymania komór klimatycznych. Może lepiej prowadzić badania w zwykłych pomieszczeniach.

Widzicie Panie, że tych moich uwag jest niewiele mniej niż Waszego tekstu. Powodzenia w poprawianiu.

Adam Łomnicki

Mariusz Cichoń

Recenzja projektu Pań Dominiki Chmolowskiej i Dominiki Kustos. pt. Czy wysiłek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia samic nornicy *Clethrionomys glareolus*?

Projekt dotyczy bardzo ważnego zagadnienia biologii ewolucyjnej jakim jest ewolucja długości życia organizmów. Autorki zamierzają sprawdzić hipotezę, że koszty reprodukcji mogą kształtować długość życia organizmów. Proponują tutaj bardzo interesujący układ badawczy, który pozwoli oddzielić wpływ kosztów związanych z ciążą od kosztów laktacji.

Mimo, że pomysł tych badań, jest moim zdaniem bardzo ciekawy, a takie badania są na pewno warte finansowania, sam projekt jest napisany bardzo chaotycznie. W tym kontekście, recenzent może tu mieć wątpliwości, czy autorki mimo świetnych pomysłów wywiązałyby się z obietnic dobrego opublikowania wyników.

Teraz szczegółowe uwagi:

Streszczenie: Nie jest jasne co właściwie kryje się pod hasłem wysiłek reprodukcyjny. Autorki piszą o różnych etapach rozrodu, a potem o porównaniu samic, które mają młode z tym co nie mają – to nie jest precyzyjne. Ostatnie zdanie streszczenia nie niesie żadnej informacji. Przecież wiadomo, że planuje się doświadczenie, żeby sprawdzać przewidywania.

Cele: Hipoteza jest mało precyzyjna, a przewidywanie tylko jest powtórzeniem innymi trochę słowami. Zupełnie nie wiadomo o co chodzi z tą masą ciała wspomnianą w przewidywaniach. Nie mogę się zgodzić ze stwierdzeniem, że proponowane badania dadzą faktyczne oszacowania kosztów reprodukcji. Nie wyróżniono rozdziału o istniejącym stanie wiedzy. Przegląd dotychczasowych badań jest przedstawiony bardzo chaotycznie. Co chcą powiedzieć autorki stwierdzeniem, że w Finlandii prowadzi się badania nad nornicami? Jaki to ma związek z projektem? Podobnie, o jakie recenzje chodzi w przypadku badań korelacji masy ciała z wielkością miotu? Jak te licznie cytowane badania mają się do projektu?

Metodyka: Jakie znaczenie dla projektu ma fakt, że nornice mogą zjadać pasikoniki? Nie zgadza się coś wyliczenie długości ciąży i laktacji. Według autorek ciąża trwa 2 tyg. a laktacja 3 tyg. W takim razie jeśli samica zajdzie w ciążę zaraz po urodzeniu młodych to następne młode musiałyby się urodzić zanim poprzednie nie odłączą się od matczynych sutków! O jakie cechy powstałe w wielopokoleniowej hodowli chodzi? Przewidywane wyniki i ich analiza są mało precyzyjne. Pierwsze 2 punkty dotyczą tego samego porównania w jednoczynnikowej analizie wariancji a nie osobnych porównań. Inaczej test Tuckeya byłby nie na miejscu. Zupełnie nie jest jasne czemu ma służyć badanie korelacji między masą matki a liczbą i masą młodych. Ponadto nie wiadomo czy to liczba wszystkich młodych które przez tą matkę zostały urodzone w ciągu roku i o jaką masę matki chodzi. Czy średnią, czy mierzoną w jakimś konkretnym czasie jej życia. Spis literatury ma się nijak do cytacji w tekście. Ponadto pozycje literatury zostały niepoprawnie sformatowane (najpierw autorzy, rok, tytuł artykułu/książki, wydawnictwo/czasopismo/ zeszyt i nr strony). Informacje ustne cytuje się bezpośrednio w tekście i nie.

Mariusz Cichoń

Ela Rożej

Recenzja projektu Dominiki Chmolewskiej i Dominiki Kustos pt.: Czy wysiłek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia nornicy rudej?

Autorki chcą sprawdzić czy koszty związane z ciążą, porodem i wychowaniem młodych wpływają na długość życia samic nornicy rudej. Założenie jest następujące: wysiłek reprodukcyjny skraca życie samic nornicy. Autorki trafnie zwracają uwagę na inne czynniki, które mogą mieć wpływ na przeżywalność samic po wyprowadzeniu miotu – masę ciała oraz stopień zarobaczenia.

W części ”stan dotychczasowe wiedzy” można by pominąć badania przeprowadzone na nicieniach i stawonogach, które choć dotyczą wysiłku reprodukcyjnego, nie wnoszą niczego do problematyki projektu dotyczącego nornic. Dobrze by było sprecyzować na jakich organizmach przeprowadzono badania w Finlandii. Zdanie dotyczące tych badań zaczyna się od nowego akapitu, co sugeruje, że nie chodzi o ryby, o których autorki pisały wcześniej, ani o gryzonia, których dotyczy akapit poniżej. Należałoby się również zastanowić nad prawdziwością ostatniego zdania w celach badań – nornica ruda jest organizmem modelowym do badań nad ssakami, to prawda - ale w obliczu tego, co autorki napisały wcześniej – „dziewice szczurów żyją krócej od samic posiadających potomstwo” same podważają założenia swojego projektu, który ma wykazać, że ciąża i wychowanie młodych skraca życie.

Metodyka badań została dokładnie opisana. Ciekawie przedstawiono wiadomości o organizmie modelowym zamieszczając nawet ciekawostki o drapieżnictwie nornic na pasikonikach. Bardzo spodobało mi się, że autorki zadbały w projekcie o „rozrywkę” dla nornic w postaci kołowrotka do zabaw.

W planowaniu projektu wzięto pod uwagę długość ciąży, laktacji i rytm sezonowy, co świadczy o dobrej znajomości biologii tych gryzoni i dowodzi, że eksperyment został dobrze przemyślany.

Dobrze by było zamieścić w metodyce zdanie, że eksperyment będzie przeprowadzony na 90 samicach (od 30 matek po 3 córki). Nie zostało to powiedziane wprost. Brak jest informacji skąd zostaną wzięte samce. Czy też z miotu odłowionych w Puszczy Niepołomickiej matek?

W kosztorysie warto by było zamieścić punkt „suma” i wpisać tam łączną kwotę o którą autorki ubiegają się na realizację 3-letniego projektu. Kosztorys byłby wtedy bardziej przejrzysty.

Pomimo kilku niedopatrzeń, które udało mi się wychwycić, nie znalazłam w projekcie rażących błędów. Proponowaną problematykę badawczą uważam za interesującą. Po naniesieniu poprawek sugerowanych przeze mnie i innych recenzentów, projekt powinien dostać pozytywne recenzje i finanse na realizację.

Monika Ulman

Recenzja projektu: „Czy wydatek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia samic nornicy *Clethrionomys glareolus*?

Proponowany projekt dotyczy zbadania wpływu wysiłku reprodukcyjnego na długość życia samic nornicy rudej. Problem poruszany w projekcie jest ważny a samo zagadnienie ciekawe. Jednakże należy zwrócić uwagę na kilka niedociągnięć i błędów, jakie wkradły się w treść projektu.

Opis proponowanego eksperymentu nie jest do końca jasny. Autorzy opisują dokładnie skąd pochodzą samice biorące udział w eksperymencie, nie ma natomiast wzmianki na temat kojarzonych z nimi samców. Są to ojcowie tego pokolenia czy też osobniki pochodzące z hodowli?

Autorzy zakładają, że każdorazowe dopuszczenie samca do samicy kończy się zapłodnieniem, jednak w przyrodzie nie występuje 100% skuteczność aktu kopulacyjnego. Skąd będzie wiadomo, że samica po kontakcie płciowym z samcem została przez niego zapłodniona?

W projekcie nie brakuje również kilku błędów. Należy zwrócić uwagę na pisownię nazw łacińskich Arthropoda i Nematoda - poprawić błędy literowe, nazwy te piszemy zaczynając od wielkich liter.

Sądzę, że używanie słowa „dziewica” nie jest tu do właściwe. Chodzi tu raczej o samicę, która nigdy nie miała potomstwa.

Należałoby się zastanowić nad listą literatury dokonać jej weryfikacji i wprowadzić niezbędne odnośniki w tekście

Autor zbyt mało uwagi poświęca wyjaśnieniu celu, w jakim zostaną przeprowadzone badania. Krótka wzmianka mówiąca o tym, że: „wyniki wniosą duży wkład w dotychczasowy stan wiedzy na temat strategii życiowych” to za mało na wydanie pozytywnej opinii dotyczącej realizacji projektu. Należy silnie uargumentować przydatność i konieczność przeprowadzenia badań.

Po wprowadzeniu niezbędnych poprawek projekt ma duże szanse na realizację.

Darek Wiejaczka

Czy wysiłek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia samic nornicy *Clethrionomys glareolus*

Temat eksperymentu jest niewątpliwie ciekawy i bardzo istotny dla zrozumienia kilku zagadnień dotyczących rozrodu ssaków. Autorzy projektu wyjątkowo dobrze wyjaśniają sposób przeprowadzania badań i istotę problemu.

Mocnym punktem projektu badawczego jest jego prostota. Dlatego też trudno mi wyobrazić sobie, że coś takiego nie było sprawdzane nigdy wcześniej. Hipoteza jest tak atrakcyjna, że wydaje mi się nieprawdopodobnym, by ktoś wcześniej już jej nie zweryfikował.

Zastanawia mnie jednak czy organizm wybrany jako modelowy jest idealnie trafiony. Długość życia wynosząca u nornicy dwa lata może okazać się niewystarczająca by móc pokazać istotne statystycznie wyniki. Wydaje mi się, że w doświadczeniu użyty powinien być organizm żyjący przynajmniej dwa razy dłużej. Jednocześnie doskonale rozumiem dlaczego Autorzy tak zrobili.

Wiadomo, że poszczególne myszy będą podobne pod względem genetycznym a ich warunki hodowli sprowadzone do optymalnego stanu. Brakuje jednak weryfikacji kondycyjnej zwierząt. Mimo wszystko zwierzęta mogą różnić się w tak istotny sposób, że badania jedynie wpływu ciąży mogą nie pokazać różnic w długości życia. Ssaki są wysoko uorganizowanymi organizmami i do rozrodu przystępują wtedy, gdy organizm pewien jest sukcesu rozrodczego. Jeśli będzie eksploatowany – w miocie może być mniej młodych lub w ogóle brak ciąży.

Świetnym pomysłem jest jednak wprowadzenie kolejnej zmiennej – okresu laktacji. Pozwoli to dokładniej sprawdzić wpływ jedynie ciąży. Ilość prób także wydaje mi się w zupełności wystarczająca.

Miałbym jeszcze kilka technicznych uwag, które uznać możemy za błędy kosmetyczne. Brak sumy wydatków na eksperyment, występujące w tekście powtórzenia oraz niezbyt konkretny sposób prezentacji wyników. Nie są one jednak w wyjątkowo rażące i łatwo można o nich zapomnieć.

Podsumowując, stwierdzam, że hipoteza jest bardzo interesująca i biorąc pod uwagę niskobudżetowość projektu oraz jego wkład w naukę przychyliłbym się do sfinansowania badań.

Łukasz Binkowski

Recenzja projektu badawczego: „Czy wysiłek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia samic nornicy *Clethrionomys glareolus*?”

Temat projektu jest bardzo ciekawy. Hipoteza została konkretnie sformułowana, tak jak i przewidywania.

Pojawiające się w tekście informacje o dotychczasowych badaniach zawierają błędy ortograficzne i pomijana jest reguła, że nazwy łacińskie piszemy z dużej litery. Powinno być napisane Nematoda i Arthropoda.

Użycie słowa „dziewice” nie jest tutaj w pełni trafne. Poza tym nie mamy gwarancji, że samica, która nigdy nie była w ciąży nigdy nie kopulowała.

Sama treść projektu zawiera zbyt dużo informacji na temat nornicy rudej. Moim zdaniem wystarczą tylko niezbędne informacje tłumaczące użycie jej w tych badaniach a nie ogólna charakterystyka.

Planuje się ośmiokrotne dopuszczenie samicy do samca, co równe będzie 8 zapłodnieniom. Nie mamy jednak pewności, że każda kopulacja (do czego nawiązywałem wcześniej) równa jest zapłodnieniu. W takim przypadku może dojść do zróżnicowania liczby potomstwa poszczególnych samic.

Nie jasne jest pochodzenie samców używanych w badaniach (tych z którymi będą kojarzone badane samice). Można się domyślać, że mogą to być ojcowie albo bracia samic.

Plany co do publikacji otrzymanych wyników są zbyt mało konkretne. Nie podano pism ani konferencji na jakich planuje się wygłoszenie wyników.

Koszty przejazdu do Puszczy Niepołomickiej są podejrzanie wysokie. Należy je skorygować bądź wytłumaczyć pisząc bardziej szczegółowy kosztorys.

Opracowanie literaturowe w projekcie jest nie do przyjęcia. Pozycje wyszczególnione w spisie w ogóle nie są cytowane w tekście. Natomiast autorzy podawani w tekście nie widnieją w spisie. Ponadto w literaturze podane są prace o długoterminowych skutkach ekspozycji na kadm oraz zmianach histopatologicznych wywołanych obecnością metali ciężkich – nie rozumiem użycia tych prac (z resztą nie znalazłem ich w tekście) skoro w celach projektu nie ma żadnych wzmianek o określeniu wpływu zanieczyszczeń na płodność oraz długość życia. Projekt ten wymaga ponownego przemyślenia. Zawiera póki co szereg błędów i niejasności. Konieczna jest poprawa literatury. Po dokonaniu tych zmian z uwagi na ciekawy pomysł projektu dopuściłbym go do realizacji i rekomendowałbym jego finansowanie.

OSTATECZNA WERSJA PROJEKTU

Czy wysiłek reprodukcyjny ma wpływ na długość życia samic nornicy rudej *Clethrionomys glareolus*?

Dominika Chmolowska, Dominika Kustosz

Streszczenie:

Przedstawiony projekt dotyczy zbadania hipotezy wpływu wysiłku związanego z reprodukcją na długość życia samic nornicy rudej *Clethrionomys glareolus*. Na wysiłek reprodukcyjny mają wpływ takie czynniki fizjologiczne jak: wyprodukowanie komórki jajowej, akt kopulacji, okres ciąży, poród, liczba młodych w miocie i ich wielkość oraz karmienie młodych. Przewidujemy, że samice, które posiadają młode żyją krócej od tych które nigdy ich nie miały. Doświadczenie ukaże także wpływ laktacji na długość życia samic.

Cele badań:

Hipoteza: Koszt jaki ponosi samica przy reprodukcji prowadzi do skrócenia jej życia.

Przewidywania: Przypuszczamy, że w zależności od wysiłku włożonego w otrzymanie potomstwa będzie zależeć długość życia samic tj. samice, które nie posiadają potomstwa będą żyć najdłużej, samice posiadające potomstwo lecz nie ponoszące kosztów związanych z produkcją pokarmu i karmieniem młodych, ponieważ miot oddzielany jest od matki zaraz po porodzie, będą żyły krócej od poprzednio wymienionej grupy, natomiast będą żyły dłużej od tych zajmujących się potomstwem. Samice ponoszące największy wysiłek reprodukcyjny będą żyły najkrócej.

Obecny stan wiedzy:

Temat kosztów jakie ponosi organizm matki w trakcie procesu płciowego, rozwoju zarodka i dalszych etapów jego wczesnej ontogenezy budził od dawna szerokie zainteresowanie. Przeprowadzono szereg badań w zakresie badanych grup taksonomicznych oraz czynników wpływających na wysiłek reprodukcyjny. Balans jaki organizm matki musi zachować oraz istotny wpływ na przeżywalność w aspekcie rozrodczym przedstawił Williams. Udowodnił on, że gdy koszty reprodukcji są większe od kosztów inwestowanych w organizm, osobnik taki ma mniejsze szanse na przeżycie, a w konsekwencji na dalszą reprodukcję (Roff za Williams, 1966). Przykładem tego jak dużym stresem i jak kosztowne dla organizmu samicy może być wydanie na świat potomstwa jest badanie, w którym wykazano, że tylko 15 - 20 % ryb (nazwy angielskie: capelin i black-head minnows) przeżywa więcej niż jedną reprodukcję (Roff za: Markus, 1934 oraz Winters i Cambell, 1974).

W Finlandii prowadzone są również badania na nornicach, gdzie zobrazowane jest, że poprzez selektywny dobór organizmów można tworzyć linie różniące się ponoszonymi kosztami: jedna jest predysponowana do dużego wysiłku reprodukcyjnego druga ma tendencję do niskiego (J. Rutkowska, informacja ustna). Wykonywano też eksperyment w których manipulowano liczbą młodych nornic podczas karmienia badając wpływ na koszty ponoszone przez samicę (J. Rutkowska, informacja ustna).

Wykonywano również badania dotyczące bezpośrednio długości życia. Porównywano długości życia osobników płci żeńskiej, które nigdy nie były kojarzone i nie posiadały potomstwa i osobników przechodzących normalny cykl płciowy. W przypadku nicieni i stawonogów, oraz badania myszy wykazały, iż dziewice żyją dłużej nawet o dwa sezony (Muhlbock, 1959; Suntzeff, 1962). Jednakże w innych badaniach wykazano, że dziewice szczurów żyją krócej od samic posiadających potomstwo (Slonaker, 1924; Drori i Folman, 1969). Badania te sugerują skomplikowaną strukturę zagadnienia, a przez to ukazują jak ważne jest aby takie badania przeprowadzić również na innych gatunkach.

W Finlandii przeprowadzane są badania na nornicy rudej polegające na zwiększeniu wysiłku reprodukcyjnego poprzez podrzucenie matkom dwóch młodych oraz na wyselekcjonowaniu dwóch linii rozwojowych o wysokim i niskim wysiłku reprodukcji (Tapio Mappes, Esa Koskela, Tulla Oksanen).

Pozytywne wyniki badań korelacji pomiędzy rozmiarem miotu a masą ciała matki były przedstawiane w wielu recenzjach o gryzoniach: *Peromyscus longicaudus* (Hamilton, 1962), *P. leucopus* (Svendsen, 1964; Lackey, 1978), *P. maniculatus* (Svendsen, 1964; Mayers i Master, 1983), *P. yucatanicus* (Lackey, 1976), *P. polinotus* (Kaufman i Kaufman, 1987), *Neotoma floridana* (McClure, 1981), oraz *Sigmodon hispidus* (McClanaghan i Gaines, 1978), *Microtus ochrogaster* (Fitch, 1957; Keller i Krebs, 1970), *M. pennsylvanicus* (Keller i Krebs, 1970), *M. townsendii* (Anderson i Boonstra, 1979), oraz *Clethrionomys rufocanus* (Kalea, 1957).

Badania te jednak nie ukazują jaki wpływ ma sam okres ciąży na długości życia tych zwierząt.

Metodyka:

Przeprowadzimy doświadczenie polegające na sprawdzeniu jak koszty poniesione przez samice podczas trwania ciąży oraz okresu laktacji wpływają na długość jej życia.

Nornica ruda (*Clethrionomys glareolus* Schrber, 1780) jest gryzoniem szeroko rozpowszechnionym na terenie całej Europy. Zamieszkuje prawie wszystkie typy lasów oraz łąki. Na grzbiecie jest szaro – brunatnie ubarwiona, a od spodu jest jasna. Masa ciała dochodzi do 20 gram. Aktywna jest nocą ale pokarmu poszukuje również w ciągu dnia. Żywi się roślinami (nasionami, pąkami drzew, korzonkami, korą) jak również niewielkimi bezkręgowcami. Buduje system korytarzy (nory) tuż pod powierzchnią ziemi, a w czasie zimy pod powierzchnią śniegu. Nornice wykazują niewielki dymorfizm płciowy. Samica może mieć kilka miotów w roku. W jednym miocie jest od 4 do 7 młodych choć zdarza się czasami, że jest ich więcej. Zasadniczo samica może wykarmić 8 młodych gdyż posiada właśnie tyle sutków. Okres ciąży jak również laktacji trwa dwa tygodnie (łącznie 4). Samica może być w ciąży podczas okresu laktacji.

Doświadczenie rozpoczniemy odłowieniem 30 samic i 15 samców nornicy rudej w celu założenia hodowli. Nornice zostaną odłowione z terenów Puszczy Niepołomickiej. Dzięki temu wyeliminujemy cechy powstałe podczas wielopokoleniowych hodowli. Populacja hodowlana zostanie odrobaczona, gdyż pasożyty mogą modyfikować płodność jak również żywotność badanych samic. Odłowione osobniki kojarzymy ze sobą. Od każdej matki bierzemy trzy siostry umieszczając każdą z nich w innej grupie badawczej. W ten sposób otrzymamy trzy grupy eksperymentalne po 30 samic w każdej z grup: grupę kontrolną, która nie będzie posiadała potomstwa oraz dwie grupy, które będą je posiadały.

Zapewniamy im takie same warunki hodowli. Każdy osobnik będzie umieszczony w osobnej klatce. Każda klatka wyposażona będzie w poidelko oraz kołowrotek do zabaw. Nornice karmione będą standardowym pożywieniem dla myszy i szczurów laboratoryjnych. Utrzymywana będzie stała temperatura (23°C), wilgotność i 12 - godzinny fotoperiod.

Podczas doświadczenia notowana będzie masa samicy przed zapłodnieniem, liczba młodych oraz ich masa po porodzie. W ciągu roku samica będzie 8-krotnie dopuszczona do samca i zapłodniona przez niego. Wzięto tu po uwagę długość ciąży, która wynosi dwa tygodnie oraz długość laktacji – trzy tygodnie. Jak również fakt, że nornice nie posiadają potomstwa w okresie zimy. Kontrolna grupa samic będzie kojarzona z wysterylizowanymi (poprzez podwiązanie nasieniowodów) samcami. Dzięki temu koszt związany z produkcją komórek jajowych oraz samą kopulacją nie będzie brany pod uwagę przy badaniu długości życia. W jednej z grup młode będą pozostawione z matkami na okres laktacji (karmienie młodych jest najbardziej kosztowne) a w drugiej grupie będą one oddzielane od matek zaraz po porodzie. Taki zabieg pozwoli nam stwierdzić w jakim stopniu sama ciąża wpływa na długość życia.

Badania przewidywane są na trzy kolejne lata. W pierwszym roku wszystkie samice będą kopulowały, a w kolejnych latach prowadzona jest tylko hodowla (spisywana jest długość życia).

Dlaczego nornica:

- często wykorzystywana w badaniach laboratoryjnych
- jest organizmem modelowym do przeprowadzania badań laboratoryjnych na ssakach

- łatwa do złapania, powszechnie występuje w lasach
- łatwa w hodowli
- małe rozmiary ciała
- krótki okres ciąży, ok. 6 młodych w miocie, kilka miotów na rok (maksymalnie 10)

Forma przedstawienia wyników i analiza danych:

Otrzymane dane: masa ciała matek, liczba młodych, masa ich ciał, długość życia samic w dniach. Porównanie długości życia samic z wszystkich trzech grup eksperymentalnych zostanie wykonane za pomocą analizy wariancji jednokierunkowej. Jeśli w jej wyniku uzyskamy istotną zmienność między grupami zastosowany zostanie test post hoc Tukeya. Z ilorazu wielkości miotu i masy ciała matki wyliczymy wielkość wysiłku reprodukcyjnego. Do analizy korelacji wysiłku reprodukcyjnego i długości życia zastosowany zostanie test Pearsona. Gdy nie otrzymamy rozkładu normalnego długości życia użyta zostaną testy nieparametryczne np. Kołmogorowa-Smirnowa.

Efekty:

Przewidujemy, że przeprowadzone przez nas doświadczenie oraz wyniki w nim uzyskane wniosą duży wkład w dotychczasowy stan wiedzy na temat strategii życiowych. Uzyskane wyniki zostaną opublikowane w czasopismach naukowych oraz przedstawione na krajowych i zagranicznych konferencjach naukowych.

Prace będą wykonywane za zgodą Komisji Etycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Kosztorys:

1. Klatki do hodowli + ich wyposażenie (trociny - podłóże, pojemniki na wodę, kołowrotki, oświetlenie): $100 * 105 = 10500$ zł
2. Pokarm: $3 * 365 * 3 = 3285$ zł

SUMA: 13 785zł

Literatura:

- Białońska D., Zakrzewska M., Sawicka-Kapusta K., Konior M. 2000. *The Long-term Effect of Cadmium Exposure Throug Food on the Postnatal Development of the Bank Vole (Clethrionoys glareous Schreber, 1780)*. Folia Biologica (Kraków), vol.50, No 3-4.
- Cockburn A. 1994 *An Introduction to Evolutionary Ecology*. OxfordBleckwell Scientific Publications.
- Łomnicki A. 2003. *Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników*. PWN.
- Roff D.A. 1992. *The Evolution of Life Histories Theory and Analysis*. Chapman I Hall.
- Stearns S.C. 1995. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press.

2. „Wpływ odpowiedzi immunologicznej na proces uczenia się śpiewu u zeberki *Taeniopygia guttata*” – Marta Wantuch, Dariusz Wiejaczka

PIERWSZA WERSJA PROJEKTU

2. Wpływ infekcji na proces uczenia się u ptaków

Marta Wantuch, Dariusz Wiejaczka

Streszczenie:

Proponowany projekt dotyczy wpływu drobnych infekcji na procesy uczenia się u ptaków. Obiektem badawczym pracy będzie zeberka *Taeniopygia guttata* ze względu na łatwość w hodowli oraz ciekawy behawior dotyczący nauki śpiewu u samców.

Podczas trwania eksperymentu zamierzamy sprawdzić w jakim stopniu układ immunologiczny wpływać może na efektywność procesu uczenia się. Chcielibyśmy także wykazać czy istnieje kompromis w wydatkowaniu energii na odpowiedź humoralną a procesy fizjologiczne związane z nauką śpiewu. Poprzez nastrzykiwanie części samców antygenem SRBC postaramy się wywołać infekcję, która jak przypuszczamy wpływała będzie na uczenie się. Miarą stopnia nauki będą różnice w zdolności do prawidłowego wykonania pieśni pomiędzy podlotkiem a jego tutorem analizowane na podstawie sonogramów śpiewu.

Eksperyment jest o tyle ważny, że naprawdę dużo wiemy na temat tego co leży po stronie korzyści z układu immunologicznego, natomiast kosztem czego się to odbywa – wiemy stosunkowo niewiele.

Cel projektu:

Głównym celem badań jest odpowiedź na pytanie czy infekcje, które przechodzi organizm na wczesnych etapach rozwoju mają wpływ na jego zdolności uczenia się śpiewu. Pisklęta płci męskiej ptaków śpiewających krótko po wylocie z gniazda zaczynają kopiować głosy swoich starszych pobratymców. Proces ten jednak musi trwać przez pewien czas, zanim osobnik osiągnie określony stopień doskonałości. Sonogram głosu posiada pewne charakterystyczne cechy, które możemy analizować i na podstawie tego weryfikować podobieństwo dwóch wykresów. Przewidujemy, że osobniki zainfekowane będą wykazywały mniejsze postępy w nauce niż ptaki z grupy zdrowej. Oznacza to, że sonogram zapisu śpiewu zdrowych osobników, w porównaniu z chorymi, będzie po krótszym czasie przypominał zapis traktowany jako wzorzec. Ponadto przypuszczamy, iż śpiew ptaków zainfekowanych będzie w przyszłości mniej atrakcyjny dla poszukujących partnera samic. Przeprowadzenie naszego eksperymentu pozwoli stwierdzić także czy istnieje kompromis pomiędzy wydatkami na odpowiedź immunologiczną a wydatkami na procesy uczenia się.

Istniejący stan wiedzy:

Utrzymanie układu immunologicznego jest kosztowne, jednak niezbędne w środowisku pełnym patogenów. Organizm musi podejmować decyzje gdzie alokować zasoby, które pobierze ze środowiska. Infekcje znacząco zakłócają prawidłowe funkcjonowanie oraz wpływają na rozwój i długość życia osobnika. Każda odpowiedź immunologiczna wymaga znacznych nakładów energii i kompromisu pomiędzy różnymi sposobami jej wydatkowania.

Większość wróblowych *Passeriformes* uczy się śpiewu jedynie przez krótki okres po opuszczeniu gniazda, a następnie melodia, którą wypracowały ulega zafiksowaniu. Drobne ptaki śpiewające zaczynają rozwijać swój śpiew około miesiąca po wykluciu. Tworzą wtedy tzw. „przedpieśń” składającą się z nieuporządkowanych dźwięków. Przez kolejnych kilkadziesiąt dni doskonali swoje umiejętności porównując swój wzorzec z pieśnią modelową. Odbywa się to na zasadzie słuchowego sprzężenia zwrotnego.

Z wcześniejszych badań wynika, że sen, temperatura i stres mają duży wpływ na procesy uczenia się. Jednak w jakim stopniu drobne, nie letalne infekcje wpływają na zdolności przyswajania wiedzy na wczesnych etapach rozwoju nie było do tej pory eksperymentalnie sprawdzane.

Proponowane badania mają na celu sprawdzenie czy wydatki przeznaczone na procesy uczenia się są limitowane i czy różnice pomiędzy poszczególnymi grupami są na tyle duże, by eliminować z populacji mniej zdolne samce. Związek pomiędzy udziałem patogenów w środowisku a nauką śpiewu może okazać się bardzo istotny dla zrozumienia w jaki sposób rozwija się w populacji zmienność sygnałów. Najwcześniejsze etapy rozwoju mogą mieć ogromny wpływ na jakość pieśni samca i jego atrakcyjność płciową. Istnienie kompromisu pomiędzy wydatkami na układ odpornościowy a naukę śpiewu może powodować, że osobniki zainfekowane na wczesnym etapie rozwoju będą w przyszłości mniej atrakcyjne dla samic, a co za tym idzie eliminowane przez dobór.

Badania te stanowią mogą także podstawę kolejnych eksperymentów dotyczących przekazywania sygnałów w świecie zwierząt, atrakcyjności płciowej oraz funkcjonowania układu odpornościowego.

Metodyka badawcza:

Opis obiektu badań:

Zeberka *Taenyopygia guttata*, jest drobnym ptakiem śpiewającym pochodzącym z Australii. Na wolności żyje od 3 do 4 lat. Samica składa od 4 do 7 jaj. Okres inkubacji jaj wynosi 13 dni. Młode usamodzielniają się w wieku około 40 dni. Bardzo często jest organizmem modelowym w eksperymentach biologicznych ponieważ posiada wiele istotnych i korzystnych dla badacza cech:

1. Jest prosta w hodowli, tania i łatwo dostępna.
2. Łatwo się rozmnaża i posiada krótki okres od wylęgu do osiągnięcia dojrzałości.
3. Samce jedynie przez krótki okres po opuszczeniu gniazda uczą się śpiewu (40 – 90 dzień od wyklucia).

Opis eksperymentu:

W doświadczeniu zamierzamy użyć 70 samców zeberki pochodzących z hodowli Instytutu Nauk o Środowisku UJ. Wszystkie osobniki będą hodowane w jednakowych, optymalnych warunkach (temperatura 20°C, pełne światło pomiędzy godz. 7 i 20, pełnowartościowy pokarm).

Jako antygen wykorzystamy krwinki SRBC podane po 40 i 47 dniach od opuszczenia gniazda. Odpowiedź humoralną będziemy badać testem hemaglutynacji na obecność przeciwciał po 6 dniach od iniekcji. Pozwoli to stwierdzić zależność pomiędzy stopniem odpowiedzi immunologicznej a zdolnością do przyswajania wiedzy.

Ptaki podzielone zostaną na dwie eksperymentalne grupy:

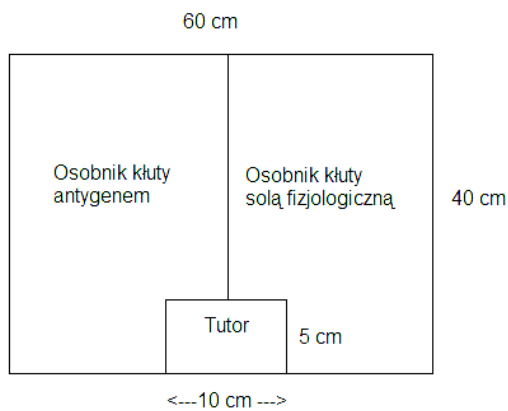
- 20 osobników nakłuwanych specjalnym antygenem SRBC.
- 20 osobników nie traktowanych antygenem klutych solą fizjologiczną.

W każdej klatce umieszczone będą 2 osobniki (bracia), po jednym z każdej grupy eksperymentalnej, w taki sposób aby nie mogły się widzieć, a jedynie słuchać śpiewu swojego nauczyciela (Ryc. 1). Na każdą klatkę przydzielony zostanie jeden dorosły samiec, który będzie tutorem (w sumie 20 osobników).

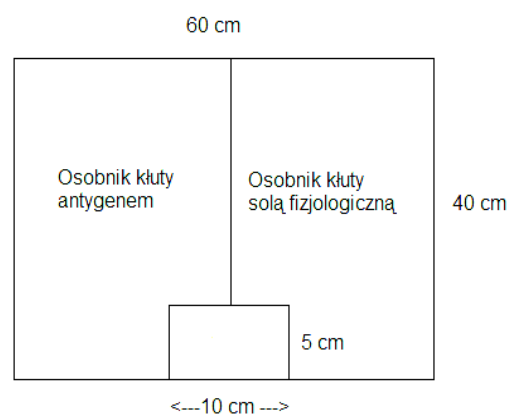
Dodatkowo stworzona zostanie grupa kontrolna: 10 osobników nie uczonych pieśni ani nie nakłuwane antygenem. Połowa z grupy kontrolnej traktowana będzie antygenem a druga połowa solą fizjologiczną. Umieszczone one zostaną podobnie parami (bracia, jeden kluty antygenem, drugi solą fizjologiczną) lecz bez obecności tutora (Ryc. 2). Pozwoli to potwierdzić że obecność nauczyciela jest konieczna gdyby badania nie wykazały istotnych różnic pomiędzy grupami eksperymentalnymi.

Głosy młodych ptaków będą nagrywane godzinę dziennie, przez okres 14 dni od 40 dnia po wykluciu. Nagrania będą się każdorazowo zaczynać po upływie dwóch godzin od rozpoczęcia przez ptaki śpiewu w danym dniu (9:00 rano). Służyło to będzie wyeliminowaniu efektu snu objawiającego się pogorszeniem zdolności kopiowania na początku każdego dnia. Ujednolicenie godziny w której zbierane będą dane zwiększy dokładność otrzymanych wyników. Dodatkowo po 90 dniach od wyklucia nagrane będą głosy ptaków z poszczególnych grup w celu stwierdzenia czy zmiany spowodowane infekcją rzeczywiście się utrwały.

Badania prowadzone będą za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego. Ptaki będą trzymane w dłoni jedynie przez okres kilku minut podczas nastrzykiwania. Miejsca nakłucia będą dezynfekowane. Do badań analitycznych krwi pobierana będzie jej minimalna ilość.



Ryc. 1.



Ryc. 2.

Przewidywane wyniki:

1. Osobniki z grupy traktowanej antygenem SRBC będą wolniej uczyły się niż osobniki kłute jedynie solą fizjologiczną.
2. Pieśń osobników przechodzących infekcje będzie różniła się od pieśni osobników zdrowych po zakończeniu nauki i być może wpłynie na atrakcyjność płciową samców.
3. Istnienie kompromisu pomiędzy wydatkami energetycznymi na utrzymanie układu immunologicznego a wydatkami na naukę śpiewu.

Analiza danych:

Głosy będą analizowane na podstawie składowych cech sylaby śpiewu: długości trwania, częstotliwości, wysokości dźwięku. Porównywane będą sonogramy tutora, dwóch uczniów z grup eksperymentalnych i kontroli.

Analiza statystyczna obejmowała będzie test t Studenta dla par wiązanych (tutor – osobnik kłuty antygenem, tutor – osobnik kłuty solą fizjologiczną) dla poszczególnych cech sylaby i dla wszystkich cech łącznie. Za pomocą analizy wariancji sprawdzimy zależność efektywności uczenia się od obecności antygeny i przynależności do konkretnej pary. Dla określenia zależności pomiędzy stopniem odpowiedzi humoralnej a efektywnością nauki przeanalizujemy statystyczną istotność współczynników regresji i korelacji.

Materiały i kosztorys badań:

- Komputer do analizy danych (min Pentium IV, 1024 RAM) - 10 000 zł
- Cyfrowe urządzenia do nagrywania głosów (25 sztuk) - 5000 zł
- Oprogramowanie statystyczne i analizujące sonogramy dźwięków - 2000 zł
- Antygen SRBC oraz odczynniki do wywoływania odpowiedzi humoralnej – 2000 zł
- Materiały biurowe (papier, nośniki CD itd.) – 500 zł
- Klatki eksperymentalne (25 sztuk) – 2500 zł
- Materiały do klucia i analizy krwi (strzykawki, igły, kapilary) – 500 zł
- Koszty hodowli ptaków (karma, witaminy itd.) – 500 zł

SUMA: 23 000 zł

Formy rozpowszechniania wyników:

1. Publikacje w międzynarodowych czasopismach naukowych takich jak: *Animal Behaviour*, *Behavioural Ecology* oraz *Journal of Evolutionary Biology*.
2. Prezentacja wyników (referaty i plakaty) na kongresie Europejskiego Towarzystwa Biologii Ewolucyjnej, na krajowych konferencjach i Warsztatach Biologii Ewolucyjnej.

Literatura:

- Cockburn Andrew. 1992. *An Introduction To Evolutionary Ecology*. Blackwell Scientific Publications.
- Łomnicki Adam. 2003. *Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników*. PWN. Warszawa.
- McFarland David. 1987. *The Oxford Companion to Animal Behaviour*. Oxford University Press.
- Schneider M Samuel , Gurevitch Jessica. 2001. *Design and Analysis of Ecological Experiments*, Oxford University Press.

RECENZJE

Adam Łomnicki

Recenzja projektu badawczego M. Wantuch i D. Wiejaczki pt. „Wpływ infekcji na proces uczenia się ptaków”

Str.1: Nie jestem pewien czy w tytule powinna być infekcja czy raczej odpowiedź immunologiczna, bo przecież nie mamy w planie zarażania tych ptaków, a jedynie wywołanie odpowiedzi na podany antygen, który podobno jest nieszkodliwy.

Pierwszy raz spotykam się u ptaków z podlotkami i tutorami. Chodzi tu zapewne o podloty i dorosłe ptaki, których śpiew jest przez podloty naśladowany. Te dorosłe ptaki można nazwać tutorami, ale nie w streszczeniu, ale dopiero w opisie celu. Nie wiem jednak czy jest to szczęśliwa nazwa, bo tutor aktywnie angażuje się w uczenie, a tu nie ma na to dowodu. Zamiast mówić o „zafiksowaniu” lepiej użyć słowa „utrwalenie”.

Str.2: Aż się prosi aby podać jak sen, temperatura i stres wpływają na uczenie się i czy zeberek czy innych ptaków. Pisanie o eliminacji samców z populacji to chyba przesada, mają one tylko obniżoną szansę pozostawiania potomstwa.

Str.3: Coś mi się nie zgadza z liczbą 20 osobników bo nie policzono turtorów. Przewidywany wynik 3 jest konsekwencją wyników 1 i 2. Ten trzeci wynik, to po prostu interpretacja dwóch pierwszych.

Str.4: Nie rozumiem dlaczego test t Studenta ma sprawdzać różnice między tutorem a każdym z dwóch podlotów osobno. W ten sposób nie dowiemy się nic o wpływie odpowiedzi immunologicznej. Cel takich porównań nie został jasno przedstawiony.

Adam Łomnicki

Mariusz Cichoń

Recenzja projektu pt: Wpływ infekcji na proces uczenia się u ptaków. Marta Wantuch, Dariusz Wiejaczka

Projekt dotyczy bardzo ważnego i zarazem modnego problemu ekologii behawioralnej. Moim zdaniem pomysł tych badań jest jednym z najlepszych jakie pojawiły się kiedykolwiek na tych Warsztatach. Autorzy stawiają hipotezę, że wydatki związane z montowaniem odpowiedzi immunologicznej mogą mieć negatywny wpływ na zdolności uczenia się śpiewu u młodych ptaków. Obniżenie zdolności uczenia się byłoby więc kosztem funkcjonowania układu odpornościowego.

Niestety projekt nie jest jeszcze dopracowany. Poniżej zamieszczam szczegółowe uwagi.

Tytuł jest trochę niejasny. Nie wiadomo z niego, o co właściwie chodzi.

Streszczenie: Widać, że pisane było pod presją czasu. O jakie „drobne infekcje” chodzi. Po co w streszczeniu pisać o walorach zeberek? Jakie procesy fizjologiczne mają autorzy na myśli? Co to są „podlotki”? Ostatnie zdanie nie niesie wiele informacji.

Cele: Napisane nieźle, ale nie jasne o jakie infekcje chodzi?

Istniejący stan wiedzy: Rozumiem, że ze względu na brak odpowiedniej literatury w Stacji nie omawia się obecnej wiedzy o kosztach i funkcjonowaniu układu odpornościowego oraz ogromnej wiedzy o rozwoju śpiewu u ptaków. Na zeberkach przeprowadzono ogromną ilość doświadczeń na temat neurofizjologii śpiewu.

Metodyka: Nie wiadomo po co podano nieistotne z punktu widzenia projektu informacje o zeberkach. Żeby zbadać odpowiedź immunologiczną trzeba pobrać i odseparować krew, o czym nic nie zostało napisane. Nie wiadomo czy odporność będzie badana w po pierwszym nastrzyknięciu czy drugim, a może po obydwu. Kluczyć można igłą a nie solą fizjologiczną!

Nic nie napisano, żeby tutor był też nagrywany, a chyba to kluczowe. Kiedy zamierza się go nagrywać? Zamierza się zebrać mnóstwo materiału dotyczącego śpiewu młodych samców. zamierza się nagrywać je codziennie przez 2 tygodnie. Nie bardzo wiadomo jak zostaną wykorzystane te dane. Nie jest dla mnie jasne jak autorzy zamierzają sprawdzić kompromis pomiędzy wydatkami energetycznymi na utrzymanie układu immunologicznego a wydatkami na naukę śpiewu. Nie rozumiem także czemu ma służyć przeprowadzenie najpierw testu t a potem analizy wariancji. Myślę, że należałoby analizować wielkość różnic z tutorem dla obu grup testowanych samców a nie bezpośrednio badać różnice między śpiewem samca a tutorem. Jak interpretować wyniki jeśli oba młode samce będą różnić się o tutura, a tylko jeden różnić się będzie mniej?

Mariusz Cichoń

Dominika Chmolewska

Recenzja projektu p.t.: „Wpływ infekcji na proces uczenia się u ptaków”

Tematyka i cel projektu dotyczącego zdolności uczenia się zeberek jest wysoce ciekawy. Przedstawiono interesujące podejście do wpływu układu odpornościowego na procesy nie-bezpośrednio z nim związane. Badania układu immunologicznego są na czasie. Przedstawiony temat jest również nieco socjobiologiczny, jest to zaś dział nauki modny i cieszący się dużym zainteresowaniem masmediów.

Obok interesującej tematyki znalazło się kilka błędów. W przeważającej mierze są to błędy stylistyczne – gramatyczne oraz nadmierne skróty myślowe. Obok wpływu na urodę języka powodują one również zaburzenie jasności przekazu treści. Np.: „efekt snu” – rozumiem przerwy na sen (Opis eksperymentu), „klucie solą fizjologiczną, antygenem” – (Opis eksperymentu) oraz czy rzeczywiście „alokacja zasobów” (Istniejący stan wiedzy), „mniej zdolne samce” – może one są bardzo zdolne, ale za mało lub za nadto odporne / wrażliwe na dane czynniki (tak się już czepiam dla idei©).

W projekcie określone jest 14 dni (40 – 54 dni po wykluciu) rejestracji śpiewu, następnie okres przerwy w badaniach: 34 dni (54 - 90 dni po wykluciu). Autorzy nie podają co zamierzają uczynić z ptakami w tymże czasie: czy trzymane one są w grupie, czy każde z osobna, czy z dostępem do dorosłych osobników, itp., a jest to ciągle okres ich zdolności do nauki. Nasuwa mi się również pomysł na grupę eksperymentalną, w której osobniki badane będą traktowane antygenem, np.: po tygodniu od rozpoczęcia nauki. Niemniej zestaw zaproponowany przez autorów i tak wydaje się być wystarczający i wiarygodny.

Drobna uwaga co do struktury: przewidywane wyniki znalazły miejsce w rozdziale Metodyka.

Monika Ulman

Recenzja projektu: „Wpływ infekcji na proces uczenia się u ptaków”

Projekt dotyczy ciekawego zagadnienia szczególnie, ze względu na brak danych mówiących o zależności pomiędzy szybkością uczenia się a infekcjami. W sposób jasny i zwięzły przedstawiono cele projektu. Również postawiona hipoteza badawcza, sposób wykonania eksperymentu jak i przewidywane wyniki są opisane w sposób logiczny i tworzący jedną całość. Nie uniknięto jednak kilku błędów.

Nie jest jasne użyte w tekście wyrażenie: „słuchowe sprzężenie zwrotne”. Sugeruje dopisanie krótkiego komentarza wyjaśniającego jego znaczenie.

W projekcie nie jest jednoznacznie powiedziane dlaczego do eksperymentu używa się samców będących braćmi, można się jedynie domyślać, że autorom chodzi o podobieństwo genetyczne. Natomiast fakt ten nie jest w żaden sposób poddany analizie statystycznej ani też nie jest uwzględniony w opisie samego eksperymentu. Czytając tekst nasuwa się więc pytanie po co konieczne jest użycie w eksperymencie rodzeństwa.

Nie jest jasne stwierdzenie: „Związek pomiędzy udziałem patogenów w środowisku a nauką śpiewu może okazać się bardzo istotny dla zrozumienia w jaki sposób rozwija się w populacji zmienność sygnałów”, dobrze więc było by w jaśniejszy sposób sformułować swoją wypowiedź, tak aby czytelnik mógł swobodnie podążać za tokiem myślowym autora.

Projekt wymaga naniesienia kilku poprawek, jak również ponownego przemyślenia sposobu w jaki zostanie przeprowadzony eksperyment. Po wprowadzeniu poprawek projekt może zostać zrealizowany.

Agnieszka Kłoch

Recenzja projektu „Wpływ infekcji na proces uczenia się u ptaków” autorstwa Marty Wantuch i Dariusza Wiejaczka.

Celem projektu jest ustalenie, jaki wpływ na tempo uczenia się śpiewu u zeberek mają infekcje wywołane we wczesnym etapie życia. Autorzy zamierzają porównać tempo uczenia się pieśni u samców zeberek traktowanych SRBC z samcami zdrowymi. Kilkukrotnie nazywają wywołaną w ten sposób odpowiedź immunologiczną „drobną infekcją”, chociaż praca opiera się na założeniu, że mobilizacja układu odpornościowego do zwalczania tej infekcji będzie wiązać się z tak dużymi kosztami, że odbije się to negatywnie na zdolności uczenia się. Kwestia ta jest więc niejasna i wymaga uściślenia.

Dwukrotnie autorzy stwierdzają, że kosztem takiej infekcji będzie wytworzenie niepełnej pieśni, przez co samiec taki będzie mniej atrakcyjny dla samic. W eksperymencie nie zaplanowano jednak sprawdzania tej hipotezy, przez co umieszczanie takiego twierdzenia w „Celach” i w „Przewidywanych wynikach” wydaje się nie być zasadne.

W metodach brakuje informacji, jak podawany będzie antygen (dożylnie, domięśniowo), chociaż może to wpływać na przebieg infekcji. Niejasny jest sposób postępowania z dodatkową grupą kontrolną złożoną z 10 samców. Najpierw autorzy planują, że osobniki te nie będą ani uczone pieśni, ani nastrzykiwane antygenem, a zaraz potem piszą, że połowa z tej grupy traktowana będzie antygenem. Wymaga to więc wyjaśnienia.

W projekcie znalazło się kilka zdań bardzo ogólnikowych, wymagających uściślenia, na przykład: „naprawdę dużo wiemy na temat tego, co leży po stronie korzyści z układu immunologicznego” – co konkretnie wiemy i ile to jest „naprawdę dużo”? Podobnie w zdaniu „sen, temperatura i stres mają duży wpływ na procesy uczenia się” należałoby precyzyjniej określić, jak duży jest ten wpływ i czy jest on pozytywny czy negatywny. W stwierdzeniu „pozwoli to potwierdzić, że obecność nauczyciela jest konieczna, gdyby badania nie wykazały istotnych różnic” trzeba dopisać, do czego ta obecność jest konieczna.

Ciekawe jest spostrzeżenie, że upośledzenie pieśni związane z infekcją przebytą we wczesnym stadium rozwoju sprzyja wzrostowi różnorodności sygnałów w populacji.

Ogólnie projekt jest ciekawy, wymaga jednak wielu poprawek. Bardzo interesujące byłoby uzupełnienie go o badanie atrakcyjności samców, które przeszły infekcję we wczesnym okresie życia – dopiero znając ich sukces reprodukcyjny można by mówić o rzeczywistych kosztach infekcji.

Uwagi techniczne

- W tytule dobrze byłoby sprecyzować, o jaką naukę chodzi i jaki gatunek jest badany.
- Projekt zawiera pozycję „Literatura” ale żadna z umieszczonych tam prac nie jest cytowana w tekście.
- W kilku miejscach znalazły się językowe potknięcia lub nieścisłości, np. zamiast o „kluciu” zwierząt SRBC należałoby mówić raczej o „nastrzykiwaniu” czy „injekcji” oraz o „utrwaleniu pieśni” zamiast „zafiksowaniu”. Podobnie lepiej jest zastąpić „przyswajanie wiedzy” (przez zebarki) „nauką śpiewu”.
- W kilku miejscach trzeba poprawić interpunkcję.

OSTATECZNA WERSJA PROJEKTU

Wpływ odpowiedzi immunologicznej na proces uczenia się śpiewu u zeberki *Taeniopygia guttata*

Marta Wantuch, Dariusz Wiejaczka

Streszczenie:

Proponowany projekt dotyczy wpływu infekcji na procesy uczenia się u ptaków. Podczas trwania eksperymentu zamierzamy sprawdzić w jakim stopniu układ immunologiczny wpływać może na efektywność procesu uczenia się śpiewu u zeberki *Taeniopygia guttata*. Chcielibyśmy także wykazać czy istnieje kompromis w wydatkowaniu energii na odpowiedź humoralną a naukę śpiewu. Poprzez nastrzykiwanie części samców antygenem SRBC postaramy się wywołać infekcję, która jak przypuszczamy wpływała będzie na uczenie się. Miarą stopnia nauki będą różnice w zdolności do prawidłowego wykonania pieśni pomiędzy podlotem a jego tutorem analizowane na podstawie sonogramów śpiewu.

Eksperyment jest o tyle ważny, że naprawdę dużo wiemy na temat tego co leży po stronie korzyści z układu immunologicznego, natomiast kosztem czego się to odbywa – wiemy stosunkowo niewiele.

Cel projektu:

Głównym celem badań jest odpowiedź na pytanie czy infekcje, które przechodzi organizm na wczesnych etapach rozwoju mają wpływ na jego zdolności uczenia się śpiewu. Pisklęta płci męskiej ptaków śpiewających krótko po wylocie z gniazda zaczynają kopiować głosy swoich starszych pobratymców. Proces ten jednak musi trwać przez pewien czas, zanim osobnik osiągnie określony stopień doskonałości. Sonogram głosu posiada pewne charakterystyczne cechy, które możemy analizować i na podstawie tego weryfikować podobieństwo dwóch wykresów. Przewidujemy, że osobniki zainfekowane będą wykazywały mniejsze postępy w nauce niż ptaki z grupy zdrowej. Oznacza to, że sonogram zapisu śpiewu zdrowych osobników, w porównaniu z chorymi, będzie po krótszym czasie przypominał zapis traktowany jako wzorzec. Ponadto przypuszczamy, iż śpiew ptaków zainfekowanych będzie w przyszłości mniej atrakcyjny dla poszukujących partnera samic. Przeprowadzenie naszego eksperymentu pozwoli stwierdzić także czy istnieje kompromis pomiędzy wydatkami na odpowiedź immunologiczną a wydatkami na procesy uczenia się.

Istniejący stan wiedzy:

Utrzymanie układu immunologicznego jest kosztowne, jednak niezbędne w środowisku pełnym patogenów. Organizm musi podejmować decyzje gdzie alokować zasoby, które pobierze ze środowiska. Infekcje znacząco zakłócają prawidłowe funkcjonowanie oraz wpływają na rozwój i długość życia osobnika. Każda odpowiedź immunologiczna wymaga znacznych nakładów energii i kompromisu pomiędzy różnymi sposobami jej wydatkowania.

Większość wróblowych *Passeriformes* uczy się śpiewu jedynie przez krótki okres po opuszczeniu gniazda, a następnie melodia, którą wypracowały ulega utrwaleniu). Drobne ptaki śpiewające zaczynają rozwijać swój śpiew około miesiąca po wykluciu. Tworzą wtedy tzw. „przedpieśń” składającą się z nieuporządkowanych dźwięków. Przez kolejnych kilkadziesiąt dni doskonali swoje umiejętności porównując swój wzorzec z pieśnią modelową. Odbywa się to na zasadzie słuchowego sprzężenia zwrotnego (McFarland 1987, Tchernichovski 2002).

Z wcześniejszych badań wynika, że stres, niedobór snu oraz zbyt niska lub zbyt wysoka temperatura mają negatywny wpływ na procesy uczenia się. Jednak w jakim stopniu nie letalne infekcje wpływają na zdolności przyswajania wiedzy na wczesnych etapach rozwoju, nie było do tej pory eksperymentalnie sprawdzane.

Proponowane badania mają na celu sprawdzenie czy wydatki przeznaczone na procesy uczenia się są limitowane i czy różnice pomiędzy poszczególnymi grupami są na tyle duże, by obniżyć

szanse samców na pozostawienie potomstwa. Związek pomiędzy udziałem patogenów w środowisku a nauką śpiewu może okazać się bardzo istotny dla zrozumienia w jaki sposób rozwija się w populacji zmienność sygnałów. Najwcześniejsze etapy rozwoju mogą mieć ogromny wpływ na jakość pieśni samca i jego atrakcyjność płciową. Istnienie kompromisu pomiędzy wydatkami na układ odpornościowy a naukę śpiewu może powodować, że osobniki zainfekowane na wczesnym etapie rozwoju będą w przyszłości mniej atrakcyjne dla samic, a co za tym idzie eliminowane przez dobór (Cockburn 1992 za Nottebohm 1981). Badania te stanowią mogą także podstawę kolejnych eksperymentów dotyczących przekazywania sygnałów w świecie zwierząt, atrakcyjności płciowej oraz funkcjonowania układu odpornościowego.

Metodyka badawcza:

Opis obiektu badań:

Zeberka *Taenyopygia guttata*, jest drobnym ptakiem śpiewającym pochodzącym z Australii. Na wolności żyje od 3 do 4 lat. Samica składa od 4 do 7 jaj. Młode usamodzielniają się w wieku około 40 dni. Bardzo często jest organizmem modelowym w eksperymentach biologicznych ponieważ posiada wiele istotnych i korzystnych dla badacza cech:

1. Jest prosta w hodowli, tania i łatwo dostępna.
2. Łatwo się rozmnaża i posiada krótki okres od wylęgu do osiągnięcia dojrzałości.
3. Samce jedynie przez krótki okres po opuszczeniu gniazda uczą się śpiewu (40 – 90 dzień od wyklucia).

Opis eksperymentu:

W doświadczeniu zamierzamy użyć 70 samców zeberki pochodzących z hodowli Instytutu Nauk o Środowisku UJ. Wszystkie osobniki będą hodowane w jednakowych, optymalnych warunkach (temperatura 20°C, pełne światło pomiędzy godz. 7 i 20, pełnowartościowy pokarm).

Jako antygen wykorzystamy krwinki SRBC podane dootrzewnowo po 40 i 47 dniach od opuszczenia gniazda. Odpowiedź humoralną będziemy badać testem hemaglutynacji na obecność przeciwciał po 6 dniach od każdej iniekcji. Pozwoli to stwierdzić zależność pomiędzy stopniem odpowiedzi immunologicznej a zdolnością do przyswajania wiedzy. Krew do powyższego testu będzie pobierana z żyły podramiennej.

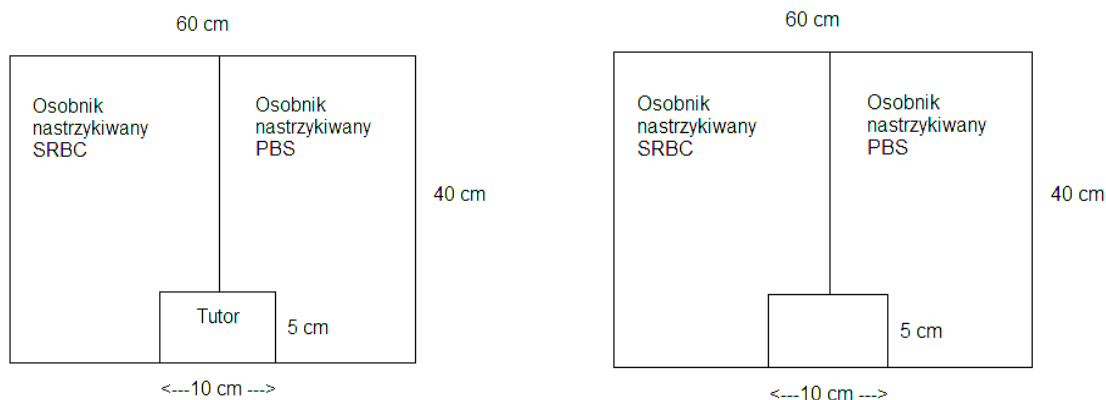
Ptaki podzielone zostaną na dwie eksperymentalne grupy:

- 20 osobników nastrzykiwanych specjalnym antygenem SRBC.
- 20 osobników nie traktowanych antygenem nastrzykiwanych solą fizjologiczną (PBS).

W każdej klatce umieszczone będą 2 osobniki (bracia), po jednym z każdej grupy eksperymentalnej, w taki sposób aby nie mogły się widzieć, a jedynie słuchać śpiewu swojego nauczyciela (Ryc. 1). Na każdą klatkę przydzielony zostanie jeden dorosły samiec, który będzie tutorem (dodatkowo 20 osobników).

Stworzona zostanie także grupa kontrolna: 10 osobników nie uczonych pieśni. Połowa z grupy kontrolnej traktowana będzie antygenem a druga połowa solą fizjologiczną. Umieszczone one zostaną podobnie parami (bracia, jeden nastrzykiwany antygenem, drugi solą fizjologiczną) lecz bez obecności tutora (Ryc. 2). Pozwoli to potwierdzić że obecność nauczyciela jest konieczna gdyby badania nie wykazały istotnych różnic pomiędzy grupami eksperymentalnymi. Podobnie pomiędzy dwoma grupami z części kontrolnej - dla sprawdzenia jaki wpływ ma antygen w przypadku braku tutora.

Głosy młodych ptaków będą nagrywane godzinę dziennie, przez okres 14 dni od 40 dnia po wykluciu. Każdy z ptaków biorących udział w eksperymencie nagrywany będzie oddzielnie na osobną ścieżkę. Nagrania będą się zaczynać po upływie dwóch godzin od rozpoczęcia przez ptaki śpiewu w danym dniu (9:00 rano). Służyło to będzie wyeliminowaniu efektu snu objawiającego się pogorszeniem zdolności kopiowania na początku każdego dnia. Ujednoczenie godziny w której zbierane będą dane zwiększy dokładność otrzymanych wyników. Dodatkowo po 90 dniach od wyklucia nagrane będą głosy ptaków z poszczególnych grup w celu stwierdzenia czy zmiany spowodowane infekcją rzeczywiście się utrwały.



Ryc. 1.

Ryc. 2.

Ostatnią częścią eksperymentu będzie weryfikowanie atrakcyjności samców. Zamierzamy zrobić to poprzez odtwarzanie utrwalonej pieśni samicom z danej populacji. Samice umieszczone będą w klatkach w których po dwóch stronach zamontowane będą głośniczki z których odtwarzać będziemy nagrania zdrowych i przechodzących infekcje samców. Samice nie będą widziały samców, a jedynie słyszały dwa rodzaje pieśni. Za bardziej atrakcyjnego uważany będzie ten przy którego głosie samica będzie spędzała więcej czasu, co będzie określane na podstawie nagrań z kamery wideo.

Badania prowadzone będą za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego. Ptaki będą trzymane w dłoni jedynie przez okres kilku minut podczas nastrzykiwania. Miejsca nakłucia będą dezynfekowane. Do badań analitycznych krwi pobierana będzie jej minimalna ilość.

Przewidywane wyniki:

4. Osobniki z grupy traktowanej antygenem SRBC będą wolniej uczyły się niż osobniki nastrzykiwane jedynie solą fizjologiczną.
5. Pieśń osobników przechodzących infekcje będzie różniła się od pieśni osobników zdrowych po zakończeniu nauki i być może wpłynie na atrakcyjność płciową samców.
6. Istnienie kompromisu pomiędzy wydatkami energetycznymi na utrzymanie układu immunologicznego a wydatkami na naukę śpiewu (związek pomiędzy stopniem odpowiedzi immunologicznej a efektywnością uczenia się).

Analiza danych:

Głosy będą analizowane na podstawie składowych cech sylaby śpiewu: długości trwania, częstotliwości, wysokości dźwięku. Porównywane będą sonogramy tutora, dwóch uczniów z grup eksperymentalnych i kontroli.

Za pomocą analizy wariancji sprawdzimy zależność efektywności uczenia się od obecności lub braku antygeny, przynależności do konkretnej pary i czasu (zmienna ciągła) (Scheiner 2001). Dla określenia zależności pomiędzy stopniem odpowiedzi humoralnej a efektywnością nauki przeanalizujemy statystyczną istotność współczynników regresji i korelacji (Łomnicki 2003). Miarą szybkości uczenia się określana będzie ilość dni po upływie których samce z poszczególnych grup osiągną 90% poprawności kopiowania pieśni. Atrakcyjność samców weryfikowana będzie procentem czasu który samica spędza przy odtwarzanym nagraniu.

Materiały i kosztorys badań:

Komputer do analizy danych (min Pentium IV, 1024 RAM) - 10 000 zł

Cyfrowe urządzenia do nagrywania głosów (25 sztuk) - 5000 zł

Kamera wideo – 2000 zł

Oprogramowanie statystyczne i analizujące sonogramy dźwięków - 2000 zł

Antygen SRBC oraz odczynniki do wywoływania odpowiedzi humoralnej – 2000 zł
Materiały biurowe (papier, nośniki CD itd.) – 500 zł
Klatki eksperymentalne (25 sztuk) – 2500 zł
Materiały do klucia i analizy krwi (strzykawki, igły, kapilary) – 500 zł
Koszty hodowli ptaków (karma, witaminy itd.) – 500 zł

SUMA: 23 000 zł

Formy rozpowszechniania wyników:

1. Publikacje w międzynarodowych czasopismach naukowych takich jak: Animal Behaviour, Behavioural Ecology oraz Journal of Evolutionary Biology.
2. Prezentacja wyników (referaty i plakaty) na kongresie Europejskiego Towarzystwa Biologii Ewolucyjnej, na krajowych konferencjach i Warsztatach Biologii Ewolucyjnej.

Literatura:

Cockburn Andrew. 1992. An Introduction To Evolutionary Ecology. Blackwell Scientific Publications.

Łomnicki Adam. 2003. Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników. PWN. Warszawa.

McFarland David. 1987. The Oxford Companion to Animal Behaviour. Oxford University Press.

Scheiner M Samuel, Gurevitch Jessica. 2001. Design and Analysis of Ecological Experiments, Oxford University Press.

3. „Wpływ uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycję rodziny pszczelej *Apis mellifera L.*” – Łukasz Binkowski, Monika Ulman

PIERWSZA WERSJA PROJEKTU

3. Wpływ uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycję rodziny pszczelej *Apis mellifera L.*

Łukasz Binkowski, Monika Ulman

Streszczenie

Miód jest ważnym i bardzo wartościowym produktem wykorzystywanym przez przemysł spożywczy, farmaceutyczny i kosmetyczny. W celu redukcji kosztów produkcji miodu zaczęto stosować na szeroką skalę ule oraz sprzęt pasieczny wykonane z tworzyw sztucznych. Celem naszego projektu jest sprawdzenie jak powyższy fakt wpływa na jakość produktów pszczelich oraz na kondycję pszczół. Znalezienie korelacji pomiędzy jakością miodu a stanem gniazda i jego budulcem pozwoli odpowiedzieć na pytanie, czy metody tradycyjne są lepsze od nowatorskich, czy też obie mogą być stosowane w gospodarce pasiecznej z równym powodzeniem. Dane, otrzymane w wyniku pomiarów, będą przetworzone statystycznie z użyciem analiz wariancji jedno- i dwukierunkowych.

Cel projektu

Gospodarka pasieczna jest ważnym elementem przemysłu spożywczego i rolnictwa. Miód stanowi naturalny zbiór antybiotyków, witamin i cukrów prostych, będących istotnymi elementami zdrowej diety. W związku z dużym zapotrzebowaniem na miód prowadzi się intensywna jego produkcję, dążąc jednocześnie do zminimalizowania jej kosztów. Zaczęto stosować dużo tańsze i lżejsze ule polistyrenowe oraz sprzęt pasieczny wykonany z tworzyw sztucznych. Istnieje podejrzenie, że sztuczne budulce uli mogą negatywnie wpływać na ilość i jakość miodu oraz na kondycję rodziny pszczelej. Celem naszego projektu jest weryfikacja powyższej hipotezy.

Istniejący stan wiedzy

Dotychczasowe badania skupiały się nad jakością miodu oraz jego składnikami, natomiast nie szukano zależności pomiędzy powyższymi a siedzibą pszczół. Bazując na opiniach pszczelarzy praktyków wiadomo, że prowadzenie gospodarki pszczelarskiej w sposób tradycyjny gwarantuje wysoką jakość produktów pszczelarskich, jak i dobrą kondycję pszczół. Ule drewniane w najwierniejszy sposób imitują naturalne gniazda dzikich pszczół (Dobrowolski, 1987). Jednak żadne opinie i publikacje nie potwierdzają takich właściwości uli styropianowych. Znajac właściwości izolacyjne polistyrenu wiemy, że mikroklimat obu typów uli jest różny. W przypadku uzyskania przewidywanych wyników staną się one podstawą do dalszych analiz. Opracowanie wyników będzie źródłem określającym optymalne parametry mikroklimatyczne i fizykochemiczne gniazda pszczelego. Pszczoły podczas wytwarzania i odparowywania miodu wykonują pracę zużywając duże ilości energii (Ostrowska, 1990). Wpływ mikroklimatu ula na intensywność odparowywania miodu ma zasadnicze znaczenie (PZN, 2002). Nieodpowiedni klimat może być również przyczyną występowania chorób (Dobrowolski, 1987). Choroby natomiast zdecydowanie zmieniają zachowanie się pszczół, co w konsekwencji prowadzi do wzmożonego rozprzestrzeniania się danej infekcji w ulu (Krebs, Davies, 1981).

Metodyka badań

W celu weryfikacji zakładanej hipotezy przeprowadzamy badania w obrębie czterech pasiek zlokalizowanych w różnych miejscach. Każda z nich składać się będzie z dziesięciu uli: pięciu

drewnianych i pięciu polistyrenowych. Oba rodzaje będą należały do typu uli wielkopolskich. W każdym ulu będziemy hodować pszczoły tej samej rasy *Apis mellifera L.* – *Karnika*, pochodzącej od jednego hodowcy. Zadbamy o uzyskanie jednakowej siły pszczół w ulach, czyli o wyrównaną kondycję rodzin pszczelich. Pasiaki zostaną założone w tym samym czasie. Akcesoria używane w poszczególnych ulach np. podkarmiaczki, odstępniki, poławiacze pyłku będą odpowiednie dla danego typu ula, czyli w ulach drewnianych - drewniane, w ulach polistyrenowych – z tworzyw sztucznych. Niewykluczone, że środowisko w jakim znajdzie się dana rodzina może wpływać na oddziaływanie ula, tzn., że ul polistyrenowy może wykazać lepsze właściwości mikroklimatyczne w lesie, natomiast zupełnie odmienne na łące. Dlatego rozmieszczenie pasiek będzie następujące:

- Pasiaka nr 1 w środowisku silnie zmienionym i zanieczyszczonym przez człowieka. Ogródki działkowe w dużym mieście, np. w Krakowie.
- Pasiaka nr 2 na skraju małego miasta o niższym zanieczyszczeniu. Ogródki działkowe w Wadowicach.
- Pasiaka nr 3 na łące wielokwiatowej silnie nasłonecznionej. Okolice Zatora.
- Na skraju górskiego lasu w miejscu zacienionym o dużej wilgotności. W środowisku tym występują duże zmiany temperatury i wilgotności w ciągu doby. Ochotnica Górna.

Badania zajmą trzy lata. W każdym ulu będzie prowadzony ciągły pomiar temperatury i wilgotności. W związku z tym w ulach zostaną zamontowane sondy termiczne i wilgotnościowe. Podczas miodobrań zostanie dokładnie określona ilość miodu pozyskana z każdego ula. Poszczególne próbki miodu zostaną poddane wnikliwej analizie fizykochemicznej. Zbadamy gęstość miodu, zawartość cukru, jonów, witamin i antybiotyków oraz zawartość zanieczyszczeń, w tym metali ciężkich oraz związków toksycznych. Ocena jakości miodu będzie prowadzono tylko w obrębie danej pasieki. Oprócz ilości miodu sygnałem mówiącym o kondycji rodziny pszczelej będzie jej podatność na różnego rodzaju choroby i pasożyty. Określimy częstość występowania warozy, zgnilca amerykańskiego, nosemozy i grzybiczy wapiennej.

Analiza statystyczna

Dla przeprowadzenia analizy otrzymanych danych zastosujemy serie dwukierunkowych analiz wariacji testem Anova, gdzie rodzaj ula oraz lokalizacja pasieki wpływają na:

1. Ilość miodu
2. Ilość zanieczyszczeń w miodzie
3. Podatność na choroby i pasożyty
4. Stosunek temperatury do wilgotności wewnątrz ula

| | Pasiaka 1 Duże miasto | Pasiaka 2 Małe miasto | Pasiaka 3 Łąka | Pasiaka 4 Skraj lasu |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------|-------------------------|
| Ule drewnia- ne | ● ● ● ● ● | ● ● ● ● ● | ● ● ● ● ● | ● ● ● ● ● |
| Ule polisty- renowe | ● ● ● ● ● | ● ● ● ● ● | ● ● ● ● ● | ● ● ● ● ● |

Rys 1. Schemat ilustrujący układ eksperymentalny.

Dwukierunkowa analiza wariacji testem Anova z powtórzeniami umożliwi wykrycie interakcji. W przypadku gdy różnice w ilości miodu w zależności od rodzaju ula i położenia pasieki będą istotne to wówczas dodatkowo zastosujemy metodę jednokierunkowej analizy wariacji dla różnych uli w obrębie jednej pasieki. Jej celem będzie sprawdzenie czy istnieje różnica pomiędzy ilością miodu a rodzajem ula. W identyczny sposób będziemy postępować w pozostałych przypadkach.

Dane potrzebne do obliczeń statystycznych będą średnimi z wyników otrzymanych w ciągu trzech lat.

W celu zbadania stopnia zainfekowania i zapasożycenia pszczół określimy ilość pszczół chorych na 100 losowo wybranych z każdego ula. Dla każdej choroby przeprowadzimy osobne badania. Posługując się dwukierunkową analizą wariancji bez powtórzeń ocenimy czy istnieją istotne różnice w przeżywalności pszczół w czasie zimowania w różnych rodzajach uli i różnych pasiekach.

Efekty projektu

Po opracowaniu wyników planujemy ich wykorzystanie.

1. Część poświęconą warunkom mikroklimatycznym gniazd pszczelich pragniemy opublikować w Ecology oraz w Polskim Piśmie Entomologicznym.
2. Część mówiącą o zanieczyszczeniach miodu zamierzamy opublikować w Environmental Pollution.
3. Część poświęconą przydatności różnych typów uli w hodowli opublikujemy w Beekeeping, ewentualnie w Pszczelarzu Polskim.
4. Wyniki zostaną również przedstawione w formie referatów i posterów na Międzynarodowej Konferencji Pszczelarskiej w Puławach oraz na Zjazdach Polskiego Związku Pszczelarskiego.
5. Uzyskane dzięki realizacji projektu informacje będą dla nas podstawą do kolejnych, bardziej szczegółowych i zaawansowanych badań.

Literatura

Do opracowania projektu oraz szczegółowych planów badań konieczne było zapoznanie się z następującą literaturą:

1. Dobrowolski K. Hodowla pszczół. PWRiL 1987
2. Ostrowska W. Gospodarka pasieczna. PWRiL 1990
3. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe. Puławy 2002
4. Krebs J.R., Davies N.B. An Introduction to behavioural Ecology. Blackwell Scientific Publications Oxford London 1981

Kosztorys

Do przeprowadzenia badań konieczne będą odpowiednie środki finansowe. Kwoty w PLN.

| Przedmiot | 2007 | 2008 | 2009 | Razem |
|---------------------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| Ule polistyrenowe 20 szt. | 3000 | x | x | 3000 |
| Ule drewniane 20 szt. | 6000 | x | x | 6000 |
| Wyposażenie uli polistyrenowych | 2000 | x | x | 2000 |
| Wyposażenie uli drewnianych | 3000 | x | x | 3000 |
| Narzędzia i sprzęt pasieczny | 2000 | x | x | 2000 |
| Rodziny pszczele | 4000 | x | x | 4000 |
| Cukier | 1000 | 1000 | 1000 | 3000 |
| Suplementy weterynaryjne | 200 | 200 | 200 | 600 |
| Pensja za pracę pszczelarza | 3000 | 3000 | 3000 | 9000 |
| Analizy fizykochemiczne | 1000 | 1000 | 1000 | 3000 |
| Inne (m. biurowe, dojazdy) | 1500 | 1500 | 1500 | 4500 |
| Razem | 26700 | 6700 | 6700 | 40100 |

Harmonogram

Rozpoczęcie realizacji projektu planujemy na wiosnę 2007.

| Rok | Pora roku | Planowane czynności |
|------------|------------------|---|
| 2007 | Wiosna | Założenie pasiek. Zgłoszenie ich obecności w punktach weterynaryjnych. Wynajęcie pracownika. |
| | Lato | I seria miodobrania. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Jesień | Przygotowanie pszczół do zimy i ocena ich kondycji. Przeprowadzenie wymaganej suplementacji weterynaryjnej. |
| | Zima | Zimowanie rodzin pszczelich. Konserwacja wyposażenia pasiek. |
| 2008 | Wiosna | Przegląd wiosenny pasiek. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Lato | II seria miodobrania. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Jesień | Przygotowanie pszczół do zimy i ocena ich kondycji. Przeprowadzenie wymaganej suplementacji weterynaryjnej. |
| | Zima | Zimowanie rodzin pszczelich. Konserwacja wyposażenia pasiek. |
| 2009 | Wiosna | Kolejny przegląd wiosenny pasiek. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Lato | III seria miodobrania. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Jesień | Przygotowanie pszczół do zimy i ocena ich kondycji. Przeprowadzenie wymaganej suplementacji weterynaryjnej. |
| | Zima | Zimowanie rodzin pszczelich. Konserwacja wyposażenia pasiek. Zakończenie badań. |

RECENZJE

Adam Łomnicki**Recenzja projektu badawczego Ł. Binkowskiego i M. Ulman pt. „Wpływ uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycje rodziny pszczelej”**

Str. 1: Na początku jest zdanie nic nie wnoszące do sprawy, że miód jest ważnym i wartościowym produktem. Taka informacyjna wata czyni teksty nudnymi, zniechęca do czytania i źle nastawia czytelnika do autora. W streszczeniu mowa także o korelacji między jakością miodu z jednej strony, a stanem gniazda i jego budulcem z drugiej. W dalszym tekście nie ma nic o badaniu za pomocą współczynników korelacji. Wygląda na to, że użyto tu terminu „korelacja” bo brzmi bardziej naukowo. Ja nie dawałbym w streszczeniu szczegółowego opisu, jakie analizy wariancji będą stosowane. Na to jest miejsce w opisie metod.

W opisie celu projektu znowu pierwsze zdanie nic nie wnoszące. Jeśli badania mają weryfikować przedstawioną tam hipotezę, że sztuczne budulce mogą negatywnie wpływać, to oznacza że ule styropianowe mogą być tylko gorsze od drewnianych, a nie lepsze. Należało by zatem stosować testy jednostronne. To nie zgadza się z tym, co napisano później, że styropianowe ule mogą być jednak lepsze przynajmniej w pewnych warunkach. Należy bardzo uważać, co się pisze, aby w krótkim tekście nie było niezgodności.

Autorzy mają tendencje do pisania takich ogólników, z których nic nie wynika. Na przykład, że mikroklimat w obu typach uli jest różny, ale aż się prosi, aby pospekulować, na czym te różnice polegają. A jeśli nie chcemy spekulować, to z takich ogólników warto zrezygnować, bo czynią one tekst nudnym. Jak można znaleźć optymalne parametry mikroklimatyczne i fizykochemiczne gniazda badając tylko dwa typy uli? Można tylko ustalić, który jest lepszy, a optymalny może być zupełnie niepodobny ani do styropianowego ani do drewnianego. Co to znaczy PZN i dlaczego nie ma tego w spisie literatury? Jak się ma informacja o wzmożonej infekcji w wyniku choroby do projektowanych badań? Ja takie zjawisko znam u wirusa wścieklizny, a jeśli podobne występuje u pszczół to, co z tego wynika dla projektu. To takie chwalenie się erudycją, bez związku z tematem.

Str. 2: W pierwszym akapicie mowa o kondycji rodzin pszczelich bez podania, w jaki sposób mierzy się tę kondycję. Z tekstu wynika, że kondycja jest synonimem siły pszczół w ulach, ale też nie podano, jak tę siłę mierzyć. Dopiero w następnym akapicie proponuje się kondycję mierzyć odpornością na choroby i pasożyty, ale to chyba są efekty słabej kondycji a nie jej pomiar, jakby wynikało z tekstu.

Dlaczego opis rozmieszczenia pasiek zaczyna się po szerokim lewym marginesie i równie szerokim myślniku. Tekst projektu to nie prezentacja ani konspekt wykładu i powinien być pisany tak jak się pisze maszynopisy. Nie należy też pisać krótkich jednozdaniowych akapitów (str. 3)

A wracając do strony 2, przymiotnik „wnikliwa” przy analizie trzeba sobie darować, bo to sugeruje, że inne analizy będą robione byle jak. Nie wiem, co to znaczy, że ocena jakości miodu będzie prowadzona tylko w obrębie danej pasieki.

Przy opisie analizy statystycznej nie wiem, dlaczego badane będzie ilość zanieczyszczeń w miodzie, a nie proporcja lub ppm. I o jakie zanieczyszczenia tu chodzi, pochodzące z drewna lub ze styropianu czy też z zanieczyszczeń powietrza i gleby? Nic o tym nie było we wstępie i w opisie metod. Jak mierzona będzie podatność na choroby i pasożyty? Tu chyba chodzi o proporcje zakażonych, ale to trzeba jasno i jednoznacznie napisać. A wreszcie nie wiem, co może wynikać z podzielenia temperatury przez wilgotność i badania takiego stosunku, zamiast temperatury osobno i wilgotności osobno.

Str. 3: Dlaczego statystycznie opracowywane będą średnie z trzech lat, a nie pomiary z każdego roku? W ten sposób tracimy tylko ważne informacje. W jaki sposób będzie zapewniony losowy wybór pszczół? Czy to za wysokie wymagania? Może wystarczy losowy wybór zbieraczek wychodzących z ula. Dlaczego przeżywalność pszczół ma być badana analizą wariancji bez powtórzeń, jeśli mamy dane z każdego ula i w każdej kombinacji typu ula i miejsca jest 5 uli?

Bardzo ten tekst jest na luzie pisany, bez odpowiedzialności za słowa.

Adam Łomnicki

Piotr Nowicki

Recenzja projektu „Wpływ uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycję rodziny pszczołej *Apis mellifera* L.”

Jakkolwiek projekt przedstawiony został w poprawny sposób, posiada konkretną hipotezę badawczą i realistycznie proponuje sposób jej weryfikacji, to jednak w żadnym wypadku nie zgodziłbym się na jego finansowanie z pieniędzy publicznych. Stanowi bowiem przysłowiowe wyważanie otwartych drzwi. Sądzę, że hipotezę postawioną przez autorów zweryfikowało już wcześniej życie, a ściślej prawa ekonomii. Gdyby ule polistyrenowe powodowały znacząco niższą ilość miodu produkowanego przez pszczoły, jego gorszą jakość i zwiększoną podatność pszczół na choroby to pszczelarze po prostu nie stosowaliby ich na masową skalę.

Oczywiście można wyobrazić sobie sytuację, w której każdy z wymienionych powyżej czynników ma negatywny wpływ na produkcję miodu, lecz zysk ze stosowania tańszych uli jest nadal większy. Można też spierać się, że ilość zanieczyszczeń w miodzie jest lepszą miarą jakości miodu niż jego walory smakowe, którymi kierują się konsumenci. Jednak powyższe uwagi dowodzą jedynie, że autorzy nie uwzględnili wszystkich elementów istotnych dla poruszanego problemu, który jest problemem gospodarczym (praktycznym), a nie biologicznym!

Przyznaję, że z powodu braku przekonania o celowości projektu nie wgłębiałem się zbyt w treść wniosku. Kilka drobnych uwag przedstawiam poniżej:

- (1) Należałoby przedstawić w jaki sposób będzie oceniana kondycja pszczół (str. 2, wiersz 6 od góry);
- (2) Zamiast stosowania średnich z trzech lat (str. 3, wiersze 7-8 od góry), lepsze może być przyjęcie roku jako dodatkowego czynnika w analizie wariancji (gdyż np. poszczególne lata mogą wyraźnie różnić się warunkami pogodowymi);
- (3) Kosztorys nie uwzględnia kosztów pośrednich.

Agnieszka Kloch

Recenzja projektu „Wpływ uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycję rodziny pszczołej *Apis mellifera* L.” autorstwa Łukasza Binkowskiego i Moniki Ulman

Autorzy zamierzają zbadać wpływ uli polistyrenowych na kondycję pszczół i jakość produkowanego przez nie miodu. Stawiają hipotezę, że w ulach polistyrenowych parametry te będą gorsze niż w przypadku tradycyjnych uli drewnianych. Projekt ten jest z dziedziny nauk stosowanych i nie dotyczy sytuacji biologicznej (pszczoły w przyrodzie raczej nie będą miały okazji osiedlić się w polistyrenie) jednak prezentowane zagadnienie wydaje się bardzo ciekawe i warte zbadania, a ponadto wyniki będą miały zastosowanie praktyczne. Ze względu na praktyczny charakter badań wydaje mi się jednak, że trudno będzie takie wyniki opublikować w *Ecology*.

Projekt jest dobry i wymaga jedynie niewielkich poprawek – dobrze byłoby uściślić, jakie jony i związki toksyczne będą oznaczane w miodzie oraz jakimi metodami prowadzone będą jakości analizy miodu, co jest istotne, jeśli autorzy zamierzają wykonywać je samodzielnie. Nie jest jasne, jak zostanie określona przeżywalność pszczół, a w przypadku szacunkowych liczebności różnice obliczone analizą wariancji mogą być niewiarygodne.

Z metodyki wynika, że ule będą ustawione w czterech pasiekach, z których każda znajduje się w innym otoczeniu, które może wpływać na jakość miodu. Należy więc przeformułować zdanie „ocena miodu będzie prowadzona tylko w obrębie danej pasieki”, w którym – jeśli dobrze rozumiem – chodzi o to, że jakość miodu będzie porównywana pomiędzy dwoma rodzajami uli oddzielnie dla każdej pasieki.

Zdanie „znając właściwości izolacyjne polistyrenu wiemy, że mikroklimat obu typów uli jest różny” należałoby uzupełnić opisem tych różnic. Stwierdzenie „w przypadku uzyskania przewidywanych wyników staną się one podstawą do dalszych analiz” budzi pewne wątpliwości. Wydaje mi się, że uzyskanie wyników sprzecznych z przewidywaniami mogłoby również skłaniać do dalszych badań czyli wyjaśnienia, jak pszczoły utrzymują dogodny dla nich mikroklimat w ulu polistyrenowym, gdzie jest to trudniejsze niż w drewnianym.

Dominika Kustosz

Celem niniejszego projektu jest zbadanie wpływu uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycję rodziny pszczoły *Apis mellifera*. Autorzy zwracają uwagę na fakt, że do tej pory nie przeprowadzono takich badań po mimo, iż pszczelarze wolą tradycyjne drewniane ule nie zwracając uwagi na fakt ich wysokiej ceny.

Uważam, że projekt jest dobrze zaplanowany i przemyślany. Brakuje jednak jednoznacznie postawionej hipotezy. Nie wyjaśniono także dlaczego wybrano akurat tą a nie inną rasę pszczoł (dla kogoś kto się na tym nie zna nie jest jasne czy jest to najczęściej hodowana rasa czy też wyróżnia się jakimiś szczególnymi cechami). Kosztorys projektu jest dobrze przemyślany choć niestety nie szczegółowy. Pojawiają się w nim także pensje dla pszczelarzy choć nigdzie w opisach projektu nie jest nawet wspomniane o tym, że do pomocy przy jego realizacji będą zatrudniane dodatkowe osoby.

Zastanawia mnie tylko fakt czy przypadkiem ule polistyrenowe nie były już poddawane wszelakim analizom ich wpływu na miód zanim zostały dopuszczone do produkcji i sprzedaży. Jestem pewna, że w Unii Europejskiej istnieją przepisy, które jednoznacznie określają jakość miodu. Gdyby więc miód z takich uli był gorszej jakości to na pewno nie zostałby dopuszczony do sprzedaży. Niestety ani ja ani autorzy projektu (bo na pewno się też nad tym zastanawiali) nie jesteśmy w stanie tego sprawdzić ze względu na ograniczony dostęp do literatury.

Projekt ten jest bardzo ciekawy, a po przeczytaniu podanego stanu wiedzy na badane zagadnienie wygląda na innowatorski, a ze względu na jego znaczenie dla gospodarki pasiecznej warto przeprowadzić takie badania.

Marta Wantuch

Recenzja projektu „Wpływ uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycję rodziny pszczoły *Apis mellifera* L”

Projekt dotyczy nie badanego do tej pory zagadnienia jakim jest wpływ uli z tworzyw sztucznych na produkty pszczoły i kondycję pszczoły rodziny. Osobiście uważam, że stosowanie tego typu uli ujemnie wpływa na wydajność roju. Nie można jednak wykluczyć sytuacji odwrotnej czego autorzy zdają się nie brać pod uwagę pisząc w streszczeniu o gorszej lub podobnej użyteczności obydwu rodzajów.

Uważam, że brak w opracowaniu jasno sformułowanej hipotezy. Czytając projekt nie można być do końca pewnym czy jego celem jest jedynie wykazanie wpływu użycia polistyrenu na rodzinę pszczoły, różnic pomiędzy dwoma omawianymi rodzajami uli czy też udowodnienie, że tworzywa sztuczne są gorsze od drewna jako materiały wykorzystywane do budowy pasieki. W części dotyczącej istniejącego stanu wiedzy autorzy wyrażają ponad to chęć określenia optymalnych parametrów mikroklimatycznych i fizykochemicznych gniazda pszczelego co jak sądzę zupełnie wykracza poza ramy omawianego eksperymentu.

W projekcie brak uzasadnienia trzyletniego okresu trwania badań. W harmonogramie nie ma również wydzielonego czasu na opracowanie wyników. Dobrze byłoby, w części dotyczącej analizy statystycznej, jasno określić o jakie interakcje chodzi i w których „pozostałych przypadkach” autorzy będą postępować w „identyczny sposób”.

Z drobniejszych uwag proponuję zmienić określenie „przetworzone” statystycznie na przeanalizowane. Słowo przetworzone sugeruje ingerencję autorów w razie np. niezadowolenia z otrzymanych rezultatów. Nieprawidłowe jest również sformułowanie „dwukierunkowa analiza wariancji testem Anova”, wystarczy „dwukierunkowa analiza wariancji”.

Uważam, że projekt jest ogólnie dobrze zaplanowany, a uzyskane wyniki będą ważne z punktu widzenia gospodarki pasiecznej.

Darek Wiejaczka

Wpływ uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycję rodziny pszczelej *Apis mellifera* L.

Autorzy niniejszego projektu starają się odpowiedzieć na pytanie czy rzeczywiście są różnice pomiędzy miodem otrzymywanym z naturalnych i sztucznych uli są istotne, oraz czy rodzaj ula ma wpływ na rodzinę pszczelą. Problem jest o tyle ważny, że dużo mówi się o przewagi „naturalnego” nad „sztucznym” a tak naprawdę nie wiadomo w czym się ta przewaga objawia

Ogromnym plusem projektu są także stosunkowo niskie nakłady finansowe a dodatkowo możliwość otrzymania pewnych profitów z wyprodukowanego miodu.

Pierwszą nieścisłością jest rasa pszczół. Autorzy nie wyjaśniają z jakich powodów właśnie *Karnika*. Być może nie ma to znaczenia i mogłaby to być jakakolwiek inna, lecz należy o tym wspomnieć. Niedo końca też rozumiem pomiary dotyczące temperatury i wilgotności. Raz, że pszczoły będą regulowały mikroklimat ula same, dwa - chyba nie chodzi tutaj o sprawdzenie warunków istniejących w ulu, tylko wpływu tych warunków (założmy, że się różnią) na kondycję pszczół i jakość miodu.

Dane uzyskane z eksperymentu przeanalizować można na więcej sposobów niż autorzy zakładają. Na przykład do obliczeń interakcji pomiędzy ilością miodu i jego jakością a rodzajem ula, można wykorzystać nie tylko średnią z wszystkich lat ale także całkowitą ilość uzyskaną po trzech latach oraz uzyskiwane w poszczególnych latach. Mogłoby to pokazać, czy na przykład jeden rodzaj uli nie sprawuje się lepiej w założeniu krótko- a inne długoterminowych.

Wydaje mi się, że produkty pszczele traktowane są bardziej ilościowo niż jakościowo, dlatego dla większości pszczelarzy nie ma znaczenia czy jakość ma pierwszorzędne znaczenie a jedynie ilość. Tanie ule oznaczają mniejsze nakłady finansowe a chyba to ma największe znaczenie dla hodowców.

Podsumowując stwierdzam, że prezentowany projekt w prosty a zarazem oryginalny sposób weryfikuje postawione hipotezy. Konsekwentnie trzyma się jasno sprecyzowanego celu, i przy stosunkowo niskim nakładzie kosztów prowadzić może do bardzo interesujących z gospodarczego punktu widzenia wyników.

OSTATECZNA WERSJA PROJEKTU

Wpływ uli polistyrenowych na jakość produktów pszczelich i kondycję rodziny pszczoły *Apis mellifera* L.

Łukasz Binkowski, Monika Ulman

Streszczenie

W celu redukcji kosztów produkcji miodu zaczęto stosować na szeroką skalę ule oraz sprzęt pasieczny wykonane z tworzyw sztucznych. Celem naszego projektu jest sprawdzenie jak powyższy fakt wpływa na jakość produktów pszczelich oraz na kondycję pszczół. Znalazienie zależności pomiędzy jakością miodu a stanem gniazda i jego budulcem pozwoli odpowiedzieć na pytanie, czy metody tradycyjne są lepsze lub gorsze od nowatorskich, czy też obie mogą być stosowane w gospodarce pasiecznej z równym powodzeniem.

Cel projektu

W związku z dużym zapotrzebowaniem na miód prowadzi się intensywną jego produkcję, dążąc jednocześnie do zminimalizowania jej kosztów. Zaczęto stosować dużo tańsze i lżejsze ule polistyrenowe oraz sprzęt pasieczny wykonany z tworzyw sztucznych. Celem naszego projektu jest weryfikacja hipotezy zakładającej, że sztuczne i tradycyjne budulce uli mogą inaczej wpływać na ilość i jakość miodu oraz na kondycję rodziny pszczoły. Badając wpływ budulców ula na jakość produktów pszczelich, oprócz podstawowych jego parametrów oznaczymy w nim zawartość zanieczyszczeń pochodzących z rozkładu i utleniania polistyrenu. Przewidujemy, że w pewnych warunkach klimatycznych, zależnych od lokalizacji pasieki a także po pewnym czasie użytkowania ule polistyrenowe mogą okazać się mniej efektywne od uli tradycyjnych.

Istniejący stan wiedzy

Dotychczasowe badania skupiały się nad jakością miodu oraz jego składnikami, natomiast nie szukano zależności pomiędzy powyższymi a siedzibą pszczół. Bazując na opiniach pszczelarzy praktyków wiadomo, że prowadzenie gospodarki pszczelarskiej w sposób tradycyjny gwarantuje wysoką jakość produktów pszczelarskich, jak i dobrą kondycję pszczół. Ule drewniane w najwłaściwszy sposób imitują naturalne gniazda dzikich pszczół (Janiszewski, 1973). Jednak żadne opinie i publikacje nie potwierdzają takich właściwości uli styropianowych. Od pszczelarzy wiadomo, że część odbiorców (głównie zagranicznych) preferuje miód pochodzący z pasiek tradycyjnych. Uważają oni, że taki miód charakteryzuje się lepszymi walorami smakowymi oraz wierzą w jego lecznicze właściwości (inf. ustna).

Znając właściwości izolacyjne polistyrenu podejrzewamy, że mikroklimat obu typów uli jest różny. Inaczej powinny kształtować się podstawowe jego parametry, takie jak temperatura i wilgotność, która w pomieszczeniach izolowanych polistyrenem jest wyższa. Uzyskane wyniki staną się podstawą do dalszych analiz. Opracowanie wyników będzie źródłem określającym, w którym z uli parametry mikroklimatyczne i fizykochemiczne są lepsze dla pszczół. Podczas wytwarzania i odparowywania miodu pszczoły wykonują pracę zużywając duże ilości energii (Ostrowska, 1985). Wpływ mikroklimatu ula na intensywność odparowywania miodu ma zasadnicze znaczenie, ponieważ przy wyższej wilgotności w ulu proces ten trwa dłużej (Woyke et al., 1983). Nieodpowiedni mikroklimat może być również przyczyną gorszej kondycji pszczół a w konsekwencji częstszego występowania chorób (Gliński, Rzedziecki, 1983). Choroby natomiast zdecydowanie zmieniają zachowanie się pszczół, co w konsekwencji prowadzi do wzmożonego rozprzestrzeniania się danej infekcji w ulu (Krebs, Davies, 1981).

Metodyka badań

W celu weryfikacji zakładanej hipotezy przeprowadzimy badania w obrębie czterech pasiek zlokalizowanych w różnych miejscach. Każda z nich składać się będzie z dziesięciu uli: pięciu drewnianych i pięciu polistyrenowych. Oba rodzaje będą należały do typu uli wielkopolskich. W każdym ulu będziemy hodować pszczoły tej samej rasy *Apis mellifera L.* – *Karnika*, pochodzącej od jednego hodowcy. Wybraliśmy tę rasę dlatego, że jest ona najczęściej hodowana przez polskich pszczelarzy. Zadbamy o uzyskanie jednakowej siły pszczół w ulach, czyli o wyrównaną kondycję rodzin pszczelich. Pasieki zostaną założone w tym samym czasie. Jesienią każdego roku przeprowadzimy w każdym ulu suplementację weterynaryjną, która polega na podaniu standardowo używanych preparatów wzmacniających odporność pszczół. Akcesoria używane w poszczególnych ulach np. podkarmiaczki, odstępniki, poławiacze pyłku będą odpowiednie dla danego typu ula, czyli w ulach drewnianych - drewniane, w ulach polistyrenowych – z tworzyw sztucznych. Niewykluczone, że środowisko w jakim znajdzie się dana rodzina może wpływać na oddziaływanie ula, tzn., że ul polistyrenowy może wykazać lepsze właściwości mikroklimatyczne w lesie, natomiast zupełnie odmienne na łące. Dlatego rozmieszczenie pasiek będzie następujące:

- pasieka nr 1 w środowisku silnie zmienionym i zanieczyszczonym przez człowieka. Ogródki działkowe na obrzeżach dużego miasta
- pasieka nr 2 na skraju małego miasta o niższym zanieczyszczeniu
- pasieka nr 3 na łące wielokwiatowej silnie nasłonecznionej
- pasieka nr 4 na skraju górskiego lasu w miejscu zacienionym o dużej wilgotności.

W środowisku tym występują duże zmiany temperatury i wilgotności w ciągu doby

Badania zajmą trzy lata. W pierwszym roku działania pasiek pszczoły przejdą aklimatyzację i adaptację do nowych warunków. Rok drugi i trzeci badań przypadną na pełną produktywność rojów. Pierwszy rok eksperymentu mógłby zostać pominięty w analizach, jednak będzie on stanowił źródło informacji na temat tempa aklimatyzacji w różnych typach uli. W każdym ulu będzie prowadzony ciągły pomiar temperatury i wilgotności. W związku z tym w ulach zostaną zamontowane sondy termiczne i wilgotnościowe. Podczas miodobrań zostanie dokładnie określona ilość miodu pozyskana z każdego ula. Poszczególne próbki miodu zostaną poddane analizie fizykochemicznej. Zbadamy gęstość miodu, zawartość cukru, jonów, witamin i antybiotyków oraz zawartość zanieczyszczeń pochodzących z rozkładu lub utlenienia polistyrenu. Ocenianą kondycję pszczół rozumiemy jako wielkość roju oraz jego podatność na choroby i pasożyty. Określimy częstość występowania warozy, zgnilca amerykańskiego, nosemozy i grzybicy wapiennej. Ilość ramek wewnątrz ula zajmowana przez pszczoły będzie dla nas informacją na temat wielkości roju.

Analiza statystyczna

Dla przeprowadzenia analizy otrzymanych danych zastosujemy dwukierunkową analizę kowariancji, gdzie rodzaj ula oraz lokalizacja pasieki są czynnikami ustalonymi a czas jest zmienna ciągłą. Wpływają one na:

1. Ilość miodu
2. Ilość zanieczyszczeń w miodzie
3. Podatność na choroby i pasożyty
4. Temperaturę wewnątrz ula
5. Wilgotność wewnątrz ula

Dwukierunkowa analiza kowariancji z powtórzeniami umożliwi wykrycie interakcji. Dane potrzebne do obliczeń statystycznych będą wynikami otrzymanymi w ciągu trzech lat.

W celu zbadania stopnia zainfekowania i zapasożycenia pszczół określimy ilość pszczół chorych na 1 ramce. Numer ramki (położenie) badanej będzie taki sam w każdym ulu. Uzyskane wartości przeliczymy na liczbę pszczół chorych przypadającą na sto zbadanych. Dla każdej choroby przeprowadzimy osobne badania.

Po okresie trzech lat od założenia pasieki posługując się dwukierunkową analizą wariancji bez powtórzeń ocenimy czy istnieją istotne różnice w przeżywalności pszczół w czasie zimowania w różnych rodzajach uli i różnych pasiekach. Zastosowanie analizy bez powtórzeń możliwe będzie dzięki podaniu samej liczby żyjących rodzin pszczelich w pasiece.

| | Pasieka 1 Duże miasto | Pasieka 2 Małe miasto | Pasieka 3 Łąka | Pasieka 4 Skraj lasu |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------|-------------------------|
| Ule drewnia- ne | | | | |
| Ule polisty- renowe | | | | |

Rys 1. Schemat ilustrujący układ eksperymentalny.

Efekty projektu

Po opracowaniu wyników planujemy ich wykorzystanie.

6. Część poświęconą warunkom mikroklimatycznym gniazd pszczelich pragniemy opublikować w Ecology oraz w Polskim Piśmie Entomologicznym.
7. Część mówiąca o zanieczyszczeniach miodu zamierzamy opublikować w Environmental Pollution.
8. Część poświęconą przydatności różnych typów uli w hodowli opublikujemy w Beekeeping, ewentualnie w Pszczelarzu Polskim.
9. Wyniki zostaną również przedstawione w formie referatów i posterów na Międzynarodowej Konferencji Pszczelarskiej w Puławach oraz na Zjazdach Polskiego Związku Pszczelarskiego.
10. Uzyskane dzięki realizacji projektu informacje będą dla nas podstawą do kolejnych, bardziej szczegółowych i zaawansowanych badań.

Literatura

Do opracowania projektu oraz szczegółowych planów badań konieczne było zapoznanie się z następującą literaturą:

5. Woyke J., Curyło J., Demianowicz A., Guderska J., Kirkor S., Konopacka Z., Wawryn T. 1987. Hodowla pszczół. PWRiL. Warszawa.
6. Ostrowska W. 1985. Gospodarka pasieczna. PWRiL. Warszawa.
7. Janiszewski M. 1973. Ule, sprzęt i budowlę pasieczne. PWRiL. Warszawa.
8. Gliński Z.F., Rzedziecki J. 1983. Choroby pszczół. PWN. Warszawa.
9. Krebs J.R., Davies N.B. 1981. An Introduction to behavioural Ecology. Blackwell Scientific Publications Oxford London

Kosztorys

Do przeprowadzenia badań konieczne będą odpowiednie środki finansowe. Kwoty w PLN.

| Przedmiot | 2007 | 2008 | 2009 | Razem |
|---------------------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| Ule polistyrenowe 20 szt. | 3000 | x | x | 3000 |
| Ule drewniane 20 szt. | 6000 | x | x | 6000 |
| Wyposażenie uli polistyrenowych | 2000 | x | x | 2000 |
| Wyposażenie uli drewnianych | 3000 | x | x | 3000 |
| Narzędzia i sprzęt pasieczny | 2000 | x | x | 2000 |
| Rodziny pszczele | 4000 | x | x | 4000 |
| Cukier | 1000 | 1000 | 1000 | 3000 |
| Suplementy weterynaryjne | 200 | 200 | 200 | 600 |
| Pensja za pracę pszczelarza | 3000 | 3000 | 3000 | 9000 |
| Analizy fizykochemiczne | 1000 | 1000 | 1000 | 3000 |
| Inne (m. biurowe, dojazdy) | 1500 | 1500 | 1500 | 4500 |
| Razem | 26700 | 6700 | 6700 | 40100 |

Harmonogram

Rozpoczęcie realizacji projektu planujemy na wiosnę 2007.

| Rok | Pora roku | Planowane czynności |
|------------|------------------|---|
| 2007 | Wiosna | Założenie pasiek. Zgłoszenie ich obecności w punktach weterynaryjnych. Wynajęcie pracownika. |
| | Lato | I seria miodobrania. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Jesień | Przygotowanie pszczół do zimy i ocena ich kondycji. Przeprowadzenie wymaganej suplementacji weterynaryjnej. |
| | Zima | Zimowanie rodzin pszczelich. Konserwacja wyposażenia pasiek. Opracowanie wyników. |
| 2008 | Wiosna | Przegląd wiosenny pasiek. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Lato | II seria miodobrania. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Jesień | Przygotowanie pszczół do zimy i ocena ich kondycji. Przeprowadzenie wymaganej suplementacji weterynaryjnej. |
| | Zima | Zimowanie rodzin pszczelich. Konserwacja wyposażenia pasiek. Opracowanie wyników. |
| 2009 | Wiosna | Kolejny przegląd wiosenny pasiek. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Lato | III seria miodobrania. Pobór produktów pszczelich do analiz. Ocena kondycji rodzin pszczelich. |
| | Jesień | Przygotowanie pszczół do zimy i ocena ich kondycji. Przeprowadzenie wymaganej suplementacji weterynaryjnej. |
| | Zima | Zimowanie rodzin pszczelich. Konserwacja wyposażenia pasiek. Zakończenie badań. Opracowanie wyników. |

4. „Zależność liczby kleszczy przenoszących pasożyty krwi od warunków pogodowych” – Agnieszka Kloch, Elżbieta Rożej

PIERWSZA WERSJA PROJEKTU

4. Sezonowa zmienność zarażenia pasożytami krwi u kleszczy w zależności od warunków pogodowych

Agnieszka Kloch, Elżbieta Rożej

Streszczenie

Kleszcze są niespecyficznymi ektopasożytami żerującymi na kręgowcach. Pełnią one funkcję wektorów dla pasożytów krwi, przenosząc je między żywicielami. Kleszcze mają złożony cykl rozwojowy, wymagający kilkukrotnej zmiany żywiciela, co sprzyja przenoszeniu pasożytów krwi. Ponadto aktywność kleszczy, jako zwierząt zmiennocieplnych, zależy od warunków pogodowych, co wpływa również na tempo transmisji pasożytów. Zakładamy więc, że w ciągu sezonu zachodzą zmiany liczby zarażonych kleszczy. Celem projektu jest stwierdzenie, jaki wpływ na to mają zmiany warunków pogodowych. Zagadnienie to nie było dotychczas w Polsce badane, prezentowany projekt będzie więc pierwszą tego rodzaju pracą.

Cel badań

Celem naszego projektu jest sprawdzenie, czy istnieje zmienność sezonowa liczby mikropasożytów krwi przenoszonych przez kleszcze. W ciągu życia kleszcze żerują na kilku żywicielach, a więc z im większą liczbą żywicieli mają kontakt, tym większa szansa na spotkanie zarażonego osobnika i transmisję pasożyta do kleszcza. Jednocześnie nie każde żerowanie na zarażonym osobniku kończy się transmisją, ponieważ w przeciwnym wypadku prowadziłyby to do zarażenia całej populacji kleszczy, a taka sytuacja nigdy w przyrodzie nie została stwierdzona.

Cykl rozwojowy kleszczy wymaga co najmniej trzykrotnej zmiany żywiciela, przy czym larwy i nimfy żerują przeważnie na małych ssakach, takich jak gryznie, natomiast postaci dorosłe – na dużych ssakach, w tym ludziach. Kleszcze, które nie znajdują żywiciela w odpowiednim czasie – giną, a niesione przez nie pasożyty nie zostaną przekazane innym żywicielom. Ponadto niektóre pasożyty mogą w ciele matki wnikać do jajników infekując jaja. Dlatego też przypuszczamy, że liczba zarażonych kleszczy podlega sezonowym wahaniom, prawdopodobnie w zależności od dostępności żywicieli i warunków pogodowych, które decydują o aktywności kleszczy. Celem prezentowanego projektu jest ustalenie, czy warunki pogodowe wpływają na sezonowe zmiany w zapasożyceniu kleszczy.

Badając zapasożycenie kleszczy będziemy mogli także oszacować ryzyko zarażenia ludzi przenoszonymi przez nie mikropasożytami krwi. Nasz projekt będzie pierwszymi tego rodzaju badaniami prowadzonymi w Polsce.

Istniejący stan wiedzy

Kleszcze to ektopasożyty żywiące się krwią żywiciela. W Polsce występują 4 gatunki, 3 z rodzaju *Ixodes* i 1 z rodzaju *Dermacentor* (Niewiadomska i inni 2001, Kadłubowski 1972). Mimo tego, że kleszcze są niespecyficzne względem żywiciela, niektóre gatunki wykazują pewne preferencje, na przykład postaci dorosłe *Dermacentor sp.* żerują na jeleniowatych.

Pasożyty przenoszone przez kleszcze (np. *Borrelia* lub *Erlichia*) wywołują poważne schorzenia u ludzi i dużych ssaków, które u osobników młodych lub z upośledzonym układem odpornościowym mogą prowadzić do śmierci. Mimo to niewiele wiadomo na temat zarażenia kleszczy tymi pasożytami (A. Bajer, inf. ustna). Na początku lat dziewięćdziesiątych przeprowadzono monitoring zarażenia

kleszczy *Borrelia* w Polsce, jednak brak jest nowszych danych na ten temat, nie ma również informacji o innych pasożytach krwi, jak na przykład *Erlichia*, *Babesia*, *Bartonella*.

Metodyka

Prace terenowe

Badania będą prowadzone na południu Polski, na 15 powierzchniach zlokalizowanych w lasach odwiedzanych często przez ludzi. Taka liczba badanych powierzchni pozwoli nam na ograniczenie błędu związanego z lokalną specyfiką powierzchni. Liczba powierzchni została dobrana tak, żeby wszystkie z nich mogły być monitorowane przez jedną grupę badawczą.

Kleszcze będą zbierane za pomocą flagowania z modyfikacją opracowaną przez zespół dr Anny Bajer z Zakładu Parazytologii UJ. Flaga (koc) o wymiarach 1 x 1,5 m ciągnięty będzie po trawie i niskich roślinach na wyznaczonym, stałym transekcie. Przyczepione do niego kleszcze zbierane będą do fiolek z etanolem. Metoda ta umożliwi oszacowanie liczebności i zagęszczenia kleszczy. Będziemy oznaczać gatunek i stadium rozwojowe kleszcza (larwa, nimfa, dorosły), co pozwoli na określenie odsetka zarażonych kleszczy w zależności od stadium rozwoju, a więc liczby zaatakowanych przez niego żywicieli.

Obok transektów zostaną ustawione klatki meteorologiczne, w których mierzona będzie temperatura, wilgotność oraz ciśnienie. W czasie odłowów kleszczy określane będzie także zachmurzenie.

Odłowy kleszczy będą odbywać się co dwa tygodnie od kwietnia do października, ponieważ w tych miesiącach kleszcze są aktywne i żerują na żywicielach. Badania będą prowadzone przez dwa sezony, co pozwoli przeprowadzić badania w szerszym spektrum warunków pogodowych.

W projekcie wezmą udział autorki oraz wolontariusze lub magistranci, którzy będą mogli w ten sposób zebrać materiały do pracy.

Oznaczanie mikropasożytów

Obecność i skład gatunkowy mikropasożytów krwi w kleszczach zostanie określona za pomocą PCR. Primery do reakcji zostaną zaprojektowane na podstawie sekwencji nukleotydowych pasożytów krwi z GeneBanku. Oznaczenia zostaną wykonane w Pracowni Molekularnej InoŚ.

Opracowanie wyników

Wyniki analizowane będą z wykorzystaniem pakietu statystycznego SAS. Zostaną wyznaczone trendy liczebności pasożytów w kleszczach. Istotność różnic między liczbą zarażonych kleszczy w poszczególnych połowach zostaną policzone jednokierunkowym testem ANOVA, gdzie poszczególne odłowy kleszczy będą grupami, a odsetek kleszczy zarażonych na danej powierzchni będzie analizowanym pomiarem. W celu określenia, które czynniki pogodowe wpływają na zmiany liczby zarażonych kleszczy użyjemy GLM, gdzie zarażenie wśród kleszczy będzie zmienną niezależną, a warunki pogodowe – zmienną zależną.

Spodziewane wyniki

Spodziewamy się, że kleszcze, jako zwierzęta zmiennocieplne, będą mniej aktywne w niskich temperaturach. Jednocześnie pogoda będzie wpływać na aktywność i liczebność żywicieli kleszczy, a zwłaszcza gryzoni. Przypuszczamy zatem, że w chłodniejszych miesiącach i przy dużym zachmurzeniu będzie mniej transmisji pasożytów, a więc zmiana liczby zarażonych kleszczy będzie mniejsza niż w miesiącach słonecznych.

Spodziewane efekty

Publikacja na temat sezonowych zmian liczebności zarażonych kleszczy: *Parasitology Review*

Publikacja na temat zagrożenia stwarzanego przez kleszcze dla ludzi: *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*

Prezentacja wyników na X Międzynarodowym Kongresie Parazytologicznym

Bibliografia

Kadłubowski R. (red.) 1972. Zarys parazytologii lekarskiej. PWZL, Warszawa
 Niewiadomska K., Pojmańska T., Pachnicka B., Czubaj A. 2001. Zarys parazytologii ogólnej. PWN, Warszawa

Harmonogram badań

Planowana data rozpoczęcia projektu: marzec 2007

Plan badań:

marzec 2007: zakup materiałów do prac terenowych, wyznaczenie powierzchni, ustawienie klutek meteorologicznych

kwiecień 2007-październik 2007: praca w terenie

listopad 2007-marzec 2008: prace laboratoryjne - analizy molekularne, wstępne opracowanie wyników

kwiecień 2008-październik 2008: praca w terenie

listopad 2008-marzec 2009: prace laboratoryjne - analizy molekularne, opracowanie wyników i przygotowanie prac do druku

Kosztorys

Kosztorys łącznie dla 2 lat badań. Badania terenowe skalkulowano dla 1 dwuosobowego zespołu.

| Wydatki | wyszczególnienie | suma (PLN) |
|-----------------------|--|---------------|
| Badania terenowe | | |
| budki meteorologiczne | 15 szt | 15 000 |
| noclegi | 420 dni x 2 osoby x 20zł | 16 800 |
| transport | 420 dni x 50 km x 0,55 zł | 11 550 |
| Badania laboratoryjne | | |
| analiza PCR | 1000 x 10 PLN/próbka | 10 000 |
| Prezentacja wyników | | |
| druk posteru | | 200 |
| wyjazd na konferencję | przejazd, nocleg, opłata konferencyjna | 4 000 |
| Koszty pośrednie | | 1 000 |
| Razem | | 58 550 |

RECENZJE

Adam Łomnicki

Recenzja projektu badawczego Agnieszki Kloch i Elżbiety Rożej pt. „Sezonowa zmienność zarażenia pasożytami krwi u kleszczy w zależności od warunków pogodowych”

Str. 1: Powoływanie się na to, że podobne badania warto przeprowadzić, bo w Polsce takich jeszcze nie było (dwa razy) brzmi prowincjonalnie. Siedliska kleszczy podobne do polskich są także w innych krajach i jeśli tam przeprowadzono takie badania, to może nie są one tak bardzo potrzebne. A w ogóle trzeba mieć na uwadze, że nauka jest międzynarodowa i jeśli tak jak proponują autorki chcemy publikować w dobrych pismach to, dlatego że nigdzie na świecie w takich siedliskach jak są u nas podobnych badań nie robiono.

Zdanie od słów „Jednocześnie nie każde żerowanie.....” jest nieprzekonywujące. Nawet jeśli każde żerowanie na zakażonym osobniku kończy się transmisją, to nie wszystkie kleszcze muszą być zakażone bo niektóre mogą żerować na nie zakażonych gospodarzach. W zdaniu zaczynającym się od słów „Kleszcze, które nie znajdują żywiciela...” mieszają się dwa czasy: przeszły i przyszły. Nieco dalej mowa o infektowaniu jaj a następne zdanie zaczynające się od „Dlatego też...” mówi o sprawach nie mających związku z zakażeniem jaj, czyli o tym co czytelnik w tym miejscu oczekuje. Taki nielogiczny sposób pisania zniechęca do finansowania projektu. Jeśli z różnych względów nic nie możemy napisać o wynikach monitoringu we wczesnych latach 90-tych, to może lepiej o tym wcale nie wspominać.

Str. 2: Jak autorki za pomocą flagi potrafią oszacować osobno liczebność, a osobno zagęszczenie kleszczy i co pod tymi dwoma terminami rozumieją? Bo moim zdaniem taka metoda pozwala oszacować jedynie relatywne zagęszczenie kleszczy różnych gatunków i nic poza tym.

Autorki powinny na tyle orientować się w sytuacjach panujących w Polsce, aby wiedzieć, że pozostawienie klatki meteorologicznej w lesie bez opieki prowadzi do jej kradzieży lub, co najmniej zniszczenia. Jeśli będzie tam aparatura automatycznie zapisująca dane z dnia na dzień, to będzie ona bardzo droga i na pewno padnie łupem złodziei, a inna wymaga codziennej obsługi, czyli etatu dla 15 obserwatorów. To bez sensu tym bardziej, że stała obserwacja nie jest konieczna a zmienność warunków w czasie może być ustalona z danych Instytutu Meteorologii. W badaniach wystarczy jedynie określić warunki w czasie ich przeprowadzania.

Opis opracowania wyników jest bardzo nieprofesjonalny. Co to znaczy „zostaną wyznaczone trendy liczebności pasożytów w kleszczach”? To brzmi bardzo naukowo, ale nic nie znaczy. Jak autorki chcą robić jednokierunkowy test ANOVA jeśli będą miały do czynienia z 15 stanowiskami, kilkoma gatunkami kleszczy i kilkoma gatunkami pasożytów. A nawet gdyby prostą ANOVA robić osobno dla każdej kombinacji gatunku kleszcza i gatunku pasożyta, to dane z poszczególnych tygodni nie są niezależne i należy tu stosować analizę ciągów czasowych lub analizę wariancji z pomiarami powtarzanymi (*repeated measure ANOVA*)

Autorki używają bardzo nieprecyzyjnego języka. Co to znaczy „zarażenia wśród kleszczy”, proporcja osobników zarażonych jednym z gatunków pasożyta, liczba pasożytów czy liczba ich gatunków w jednym kleszczu? Zmiana liczby zarażonych kleszczy to tak wzrost jak i spadek tej liczby. Dlatego nie wiem, dlaczego taka zmiana będzie mniejsza w miesiącach słonecznych. I czy na pewno chodzi o zmianę liczby, czy o zmianę proporcji?

W kosztorysie przypominają się te nieszczęsne klatki, dla których brak etatów dla 15 obserwatorów.

Adam Łomnicki

Piotr Nowicki

Recenzja projektu „Sezonowa zmienność zarażenia pasożytami krwi u kleszczy w zależności od warunków pogodowych”

Cel projektu i sposób jego realizacji przedstawiony został w przejrzysty sposób. Jedynym poważniejszym mankamentem w formie wniosku jest jak dla mnie nieco zagmatwane stosowanie

terminów „pasożyt” i „żywiciel” w układzie: kręgowiec (żywiciel kleszczy i mikropasożytów krwi) + kleszcz (pasożyt kręgowców i jednocześnie wektor/żywiciel mikropasożytów) + mikropasożyty krwi. Przykładami mogą być tu zdania: „Kleszcze, które nie znajdą żywiciela w odpowiednim czasie – giną, a niesione przez nie pasożyty nie zostaną przekazane innym żywicielom.” oraz kolejne „Ponadto niektóre pasożyty mogą w ciele matki wnikać do jajników infekując jaja.” (można żartem zapytać o czyją matkę chodzi – pasożyta czy też żywiciela?). Zalecałbym ściśle zdefiniowanie terminów w początkowym fragmencie wniosku i bezwzględne trzymanie się ich tekście, aby umożliwić zrozumienie jego treści bez dodatkowego wysiłku. Harmonogram badań nie budzi zarzutu, natomiast w kosztorysie należałoby by poprawić wysokość kosztów pośrednich, które standardowo powinny stanowić 25% kosztów bezpośrednich pomniejszonych o koszty zakupu aparatury (tj. w danym przypadku wszystkich wymienionych wcześniej).

Jeśli chodzi o proponowaną metodykę moją poważną wątpliwość budzi metoda szacowania liczebności kleszczy. Jeśli, co podkreślają autorzy, warunki pogodowe wpływają na aktywność kleszczy, to należy przypuszczać, że będą one również wpływać na ich „przyczepialność” do flagi (zdefiniowaną jako % kleszczy przyczepiających się do flagi w stosunku do wszystkich obecnych na danym obszarze; zakładam iż jest one niższa niż 100%). Oznacza to, że metoda nie pozwoli nie tylko na bezwzględne oszacowanie liczebności kleszczy, ale nawet na względne określenie ich liczności w siedlisku.

Nie widzę potrzeby stosowania analizy ANOVA dla stwierdzania różnic pomiędzy udziałem zapasożyconych kleszczy w poszczególnych odłowach. Stwierdzenie istotności tych różnic nie dostarczy bowiem żadnych ważnych informacji dopóki nie powiąże się ich z różnicami pogodowymi, innymi słowy wystarczy samo zastosowanie GLM.

Największą wadą proponowanego projektu jest, w moim odczuciu, wysoka specyficzność poruszanego problemu i stąd jego niewielkie znaczenie dla rozwoju nauki.

Obawiam się, że projekt ten nie nadaje się do finansowania przez Ministerstwo Nauk i Informatyzacji, mógłby natomiast być spodobać się np. Ministerstwu Zdrowia bądź Ministerstwu Rolnictwa pod warunkiem położenia nacisku na szacowanie ryzyka zarażenia ludzi przez mikropasożyty. To jednak wymaga znacznego rozszerzenia proponowanych badań. Można bowiem przyjąć, że ryzyko to stanowi iloczyn (1) prawdopodobieństwa „złapania” kleszcza przez człowieka (które z kolei stanowi funkcję między innymi zagęszczenia kleszczy w siedlisku i ich aktywności), (2) prawdopodobieństwa, że kleszcz jest zapasożycony (tj. proporcji zapasożyconych kleszczy), oraz (3) prawdopodobieństwa transmisji pasożyta, natomiast w obecnej formie projekt dotyczy jedynie drugiego z wymienionych zagadnień.

Łukasz Binkowski

Recenzja projektu badawczego: „Sezonowa zmienność zarażenia pasożytami krwi u kleszczy w zależności od warunków pogodowych”.

Pomysł na projekt jest bardzo interesujący. Nie jestem jednak do końca przekonany co do bezpośredniego wpływu pogody na aktywność kleszczy. Oprócz czynnika pogodowego na taką aktywność będzie miało jeszcze wpływ wiele czynników, jak choćby wspomniana w projekcie aktywność gryzoni. To natomiast wykracza poza ramy tego projektu bo swym zasięgiem obejmuje już spory fragment ekosystemu. Proponowałby więc zmianę tematu na taki, który określany jest w projekcie jako jego cel, czyli sprawdzenie czy istnieje zmienność mikropasożytów krwi przenoszonych przez kleszcze.

Kolejną moją uwagę jest to, że temat projektu nie jest jednoznaczny z jego celem, ponieważ w temacie ujęta jest zależność od warunków pogodowych a w celu nie.

Nie znalazłem w projekcie sformułowanej hipotezy. Jasno postawiona hipoteza jest warunkiem koniecznym do formułowania przewidywań a co za tym idzie poprawnego zaplanowania badań.

Badaczki oparły się na informacji słownej w części projektu o istniejącym stanie wiedzy. Nie podważam oczywiście prawdy tej informacji, ale uważam, że przy opracowywaniu takiego projektu powinno się podać publikowaną literaturę, która stanowi potwierdzone źródło wiedzy.

Zamierza się wykorzystanie klatek meteorologicznych. Rozumiem, że mają one służyć do ciągłego badania warunków pogodowych. Wydaje mi się, że wystarczyłyby pomiary prowadzone raz dziennie przenośnym sprzętem, co zdecydowanie obniżyłoby koszty projektu. I tak raz dziennie musi zostać przeprowadzony odczyt z każdej stacji, więc pracownik bądź badacz będzie musiał się przy niej zjawić. Można by oczywiście zastosować aparaturę elektroniczną ale koszt takiego sprzętu podejrzewam kilkakrotnie przewyższy koszt klatek ujętych w kosztorysie. W kosztorysie ponadto klatka określona jest mianem budki, co nie jest fachowym określeniem tego sprzętu.

Dział finansowy jest dobrze opracowany. Poświęcono dużo uwagi szczegółom co pomaga zrozumieć plan badań. Harmonogram, wzorem kosztorysu powinien być dokładniejszy.

Nie rozumiem dlaczego streszczenie napisane jest mniejszą czcionką.

Projekt wymaga jeszcze gruntownego przemyślenia i wprowadzenia poprawek. Myślę jednak, że problem przez niego poruszany jest na tyle ciekawy, że po wymaganych korektach i wspomnianej, koniecznej zmianie tematu powinien zostać jeszcze raz przyjęty do recenzji. Mimo tego, że proponowany przez mnie temat wydaje się interesujący to podejrzewam, że badania takie były już prowadzone w Polsce, a na pewno na świecie. Ważny więc byłby odpowiedni wybór miejsca, jeśli w ogóle widzi się sens przeprowadzania porównawczych badań.

Dominika Chmolewska

Recenzja projektu p.t.: „Sezonowa zmienność zarażenia pasożytami krwi u kleszczy w zależności od warunków pogodowych”.

Przedstawiony projekt badawczy jest interesujący i odnosi się do zagadnienia, które jest ważne nie tylko ze względów stricte naukowych lecz również dlatego, że otrzymane dane mogą mieć odniesienie praktyczne. Otrzymane wyniki mogą być wykorzystane do badań prawdopodobieństwa zachorowań ludzi na tak groźne choroby takie jak borelioza czy kleszczowe zapalenie opon mózgowych. Badania, które mają praktyczne zastosowanie w medycynie i ochronie zdrowia ludzi zasługują na szczególną uwagę.

Przedstawiona metodyka badań jest rzeczowa, podoba mi się jasny harmonogram badań. Równocześnie pewne elementy budzą moje wątpliwości. Zbiór kleszczy wykonywany jest co dwa tygodnie, liczba zainfekowanych osobników odnoszona jest do warunków pogodowych oznaczonych – domyślam się, gdyż nie zostało to określone w pracy - tego samego dnia co wykonane jest flagowanie. W dwutygodniowym cyklu pomiarów temperatura, wilgotność, ciśnienie może ulec zmianom, stąd wydaje mi się, że temperatura tak jak pozostałe czynniki pogodowe powinny być mierzone w sposób ciągły lub w znacznie mniejszych interwałach.

Zakładana jest ocena liczebności i zagęszczenia populacji czterech gatunków kleszczy. W systemie tak częstego i wielomiesięcznego flagowania jednego transektu można się zastanawiać nad prawdziwością wyżej wymienionej oceny, jeśli zakłada ona odnoszenie się do rzeczywistej liczby osobników w środowisku naturalnym. W przypadku faktycznego długofalowego wpływu na liczebność kleszczy na obszarze transektu może to oddziaływać na stopień transmisji pasożytów (dostępność wektora). Możliwe są również różnice odnośnie gatunku oraz cyklu rozwojowego kleszczy. Domyślam się, że autorzy projektu założyli, że powierzchnia obszaru badawczego jest na tyle mała, a migracja kolejnych osobników z terenu przyległego na tyle duża i stała, że rozważane przeze mnie czynniki można pominąć.

W tytule użyte jest sformułowanie „sezonowa zmienność”, w ostatnim akapicie znajduje się fraza: „przez dwa sezony” co odnosi się badania zaprojektowanego na wykonanie w porze wiosennej, letniej i jesiennej roku w dwóch następujących po sobie latach. Wprowadza to pewne zamieszanie.

Na zakończenie chciałam dodać, że z reguły liczby poniżej 10 w tekście zapisywane są słownie. Spoglądając na całość uważam, że projekt zasługuje na realizację.

Dominika Kustosz

Projekt badawczy A.Kloch i E.Rozej dotyczy zbadania sezonowej zmienności zarażenia pasożytami u kleszczy w zależności od warunków pogodowych. Już sam tytuł budzi pewne moje wątpliwości: skoro na samym początku tematu mowa jest o sezonowości to po co jeszcze na końcu

pisać o warunkach pogodowych? Przecież, sezonowość jednoznacznie wiąże się ze zmianami warunków pogodowych.

Brak w projekcie wyraźnie postawionej hipotezy.

W zdaniu 'Ponadto niektóre pasożyty mogą w ciele matki wnikać do jajników infekując jaja' chyba powinno się jasno powiedzieć, że chodzi o zarażenie kleszczy, bo czytająca je osoba niezwiązana z projektem mieć wątpliwości, o które osobniki chodzi.

Projekt przewiduje przeprowadzenie badań na 15 powierzchniach, a na każdej z nich będzie inna ekipa badawcza. Myślę, że to stanowczo za dużo ludzi jak na jedne badania terenowe (może wystarczy tylko 10 prób). Moje wątpliwości budzi też stwierdzenie, że badania będą prowadzone w lasach a następnie podanie jako metody zbierania kleszczy flagowanie traw. W takim razie badania będą prowadzone na polanach lub na łąkach na skraju lasu (no chyba, że ktoś chce flagować ściółkę leśną).

Rozumie, że temperatura może mieć znaczenie w przeżywalności kleszczy (i że zapasożycenie może mieć tutaj wpływ na ich odporność). Po co jednak mierzyć wilgotność i ciśnienie? Jaki to może mieć wpływ na zapasożycenie kleszczy? Nie bardzo wiem też po co spisywane będzie zachmurzenie.

'Będziemy oznaczać gatunek i stadium rozwojowe kleszcza (larwa, nimfa, dorosły), co pozwoli na określenie odsetka zarażonych kleszczy w zależności od stadium rozwoju, a więc liczby zaatakowanych przez niego żywicieli' - w jaki sposób stadium rozwojowe zakażonych kleszczy wpływa na liczbę zaatakowanych przez niego żywicieli? W ten sposób możemy się chyba raczej dowiedzieć jacy to będą żywiciele zważywszy na specyfikę pokarmową kleszczy. Jeśli natomiast autorkom chodziło o zbadanie samych kleszczy to powinny być konsekwentne i nazywać je wektorami a nie żywicielami gdyż jest to bardzo mylące.

W kosztach przewidziane są noclegi tylko dla dwóch osób. Co w takim razie z pozostałymi osobami, które będą brały udział w projekcie?

Temat projektu jest niezwykle ciekawy i ostatnimi czasy bardzo modny. Mimo mych uwag myślę, że należałoby takie badania przeprowadzić jednak na pewno bo dużo głębszych przemyśleniach.

Marta Wantuch

Recenzja projektu „Sezonowa zmienność zarażania pasożytami krwi u kleszczy w zależności od warunków pogodowych”

Projekt dotyczy ważnego problemu jakim jest przenoszenie przez kleszcze pasożytów krwi kręgowców w tym także człowieka.

W opracowanym projekcie brakuje mi precyzyjnego opisu biologii występujących w Polsce gatunków kleszczy. Autorki piszą tylko, że pasożyty te mogą wykazywać „pewną” specyficzność względem żywiciela. Istnienie takiej specyficzności wymaga, jak sądzę, przeprowadzenia osobnych eksperymentów dla każdego gatunku. W przeciwnym razie trudno będzie na podstawie badań oszacować rzeczywiste prawdopodobieństwo zarażenia ludzi przenoszonymi przez kleszcze mikropasożytami. Oprócz tego, przypuszczam iż dokładniejszych danych na temat aktywności kleszczy mogłoby dostarczyć umieszczenie urządzeń pomiarowych na poziomie roślinności, w której przebywają interesujące nas organizmy.

Moje kolejne zastrzeżenie dotyczy określania trendów liczebności pasożytów w kleszczach. Nie rozumiem na jakiej podstawie autorki mają zamiar tego dokonać?

Z drobnych uwag, w metodach umieściłabym dokładną długość transektów, na których będą odławiane kleszcze. Autorki powinny się też zastanowić nad jakimś sposobem ochrony klatek meteorologicznych przed kradzieżą.

Uważam, że po wprowadzeniu kilku zmian realizacja powyższego projektu mogłaby dostarczyć interesujących danych.

OSTATECZNA WERSJA PROJEKTU

Zależność liczby kleszczy przenoszących pasożyty krwi od warunków pogodowych

Agnieszka Kloch, Elżbieta Rozej

Streszczenie

Celem projektu jest sprawdzenie, czy istnieje zmienność liczby kleszczy przenoszących mikropasożyty krwi w zależności od warunków pogodowych. Pasożyty krwi będą oznaczane metodą PCR w kleszczach. Kleszcze będą zbierane przez dwa lata, od kwietnia do października, na 15 powierzchniach metodą flagowania. Zakładamy, że liczba pasożytów zależy od tempa ich transmisji, na którą wpływa dostępność żywicieli i aktywność wektorów. Spodziewamy się, że w przypadku niskich temperatur i dużej wilgotności kleszcze będą mniej aktywne, a więc będą przenosić mniej pasożytów krwi, niż w przypadku temperatur wysokich i niskiej wilgotności. Badania poszerzą wiedzę na temat układu pasożyt-vektor.

Cel badań

Mikropasożyty krwi to pierwotniaki i bakterie wywołujące choroby u ssaków, przenoszone między żywicielami przez wektory – kleszcze. Celem naszego projektu jest sprawdzenie, czy liczba kleszczy przenoszących mikropasożyty krwi zależy od warunków pogodowych. Opieramy się na założeniu, że odsetek mikropasożytów krwi obecnych w kleszczach (wektorach) zależy od tempa ich transmisji, na którą wpływają dwa czynniki: dostępność żywicieli i aktywność wektorów. Naszą hipotezą jest, że w przypadku niskich temperatur i dużej wilgotności kleszcze będą mniej aktywne, a więc będą przenosić mniej mikropasożytów krwi, niż w przypadku temperatur wysokich i niskiej wilgotności.

W ciągu życia kleszcze żerują na kilku żywicielach, a więc z im większą liczbą żywicieli mają kontakt, tym większa szansa na spotkanie zarażonego osobnika i transmisję mikropasożyta do kleszcza. Kleszcze, które nie znalazły żywiciela w odpowiednim czasie – giną, a niesione przez nie mikropasożyty nie zostaną przekazane innym żywicielom. Nasz projekt ma za zadanie wyjaśnić, jaki wpływ na aktywność wektorów i liczbę przenoszonych przez nie patogenów mają warunki pogodowe. Badania te dostarczą nowych informacji na temat czynników kształtujących zmienność w występowaniu tych pasożytów oraz poszerzą wiedzę na temat zmian w czasie zachodzących w układzie pasożyt-vektor. Ponadto badając obecność mikropasożytów krwi u kleszczy będziemy mogli oszacować ryzyko transmisji tych pasożytów do ludzi na badanych terenach, a także wyciągnąć wnioski dotyczące ryzyka transmisji w innych siedliskach o podobnym charakterze.

Istniejący stan wiedzy

Kleszcze są wektorami przenoszącymi mikropasożyty krwi między swoimi żywicielami, którymi są stałocieplne kręgowce (Niewiadomska i inni 2001). Cykl rozwojowy kleszczy wymaga co najmniej trzykrotnej zmiany żywiciela, przy czym larwy i nimfy żerują przeważnie na małych ssakach, takich jak gryzonie, natomiast postaci dorosłe – na dużych ssakach, w tym ludziach. Kleszcze wspinają się na niskie rośliny, głównie trawy, i tam oczekują na żywiciela. Jeśli w pobliżu wyczują stałocieplne zwierzę, zeskakują z rośliny w jego kierunku (McFarland 1987). Większość takich prób kończy się niepowodzeniem, a kleszcz musi ponownie wspinać się na roślinę.

W Polsce występują 4 gatunki kleszczy, 3 z rodzaju *Ixodes* i 1 z rodzaju *Dermacentor* (Kadłubowski 1972). Kleszcze są niespecyficzne względem żywiciela, chociaż niektóre gatunki wykazują pewne preferencje, na przykład postaci dorosłe *Dermacentor sp.* żerują na jeleniowatych.

Mikropasożyty przenoszone przez kleszcze (np. *Borelia*, *Erlchia*, *Babesia*, *Bartonella*) wywołują poważne schorzenia u ludzi i dużych ssaków, które u osobników młodych lub z upośledzonym układem odpornościowym mogą prowadzić do śmierci. Mimo to niewiele wiadomo na temat

zarażenia kleszczy tymi pasożytami (A. Bajer, inf. ustna). Na początku lat dziewięćdziesiątych przeprowadzono monitoring zarażenia kleszczy *Borrelia* w Polsce, jednak brak jest nowszych danych na ten temat.

Metodyka

Prace terenowe

Badania będą prowadzone na południu Polski, na 15 powierzchniach w terenach zalesionych. Taka liczba badanych powierzchni pozwoli nam na ograniczenie błędu związanego z lokalną specyfiką powierzchni, a jednocześnie będzie mogła być monitorowana przez jedną grupę badawczą.

Kleszcze będą zbierane za pomocą flagowania z modyfikacją opracowaną przez zespół dr Anny Bajer z Zakładu Parazytologii UJ. Flaga (koc) o wymiarach 1 x 1,5 m ciągnięty będzie po trawie i niskich roślinach na wyznaczonym, stałym transekcie o długości 200m. Obecne na transekcie kleszcze są zgarniane przez flagę. Zarówno wolne tempo poruszania się kleszczy, jak i włoski na kocu (fladze) umożliwiają zebranie wszystkich złowionych osobników.

Przyczepione do flagi kleszcze zbierane będą do fiolek z etanolem. Metoda ta umożliwia oszacowanie względnej liczebności kleszczy. Będziemy oznaczać gatunek i stadium rozwojowe kleszcza (larwa, nimfa, dorosły), co pozwoli na określenie odsetka zarażonych kleszczy w zależności od stadium jego rozwoju. Zakładamy, że flagowanie nie wpływa na liczebność kleszczy podczas następnego pomiaru.

Odłowy kleszczy będą odbywać się co miesiąc od kwietnia do października, ponieważ w tych miesiącach kleszcze są aktywne i żerują na żywicielach. Badania będą prowadzone przez dwa lata, co pozwoli przeprowadzić badania w szerszym spektrum warunków pogodowych.

Badane powierzchnie będą zlokalizowane w promieniu do 5 km od lokalnych stacji meteorologicznych, z których zostaną uzyskane dane na temat warunków pogodowych. Do analizy zostaną wykorzystane dane na temat temperatury, wilgotności, ciśnienia i zachmurzenia z dziesięciodniowego okresu poprzedzającego flagowanie.

W projekcie wezmą udział autorki oraz wolontariusze lub magistranci, którzy będą mogli w ten sposób zebrać materiały do pracy.

Oznaczanie mikropasożytów

Obecność i skład gatunkowy mikropasożytów krwi w kleszczach zostanie określona za pomocą PCR. Primery do reakcji zostaną zaprojektowane na podstawie sekwencji nukleotydowych pasożytów krwi z GeneBanku. Oznaczenia zostaną wykonane w Pracowni Molekularnej InoŚ.

Opracowanie wyników

Wyniki analizowane będą z wykorzystaniem pakietu statystycznego SAS. W celu określenia, które czynniki pogodowe wpływają na zmianę liczby pasożytów krwi użyjemy GLM. Modele zostaną obliczone oddzielnie dla każdego gatunku kleszcza. Zmienną zależną będzie odsetek mikropasożytów w odłowionych kleszczach, natomiast zmienną niezależną – warunki pogodowe (średnia z dziesięciu dni poprzedzających odłów).

Spodziewane wyniki

Spodziewamy się, że kleszcze, jako zwierzęta zmiennocieplne, będą mniej aktywne w niskich temperaturach. Przypuszczamy, że w chłodniejszych miesiącach i przy dużym zachmurzeniu tempo transmisji pasożytów będzie mniejsze, a więc będziemy obserwować mniejszy odsetek wektorów zawierających te pasożyty.

Spodziewane efekty

Publikacja na temat sezonowych zmian liczebności zarażonych kleszczy: *Parasitology Review*

Publikacja na temat zagrożenia stwarzanego przez kleszcze dla ludzi: *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*

Prezentacja wyników na X Międzynarodowym Kongresie Parazytologicznym

Bibliografia

- Kadłubowski R. (red.) 1972. Zarys parazytologii lekarskiej. PWZL, Warszawa
 McFarland D. (red) 1987. The Oxford companion to animal behaviour. Oxford University Press, Oxford – New York.
 Niewiadomska K., Pojmańska T., Pachnicka B., Czubaj A. 2001. Zarys parazytologii ogólnej. PWN, Warszawa

Harmonogram badań

Planowana data rozpoczęcia projektu: marzec 2007.

Plan badań:

marzec 2007: zakup materiałów do prac terenowych, wyznaczenie powierzchni
 kwiecień 2007-październik 2007: praca w terenie (Raz w miesiącu odwiedzona zostanie każda powierzchnia. Rano i wieczorem zostanie wykonane flagowanie)
 listopad 2007-marzec 2008: prace laboratoryjne - analizy molekularne, zakup danych meteorologicznych, wstępne opracowanie wyników
 kwiecień 2008-październik 2008: praca w terenie
 listopad 2008-marzec 2009: prace laboratoryjne - analizy molekularne, opracowanie wyników i przygotowanie prac do druku.

Kosztorys

Kosztorys łącznie dla 2 lat badań. Badania terenowe skalkulowano dla 1 dwuosobowego zespołu.

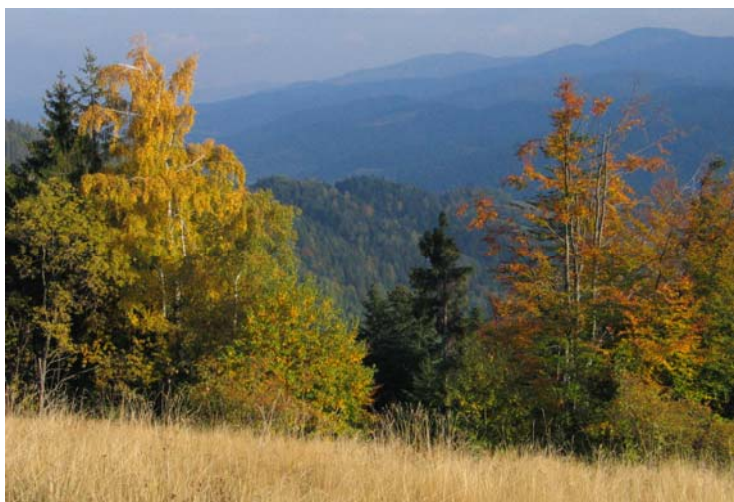
| Wydatki | Wyszczególnienie | suma (PLN) |
|--------------------------------|--|---------------|
| Badania terenowe | | |
| Noclegi | 210 dni x 2 osoby x 30zł | 12 600 |
| Transport | 210 dni x 50 km x 0,55 zł | 5 775 |
| Badania laboratoryjne | | |
| analiza PCR | 2000 x 10 PLN/próbka | 20 000 |
| Zakup danych meteorologicznych | | 5 000 |
| Prezentacja wyników | | |
| druk posteru | | 200 |
| wyjazd na konferencję | przejazd, nocleg, opłata konferencyjna | 4 000 |
| Koszty pośrednie | | 3 000 |
| Razem | | 50 575 |

GALERIA

Ośmioro śmiazków:



przybyło w piękną i niedostępną okolicę:



aby w trudnych warunkach :)



pod czujnym okiem prowadzących:



w dwuosobowych zespołach:

Dominiki



Marta i Darek



Monika i Łukasz



Agnieszka i Ela



doskonałiç swoje naukowe umiejętnoŝci :)

