

**Uniwersytet Jagielloński
w Krakowie
Instytut Nauk o Środowisku**

**Warsztaty z Biologii Ewolucyjnej
dla doktorantów**



**Ochotnica Górna
15- 21 kwiecień 2009**

SPIS TREŚCI

I. Organizatorzy, recenzenci i uczestnicy.....	4
II. Kiksy.....	5
III. Grupy badawcze.....	6
IV. Tematy zaproponowane przez uczestników.....	8
V. Projekty i recenzje.....	10
1. Związek pomiędzy poziomem testosteronu a częstością kopulacji i sukcesem reprodukcyjnym samic zeberek (<i>Taeniopygia guttata</i>)	10
Aneta Arct, Magdalena Mikowska, Rafał Simon	
a) Pierwsza wersja projektu	
b) Recenzje	
c) Ostateczna wersja projektu	
2. Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej (<i>Triturus cristatus</i>, Laurenti 1768)	30
Katarzyna Ciura, Joanna Kajzer, Marcin Nielubowicz	
a) Pierwsza wersja projektu	
b) Recenzje	
c) Ostateczna wersja projektu	
3. Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (<i>Myodes glareolus</i>)?	52
Emilia Grzędzicka, Joanna Hajduk, Filip Kapustka	
a) Pierwsza wersja projektu	
b) Recenzje	
c) Ostateczna wersja projektu	
4. Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (<i>Philomachus pugnax</i>)?.....	69
Katarzyna Chrzęścik, Szymon Drobniak, Małgorzata Pokrywka	
a) Pierwsza wersja projektu	
b) Recenzje	
c) Ostateczna wersja projektu	
VI. Galeria.....	92

Organizatorzy:

Prof. dr hab. Mariusz Cichoń, Zespół Ekologii Populacyjnej INoŚ UJ

Dr Joanna Rutkowska, Zespół Ekologii Populacyjnej INoŚ UJ

Recenzenci:

Dr Paweł Brzęk, Department of Forest and Wildlife Ecology, University of Wisconsin, USA

Dr Natalia Pitala, Department of Biological and Environmental Sciences, University of Jyväskylä, Finland

Uczestnicy:

Aneta Arct, Zespół Ekologii Populacyjnej INoŚ UJ

Katarzyna Chrzęścik, Zespół Fizjologii Ewolucyjnej INoŚ UJ

Katarzyna Ciura, Zakład Cytologii i Histologii IZ UJ

Szymon Drobniak, Zespół Ekologii Populacyjnej INoŚ UJ

Emilia Grzędzicka, Zespół Ekologii Populacyjnej INoŚ UJ

Joanna Hajduk, Zespół Monitoringu Środowiska INoŚ UJ

Joanna Kajzer, Zespół Ekologii Behawioralnej INoŚ UJ

Filip Kapustka, Zespół Ewolucji Strategii Życiowych INoŚ UJ

Magdalena Mikowska, Zespół Ekotoksykologii i Ekologii Stresu INoŚ UJ

Marcin Nielubowicz, Zespół Ewolucji Strategii Życiowych INoŚ UJ

Małgorzata Pokrywka, Zakład Biochemii Glikokoniugatów IZ UJ

Rafał Simon, Zakład Entomologii ze Stacją Górską w Ochotnicy Górnej IZ UJ

Fotografie: Joanna Rutkowska, Joanna Hajduk, Szymon Drobniak, Katarzyna Chrzęścik

Kiksy

- W przyszłości będę specjalistką od kojarzeń pozapartnerskich (AA)
- To w co idziemy? (KCh)
Idziemy w fotoperiod. Idziemy w fotoperiod bez pamięci. (SzD)
- Dlaczego 2 samce? Czy jeden partner samicy nie wystarczy? (KCh)
- -Czy jest tu jakiś mężczyzna? (MP)
-O, jest! (MP)
-Mam pytanie Jak się łączy dwa dyski zewnętrzne i zapisuje się jednocześnie na obu to jak to się nazywa? (MP)
-Macierz ... (FK)
-Właśnie! (MP)
-Rzeczywiście męskie pytanie. (JR)
- Tamte nie mają mózgu, bo mają ornamenty. (SzD)
- Tu chodzi o Wasz sukces rozrodczy. (AA do KCh i SzD)
- Nikt więcej nie ma pytań do nornic? (JH)
- Dlaczego recenzent teoretyczny miałby być ograniczony? (FK)
- Wycofujemy się z aborcji. (JH)
- My robimy pierwsze płody (JH)
- Przyznanie się, że recenzent się nie zna to jak strzał w kolano. (FK)

Prowadzący:



Dr Joanna Rutkowska



Prof. dr hab. Mariusz Cichoń

Grupy badawcze:



Magdalena Mikowska, Aneta Arct, Rafał Simon



Katarzyna Ciura, Joanna Kajzer, Marcin Nielubowicz



Emilia Grzędzicka, Joanna Hajduk, Filip Kapustka



Katarzyna Chrzęścik, Szymon Drobniak, Małgorzata Pokrywka

Tematy zaproponowane przez uczestników:

1. Wpływ naturalnych regulacji potoków na zgrupowanie makrofauny.(JH)
2. Wpływ stresu ekotoksykologicznego na opiekę nad potomstwem u nornicy rudej.(JH)
3. Czy hybrydyzacja zagraża odrębności rzadkich gatunków ptaków w Polsce.(JH)
4. skażenie pokarmu a preferencje pokarmowe u nornic. (MM)
5. Wpływ natężenia ruchu drogowego i szerokości szlaków komunikacyjnych na mobilność nornicy rudej. (MM)
6. Czy bioróżnorodność wysp wpływa na zmienność genetyczną (MM)
7. Czy barwa głosu wpływa na sukces rozrodczy mężczyzny. (AA)
8. Czy istnieje związek między poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń pozapartnerskich.(AA)
9. Doświadczenie samicy a preferencja samców u nornicy rudej.(AA).
10. Znaczenie zachowania naturalnych zbiorowisk roślinności brzegowej jako korytarzy ekologicznych. (KCh)
11. Wpływ obecności gryzoni i poziomu (ich) drapieżnictwa gniazdowego na strategię gniazdowania małych ptaków. (KCh)
12. Wielkość miotu a aktywność i zachowania eksploracyjne.(KCh)
13. Wpływ metali ciężkich na programowaną śmierć komórek odporności.(KC)
14. Plastyczność doboru żywicieli pośrednich przez pasożyty. (KC)
15. Zdolność regeneracyjne larw płazów w różnych warunkach środowiskowych. (KC)
16. Przeżywalność grzyba pasożytniczego płazów w chłodniejszych warunkach klimatycznych. (JK)
17. Wpływ torów kolejowych na różnorodność zapylaczy.(JK)
18. Adaptatywność trzmieli w strategiach poszukiwania pokarmu pochodzących z różnych krajobrazów. (JK)
19. Czy fotoperiod wpływa na zdolność uczenia się i rozwój mózgu u zeberek. (SzD)
20. Jak rośliny mięsożerne wpływają na strukturę troficzną ekosystemu.(SzD)
21. Nokaut genów odpowiedzialnych za taniec pszczół a efektywność zbierania pokarmu. (SzD)
22. Czy żółw czerwony zagraża populacji żółwia błotnego.(MN)
23. Wpływ eutrofizacji wód na dobowe wędrówki rozwielitki.(MN)
24. Wpływ Babki byczej na zawartość metali ciężkich u ryb drapieżnych(MN)
25. Kanibalizm a dobro gatunku.(MN)
26. Wpływ UV na procesy starzenia się u ludzi.(MP)
27. Wielodzietność a związki partnerskie.(MP)
28. Adaptacja roślin udomowionych do terenów dzikich.(MP)
29. Lokalizacja siedliska a struktura jakościowa/ilościowa ryjkowców. (RS)
30. Wpływ odległości od szosy w Och. Górnej na zgrupowania pluskiew. (RS)
31. Zmienność barwna wzoru na pokrywie stonki ziemniaczanej.(RS)
32. Odległość i wielkość łąki a jakość pszczelego miodu.(EG)
33. Powierzchnia skrzydła i układ żyłek na lot ważki.(EG)
34. MHC a szansa migracji u bogatki.(EG)
35. Nasłonecznienie a wielkość liści(pow) (FK)
36. Czy bodziec negatywny jest silniej percepowany.(FK)
37. Poziom tlenu na wielkość ciała u ssaków.(FK)
38. Kanibalizm a dobro gatunku.(MN)

Tematy wybrane do opracowania:

- Czy istnieje związek między poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń pozapartnerskich?(AA)
- Czy żółw czerwonolicy zagrozi populacji żółwia błotnego?(MN)
- Wpływ stresu ekotoksykologicznego na opiekę nad potomstwem u nornicy rudej.(JH)
- Czy fotoperiod wpływa na zdolność uczenia się i rozwój mózgu u zeberek. (SzD)

Tematy ostatecznie opracowane:

- **Związek pomiędzy poziomem testosteronu a częstością kopulacji i sukcesem reprodukcyjnym samic zeberek (*Taeniopygia guttata*)**
- **Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej (*Triturus cristatus*, Laurenti 1768)**
- **Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glareolus*)?**
- **Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?**

PROJEKTY I RECENZJE:**1. Związek pomiędzy poziomem testosteronu a częstością kopulacji i sukcesem reprodukcyjnym samic zeberek (*Taeniopygia guttata*)**

Aneta Arct, Magdalena Mikowska, Rafał Simon

PIERWSZA WERSJA PROJEKTU:**Związek pomiędzy poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń u zeberek (*Taeniopygia guttata*)**

Słowa kluczowe: testosteron, kopulacje, kopulacje pozapartnerskie, zeberka (*Taeniopygia gutta*)

Streszczenie

O ile rola, jaką pełnią androgeny w zachowaniach seksualnych samców jest stosunkowo dobrze poznana, niewiele wiadomo jak androgeny mogą wpływać na zachowania seksualne samic i ich strategię rozrodczą. W związku z tym projekt ma na celu określenie, czy istnieje związek pomiędzy poziomem testosteronu, a częstością kopulacji u samic zeberek (*Taeniopygia guttata*). Ponieważ, u tego gatunku stwierdzono występowanie kopulacji pozapartnerskich (ang. EPC – *extra pair copulations*), planujemy również sprawdzić czy istnieje związek pomiędzy poziomem testosteronu samicy a częstością kojarzeń pozapartnerskich i liczbą potomstwa z poza pary. Wyniki tego projektu pozwolą określić czy testosteron może pełnić rolę w mechanizmie kopulacji pozapartnerskich. Określiliśmy ponadto jak podwyższony poziom testosteronu wpływa na wielkość lęgu danej samicy i przeżywalność piskląt do momentu wylotu z gniazda. W celu odpowiedzi na te pytania planujemy przeprowadzić dwa eksperymenty. W obu przypadkach samice i samce losowo przydzielimy do dwóch grup. W grupie eksperymentalnej samice dostaną zastrzyk testosteronu, natomiast druga grupa będzie stanowić kontrolę. Następnie analiza nagrań video pozwoli na określenie w pierwszym eksperymencie jak często samice kopulowały ze swoim partnerem socjalnym oraz w drugim eksperymencie określić jak często kopulowała poza parą. Ponadto analizy molekularne pozwolą określić ile potomstwa danej samicy pochodziło z poza pary.

Cel naukowy projektu

Celem projektu jest sprawdzenie czy istnieje związek pomiędzy poziomem testosteronu u samic, a częstością kopulacji. Stwierdzono, że podwyższony poziom testosteronu zwiększa popęd seksualny u drobnych gryzoni (Staub i in. 1997), jednocześnie wiadomo, że wyższy poziom testosteronu negatywnie wpływa na płodność samic zeberek (Rutkowska 2005). Spodziewamy się, że samice z wyższym poziomem testosteronu będą częściej kopulowały z samcami jednak nie

osiągną wyższego sukcesu. Miarą sukcesu będzie wielkość lęgu i przeżywalność piskląt do okresu wylotu z gniazda. U zeberek stwierdzono występowanie kojarzeń pozapartnerskich (EPC – ang. *extra pair copulations*) (Birkhead 1998) dlatego kolejnym celem eksperymentu będzie zbadanie czy istnieje związek pomiędzy poziomem testosteronu, a częstością kopulacji pozapartnerskich. Mimo intensywnych badań dotyczących zagadnienia kopulacji poza partnerskich nadal nieznanym jest mechanizm, jaki stoi u podstaw tego zjawiska. W badaniach tych planujemy również ustalić przy zastosowaniu metod molekularnych, jaki jest procent potomstwa z poza pary i jaki to ma związek z poziomem testosteronu u samicy. Spodziewać się można, że samice z wyższym poziomem testosteronu będą mniej atrakcyjne dla samców, co będzie skutkowało rzadszymi EPC, a w konsekwencji mniejszą proporcją potomstwa z poza pary.

Istniejący stan wiedzy

Plastyczność zachowań seksualnych jest kluczowa dla zwierząt, które żyją w zmiennych warunkach środowiska. Szereg badań wskazuje na rolę androgenów w kształtowaniu zachowań seksualnych zwierząt. O ile rola, jaką pełnią androgeny w zachowaniach seksualnych samców jest stosunkowo dobrze poznana, niewiele wiadomo jak androgeny mogą wpływać na zachowania seksualne samic i ich strategie rozrodcze. Dotychczasowe badania dowodzą, iż poziom testosteronu pozytywnie koreluje z częstością kopulacji pozapartnerskich u samców różnych gatunków ptaków (Garamszegi in. 2005). Poziom testosteronu między samcami i samicami koreluje wewnątrz gatunku, co sugeruje, że może być kontrolowany przez ten sam mechanizm genetyczny u obu płci. Poziom testosteronu we krwi zarówno u samców jak i u samic wskazuje na wahania sezonowe i dobowe, pobudzając organizm do przemian fizjologicznych. U samic testosteron jest produkowany w jajnikach, korze nadnerczy i w mózgu (Staub i in. 1997).

Dotychczasowe badania wskazują, że samice z wyższym poziomem testosteronu we krwi przejawiają bardziej agresywne zachowania w stosunku do innych samic, co więcej takie samice są mniej wybiórcze względem partnera seksualnego (García-Vigón i in. 2008). Badania Rutkowskiej (2005) wskazują również, że samice z wyższym poziomem testosteronu mają obniżoną płodność. Zwiększony poziom testosteronu we krwi samicy może również znacznie zwiększać ich popęd płciowy. I tak u samic ryjówki domowej (*Suncus murinus*), u której nastąpił gwałtowny spadek stężenia testosteronu we krwi w wyniku obustronnej ooforektomi zaobserwowano, że podanie samicom testosteronu spowodowało wzrost aktywności seksualnej (Staub i in. 1997). Potwierdzają to również badania przeprowadzone na kobietach po menopauzie, u których suplementacja testosteronem powodowała zwiększenie popędu seksualnego (Shifren i in. 2000). Niewiele jest jednak wiadomo jak testosteron wpływa na zachowania seksualne samic ptaków. Poza badaniami García-Vigón i in. (2008), w których stwierdzono, że w naturalnej populacji szpaka samice z eksperymentalnie podniesionym poziomem testosteronu posiadały mniej potomstwa z poza pary, co może sugerować, że rzadziej angażowały się w kopulacje pozapartnerskie nie ma prac, które badałyby wpływ testosteronu na częstość kopulacji zarówno z partnerem socjalnym jak i z poza pary. Rezultaty uzyskane przez tych autorów sugerują, że samice z wyższym poziomem testosteronu mogą być mniej atrakcyjne dla samców w związku z tym zmniejsza się liczba kopulacji pozapartnerskich.

Metodyka

Obiektem badań będzie zeberka (*Taeniopygia guttata*), modelowy gatunek w biologii ewolucyjnej, popularny w wielu laboratoriach na świecie. Zeberki charakteryzuje wyraźny dymorfizm płciowy. Jest to gatunek monogamiczny, samica składa zwykle 2-7 jaj, a opiekę nad potomstwem sprawuje oboje rodziców (Zann 1996). Badania Birkhead'a (1998) wykazały, że w naturalnej populacji zeberek 5% kopulacji danej samicy odbywało się z samcem z poza pary, a u 8% lęgów stwierdzono, co najmniej jedno młode pochodzące z kopulacji pozapartnerskich. Natomiast w eksperymencie laboratoryjnym przeprowadzonym na zeberkach stwierdzono, że 38 % potomstwa w lęgu pochodziło z poza pary (Bolund i in. 2009). Wszystkie ptaki użyte w eksperymencie będą w jednakowym wieku i pochodzić będą z hodowli Instytutu Nauk o Środowisku. W celu odpowiedzi na wyżej wymienione pytania planujemy przeprowadzenie dwóch eksperymentów. W pierwszym z nich będziemy badać wpływ podwyższonego poziomu testosteronu na częstość kopulacji, w drugim na częstość kopulacji pozapartnerskich.

I. Podwyższony poziom testosteronu a częstość kopulacji

W eksperymencie weźmie udział łącznie 50 par zeberek. Samice i samce w momencie kojarzenia będą wybierane losowo do grupy eksperymentalnej i kontrolnej. 25 par stanowić będzie grupę eksperymentalną (samice z podwyższonym poziomem testosteronu), a pozostałe 25 par będzie stanowić grupę kontrolną. Po przyporządkowaniu samic do poszczególnych grup zostanie sprawdzone czy poziom testosteronu we krwi u samic z obu grup nie różni się. Po okresie czterech dniach od momentu skojarzenia samice z grupy eksperymentalnej dostaną zastrzyk z 5 µg testosteronu (*testosteronum enanthanum*, Jelfa S.A.,) rozpuszczonego w 50 µl oleju (*paraffinum liquidum*) (Rutkowska 2005). Natomiast samice z grupy kontrolnej otrzymają zastrzyk tylko z olejem. Od tego momentu codziennie przez okres dwóch godzin (jedną godzinę w godzinach przedpołudniowych drugą w godzinach popołudniowych) na nagraniu video rejestrowane będzie zachowanie pary w celu późniejszej określenia liczby kopulacji. Rejestrowanie zachowań potrwa do momentu zniesienia pierwszego jaja u każdej samicy, ponieważ samice zeberek niechętnie przystępują do kopulacji po tym czasie (Birkhead 1998). W celu określenia sukcesu danej samicy zostaną zebrane dane dotyczące wielkości lęgu i przeżywalności piskląt do momentu wylotu z gniazda.

Wynikiem tej części eksperymentu będzie liczba kopulacji u samic z podwyższonym poziomem testosteronu oraz liczba kopulacji u samic kontrolnych. Miara sukcesu danej samicy określona na podstawie wielkości lęgu i przeżywalności piskląt do okresu wylotu z gniazda.

II. Podwyższony poziom testosteronu a częstość kopulacji pozapartnerskich oraz liczba potomstwa z poza pary

W eksperymencie weźmie udział 50 losowo dobranych par zeberek, z czego analogicznie jak w eksperymencie I z zastosowaniem tych samych dawek testosteronu 25 par stanowić będzie grupę eksperymentalną (samice z podwyższonym poziomem testosteronu), a pozostałe 25 grupę kontrolną. Ponadto w eksperymencie weźmie udział 50 samców nie z parowanych z innymi samicami, które posłużą jako potencjalni partnerzy z poza pary. Każdego dnia z klatki o godz. 10.00 i 16.00 na jedną godzinę zabierany będzie stały partner samicy, gdyż zwykle do kopulacji pozapartnerskich dochodzi podczas nieobecności samca w gnieździe (Birkhead 1998) W tym czasie do klatki wpuszczonych będzie wybrany losowo samiec, a zachowanie ptaków będzie rejestrowane na nagraniu video w celu późniejszego określenia liczby kopulacji z partnerem z poza pary. Schemat ten powtarzany będzie do momentu zniesienia pierwszego jaja. Kolejnym etapem

będzie określenie liczby potomstwa z EPC oraz wielkości lęgu i przeżywalności piskląt do czasu wylotu z gniazda. Aby określić liczbę piskląt z poza pary porównamy genotypy rodziców i potomstwa. W tym celu pobierzemy krew od piskląt lub wykorzystamy embriony do wyizolowania DNA. W analizach ojcostwa wykorzystamy 5 mikrosatelitarnych loci, które zostały wcześniej opracowane (Forstmeier i in. 2007). Sprzęt potrzebny do tego celu dostępny jest w laboratoriach Instytutu Nauk o Środowisku UJ. W ramach niniejszego grantu przewidujemy jedynie zakup potrzebnych odczynników (zestawy do izolacji DNA z krwi, startery mikrosatelitarne, zestawy do reakcji PCR). Procedury genetyczne są z powodzeniem stosowane w naszym Instytucie i posiadamy doświadczenie w tego typu analizach. Szacowana liczba potomstwa wynosi około 350 piskląt.

Powyższe eksperymenty zostaną poprzedzone badaniem pilotażowym mającym na celu sprawdzenie, czy wśród zeberek istnieją preferencje do kopulacji o określonej porze dnia. Jeżeli okazałoby się, że istnieje jakaś wyraźna tendencja, rejestrowanie ilości kopulacji odbywałoby się poza taką porą. Ponadto eksperyment wykonywany będzie w ciągu kilku serii, tak by pozwoliła na to ilość posiadanego przez nas sprzętu (kamer cyfrowych). Wszystkie prace będą wykonywane za zgodą Komisji Etycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Wynikiem tej części eksperymentu będzie liczba kopulacji z partnerem poza pary oraz liczba potomstwa z poza pary dla samic kontrolnych i samic z podwyższonym poziomem testosteronu.

Sprzęt i zaplecze techniczne:

- dwie woliery w pomieszczeniu klimatyzowanych z regulacją oświetlenia
- 50 klatek
- termocykler
- sekwenator

Analiza statystyczna

Do opracowań statystycznych zastosujemy analizę kowariancji. Ponieważ samice różnią się czasem od momentu nastrzyknięcia do złożenia pierwszego jaja. Będziemy brać pod uwagę liczbę kopulacji z4 dni przed złożeniem pierwszego jaja. Rozpatrywane będą zmienne zależne: liczba kopulacji, sukces lęgowy (wielkość lęgu i liczba piskląt opuszczających gniazdo), liczba kopulacji z poza pary, proporcja potomstwa z poza pary. Jako kowariata uwzględniony będzie dzień złożenia pierwszego jaja. Numer samicy uwzględniony będzie, jako zmienna losowa w analizach sukcesu danej samicy. Zmienną niezależną będzie typ zabiegu.

Koszty projektu badawczego

Zestawy do izolacji DNA (Qiagen)	3 000 zł
Zestawy do reakcji PCR	6 000 zł
Startery mikrosatelitarne	5 000 zł
Pokarm dla zeberek (Megan, Kraków), jajka	1500 zł
Kamera cyfrowa (10 sztuk)	8 000 zł
Macierze (dyski twarde) do przechowywania zarejestrowanych danych	5 000 zł
Pipety wielokanałowe (2 sztuki)	10 000 zł
Budki lęgowe (200 sztuk)	200zł
Testosteron	600 zł
Olej parafinowy 100 zł	100 zł
Strzykawki (300 sztuk)	100 zł

Igły (600 sztuk)	60 zł
Ependorfy (1000 sztuk)	100 zł
Płytki do PCR	1000 zł
Ependorfy do PCR	100 zł
Zestaw do oznaczenia poziomu testosteronu we krwi samic (2 płytki x 96 prób)	2 000 zł
Konferencja (w tym konferencja w Australii – dwóch uczestników)	20 000 zł

SUMA 62 000 zł

Harmonogram zadań

Lp.	Nazwa zadania badawczego	Termin rozpoczęcia/zakończenia	Przewidywane koszty
1.	Eksperyment I - przeprowadzany we wszystkich klatkach jednocześnie (pozwala na to 10 kamer i konstrukcja eksperymentu), badanie przeżywalności piskląt oraz izolacja DNA	01.11.10 r. – 31.11.10 r.	3 000 zł
2.	Eksperyment II – przeprowadzany w 5 seriach (w tym eksperymencie możliwa jest obserwacja tylko w 10 klatkach jednocześnie), badanie przeżywalności oraz izolacja DNA	1.01.11 r. – 31.05.11 r.	17 000 zł
3.	Badania molekularne	1.06.11 r. – 5.06.11 r.	22 000 zł
4.	Analiza statystyczna i opracowanie wyników	1.06.11 r. – 31.07.11 r.	
5.	Wyjazd na konferencje	12.08.11 r. – 25.08.11r.	20 000 zł

Wymierny udokumentowany efekt podjętego problemu

1. Publikacje w międzynarodowych czasopismach naukowych, takich jak: *Hormons and Behavior*, *Animal Behaviour*
2. Prezentacja na międzynarodowej konferencji Ekologii Behawioralnej w Australii (dwóch uczestników)
3. Prezentacja na konferencji krajowej: Warsztaty Biologii Ewolucyjnej w Warszawie.

Literatura

Bolund E., Schielzeth H., Forstmeier W. Compensatory investment in zebra finches: females lay larger eggs when paired to sexually unattractive males. *Proc. R. Soc. B* 2009;276, 707–715.

Forstmeier W, Schielzeth H, Schneider M, Kempnaers B. Development of polymorphic microsatellite markers for the zebra finch (*Taeniopygia guttata*) *Molecular Ecology Notes* 2007; 7, 1026–1028

Garci'a-Vigo E., Cordero J., Veiga P. Exogenous testosterone in female spotless starlings reduces their rate of extrapair offspring *Animal Behaviour* 2008; 76, 345-353.

Garamszegi L. Z., Eens M., Hurtrez-Boussès S. & Møller, A. P. 2005. Testosterone, testes size, and mating success in birds: a comparative study. *Hormones and Behavior* 2005; 47, 389 – 409.

Rutkowska J., Cichon M., Puerta M. i Gil D. Negative effects of elevated testosterone on female fecundity in zebra finches. *Hormones and Behavior* 2005; 47, 585-591.

Shifren J.L., Braunstein G.D., Simon J.A. i in. Transdermal testosterone treatment in women with impaired sexual function after oophorectomy. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343: 682–688.

Staub N. L. i De Beer, M. The role of androgens in female vertebrates. *General and Comparative Endocrinology.* 1997; 108, 1-24.

Zann R.A. The zebra finch: a synthesis of field and laboratory studies. *Oxford University Press* 1996.

RECENZJE:**Natalia Pitala****Recenzja projektu „Związek pomiędzy poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń u zeberek (*Taeniopygia guttata*)”.**

Celem przedstawionego projektu jest określenie wpływu eksperymentalnie podwyższonego poziomu testosteronu u samic zeberki na ich zachowania seksualne i sukces reprodukcyjny. Projekt jest ciekawy i wart zrealizowania. Może przyczynić się do pełniejszego zrozumienia roli testosteronu w determinowaniu zachowania. Cele projektu zostały wyraźnie sformułowane, ale moim zdaniem nie zostało wystarczająco jasno przedstawione, dlaczego autorzy spodziewają się takich, a nie innych wyników.

Autorzy planują zbadanie nie tylko częstości kojarzeń, ale również ogólnie sukcesu rozrodczego samic (tytuł projektu jest zbyt wąski w odniesieniu do rzeczywistych planów), powinni więc wyraźnie odnieść się do faktu, że wysoki poziom krążącego testosteronu u samicy podniesie również poziom testosteronu w żółtku składanych przez nie jaj. Na temat wpływu androgenów żółtka na fenotyp piskląt sporo już wiadomo, i autorzy powinni z tej wiedzy skorzystać.

W metodologii brakuje przede wszystkim uzasadnienia dawki testosteronu zastosowanej w eksperymencie - poziom testosteronu u samic nastrzykniętych powinien mieścić się w zakresie wartości naturalnie występujących. Jest to kluczowa kwestia i samo stwierdzenie, że taka sama dawka była zastosowana w innej pracy nie wystarczy. Należałoby również sprawdzić, jak długo po nastrzyknięciu utrzymuje się u samic podwyższony poziom testosteronu. Być może również w okresie opieki nad pisklętami? Jeśli tak, to monitoring zachowania samic po wykluciu piskląt mógłby dostarczyć kolejnych ciekawych informacji. Sądzę również, że układ drugiego eksperymentu może nie być efektywny. Lepszy byłby taki, w którym samiec bez pary może wybrać kopulację z samicą eksperymentalną bądź kontrolną. (Choć oczywiście taki układ jest trudniejszy w realizacji).

Przydałaby się korekta tekstu przed wysłaniem...

Uwagi szczegółowe:

Streszczenie: Nieco chaotycznie napisane. Szczegółowy opis metodologii w tej sekcji chyba nie jest potrzebny - wystarczy napisać, że poziom testosteronu będzie eksperymentalnie manipulowany poprzez zastrzyki. Więcej miejsca można było natomiast poświęcić “reklamie” oczekiwanych wyników.

wiersz 27-28: popęd seksualny u samic, czy samców?

w. 30-31: Nie jest jasne, na jakiej podstawie autorzy oczekują takich wyników.

w. 35-37: Nie jest jasne, w jaki sposób ten projekt przyczyni się do wyjaśnienia tego zagadnienia.

w. 39-41: Znowu nie wiem, dlaczego można się tego spodziewać. Bo w ogóle samice będą kopulować częściej (w. 30-31)?

w. 47-48: To zdanie jest niejasne i niepotrzebne tutaj.

w. 54-58: Ten fragment nie łączy się logicznie z resztą wywodu. Pierwsze zdanie niejasne - chodzi o to, że u ptaków w ogóle, poziom testosteronu u samców danego gatunku, koreluje z poziomem testosteronu u samic tego gatunku; to coś innego niż korelacja wewnątrz gatunku, np. pomiędzy samcem i samicą w parze. Tak czy owak, konieczna byłaby cytacja. Kolejne zdanie również niejasne. Nawiasem mówiąc, ten fragment jest po prostu przetłumaczony (niewprawnie) ze wstępu

do pracy Garcii-Vigón i in. (Którzy jednak podają cytacje). Nie muszę chyba dodawać, że to nie jest odpowiedni sposób inspirowania się źródłami.

w. 94-96: Nie jest jasne, czy samice będą losowo dobierane w pary z samcami, czy pary losowo przydzielane do grup.

w. 137-141: Ten fragment powinien znaleźć się przed opisem eksperymentów. Wyjaśniłoby to metodę proponowaną w eksperymencie. Nie rozumiem jednak, dlaczego autorzy chcą rejestrować kopulacje w porze dnia, kiedy nie odbywają się one często. Moim zdaniem, jeśli eksperyment pilotażowy wykazałby, że kopulacje są szczególnie częste w określonej porze dnia, to właśnie wtedy należałoby przeprowadzać monitoring zachowania w eksperymencie. Ułatwiłoby to wykrycie ewentualnych różnic. Poza tym, o ile dobrze rozumiem, autorzy uważają, że nagrania w eksperymencie II muszą się odbywać o ściśle określonej porze i dokładnie tej samej dla wszystkich samic, ale w eksperymencie I dopuszczają kilkugodzinne odchylenia. Dlaczego? Analiza statystyczna - Nie wiem co prawda, jakie są tu wytyczne Ministerstwa, ale wydaje mi się, że bardziej na miejscu byłaby tu analiza mocy, która pomogłaby przekonać, że proponowana wielkość próby wystarczy do wykrycia efektów manipulacji. Samo stwierdzenie, że użyta zostanie analiza kowariancji nie wnosi zbyt wiele. Nie jest do końca jasne, jakie modele będą budowane. Zmiennych niezależnych na pewno będzie więcej, niż typ zabiegu (jest nią również ID samicy, choć nie do końca zrozumiałam, w jakiej analizie zostanie użyty, każda samica będzie chyba badana tylko raz)?

Katarzyna Ciura

Recenzja projektu „Związek pomiędzy poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń u zeberek (*Taeniopygia guttata*)”

Projekt dotyczy zbadania czy testosteron wpływa na częstość kojarzeń w parze i poza parą na przykładzie modelu ptasiego: zeberek.

Autorzy dobrze wyjaśniają, jakie przesłanki skłoniły ich do wyboru testosteronu jako czynnika wpływającego na częstość kojarzeń. Zrozumiałe jest badanie czynników wpływających na częstość kojarzeń. Brak natomiast informacji: dlaczego ważne jest zbadanie częstości kojarzeń poza parą. Wytłumaczenie zasadności podjęcia tego problemu zwiększyłoby szanse projektu na otrzymanie finansowania (Brak wyszczególnionej części dotyczącej znaczenia projektu).

W opisie celu projektu pojawiają się informacje przeczące sobie: w przypadku: kojarzenia z osobnikiem z pary, autorzy spodziewają się częstszych kojarzeń u samic potraktowanych testosteronem, w przypadku kojarzeń pozapartnerskich - rzadszych (wiersz 30, 31 oraz 40). Brak zgodności przewidywań sprawia wrażenie, że autorzy w ogóle nie przemyśleli, czego się spodziewają.

Autorzy podają informacje, że częstość kojarzeń pozapartnerskich zeberek w populacjach naturalnych i eksperymentalnych różni się znacznie. Brak jest wyjaśnienia czy różnica ta spowodowana jest sposobem zbierania danych w przytaczanych eksperymentach (np. trudniej policzyć kopulacje pozapartnerskie w naturze) czy też warunki laboratoryjne mają zbyt duży wpływ na ptaki, co oznacza, że takie badania nie mają odniesienia do warunków naturalnych. Silną stroną projektu jest doświadczenie autorów eksperymentach na zeberkach i analizach genetycznych. Realna możliwość wykonania projektu jest oceniona wysoko. Kosztorys: wyłącznie lista niezbędnego sprzętu, brak pełnego kosztorysu, nie wiadomo, jakie faktyczne nakłady finansowe są potrzebne do wykonania projektu.

w. 54 „poziom testosteronu między samcami i samicami koreluje wewnątrz gatunku ...” - niejasne

Tekst jest niedopracowany – liczne literówki i stylistyczne potknięcia. (np. w.29)

Szymon Drobnik

Recenzja projektu „Związek pomiędzy poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń u zeberek (*Taeniopygia guttata*)”

Przedstawiony projekt podejmuje istotny problem istnienia i utrzymywania się w populacjach naturalnych kopulacji pozapartnerskich. Autorzy podjęli próbę wyjaśnienia mechanizmu, jaki może mieć znaczenie w sterowaniu tego typu procesem w naturalnym środowisku. O ile problem jest bardzo ciekawy i niewątpliwie wart zbadania – sam projekt posiada pewne niedociągnięcia.

Badacze powołują się na badania wskazujące na wpływ testosteronu na proporcję potomstwa spoza pary u szpaka. Wpływ ten wyrażał się w niższym udziale takie potomstwa w przypadku samic o sztucznie podniesionym poziomie testosteronu. Proponowanym wyjaśnieniem jest spadek atrakcyjności takich samic w oczach partnerów nie-socjalnych, co z kolei tłumaczyć ma spadek ilości kopulacji poza parą i spadek proporcji potomstwa spoza pary. Już na tym etapie przyjmowanie jako bardzo prawdopodobnej hipotezy o spadku atrakcyjności samicy dla samca jest problematyczne w obliczu braku empirycznych dowodów na taką relację. Dodatkowo fakt komplikować może obserwacja, że u zeberek w znacznie mniejszym stopniu samiec decyduje (wybiórczo) o tym czy skojarzyć się z samicą czy nie.

Badacze sugerują również dwojakie (z bliżej niesprecyzowanych powodów) wyjaśnienie zmniejszonego sukcesu samicy o podwyższonym poziomie testosteronu; w przypadku kojarzeń z samcami socjalnymi miałyby to następować poprzez zmniejszoną płodność samic; w przypadku kojarzeń pozapartnerskich – poprzez zmniejszoną atrakcyjność samicy (i spadek częstości kopulacji, determinowany przez preferencje samca). Brak wyjaśnienia dlaczego w każdym z tych przypadków konkretny efekt ma być silniejszy. Osadzone w tym kontekście zwiększenie popędu seksualnego samic (mające tłumaczyć przewidywaną tendencję tak zmodyfikowanych samic do częstszych kopulacji) badacze popierają przykładami ze świata ssaków (wiersz 64). O ile nie jest to do końca nieuprawnione – powinni oni pamiętać o zasadniczych (tak na poziomie sekwencji białka jak i na poziomie docelowej sekwencji DNA) różnicach istniejących między receptorami androgenów u ptaków i ssaków. Niewykluczone więc, że obserwacje dotyczące samic o podwyższonym poziomie testosteronu u ssaków nie będą do końca adekwatne w przypadku ptaków – nie wspominając o odnoszeniu do nich obserwacji dotyczących ludzi, u których występuje raczej nie spotykane u innych ssaków zjawisko menopauzy.

Kolejnym zarzutem, jaki można postawić pracy jest ujęcie w jej kontekście badań proporcji potomstwa spoza pary. Badacze uważają, że niższa częstość kopulacji z partnerami nie-socjalnymi przekłada się na niższy udział potomstwa spoza pary. Dodatkowo popierają to cytowaną pracą na szpakach. Może więc zupełnie niepotrzebne jest włączanie analiz ojcostwa do projektu?

Obniżyłoby to znacznie koszty i jednocześnie zachowało logiczną spójność wyводу (w streszczeniu i częściach wstępnych badacze podkreślają, że głównym obiektem ich zainteresowania będą kopulacje). Z drugiej strony – rozpisując się o kopulacjach autorzy chyba ignorują fakt, że nie ilość kopulacji ale ilość i jakość potomstwa będzie wpływać na dostosowanie ptaka. Czy snucie przewidywań co do ilości kopulacji w zależności od poziomu testosteronu, gdy

jest ona kształtowana przez 2 przeciwne działające tendencje o trudnym do określenia natężeniu – nie jest trochę jałowa z ewolucyjnego punktu widzenia?

Proponowana metodyka badań jest dopracowana, ma jednak szereg luk. Badacze sprawdzać czy u zeberek istnieje preferowana pora dnia, w której odbywać się będą kopulacje; w razie dokonania takiej obserwacji chcą tą porę dnia wyeliminować z analiz. Nie znajduję uzasadnienia takiego postępowania. Oddala ono kontekst prowadzonych badań od sytuacji naturalnych. Być może lepiej byłoby upewnić się, że (jeśli taka pora istnieje) samce socjalne/niesocjalne powinny mieć podobne szanse na kopulacje właśnie wtedy. Kolejnym słabym punktem są analizy angażujące samców nie-socjalnych. Sposób ich przeprowadzenia zaproponowany w projekcie nie pozwoli tak naprawdę przetestować przewidywań dotyczących wpływu testosteronu na częstość kopulacji partnerki w takich warunkach, ponieważ niemożliwe będzie oddzielenie faktycznego wpływu testosteronu (działającego poprzez behawior samicy) od wpływu hormonu na atrakcyjność samicy (a więc na czynnik modulujący częstość kopulacji poprzez behawior samca). Abstrahując od tych zarzutów – warto zapytać dlaczego autorzy nie chcą badać sukcesu lęgowego samicy/przeżywalności młodych w drugiej części eksperymentu? Jak poradzą sobie z tym, który samiec kopuluje po raz ostatni (mając większy tym samym większy sukces)? Czy brali w ogóle pod uwagę różnice w szybkości metabolizowania testosteronu u samic (zmiennosc osobnicza) mogą zupełnie zmienić średni poziom hormonu w grupie nastrzykiwanej? Dalej – może lepiej faktycznie (tak jak *de facto* jest to w tytule) lepiej jest badać CZĘSTOŚĆ kopulacji nie ich ilość w określonym (różnym u różnych samic) czasie? I ostatnie – czy brali autorzy pod uwagę również prawdopodobny co inne przesłanki wpływ testosteronu na inne parametry rozrodu (np. czas trwania i miejsce preferowanej pory kopulowania czy też kondycja ptaka)?

Na zakończenie trzeba zwrócić uwagę na formalne uchybienia i stylistyczne błędy dostrzeżone w tekście:

- raczej określimy a nie określiliśmy (w. 15)
- aby odpowiedzieć (zamiast „w celu odpowiedzi”) (w. 17)
- dość mało stylistycznie dopracowany fragment (w. 20-22)
- niepotrzebne powtórzenie (w. 12 i w. 33)
- poziom testosteronu koreluje z czym?? (niegramatyczne zdanie; w. 54); i dlaczego u samców i samic??
- błędy stylistyczne i interpunkcyjne (w. 99, 101, 154)

Podsumowując – mimo bardzo ciekawych podstaw teoretycznych, projekt sprawia wrażenie nieco sprzecznego wewnątrznie. Proponowane wyjaśnienia zdają się kolidować ze sobą, nie uwzględniono także znanych z literatury danych dotyczących metodycznych szczegółów opisywanych procesów. Uważam, że po odpowiednim dopracowaniu projekt ma szansę na finansowanie, podstawowym jednak warunkiem sukcesu powinno być pozbycie się logicznych konfliktów, które może i dla autorów są trywialne i całkiem uzasadnione – ale dla osoby z zewnątrz ułożenie faktów w ciągu logicznym może być problematyczne.

Marcin Nielubowicz

Recenzja projektu „Związek pomiędzy poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń u zeberek (*Taeniopygia guttata*)”

Sam temat pracy jest męskiego punktu widzenia niezmiernie ciekawy i zajmujący, to jak zachowuje się samica jeśli podamy jej ten flagowy hormon męskości może stanowić oręż w walce z feminizmem, a nawet kobiecym szowinizmem. To tytułem żartobliwego odniesienia do relacji ludzkich. Sama praca zawiera sensowny wstęp, w którym dostajemy podstawowe informacje na temat planowanego eksperymentu. Ale czy logiczne jest zastanawiać się czy podwyższony poziom testosteronu zwiększy częstość EPC w sytuacji gdy badania udowodniają, iż działa on pozytywnie na częstość kopulacji nawet u dobranej pary zeberek? Wiadomo przecież że wcześniej szych badań że atrakcyjność obcego partnera już sama w sobie jest wystarczającym bodźcem do kopulacji pozapartnerskich, a testosteron tego trendu przecież nie osłabi. Czy i jak poziom testosteronu może wpłynąć na wyniki ojcostwa? ; ten problem wydaje się bardzo ciekawy, chociażby ze względu na monogamiczność tego gatunku ptaków oraz fakt obniżonej płodności i podniesionego poziomu agresji u samic poddawanych iniekcjom testosteronu. Ostatnie pytanie jakie mnie nurtuje to jakie korzyści nauka odniesie z przeprowadzonego eksperymentu – a głównie do jakiego stopnia wyniki uzyskane na zeberkach dadzą się wykorzystać w badaniach nad innymi grupami zwierząt?

Jako duży plus tego projektu zapisuje jego nie wydumaną formę i klarowność pierwszego eksperymentu. Również koszty planowanego eksperymentów są niskie – a to w połączeniu ze sporym doświadczeniem autorów w pracy z tym gatunkiem ptaków rokuje nadzieje na powodzenie..zatem do dzieła i powodzenia w zdobywaniu środków!!!

Joanna Hajduk

Recenzja projektu „Związek pomiędzy poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń u zeberek (*Taeniopygia guttata*)”

Streszczenie recenzowanego projektu jest napisane zwięźle, jednak nie jest zrozumiałe co autorzy właściwie chcą zbadać. Czy rzeczywiście chodzi tylko o wpływ testosteronu na częstość kojarzeń, czy też o wpływ na częstość kojarzeń pozapartnerskich? Zupełnie nie rozumiem też dlaczego przy postawionym pytaniu autorzy pragną sprawdzić wielkość lęgu i przeżywalność piskląt do momentu wylotu z gniazda, a także jaki cel mają w określaniu związku pomiędzy poziomem testosteronu u samicy, a liczbą potomstwa z poza pary. Najistotniejsze dla gatunku jest rzeczywiście pytanie, czy opisywane zjawisko będzie miało wpływ na jej sukces reprodukcyjny, mierzony liczbą i kondycją potomstwa. Jednak te zagadnienia nie wynikają z tematu projektu. Dodatkowo w streszczeniu brakuje przewidywanych wyników doświadczenia, wystarczy tu dopisać jedno zdanie.

Do celu projektu mam podobne zastrzeżenia jak i do streszczenia – niejasne jest co właściwie autorzy chcą zbadać i czy nie za dużo pytań na raz próbują rozwiązać ☺ Dodatkowo proszę sprecyzować, czy spodziewanym wynikiem są częstsze kopulacje z własnym partnerem socjalnym czy także częstsze kopulacje pozapartnerskie (wers 31)?

W istniejącym stanie wiedzy autorzy podają informację o stwierdzonej u ptaków wewnątrzgatunkowej korelacji pomiędzy poziomem testosteronu u samic i samców. Co to znaczy,

i jakie znaczenie ma taka ewentualna zależność dla poruszanego problemu? Proszę to jaśniej wytłumaczyć. W projekcie brakuje wyodrębnionej części mówiącej o znaczeniu projektu. Informacja ta jest zawarta w celu i streszczeniu projektu oraz w istniejącym stanie wiedzy, powinna jednak też zostać wyodrębniona.

Metodyka opisana jest w jasny sposób. Kosztorys powinien zostać przedstawiony w sposób podany w załączniku F i umieszczony po harmonogramie, jest to już jednak kosmetyka. W całej pracy występują błędy stylistyczne i interpunkcyjne, które należy poprawić, np. wers 29 – testosteron wpływa, a nie wpływ. Proponowałabym także zastąpić w wersji 94 zwrot „weźmie udział”, sugeruje on bowiem, że zeberki same zgłoszą się do eksperymentu. ☺ Poruszony problem jest ciekawy i ważny, jednak proponowałabym przemyśleć jeszcze raz na czym autorzy pragną się skupić i albo zmienić temat projektu albo ograniczyć się do zebrania tylko potrzebnych przy danym zagadnieniu wyników. Projekt do poprawy.

Katarzyna Chrzęścik

Recenzja projektu „Związek pomiędzy poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń u zeberek (*Taeniopygia guttata*)”

Projekt porusza istotną kwestię wpływu androgenów na zachowania seksualne osobników i ich strategię rozrodczą. Tylko nieliczne z prac dotyczące tej tematyki badają zachowania samic. W związku z tym ważne wydaje się być zrealizowanie recenzowanego projektu, którego celem jest sprawdzenie, czy istnieje związek pomiędzy poziomem testosteronu u samic, a częstością kopulacji.

Omawiany projekt wymaga jednak przed jego realizacją dopracowania pewnych elementów i niektórych założeń.

Tytuł projektu nie jest w pełni adekwatny do treści i jego celu ze względu na odmienne znaczenie słowa kojarzenie (użytego w tytule) i słowa kopulacja (użytego w celu i treści projektu) – „kojarzenie się” nie jest równoznaczne „kopulacji” i nie może być używane wymiennie.

Projekt został podzielony przez autorów na wymagane części z pominięciem tej dotyczącej znaczenia projektu. Pozostałe części zostały opisane w sposób satysfakcjonujący, pomimo że niektóre fragmenty projektu są niejasne (na przykład sformułowanie zawarte w wierszu 54, dodatkowo nie zawierającym informacji, z czym koreluje poziom testosteronu).

Metody opisane zostały w sposób klarowny i zrozumiały. Dobór metod uważam za właściwy. Jedynym słabym punktem badań jest czas i pora przebywania samca z poza pary z samicą. Badania pilotażowe nie są dokładnie opisane, co więcej podejrzewam, że wyniki tych badań mogą być trudne do interpretacji. Nie wiem, jak postąpiliby autorzy w sytuacji gdyby zeberki wykazywałyby preferencje do kopulacji w określonej porze dnia i co rozumieją przez sformułowanie: „rejestracja ilości kopulacji odbywałoby się poza taką porą” (wiersz 139). Uważam, że ta kwestia wymaga dopracowania i lepszego wyjaśnienia.

Bardzo dobrze dobrany został obiekt badań. Mocną stroną projektu jest również fakt, że osoby biorące w nim udział mają doświadczenie dotyczące pracy nad zeberkami i wykonywaniu analiz przewidzianych w projekcie oraz dysponują dobrym zapleczem technicznym.

Najwięcej moich wątpliwości budzi ewentualne znaczenie efektu zmian w ilości i częstości kopulacji na ilość złożonych jaj, przeżywalność młodych (sukces reprodukcyjny), a przez to zasadność przeprowadzania badań dotyczących kopulacji. U ptaków nie istnieje, bowiem prosta zależność pomiędzy kopulacjami a sukcesem reprodukcyjnym.

Autorzy projektu przedstawiają bardzo szczegółowy kosztorys. Jest on jednak nieprzemyślany. Nie zawiera informacji o wynagrodzeniach dla uczestników projektu. Czy oznacza to, że uczestnicy nie będą otrzymywać żadnego wynagrodzenia podczas trwania projektu? Kosztorys nie zawiera również innych ważnych elementów takich jak na przykład koszt zakupu kamer do rejestracji zachowań ptaków, które nie są również wymienione w informacji o zapleczu technicznym, do którego dostęp mają autorzy projektu. Autorzy wymieniają natomiast bardzo szczegółowo koszt drobnego sprzętu laboratoryjnego takiego jak na przykład strzykawki czy igły, co według mnie jest zupełnie niepotrzebne. Zsumowane informacje o kosztach igieł, strzykawek itp. powinny się znaleźć na przykład pod nazwą: „drobny sprzęt laboratoryjny”.

Harmonogram badań połączony z ogólnym kosztorysem przedstawiony przez autorów budzi również zastrzeżenia. Uważam, że nie jest możliwe przeprowadzenie całego eksperymentu I łącznie z obserwacjami pilotażowymi dotyczącymi sprawdzenia, czy wśród zeberek istnieją preferencje do kopulacji o określonej porze dnia, przeprowadzeniu właściwych testów na 50 parach zeberek, zebraniu informacji o wielkości lęgu i przeżywalności piskląt do momentu wylotu z gniazda oraz izolacji DNA w ciągu jednego miesiąca i to za koszt tylko 3000zł.

Autorzy powinni zwrócić większą uwagę na wyznaczenie bardzo konkretnych miejsc prezentacji własnych badań. Konferencja Ekologii Behawioralnej w Australii, czyli jak się domyślam International Behavioral Ecology Congress ma dobrać się w Australii akurat w roku 2010, a autorzy przewidują udział w niej w roku 2011. Ponadto prezentacja wyników na Warsztatach Biologii Ewolucyjnej w Warszawie zależy od organizatorów warsztatów, którzy zazwyczaj sami dokonują wyboru osób wygłaszających prezentacje. Co więcej, autorzy projektu wyznaczyli w harmonogramie konkretne zupełnie nierealne daty wyjazdów na konferencje: 12.08.2011r. do 25.08.2011r. Sugerowałabym, aby w następnej wersji projektu nie pisać konkretnych dat wyjazdów na konferencje i nazw konferencji wskazując jedynie przykładowe z nich, co pozwoli osobom oceniającym projekt zorientować się w charakterze konferencji preferowanych przez autorów.

W projekcie nie udało się uniknąć drobnych błędów językowych, literówek itp. (przykładowo: wiersz 29 - słowo wpływ zamiast wpływa, pisanie tego samego słowa na dwa sposoby wiersz 35 – pozapartnerskich, wiersz 36 – poza partnerskich itp), nie są one jednak najważniejsze i wymagają jedynie ponownego sprawdzenia projektu pod ich kontem.

Mimo wszystkich uwag krytycznych uważam, że projekt porusza bardzo ważny temat, a jego realizacja mogłaby przyczynić się do lepszego zrozumienia zachowań seksualnych ptaków i związku tych zachowań z testosteronem. Projekt oceniam pozytywnie, musi on jednak zostać uzupełniony o część dotyczącą znaczenia projektu.

Joanna Kajzer

Recenzja projektu „Związek pomiędzy poziomem testosteronu u samicy a częstością kojarzeń u zeberek (*Taeniopygia guttata*)”

Autorzy projektu będą próbowali znaleźć odpowiedź na pytanie, czy i w jaki sposób poziom testosteronu u samic zeberek *Taeniopygia guttata* wpływa na częstość kopulacji w parze i poza parą. Aczkolwiek hipoteza ta jest bardzo ciekawa, a problem ważny, to brakuje mi wyjaśnienia znaczenia wagi projektu (np. relacja EPC a dostosowanie).

Przewidywania nie są jasno sprecyzowane. Z jednej strony autorzy piszą o spodziewanym wzroście częstości kopulacji samic z wyższym poziomem testosteronu (30-31).

Jednak kilka linijek później podkreślają, że takie samice mogą być mniej atrakcyjne dla samców, co może skutkować mniejszą częstością EPC (40-41, 75-77), co dla mnie jest zaprzeczeniem poprzedniego przewidywania. Jakie są zatem przewidywania? Wyższy poziom testosteronu pozostaje bez wpływu na częstość kopulacji w parze, a obniża poza parą? Jeśli tak, to dlaczego? Brakuje też wyjaśnienia dlaczego warto podjąć ten problem, jeśli w przypadku podwyższonego poziomu testosteronu, częstość kopulacji pozapartnerskich nie przekłada się ściśle na miarę sukcesu reprodukcyjnego (liczbę potomstwa) z uwagi na obniżoną płodność?

Co oznacza sformułowanie, że „poziom testosteronu między samcami i samicami koreluje wewnątrz gatunku (...)” (54-55)?

W warunkach laboratoryjnych EPC zdarzają się ze znacznie wyższą częstością (83-87), zatem czy mają one jakiegokolwiek przełożenie na relacje w warunkach naturalnych?

W metodyce – zgodnie z chronologią wykonywanych czynności – najpierw powinna być wzmianka o eksperymencie pilotażowym. Ponadto brak sekcji „Znaczenie projektu” oraz Kosztorysu, a w łacińskiej nazwie słowa kluczowego jest błąd. Autorzy powinni unikać bardzo długich i zawiłych zdań (np. 70-75), zwrócić większą uwagę na stylistykę, błędy ortograficzne (np. ‘spoza’ a nie ‘z poza’), literówki, interpunkcję, używać określenia ‘liczba’ zamiast ‘ilość’ (np.141).

PROJEKT WERSJA OSTATECZNA:**Związek pomiędzy poziomem testosteronu a częstością kopulacji i sukcesem reprodukcyjnym samic zeberek (*Taeniopygia guttata*)****Słowa kluczowe:** testosteron, kopulacje, kopulacje pozapartnerskie, zeberka (*Taeniopygia guttata*)**Streszczenie**

O ile rola, jaką pełnią androgeny w zachowaniach seksualnych samców jest stosunkowo dobrze poznana, niewiele wiadomo jak androgeny mogą wpływać na zachowania seksualne samic i ich strategię rozrodczą. W związku z tym projekt ma na celu określenie, czy istnieje związek pomiędzy poziomem testosteronu, a częstością kopulacji u samic zeberek (*Taeniopygia guttata*). Ponieważ, u tego gatunku stwierdzono występowanie kopulacji pozapartnerskich (ang. EPC – *extra pair copulations*), planujemy również sprawdzić czy istnieje związek pomiędzy poziomem testosteronu samicy a częstością kojarzeń pozapartnerskich i liczbą potomstwa z poza pary. Rezultaty tego projektu pozwolą określić czy testosteron może pełnić rolę w mechanizmie kopulacji pozapartnerskich. Określiliśmy ponadto jak podniesiony poziom testosteronu wpływa na wielkość lęgu danej samicy i przeżywalność piskląt do momentu wylotu z gniazda. W celu odpowiedzi na te pytania planujemy przeprowadzić dwa eksperymenty, w których będziemy manipulować poziomem testosteronu. Spodziewamy się, iż testosteron spowoduje zwiększenie częstości kopulacji w parze, natomiast przyczyni się do zmniejszenia częstości kopulacji poza parą, a w konsekwencji zmniejszy się proporcja potomstwa spoza pary i obniży się sukces reprodukcyjny samicy.

Cel naukowy projektu

Celem projektu jest sprawdzenie czy istnieje związek pomiędzy poziomem testosteronu u samic, a częstością kopulacji. Stwierdzono, że podwyższony poziom testosteronu zwiększa popęd seksualny u samic drobnych gryzoni (Staub i in. 1997), jednocześnie wiadomo, że wyższy poziom testosteronu obniża płodność samic zeberek (Rutkowska 2005). Spodziewamy się, że samice z wyższym poziomem testosteronu będą częściej kopulowały z samcami, jednak nie osiągną wyższego sukcesu. Miarą sukcesu będzie wielkość lęgu i przeżywalność piskląt do okresu wylotu z gniazda.

U zeberek stwierdzono występowanie kojarzeń pozapartnerskich (EPC – ang. *extra pair copulations*) (Birkhead 1998) dlatego kolejnym celem eksperymentu będzie zbadanie czy istnieje związek pomiędzy poziomem testosteronu a częstością kopulacji pozapartnerskich. Mimo intensywnych badań dotyczących tego zagadnienia nadal nieznany jest mechanizm, jaki stoi u podstaw tego zjawiska. Wraz ze wzrostem liczby partnerów płciowych może zwiększać się ryzyko infekcji chorobami lub pasożytami (Keller i Reeve 1995), większe jest prawdopodobieństwo drapieżnictwa w czasie aktu kopulacji lub zalotów (Keller i Reeve 1995). Mimo tych kosztów, zjawisko wielokrotnych kojarzeń samic nie zostało u wielu gatunków wyeliminowane przez dobór naturalny, a samice często aktywnie poszukują kojarzeń z wieloma partnerami (Birkhead 1998). Kiedy wielokrotne kopulacje są kosztowne, samice powinny minimalizować liczbę partnerów płciowych. Ponieważ testosteron ma działanie immunosupresyjne i wpływa negatywnie na kondycję (Campbell i in. 2009), można przypuszczać, że samice

z wyższym poziomem testosteronu nie będą angażowały się w kopulacje pozapartnerskie.

Szereg badań wskazuje również, że samce zeberki również mogą decydować o wyborze partnerki do kopulacji (np. Campbell i in. 2009). Samce preferują i percypują u samic pewne cechy np. kolor dzioba, wagę, płodność oraz ich kondycję (np. Campbell i in. 2009). Oprócz negatywnego wpływu testosteronu na płodność samic, wiadomo również, że testosteron wpływa negatywnie na atrakcyjność samic poprzez maskulinizację ich cech morfologicznych (Ketersson i in. 2005). W sytuacji, kiedy samiec jest zdolny do rozróżniania jakości samic, samce mogą zmniejszać ryzyko kojarzenia się ze samicą gorszej jakości. Prawdopodobnie samice z większym udziałem potomstwa spoza pary mogą odnosić większy sukces reprodukcyjny. Jeżeli zmniejszy się częstość kopulacji pozapartnerskich zmniejszy się również udział potomstwa spoza pary. W związku z tym w badaniach tych planujemy również ustalić przy zastosowaniu metod molekularnych, jaki jest udział potomstwa spoza pary i jaki to ma związek z poziomem testosteronu u samicy i jej sukcesem reprodukcyjnym.

Istniejący stan wiedzy

Plastyczność zachowań seksualnych jest kluczowa dla zwierząt, które żyją w zmiennych warunkach środowiska. Szereg badań wskazuje na rolę androgenów w kształtowaniu zachowań seksualnych zwierząt. O ile rola, jaką pełnią androgeny w zachowaniach seksualnych samców jest stosunkowo dobrze poznana, niewiele wiadomo jak androgeny mogą wpływać na zachowania seksualne samic i ich strategie rozrodcze. Dotychczasowe badania wskazują, iż poziom testosteronu pozytywnie koreluje z częstością kopulacji pozapartnerskich u samców różnych gatunków ptaków (Garamszegi in. 2005). Poziom testosteronu we krwi zarówno u samców jak i u samic wskazuje na wahania sezonowe i dobowe, pobudzając organizm do przemian fizjologicznych. U samic testosteron jest produkowany w jajnikach, korze nadnerczy i w mózgu (Staub i in. 1997).

Dotychczasowe badania wskazują, że samice z wyższym poziomem testosteronu we krwi przejawiają bardziej agresywne zachowania w stosunku do innych samic, co więcej takie samice są mniej wybiórcze względem partnera seksualnego (Garcí'a-Vigón i in. 2008). Badania Rutkowskiej (2005) wskazują również, że samice z wyższym poziomem testosteronu mają obniżoną płodność. Zwiększony poziom testosteronu we krwi samicy może również znacznie zwiększać ich popęd płciowy. I tak u samic ryjówki domowej (*Suncus murinus*), u której nastąpił gwałtowny spadek stężenia testosteronu we krwi w wyniku obustronnej ooforektomi zaobserwowano, że podanie samicom testosteronu spowodowało wzrost aktywności seksualnej (Staub i in. 1997). Potwierdzają to również badania przeprowadzone na kobietach po menopauzie, u których suplementacja testosteronem powodowała zwiększenie popędu seksualnego (Shifren i in. 2000). Niewiele jest jednak wiadomo jak testosteron wpływa na zachowania seksualne samic ptaków. O ile nam wiadomo nie ma prac, które badałyby wpływ testosteronu na częstość kopulacji z partnerem socjalnym i spoza pary u ptaków. Jedynie badania Garcí'a-Vigón i in. (2008) przeprowadzone na naturalnej populacji szpaków sugerują, że podwyższony poziom testosteronu może wpływać na częstość kopulacji pozapartnerskich. Rezultaty uzyskane przez tych autorów dowodzą, że samice z wyższym poziomem testosteronu posiadały mniej potomstwa spoza pary, co pośrednio sugeruje, że rzadziej angażowały się w kopulacje pozapartnerskie. Ten wynik wskazuje, że testosteron może negatywnie wpływać na atrakcyjność samic zeberek, co zmniejsza ich szanse na kopulację z innym partnerem.

Metodyka

Obiektem badań będzie zeberka (*Taeniopygia guttata*), modelowy gatunek w biologii ewolucyjnej, popularny w wielu laboratoriach na świecie. Zeberki charakteryzuje wyraźny dymorfizm płciowy. Jest to gatunek monogamiczny, samica składa zwykle 2-7 jaj, a opiekę nad potomstwem sprawuje oboje rodziców (Zann 1996). Badania Birkhead'a (1998) wykazały, że w naturalnej populacji zeberek 5% kopulacji danej samicy odbywało się z samcem spoza pary, a u 8% lęgów stwierdzono, co najmniej jedno młode pochodzące z kopulacji pozapartnerskich. Natomiast w eksperymencie laboratoryjnym przeprowadzonym na zeberkach stwierdzono, że 38 % potomstwa w lęgu pochodziło spoza pary (Bolund i in. 2009). Wszystkie ptaki użyte w naszym eksperymencie będą w jednakowym wieku i pochodzić będą z hodowli Instytutu Nauk o Środowisku. W celu odpowiedzi na wyżej wymienione pytania planujemy przeprowadzenie dwóch eksperymentów. W pierwszym z nich będziemy badać wpływ podwyższonego poziomu testosteronu na częstość kopulacji, w drugim na częstość kopulacji pozapartnerskich.

Poniższe eksperymenty zostaną poprzedzone badaniem pilotażowym mającym na celu sprawdzenie, czy wśród zeberek istnieją preferencje do kopulacji o określonej porze dnia. Jeżeli okazałoby się, że istnieje jakaś wyraźna tendencja, rejestrowanie ilości kopulacji odbywałoby się w takiej porze. Ponadto eksperyment wykonywany będzie w ciągu kilku serii, tak by pozwoliła na to ilość posiadanego przez nas sprzętu (kamer cyfrowych). Wszystkie prace będą wykonywane za zgodą Komisji Etycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego.

I. Podwyższony poziom testosteronu a częstość kopulacji

W eksperymencie weźmie udział łącznie 50 par zeberek. Samice i samce w momencie kojarzenia będą wybierane losowo do grupy eksperymentalnej i kontrolnej. 25 losowo dobranych par stanowić będzie grupę eksperymentalną (samice z podwyższonym poziomem testosteronu), a pozostałe 25 par będzie stanowić grupę kontrolną. Po przyporządkowaniu samic do poszczególnych grup zostanie sprawdzone czy poziom testosteronu we krwi u samic z obu grup nie różni się. Po okresie czterech dni od momentu skojarzenia, samice z grupy eksperymentalnej dostaną zastrzyk z testosteronu (*testosteronum enanthanum*, Jelfa S.A.,) rozpuszczonego w oleju (*paraffinum liquidum*). Właściwa dawka zostanie skonsultowana z dr Joanną Rutkowską, która stosowała nastrzykiwanie testosteronem w swoim eksperymencie. Samice z grupy kontrolnej otrzymają zastrzyk tylko z olejem. Od tego momentu codziennie przez okres dwóch godzin (jedną godzinę w godzinach przedpołudniowych drugą w godzinach popołudniowych) na nagraniu video rejestrowane będzie zachowanie pary w celu późniejszej określenia liczby kopulacji. Rejestrowanie zachowań potrwa do momentu zniesienia pierwszego jaja u każdej samicy, ponieważ samice zeberek niechętnie przystępują do kopulacji po tym czasie (Birkhead 1998). W celu określenia sukcesu danej samicy zostaną zebrane dane dotyczące wielkości lęgu i przeżywalności piskląt do momentu wylotu z gniazda.

Wynikiem tej części eksperymentu będzie liczba kopulacji u samic z grupy eksperymentalnej i kontrolnej. Określona zostanie również miara sukcesu danej samicy na podstawie wielkości lęgu i przeżywalności piskląt do okresu wylotu z gniazda.

II. Podwyższony poziom testosteronu a częstość kopulacji pozapartnerskich oraz liczba potomstwa z poza pary

W eksperymencie weźmie udział 50 losowo dobranych par zeberek, z czego analogicznie jak w eksperymencie I z zastosowaniem tych samych dawek testosteronu 25 par stanowić będzie

grupę eksperymentalną (samice z podwyższonym poziomem testosteronu), a pozostałe 25 grupę kontrolną. W celu kontrolowania efektu testosteronu na atrakcyjność samicy, sprawdzany będzie kolor dzioba i kondycja samicy przed i po zabiegu nastrzyknięcia testosteronem. Kondycja samicy wyrażona, będzie jako resztkowe wartości masy ciała i skoku. Ponadto w eksperymencie weźmie udział 50 doświadczonych samców (przebywających na stałe w wolierze ze swoimi partnerkami), które posłużą jako potencjalni partnerzy spoza pary. Każdego dnia z klatki o godz. 10.00 i 16.00 na jedną godzinę zabierany będzie stały partner samicy, gdyż zwykle do kopulacji pozapartnerskich dochodzi podczas nieobecności samca w gnieździe (Birkhead 1998). W tym czasie do klatki wpuszczony będzie wybrany losowo samiec, a zachowanie ptaków będzie rejestrowane na nagraniu video w celu późniejszego określenia liczby kopulacji z partnerem spoza pary. Schemat ten powtarzany będzie do momentu zniesienia pierwszego jaja. Kolejnym etapem będzie określenie liczby potomstwa z EPC oraz wielkości lęgu i przeżywalności piskląt do czasu wylotu z gniazda. Aby określić liczbę piskląt spoza pary porównamy genotypy rodziców i potomstwa. W tym celu pobierzemy krew od piskląt lub wykorzystamy embriony do wyizolowania DNA. W analizach ojcostwa wykorzystamy 5 mikrosatelitarnych loci, które zostały wcześniej opracowane (Forstmeier i in. 2007).

Sprzęt potrzebny do tego celu dostępny jest w laboratoriach Instytutu Nauk o Środowisku UJ. (zestawy do izolacji DNA z krwi, startery mikrosatelitarne, zestawy do reakcji PCR). Procedury genetyczne są z powodzeniem stosowane w naszym Instytucie i posiadamy doświadczenie w tego typu analizach. Szacowana liczba potomstwa wynosi około 350 piskląt.

Wynikiem tej części eksperymentu będzie liczba kopulacji z partnerem spoza pary oraz liczba potomstwa spoza pary określona dla grupy eksperymentalnej i kontrolnej. Ponadto określona zostanie wielkość lęgu danej samicy i przeżywalność piskląt do momentu wylotu z gniazda.

Sprzęt i zaplecze techniczne:

- dwie wolierzy w pomieszczeniu klimatyzowanych z regulacją oświetlenia
- 50 klatek
- termocykler
- sekwenator

Analiza statystyczna

Do opracowań statystycznych zastosujemy analizę kowariancji. Rozpatrywane będą zmienne zależne: liczba kopulacji przypadających na jedną samicę, sukces lęgowy samicy (wielkość lęgu i liczba piskląt opuszczających gniazdo), liczba kopulacji spoza pary przypadających na jedną samicę, proporcja potomstwa spoza pary przypadająca na jedną samicę. Ponieważ samice będą różnić się czasem od momentu nastrzykiwania do złożenia pierwszego jaja, w analizach liczby kopulacji uwzględnimy jedynie liczbę kopulacji w ciągu 4 dni przed złożeniem pierwszego jaja. Jako kowariatę uwzględnimy datę złożenia pierwszego jaja i atrakcyjność samicy. W analizie liczby piskląt opuszczających gniazdo uwzględnimy ponadto numer samicy jako zmienną losową. Zmienną niezależną będzie typ zabiegu. Proponowana wielkość próby została ustalona na podstawie wyników badań (Garci'a-Vigón i in. (2008).

Kosztorys projektu badawczego

Zestawy do izolacji DNA (Qiagen)	3 000 zł
Zestawy do reakcji PCR	6 000 zł
Startery mikrosatelitarne	5 000 zł
Pokarm dla zeberek (Megan, Kraków), jajka	1500 zł
Kamera cyfrowa (10 sztuk)	8 000 zł
Macierze (dyski twarde) do przechowywania zarejestrowanych danych	5 000 zł
Pipety wielokanałowe (2 sztuki)	10 000 zł
Budki lęgowe (200 sztuk)	200zł
Testosteron	600 zł
Olej parafinowy 100 zł	100 zł
Strzykawki (300 sztuk)	100 zł
Igły (600 sztuk)	60 zł
Ependorfy (1000 sztuk)	100 zł
Płytki do PCR	1000 zł
Ependorfy do PCR	100 zł
Zestaw do oznaczenia poziomu testosteronu we krwi samic (2 płytki x 96 prób)	2 000 zł
Konferencja (w tym konferencja w Australii – dwóch uczestników)	20 000 zł

SUMA 62 000 zł**Harmonogram zadań**

Lp.	Nazwa zadania badawczego	Termin rozpoczęcia/zakończenia	Przewidywane koszty
1.	Eksperyment I - przeprowadzany we wszystkich klatkach jednocześnie (pozwala na to 10 kamer i konstrukcja eksperymentu), badanie przeżywalności piskląt oraz izolacja DNA	01.11.10 r. – 31.11.10 r.	5 000 zł
2.	Eksperyment II – przeprowadzany w 5 seriach (w tym eksperymencie możliwa jest obserwacja tylko w 10 klatkach jednocześnie), badanie przeżywalności oraz izolacja DNA	1.01.11 r. – 31.05.11 r.	15 000 zł
3.	Badania molekularne	1.06.11 r. – 5.06.11 r.	22 000 zł
4.	Analiza statystyczna i opracowanie wyników	1.06.11 r. – 31.07.11 r.	
5.	Wyjazd na konferencje	12.08.11 r. – 25.08.11r.	20 000 zł

Wymierny udokumentowany efekt podjętego problemu

1. Publikacje w międzynarodowych czasopismach naukowych, takich jak: *Hormons and Behaviour*, *Animal Behaviour*
2. Prezentacja na międzynarodowej konferencji Ekologii Behawioralnej w Australii (dwóch uczestników)
3. Prezentacja na konferencji krajowej: Warsztaty Biologii Ewolucyjnej w Warszawie.

Literatura

Birkhead T.R., Fletcher F., Pellatt E.J. Sexual selection in the zebra finch *Taeniopygia guttata*: condition, sex traits and immune capacity. *Behav. Ecol. Sociobiol* 1998; 44: 179–191.

Bolund E., Schielzeth H., Forstmeier W. Compensatory investment in zebra finches: females lay larger eggs when paired to sexually unattractive males. *Proc. R. Soc. B* 2009; 276, 707–715.

Campbell D. , Hauber M. Spatial and behavioural measures of social discrimination by captive male zebra finches: Implications of sexual and species differences for recognition research. *Behavioural Processes* 2009; 80; 90–98.

Forstmeier W, Schielzeth H, Schneider M, Kempenaers B. Development of polymorphic microsatellite markers for the zebra finch (*Taeniopygia guttata*) *Molecular Ecology Notes* 2007; 7, 1026–1028

Garci'a-Vigo E., Cordero J., Veiga P. Exogenous testosterone in female spotless starlings reduces their rate of extrapair offspring *Animal Behaviour* 2008; 76, 345-353.

Garamszegi L. Z., Eens M., Hurtrez-Boussès S. & Møller, A. P. 2005. Testosterone, testes size, and mating success in birds: a comparative study. *Hormones and Behavior* 2005; 47, 389 – 409.

Keller, L. i Reeve, H. K. Why do females mate with multiple males? The sexually selected sperm hypothesis. *Adv. Stud. Behav* 1995: 24. 291-315

Ketterson, E. D., Nolan, V., Jr. & Sandell, M. Testosterone in females: mediator of adaptive traits, constraint on sexual dimorphism, or both? *American Naturalist* 2005, 166, 85-98.

Rutkowska J., Cichon M., Puerta M. i Gil D. Negative effects of elevated testosterone on female fecundity in zebra finches. *Hormones and Behavior* 2005; 47, 585-591.

Shifren J.L., Braunstein G.D., Simon J.A. i in. Transdermal testosterone treatment in women with impaired sexual function after oophorectomy. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343: 682–688.

Staub N. L. i De Beer, M. The role of androgens in female vertebrates. *General and Comparative Endocrinology.* 1997; 108, 1-24.

Zann R.A. The zebra finch: a synthesis of field and laboratory studies. *Oxford University Press* 1996.

2. Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej (*Triturus cristatus*, Laurenti 1768)

Katarzyna Ciura, Joanna Kajzer, Marcin Nielubowicz

PIERWSZA WERSJA PROJEKTU:

Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej *Triturus cristatus* (Laurenti 1768)

Streszczenie

Płazy są grupą kręgowców globalnie narażoną na wyginięcie, ze względu na zanik, fragmentację, obniżenie jakości siedlisk, inwazyjne gatunki obce, zmiany klimatyczne, promieniowanie UV, zanieczyszczenia chemiczne, choroby oraz deformacje.

Traszka grzebieniasta jest gatunkiem parasolowym, chronionym w Polsce i na świecie. Obecnie ochrona traszek koncentruje się na zapewnieniu im optymalnych warunków i siedlisk do rozrodu.

Aktualnie znanych jest wiele czynników wpływających na przeżywalność i kondycję traszek w krytycznym momencie ich życia: podczas stadium larwalnego. Do najważniejszych należą: temperatura wody, presja drapieżników, poziom zanieczyszczenia zbiorników oraz zmiana hydroperiodu (czasu istnienia zbiornika). Niewystarczający jest natomiast stan wiedzy na temat wpływu hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszek i ich zdolności do adaptacji, w kontekście rosnącej liczby mniej atrakcyjnych zbiorników efemerycznych.

Celem projektu jest eksperymentalne uzyskanie odpowiedzi na pytanie: czy larwy traszki grzebieniastej (*Triturus cristatus*) w odpowiedzi na zmieniający się hydroperiod (czas istnienia zbiornika) wykazują plastyczność rozumianą jako szybsze przeobrażenie i czy odbywa się to kosztem ich kondycji?

We współpracy z Katedrą Ichtiologii i Rybactwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, przeprowadzony zostanie eksperyment polegający na manipulacji poziomem wody w zbiornikach w warunkach standaryzacji pozostałych czynników, które mogą mieć wpływ na tempo przeobrażenia.

Uzyskane wyniki znajdą zastosowanie w praktycznej ochronie płazów i ich siedlisk. Nasze wyniki wykażą także, czy adaptacja do gorszych warunków odbywa się kosztem kondycji dorosłych płazów.

1. Cel naukowy projektu

Płazy są obecnie zagrożone wyginięciem w skali światowej, jedną z głównych przyczyn takiego stanu jest zanik, fragmentacja oraz obniżenie jakości siedlisk (np. Hamer, 2008). Obecnie znanych jest wiele czynników wpływających na przeżywalność traszek w krytycznym momencie ich życia: podczas stadium larwalnego. Do najważniejszych należą: temperatura wody, presja drapieżników, poziom zanieczyszczenia zbiorników oraz zmiana hydroperiodu (czasu istnienia zbiornika) (np. Rohr i in, 2004).

Na podstawie monitoringu traszki grzebieniastej *Triturus cristatus* (Laurenti, 1768) przeprowadzonego w Polsce w latach 2007-2008 wiadomo, że metamorfy znajdowane

w zbiornikach wysychających mają znacznie mniejsze rozmiary ciała niż te, które przeobrażają się w warunkach stałego hydroperiodu (Pabijan, 2008; Bonk, inf. ustna). Niewystarczający jest natomiast stan wiedzy na temat wpływu hydroperiodu na tempo przeobrażenia.

Celem projektu jest eksperymentalne uzyskanie odpowiedzi na pytanie: czy larwy traszki grzebieniastej w odpowiedzi na zmieniający się hydroperiod wykazują plastyczność rozumianą jako szybsze przeobrażenie i czy odbywa się to kosztem ich kondycji?

Zakładamy, że (1) Zbyt szybkie wysychanie zbiornika uniemożliwia przeobrażenie larw; (2) Stadium larwalne traszek trwa krócej w warunkach skracającego się hydroperiodu; (3) Liczebność metamorfów jest różna w zależności od hydroperiodu; (4) Metamorfy ze zbiorników efemerycznych mają istotnie mniejsze rozmiary ciała.

Efektom końcowym będzie stwierdzenie czy skracający się hydroperiod powoduje powstanie adaptacji larw do szybszego przeobrażenia i czy koszty z tym związane mają bezpośrednie przełożenie na kondycję zwierząt.

Eksperyment zostanie wykonany we współpracy z Katedrą Ichtiologii i Rybactwa (KIiR) Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, z udziałem dr Szymachy, kierownika stacji.

2. Znaczenie projektu

Traszka grzebieniasta jest jednym z gatunków parasolowych o dużych wymaganiach siedliskowych, w związku z czym siedliska, które zajmuje charakteryzują się dużą różnorodnością gatunkową.

Gatunek ten objęty został programem Natura 2000 (dyrektywa 92/43/EWG w sprawie ochrony siedlisk naturalnych oraz dzikiej fauny i flory – Załącznik II i IV) oraz Konwencją Berneńską – Załącznik II. Znajduje się także na czerwonej liście IUCN, w polskiej czerwonej księdze i polskiej czerwonej liście ma status NT (takson podwyższonego ryzyka).

Z monitoringu traszki grzebieniastej w Polsce wynika, że rozród, a tym samym przetrwanie płazów zależy od stanu zbiorników wodnych. Czynniki wpływającymi na atrakcyjność zbiornika jako miejsca do rozrodu są: dostępność pokarmu, brak obecności drapieżników i ptaków wodnych, odpowiednia głębokość i powierzchnia zbiornika.

W związku z silną antropopresją obserwuje się postępującą utratę siedlisk w Polsce. Wynika ona zarówno ze zmieniających się stosunków wodnych, osuszania terenów podmokłych/melioracji, jak i niszczenia siedlisk (zasypywanie zbiorników, zabudowa). Pod wpływem tak silnej presji płazy zmuszone są do wykorzystywania zbiorników mniej atrakcyjnych, co może wiązać się z ich adaptacją do nowych warunków.

Rezultatem projektu będzie poznanie stopnia plastyczności traszek grzebieniastych w obliczu zmieniających się stosunków hydrologicznych.

Uzyskane wyniki będą miały bezpośrednie implikacje zarówno dla ochrony płazów i ich siedlisk, jak i wykazanie stopnia adaptacyjności w obliczu pogarszających się warunków siedliskowych. Nasze wyniki wykażą, czy adaptacja do gorszych warunków odbywa się kosztem kondycji dorosłych płazów, co może skutkować osłabieniem kondycji w skali wielopokoleniowej.

Nasze badania rozpoczną serię eksperymentów sprawdzających adaptacyjność różnych płazów do pogarszających się warunków hydrologicznych w Polsce: eutrofizacja, zanieczyszczenia chemiczne wód. Będzie to miało znaczenie w praktycznym planowaniu ochrony gatunkowej płazów w Centralnej Europie.

3. Istniejący stan wiedzy

Płazy są grupą kręgowców zagrożonych wyginięciem w skali globalnej. Blisko 1/3 gatunków płazów grozi ekstynkcja. Główne zagrożenia to utrata i fragmentacja siedlisk, inwazyjne gatunki, zmiany klimatyczne, promieniowanie UV, zanieczyszczenia chemiczne, choroby oraz deformacje (Houlahan, 2000; Stuart, 2004; Young i in., 2001). Największą śmiertelność płazów obserwuje się podczas rozrodu (z dwoma krytycznymi momentami: wyjście z osłon jajowych i przeobrażenie). Stąd ważne jest poznanie czynników wpływających na przeżywalność form młodocianych.

Obecnie wiadomo, że pewne czynniki wpływają na szybsze przeobrażanie się larw traszki grzebieniastej. Dotychczas wykazano, że wyższa temperatura indukuje szybsze tempo przeobrażenia (Juszczak i in., 1987). Ponadto wiadomo, że na przeżywalność larw i kondycję metamorfów mają wpływ m.in. zagęszczenie osobników (Martinez i in., 1996), jakość zbiornika (Skelly, 1999) oraz hydroperiod (Boone & Semlitsch, 2002; Rohr i in., 2004).

W optymalnych warunkach długość życia larwy od opuszczenia osłon jajowych do przeobrażenia trwa średnio 3 miesiące. Traszki grzebieniaste najczęściej zasiedlają zbiorniki niewielkie (pow. ok. 700 m²), wysychające 2 razy w ciągu dekady, zacienione w max 60 %, bez wpływu ptaków wodnych i ryb, o lustrze wody pokrytym roślinnością w 60-100% (Oldham i in., 2000).

W przypadku braku odpowiedniego zbiornika traszki podejmują rozród w siedliskach mniej atrakcyjnych: zbiornikach stałych, gdzie larwy, które aktywnie żerują w toni wodnej narażone są na drapieżnictwo ze strony ryb. Z kolei rozród w efemerycznych zbiornikach stwarza zagrożenie dla sukcesu rozrodczego, z powodu zbyt szybkiego wysychania zbiorników.

Obecnie brakuje doniesień odnośnie wpływu hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszek i ich zdolności do adaptacji w kontekście rosnącej liczby mniej atrakcyjnych zbiorników efemerycznych.

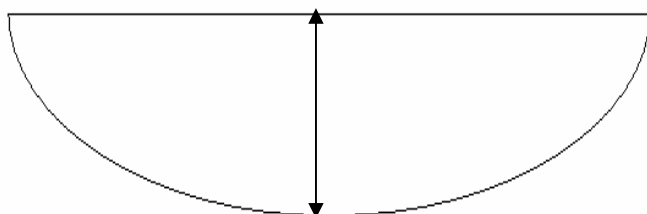
4. Metodyka badań

a. Warunki hodowli

Dorośle, zdolne do rozrodu traszki pozyskane zostaną z jednej populacji w celu uniknięcia różnic międzypopulacyjnych. Warunkiem rozpoczęcia eksperymentu będzie uzyskanie synchronicznego rozmnażania płazów. Złożone jaja zostaną losowo umieszczone w liczbie 50 sztuk w 20 zbiornikach eksperymentalnych w każdym. Po 6 - 7 dniach larwy opuszczą osłonki jajowe i będą rozwijać się przez miesiąc bez manipulacji eksperymentalnej.

W każdym zbiorniku o powierzchni 100x100 i maksymalnej głębokości 60cm (Ryc. 1) zapewnione zostaną stałe, zestandaryzowane, optymalne warunki dla rozwoju larw: stała temperatura 20° C (temperatura optymalna w warunkach laboratoryjnych mieści się w granicach: 19,4 – 20,6° C; Juszczak, 1987), dostępność pokarmu, odpowiednie schronienia (obfitość roślinności wodnej) oraz zacienienie. Temperatura będzie regulowana za pomocą grzałek wyposażonych w termostat, a fotoperiod za pomocą lamp fluorescencyjnych T5, o czasie pracy regulowanym zegarem. System filtracyjny stanowić będą filtry kubełkowe Tetratrec 2400, zapewniające filtrację mechaniczną i biologiczną. Ubytki wody na skutek parowania będą uzupełniane automatycznie za pomocą ewaporyzatorów. W centralnej części każdego basenu zostanie umieszczona podziałka (skala w mm), pozwalająca oszacować ubytek poziomu wody w zbiorniku. Każdy zbiornik zostanie zabezpieczony siatką plastikową w celu zatrzymania metamorfów, które będą opuszczać zbiornik.

Zbiorniki odpowiednie dla naszego eksperymentu znajdują się w Sali Akwariowej KIIIR UR. Pracownicy KIIIR UR posiadają niezbędne zaplecze techniczne oraz odpowiednią wiedzę do wykonywania doświadczeń dotyczących: wpływu fotoperiodu, hydroperiodu oraz rodzaju pożywienia na zwierzęta wodne.



Rys. Kształt i głębokość zbiornika eksperymentalnego, głębokość maksymalna 60 cm.

b. Model eksperymentalny

Po miesiącu rozpoczniemy manipulację hydroperiodem. Polegać będzie ona na zmniejszeniu poziomu wody w trzech grupach i utrzymaniu stałego poziomu wody w grupie kontrolnej (po 5 zbiorników każda):

- I. Kontrolna (stały poziom wody)
- II. Eksperymentalna (poziom 30 cm po 2 miesiącach od rozpoczęcia manipulacji)
- III. Eksperymentalna (całkowity brak wody po 2 miesiącach od rozpoczęcia manipulacji)
- IV. Eksperymentalna (całkowity brak wody po 1 miesiącach od rozpoczęcia manipulacji)

Woda będzie usuwana w sposób ciągły w tempie, by poziom wody mierzony w stałym punkcie zmniejszał się codziennie o około 0,5 cm (grupa II), 1 cm (grupa III) i o około 2 cm (grupa IV).

c. Zbieranie danych

Podczas obserwacji (pierwszy miesiąc eksperymentu: 6 kontroli; dwa kolejne: 30 kontroli) zebrane zostaną dane odnośnie (1) liczby larw, które opuściły osłonki jajowe, (2) liczby metamorfów, które opuściły zbiornik, (3) pomiary długości i masy ciała metamorfów oraz (4) czasu, który potrzebny był larwom na przeobrażenie.

d. Analiza statyczna

Do analizy wykorzystany zostanie współczynnik korelacji Spearmana (Łomnicki, 2006). Zmienną zależną będzie średnia liczba metamorfów w każdej z grup, ich kondycja oraz czas potrzebny na przeobrażenie. Natomiast zmienna niezależna to zmniejszający się poziom wody. Dodatkowo sprawdzone zostaną różnice w liczbie larw, które opuściły osłonki jajowe w poszczególnych zbiornikach przy wykorzystaniu analizy wariancji.

Nasz zespół posiada doświadczenie w zbieraniu i analizowaniu danych z eksperymentów terenowych oraz laboratoryjnych. Posiadamy rozległą wiedzę na temat biologii traszki grzebieniastej i doświadczenie w hodowli płazów.

5. Wymierny, udokumentowany efekt podjętego projektu

Zakładamy opublikowanie wyników w międzynarodowych czasopismach, prezentacje wyników na krajowych i międzynarodowych konferencjach herpetologicznych. W projekcie będą brali udział studenci.

6. Literatura

- Boone M.D., Semlitsch R.D. (2002) „Interactions of an insecticide with competition and pond drying in amphibian communities”. *Ecological Applications* 12: 307 – 316.
- Hamer A.J., McDonnell M.J. (2008) “Amphibian ecology and conservation in the urbanising world: A review”. *Biological conservation* 141: 2432 – 2449.
- Houlahan J.E., Fidler C.S., Schmidt B.R., Meyer A.H., Kuzmin S.L. (2000) “Quantitative evidence for global amphibian population decline”. *Nature* 404: 752 – 755
- Juszczak W. (1987) „Płazy i gady krajowe”. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Łomnicki A. (2006) „Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników”. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Martinez I.P., Alvarez R., Herraes M.P. (1996) “Growth and metamorphosis of *Rana perezi* larvae in culture: effects of larval density”. *Aquaculture* 142: 163 – 170.
- Oldham R.S., Keeble J., Swan M.J.S., Jeffcote M. (2000) “Evaluating the suitability of habitat for the great crested newt”. *Herpetological Journal* 10: 143 – 156.
- Pabijan M. (2008) “Metodyka monitoringu - przewodnik metodyczny. Traszka grzebieniasta”.
- Rohr J.R., Elskus A.A., Shepherd B.S., Crowley P.H., McCarthy T.M., Niedzwiecki J.H., Sager T., Sih A., Palmer B.D. (2004) “Multiple stressors and salamanders: effects of an herbicide, food limitation and hydroperiod”. *Ecological Applications* 14: 1028 – 1040.
- Skelly D.K., Werner E.E., Cortwright S.A. (1999) “Long – term distributional dynamics of a michigan amphibian assemblage”. *Ecology* 80: 2326 – 2337.
- Stuart S.N., Chanson J.S., Cox N.A., Young B.E., Rodrigues A.S.L., Fischman D.L., Waller R.W. (2004) “Status and trends of amphibian declines and extinction worldwide”. *Science* 306: 1783 – 1786.
- Young B.E., Lips K.R., Reaser J.K., Ibanez R., Salas A.W., Cedeno J.R., Coloma L.A., Ron S., La Marca E., Meyer J.R., Munoz A., Bolanoz F., Chaves G., Romo A.D. (2001) „Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America”. *Conservation Biology* 15: 1213 – 1223.

7. Harmonogram wykonania projektu badawczego – plan zadań

Lp.	Nazwa zadania badawczego	Termin rozpoczęcia*/ ----- zakończenia*/ zadania	Przewidywane koszty (zł)
1	2	3	4
1	Przygotowanie stawków eksperymentalnych	0 – 2	25 000
2	Przygotowanie zwierząt do eksperymentu	3 – 4	2 500
3	Przeprowadzenie eksperymentu	5 – 8	2 000
4	Analiza danych	9 – 10	1 000
5	Przygotowane publikacji oraz wystąpienia konferencyjne	11 - 14	25 000
RAZEM			55 500

8. Kosztorys projektu badawczego

Lp.	Treść	Planowane koszty w roku				
		2009	2010	2011	...	Razem
1	2	3	4	5	6	7
1	Koszty bezpośrednie	55 500	22 000	0	0	77 500
	w tym:				0	
	1/ Wynagrodzenia z pochodnymi	20 000	2 000	0		22 000
	2/ Inne koszty realizacji projektu (łącznie z kosztem zakupu lub wytworzenia aparatury naukowo - badawczej)	3 500	20 000	0	0	55 500
2	Koszty pośrednie (25% od kosztów innych niż aparatura)	13 875	5 500	0	0	37 375
3	Koszty ogółem finansowane ze	69 375	27 500	0	0	96 875

	środków finansowych na naukę (1+2)					
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	0	0	0	0	0
5	Koszty ogółem (3+4)	69 375	27 500	0	0	96 875

RECENZJE:**Natalia Pitala****Recenzja projektu: „Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej *Triturus cristatus* (Laurenti 1768)”**

Nie jest kwestią sporną, że aktywność człowieka wywołuje szereg zmian w środowisku naturalnym, zmieniając warunki życia populacji roślin i zwierząt. W obliczu dokonującego się zaniku bioróżnorodności, ciągle ważne jest pytanie, jak organizmy mogą reagować na zmiany zachodzące w ich środowisku.

Autorzy projektu podjęli próbę zmierzenia się z tym problemem. Moim zdaniem niezbyt udaną, nie tyle ze względu na zaproponowany eksperyment, który sam w sobie jest dość ciekawy (choć nie zajmując się tą dziedziną nie umiem powiedzieć, na ile wzbogaci obecny stan wiedzy), co na umieszczenie go w szerszym kontekście. Odnoszę wrażenie, że autorzy wymiennie używają terminów *plastyczność* i *adaptacja* na określenie tego samego zjawiska. Oba te zagadnienia mają ogromne znaczenie dla funkcjonowania populacji w zmieniającym się środowisku, ale na pewno nie są tożsame. Czym innym jest plastyczność fenotypowa (badana w tym projekcie) umożliwiająca modyfikację fenotypu w zależności od warunków środowiska, a czym innym przystosowanie (adaptacja) do tych warunków w sensie ewolucyjnym (zmiany zachodzące na poziomie genetycznym). Poznanie jak zachodzą oba te procesy jest potrzebne dla skutecznego planowania ochrony gatunków, ale trzeba wiedzieć, co się bada.

Jeśli chodzi o metodologię eksperymentu, to sędzę, że bardziej interesujące byłoby pozyskanie traszek z kilku populacji, i zaplanowanie eksperymentu w ten sposób, aby zbadać czy występują różnice między populacjami. Nie jest do końca jasne, a ważne, jak jaja zostaną przydzielone do poszczególnych zabiegów i zbiorników. Czy będą pochodzić od jednej, czy od kilku samic? Nie wiem ile jaj składają traszki. Przydałoby się trochę informacji na temat biologii rozrodu tego gatunku. Jak zostanie uzyskane: „synchroniczne rozmnażanie płazów“?

Nie rozumiem, do czego dokładnie autorzy chcą użyć współczynnika korelacji i dlaczego Spearmana. (Nawiasem mówiąc, współczynnik korelacji nie jest jakąś nowatorską techniką, więc cytacja jest zbędna. Brakuje natomiast wielu cytacji w innych częściach projektu). Analiza wariacji lub kowariancji (lub GLM) nie jest tu „dodatkiem” ale podstawową metodą w analizie tego eksperymentu.

Emilia Grzędzicka**Recenzja projektu „Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej *Triturus cristatus* (Laurenti 1786)”**

Spośród wszystkich czterech pomysłów podczas warsztatów ten podoba mi się najbardziej, ponieważ ma jednoznacznie wyartykułowane motywy: jest traszka grzebieniasta, która wymaga pilnej ochrony i są korzystne dla niej zbiorniki, gdzie problemem jest coraz szybsze wysychanie, co może powodować, że giną kolejne stanowiska płaza. Przesłanki do przeprowadzenia projektu są wyraźne, a sam temat ważny i godny uwagi. Niemniej jednak brakuje elementów niezbędnych w nauce. Po pierwsze, nie ma nigdzie określonych przewidywań. Hipotezy zawsze warto sobie stawiać, najwyżej wyniki je obalą. Warto również je przemyśleć, żeby odpowiednio wcześniej

przewidzieć każdą ewentualność, także swój potencjalny błąd. W ochronie przyrody za każde uchybienie badacza płaci sama natura, a straty mają bardzo wysoką cenę. Wątpliwości wzbudza też samo pojęcie „hydroperiod” oraz brak odniesienia potencjalnych jego inklinacji do praktyki (ochrony), ale o tym za chwilę.

Z rzeczy formalnych. Wydaje mi się, że streszczenie powinno być inaczej zbudowane: sporo jest o celu projektu oraz zastosowaniu wyników – tymczasem jeden akapit warto poświęcić na zwięzły opis samego eksperymentu. W rozdziale drugim i trzecim niektóre zagadnienia się powtarzają. Może lepiej w punkcie drugim skupić się na zagrożeniach traszki grzebieniastej, by podkreślić wagę projektu, a w trzecim zacytować artykuły, które to zagrożenie udowadniają i są pretekstem do kolejnych pytań? Punkt trzeci ma chyba z założenia wychwycić, czego nie wiadomo. I faktycznie jest informacja, że badań nad wpływem hydroperiodu na tempo przeobrażenia brakuje. Eksperyment brzmi logicznie i jasno, niemniej jednak autorzy nie wyjaśniają zasady uzupełniania parującej wody przez ewapotranspiratory. Nie znam się na tym. Zbiornik jest nieckowaty, co oznacza, że razem z ubytkiem cieczy, powierzchnia wody – a tym samym parowania – będzie się zmniejszać. Czy uzupełnienie będzie do tego dostosowywane, czy też ewapotranspirator zostanie ustawiony na z góry przyporządkowaną do danego zbiornika wartość? Jak udowodnić, że do zbiornika trafi dokładnie tyle, ile wyparowało? Jeszcze ciekawszy jest fakt, że eksperyment opiera się na stopniowym ubytku wody, a parowanie nie jest tu pożądane. Wiem, że jest to niezbędne dla stworzenia określonych warunków, ale można by było wliczać parowanie w ubytek wody i nie uzupełniać go. Może wystarczy zmierzyć, ile wyparowało? Czy standaryzowane warunki oznaczają jednakową zawartość pierwiastków w wodzie? Jak będzie umieszczona siatka, która ma zatrzymać metamorfy? Czy traszki mogą się podkopać, jeżeli znajdą bardziej rozmoknięty kawałek terenu pod folią? Standardy zbiorników to jedno, ale warto zasygnalizować jak zostaną rozwiązane wymienione przed chwilą kluczowe problemy, żeby wzmocnić możliwość uzyskania wyników już na etapie projektu.

Jednym z założeń jest fakt, że przy szybciej wysychających zbiornikach larwy są mniejsze, a powodem jest taki a nie inny hydroperiod zbiornika. A jeśli mniejsze rozmiary ciała są adaptacją do zaistniałych warunków, a bezpośrednią przyczyną utrata wody na poziomie kijanki, a nie zbiornika? Niemniej jednak dalej można przeczytać, że faktycznie mniejsze rozmiary ciała są adaptacją (to chyba bezpieczniejsze słowo niż użyta plastyczność). Idąc dalej tym tropem: czy to nie jest tak, że szybsze przeobrażenie będzie reakcją na wysychające środowisko, ale nie musi od razu oznaczać głównego czynnika zagrażającego traszce grzebieniastej? Tak jak wszystko w ochronie przyrody, zanikanie stanowisk gatunku jest problemem znacznie bardziej złożonym. Nie rozumiem za bardzo, dlaczego hydroperiod ma mieć decydujący wpływ na stan populacji traszek. Słowo to jest troszkę za często używane. W projekcie pojawia się np. stwierdzenie, że zbiorniki miewają stały hydroperiod. Może tylko średni poziom wody? Są takie w ogóle? W naturze występują roztopy, deszcze, wylewy – nawet kałuża nie ma stałego hydroperiodu. A organizmy muszą jakoś się do tego przystosowywać. Ciężko udowodnić, że to im zagraża... Jak już wspomniano, brakuje przewidywań, które wskazałyby, dlaczego wiedza o zależności tempa przeobrażenia kijanki od zmian poziomu wody ma pomóc w ochronie traszki grzebieniastej. Domyślam się, że oznacza to ingerencję w hydrologię siedlisk płaza. Ale to tylko moja myśl, ja się nie znam.

Podsumowując, projekt ma dobre założenia, jest potrzebny i umotywowany. Moim zdaniem warto bardziej dopracowywać takie pomysły, niż finansować kolejne prostsze doświadczenia w laboratorium o łatwo sprawdzalnych hipotezach, ale bez praktycznego zastosowania. Brakuje mi jednak mimo wszystko przewidywań, które dodałyby walorów tzw. „naukowych”. Warto również jeszcze raz przemyśleć, czy to właśnie hydroperiod decydująco wpływa na status traszki

grzebieniastej oraz jakie konkretne zabiegi ochronne można opracować uzyskując wiedzę na ten temat. Bo może się okazać, że wystarczy poprzestać na monitoringu stanowisk opisywanego gatunku bez eksperymentu dotyczącego tylko jednego z wielu zagrożeń – angażującego i tak już zmęczone działaniami człowieka stworzenia.

Punktacja:

1. Wartość naukowa/ innowacyjność projektu: 3
 2. Poprawność metod badawczych: 1
 3. Zasadność planowanych kosztów: 1
 4. Realna możliwość wykonania projektu: 2
- Suma: 7 pkt.

Aneta Arct

Recenzja projektu „Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej *Triturus cristatus* (Laurenti 1786)”

W pracy tej autorzy nie jasno wyjaśniają kluczowe pojęcie „hydroperiodu” - raz jest mowa o czasie istnienia zbiornika, następnie jest mowa o tempie wysychania zbiornika. Nie rozumiem, co oznacza stały hydroperiod?. W związku z tym z postawionego celu nie wynika jasno, jaki czynnik autorzy chcą badać (czy wiek zbiornika czy tempo jego wysychania). Domyślam się, że jednak chodzi o tempo wysychania tych zbiorników. W celu powinno się znaleźć, jakie cechy kondycji traszek będą brane pod uwagę. Autorzy dobrze argumentacją wybór tematu, który może mieć nie tylko znaczenie dla zrozumienia zagadnień związanych z ekologią ewolucyjną, ale również znaczenie praktyczne. Nie bardzo jednak rozumiem, dlaczego akurat ten eksperyment miałby zapoczątkować serię innych eksperymentów.

W istniejącym stanie wiedzy: brakuje, podania, jakie zależności między hydroperiodem, a przeżywalnością larw traszek wykazali Boone i Semlitsch 2002 oraz Rohr i in. 2004 co na potrzeby tego projektu jest kluczowe. O tym jak długo żyją larwy raczej wspominałabym w metodach. Metody: autorzy w ostatnim akapicie przekonują recenzenta, że posiadają wiedzę i doświadczenie w takich badaniach, a wcześniej raczej zapewniają recenzenta, że będą się opierać na wiedzy i doświadczeniu pracowników KIR UR to nie budzi zaufania. Ponadto autorzy nie wspominają czy w warunkach eksperymentalnych traszki grzebieniaste z powodzeniem się hodują i rozmnażają. Warto na potrzeby tego eksperymentu wspomnieć o eksperymentie pilotażowym, który np.: konieczny do ustalenia liczby larw, jakie zostaną wpuszczone do zbiornika. Nie rozumiem, po co uzupełniać wyparowaną wodę, jeżeli chcecie ją później usuwać raczej trzeba byłoby napisać, że będziecie wyrównywać poziom wody do oczekiwanego. Brak uzasadnienia, dlaczego w pierwszym miesiącu będzie tylko 6 kontroli a dwóch kolejnych 30 kontroli. Dane dotyczące liczby larw, które opuściły osłonki jajowe powinny zostać zebrane przed przystąpieniem do eksperymentu. Analizy statystyczne: taki sposób analizy danych nie pozwoli odpowiedzieć na postawione pytania, które zresztą nie są jasno postawione. Na potrzeby tego eksperymentu można zastosować ANOVA. Zupełnie nie rozumiem zastosowania korelacji Spearmana. W sposobie upowszechniania wyników warto byłoby napisać nazwy konkretnych czasopism oraz konferencje. To, że napiszemy, że w projekcie będą brali udział studenci raczej nie jest przekonującym argumentem może trzeba byłoby napisać, że część wyników badań będzie tematem ich prac

magisterskich. Drobne uwagi: zbyt duża liczba akapitów w cytacjach, nie stosujemy & tylko „i” przy ryc. brak numeracji

Filip Kapustka

Recenzja projektu „Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej *Triturus cristatus* (Laurenti 1786)”

Temat projektu jest jasny i zrozumiały, natomiast zastanawiam się, czy pytanie w nim postawione jest tym, na które odpowiedź interesuje wnioskodawców. Czy nie interesują ich przypadkiem czynniki, które wpływają na wielkość i czas jaki potrzeba larwom na przeobrażenie? Czy oprócz czasu do wyschnięcia te zbiorniki różnią się pod względem innych parametrów? Czy główną rolę odgrywa dostępność pokarmu, tlenu rozpuszczonego w wodzie, rosnące zagęszczenie albo groźba większego drapieżnictwa? (33-35) Czy takie czynniki jak dostępność pożywienia, konkurencja między traszkami, wzrost koncentracji zanieczyszczeń nie gra roli? Czy hydroperiod jest czynnikiem bezpośrednio czy pośrednio wpływającym na tempo przeobrażenia? (39) Stały hydroperiod? Czy to znaczy że co roku zbiornik wysycha w takim samym tempie?

(121) W jaki sposób uzyskane będzie jednakowe zacienienie na wszystkich stawkach badawczych, czy wiadomo jaki efekt zacienienia (obniżenie temperatury, redukcja promieniowania UV lub inny) wpływa no to, że traszki preferują częściowo zacienione zbiorniki wodne? (122) Czy grzałki nie wprowadzą stratyfikacji termicznej w zbiorniku i/lub nie wytworzą prądów, które okażą się różne w różnych stawach z powodu różnego ukształtowania dna zbiornika (rośliny, kryjówek i inne)? Czy te same grzałki nie będą niebezpieczne dla zdrowia larw? (114) Nie ma napisanego czy wszystkie jaja są od jednej samicy, czy od wielu, a jak tak to w jaki sposób będą trafiały do konkretnych zbiorników. Skąd wiadomo będzie, że wszystkie jaja są równocenne pod względem inwestycji matczynej. Czy nie może być tak że jedne będą po prostu słabsze i przez to przejdą przeobrażenie wcześniej i/lub przy mniejszych rozmiarach? Nie jest napisane w jaki sposób będzie przeprowadzone zbieranie danych o liczbie (żywych?) larw opuszczających jaja. Czy część jaj nie ulegnie zniszczeniu przez osobniki wcześniej wyklute? (160) Skoro są zaplanowane analizy statystyczne takich danych to czy przewiduje się, że liczba larw opuszczających jaja będzie różna, dlaczego? Czy wpływ wysychalności stawu ma wpływ na rozwój jaja? (158) Napisane jest, że będzie mierzona kondycja traszek opuszczających staw, a nie jest napisane w jaki sposób. Czy pomiar masy, długości i czasu przeobrażenia ma być tą miarą? Jeżeli tak to czy nie jest możliwe, że dwie traszki o różnych rozmiarach będą miały taką samą kondycję mierzoną chociażby w prędkości i wydolności biegu? Nie ma podanej informacji co się dzieje z traszkami po zakończeniu eksperymentu (zarówno tymi, które były wyłapane na jaja jak i z tymi z eksperymentu).

(166) Nie zostało sprecyzowane jakie czasopisma są brane pod uwagę, ciekawe czy wnioskodawcy wiedzą jakie są czasopisma, w których można zamieścić ich wyniki badań. (168) W jakim charakterze będą uczestniczyli studenci? Czy ma to być tania siła robocza, w ramach ćwiczeń, czy będą pisać swoje prace licencjackie lub magisterskie w ramach tego eksperymentu. Ilu studentów będzie brało udział w tych eksperymentach i czy będzie uwzględniony błąd popełniany przez ten czynnik. Kosztorys się nie sumuje, więc nie wiadomo jakie są faktyczne koszty i co za tym idzie czy są realne.

Niewątpliwie problem ważny i wart rozpatrywania głównie ze względu na ochronę traszki grzebieniastej. Poszerzy on również stan wiedzy o czynnikach wpływających na rozmiary oraz

kondycję osobników traszki grzebieniaste, a także może stanowić wstęp do pełniejszego opisu strategii życiowych traszek.

Wartość naukowa/innowacyjna projektu: 3 pkt

Poprawność metod badawczych: 1,5 pkt

Zasadność planowanych kosztów: 0 pkt

Realna możliwość wykonania projektu: 3 pkt

Joanna Hajduk

Recenzja projektu „Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej *Triturus cristatus* (Laurenti 1786)”

Na samym wstępie zwracam uwagę autorów na brak ich nazwisk w projekcie. Informacja ta powinna jednak znaleźć się pod lub nad tytułem. ☺ Streszczenie omawianego projektu jest zdecydowanie za długie. Autorzy umieścili w nim zbyt dużo informacji dotyczących istniejącego stanu wiedzy na temat podjętego problemu. Powinni raczej skupić się w tej części na zwięzłym przedstawieniu celu projektu, krótko napisać jakie są przesłanki dla podjęcia opisywanych przez nich badań, dorzucić dwa zdania o metodach i umieścić na końcu przewidywane wyniki. Także cel projektu jest zbyt rozbudowany – pewne umieszczone w nim informacje są następnie powielane w części dotyczącej istniejącego stanu wiedzy. W celu projektu są także pewne niefortunne sformułowania, które prowadzą do sprzecznych wniosków. Jeżeli autorzy zakładają, że wysychanie zbiornika uniemożliwia przeobrażenie to skąd założenie, że w doświadczalnym zbiorniku który wyschnie (grupa IV) pojawią się metamorfy? Dodatkowo jeżeli założono, że stadium larwalne ma trwać krócej w warunkach skracającego się hydroperiodu to dlaczego zmieni się liczebność metamorfów? Jeżeli rzeczywiście traszki grzebieniaste wykształciły adaptację do szybszego przeobrażenia przy skracającym się hydroperiodzie to właśnie w wyniku tej adaptacji liczba metamorfów powinna być taka sama. Czy nie sensowniejsze byłoby założenie, że zbyt szybkie wysychanie zbiornika ogranicza (a nie uniemożliwia) przeobrażenie larw (liczebnościowo), dlatego stadium larwalne traszek trwa krócej w takich warunkach (adaptacja), ale możliwe że odbywa się to kosztem mniejszych rozmiarów ich ciała? Ostatnią uwagą do celu projektu jest konieczność jasnego wytłumaczenia co to jest metamorf. ☺
W znaczeniu projektu niejasne jest dla mnie tylko dlaczego obecność ptaków wodnych wpływa na atrakcyjność zbiornika dla traszki górskiej. Może jedno zdanie wyjaśnienia? Istniejący stan wiedzy jest wyczerpująco opisany.

Jeżeli chodzi o opis metodyki, to tutaj również mam kilka zastrzeżeń. Po pierwsze czy wiadomo z danych literaturowych, że traszka grzebieniasta rozmnaża się w niewoli? Jest to dość istotne zagadnienie, nad którym autorzy prześlizgują się bez słowa komentarza. Po drugie, na podstawie czego została ustalona liczba jaj branych do doświadczenia? Dostosowano ją do objętości zbiornika? Jeżeli tak to czy na pewno nie dojdzie do przegęszczenia? Kolejne pytanie, to czemu z rozpoczęciem doświadczenia czekamy miesiąc? Czy w naturze wysychanie takiego zbiornika nie zaczyna się już w momencie gdy larwy opuszczą osłonki jajowe? Proszę także wytłumaczyć jak dokładnie będą przeprowadzane kontrole. Co oznacza 6 lub 30 razy w miesiącu? Dwa dni po 15 kontroli np., czy codziennie jedna? Ostatnie zastrzeżenie do metodyki to porównywanie przy analizie wyników liczby larw, które opuściły osłonki jajowe, pomiędzy

grupami eksperymentalnymi. Odpowiedź na zadane pytanie raczej umożliwi skorelowanie tego wyniku z liczbą metamorfów w obrębie każdej grupy.

Do wymiernego efektu podjętego projektu warto dodać istotność uzyskanych wyników dla czynnej ochrony traszki grzebieniastej czyli praktyczne wykorzystanie wyników. Możliwość ta znacznie podnosi rangę projektu. ☺ Literatura napisana jest w porządku, w harmonogramie i kosztorysie wkraśli się drobne błędy (puste kolumny w kosztorysie).

W pracy znalazłam także kilka drobnych błędów stylistycznych czy interpunkcyjnych:

wers 61 – „na polskiej liście”

wers 79 – eutrofizacji

wers 102 – przecinek po toni wodnej

wers 115 – raczej napisałabym „w 20 zbiornikach po 50 sztuk w każdym” (jaśniejsze)

wers 144 + po 1 miesiącu

wers 146 – w tempie = w takim tempie?

wers 153 – dane zostaną zebrane odnośnie masy ciała, a nie odnośnie pomiaru długości ☺

Recenzowany przeze mnie projekt jest bardzo ciekawy i porusza istotny problem w kontekście ochrony płazów. Jest to zagadnienie bardzo ważne dla polskiej ochrony zasobów przyrody. Dodatkowo trudno nie zauważyć doświadczenia autorów w temacie traszki grzebieniastej. Plusem jest także planowana współpraca z placówką posiadająca nie tylko doświadczenie w pracach z płazami, ale także niezbędne warunki laboratoryjne umożliwiające przeprowadzenie planowanego projektu.

Metodyka wymaga drobnego doszlifowania, założenia powinny być jeszcze raz przemyślane.

Uważam jednak, że po drobnych poprawkach kosmetycznych grant powinien zostać przyznany. ☺

Małgorzata Pokrywka

Recenzja projektu „Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej *Triturus cristatus* (Laurenti 1786)”

Celem projektu jest odpowiedź na pytanie, czy hydroperiod wpływa na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej. Odpowiedź na nie jest bardzo istotna z punktu widzenia czynnej ochrony gatunkowej i jej powodzenia, w obliczu udokumentowanego i rosnącego w Polsce zaniku naturalnych siedlisk tego gatunku.

Realizacja projektu jest moim zdaniem możliwa, a opracowanie danych stosunkowo proste, co pozwoli na uzyskanie bardzo ważnych danych.

Jeśli chodzi o uwagi dotyczące projektu, to mam ich kilka:

1. Autorzy nie piszą nic o staraniu się o zgodę komisji etycznej na odłów osobników traszki grzebieniastej (nie podana jest również ich szacunkowa liczba) z jej naturalnego środowiska i przeniesienie do warunków sztucznych. Zgoda ta jest istotna również, dlatego, że najprawdopodobniej w czasie trwania projektu część larw zginie.
2. Temat projektu nie wskazuje, że badany będzie również wpływ hydroperiodu na kondycję przeobrażonych traszek.
3. W tekście projektu pojawiają się również: pewne literówki (wersy 144, 146), brak jednostki w przypadku podawania powierzchni stawków eksperymentalnych (wers 117) oraz rozbieżność skrótów (wers 117-ryc., wers 134-ryc.), ponadto w wersji 95 z powodzeniem można zastąpić znak & literą i.

4. uważam, że zdanie w wersji 151, dotyczące zbierania danych jest sformułowane w mało zrozumiały sposób, zważywszy na to, że autorzy stosują wyraz kontrola do grupy traszek będących odnośnikiem dla grup eksperymentalnych.
5. Punkt dotyczący wymiernego, udokumentowanego efektu podjętego projektu, napisany jest pobieżnie, bez podania tytułów czasopism i konferencji, w których mogłyby zostać opublikowane wyniki.
6. Harmonogram jest niezgodny z podanym przez autorów kosztorysem (koszty bezpośrednie wg harmonogramu wynoszą 55 500 zł, natomiast wg kosztorysu 77 500 zł)

Generalnie uważam, że projekt jest bardzo dobrze przygotowany. Całość sformułowana prosto i rzeczowo. Czekam na wyniki ☺

Rafał Simon

Recenzja projektu „Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażania traszki grzebieniastej *Triturus cristatus* (Laurenti 1768)”

Temat projektu jest bardzo ciekawy, zapewne interesujące będą wyniki tego doświadczenia, ale mam kilka uwag merytorycznych i metodologicznych dotyczących badań. Gromada płazy (Amphibia) są ciekawą grupą zwierząt w Polsce zagrożoną wyginięciem, aż 16/18 gat. Jest objętych prawną ochroną gatunkową. Zastanawia mnie fakt tylko, dlaczego traszka grzebieniasta *Triturus cristatus* a nie np. salamandra plamista albo kumak nizinny, a jeżeli już traszki to dlaczego nie traszka góraska albo karpacka która jest tutaj endemitem. Nie bardzo jest dla mnie klarowne dlaczego ten właśnie gatunek?

W 6 wersji piszecie, „płazy są grupą kręgowców globalnie narażoną na wyginiecie(...), obniżenie jakości siedlisk, inwazyjne gatunki obce itp.” Nie bardzo rozumiem to zdanie, które to są to te gatunki inwazyjne. Prosiłbym o wyjaśnienie, gdyż nie natknąłem się na konkurencję u płazów ze strony gatunków obcych. W opisie tego projektu brakuje mi słów kluczowych takich jak np. antropopresja, autorzy opisują, „płazy są grupa kręgowców globalnie narażoną na wyginiecie ze względu na zanik + fragmentację + obniżenie jakości siedlisk = antropopresja, brakuje mi tego słowa jako kluczowego w opisie.

Sporadycznie można zauważyć w tekście drobne błędy stylistyczne np. w wersji 63 autorzy opisują Czynnikiami wpływającymi na atrakcyjność zbiornika jako miejsca rozrodu są: dostępność pokarmu, brak obecności drapieżników i ptaków wodnych, (...). Nie wiem dokładnie o co chodzi autorom w tym miejscu, o ptaki drapieżne(?), albo o takie które odstraszą traszki swoimi skrzydłami(?), czy może takie, które zajmują zbyt duże nisze i konkurują z traszkami(?). Opisy są niezbyt precyzyjne w. 101 „larwy traszek żerują w toni wodnej (...) narażone są one na drapieżnictwo ze strony ryb.” Jest to stwierdzenie bardzo nieściśle, ponieważ wiemy że również larwy pływaka żółto-brzeżka, ważek, płoszczyca, kałużnica, inne płazy a nawet ptaki żywią się kijankami. Autorzy nigdzie nie wspominają skąd wezmą pozwolenie na prowadzenie badań nad gatunkami chronionymi w Polsce, ani także nie jest dla mnie jasne w jaki sposób zdobędą jaja płazów i czy ich hodowla jest taka prosta w warunkach eksperymentalnych (sole mineralne, pH wody). Nie wiem czy autorzy wymienili wszystkie niezbędne czynniki potrzebne do metamorfozy płazów. Przeobrażenie u traszek jest to bardzo skomplikowany proces w którym uczestniczą hormony, a przede wszystkim gruczoł tarczycy produkujący tyroksynę. Brakuje takich wiadomości

w tekście. Sadzę również, iż kiedy woda będzie wypuszczana ze zbiornika wówczas zmniejszy się powierzchnia, na której mogą żyć płazy, a jak wiemy zarówno przegęszczenie jak i niedogęszczenie może być czynnikiem ograniczającym (limitującym) populację.

A po za tym mocną stroną projektu jest to, że tematy herpetologiczne są bardzo ciekawe i w tekście jest wiele bieżących informacji i cytacji literatury odnośnie badań nad płazami. Jedyna uwaga jest tutaj taka, że nie ma tutaj ani jednej pozycji krajowej, która by przedstawiała aktualny stan wiedzy o traszkach grzebieniastych w Polsce tylko same zagraniczne. W sposób prosty i przejrzysty autorzy przedstawiają model eksperymentalny. Uważam także, że koszty wykonania są zbyt drogie.

Wartość naukowa/innowacyjna projektu - 3p

Poprawność metod badawczych – 1p

Zasadność planowanych kosztów – 1p

Realna możliwość wykonania projektu – 2p

Suma 7p

PROJEKT WERSJA OSTATECZNA:**Wpływ hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszki grzebieniastej (*Triturus cristatus*, Laurenti 1768)****Słowa kluczowe**

Zanik płazów, hydroperiod, traszka grzebieniasta (*Triturus cristatus*),

Streszczenie

Płazy są grupą kręgowców globalnie narażoną na wyginięcie, jedną z głównych przyczyn takiego stanu jest zanik, fragmentacja oraz obniżenie jakości siedlisk.

Traszka grzebieniasta jest gatunkiem parasolowym, chronionym w Polsce i Europie. Obecnie ochrona traszek powinna koncentrować się na zapewnieniu im optymalnych warunków i siedlisk do rozrodu.

Aktualnie znanych jest wiele czynników wpływających na przeżywalność i kondycję traszek w krytycznym momencie ich życia: podczas stadium larwalnego. Do najważniejszych należą: temperatura wody, presja drapieżników, poziom zanieczyszczenia zbiorników oraz zmiana hydroperiodu (tempa ubytku wody ze zbiornika). Niewystarczający jest natomiast stan wiedzy na temat wpływu hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszek i ich zdolności do adaptacji, w kontekście spadku poziomu wód gruntowych i zaniku atrakcyjnych zbiorników.

Celem projektu jest eksperymentalne uzyskanie odpowiedzi na pytanie: czy larwy traszki grzebieniastej (*Triturus cristatus*, Laurenti 1768) w odpowiedzi na zmieniający się hydroperiod wykazują plastyczność rozumianą jako szybsze przeobrażenie i czy odbywa się to kosztem ich kondycji?

We współpracy z Katedrą Ichtiobiologii i Rybactwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, przeprowadzony zostanie eksperyment polegający na manipulacji poziomem wody w zbiornikach w warunkach standaryzacji pozostałych czynników, które mogą mieć wpływ na tempo przeobrażenia.

Uzyskane wyniki znajdą zastosowanie w praktycznej ochronie płazów i ich siedlisk. Nasze wyniki wykażą także, czy zakończenie cyklu rozwojowego w gorszych warunkach odbywa się kosztem kondycji dorosłych płazów.

1. Cel naukowy projektu

Płazy są obecnie zagrożone wyginięciem w skali globalnej z powodu zaniku, fragmentacji, obniżenia jakości siedlisk, presji inwazyjnych gatunków obcych, zmian klimatycznych, promieniowania UV, zanieczyszczeń chemicznych oraz chorób (np. Hamer, 2008). Obecnie znanych jest wiele czynników wpływających na przeżywalność traszek w krytycznym momencie ich życia: podczas stadium larwalnego. Do najważniejszych należą: temperatura wody, presja drapieżników, poziom zanieczyszczenia zbiorników oraz zmiana hydroperiodu (tempo ubytku wody w zbiorniku) (np. Rohr i in., 2004).

Na podstawie monitoringu traszki grzebieniastej przeprowadzonego w Polsce w latach 2007-2008 wiadomo, że metamorfy (osobniki świeżo po przeobrażeniu) znajdowane w zbiornikach

wysychających mają znacznie mniejsze rozmiary ciała niż te, które przeobrażają się w warunkach, gdy zbiornik jest stały (Pabijan, 2008; Bonk, inf. ustna). Niewystarczający jest natomiast stan wiedzy na temat wpływu hydroperiodu na tempo przeobrażenia.

Celem projektu jest eksperymentalne uzyskanie odpowiedzi na pytanie: czy larwy traszki grzebieniastej w odpowiedzi na zmieniający się hydroperiod wykazują plastyczność rozumianą jako szybsze przeobrażenie i czy odbywa się to kosztem ich kondycji rozumianej jako stosunek długości ciała do jego masy.

Zakładamy, że (1) Zbyt szybkie tempo wysychanie zbiornika uniemożliwia przeobrażenie larw; (2) Stadium larwalne traszek trwa krócej w warunkach skracającego się hydroperiodu; (3) Liczebność metamorfów jest różna w zależności od hydroperiodu; (4) Metamorfy ze zbiorników efemerycznych mają istotnie mniejsze rozmiary ciała.

Efektom końcowym będzie stwierdzenie czy skracający się hydroperiod powoduje powstanie adaptacji larw do szybszego przeobrażenia i czy koszty z tym związane mają bezpośrednie przełożenie na kondycję zwierząt.

Eksperyment zostanie wykonany we współpracy z Katedrą Ichtiologii i Rybactwa (KIiR) Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, z udziałem dr J. Szymachy, kierownika stacji.

2. Znaczenie projektu

Traszka grzebieniasta jest jednym z gatunków parasolowych o dużych wymaganiach siedliskowych, w związku z czym siedliska, które zajmuje charakteryzują się dużą różnorodnością gatunkową. Ponadto, ze względu na małe możliwości dyspersyjne, gatunek ten w odpowiedzi na pogarszające się warunki środowiska, przypadku niskiej plastyczności ginie.

Gatunek jest chroniony prawem polskim, objęty został programem Natura 2000 (dyrektywa 92/43/EWG w sprawie ochrony siedlisk naturalnych oraz dzikiej fauny i flory – Załącznik II i IV) oraz Konwencją Berneńską – Załącznik II. Znajduje się także na czerwonej liście IUCN, w polskiej czerwonej księdze i polskiej czerwonej liście ma status NT (takson podwyższonego ryzyka).

Z monitoringu traszki grzebieniastej w Polsce wynika, że rozród, a tym samym przetrwanie płazów zależy od stanu zbiorników wodnych. Czynnikiem wpływającym na atrakcyjność zbiornika jako miejsca do rozrodu są: dostępność pokarmu, brak obecności drapieżników i ptaków wodnych, odpowiednia głębokość i powierzchnia zbiornika.

W związku z silną antropopresją obserwuje się postępującą utratę siedlisk w Polsce. Wynika ona zarówno ze zmieniających się stosunków wodnych, osuszania terenów podmokłych/melioracji, jak i niszczenia siedlisk (zasypywanie zbiorników, zabudowa). Pod wpływem tak silnej presji płazy zmuszone są do wykorzystywania zbiorników mniej atrakcyjnych, co może wiązać się z ich adaptacją do nowych warunków.

Wynikiem projektu będzie poznanie stopnia plastyczności traszek grzebieniastych w obliczu zmieniających się stosunków hydrologicznych.

Uzyskane wyniki będą miały bezpośrednie implikacje zarówno dla ochrony płazów i ich siedlisk, jak i wykazania stopnia adaptacyjności w obliczu pogarszających się warunków siedliskowych. Wykażą także, czy adaptacja do gorszych warunków odbywa się kosztem kondycji dorosłych płazów, co może skutkować osłabieniem kondycji w skali wielopokoleniowej.

Nasze badania będą pierwszym z eksperymentów sprawdzających plastyczność różnych płazów jako miarę adaptacyjności do pogarszających się warunków hydrologicznych w Polsce. Kolejne dotyczyć będą wpływu eutrofizacji, zanieczyszczeń chemicznych wód oraz innych czynników nie związanych z hydrologią. Będzie to miało znaczenie w praktycznym planowaniu

ochrony gatunkowej płazów w Centralnej Europie. Badania te wniosą również wiedzę na temat strategii rozwojowych płazów z czysto poznawczego punktu widzenia.

3. Istniejący stan wiedzy

Zmiany zachodzące w środowisku naturalnym spowodowane działalnością człowieka mają ogromny wpływ na różnorodność biologiczną. Obecnie jedną z dwóch głównych przyczyn wymierania gatunków - w tym płazów - obok inwazyjnych gatunków obcych, jest utrata siedlisk (Houlahan, 2000; Stuart, 2004; Young i in., 2001). Blisko 1/3 gatunków płazów grozi ekstynkcją. Największą śmiertelność płazów obserwuje się podczas rozrodu (z dwoma krytycznymi momentami: wyjście z osłon jajowych i przeobrażenie). Stąd ważne jest poznanie czynników wpływających na przeżywalność form larwalnych.

Obecnie wiadomo, że pewne czynniki wpływają na szybsze przeobrażanie się larw traszki grzebieniastej. Dotychczas wykazano, że wyższa temperatura indukuje szybsze tempo przeobrażenia (Juszczak i in., 1987). Ponadto wiadomo, że na spadek przeżywalności larw i gorszą kondycję metamorfów mają wpływ m.in. duże zagęszczenie osobników (Martinez i in., 1996), pogarszająca się jakość zbiornika (Skelly, 1999) oraz skracający się hydroperiod (Boone i Semlitsch, 2002; Rohr i in., 2004). W przytoczonych badaniach ostatni czynnik (wpływ hydroperiodu) traktowany był pobocznie, skupiono się w nich przede wszystkim na wpływie pestycydów na przeżywalność płazów.

W optymalnych warunkach długość życia larwy od opuszczenia osłon jajowych do przeobrażenia trwa średnio 3 miesiące. Traszki grzebieniaste najczęściej zasiedlają zbiorniki niewielkie (pow. ok. 700 m²), wysychające 1 raz w ciągu dziesięciu lat, zacienione w maksymalnie 60 %, bez wpływu ptaków wodnych i ryb, o lustrze wody pokrytym roślinnością w 60-100% (Oldham i in., 2000).

W przypadku braku odpowiedniego zbiornika traszki podejmują rozród w siedliskach mniej atrakcyjnych: zbiornikach stałych, gdzie larwy, które aktywnie żerując w toni wodnej narażone są na drapieżnictwo ze strony ryb. Z kolei rozród w efemerycznych zbiornikach stwarza zagrożenie dla sukcesu rozrodczego, z powodu zbyt szybkiego wysychania zbiorników.

Brakuje doniesień odnośnie wpływu hydroperiodu na tempo przeobrażenia traszek i ich plastyczności, jako miary do adaptacji w kontekście rosnącej liczby mniej atrakcyjnych zbiorników efemerycznych.

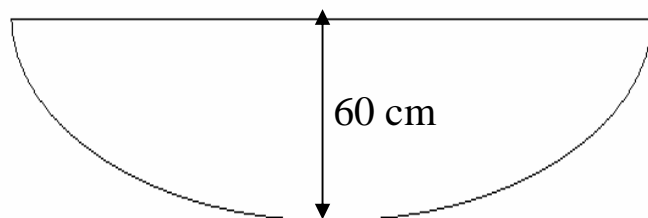
4. Metodyka badań

a. Warunki hodowli

Dorośle, zdolne do rozrodu traszki (po 25 samców i samic) pozyskane zostaną z pięciu populacji naturalnych, losowo wybranych z pięciu regionów w Polsce. Warunkiem rozpoczęcia eksperymentu będzie dopuszczenie płazów do rozrodu w tym samym czasie. Jaja traszki można pozyskać wczesną wiosną, podczas godów samica podejmuje spermatofory złożone przez samca i po zapłodnieniu jaj przystępuje do ich składania. Samica pojedynczo składane jajo zawiera w liść rośliny wodnej, dziennie jest to kilka, kilkanaście sztuk. Ogólna liczba złożonych jaj w sezonie rozrodczym przekracza 300 sztuk od jednej samicy (max. 600 jaj, Juszczak, 1987). Złożone jaja zostaną losowo umieszczone w 20 eksperymentalnych zbiornikach, po 50 sztuk w każdym. Po 6 - 13 dniach larwy opuszczą osłonki jajowe, zostaną policzone i będą rozwijać się przez miesiąc bez manipulacji eksperymentalnej. Traszka grzebieniasta jest zdolna do rozrodu w niewoli przy zapewnieniu optymalnych warunków.

W każdym zbiorniku o powierzchni 100x100 cm i maksymalnej głębokości 60 cm (Ryc. 1) zapewnione zostaną stałe, zestandaryzowane, optymalne warunki dla rozwoju larw: stała temperatura 20°C (temperatura optymalna w warunkach laboratoryjnych mieści się w granicach: 19,4 – 20,6° C; Juszczuk, 1987), dostępność pokarmu, odpowiednie schronienia (obfitość roślinności wodnej) oraz zacienienie. Temperatura będzie regulowana za pomocą grzałek wyposażonych w termostat, a fotoperiod za pomocą lamp fluorescencyjnych T5, o czasie pracy regulowanym zegarem. System filtracyjny stanowią będą filtry kubełkowe Tetratrec 2400, zapewniające filtrację mechaniczną i biologiczną. Ubytki wody na skutek parowania będą uzupełniane automatycznie za pomocą ewaporyzatorów. W centralnej części każdego basenu zostanie umieszczona podziałka (skala w mm), pozwalająca oszacować ubytek poziomu wody w zbiorniku. Każdy zbiornik zostanie zabezpieczony siatką plastikową w celu zatrzymania metamorfów, które będą opuszczać zbiornik.

Zbiorniki odpowiednie dla naszego eksperymentu znajdują się w Sali Akwariowej KLiR UR. Pracownicy KLiR UR posiadają niezbędne zaplecze techniczne oraz odpowiednią wiedzę do wykonywania doświadczeń dotyczących: wpływu fotoperiodu, hydroperiodu oraz rodzaju pożywienia na zwierzęta wodne.



Ryc. 1. Kształt i głębokość zbiornika eksperymentalnego, głębokość maksymalna 60 cm.

b. Model eksperymentalny

Po miesiącu rozpoczniemy manipulację hydroperiodem. Polegać będzie ona na zmniejszeniu poziomu wody w trzech grupach i utrzymaniu stałego poziomu wody w grupie kontrolnej (po 5 zbiorników każda):

- V. Kontrolna (stały poziom wody)
- VI. Eksperymentalna (tempo ubytku wody: 0,5 cm/dzień; ostateczny poziom 30 cm w dniu zakończenia eksperymentu)
- VII. Eksperymentalna (tempo ubytku wody: 1 cm/dzień; całkowity brak wody w dniu zakończenia eksperymentu)
- VIII. Eksperymentalna (tempo ubytku wody: 2 cm/dzień; całkowity brak wody w miesiąc przed zakończeniem eksperymentu)

Woda będzie usuwana w sposób ciągły w takim tempie, by jej poziom mierzony w wyznaczonym punkcie zmniejszał się codziennie o wyżej wymienione wartości.

Eksperyment zostanie przeprowadzony za zgodą Ministerstwa Środowiska i Komisji Etycznej.

c. Zbieranie danych

Podczas obserwacji (pierwszy miesiąc eksperymentu: 6 kontroli podczas których będzie sprawdzany stopień rozwoju larw; dwa kolejne: 30 kontroli) zebrane zostaną dane odnośnie (1)

liczby larw, które opuściły osłonki jajowe, (2) liczby metamorfów, które opuściły zbiornik, (3) pomiary długości i masy ciała metamorfów przy użyciu suwmiarki o dokładności 0,1 mm i wagi o dokładności trzech miejsc po przecinku oraz (4) czasu, który potrzebny był larwom na przeobrażenie.

Kontrola zbiorników w czasie pierwszego miesiąca eksperymentu (1 kontrola/5 dni) polegać będzie na monitorowaniu stanu zwierząt i zbiorników. Po rozpoczęciu manipulacji kontrole zbiorników (1 kontrola/2 dni) będzie sprawdzać tempo przeobrażenia traszek.

Po zebraniu niezbędných danych wszystkie traszki zostaną wypuszczone na wolność.

d. Analiza statyczna

Do analizy wykorzystany zostanie uogólniony model liniowy GLM, gdzie zmienne zależne to: liczba opuszczonych osłonek (liczba larw w zbiorniku), liczba metamorfów, ich kondycja mierzona jako stosunek długości ciała do jego masy oraz czas potrzebny na przeobrażenie. Natomiast zmienna niezależna to zmniejszający się poziom wody. Czynnikiem losowym będzie numer zbiornika.

Nasz zespół posiada doświadczenie w zbieraniu i analizowaniu danych z eksperymentów terenowych oraz laboratoryjnych. Posiadamy rozległą wiedzę na temat biologii traszki grzebieniastej i doświadczenie w hodowli płazów.

5. Wymierny, udokumentowany efekt podjętego projektu

Zakładamy opublikowanie wyników w międzynarodowych czasopismach, prezentacje wyników na krajowych i międzynarodowych konferencjach herpetologicznych oraz poświęconych ochronie przyrody. W projekcie będą brali udział studenci, którzy zdobędą doświadczenie oraz wykorzystają wyniki eksperymentu w pracach licencjackich i magisterskich.

6. Literatura

Boone M.D., Semlitsch R.D. (2002) „Interactions of an insecticide with competition and pond drying in amphibian communities”. *Ecological Applications* 12: 307 – 316.

Hamer A.J., McDonnell M.J. (2008) “Amphibian ecology and conservation in the urbanising world: A review”. *Biological conservation* 141: 2432 – 2449.

Houlahan J.E., Fidler C.S., Schmidt B.R., Meyer A.H., Kuzmin S.L. (2000) “Quantitative evidence for global amphibian population decline”. *Nature* 404: 752 – 755

Juszczak W. (1987) „Płazy i gady krajowe”. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.

Martinez I.P., Alvarez R., Herraiz M.P. (1996) “Growth and metamorphosis of *Rana perezi* larvae in culture: effects of larval density”. *Aquaculture* 142: 163 – 170.

Oldham R.S., Keeble J., Swan M.J.S., Jeffcote M. (2000) “Evaluating the suitability of habitat for the great crested newt”. *Herpetological Journal* 10: 143 – 156.

Pabijan M. (2008) “Metodyka monitoringu - przewodnik metodyczny. Traszka grzebieniasta”.

Rohr J.R., Elskus A.A., Shepherd B.S., Crowley P.H., McCarthy T.M., Niedzwiecki J.H., Sager T., Sih A., Palmer B.D. (2004) "Multiple stressors and salamanders: effects of an herbicide, food limitation and hydroperiod". *Ecological Applications* 14: 1028 – 1040.

Skelly D.K., Werner E.E., Cortwright S.A. (1999) "Long – term distributional dynamics of a michigan amphibian assemblage". *Ecology* 80: 2326 – 2337.

Stuart S.N., Chanson J.S., Cox N.A., Young B.E., Rodrigues A.S.L., Fischman D.L., Waller R.W. (2004) "Status and trends of amphibian declines and extinction worldwide". *Science* 306: 1783 – 1786.

Young B.E., Lips K.R., Reaser J.K., Ibanez R., Salas A.W., Cedeno J.R., Coloma L.A., Ron S., La Marca E., Meyer J.R., Munoz A., Bolanoz F., Chaves G., Romo A.D. (2001) „Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America". *Conservation Biology* 15: 1213 – 1223.

7. Harmonogram wykonania projektu badawczego – plan zadań

Lp.	Nazwa zadania badawczego	Termin rozpoczęcia*/ ----- - zakończenia*/ zadania	Przewidywane koszty (zł)
1	2	3	4
1	Przygotowanie stawków eksperymentalnych	0 – 2	39 875
2	Przygotowanie zwierząt do eksperymentu	3 – 4	5 000
3	Przeprowadzenie eksperymentu	5 – 8	30 000
4	Analiza danych	9 – 10	7 000
5	Przygotowane publikacji oraz wystąpienia konferencyjne	11 - 14	40 000
RAZEM			121 875

8. Kosztorys projektu badawczego

Lp.	Treść	Planowane koszty w roku				
		2009	2010	2011	...	Razem
1	2	3	4	5	6	7
1	Koszty bezpośrednie	20 000	61 500	16 000	0	97 500
	w tym:					
	1/ Wynagrodzenia z pochodnymi	3 000	36 000	6 000	0	45 000
	2/ Inne koszty realizacji projektu (łącznie z kosztem zakupu lub wytworzenia aparatury naukowo - badawczej)	20 000	25 500	10 000	0	55 500
2	Koszty pośrednie (25% od kosztów innych niż aparatura)	5 000	15 375	4 000	0	24 375
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowych na naukę (1+2)	25 000	76 875	20 000	0	121 875
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	0	0	0	0	0
5	Koszty ogółem (3+4)	25 000	76 875	20 000	0	121 875

3. Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glareolus*)?

Emilia Grzędzicka, Joanna Hajduk, Filip Kapustka

PIERWSZA WERSJA PROJEKTU:

Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glareolus*) ?

Streszczenie

Celem projektu jest sprawdzenie czy kadm jest specyficznym stresogendem powodującym manipulację proporcją płci u potomstwa nornicy rudej. Hipoteza zostanie sprawdzona w warunkach laboratoryjnych, poprzez narażenie grupy samic nornicy rudej na kadm, następnie wprowadzenie jej w rozród i sprawdzenie proporcji płci u potomstwa po zakończeniu okresu laktacji, czyli uzyskaniu przez młode samodzielności. Końcowy stosunek płci w miocie może zostać zaburzony przez zwiększenie śmiertelności jednej z płci w wyniku narażenia na kadm podawany z mlekiem matki. Aby wyodrębnić ten efekt od inwestycji matczynej, zostaną przeprowadzone testy behawioralne w okresie laktacji. Dla podkreślenia efektu specyficzności kadmu druga grupa samic będzie narażona na ołów jako inny ksenobiotyk. Spodziewane wyniki pokażą specyficzny wpływ kadmu na zmianę proporcje płci potomstwa u nornicy rudej w kierunku samic.

Cel

W przypadku zwiększenia szansy na przeżywalność jednej z płci pod wpływem zmiany warunków środowiska, samice niektórych grup kręgowców (kopytne, torbacze, naczelne, ptaki) manipulują proporcją płci swojego potomstwa i faworyzują płć o większej szansie na przeżycie. Zarówno samce, jak i samice podlegają selekcji w kierunku maksymalizacji swojego sukcesu rozrodczego i może się to odbywać kosztem przedstawicieli płci przeciwnej. Przy zapłodnieniu wewnętrznym samica jest najbardziej związana z zarodkiem i może wpływać na potomstwo już na tym etapie (Krebs, Davies 2001).

Celem projektu jest sprawdzenie, czy kadm jest specyficzną substancją powodującą zmianę proporcji płci u potomstwa nornicy rudej. Ma on wykazać, czy narażona na skażenie tym metalem ciężką matką faworyzuje jedną płć. Spodziewane wyniki pokażą specyficzny wpływ kadmu na zmianę proporcje płci potomstwa w kierunku samic.

Znaczenie projektu

Dane literaturowe pokazują, że niekorzystne warunki środowiska to jeden z czynników wywołujących manipulację proporcją płci potomstwa w kierunku zwiększenia liczby córek (Sheldon 1999). Istnieją przesłanki, że podobne zjawisko może występować u samicy nornicy rudej narażonej na kadm, który jest ksenobiotykiem i wywołuje wstrząs ekotoksykologiczny. Pierwiastek ten najsilniej oddziałuje na nerki oraz wątrobę, a okres rozrodczy u drobnych ssaków – oznaczający duży wydatek energetyczny – odbywa się kosztem wydolności tych właśnie

narządów (Speakman 2008). Wykazano, że kadm zaburza funkcjonowanie układu rozrodczego (Keitt i in. 2004), a w szczególności wpływa na kondycję narządów męskich. Może to być dodatkową sugestią, iż samica zmieni proporcję płci potomstwa w kierunku zwiększenia liczby córek w środowisku zanieczyszczonym kadmem.

Im liczniejsze jest potomstwo i gorsze warunki środowiska, tym mniej matka może w nie zainwestować. W uboższym otoczeniu zmniejsza się masa ciała młodych oraz ich kondycja immunologiczna, a tym samym szansa na przeżycie. Inwestycja zasobów w rozmiar potomstwa i wielkość miotu zależy od warunków środowiska. Większe rozmiary dzieci są korzystne w optymalnych warunkach otoczenia, ale stają się problemem w zaburzonych. Rodzice dostosowują wielkość potomstwa do aktualnych warunków różnicując stopień opieki nad nimi (Oksanen i in. 2003). Proponowany projekt pozwoli sprawdzić, czy w gorszej kondycji środowiska (wyrażonej szkodliwym wpływem kadmu), proporcja płci faktycznie zmieni się na korzyść samic. Zostanie dodana grupa narażona na inny ksenobiotyku, ołów, aby sprawdzić czy to właśnie kadm wywołuje zjawisko manipulacji stosunkiem samic do samców, czy może metale ciężkie ogólnie jako stres ekotoksykologiczny będą skutkowały większym udziałem córek w potomstwie nornicy rudej.

Proponowane doświadczenie wiąże się z ważnym problemem, jakim jest coraz powszechniejsze skażenie środowiska metalami ciężkimi, a wyniki badań mogą być wstępem do eksperymentów ważnych w medycynie.

Istniejący stan wiedzy

Wiadomo, że proporcja płci w potomstwie zmienia się pod wpływem niekorzystnych warunków środowiska (Oksanen i in. 2003), ale brakuje badań dotyczących wpływu metali ciężkich. Negatywny wpływ kadmu na drobne ssaki odzwierciedla się w gorszym funkcjonowaniu nerek, wątroby, układu mięśniowego oraz rozrodczego – zwłaszcza u samców (Lodenus i in. 2002), ale nie wiadomo, czy jest to jednoznaczne z większym przeżywaniem samic kosztem samców w miocie lub lepszą kondycją samic w porównaniu do samców; samica prawdopodobnie manipuluje proporcją płci potomstwa w kierunku zwiększenia liczby córek.

Interesujące badania dotyczące wpływu metali ciężkich na alokację zasobów polegały na obserwacji przez trzy lata ośmiu populacji nornicy rudej, aby sprawdzić wpływ kosztów reprodukcji na alokację zasobów w potomstwo. Zwiększenie zanieczyszczenia nie wywoływało zmniejszenia miotu, ale wpływało na rozmiary młodych. Powodowało też mniejszą przeżywalność narażonych na skażenie matek oraz pogorszenie ich kondycji. U drobnych ssaków, w warunkach zanieczyszczenia metalami ciężkimi, koszty reprodukcji są zatem kompensowane niższą inwestycją w poszczególne młode (Koivula 2003).

Im liczniejsze jest potomstwo i gorsze warunki środowiska, tym mniej matka może w nie zainwestować. W uboższym otoczeniu zmniejsza się nie tylko masa ciała młodych, ale również ich kondycja immunologiczna, a tym samym szansa na przeżycie (Oksanen i in. 2003). Rolę obrony przed szkodliwym wpływem środowiska pełni transfer matczynych przeciwciał, dość intensywnie poznawany u ptaków i ssaków. Służy on m.in. reakcji na patogeny lub związki chemiczne obecne w otoczeniu potomstwa, a przeciwciała dostają się do organizmu z mlekiem matki. Przykładowo: badania nad infekcją wirusem *Puumala hantavirus* u młodych nornic, które otrzymały matczyne antygeny lub nie, wykazały, że matka przekazuje ich znacznie więcej samicom. Dzięki temu są one bardziej odporne na infekcję niż samce (Kallio i in. 2006). Na potrzeby projektu zostanie ona sprawdzona w testach behawioralnych (stopień opieki nad potomstwem), które wykażą, czy samica bardziej dba o jedną z płci. Młode nie będą zakażane kadmem z zewnątrz i będzie im

przekazywany tylko za pośrednictwem matki i tym bardziej ciekawe i potrzebne będzie odróżnienie jego wpływu na każdą z płci od efektów matczynych.

U drobnych ssaków istnienie zróżnicowanej inwestycji zasobów w zależności od płci młodych jest potwierdzone i intensywnie badane. Ma ono funkcję adaptatywną do aktualnych warunków środowiska, które zresztą na to zjawisko wpływa. U nornika burego samica będąc w dobrej kondycji i w optymalnych warunkach rodzi cięższe i silniejsze samce (Koskela i in. 2004). Badania rzadko uwzględniają wpływ konkretnych czynników obecnych w otoczeniu na manipulację proporcją płci, natomiast wprowadzenie kontroli oraz grupy narażonej na ołów położy nacisk w doświadczeniu na efekty związane specyficznym z kadmem – do tej pory niezbadane w podobny sposób.

Metodyka badań

Badania zostaną przeprowadzone na nornicy rudej (*Myodes glareolus*), drobnym ssaku wykorzystywanym często w laboratoryjnych badaniach ekotoksykologicznych. Zwierzęta będą trzymane w pomieszczeniu hodowlanym w stałej temperaturze otoczenia 20 °C, i w stałym 12 – godzinnym rytmie oświetlenia (12L/12D). Do hodowli użyte zostaną standardowe, plastikowe klatki z metalową pokrywą, o podłożu wyścielonym trocinami. Zwierzęta będą otrzymywały pełnowartościową mieszankę paszową dla zwierząt laboratoryjnych LABOFEED H oraz wodę do picia (obydwa *ad libitum*).

Po uzyskaniu dojrzałości płciowej przez samice nornicy (ok. 2 miesiące) zostanie zbadana kondycja immunologiczna samic, aby porównać je między sobą i powiązać z liczbą wydanego potomstwa i manipulacją proporcji płci. Należy się spodziewać, że niektóre matki mają lepszą kondycję immunologiczną, inne słabszą, co nie pozostaje bez wpływu na różnice w reakcji na metal. Doświadczenie zostanie przeprowadzone na 2-miesięcznych nornicach dzięki nastrzykiwaniu SRBC – krwią owcy, która jest niepatogennym antygenem i wywołuje odpowiedź immunologiczną. Osobniki zostaną nastrzyknięte dawką 20-tu mikrolitrów na gram ciała, a następnie po 10-ciu dniach zostanie im pobrana krew w celu oszacowania pod mikroskopem stosunku N/L (neutrofilów do limfocytów). Osobniki o lepszej kondycji będą posiadały więcej limfocytów.

Po przebadaniu kondycji samice będą przestawione na wodę destylowaną w celu aklimatyzacji do nowych warunków. Po tygodniu zostanie rozpoczęte podawanie roztworów odpowiednio dla każdej grupy. Badany będzie efekt ekspozycji krótkotrwałej (miesięcznej). Samce nie będą narażane na metale. W głównym eksperymencie zostaną przebadane 3 grupy zwierząt, każda po 15 samic: kontrola (K), grupa narażona na dawkę LD₁₀ ołowiu (Pb) (roztwór sporządzany z azotanu (V) ołowiu [Pb(NO₃)₂]) i grupa narażona na dawkę LD₁₀ kadmu (Cd) (roztwór sporządzany z uwodnionego chlorku kadmu [CdCl₂ · 2,5 H₂O]). Wszystkim grupom od drugiego miesiąca życia będzie podawana woda destylowana. Roztwory muszą zostać sporządzone z wody destylowanej żeby wykluczyć wahania stężeń metali ciężkich wywołane zróżnicowaną zawartością soli w wodzie kranowej.

Po miesiącu samice powrócą do picia wody destylowanej i zostaną skojarzone z samcami, wybranymi losowo z puli 55 osobników. Po wydaniu na świat młode będą ważone dla sprawdzenia ich ogólnej kondycji (większa masa oznacza lepszą). W dniu urodzenia zostanie również oznaczona ich płeć, dodatkowo samcom zostanie oznakowane ucho lewe a samicom prawe. W wyniku proporcji płci będą wliczane osobniki padłe w trakcie eksperymentu. W trakcie laktacji zostaną przeprowadzone testy behawioralne opierające się na kolejności przenoszenia młodych

w sytuacji zagrożenia. Dostarczają one informacji o inwestycji matki w opiekę nad potomstwem. Ze względu na możliwość istnienia wywołanych przez samicę aborcji, po odstawieniu młodych od matki (ok. 21 dzień) zostanie zbadana jej macica pod kątem występowania śladów po embrionach, które zostaną włączone do liczby potomstwa wyprodukowanego przez nornicę.

Wyniki eksperymentu zostaną wyrażone jako procent córek w miocie i porównane testem ANOVA. Zostanie także przeprowadzony test korelacji pomiędzy kondycją immunologiczną matek, a proporcją córek w miocie. Wyniki testów behawioralnych zostaną skorelowane ze śmiertelnością młodych w okresie laktacji.

Efekt projektu

1. Publikacja wyników w czasopiśmie Behavioral Ecology and Sociobiology i Environmental Pollution.
2. Udział w konferencji Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) – poster
3. udział w projekcie magistrantów (ewentualna praca magisterska)

Harmonogram

L.p.	Nazwa zadania badawczego	Termin rozpoczęcia/zakończenia	Przewidywane koszty
1	Pozyskanie zwierząt do eksperymentu i odchowanie zwierząt ich do momentu narażenia.	Październik 2009 do grudzień 2009	18300
2	Kondycja immunologiczna samicy	grudzień 2009	500
3	Przeprowadzenie eksperymentu	grudzień 2009 do marzec 2010	800
4	Analiza i publikacja wyników, udział w konferencjach	Kwiecień do październik 2010	10000
5	Suma		29600

Kosztorys

L.p.	Treść	Planowane koszty w roku		Razem
		2009	2010	
1	Koszty bezpośrednie	19600	10000	29600
	- wynagrodzenie z pochodnymi	0	0	0
	- inne koszty realizacji projektu	19600	10000	29600
2	Koszty pośrednie	4900	2500	7400
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowych na naukę (1+2)	24500	12500	37000
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	0	0	0
5	Koszty ogółem (3+4)	24500	12500	37000

Literatura

- Kallio E., Poikonen A., Vaehri A., Vapalahti O., Henttonen H., Koskela E., Mappes T. 2006. *Maternal antibodies postpone hantavirus infection and enhance individual breeding success*. Proc. R. Soc. B. 273: 2771 – 2776
- Keitt S., Fagan T., Marts S. 2004. *Understanding Sex Differences in Environmental Health: A Thought Leaders' Roundtable*. Environ Health Perspect. 112: 604 – 609
- Koivula M., Koskela E., Mappes T., Oksanen T. 2003. *Cost of reproduction in the wild: manipulation of reproductive effort in the Bank Vole*. Ecology. 84 (2): 398 – 405
- Koskela E., Huitu O., Koivula M., Korpimaki E., Mappes T. 2004. *Sex – biased maternal investment in voles: importance of environmental condition*. Proc. R. Soc. 271: 1385 – 1391
- Krebs J. R., Davies N. B. 2001. *Wprowadzenie do ekologii behawioralnej*. PWN, Warszawa
- Lodenus M., Soltanpour – Gargari A., Tulisalo E., Henttonen H. 2002. *Effects of Ash Application on Cadmium Concentration in Small Mammals*. J. Environ. Qual. 31: 188 – 192
- Oksanen T., Jokinen I., Koskela E., Mappes T., Vilpas H. 2003. *Manipulation of offspring number and size: benefits of large body size at birth depend upon the rearing environment*. Journal of Animal Ecology. 72: 321 – 330
- Sheldon B. 1999. *Sex allocation: At the females within*. Current Biology. Vol. 9, No. 13: 487 – 489
- Speakman J. 2008. *The physiological costs of reproduction in small mammals*. Phil. Trans. R. Soc. B. 363: 375 – 398

RECENZJE:**Paweł Brzęk****Recenzja projektu „Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glareolus*)?”**

W swoim projekcie autorzy planują zbadanie wpływu ekspozycji samicy nornicy rudej na metale ciężkie (kadm i ołów) na proporcję płci w miocie i przeżywanie młodych.

Główny problem badawczy (proporcja płci w potomstwie samic nornicy narażonych na działanie metali ciężkich) jest jasny, trudno mi jednak zrozumieć czy będzie on badany z punktu widzenia biologii ewolucyjnej czy ekotoksykologii. Cały pierwszy akapit rozdziału ‘Cel’ sugeruje że autorzy spodziewają się że samica może celowo manipulować proporcją płci w swoim miocie. Ponieważ kadm jest bardziej szkodliwy dla samców, autorzy oczekują że samice narażone na działanie kadmu będą produkowały więcej córek. Jednak zanieczyszczenie środowiska kadmem w wyniku działalności człowieka pojawiło się stosunkowo niedawno i trudno spodziewać się że gryzoni wykształciły zdolność do adaptacyjnej reakcji na metale ciężkie. Znacznie bardziej prawdopodobne jest to że ewentualna zmiana proporcji płci w miocie będzie wynikała z gorszej kondycji samicy, wywołanej wpływem metali ciężkich. Będzie to zatem odpowiedź niespecyficzna, która może być wywołana przez każdy czynnik powodujący pogorszenie kondycji samic. Proponuję dodanie kolejnej grupy, np. karmionej zmniejszoną ilością pokarmu, pokarmem gorszej jakości lub poddanej działaniu innego czynnika powodującego zmiany proporcji płci potomstwa u gryzoni. Jest bardzo możliwe że również w tej grupie autorzy zaobserwują podobną zmianę proporcji płci potomstwa jak u samic narażonych na działanie kadmu. W takim wypadku wszystkie obserwowane reakcje nie mogą być uznane za specyficzne działanie kadmu lub ołowiu ale efekt gorszej kondycji samicy, spowodowanej dowolnym stresem (w tym np. obecnością kadmu).

Autorzy zdają sobie sprawę że zmiany proporcji płci mogą wynikać albo z celowej strategii samicy, albo zróżnicowanej śmiertelności młodych spowodowanej przez kadm znajdujący się w mleku matki. Jeśli dobrze rozumiem, autorzy spodziewają się że celowa strategia samicy może zostać wykryta przez proponowany test behawioralny (zbadanie kolejności przenoszenia młodych przez samicę podczas zagrożenia). Jeśli samica zaczyna przenoszenie młodych od tej płci która jest bardziej liczna, powinno to wskazywać na celową strategię. Nie wiem czy nie wystarczy tu po prostu zbadać czy płęć ma wpływ na śmiertelność młodych.

Jeżeli samica rzeczywiście potrafi manipulować proporcją płci w miocie, bardzo prawdopodobne że odbywa się to poprzez selektywną aborcję części młodych podczas ciąży. Autorzy sugerują że mogą wykryć ślady po usuniętych embrionach. Czy jest jakiś sposób na określenie ich płci? Taka informacja byłaby bardzo ciekawa i na pewno pomogłaby w ocenie wpływu kadmu na proporcję płci w miocie. Proponowałbym również dodanie jakiegoś testu badającego bezpośrednio wpływ ekspozycji na metale ciężkie na kondycję samicy (np. zmiany masy ciała).

Najwięcej uwag mam do części teoretycznej wniosku. W streszczeniu cel projektu jest opisany w pierwszym zdaniu, reszta to opis planowanych metod. Czytelnik wniosku grantowego szuka w streszczeniu przede wszystkim opisu badanego zagadnienia, nie metod. Niestety, muszę zwrócić uwagę na język użyty przez autorów. Czasem sprawia on tylko dziwne wrażenie (‘narażenie grupy samic nornicy rudej na kadm, następnie wprowadzenie jej w rozród’), często utrudnia jednak zrozumienie tekstu. Wniosek sprawia również czasem wrażenie chaotycznego

(szczególnie rozdział 'Istniejący stan wiedzy', np. trudno zrozumieć o co chodzi w wierszach 84-91). Zdaję sobie sprawę że autorzy nie mieli dużo czasu na staranną edycję tekstu, ale w prawdziwych wnioskach język i styl mogą wpłynąć na ocenę! Podobnie, wbrew temu co piszą autorzy w wierszach 71-77, praca Koivula i in. 2003 nie dotyczy wpływu metali ciężkich na reprodukcję drobnych ssaków! Ogólnie, problemy ze zrozumieniem tej części wpłynęły na niską ocenę wartości naukowej projektu.

Opis proponowanych metod robi lepsze wrażenie. Autorzy nie piszą jednak skąd będą pochodziły badane zwierzęta (odłowy w naturze? hodowla własna?). Trzeba również dodać krótki opis proponowanego eksperymentu behawioralnego, a także wyraźnie napisać że samice zostaną zabite po zakończeniu eksperymentu w celu zbadania macicy. Po zabiciu samic autorzy mogą również zbadać rozmiary narządów wewnętrznych i sprawdzić np. czy różnią się one między grupami eksperymentalnymi.

Ogólna ocena:

Wartość naukowa/inowacyjna projektu 2 pkt
Poprawność metod badawczych 1 pkt
Zasadność planowanych kosztów 1 pkt
Realna możliwość wykonania projektu 3 pkt
Razem 7 pkt

Szymon Drobnik

Recenzja projektu „Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glareolus*)?”

Lektura przedstawione projektu badawczego pozostawia potencjalnego czytelnika w bardzo dziwnej sytuacji. Z jednej strony – projekt dotyczy bardzo intensywnie badanego problemu, jakim jest możliwość manipulacji stosunkiem płci w potomstwie (stwierdzona eksperymentalnie u wielu gatunków zwierząt). Z drugiej jednak strony – przedstawiony projekt pełen jest sprzeczności, niejasnych sformułowań i nagromadzonych na siłę „pomysłów na”, które nie mają bezpośredniego związku z problemem – stawiają pod znakiem zapytania kompetencje autorów w zakresie podejmowanego problemu.

Kłopoty zaczynają się już w tytule projektu. Użyte stwierdzenie sugeruje, że sam kadm toksyczny nie jest, powoduje jednak powstanie „jakiejsz” toksyczności, w dodatku specyficznej. Toksyczność ta działa NA manipulację płci potomstwa, co jest jeszcze bardziej niepewnym stwierdzeniem – co bowiem oznacza *toksyfikacja* manipulacji płci? Jest to jednak początek sprzecznych stwierdzeń w projekcie; niektóre z nich ocierają się o poważną nieznaną zagadnienia. Już sam kontekst związany z manipulacją stosunkiem płci w potomstwie jest bardzo słabo zaznaczony, pomimo tytułu wyraźnie sugerującego, że jest to centralne zagadnienie w projekcie! Streszczenie bardzo ogólnie wspomina o manipulacji proporcją płci, nie umiejscawia tego jednak w kontekście zróżnicowanej jakości synów i córek. Sekcja dotycząca celu projektu nie daje żadnych wskazówek dlaczego oczekuje się zmienionej proporcji płci, co pozostawia czytelnika zachęconego tytułem (pomińmy teraz jego niepoprawność) bez jakiegokolwiek dalszego wprowadzenia. Jednocześnie przytaczane w Celach informacje dotyczące różnych grup kręgowców są pozbawione jakiegokolwiek potwierdzenia literaturowego.

Sekcje prezentujące znaczenie oraz istniejący stan wiedzy są skonstruowana w sposób błędny. Zwierają one wątpliwe stwierdzenia – np. autorzy sugerują, że przekazywanie kadmu do potomstwa przez matkę ma jakiegokolwiek znaczenie dla całości projektu (wiersz 91) – co wg mnie jest bezpodstawne (pytamy o manipulację płci potomstwa więc to, co samica robi z podanym kadmem jest pytaniem co najmniej drugorzędowym). Problem manipulacji proporcją płci jest tutaj nieco zepchnięty, jego miejsce zajmują różnorodne i prowadzone w bardzo chaotyczny sposób rozważania dotyczące kondycji potomstwa, immunokompetencji osobników, kondycji rozmnażających się samic oraz transferu matczynych przeciwciał do płodu (to, że wspomina się o ewentualnym płciowo-specyficznym mechanizmie takiego transferu wcale nie oznacza logicznego związku z problemem manipulacji proporcją płci!) Nie potrafię w ogóle znaleźć uzasadnienia dla uwzględniania w projekcie testów immunologicznych oraz behawioralnych, tym bardziej, że nie są one w ŻADEN sposób uwzględnione w celach lub jakichkolwiek (zresztą enigmatycznie ujętych) przewidywaniach. Autorzy sprawiają wrażenie, jakby uwzględnienie „modnej” ostatnio immunologii i testów opartych np. na SRBC (w. 109) miało podnieść projekt w oczach potencjalnego recenzenta/czytelnika/późniejszego wydawcy. Nawet abstrahując od bezpodstawności podejmowania kwestii immunologicznych – prezentowane spekulacje dotyczące związku między immunokompetencją a kondycją czy związku między immunokompetencją a przeżywalnością (w. 80) pozbawione są jakiegokolwiek kontekstu literaturowego pozwalającego ocenić realność takich przewidywań. Wyobrazić sobie mogę znacznie lepsze miary kondycji potomstwa (np. jego przeżywalność, sukces rozrodczy, tempo metabolizmu czy rozwój zdolności kognitywnych).

Kolejne wątpliwe stwierdzenia znaleźć można w części opisującej metody (nie wspomnę o tych wynikających z już poruszonych kwestii immunologicznych). W jaki sposób uzasadniony jest wybór stosunku N/L do oceny siły odpowiedzi immunologicznej? Dlaczego jest to N/L a nie miano przeciwciał lub liczebność limfocytów? Dlaczego (jakkolwiek mierzona) kondycja immunologiczna ma przekładać się na sposób, w jaki matki reagują na podawany metal? Wreszcie – dlaczego spodziewamy się, że osobniki w lepszej kondycji będą posiadać więcej limfocytów? (*notabene* – wartość stosunku N/L wcale nie musi mówić o *liczebności* limfocytów, biorąc pod uwagę czułość liczebności neutrofilii (N) na czynniki stresowe, zaś liczebność limfocytów wręcz powinna korelować np. z toczącym się stanem chorobowym, co wskazuje na głębokie niezrozumienie działania proponowanych metod immunologicznych). Idąc dalej – proponowana metoda oceny aborcji, które zaszły (w. 137) wydaje się być co trudna, a brak cytacji nie pomaga osobie nie zaznajomionej z tematem. Wreszcie – autorzy powinni zastosować bardziej adekwatne metody statystyczne do analizowania danych dotyczących proporcji (nie prostą analizę ANOVA ale ogólne modele mieszane z funkcją linkującą logit i dwumianowym rozkładem błędów). Brakuje też jasno wyszczególnionych zmiennych zależnych oraz niezależnych (poprawnie sformułowany model statystyczny rozwiązał by te problemy za jednym zamachem). Na koniec – warto zwrócić uwagę na inne, mniej rażące niejasności i błędy stylistyczne:

- nieprecyzyjne określenia dotyczące inwestycji w potomstwo (w. 46 oraz 78-9; nie „samica może mniej inwestować” ale raczej „ma mniej zasobów do zainwestowania”), wpływu niekorzystnych warunków na proporcję płci (w. 65), oraz kompensacji zanieczyszczenia niższą inwestycją w młode (w. 77; co to znaczy??)
- nie używa się stwierdzenia wstrząs ekotoksykologiczny, ale stres e. (w. 39)
- co to jest uboższe otoczenie? (w. 79)

- co to znaczy „dość” (w. 82)
- błędy stylistyczne i terminologiczne (w. 90 i 134; co to jest ‘wynik’ proporcji płci)
- „ona” – czyli co? (w. 87)
- zła kolejność na końcu projektu (najpierw powinna być literatura, potem harmonogram i kosztorys)

Do plusów projektu zaliczyć mogę porządną i niezbyt wygórowany kosztorys oraz ambitne przewidywania. Dobre strony nie wytrzymują jednak innych cech projektu. Wymienione w recenzji niedociągnięcia stawiają pod znakiem zapytania sensowność proponowanego projektu, zwłaszcza w obliczu chaotycznej mieszanki problemów metodologicznych i teoretycznych mało związanych z faktycznym pytaniem stawianym przez autorów.

Magdalena Mikowska

Recenzja projektu „Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glareolus*)?”

Tematyka, jaką podjęli autorzy recenzowanego projektu jest w chwili obecnej „modna”, a znaczenie badań tego rodzaju jest niekwestionowane. Niestety cel projektu jest słabo zaznaczony. Autorzy zbyt szeroko podeszli do przedstawienia istniejącego stanu wiedzy. Działanie różnego typu skażeń faktycznie jest bardzo ciekawe i przeważnie niekorzystne, nie można jednak wykorzystywać wszystkich tego typu przesłanek w celu uargumentowania zagadnienia manipulowania proporcją płci. W tekście przedstawiono bardzo szerokie informacje, aczkolwiek przynajmniej dla mnie, nie są one zaznaczone jako wyraźna argumentacja. Celne moim zdaniem jest wzięcie pod uwagę próby z innym metalem ciężkim – ołowiem. Brak jednak informacji dotyczących tego co zdecydowało, iż właśnie na ten metal zdecydowali się autorzy.

Metodyka badań opisana jest chaotycznie, nie daje odpowiedzi na wiele pytań dotyczących eksperymentu:

- nie ma jasnej informacji jaka ogólna liczba zwierząt wykorzystywana będzie w eksperymencie, co jest istotne ze względu na to, że zwierzęta te mogą znacznie ucierpieć,
- nie ma żadnej informacji na temat stanowiska komisji bioetycznej w tego typu badaniach,
- w metodyce mamy informacje o ważeniu młodych, a nigdzie indziej nie udało mi się znaleźć wykorzystania tych danych (wg autorów będzie brana pod uwagę kondycja matek, proporcja córek, śmiertelność młodych)
- brak informacji dotyczących badań behawioralnych (w jaki sposób wykonuje się takie badania i co z nich otrzymujemy ?),
- autorzy mają zamiar sprawdzać liczbę aborcji i wliczać to do ogólnej liczby potomstwa, nie jest dla mnie zrozumiałe jak ma się to do proporcji córek w potomstwie, skoro płęć embrionów nie będzie znana.

W tekście widać duży chaos i swobodę języka. Nie zgadzają się dane dotyczące finansowania. Literatura wypunktowana jest w sposób nieczytelny.

Ogólnie rzecz biorąc temat jest bardzo ciekawy i może mieć duże znaczenie, aczkolwiek nie znalazłam tam ostatecznych argumentów, które mogłyby mnie do niego przekonać.

Małgorzata Pokrywka

Recenzja projektu „Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glareolus*)?”

Pomimo tego, że projekt jest ciekawy i dotyczy ważnych z punktu widzenia toksykologii zagadnień oraz jest związany z badaniami nad wpływem zanieczyszczenia środowiska na organizmy żywe, sposób w jaki został napisany powoduje trudności w zrozumieniu, o co tak naprawdę autorom chodziło.

Już na wstępie rzuca się w oczy niepoprawnie sformułowany temat. Słabością tekstu są skróty myślowe, nie pozwalające na zrozumienie i całościowe ogarnięcie poruszonego przez autorów problemu. Tekst czyta się ciężko. Napisany jest w taki sposób jakby z góry wiadomy był wynik i rezultat badań.

W przypadku wersu 55 nie jest dla mnie jasne, dlaczego stres ekotoksykologiczny miałby skutkować większym udziałem córek a nie na przykład synów w potomstwie nornicy rudej. Zdanie rozpoczynające się w wersie 63 nie tłumaczy, co należy rozumieć przez niekorzystne warunki środowiska, zwłaszcza, że autorzy wykluczają metale ciężkie, czyli jak rozumiem, zanieczyszczenie, z warunków środowiska.

Nie rozumiem również, czy w punkcie – istniejący stan wiedzy - autorzy chcieli powiedzieć, że wpływ kadmu odzwierciedla się negatywnie w gorszym funkcjonowaniu nerek, wątroby i układu mięśniowego u obu płci nornic, a układu rozrodczego prawie wyłącznie u samców, czy też, to gorsze funkcjonowanie wyżej wymienionych narządów i układu rozrodczego obserwuje się głównie u samców, a nie u samic.

Co najważniejsze autorzy w ogóle nie tłumaczą czemu ma służyć zbadanie kondycji immunologicznej u samic nornicy rudej przed przeprowadzeniem właściwego doświadczenia. Ponadto mam wrażenie, że osoby piszące projekt zgubiły właściwy jego cel, wprowadzając różne inne cele zagłuszające ten właściwy i niepotrzebnie komplikujące całość.

Rafał Simon

Recenzja projektu „Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glareolus*)?”

Temat jest niezmiernie ciekawy z jednej strony dlatego, że dotyczy on ssaków a z drugiej dlatego, że badania ekotoksykologiczne są obecnie bardzo popularne. Kadm podobnie jak ołów, rtęć i wiele innych należy do metali ciężkich, które w organizmach żywych powodują duże zgniany w fizjologii. Ale projekt wykonany zawiera w sobie wiele niejasnych stwierdzeń. Jednym z nich jest np. „samice niektórych grup kręgowców (kopytne, torbacze, naczelnie i ptaki) manipulują proporcją płci swojego potomstwa”? Dla mnie jest to zdanie bardzo niezrozumiałe, gdyż nie wiem jak samica świadomie manipuluje ciążą i proporcją płci swojego potomstwa, chciałbym aby to zostało dokładnie wyjaśnione? Drugim takim niejasnym dla mnie zdaniem jest w. 28 „Przy zapłodnieniu wewnętrznym samica jest najbardziej związana z zarodkiem i może

wpływać na potomstwo już na tym etapie”?. Nie rozumiem tego stwierdzenia, zapłodnienie jest to połączenie gamet, wewnętrzne, kiedy występują narządy kopulacyjne, samica najbardziej jest związana chyba z zygotą (jeżeli jest to przy zapłodnieniu wewnętrznym), i samica może wpływać na potomstwo już na tym etapie (ona jest świadoma tego procesu wpływania na potomstwo na tym etapie?). W tekście autorzy dwukrotnie (w. 40-43, w. 65-67) wspominają o wpływie kadmu na organizmy żywe, ale jeżeli w doświadczeniach biorą również ołów to dlaczego nie opisują także działania ołowiu na istoty żywe. Uważam za zbyt często opisywanie działania wirusa *P. hantavirus*, ponieważ uważam, iż jest to w tym miejscu zbyt często. Podobnie uważam, że metodyka wykonania tego projektu nie jest zbyt przejrzysta (wszystkie dane powinny być przedstawione w tabelce, odnośnie ilości prób, powtórzeń, użytych substancji oraz ilości) powinna być przedstawiona w formie tabelarycznej. Uważam także, aby wyróżnić specyficzną toksyczność ekotoksykologiczną trzeba wykonać więcej prób z innymi metalami ciężkimi nie tylko z kadmem i ołowiem. Uważam, iż kosztorys jest w porządku nawet Wasz projekt nie jest zbyt drogi. Uwagi mam tylko do spisu literatury jest ona bardzo fragmentaryczna. A po za tym życzę powodzenia, ponieważ temat jest naprawdę dobry.

Wartość naukowa/innowacyjna projektu – 3p
Poprawność metod badawczych – 1p
Zasadność planowanych kosztów – 1p
Realność możliwość wykonania projektu – 3p

Suma 8p

Katarzyna Chrzęścik

Recenzja projektu „Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glarolus*)?”

Efekt wpływu substancji toksycznych na organizmy żywe w dalszym ciągu pozostaje w kręgu zainteresowań biologów. Szczególnie interesujące są badania dotyczące mechanizmów radzenia sobie organizmów żywych ze stresem ekotoksykologicznym. Tych zagadnień dotyczy recenzowany projekt, którego celem jest sprawdzenie czy kadm jest specyficzną substancją powodującą zmianę proporcji płci u potomstwa nornicy rudej.

Projekt zachowuje strukturę z podziałem na wymagane części. Całość jest jednak niespójna i fragmentami niejasna. Autorzy wyodrębnili jako dodatkową część cel projektu, pomimo że cel został napisany w pierwszym zdaniu streszczenia.

W części „znaczenie projektu” pojawiają się częściowo sprzeczne informacje dotyczące narządu, na który kadm wpływa najsilniej (wiersz 40). Często pojawiają się w projekcie stwierdzenia, które powinny być, a nie są poparte literaturą (na przykład wiersz 25). Ciężko również oddzielić spekulacje autorów od przedstawianych faktów.

Bardzo szeroko omawianym tematem w części dotyczącej istniejącego stanu wiedzy jest kwestia kondycji immunologicznej. Uważam, że ta część jest zdecydowanie za bardzo rozbudowana w porównaniu do pozostałych, również ze względu na fakt, że nie jest ona głównym tematem projektu. Brakuje natomiast bardziej szczegółowych przykładów dotyczących inwestowania zasobów przez matkę w wybrana płeć potomstwa w sytuacjach stresowych.

Autorzy w sposób klarowny opisują warunki hodowli nornic oraz część dotyczącą oceny kondycji samicy oraz narażania na metale ciężkie. Część dotycząca testów behawioralnych oraz sprawdzania ewentualnych aborcji dokonanych przez samicę jest natomiast opisana w sposób niewystarczający (wiersz 135). Uważam również, że autorzy nie do końca wiedzą, co chcą badać i podejmują się niepotrzebnie próby oceny zbyt wielu rzeczy.

Zaletą projektu jest niski koszt jego wykonania oraz ciekawa tematyka. Uważam, że wymaga on ponownego dokładnego przemyślenia i uporządkowania oraz potwierdzenia niektórych przypuszczeń odpowiednią literaturą.

Marcin Nielubowicz

Recenzja projektu „ Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci u potomstwa nornicy rudej (*Myodes glareolus*)?”.

Wpływ kadmu na organizm kręgowców jest częstym zagadnieniem badawczym . Dzieje się tak z powodu dobrze znanych ilości kadmu potrzebnych do uzyskania efektu stresu i miejsc gdzie kadm się w organizmie kumuluje. Autorzy spodziewają się że uzyskają zmianę proporcji płci w kierunku samic. Czy to kadm jest „specyficznym stresogenem powodującym manipulację proporcją płci”(10-11) czy też pod wpływem zatrucia kadmem samica decyduje o proporcji tejże płci u swojego potomstwa? Niestety w nie ma tu informacji o proporcji płci u potomstwa nornicy rudej w warunkach hodowlanych. Jest za to kilkakrotnie (wiersz 19,33,44,54 !!!) powtórzona informacja o tym co się stanie z w/w proporcją po podaniu ksenobiotyku, tak jakby badania tego typu były przeprowadzane rutynowo. Taką informację podaje się raz, a jeśli pochodzi ona z literatury, podaje się autorów artykułów w których dana cytacja występuje i daty ich wydania. To samo dotyczy wpływu kadmu na wielkość potomstwa (47,50,74). To tyle zastrzeżeń do streszczenia , celu i znaczenia projektu.

Do samej metodyki badań nie można mieć zastrzeżeń - autorzy zapewne prowadzili już eksperymenty laboratoryjne na nornicach i wiedzą jak przeprowadzić prawidłowy eksperyment badawczy. Ale czy istnieje jakiś inny standardowy sposób uzyskania informacji o kondycji samic – matek niż metoda iniekcji SRBC? Przecież odpowiedź immunologiczna może być sprowokowana również przez inne czynniki . Taka informacja wzbogaciła by ten fragment tekstu.(113-118). Sumując za i przeciw jestem za – temat proporcji płci sam w sobie jest ciekawy , koszty eksperymentu umiarkowane, a w związku z nieustającą „modą na kadm” publikacje zdają się być pewne.

PROJEKT WERSJA OSTATECZNA:**Czy kadm wykazuje specyficzną toksyczność na manipulację proporcją płci potomstwa u nornicy rudej (*Myodes glareolus*) ?****Streszczenie**

Celem projektu jest sprawdzenie czy kadm jest specyficznym stresogendem powodującym manipulację proporcją płci u potomstwa nornicy rudej. Hipoteza zostanie sprawdzona w warunkach laboratoryjnych, poprzez narażenie grupy samic nornicy rudej na kadm, następnie wprowadzenie jej w rozród i sprawdzenie proporcji płci u potomstwa po zakończeniu okresu laktacji, czyli uzyskaniu przez młode samodzielności. Końcowy stosunek płci w miocie może zostać zaburzony przez zwiększenie śmiertelności jednej z płci w wyniku narażenia na kadm podawany z mlekiem matki. Aby wyodrębnić ten efekt od inwestycji matczynej, zostaną przeprowadzone testy behawioralne w okresie laktacji. Dla podkreślenia efektu specyficzności kadmu druga grupa samic będzie narażona na ołów jako inny ksenobiotyk. Spodziewane wyniki pokażą specyficzny wpływ kadmu na zmianę proporcje płci potomstwa u nornicy rudej w kierunku samic.

Cel

W przypadku zwiększenia szansy na przeżywalność jednej z płci pod wpływem zmiany warunków środowiska, samice niektórych grup kręgowców (kopytne, torbacze, naczelne, ptaki) manipulują proporcją płci swojego potomstwa i faworyzują płć o większej szansie na przeżycie. Zarówno samce, jak i samice podlegają selekcji w kierunku maksymalizacji swojego sukcesu rozrodczego i może się to odbywać kosztem przedstawicieli płci przeciwnej. Przy zapłodnieniu wewnętrznym samica jest najbardziej związana z zarodkiem i może wpływać na potomstwo już na tym etapie (Krebs, Davies 2001).

Celem projektu jest sprawdzenie, czy kadm jest specyficzną substancją powodującą zmianę proporcji płci u potomstwa nornicy rudej. Ma on wykazać, czy narażona na skażenie tym metalem ciężkim matka faworyzuje jedną płć. Spodziewane wyniki pokażą specyficzny wpływ kadmu na zmianę proporcje płci potomstwa w kierunku samic.

Znaczenie projektu

Dane literaturowe pokazują, że niekorzystne warunki środowiska to jeden z czynników wywołujących manipulację proporcją płci potomstwa w kierunku zwiększenia liczby córek (Sheldon 1999). Istnieją przesłanki, że podobne zjawisko może występować u samicy nornicy rudej narażonej na kadm, który jest ksenobiotykiem i wywołuje wstrząs ekotoksykologiczny. Pierwiastek ten najsilniej oddziałuje na nerki oraz wątrobę, a okres rozrodczy u drobnych ssaków – oznaczający duży wydatek energetyczny – odbywa się kosztem wydolności tych właśnie narządów (Speakman 2008). Wykazano, że kadm zaburza funkcjonowanie układu rozrodczego (Keitt i in. 2004), a w szczególności wpływa na kondycję narządów męskich. Może to być

dotatkową sugestią, iż samica zmieni proporcję płci potomstwa w kierunku zwiększenia liczby córek w środowisku zanieczyszczonym kadmem.

Im liczniejsze jest potomstwo i gorsze warunki środowiska, tym mniej matka może w nie zainwestować. W uboższym otoczeniu zmniejsza się masa ciała młodych oraz ich kondycja immunologiczna, a tym samym szansa na przeżycie. Inwestycja zasobów w rozmiar potomstwa i wielkość miotu zależy od warunków środowiska. Większe rozmiary dzieci są korzystne w optymalnych warunkach otoczenia, ale stają się problemem w zaburzonych. Rodzice dostosowują wielkość potomstwa do aktualnych warunków różnicując stopień opieki nad nimi (Oksanen i in. 2003). Proponowany projekt pozwoli sprawdzić, czy w gorszej kondycji środowiska (wyrażonej szkodliwym wpływem kadmu), proporcja płci faktycznie zmieni się na korzyść samic. Zostanie dodana grupa narażona na inny ksenobiotyku, ołów, aby sprawdzić czy to właśnie kadm wywołuje zjawisko manipulacji stosunkiem samic do samców, czy może metale ciężkie ogólnie jako stres ekotoksykologiczny będą skutkowały większym udziałem córek w potomstwie nornicy rudej.

Proponowane doświadczenie wiąże się z ważnym problemem, jakim jest coraz powszechniejsze skażenie środowiska metalami ciężkimi, a wyniki badań mogą być wstępem do eksperymentów ważnych w medycynie.

Istniejący stan wiedzy

Wiadomo, że proporcja płci w potomstwie zmienia się pod wpływem niekorzystnych warunków środowiska (Oksanen i in. 2003), ale brakuje badań dotyczących wpływu metali ciężkich. Negatywny wpływ kadmu na drobne ssaki odzwierciedla się w gorszym funkcjonowaniu nerek, wątroby, układu mięśniowego oraz rozrodczego – zwłaszcza u samców (Lodenus i in. 2002), ale nie wiadomo, czy jest to jednoznaczne z większym przeżywaniem samic kosztem samców w miocie lub lepszą kondycją samic w porównaniu do samców; samica prawdopodobnie manipuluje proporcją płci potomstwa w kierunku zwiększenia liczby córek.

Interesujące badania dotyczące wpływu metali ciężkich na alokację zasobów polegały na obserwacji przez trzy lata ośmiu populacji nornicy rudej, aby sprawdzić wpływ kosztów reprodukcji na alokację zasobów w potomstwo. Zwiększenie zanieczyszczenia nie wywoływało zmniejszenia miotu, ale wpływało na rozmiary młodych. Powodowało też mniejszą przeżywalność narażonych na skażenie matek oraz pogorszenie ich kondycji. U drobnych ssaków, w warunkach zanieczyszczenia metalami ciężkimi, koszty reprodukcji są zatem kompensowane niższą inwestycją w poszczególne młode (Koivula 2003).

Im liczniejsze jest potomstwo i gorsze warunki środowiska, tym mniej matka może w nie zainwestować. W uboższym otoczeniu zmniejsza się nie tylko masa ciała młodych, ale również ich kondycja immunologiczna, a tym samym szansa na przeżycie (Oksanen i in. 2003). Rolę obrony przed szkodliwym wpływem środowiska pełni transfer matczynych przeciwciał, dość intensywnie poznawany u ptaków i ssaków. Służy on m.in. reakcji na patogeny lub związki chemiczne obecne w otoczeniu potomstwa, a przeciwciała dostają się do organizmu z mlekiem matki. Przykładowo: badania nad infekcją wirusem *Puumala hantavirus* u młodych nornic, które otrzymały matczyne antygeny lub nie, wykazały, że matka przekazuje ich znacznie więcej samicom. Dzięki temu są one bardziej odporne na infekcję niż samce (Kallio i in. 2006). Na potrzeby projektu zostanie ona sprawdzona w testach behawioralnych (stopień opieki nad potomstwem), które wykażą, czy samica bardziej dba o jedną z płci. Młode nie będą zakażane kadmem z zewnątrz i będzie im przekazywany tylko za pośrednictwem matki i tym bardziej ciekawe i potrzebne będzie odróżnienie jego wpływu na każdą z płci od efektów matczynych.

U drobnych ssaków istnienie zróżnicowanej inwestycji zasobów w zależności od płci młodych jest potwierdzone i intensywnie badane. Ma ono funkcję adaptatywną do aktualnych warunków środowiska, które zresztą na to zjawisko wpływa. U nornika burego samica będąc w dobrej kondycji i w optymalnych warunkach rodzi cięższe i silniejsze samce (Koskela i in. 2004). Badania rzadko uwzględniają wpływ konkretnych czynników obecnych w otoczeniu na manipulację proporcją płci, natomiast wprowadzenie kontroli oraz grupy narażonej na ołów położy nacisk w doświadczeniu na efekty związane specyficznym z kadmem – do tej pory niezbadane w podobny sposób.

Metodyka badań

Badania zostaną przeprowadzone na nornicy rudej (*Myodes glareolus*), drobnym ssaku wykorzystywanym często w laboratoryjnych badaniach ekotoksykologicznych. Zwierzęta będą trzymane w pomieszczeniu hodowlanym w stałej temperaturze otoczenia 20 °C, i w stałym 12 – godzinnym rytmie oświetlenia (12L/12D). Do hodowli użyte zostaną standardowe, plastikowe klatki z metalową pokrywą, o podłożu wyścielonym trocinami. Zwierzęta będą otrzymywały pełnowartościową mieszankę paszową dla zwierząt laboratoryjnych LABOFEED H oraz wodę do picia (obydwa *ad libitum*).

Po uzyskaniu dojrzałości płciowej przez samice nornicy (ok. 2 miesiące) zostanie zbadana kondycja immunologiczna samic, aby porównać je między sobą i powiązać z liczbą wydanego potomstwa i manipulacją proporcji płci. Należy się spodziewać, że niektóre matki mają lepszą kondycję immunologiczną, inne słabszą, co nie pozostaje bez wpływu na różnice w reakcji na metal. Doświadczenie zostanie przeprowadzone na 2-miesięcznych nornicach dzięki nastrzykiwaniu SRBC – krwią owcy, która jest niepatogennym antygenem i wywołuje odpowiedź immunologiczną. Osobniki zostaną nastrzyknięte dawką 20-tu mikrolitrów na gram ciała, a następnie po 10-ciu dniach zostanie im pobrana krew w celu oszacowania pod mikroskopem stosunku N/L (neutrofilów do limfocytów). Osobniki o lepszej kondycji będą posiadały więcej limfocytów.

Po przebadaniu kondycji samice będą przestawione na wodę destylowaną w celu aklimatyzacji do nowych warunków. Po tygodniu zostanie rozpoczęte podawanie roztworów odpowiednio dla każdej grupy. Badany będzie efekt ekspozycji krótkotrwałej (miesięcznej). Samce nie będą narażane na metale. W głównym eksperymencie zostaną przebadane 3 grupy zwierząt, każda po 15 samic: kontrola (K), grupa narażona na dawkę LD₁₀ ołowiu (Pb) (roztwór sporządzany z azotanu (V) ołowiu [Pb(NO₃)₂]) i grupa narażona na dawkę LD₁₀ kadmu (Cd) (roztwór sporządzany z uwodnionego chlorku kadmu [CdCl₂ · 2,5 H₂O]). Wszystkim grupom od drugiego miesiąca życia będzie podawana woda destylowana. Roztwory muszą zostać sporządzone z wody destylowanej żeby wykluczyć wahania stężeń metali ciężkich wywołane zróżnicowaną zawartością soli w wodzie kranowej.

Po miesiącu samice powrócą do picia wody destylowanej i zostaną skojarzone z samcami, wybranymi losowo z puli 55 osobników. Po wydaniu na świat młode będą ważone dla sprawdzenia ich ogólnej kondycji (większa masa oznacza lepszą). W dniu urodzenia zostanie również oznaczona ich płeć, dodatkowo samcom zostanie oznakowane ucho lewe a samicom prawe. W wyniku proporcji płci będą wliczane osobniki padłe w trakcie eksperymentu. W trakcie laktacji zostaną przeprowadzone testy behawioralne opierające się na kolejności przenoszenia młodych w sytuacji zagrożenia. Dostarczają one informacji o inwestycji matki w opiekę nad potomstwem. Ze względu na możliwość istnienia wywołanych przez samicę aborcji, po odstawieniu młodych od

matki (ok. 21 dzień) zostanie zbadana jej macica pod kątem występowania śladów po embrionach, które zostaną włączone do liczby potomstwa wyprodukowanego przez nornicę.

Wyniki eksperymentu zostaną wyrażone jako procent córek w miocie i porównane testem ANOVA. Zostanie także przeprowadzony test korelacji pomiędzy kondycją immunologiczną matek, a proporcją córek w miocie. Wyniki testów behawioralnych zostaną skorelowane ze śmiertelnością młodych w okresie laktacji.

Efekt projektu

1. Publikacja wyników w czasopiśmie Behavioral Ecology and Sociobiology i Environmental Pollution.
2. Udział w konferencji Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) – poster
3. udział w projekcie magistrantów (ewentualna praca magisterska)

Harmonogram

L.p.	Nazwa zadania badawczego	Termin rozpoczęcia/zakończenia	Przewidywane koszty
1	Pozyskanie zwierząt do eksperymentu i odchowanie zwierząt ich do momentu narażenia.	0-3	23875
2	Przeprowadzenie eksperymentu	4-6	1000
3	Analiza i publikacja wyników, udział w konferencjach	7-12	11500
4	Suma		36375

Kosztorys

L.p.	Treść	Planowane koszty w roku		Razem
		2009	2010	
1	Koszty bezpośrednie	19100	10000	29100
	- wynagrodzenie z pochodnymi	0	0	0
	- inne koszty realizacji projektu	19100	10000	29100
2	Koszty pośrednie	4775	2500	7275
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowych na naukę (1+2)	23875	12500	36375
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	0	0	0
5	Koszty ogółem (3+4)	23875	12500	36375

Literatura

- Kallio E., Poikonen A., Vaheri A., Vapalahti O., Henttonen H., Koskela E., Mappes T. 2006. *Maternal antibodies postpone hantavirus infection and enhance individual breeding success*. Proc. R. Soc. B. 273: 2771 – 2776
- Keitt S., Fagan T., Marts S. 2004. *Understanding Sex Differences in Environmental Health: A Thought Leaders' Roundtable*. Environ Health Perspect. 112: 604 – 609
- Koivula M., Koskela E., Mappes T., Oksanen T. 2003. *Cost of reproduction in the wild: manipulation of reproductive effort in the Bank Vole*. Ecology. 84 (2): 398 – 405
- Koskela E., Huitu O., Koivula M., Korpimäki E., Mappes T. 2004. *Sex – biased maternal investment in voles: importance of environmental condition*. Proc. R. Soc. 271: 1385 – 1391
- Krebs J. R., Davies N. B. 2001. *Wprowadzenie do ekologii behawioralnej*. PWN, Warszawa
- Lodenius M., Soltanpour – Gargari A., Tulisalo E., Henttonen H. 2002. *Effects of Ash Application on Cadmium Concentration in Small Mammals*. J. Environ. Qual. 31: 188 – 192
- Oksanen T., Jokinen I., Koskela E., Mappes T., Vilpas H. 2003. *Manipulation of offspring number and size: benefits of large body size at birth depend upon the rearing environment*. Journal of Animal Ecology. 72: 321 – 330
- Sheldon B. 1999. *Sex allocation: At the females within*. Current Biology. Vol. 9, No. 13: 487 – 489
- Speakman J. 2008. *The physiological costs of reproduction in small mammals*. Phil. Trans. R. Soc. B. 363: 375 – 398

4. Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?

Katarzyna Chrzęścik, Szymon Drobniak, Małgorzata Pokrywka

PIERWSZA WERSJA PROJEKTU:

Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?

Streszczenie

Utrzymywanie się alternatywnych strategii rozrodczych jest jednym z ważniejszych problemów w biologii ewolucyjnej. Jednym z rodzajów takich strategii jest strategia samca satelitarnego. Występuje ona u szeregu gatunków ryb, płazów, gadów i ptaków. Samce satelitarne nie wykazują zachowań konkurencyjnych i nie rozwijają rozbudowanego ornamentu płciowego. Zamiast tego – podkradają się do samic próbując w ten sposób uzyskać możliwość kopulowania.

Cechy behawioralne tych samców sugerują, że satelity zmuszone są do ciągłego analizowania zmieniającej się sytuacji podczas okresu rozrodczego. W przeciwieństwie do nich samce terytorialne wykorzystują przede wszystkim swój ornament płciowy oraz schematyczne, utarte zachowania godowe.

Przedstawiony projekt ma na celu zbadanie, czy samce satelitarne różnią się zdolnościami kognitywnymi w stosunku do samców terytorialnych. Przewidujemy, że w przypadku samców satelitarnych zysk ze zwiększonych zdolności kognitywnych (przejawiających się m.in. poprzez możliwość szybkiego podejmowania decyzji) przekłada się na zwiększony sukces reprodukcyjny. Tym samym samce satelitarne powinny wykazywać się zwiększonymi zdolnościami kognitywnymi w porównaniu do samców terytorialnych. Zaprojektowane przez nas doświadczenie pozwoli na przetestowanie tych przewidywań. W pomiarach zdolności kognitywnych wykorzystamy standardowe testy behawioralne (labirynt ramienny oraz skrzynkę Skinnera).

1. Cel naukowy projektu

Jednym z centralnych problemów biologii ewolucyjnej jest istnienie i utrzymywanie się zróżnicowanych strategii rozrodczych. Podstawowe systemy rozrodcze – monogamia oraz poligamia – ewoluowały pod wpływem różnic w dostępności i rozmieszczeniu zasobów oraz partnerów do rozrodu. Podstawowym czynnikiem sterującym tą ewolucją jest maksymalizacja indywidualnego sukcesu rozrodczego przy jednoczesnej minimalizacji ponoszonych kosztów. W sytuacji, gdy możliwości konkurencyjne lub atrakcyjność płci konkurującej wykazują dużą zmienność, ewolucyjnie stabilne może okazać się istnienie alternatywnych strategii pozwalających osiągnąć sukces reprodukcyjny w sytuacji, gdy bezpośrednia konkurencja nie pozwalałaby na uzyskanie podobnego sukcesu.

Jedną z form alternatywnych strategii rozrodczych jest występowanie samców satelitarnych (ang. *sneakers*). Są to osobniki o słabiej rozwiniętym ornamencie płciowym i mniejszych zdolnościach konkurencyjnych, nie wykazujące zachowań terytorialnych. Osobniki satelitarne mają fenotyp zbliżony do fenotypu samicy lub pośredni w stosunku do fenotypów samicy oraz samca terytorialnego. Satelity nie angażują się w konkurencję między innymi samcami. Zamiast tego podkradają się do samic, próbując w ten sposób uzyskać do nich dostęp i odbyć kopulację (Krebs i Davies 2001).

Jednym z czynników różnicujących wymienione strategie rozrodcze jest sposób zachowania podczas rozrodu. Samce terytorialne w niewielkim stopniu reagują na zmienność środowiska, w którym odbywa się rozród; ich zachowanie ma charakter silnie schematyczny. W przeciwieństwie do nich – sukces samców satelitarnych wymaga ciągłego analizowania sytuacji na tokowisku i podejmowania szybkich decyzji (Sinervo i Zamudio 2001). Umiejętności analizowania bieżącej sytuacji oraz podejmowania szybkich i trafnych decyzji są ściśle związane ze zdolnościami kognitywnymi.

Celem projektu jest zbadanie zdolności kognitywnych samców różniących się strategią rozrodczą. Obiektem badań będzie ptak z rodziny siewkowatych wykazujący tokowy system rozrodczy – batalion (*Philomachus pugnax*). U tego gatunku zaobserwowano występowanie strategii samca satelitarnego (Sinervo i Zamudio 2001). Przewidujemy, że samce satelitarne będą charakteryzować się lepiej rozwiniętymi zdolnościami kognitywnymi, które powinny zapewniać im większy zysk z rozmnażania w porównaniu z samcami terytorialnymi.

2. Znaczenie projektu

Prezentowany problem wpisuje się w szerszy kontekst badawczy dotyczący zróżnicowania strategii rozrodczych oraz czynników utrzymujących tą różnorodność. Jednocześnie eksperymenty dotyczące uczenia się, pamięci i zdolności kognitywnych w dalszym ciągu pozostają w centrum naukowego zainteresowania. Nasze podejście badające powiązania strategii rozrodczych z możliwościami kognitywnymi osobników jest nowatorskie. Wykazanie istnienia związku między strategią reprodukcyjną a zdolnościami poznawczymi wskazałoby nowy kierunek badań nad złożonością i zróżnicowaniem systemów rozrodczych. Zdolności poznawcze są integralną częścią behawioru osobnika. Zaskakujący jest więc brak badań wskazujących na relację zdolności kognitywnych z zachowaniami reprodukcyjnymi.

Stwierdzenie różnic w zdolnościach kognitywnych samców wykazujących różne strategie rozrodcze otworzy drogę do dalszych badań, podejmujących bardziej podstawowe problemy. W szczególności interesujące byłoby zbadanie związku strategii rozrodczej z rozwojem i funkcjonowaniem mózgu, tak na poziomie neurologicznym (tworzenie nowych powiązań synaptycznych) jak i ekspresji genów w poszczególnych regionach mózgu. Zdobyte w toku realizacji projektu doświadczenie pozwoli także wyszkolić młodą kadrę poprzez umożliwienie studentom i doktorantom udziału w projekcie. Projekt otworzy także drogę do stałej współpracy międzynarodowej z innym ośrodkiem badawczym (Uniwersytet w Oulu, Finlandia).

3. Istniejący stan wiedzy w zakresie tematu badań

Alternatywne strategie rozrodcze zaobserwowano w przypadku wielu grup zwierząt. Jednym z przykładów takich strategii jest obecność samców satelitarnych (ang. *sneakers*). Osobniki takie przeważnie nie posiadają cech ornamentu płciowego typowych samców biorących udział

w konkurencji międzyosobniczej. Zamiast tego – starają się one podstępem uzyskać dostęp do samicy i zapewnić sobie tym samym sukces reprodukcyjny (Krebs i Davies 2001). Obecność samców satelitarnych znana jest m.in. u szeregu gatunków ryb (np. Oliviera i in. 2002), u płazów (Krebs i Davies 2001), u gadów oraz u ptaków (Sinervo i Zamudio 2001). Poszczególne strategie typu samca satelitarnego różnią się od siebie stopniem ich plastyczności. U niektórych gatunków (np. żaba rycząca (*Rana catesbeiana*), Krebs i Davies 2001) strategia samca satelitarnego zależy tylko od bieżącej sytuacji w środowisku – samce satelitarne mogą w sprzyjających okolicznościach przejmować strategię samców terytorialnych. Dzieje się tak w sytuacji usunięcia dominującego samca terytorialnego. Są jednak gatunki, u których strategia terytorialna oraz satelitarna są wynikiem genetycznego polimorfizmu w określonym locus – czyli są stabilne i determinowane genetycznie. Sytuacja taka występuje m.in. u łososia srebrnego (*Oncorhynchus kisutch*; 2 morfy określane jako „krasnale” oraz „krzywonosy”; Krebs i Davies 2001). Podobna sytuacja występuje u bataliona (*Philomachus pugnax*), który jest jednym z nielicznych gatunków ptaków wykazujących istnienie strategii samca satelitarnego.

Batalion jest ptakiem z rodziny siewkowatych, szeroko rozprzestrzenionym na terenie Europy, ale jedynie lokalnie częstym. Występuje przeważnie w rejonie wybrzeża morskiego, a także na terenach rozległych zbiorników wodnych z podtopionym brzegiem (Svensson i in. 1998). Należy on do gatunków o tokowym systemie rozrodczym. Samce w okresie wiosennym wybierają niewielkie terytoria i za pomocą złożonego tańca godowego próbują skłonić samice do kopulacji. Zrytualizowane toki samców związane są ze ściśle określonymi, schematycznymi zachowaniami godowymi. Obok typowych tokujących samców, w dzikich populacjach bataliona występują 2 odmienne typy samców: samce satelitarne (ang. *sneakers*) oraz samce mimetyczne (ang. *feaders*). Samce mimetyczne stwierdzono jak dotąd jedynie w Ameryce Północnej oraz w Białorusi (Karlionova i in. 2007, Jukema i Piersma 2006). Są one identyczne fenotypowo z samicami. Szczegóły ich biologii rozrodu są ciągle niejasne. Samce satelitarne nie wykształcają typowego dla samca terytorialnego ornamentu płciowego – mają więc fenotyp zbliżony do fenotypu samic. Nie biorą one aktywnego udziału w tokowaniu – zamiast tego rezydują w okolicach samców terytorialnych i starają się podkraść do zwabionych samic w celu dokonania kopulacji. Fenotyp i behavior samca satelitarnego jest determinowany przez pojedynczy locus autosomalny, zależny od płci (Lank i in. 1995). Zachowanie tego typu wymaga ciągłej obserwacji otoczenia oraz reagowania na aktywność otaczających samców tokujących i samic. Zdolności kognitywne wydają się więc odgrywać dużą rolę w uzyskiwaniu sukcesu rozrodczego przez samce satelitarne. Procesy uczenia się i zapamiętywania odgrywają w ekologii ptaków dużą rolę. Podkreśla się podobieństwo mechanizmów, które prowadziły do rozwoju takich umiejętności u ptaków i ssaków (Emery 2006). Badania wskazujące na znaczenie umiejętności uczenia się i zapamiętywania u ptaków były przeprowadzane jedynie w kontekście zachowań pokarmowych (Shettleworth 2003). Jak wykazano – ptaki, dla których zapamiętywanie miejsc przechowywania pokarmu jest istotne charakteryzują się znacznie lepiej rozwiniętymi zdolnościami kognitywnymi. Co istotne – zdolności te dobrze korelują z aktywacją określonych struktur mózgu (takich jak hipokamp), mierzoną jako wzrost ekspresji genów oraz ilości tworzonych połączeń synaptycznych w sytuacjach wymagających zwiększonej aktywności kognitywnej (Gibbs i in. 2008, Sherry i Hoshooley 2009). Bardzo istotna jest uniwersalność mechanizmów neurofizjologicznych spotykanych u ptaków i ssaków odpowiedzialnych za zapamiętywanie i kojarzenie informacji. Jak wynika z badań – wszelkie tego typu procesy aktywują wspólne u ptaków i ssaków szlaki nerwowe w hipokampie (Gibbs i in. 2008).

W obliczu takich informacji dziwny wydaje się brak jakiegokolwiek literatury integrującej podejście kognitywne z badaniami nad strategiami rozrodczymi. Organizmy, u których system

rozrodczy jest szczególnie złożony i – w zależności od rozważanej strategii – angażuje różne aspekty zmienności międzyosobniczej (ornament płciowy lub zdolności kognitywne) stanowiąc mogą szczególnie atrakcyjne modele eksperymentalne. Nasz projekt wypełni więc istniejącą lukę i wskaże nowe kierunki badań.

4. Metodyka badań

4.1. Badana populacja

Populacja badawcza batalionów, na której przeprowadzone zostaną badania, utrzymywana jest od 1987 roku przez Uniwersytet w Oulu (północna Finlandia). Złożona jest z osobników obydwu płci w różnych klasach wiekowych. Ptaki są trzymane w rozległych wolierach na wolnym powietrzu. Ptaki pochodzą z dzikich populacji bataliona wprowadzonych do hodowli z okolic Oulu, rozmnażanych następnie w warunkach sztucznych. W populacji prowadzone były już różnorodne badania, m.in. dotyczące genetycznych podstaw strategii samców satelitarnych (Lank i in. 1995).

Badania zostaną przeprowadzone na początku okresu godowego bataliona w 2010 r. Do eksperymentu zostaną wybrane samce jednoroczne przystępujące do rozrodu po raz pierwszy, co pozwoli wyeliminować wpływ ewentualnego doświadczenia zdobywanego w czasie okresu godowego. Selekcja osobników nastąpi w okresie bezpośrednio poprzedzającym rozpoczęcie toków. W obrębie obydwu kategorii samców (samce terytorialne/satelitarne) wybierzemy po 20 osobników do dalszych obserwacji. Dodatkowo przewidujemy wybranie około 8 osobników łącznie z obydwu kategorii do eksperymentów pilotażowych.

4.2. Badanie zdolności kognitywnych

Zdolności kognitywne ptaków zostaną przeanalizowane z wykorzystaniem standardowych testów etologicznych: skrzynki Skinnera oraz labiryntu ramiennego. Są to powszechnie wykorzystywane metody, pozwalające na ocenę wybranych elementów składających się na zespół zdolności kognitywnych osobnika. Metody te są powszechnie stosowane w badaniach behawioralnych. Szereg badań na różnych gatunkach ptaków pokazuje użyteczność wymienionych metod w badaniach nad tą grupą zwierząt (Lipp i in. 2001, Cheng i in. 2006, Emery 2006). Co istotne – wyniki otrzymywane w testach z wykorzystaniem warunkowania (analogi skrzynki Skinnera) oraz labiryntów wieloramiennych zgodne są z przewidywaniami dotyczącymi związku zdolności kognitywnych z rozwojem i aktywnością określonych struktur mózgu ptaka (przodomózgowie, hipokamp). Osobniki o zwiększonych zdolnościach kognitywnych (mierzonych z użyciem wymienionych metod) jednocześnie charakteryzują się lepiej rozwiniętym hipokampem/przodomózgiem. Wskazuje to, że testy te pozwalają wysnuwać wnioski dotyczące uniwersalnych cech kognitywnych (Cheng i in. 2006). Różnorodność stosowanych czynników nagradzających (np. pokarm – Cheng i in. 2006; miejsce do odpoczynku – Rhodes i in. 2003) wskazuje na uniwersalny charakter badanych cech kognitywnych, które są niezależne od środowiskowego kontekstu wykorzystywanego w teście (np. kontekst pokarmowy lub związany ze stresem wysiłkowym). Healy i in. (2009) podkreśla, że testy oparte na warunkowaniu lub treningu pamięci są obiektywnymi metodami określania zdolności kognitywnych, zaś stosowane w nich metody nagradzania/warunkowania (np. pokarm, stres świetlny, lokalizacja miejsc do odpoczynku) nie mają same w sobie wpływu na ostateczny wynik, stanowiąc jedynie „wyzwalacze” podstawowych mechanizmów kognitywnych.

4.2.1 Labirynt ramienny promienisty

Badania zostaną wykonane podobnie, jak jest to opisane w pracy Cheng i in. 2006. Labirynt zostanie wykonany z przezroczystych płyt na powierzchni o średnicy około 5 metrów i złożony będzie z komory centralnej oraz ramion ułożonych promieniście. Każde z ramion zakończonych będzie komorą; połowa komór zawierać będzie niewidoczną z centrum labiryntu zanętę. Ptak po kilkugodzinnym okresie głodzenia zostanie umieszczony w centrum labiryntu. Notowanymi parametrami będzie ilość błędów pamięci referencyjnej (ilość odwiedzonych pustych ramion) oraz pamięci operacyjnej (ilość powtórnie odwiedzonych ramion pustych/wcześniej opróżnionych) w określonym czasie. Codziennie każdy ptak poddawany będzie jednej sesji w labiryncie. Rodzaj stosowanej zanęty (rodzaj pokarmu), ilość dni, w czasie których wykonywane będą testy, czas przebywania ptaka w labiryncie oraz ilość sesji treningowych zostaną określone w eksperymentach pilotażowych. Jako końcowy wynik brane będą obserwacje z ostatniej sesji testowej (ilość sesji ustalona jw.) Obserwacje te będą nagrywane za pomocą kamery cyfrowej a następnie analizowane.

4.2.2 Skrzynka Skinnera

Skrzynka skonstruowana będzie z użyciem dziurkowanych, przezroczystych płyt. Wewnątrz umieszczone zostanie urządzenie reagujące na dotknięcie dziobem ekranu uderzeniowego, uruchamiające podajnik nagrody. Czynnikiem warunkującym będzie wyświetlany na ekranie ciekłokrystalicznym obraz (planowane jest użycie wizerunku samicy bataliona). W czasie eksperymentu notowana będzie ilość poprawnych reakcji na bodziec w czasie pojedynczej sesji. Rodzaj stosowanej zanęty, długość pojedynczej sesji, ilość sesji treningowych, rodzaj bodźca warunkującego oraz czułość urządzenia wyzwalającego zostaną określone w czasie eksperymentów pilotażowych. Jako końcowy wynik brane będą obserwacje z ostatniej sesji testowej (ilość sesji ustalona jw.) Obserwacje te będą nagrywane za pomocą kamery cyfrowej a następnie analizowane.

4.3 Analizy statystyczne

Zmienną zależną będą 1) ilość błędów pamięci referencyjnej (test labiryntu); 2) ilość błędów pamięci operacyjnej (test labiryntu); 3) ilość poprawnych reakcji na bodziec warunkujący (skrzynka Skinnera). Zmiennymi niezależnymi będą: kategoria samca oraz informacja o kolejności wykonywania testów u danego osobnika (skrzynka Skinnera – labirynt lub odwrotnie). Dane zostaną przeanalizowane z wykorzystaniem analizy wariancji.

4.4 Harmonogram prac

Etap 1: wybranie osobników eksperymentalnych wg założonych kryteriów; wykonanie labiryntów i skrzynek Skinnera; przeprowadzenie obserwacji pilotażowych w celu wystandaryzowania metod i dostosowania ich do badanego gatunku.

Etap 2: wykonanie właściwych obserwacji zdolności kognitywnych wg opracowanej w badaniach pilotażowych procedury; obserwacje wykonane zostaną z wykorzystaniem 2 labiryntów oraz 2 skrzynek Skinnera. Ze względów logistycznych połowa samców z każdej kategorii będzie najpierw przechodzić testy w labiryncie, a potem skrzynce Skinnera, druga zaś odwrotnie. Przydzielanie samca z danej kategorii (satelita/terytorialny) do jednego z dwóch labiryntów/jednej z dwóch skrzynek w każdym pojedynczym teście, ustalanie kolejności testów (skrzynka – labirynt lub odwrotnie) dla każdego samca oraz pora dnia wykonywania testu

w przypadku każdego samca będą określone w sposób losowy.

Etap 3: analiza nagrań wg opisanych wyżej procedur i statystyczne opracowanie danych.

4.5 Wcześniejsze doświadczenie badawcze

Osoby biorące udział w projekcie posiadają niezbędne kwalifikacje oraz doświadczenie w pracy nad zwierzętami i w przeprowadzaniu obserwacji behawioralnych. W projekcie będą również brały osoby zajmujące się szczególnie batalionami, co zapewni doświadczenie niezbędne w dokładnym przystosowaniu stosowanych metod do badań nad batalionem.

5. Wymierny, udokumentowany efekt podjętego problemu

- publikacje w międzynarodowych czasopismach (takich jak np. Behavioral Ecology, Animal Behavior)
- prezentacja wyników na krajowych warsztatach i konferencjach (Warsztaty Biologii Ewolucyjnej; Małopolska Konferencja Ornitologiczna) oraz na konferencjach międzynarodowych (Kongres Biologii Ewolucyjnej ESEB, Międzynarodowa Konferencja Behawioralna)
- wyniki stanowiąc będą część prac magisterskich studentów biorących udział w projekcie

6. Literatura

Krebs J.R., Davies N.B. 2001. Wprowadzenie do ekologii behawioralnej. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa.

Sinervo B., Zamudio K.R. 2001. The evolution of alternative reproductive strategies: fitness differential, heritability, and genetic correlation between sexes. *The American Genetic Association* 92: 198-205.

Oliveira R.F., Carvalho N., Miranda J., Gonçalves E.J., Grober M. & Santos R.S. 2001. The Relationship Between the Presence of Satellite Males and Nest-Holders' Mating Success in the Azorean Rock-Pool Blenny *Parablennius sanguinolentus parvicornis*. *Ethology*. 108: 223–235.

Svensson L., Mullarney K., Zetterstrom D., Grant P.J. 1998. Bird guide. Harper Collins London.

Karlionova N., Pinchuk P., Meissner W., Verkuil Y. 2007. Biometrics of Ruffs *Philomachus pugnax* migrating in spring through southern Belarus with special emphasis on the occurrence of 'faeders'. *Ringing & Migration*. 23: 134-140.

Jukema J., Piersma T. Permanent female mimics in a lekking shorebird. *Biology letters*. 2: 161-164.

Lank D.B. i in. 1995 Genetic polymorphism in alternative mating behavior in Male ruff *Philomachus pugnax*. *Nature*. 378: 58-62.

Emery N.J. 2006. Cognitive ornithology: the evolution of avian intelligence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 361: 2343.

Shettleworth S.J. 2003. Memory and hippocampal specialization in food-storing birds. *Brain, behavior and evolution*. 62: 108-116

Lp.	Nazwa zadania badawczego	Termin rozpoczęcia*/ ----- zakończenia*/ zadania	Przewidywane koszty (zł)
1	2	3	4
1	Opracowanie procedur obserwacyjnych dla batalionów (koszt obejmuje dokonanie zakupu potrzebnej aparatury i innych materiałów niezbędnych do przeprowadzenia badań oraz pobyt w Finlandii)	0 – 3	84800
2	Wykonanie testów zdolności kognitywnych na batalionach	3 – 5	37000
3	Analiza danych i publikacja wyników	5 – 8	17000
RAZEM			126800

Lp.	Treść	Planowane koszty w roku			
		2010		...	Razem
1	2	4		6	7
	Koszty bezpośrednie	138800			138800
	w tym:				
1	1/ Wynagrodzenia z pochodnymi	18000			18000
	2/ Inne koszty realizacji projektu (łącznie z kosztem zakupu lub wytworzenia aparatury naukowo - badawczej)	62000			62000
2	Koszty pośrednie (25% od kosztów innych niż aparatura)	11200			11200
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowych na naukę (1+2)	138800			138800
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	-			-
5	Koszty ogółem (3+4)				

RECENZJE:**Paweł Brzęk****Recenzja projektu „Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?”**

W swoim projekcie autorzy planują zbadanie czy samce bataliona stosujące różne strategie rozrodcze różnią się zdolnościami kognitywnymi. Projekt jest naprawdę bardzo ciekawy: dotyczy on wewnątrzgatunkowej zmienności cech fizjologicznych, które mogą wpływać na behavior, a w konsekwencji na sukces reprodukcyjny. Projekt ten łączy więc biologię behawioralną i ewolucyjną z fizjologią.

Opis teoretyczny badanego zagadnienia (strony 2-4) jest bardzo dobry: jasny, przejrzysty, z wyraźnymi hipotezami (ale bataliony chyba nie występują w Ameryce Północnej! strona 4, wiersz 103). Jedyną uwagę mam do ostatniego akapitu streszczenia. Może on sugerować że autorzy chcą m.in. testować hipotezę że lepsze zdolności kognitywne przekładają się na zwiększony sukces rozrodczy (szczególnie jeśli czytelnik nie ma możliwości przeczytania reszty wniosku, a streszczenie powinno być ‘samowystarczalne’). Autorzy jednak planują jedynie porównać różnicę w zdolnościach kognitywnych między samcami satelitarnymi a terytorialnymi, bez porównania sukcesu rozrodczego między obydwoma grupami albo w ich obrębie. Kilka uwag mam do planowanych metod. Wydaje się że badana populacja już od wielu pokoleń rozmnaża się w warunkach sztucznych. Czy może mieć to jakiś wpływ na zachowanie ptaków? Nie rozumiem również na czym polegał będzie eksperyment z użyciem skrzynki Skinnera (samiec dostanie w nagrodę widok samicy jeśli uderzy dziobem w odpowiednie miejsce?). Autorzy powinni również wytłumaczyć co będzie kryterium wyboru zanęty w badaniach (rodzaj zanęty może mieć decydujący wpływ na zachowanie się samców a więc wynik eksperymentu). Autorzy powinni również podać konkretne przykłady posiadanych kwalifikacji i doświadczenia w podobnych badaniach (strony 7-8). Warto tu również dodać nazwiska Finów którzy będą pomagali w badaniach (to zawsze robi dobre wrażenie na recenzencie).

Najwięcej uwag mam do spisu literatury. Nie obejmuje on wszystkich pozycji wymienionych w tekście co uniemożliwia sprawdzenie wielu ważnych rzeczy (np. opis metody labiryntu ramiennego promienistego)! W dodatku spis nie jest ułożony alfabetycznie a chyba według kolejności pojawiania się w tekście, co bardzo utrudnia sprawdzanie powtarzających się cytacji.

Mimo tych uwag chcę jeszcze raz podkreślić że projekt jest naprawdę bardzo interesujący i przede wszystkim tak dobrze napisany że utrudnia to pracę recenzenta-krytyka. Gratuluję!

Ogólna ocena:

Wartość naukowa/inowacyjna projektu 4 pkt

Poprawność metod badawczych 1 pkt

Zasadność planowanych kosztów 1 pkt

Realna możliwość wykonania projektu 3 pkt

Razem 9 pkt

Aneta Arct

Recenzja projektu „Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?”

Prezentowany problem jest bardzo interesujący jednak uważam, że autorzy badań nie mają wystarczająco mocnych argumentów popierających ich przewidywania. W systemach rozrodczych opartych na tokowiskach samce nie zapewniają opieki rodzicielskiej, dlatego główne zyski, jakie może czerpać samica z wyboru samca są po stronie korzyści genetycznych. Założenie, że samce terytorialne mają gorsze zdolności kognitywne jest dla mnie nie do końca logiczne. Wydaje mi się, że to właśnie samce terytorialne powinny mieć lepsze zdolności kognitywne, ponieważ to one swoim tańcem godowym oraz ornamentem sygnalizują swoją „jakość”, a samo ubarwienie nie jest biletem do wysokiego statusu. np. u pasówek czarnogardłych (*Zonotricha querula*) występuje ogromna różnorodność upierzenia. Osobniki o najbardziej czarnym ubarwieniu zawsze odganiają jaśniejsze od nich ptaki z mniej obfitujących w pokarm (Krebs i Davis 2001). Co stanowi dla samicy sygnał, że taki ptak lepiej sobie radzi w zdobywaniu pokarmu, a to oczywiście pośrednio wskazuje, że taki samiec może mieć lepsze zdolności uczenia się. Mózg potrzebny jest do kontrolowania złożonego zachowania. U batalianów terytorialnych istnieją wrodzone, gatunkowo specyficzne wzorce ruchowe, jednak mogą one ulegać modyfikacji wraz z doświadczeniem i uczeniem się ptaków, a to w konsekwencji będzie decydować o ich sukcesie rozrodczym.

Ponadto w przewidywaniach sugerujecie, że samce satelitarne będą miały większy sukces rozrodczy niż samce terytorialne nie rozumiem, jakie przesłanki stoją za takim stwierdzeniem, to chyba nieporozumienie. W takich systemach rozrodczych samice częściej kopulują z samcem terytorialnym niż z satelitarnym, co powinno skutkować większym udziałem potomstwa samca terytorialnego. Jeżeli autorzy chcą badać czy zdolności kognitywne mają związek z sukcesem rozrodczym to wystarczy zrobić porównanie wewnątrz samców o tej samej strategii. Zresztą nie znalazłam w metodach nic na temat badania sukcesu rozrodczego samców terytorialnych i satelitarnych.

Istniejący stan wiedzy: stwierdzenie, że badania dotyczące zdolności uczenia się ptaków dotyczą jedynie zachowań pokarmowych świadczy o nie znajomości tematu, jaki autorzy chcą podjąć. Jest wiele badań, które wskazują jak zdolność uczenia wpływa na zachowania i sukces rozrodczy ptaków (np. zdolność uczenia się ptaków wróblowych wpływa, na jakość ich śpiewu). Problem dotyczący strategii rozrodczych, a zdolności kognitywnych jest bardzo interesujący jednak nie do końca zostałam przekonana, dlaczego wybór padł na bataliona. Badania tego zagadnienia można przeprowadzić z powodzeniem w Polsce np. na szpakach, u których występują dwie strategie rozrodcze: samce monogamiczne i samce z fakultatywną poligamią. Ponadto wydaje mi się, że koszty realizacji tego projektu są bardzo zaniżone.

Drobne uwagi: angielskie nazwy piszemy kursywą literatura cytowana w tekście nie jest wymieniona w spisie literatury

Filip Kapustka**Recenzja projektu „Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?”**

Temat pracy jest klarowny i zrozumiały. Rokuje nadzieje na osiągnięcie ciekawych wyników i otwarcie nowych horyzontów badawczych dla poznania natury i procesów zachodzących w alternatywnych strategiach rozrodczych. Jednakże, nie wszystkie aspekty i konsekwencje różnych strategii zostały przez wnioskodawców należycie przemyślane. Czy występowanie strategii alternatywnych zależy od obecności i częstości występowania samców terytorialnych? Jeżeli nie to czy strategia alternatywna „sneakersa” nie wyprze strategii głównej? Niestety we wniosku nie ma pełnych informacji o strategiach rozrodczych u tego gatunku, i nie chodzi tu tylko o strategie samców, ale też samic. Koszty reprodukcji mogą też odgrywać rolę w tym przypadku. Zgadzam się z tezą, że samce sneakers mogą mieć zdolność do plastycznej oceny sytuacji na tokowisku, ale skazywanie samców terytorialnych na ignorowanie samców o innych strategiach jest nie do końca uprawnione. Czy samce terytorialne nie mogą się nauczyć jak wygląda samiec „sneakers”? Przecież nie muszą mieć wielkich zdolności kognitywnych, żeby zapamiętać jeden wzorzec i tym samym zahamować proces „podbierania” kopulacji. Wnioskodawcy nie podają też od jak dawna istnieją strategie alternatywne. Jeżeli istnieją od dawna to należy zadać pytanie dlaczego samiec terytorialny w żaden sposób się nie broni przed obniżaniem jego dostosowania przez innych samców. Jeżeli strategie są od niedawna, to może nie było wystarczającego czasu na reakcję obronną ze strony samców terytorialnych, gdyż na początku strategie alternatywne są reprezentowane przez znikomą liczbę samców i straty na dostosowaniu zwykłych samców są niewielkie, a co za tym idzie nie ma presji na wytwarzanie mechanizmów obronnych, a to powoduje szybki wzrost reprezentacji strategii alternatywnych w populacji. Jeżeli strategie alternatywne istnieją od niedawna i nie wykształciła się reakcja obronna przeciw nim, to czy samce sneakers muszą mieć jakieś szczególne predyspozycje pamięciowe aby wygrywać z samcami terytorialnymi?

(141) O jakich eksperymentach mowa? Czy to będą eksperymenty pilotażowe tak jak to opisano w wierszu 185, czy do innych, a jeżeli tak to jak to wpłynie na wyniki osiągnięte przez te ptaki w tym eksperymencie? Czy osobniki z badań pilotażowych będą później jeszcze raz brały udział w teście?

Metodyka jest jak zapewniają wnioskodawcy standardowymi testami. Jednak moje zastrzeżenie budzi test ze skrzynką Skinnera. Ma w nim być wyświetlany obraz na ekranie ciekłokrystalicznym.

(182) Czy ptaki zdają sobie sprawę z tego co widzą, czy starają się wydostać z klatki poprzez przedziobanie się przez kolorową część skrzynki?

Tabele nie sumują się, a koszty pośrednie to 20% a nie 25%. W tabelce na ostatniej (10) stronie wszystkie rubryki są puste.

Projekt ciekawy i ważny ze względu zarówno na badania strategii reprodukcyjnych, ale także na badania ewolucji procesów kognitywnych.

Wartość naukowa/innowacyjna projektu: 3 pkt

Poprawność metod badawczych: 2 pkt

Zasadność planowanych kosztów: 0 pkt

Realna możliwość wykonania projektu: 3 pkt

Joanna Kajzer

Recenzja projektu „Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?”

Projekt dotyczy bardzo ważnego aspektu biologii ewolucyjnej, jakim są zróżnicowane strategie rozrodcze. Autorzy w bardzo jasny i przystępny sposób zarysowują problematykę oraz precyzują cel badawczy. Podchodzą do problemu w sposób innowacyjny, integrując procesy powstania zdolności kognitywnych w kontekście sukcesu rozrodczego. Wielokrotnie podkreślają znaczenie projektu. Chciałabym jednak zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia.

Autorzy planują przeprowadzić badania na populacji, która od lat 80. hodowana jest w niewoli. Nie wspominają, jak duża jest populacja, więc nie jestem pewna czy uwzględniają możliwy proces chowu wsobnego. Należy zatem zastanowić się, czy ta grupa odda stan faktyczny zachowań ptaków w warunkach naturalnych, gdyż w tym czasie mogła nastąpić zmiana zachowań ptaków, związana również z samymi warunkami hodowli.

W sekcji Cel projektu jest wzmianka na temat różnych strategii samych samców satelitarnych, które mogą być całkiem podobne do samic bądź też wykazywać fenotyp pośredni (39-40), zatem w przypadku drugim ponoszą koszt. W związku z tym do przeprowadzenia eksperymentu należy zatem wybrać tylko samce bez ornamentów – nie jest do końca jasne, czy tak został zaplanowany projekt, gdyż autorzy nie wspominają o tym w metodyce. Brakuje mi potwierdzeń w literaturze na założenie, że samce satelitarne muszą wciąż analizować otoczenie, a samce tokujące postępują w sposób schematyczny i ograniczony i mają mniejsze zdolności kognitywne.

Autorzy wspominają, że: „selekcja osobników nastąpi w okresie bezpośrednio poprzedzającym rozpoczęcie toków” (139). Jaka selekcja? Osobniki muszą zostać wybrane losowo. Czy eksperymenty pilotażowe przeprowadzane tylko na pewnej grupie osobników, wykorzystanych potem we właściwej części eksperymentu, nie pozostaną bez wpływu na proces uczenia się i w związku z tym na wyniki właściwych eksperymentów? Może warto wziąć w tym celu osobniki dodatkowe?

W przypadku opisu eksperymentu w labiryncie ramiennym promienistym nie podano informacji, że układ pokarmu pozostaje niezmienny. Nie jestem też przekonana, dlaczego w skrzynce Skinnera wykorzystany zostanie wizerunek samicy a nie samica, która swobodnie żeruje? Autorzy powinni też zwrócić uwagę na możliwy nakładający się efekt stresu w przeprowadzanym eksperymencie. Warto zastanowić się, czy i jak mierzyć poziom stresu u obu grup samców, gdyż w sytuacji, gdy samce dominujące są bardziej odporne na stres, ptaki nie wykażą różnic w zdolnościach kognitywnych.

Pewne fragmenty Harmonogramu prac (np.200-201) ściśle dotyczą metodyki. Autorzy powinni też unikać momentami bardzo zawiłych i niejasnych sformułowań (np. 94: „tereny rozległych zbiorników wodnych z podtopionym brzegiem” – zamiast np. rozlewiska/ treny podmokłe/bagna), określenia ‘ilość’ (zamiast ‘liczba’), błędów interpunkcyjnych (np. 177) oraz literówek (np. 168). Brakuje również części literatury, a kosztorys uzupełniony jest tylko częściowo, suma kosztów niezgodna, a tabele „ucięte”.

Katarzyna Ciura**Recenzja projektu „Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?”**

Projekt polega na sprawdzeniu różnic w zdolnościach kognitywnych samców wykazujących odmienne strategie rozrodcze. Pomimo początkowych wątpliwości, co do zasadności takiego projektu i jego założeń, po wnikliwym przestudiowaniu uważam, że projekt wart jest realizacji. Zastrzeżenia do projektu:

- całkowite wyłączenie wpływu zdolności kognitywnych samców dominujących na ich sukces reprodukcyjny. Czy takie samce w ogóle nie uczą się sposobów zwabiania samic podczas toków? W projekcie użyte jest nawet stwierdzenie „złożony taniec godowy”, wskazujące na komplikację tańca godowego tych samców (w. 96).

- w. 53 – 55: na podstawie tego zdania można wywnioskować, że zdolności kognitywne samców satelitarnych umożliwiają im większy sukces reprodukcyjny niż samcom terytorialnym. Brak informacji na temat sukcesu reprodukcyjnego samców wykazujących odmienne strategie rozrodcze.

- czy wyniki projektu nie będą artefaktami ze względu na pochodzenie ptaków do eksperymentu z długotrwałej hodowli w niewoli?

- projekt napisany jest językiem barwnym i zamaszysty, co utrudnia wyselekcjonowanie informacji ważnych z całego tekstu.

- chaotyczna numeracja projektu.

- istotną wadą projektu jest niedopracowana literatura (pozycje cytowane w tekście nieobecne w spisie literatury) oraz brak jasnego kosztorysu pokazującego rzeczywisty nakład finansowy potrzebny do wykonania eksperymentów.

Zastrzeżenia stylistyczne:

- Użycie niepoprawne: „ilość” powinno być „liczba” (np.w. 172, 183, 184)
- w. 176 i 186 „jako końcowy wynik brane będą” – kolokwialnie
- w. 94 „terenach rozległych zbiorników wodnych z podtopionym brzegiem” = rozlewiska (j.w. barwny i zamaszysty język)
- literówki (np. w. 121)

Emilia Grzędzicka**Recenzja projektu „Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?”**

Badania dotyczące ptaków zawsze już na wstępie mają u mnie duży plus. Niemniej jednak gatunki takie jak batalion warto angażować tylko, gdy projekt rokuje na wyniki ważne dla ochrony lub wyjaśni problem, który okaże się kolejną cegiełką niezbędną do poznania ich biologii

i ekologii. Proponowane doświadczenie z założenia ma badać coś ogólnego (zdolności kognitywne), do czego niekoniecznie trzeba angażować właśnie bataliony. Co więcej, cel nie jest do końca jasno zarysowany: nie wiadomo, czy chodzi o wyjaśnienie strategii samca satelitarnego batalionów (a nie wszystkie gatunki ptaków wykazują jego obecność), czy też ogólnie o „nietypowe” strategię rozrodcze (u wielu zwierząt przybierające różne formy). Co prawda tytuł kładzie nacisk konkretnie na bataliona, ale w dalszych częściach tekstu jest wiele uogólnień, których, moim zdaniem, w proponowanych badaniach nie da się wyjaśnić.

Pierwsze zdanie w projekcie brzmi: „Utrzymywanie się alternatywnych strategii rozrodczych jest jednym z ważniejszych problemów w biologii ewolucyjnej”. Nie uważam, żeby były one problemem. Mogą najwyżej stawiać w kłopotcie samce terytorialne przepierzające się do szaty godowej, którym obniżają sukces reprodukcyjny. Są raczej kolejną zagadką, dzięki której biologia ewolucyjna w ogóle istnieje, a z punktu widzenia przyrody strategią, która zapewne ma jakieś znaczenie, skoro się pojawiła. Warto podchodzić krytycznie do sformułowań, których się używa. W jednej z pierwszych cytacji jest stwierdzenie, iż samce satelitarne nie wykazują zachowań konkurencyjnych. Fakt, że czegoś nie stwierdzono nie oznacza, że tego nie ma. Trudno uwierzyć, że nie wykazują żadnej konkurencji – a co z rywalizacją o zasoby pokarmowe? Skoro nie mają własnego terytorium, pewnie korzystają z cudzej niszy. Domyślam się, że cytowany artykuł jest wynikiem prac w hodowli batalionów, gdzie trudno odtworzyć wszystkie współzależności w przyrodzie. Niejasne jest pojęcie „zdolności kognitywne”. Wiem, że chodzi o potencjał do nauki, ale nie jest to wyjaśnione w projekcie.

Jeżeli autorzy projektu powołują się na monogamię i poligamię, to warto napisać, w którym systemie rozrodczym pojawiają się samce satelitarne. Co oznacza fenotyp pośredni między samcem, a samicą? Czy satelity występują tylko u gatunków z na tyle zaznaczonym dymorfizmem płciowym, że zawsze da się je odróżnić od samicy wizualnie? Jest zacytowany artykuł, który dowodzi, że samce terytorialne słabiej reagują na zmienność środowiska – czy faktycznie można to potraktować jako sugestię, że są mniej zdolne do uczenia się? Może wręcz przeciwnie: osiągnęły już taki poziom, że wahania otoczenia im nie przeszkadzają, bo wiedzą, że sobie poradzą? Na tym tle pojawia się uogólnienie, które wzbudza wcześniej już zasygnalizowaną wątpliwość. Trudno twierdzić, żeby zdolności kognitywne (☺) samców satelitarnych odpowiedziały na pytanie, że osobniki o odmiennej strategii rozrodczej zawsze są inteligentniejsze. Tych strategii jest po prostu w świecie przyrody zbyt dużo. Równie dobrze można domniemywać, że bataliony z kryzą godową mają lepsze predyspozycje do uczenia się, bo jakoś musiały wywalczyć swoją pozycję, a to też wymaga sprytu. Co do logicznego układu: warto popracować nad celem i stanem wiedzy, bo w niektórych miejscach nakładają się (żeby uniknąć powtórzeń).

Nie uważam, żeby podejście do badań strategii rozrodczych w kontekście możliwości kognitywnych (☺) było nowatorskie. Wiele osób od dawna próbowało wyjaśnić fenomen funkcjonowania „innych” strategii rozrodczych. Obserwacje prowadzono jednak głównie w naturze, próbując określić zyski dla obu płci, np. u rybitw, czy pokrzewek. Badania nie wskażą nowego kierunku do doświadczeń nad złożonością i zróżnicowaniem systemów rozrodczych, ponieważ dotyczą tylko jednej strategii rozrodczej, którą próbują powiązać z predyspozycjami do uczenia się danego osobnika. Faktycznie, możliwe, że istnieje związek strategii rozrodczej z rozwojem i funkcjonowaniem mózgu. Jeżeli dobrze rozumiem, wyższa inteligencja oznacza wybór bycia samcem satelitarnym. A co jeśli punktem wyjścia był mniejszy wydatek energetyczny na pierzenie do szaty godowej i odwrotnie u satelitów, który spowodował przeniesienie zaoszczędzonych w ten sposób zasobów na przyjęcie innej taktyki w stosunku do samic? Co więcej, założenie, iż „być albo nie być” samcem satelitarnym jest uwarunkowane tylko ekspresją

alleli recesywnych jest zbyt odważne. Nie znam cechy, która nie miałaby komponenty środowiskowej, trudno mi to sobie wyobrazić.

W tekście pojawia się stwierdzenie, iż samiec satelitarny gdzieś rezyduje – warto uważać na podobne sformułowania, gdyż sugeruje to posiadanie terytorium, którego przecież nie ma. Jest napisane, że zdolności do uczenia się badano tylko w kontekście pokarmowym, ale nie płciowym. Trudno jednak odróżnić kontekst płciowy od pokarmowego. Obrona strategii samców satelitarnych wiąże się z brakiem terytorium, co oznacza, że musiały nauczyć się specyficznie zdobywać pokarm. Czyli bardzo trudno udowodnić, że zdolności kognitywne (☺) wynikają z zachowań płciowych, a nie alternatywy zerowskiej. Nie bardzo wiem, co rozumieć przez okres poprzedzający toki bataliona. To pewnie końcówka przepierzania w szatę godową lub moment prezentacji przed samicami.

Podsumowując, uważam, że przesłanki o większej inteligencji samców satelitarnych nie są zbyt jasne. Jak już wspomniano, fakt słabszej reakcji na zmienność środowiska u samców terytorialnych może oznaczać, że rezygnują z ponoszenia kosztów na reakcję, bo wiedzą, że nie każda zmiana może im zagrażać. Warto pamiętać o hierarchii – osobniki stojące najwyżej z założenia nie zawsze interweniują pierwsze. Jeżeli projekt ma mieć na celu – jak wskazuje tytuł – wykazanie różnic w potencjale uczenia się między dwoma strategiami u bataliona, to faktycznie po części odpowie na to pytanie. Mało natomiast powie o roli odmiennych strategii u ptaków, bo satelity nie są akurat częste. Do takich ogólnych badań nie potrzeba aż tak spektakularnego gatunku, jakim jest batalion. Niemniej jednak uważam, że sam pomysł próby skorelowania odmiennych strategii rozrodczych z konkretnymi predyspozycjami jest dobry, tylko trzeba uwzględnić, że to znacznie bardziej złożone zagadnienie.

Punktacja:

1. Wartość naukowa/ innowacyjność projektu: 2
 2. Poprawność metod badawczych: 1
 3. Zasadność planowanych kosztów: 1
 4. Realna możliwość wykonania projektu: 2
- Suma: 6 pkt.

Magdalena Mikowska

Recenzja projektu „Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?”

Projekt ten dotyczy badania zdolności kognitywnych u samców satelitarnych bataliona. Zagadnienie samo w sobie jest rzeczywiście niezwykle ciekawe, a eksperyment taki bardzo dobrze rokuje, jeśli chodzi o wagę informacji, które ze sobą niesie. Autorzy wyraźnie zarysowali cel projektu i klarownie uargumentowali swoje przypuszczenia. Wnioskodawcy są jednak zbyt pewni swoich racji, co może świadczyć na ich niekorzyść.

Autorzy dobrze uzasadnili wybór metod mających posłużyć do zbadania zdolności kognitywnych. Istnienie takich sprawdzonych metod zdecydowanie wpływa na korzyść tego projektu. Autorzy swoją argumentację popierają bogatą bazą literaturową, co świadczy, iż dobrze zgłębili temat. Brakuje mi wystarczającej argumentacji, iż autorzy mają wystarczające kompetencje i doświadczenie, aby przeprowadzić tak duże przedsięwzięcie.

Plany współpracy międzynarodowej, które snują autorzy, faktycznie oprócz możliwości zrealizowania tego konkretnego projektu, mogłyby w przyszłości zaowocować w postaci dodatkowych korzyści. Nie możemy jednak zapominać, że tego typu badania wiążą się z dodatkowymi kosztami, które w tym wypadku mogą działać na niekorzyść wnioskodawców. Jak autorzy sami trafnie zauważyli, podobne zjawisko zaobserwowano również u innych gatunków. Być może warto byłoby pokusić się o znalezienie sposobu na badanie tego typu zachowań w Polsce – być może na batalionie, a być może na jakimś innym gatunku. Gdybym dysponowała kwotą, mogącą zadowolić wnioskodawców chętnie bym taką kwotę przyznała. Warunkiem byłoby jednak udowodnienie, iż nie istnieją możliwości aby eksperyment taki wykonać na naszym gruncie.

Niedociągnięcia związane ze złym wypunktowaniem tekstu i niekoniecznie spójnymi informacjami dotyczącymi funduszy, pozostawiam bez komentarza.

PROJEKT WERSJA OSTATECZNA:

Czy istnieją różnice w zdolnościach kognitywnych między samcami wykazującymi odmienne strategie rozrodcze (samiec terytorialny vs. samiec satelitarny) u bataliona (*Philomachus pugnax*)?

Streszczenie

Utrzymywanie się alternatywnych strategii rozrodczych jest jednym z ważniejszych problemów w biologii ewolucyjnej. Jednym z rodzajów takich strategii jest strategia samca satelitarnego. Występuje ona u szeregu gatunków ryb, płazów, gadów i ptaków. Samce satelitarne nie wykazują zachowań konkurencyjnych i nie rozwijają rozbudowanego ornamentu płciowego. Zamiast tego – podkradają się do samic próbując w ten sposób uzyskać możliwość kopulowania.

Cechy behawioralne tych samców sugerują, że satelity zmuszone są do ciągłego analizowania zmieniającej się sytuacji podczas okresu rozrodczego. W przeciwieństwie do nich samce terytorialne wykorzystują przede wszystkim swój ornament płciowy oraz schematyczne, utarte zachowania godowe.

Przedstawiony projekt ma na celu zbadanie, czy samce satelitarne różnią się zdolnościami kognitywnymi w stosunku do samców terytorialnych. Przewidujemy, że w przypadku samców satelitarnych zdolności kognitywne (przejawiające się m.in. poprzez możliwość szybkiego podejmowania decyzji) mają większe znaczenie w rozrodzie niż w przypadku samców terytorialnych. Tym samym samce satelitarne powinny wykazywać się zwiększonymi zdolnościami kognitywnymi w porównaniu do samców terytorialnych. Zaprojektowany przez nas eksperyment pozwoli na przetestowanie tych przewidywań. W pomiarach zdolności kognitywnych wykorzystamy standardowe testy behawioralne (labirynt ramienny oraz skrzynekę Skinnera).

1. Cel naukowy projektu

Jednym z centralnych problemów biologii ewolucyjnej jest istnienie i utrzymywanie się zróżnicowanych strategii rozrodczych. W sytuacji, gdy odejście od typowej strategii rozrodczej wiąże się z określonymi zyskami, ewolucyjnie stabilne może okazać się istnienie alternatywnych strategii pozwalających osiągnąć sukces reprodukcyjny w sytuacji, gdy bezpośrednia konkurencja nie pozwalałaby na uzyskanie podobnego sukcesu.

Jedną z form alternatywnych strategii rozrodczych jest występowanie samców satelitarnych (ang. sneakers). Są to osobniki o słabo rozwiniętym ornamencie płciowym, nie wykazujące zachowań terytorialnych. Nie angażują się one w konkurencję między innymi samcami. Zamiast tego podkradają się do samic, próbując w ten sposób uzyskać do nich dostęp i odbyć kopulację (Krebs i Davies 2001).

Jednym z czynników różnicujących wymienione strategie rozrodcze jest sposób zachowania podczas rozrodu. Kluczowy dla samca terytorialnego jest jak najlepiej rozwinięty ornament płciowy (pióra oraz zrytualizowany taniec godowy). W przeciwieństwie do nich – sukces samców satelitarnych wymaga ciągłego analizowania sytuacji na tokowisku i podejmowania szybkich decyzji (Hugie i Lank 1997, Sinervo i Zamudio 2001). Umiejętności te są ściśle związane ze zdolnościami kognitywnymi.

Celem projektu jest zbadanie zdolności kognitywnych samców satelitarnych i terytorialnych

w tokowym systemie rozrodczym. Obiektem badań będzie ptak z rodziny bekasowatych – batalion (*Philomachus pugnax*), u którego zaobserwowano występowanie strategii samca satelitarnego (Lank i in. 1995, Sinervo i Zamudio 2001). Przewidujemy, że samce satelitarne będą charakteryzować się lepiej rozwiniętymi zdolnościami kognitywnymi, jako ważniejszymi z punktu widzenia ich strategii rozrodczej.

2. Znaczenie projektu

Prezentowany problem wpisuje się w szerszy kontekst badawczy dotyczący zróżnicowania strategii rozrodczych oraz czynników utrzymujących tę różnorodność. Jednocześnie eksperymenty dotyczące uczenia się, pamięci i zdolności kognitywnych w dalszym ciągu pozostają w centrum naukowego zainteresowania. Nasze podejście badające powiązania strategii rozrodczych z możliwościami kognitywnymi osobników jest nowatorskie. Wykazanie istnienia związku między strategią reprodukcyjną a zdolnościami poznawczymi wskazałoby nowy kierunek badań nad złożonością i zróżnicowaniem systemów rozrodczych. Zdolności poznawcze są integralną częścią behawioru osobnika. Zaskakujący jest więc brak badań wskazujących na relację zdolności kognitywnych z zachowaniami reprodukcyjnymi.

Procesy uczenia się i zapamiętywania dobrze korelują z aktywacją określonych struktur mózgu (takich jak hipokamp), mierzoną jako wzrost ekspresji genów oraz ilości tworzonych połączeń synaptycznych w sytuacjach wymagających zwiększonej aktywności kognitywnej (Gibbs i in. 2008, Sherry i Hoshoooley 2009). Podkreśla się podobieństwo mechanizmów, które prowadziły do rozwoju takich umiejętności u ptaków i ssaków (Emery 2006). Bardzo istotna jest uniwersalność procesów neurofizjologicznych spotykanych u tych grup kręgowców odpowiedzialnych za zapamiętywanie i kojarzenie informacji. Jak wynika z badań – wszelkie tego typu procesy aktywują wspólne u ptaków i ssaków szlaki nerwowe w hipokampie (Gibbs i in. 2008). Z tego względu interesujące byłoby zbadanie związku strategii rozrodczej z rozwojem i funkcjonowaniem mózgu, tak na poziomie neurologicznym (tworzenie nowych powiązań synaptycznych) jak i ekspresji genów w poszczególnych regionach mózgu. Stwierdzenie różnic w zdolnościach kognitywnych samców wykazujących różne strategie rozrodcze otworzy drogę do dalszych badań, podejmujących bardziej podstawowe problemy.

Zdobyte w toku realizacji projektu doświadczenie pozwoli wychylić młodą kadre poprzez umożliwienie studentom i doktorantom udziału w projekcie. Projekt otworzy także drogę do stałej współpracy międzynarodowej z innym ośrodkiem badawczym (Uniwersytet w Oulu, Finlandia).

3. Istniejący stan wiedzy w zakresie tematu badań

Strategie rozrodcze samca satelitarnego zaobserwowano u wielu grup zwierząt. Satelity przeważnie nie posiadają cech ornamentu płciowego typowych samców biorących udział w konkurencji międzyosobniczej. Zamiast tego – starają się one podstępem uzyskać dostęp do samicy i zapewnić sobie tym samym sukces reprodukcyjny (Krebs i Davies 2001). Obecność samców satelitarnych znana jest m.in. u szeregu gatunków ryb (np. Oliviera i in. 2002), u płazów (Krebs i Davies 2001), u gadów oraz u ptaków (Sinervo i Zamudio 2001). Poszczególne strategie typu samca satelitarnego różnią się od siebie stopniem ich plastyczności. U niektórych gatunków (np. żaba rycząca (*Rana catesbeiana*), Krebs i Davies 2001) strategia samca satelitarnego zależy tylko od bieżącej sytuacji w środowisku – samce satelitarne mogą w sprzyjających okolicznościach

przejmować strategię samców terytorialnych. Są jednak gatunki, u których strategia terytorialna oraz satelitarna są wynikiem genetycznego polimorfizmu w określonym locus – czyli są stabilne i determinowane genetycznie. Sytuacja taka występuje m.in. u łososia srebrnego (*Oncorhynchus kisutch*; 2 morfy określane jako „krasnale” oraz „krzywonosy”; Krebs i Davies 2001). Podobna sytuacja występuje u bataliona (*Philomachus pugnax*), który jest jednym z nielicznych gatunków ptaków wykazujących istnienie strategii samca satelitarnego.

Batalion jest ptakiem z rodziny bekasowatych, szeroko rozprzestrzenionym na terenie Europy, ale jedynie lokalnie częstym. Występuje przeważnie w rejonie wybrzeża morskiego, a także na terenach podmokłych (Svensson i in. 1998). Należy on do gatunków o tokowym systemie rozrodczym. Samce w okresie wiosennym wybierają niewielkie terytoria i za pomocą złożonego tańca godowego wabią samice. Zrytualizowane toki samców związane są ze ściśle określonymi, schematycznymi zachowaniami godowymi. Obok typowych tokujących samców, w dzikich populacjach bataliona występują 2 odmienne typy samców: samce satelitarne (ang. *sneakers*; ok. 20% wszystkich samców, Lank i in. 1995) oraz samce mimetyczne (ang. *feaders*; około 1%, Jukema i Piersma 2006). Samce mimetyczne stwierdzono jak dotąd jedynie w Holandii oraz w Białorusi (Karlionova i in. 2007, Jukema i Piersma 2006). Są one identyczne fenotypowo z samicami. Szczegóły ich biologii rozrodu są ciągle niejasne. Samce satelitarne nie wykształcają typowego dla samca terytorialnego ornamentu płciowego (słabo rozwinięta kryza szczątkowych, białych piór; Svensson i in. 1998). Nie biorą one aktywnego udziału w tokowaniu – zamiast tego przemieszczają się między samcami terytorialnymi i starają się podkraść do zwabionych samic w celu dokonania kopulacji. Fenotyp i behavior samca satelitarnego jest determinowany przez pojedynczy locus autosomalny, zależny od płci (Lank i in. 1995). Strategia ta wymaga ciągłej obserwacji otoczenia oraz reagowania na aktywność otaczających samców tokujących i samic. Zdolności kognitywne wydają się więc odgrywać dużą rolę w uzyskiwaniu sukcesu rozrodczego przez samce satelitarne.

Procesy uczenia się i zapamiętywania odgrywają w ekologii ptaków dużą rolę. Badania wskazujące na znaczenie umiejętności uczenia się i pamięci przestrzennej u ptaków były przeprowadzane głównie w kontekście zachowań pokarmowych (Shettleworth 2003). Jak wykazano – ptaki, dla których zapamiętywanie miejsc przechowywania pokarmu jest istotne, charakteryzują się znacznie lepiej rozwiniętymi zdolnościami kognitywnymi. Zdolności te są ściśle z aktywnością określonych struktur mózgu (hipokamp, przodomózgowie; Sherry i Hoshoolley 2009).

W obliczu przytoczonych danych dziwny wydaje się brak jakiegokolwiek literatury integrującej podejście kognitywne z badaniami nad strategiami rozrodczymi. Organizmy, u których system rozrodczy jest szczególnie złożony i – w zależności od rozważanej strategii – angażuje różne aspekty zmienności międzyosobniczej (ornament płciowy lub zdolności kognitywne) stanowić mogą szczególnie atrakcyjne modele eksperymentalne. Nasz projekt wypełni więc istniejącą lukę i wskaże nowe kierunki badań.

4. Metodyka badań

4.1 Badana populacja

Cechy predysponujące bataliona jak model w naszych badaniach to:

- obecność strategii samca satelitarnego, stabilnej genetycznie

- wyraźne morfologiczne różnice między samcami terytorialnymi, satelitarnymi i samicami
- dostępność sztucznie utrzymywanej populacji badawczej, koniecznej w tego typu badaniach

Populacja badawcza batalionów, na której przeprowadzone zostaną badania, utrzymywana jest od 1987 roku przez Uniwersytet w Oulu (północna Finlandia). Założenie całkiem nowej populacji eksperymentalnej w Polsce z całą pewnością byłoby kosztowniejsze. Jednocześnie przeprowadzenie takich badań na ptakach dzikich byłoby znacznie trudniejsze. Populacja badana złożona jest z osobników obydwu płci w różnych klasach wiekowych. Ptaki są trzymane w rozległych wolierach na wolnym powietrzu. Liczebność populacji waha się w okolicach 200 osobników. Ptaki pochodzą z dzikich populacji bataliona wprowadzonych do hodowli z okolic Oulu. W populacji prowadzone były już badania, m.in. dotyczące genetycznych podstaw strategii samców satelitarnych (Lank i in. 1995).

Badania zostaną przeprowadzone na początku okresu godowego bataliona w 2010 r (dokładny termin zostanie wyznaczony po konsultacjach z hodowcami ptaków). Do eksperymentu zostaną wybrane samce jednoroczne przystępujące do rozrodu po raz pierwszy, co pozwoli wyeliminować wpływ ewentualnego doświadczenia zdobywanego w czasie okresu godowego. Wybór osobników nastąpi w okresie bezpośrednio poprzedzającym rozpoczęcie toków. W obrębie obydwu kategorii samców (samce terytorialne/satelitarne) wybierzemy po 20 osobników do właściwych, oraz po 4 osobniki wyłącznie do badań pilotażowych.

4.2 Badanie zdolności kognitywnych

Zdolności kognitywne ptaków zostaną przeanalizowane z wykorzystaniem standardowych testów etologicznych: skrzynki Skinnera oraz labiryntu ramiennego. Są to powszechnie wykorzystywane metody, pozwalające na ocenę wybranych elementów składających się na zespół zdolności kognitywnych osobnika. Szereg badań na różnych gatunkach ptaków pokazuje użyteczność wymienionych metod w badaniach nad tą grupą zwierząt (Lipp i in. 2001, Cheng i in. 2006, Emery 2006). Co istotne – wyniki otrzymane w testach z wykorzystaniem warunkowania (analogi skrzynki Skinnera) oraz labiryntów wieloramiennych zgodne są z przewidywaniami dotyczącymi związku zdolności kognitywnych z rozwojem i aktywnością określonych struktur mózgu ptaka. Wskazuje to, że testy te pozwalają wysnuwać wnioski dotyczące uniwersalnych cech kognitywnych (Cheng i in. 2006). Różnorodność stosowanych czynników nagradzających (np. pokarm – Cheng i in. 2006; miejsce do odpoczynku – Rhodes i in. 2003) wskazuje na niezależność badanych cech od środowiskowego kontekstu wykorzystywanego w teście (np. kontekst pokarmowy lub związany ze stresem wysiłkowym). Healy i in. (2009) podkreślają, że testy oparte na warunkowaniu lub treningu pamięci są obiektywnymi metodami określania zdolności kognitywnych, zaś stosowane w nich metody nagradzania/warunkowania nie mają same w sobie wpływu na ostateczny wynik, stanowiąc jedynie „wyzwalacze” podstawowych mechanizmów kognitywnych.

4.2.1 Labirynt ramienny promienisty

Badania zostaną wykonane podobnie, jak jest to opisane w pracy Cheng i in. 2006. Labirynt zostanie wykonany z przezroczystych płyt na powierzchni o średnicy około 5 metrów i złożony będzie z komory centralnej oraz ramion ułożonych promieniście. Każde z ramion zakończone

będzie komorą; połowa komór zawierać będzie niewidoczną z centrum labiryntu zanętę. Ptak po kilkugodzinnym okresie głodzenia zostanie umieszczony w centrum labiryntu. Notowanymi parametrami będzie ilość błędów pamięci referencyjnej (ilość odwiedzonych pustych ramion) oraz pamięci operacyjnej (ilość powtórnie odwiedzonych ramion pustych/wcześniej opróżnionych) w określonym czasie. Codziennie każdy ptak poddawany będzie jednej sesji w labiryncie. Rodzaj stosowanej zanęty (rodzaj pokarmu), ilość dni, w czasie których wykonywane będą testy, czas przebywania ptaka w labiryncie oraz ilość sesji treningowych zostaną określone w eksperymentach pilotażowych. Jako końcowy wynik brane będą obserwacje z ostatniej sesji testowej (ilość sesji ustalona jw.) Obserwacje te będą nagrywane za pomocą kamery cyfrowej a następnie analizowane.

4.2.2 Skrzynka Skinnera

Skrzynka skonstruowana będzie z użyciem dziurkowanych, przezroczystych płyt. Wewnątrz umieszczone zostanie urządzenie reagujące na uderzenie dziobem w przyciski uruchamiające podajnik nagrody. Czynnikiem warunkującym będzie kolor uderzanego przycisku. Poprawny wybór uderzanego czujnika uruchamiać będzie nagrodę (możliwość kopulacji z samicą). W czasie eksperymentu notowana będzie ilość sesji treningowych potrzebna do wykształcenia odpowiedniej reakcji. Długość pojedynczej sesji, czułość urządzenia wyzwalającego oraz przebieg testu zostaną określone w czasie eksperymentów pilotażowych. Obserwacje będą nagrywane za pomocą kamery cyfrowej a następnie analizowane.

4.3 Analizy statystyczne

Zmienną zależną będą 1) ilość błędów pamięci referencyjnej (test labiryntu); 2) ilość błędów pamięci operacyjnej (test labiryntu); 3) ilość sesji treningowych prowadzących do prawidłowej reakcji (skrzynka Skinnera). Zmiennymi niezależnymi będą: kategoria samca oraz informacja o kolejności wykonywania testów u danego osobnika (skrzynka Skinnera – labirynt lub odwrotnie). Dane zostaną przeanalizowane z wykorzystaniem analizy wariancji.

4.4 Harmonogram prac

Etap 1: wybranie osobników eksperymentalnych wg założonych kryteriów; wykonanie labiryntów i skrzynek Skinnera; przeprowadzenie obserwacji pilotażowych w celu wystandaryzowania metod i dostosowania ich do badanego gatunku.

Etap 2: wykonanie właściwych obserwacji zdolności kognitywnych wg opracowanej w badaniach pilotażowych procedury; obserwacje wykonane zostaną z wykorzystaniem 2 labiryntów oraz 2 skrzynek Skinnera. Ze względów logistycznych połowa samców z każdej kategorii będzie najpierw przechodzić testy w labiryncie, a potem skrzynce Skinnera, druga zaś odwrotnie. Przydzielanie samca z danej kategorii (satelita/terytorialny) do jednego z dwóch labiryntów/jednej z dwóch skrzynek w każdym pojedynczym teście, ustalanie kolejności testów (skrzynka – labirynt lub odwrotnie) dla każdego samca oraz pora dnia wykonywania testu w przypadku każdego samca będą określane w sposób losowy.

Etap 3: analiza nagrań wg opisanych wyżej procedur i statystyczne opracowanie danych.

4.5 Wcześniejsze doświadczenie badawcze

Osoby biorące udział w projekcie posiadają niezbędne kwalifikacje oraz doświadczenie w pracy nad zwierzętami i w przeprowadzaniu obserwacji behawioralnych. W projekcie będą również brały osoby zajmujące się szczególnie batalionami, co zapewni doświadczenie niezbędne w dokładnym przystosowaniu stosowanych metod do badań nad batalionem.

5. Wymierny, udokumentowany efekt podjętego problemu

- publikacje w międzynarodowych czasopismach (takich jak np. Behavioral Ecology, Animal Behavior)
- prezentacja wyników na krajowych warsztatach i konferencjach (Warsztaty Biologii Ewolucyjnej; Małopolska Konferencja Ornitologiczna) oraz na konferencjach międzynarodowych (Kongres Biologii Ewolucyjnej ESEB, Międzynarodowa Konferencja Behawioralna)
- wyniki stanowiąc będą część prac magisterskich studentów biorących udział w projekcie

6. Literatura

- Cheng K., Spetch M.L., Kelly D.M., Bingmand V.P. Small-scale spatial cognition in pigeons. 2006. Behavioural Processes. 72: 115-127.
- Emery N.J. 2006. Cognitive ornithology: the evolution of avian intelligence. Philosophical Transactions of the Royal Society B. 361: 2343.
- Gibbs M.E., Bowser D.N., Hutchinson D.S., Loiacono R.E., Summers R.J. 2008. Memory Processing in the Avian Hippocampus Involves Interactions between [beta]-Adrenoceptors, Glutamate Receptors, and Metabolism. Neuropsychopharmacology. 33: 2831-2847.
- Healy S.D., Bacon I.E., Haggis O., Harris A.P., Kelley L.A. 2009. Explanations for variation in cognitive ability: Behavioural ecology meets comparative cognition. Behavioural Processes. 80: 288-294.
- Hugie D.B., Lank D.B. 1997. The resident's dilemma: a female choice model for the evolution of alternative mating strategies in lekking male ruffs (*Philomachus pugnax*). Behavioral Ecology. 8: 218-225.
- Jukema J., Piersma T. Permanent female mimics in a lekking shorebird. Biology letters. 2: 161-164.
- Karlionova N., Pinchuk P., Meissner W., Verkuil Y. 2007. Biometrics of Ruffs *Philomachus pugnax* migrating in spring through southern Belarus with special emphasis on the occurrence of 'faeders'. Ringing & Migration. 23: 134-140.
- Krebs J.R., Davies N.B. 2001. Wprowadzenie do ekologii behawioralnej. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa.

- Lank D.B., Smith C.M., Hanotte O., Burke T., Cooke F. 1995. Genetic polymorphism in alternative mating behavior in Male ruff *Philomachus pugnax*. *Nature*. 378: 58-62.
- Lipp H.P., Pleskacheva M.G., Gossweiler H., Ricceri L., Smirnova A.A., Garin N.N., Perepiolkina O.P., Voronkov D.N., Kuptsov P.A., Dell'omo G. 2001. A large outdoor radial maze for comparative studies in birds and mammals. *Neuroscience and biobehavioural reviews*. 25: 83-99.
- Oliveira R.F., Carvalho N., Miranda J., Gonçalves E.J., Grober M., Santos R.S. 2001. The Relationship Between the Presence of Satellite Males and Nest-Holders' Mating Success in the Azorean Rock-Pool Blenny *Parablennius sanguinolentus parvicornis*. *Ethology*. 108: 223-235.
- Rhodes J.S., van Praag H., Jeffrey S., Girard I., Mitchell G.S., Garland T. Jr., Gage F.H. 2003. Exercise Increases Hippocampal Neurogenesis to High Levels but Does Not Improve Spatial Learning in Mice Bred for Increased Voluntary Wheel Running. *Behavioural Neuroscience*. 117: 1006-1016.
- Sherry D.F., Hoshoooley J.S. 2009. The seasonal hippocampus of food-storing birds. *Behavioural Processes*. 80: 334-338.
- Shettleworth S.J. 2003. Memory and hippocampal specialization in food-storing birds. *Brain, behavior and evolution*. 62: 108-116.
- Sinervo B., Zamudio K.R. 2001. The evolution of alternative reproductive strategies: fitness differential, heritability, and genetic correlation between sexes. *The American Genetic Association* 92: 198-205.
- Svensson L., Mullarney K., Zetterstrom D., Grant P.J. 1998. *Bird guide*. Harper Collins London.

Lp.	Nazwa zadania badawczego	Termin rozpoczęcia*/ ----- zakończenia*/ zadania	Przewidywane koszty (zł)
1	2	3	4
1	Opracowanie procedur obserwacyjnych dla batalionów (koszt obejmuje dokonanie zakupu potrzebnej aparatury i innych materiałów niezbędnych do przeprowadzenia badań oraz pobyt w Finlandii)	0 – 3	95000
2	Wykonanie testów zdolności kognitywnych na batalionach	3 – 5	50000

3	Analiza danych i publikacja wyników	5 – 8	13000
RAZEM			158000

*wyrażone w miesiącach

Lp.	Rodzaj kosztów	Planowane koszty w roku	
		2010	Razem
	Koszty bezpośrednie	138800	138800
1	w tym:		
	1/ Wynagrodzenia z pochodnymi 2/ Inne koszty realizacji projektu (łącznie z kosztem zakupu lub wytworzenia aparatury naukowo - badawczej)	18800	18800
		120000	120000
2	Koszty pośrednie (25% od kosztów innych niż aparatura)	19200	19200
3	Koszty ogółem finansowane ze środków finansowych na naukę (1+2)	158000	158000
4	Koszty ogółem finansowane z innych źródeł niż środki finansowe na naukę	0	0
5	Koszty ogółem (3+4)	158000	158000

Galeria:



Nowa stacja UJ w Ochotnicy Górnej



