

Autoreferat

Joanna Kapusta

Uniwersytet Jagielloński

Wydział Biologii i Nauk o Ziemi

Instytut Nauk o Środowisku

ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

Kraków, maj 2012 r.

1. Joanna Kapusta

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

1986 - 1991 - 5 letnie studia magisterskie na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego

1991 - **magister biologii** Uniwersytetu Jagiellońskiego, specjalność biologia, na podstawie pracy zatytułowanej „Wpływ hormonów jajnikowych na agresywne zachowanie samic nornicy rudej (*Clethrionomys glareolus*)”.

1998 - **doktor nauk biologicznych** w zakresie biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Behawior samic nornicy rudej (*Clethrionomys glareolus*) – wpływ hormonów i czynników socjalnych”

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

1991 – 1993: studia doktoranckie w ramach Środowiskowego Studium Doktoranckiego Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego.

1993 – 1998: asystent w Instytucie Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

1998 – 2003: asystent w Instytucie Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego.

2003 – do chwili obecnej: adiunkt w Instytucie Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

Moje najważniejsze osiągnięcie naukowe, będące podstawą złożonego przeze mnie wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego, stanowi monotematyczny cykl 4 publikacji z lat 2007-2012 przedstawionych pod wspólnym tytułem: „**Ultradźwięki jako system komunikacji wewnątrzgatunkowej i międzygatunkowej u gryzoni z rodziny chomikowatych (Cricetidae), podrodziny nornikowatych (Arvicolinae)**”

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),

1. **Kapusta J**, Sales G.D and Czuchnowski R. Aggression and vocalization behaviour of three sympatric vole species during conspecific and heterospecific same-sex encounters. 2007. Behaviour 144, 283-305.
2. **Kapusta J** and Sales G.D. Male-female interactions and ultrasonic vocalization in three sympatric species of voles during conspecific and heterospecific encounters. 2009. Behaviour 146, 939-962.
3. **Kapusta J** and Pochroń E. Effect of gonadal hormones and sexual experience on vocalizations and behavior of male bank voles (*Myodes glareolus*). 2011. Canadian Journal of Zoology 89, 1116-1126.
4. **Kapusta J**. Effect of the stage of the reproductive cycle on vocalization and behaviour in female bank voles. 2012. Acta Theriologica 57: 145-152

Oświadczenia współautorów publikacji oraz określenie indywidualnego wkładu pracy każdego z nich znajdują się w załączniku 6, bezpośrednio po odpowiedniej publikacji.

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wstęp: Gryzonie porozumiewają się ze sobą głównie w oparciu o dobrze rozwinięty układ węchowy. Zwierzęta wydzielają do środowiska substancje zapachowe, które są następnie percepowane przez inne osobniki tego samego gatunku wywołując u nich określoną reakcję behawioralną i/lub fizjologiczną. Coraz więcej danych otrzymywanych z badań przeprowadzonych głównie na gatunkach laboratoryjnych (mysz laboratoryjna, szczur laboratoryjny) wskazuje, że w procesy komunikacyjne są zaangażowane także sygnały dźwiękowe. Gryzonie emitują sygnały dźwiękowe w dwóch zakresach częstotliwości; dźwięki o niskiej częstotliwości w zakresie słyszalności ucha ludzkiego (dźwięki słyszalne) oraz dźwięki o wyższej częstotliwości czyli ultradźwięki (>20 kHz). Jak wiadomo dźwięki o różnych częstotliwościach emitowane przez gryzonie są wytwarzane w odmienny sposób. Dźwięki słyszalne powstają w wyniku wprowadzania strun głosowych w drgania, natomiast ultradźwięki w wyniku przepychania powietrza przez usztywnione struny głosowe. Warto zaznaczyć, że ultradźwięki charakteryzują się krótszą falą o długości mniejszej niż 1,7 cm,

dlatego też są łatwo pochłaniane przez różne elementy środowiska, ulegają odbiciom na granicy ośrodków o małej nawet różnicy gęstości i w konsekwencji nie są przekazywane na dalekie odległości. Mogą więc pełnić funkcję przekaźnika informacji w przypadku bezpośredniego, bliskiego kontaktu zwierząt prowadzących naziemny i podziemny tryb życia, występujących na niewielkich obszarach. Istnieją dowody, że ultradźwięki są percepowane przez inne osobniki tego samego gatunku i mogą wywoływać pewne reakcje behawioralne, wciąż jednak niewiele wiadomo na temat roli jaką pełnią w behawiorze gryzoni.

Cel naukowy: Badania, które podjęłam dotyczyły roli sygnałów dźwiękowych w komunikacji wewnątrzgatunkowej i międzygatunkowej nornikowatych i miały na celu określenie jakim zachowaniom towarzyszy emitowanie sygnałów o niskich, a jakim o wysokich częstotliwościach (ultradźwięki), czy pełnią one istotną rolę w izolacji gatunkowej oraz jakie czynniki wewnętrzne i zewnętrzne wpływają na wokalizację. Jako model badawczy wybrałam trzy sympatrycznie występujące gatunki nornikowatych: nornicę rudą (*Myodes* (dawniej *Clethrionomys*) *glareolus*), nornika polnego (*Microtus arvalis*) oraz nornika burego (*Microtus agrestis*). Badane gatunki gryzoni należą do rodziny chomikowatych Cricetidae, podrodziny nornikowatych Arvicolinae i reprezentują szeroko rozprzestrzenione, ekologicznie zróżnicowane i licznie występujące w regionie Holarktycznym drobne ssaki. Gatunki te różnią się środowiskiem w jakim żyją oraz systemem socjalnym, co zeebrałam i przedstawiłam w poniższej tabelce.

Gatunki	nornica ruda <i>Myodes glareolus</i>	nornik bury <i>Microtus agrestis</i>	nornik zwyczajny <i>Microtus arvalis</i>
siedlisko	lasy, zadrzewienia	obrzeża lasów, łąki, pola tereny wilgotne	łąki, pola, tereny otwarte
system socjalny samic	samotniczy tryb życia, małe, nie pokrywające się, silnie bronione terytoria	samotniczy tryb życia lub grupy socjalne terytoria samic lub grup mogą się pokrywać	grupy socjalne, tolerancyjne, luźne terytoria grup
system socjalny samców	samotniczy tryb życia, duże, pokrywające się, bronione terytoria tworzą hierarchię, zmniejszając wzajemną agresję	samotniczy tryb życia terytorialne wiosną, latem i jesienią terytorializm zanika	samotniczy tryb życia lub w grupie socjalnej samic

Utrzymanie tak skomplikowanej struktury socjalnej wymaga prawidłowo funkcjonującego systemu porozumiewania się, w którym obok bodźców węchowych istotną rolę wydają się odgrywać bodźce akustyczne. Pierwsza część badań stanowiła podejście etologiczne; osobniki wybranych gatunków nornikowatych były badane podczas kontaktów osobników tego samego gatunku (interakcje wewnątrzgatunkowe) jak i innego gatunku (interakcje międzygatunkowe), w obrębie zarówno tej samej jak i przeciwnej płci [poz. 1 i 2].

Zwierzęta, na których prowadziłam badania, zostały odłowione z terenu Magurskiego Parku Narodowego, w okolicy Krempnej (południowo-wschodnia Polska), a następnie przeniesione i hodowane w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych w Instytucie Nauk o Środowisku, Uniwersytetu Jagiellońskiego. Przy zastosowaniu testów behawioralnych otwartego pola („open field”) przeprowadziłam badania roli sygnałów dźwiękowych, szczególnie ultradźwięków, w ich zachowaniu socjalnym.

Na zachowanie zwierząt wpływa wiele czynników zarówno zewnętrznych jak i wewnętrznych. Pojawiło się więc pytanie jakie czynniki wpływają na emisję dźwięków podczas kontaktów osobniczych. Czynniki regulujące wokalizację gryzoni podczas interakcji samicy z samcem, co stanowi element behawioru seksualnego, są znane. Niewiele natomiast wiadomo na temat czynników wpływających na emisję dźwięków podczas kontaktów osobników tej samej płci. Dlatego też w drugiej części moich badań podjęłam próbę analizy tychże czynników [poz. 3 i 4]. Jako model badawczy wybrałam nornicę rudą, której hodowla prowadzona jest w Zespole Biologii Rozrodu Ssaków Instytutu Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego systemem outbred utrzymującym heterozygotyczność, a stałe warunki laboratoryjne umożliwiają kontrolę badanych czynników. Skupiłam się na tych czynnikach, których rola w regulacji behawioru socjalnego jest powszechnie znana, oraz o których wiadomo, że wpływają na wokalizację będącą elementem behawioru seksualnego. Badania prowadziłam w akustycznie izolowanym pomieszczeniu, a zachowanie oraz dźwięki rejestrowane były na taśmach video i magnetofonowych. Przy pomocy bioakustycznego programu komputerowego przeprowadziłam analizę częstotliwości (kHz) oraz długości (ms) emitowanych sygnałów dźwiękowych.

Wyniki: W początkowym etapie badań wykazałam, że zarówno samice jak i samce wszystkich trzech badanych gatunków nornikowatych emitują ultradźwięki podczas kontaktów osobników tej samej płci [poz. 1]. W przypadku nornika polnego i nornika burego przeprowadzone przeze mnie badania są pierwszym doniesieniem i pierwszą pełniejszą analizą emitowanych przez nie ultradźwięków. Szczegółowe badania wykazały, że istnieją

wyraźne różnice w ilości i jakości ultradźwięków emitowanych przez osobniki badanych gatunków nornikowatych, które wydają się mieć związek z prezentowanym behawiozem i strukturą socjalną. Ultradźwięki emitowane są częściej przez nornika polnego, który wykazuje tolerancję w stosunku do osobników tej samej płci i którego struktura socjalna opiera się na funkcjonowaniu grupy. Interakcje nornika burego także charakteryzowały się słabą agresywnością, pojawiły się natomiast różnice pomiędzy samicami i samcami dotyczące liczby emitowanych ultradźwięków. Samice emitowały więcej ultradźwięków niż samce co również może mieć związek ze sposobem funkcjonowania w populacji; samice tworzą niewielkie grupy, samce natomiast żyją pojedynczo, unikając częstych kontaktów z osobnikami własnej płci. Nornica ruda jest gatunkiem terytorialnym, a poszczególne osobniki żyją pojedynczo i wykazują agresję w stosunku do osobników tej samej płci. Zarówno samce jak i samice tego gatunku emitują najmniejszą liczbę ultradźwięków, pojawiają się natomiast dźwięki o niskiej częstotliwości, towarzyszące zachowaniom agresywnym. W warunkach naturalnych nornica ruda unika częstych kontaktów z osobnikami tej samej płci, co sprawia, że ultradźwięki, mogą odgrywać nieco mniejszą rolę w komunikacji pomiędzy osobnikami tego gatunku niż u gatunków socjalnych. Ultradźwięki, ze względu na swoje fizyczne cechy, percepowane są przez osobniki przebywające w bliskiej odległości, stąd też mogą bardziej nadawać się na przekaźnika informacji u gatunków, których osobniki przebywają w częstym i bliskim kontakcie. Ponieważ ultradźwięki emitowane są częściej przez osobniki gatunków, których interakcje międzyosobnicze cechuje tolerancja i słaba agresja, można przypuszczać, że dźwięki te przekazują informację, która obniża agresję poszczególnych członków grupy i przyczynia się do utrzymania stabilnej struktury socjalnej.

Dźwięki emitowane są także przez osobniki badanych gatunków nornikowatych podczas kontaktów wewnątrzgatunkowych, heteroseksualnych [poz. 2]. W relacjach pomiędzy samicą a samcem dźwięki również towarzyszą określonym typom zachowania. Ultradźwięki są licznie emitowane przez nornika polnego i nornika burego, których relacje heteroseksualne są pozbawione zachowań agresywnych, podczas gdy dźwięki o niskich częstotliwościach pojawiają się sporadycznie. U nornicy rudej natomiast, u której agresja jest elementem zachowań seksualnych, ultradźwięki są emitowane, ale nieco rzadziej. Można przypuszczać, że zakres wokalizacji ultradźwiękowej podczas kontaktu osobników przeciwnej płci zależy od fazy cyklu płciowego samicy, co stwierdzono w przypadku myszy laboratoryjnej.

Otrzymane wyniki wskazują natomiast wyraźnie, że ultradźwięki stanowią istotny element socjalnego i seksualnego behawioru badanych gatunków nornikowatych.

Ultradźwięki są słyszalne przez osobniki różnych gatunków zwierząt będących w bliskości źródła ich emisji. Dźwięki te mogą więc być emitowane i percypowane podczas interakcji osobników różnych gatunków nornikowatych, przekazując określoną informację. Analiza emisji sygnałów dźwiękowych podczas kontaktów międzygatunkowych wykazała istotne osłabienie emisji ultradźwięków. Jeżeli dźwięki te pojawiały się, to zarówno ich liczba jak i czas emisji uległy istotnemu zmniejszeniu. Zauważalne było także wyraźnie mniejsze zainteresowanie osobnikiem obcego gatunku oraz wzrost zachowań agresywnych. Wydaje się więc, że ultradźwięki nie odgrywają istotnej roli w komunikacji międzygatunkowej. Są one percypowane i można przypuszczać, że biorą udział w identyfikacji osobnika jako przedstawiciela obcego gatunku.

Wartym podkreślenia jest fakt, że u wszystkich trzech badanych gatunków nornikowatych podczas kontaktów socjalnych rozpoczęcie emisji ultradźwięków poprzedzone było bezpośrednim kontaktem, któremu towarzyszyło wzajemne obwąchiwanie. Identyfikacja zapachowa wydaje się więc być głównym czynnikiem, który wpływa na dalsze zachowanie, w tym także na emisję sygnałów dźwiękowych.

Hipotezę o komunikacyjnej roli ultradźwięków potwierdzają także badania jakości emitowanych sygnałów, na którą składała się długość oraz częstotliwość badanych dźwięków [poz. 1 i 2]. Częstotliwość i długość dźwięków słyszalnych były podobne. Natomiast częstotliwość ultradźwięków wydaje się być cechą gatunkową. Nornica ruda oraz nornik polny emitują sygnały dźwiękowe o częstotliwości w zakresie 25–35 kHz, podczas gdy zakres częstotliwości u nornika burego mieści się w granicach 42–44 kHz. Wyniki te są pierwszą szczegółową analizą jakościową ultradźwięków emitowanych przez wszystkie trzy gatunki nornikowatych. Różnice częstotliwości wydają się mieć związek ze środowiskiem życia poszczególnych gatunków. Nornik bury, który emituje ultradźwięki o wyższej częstotliwości, zamieszkuje obszary otwarte, wilgotne, graniczące z obrzeżami lasów. Daje mu to możliwość kontaktów zarówno z nornicą rudą, będącą gryzoniem leśnym, jak i nornikiem polnym, zamieszkującym obszary otwarte pól i łąk. Te dwa ostatnie gatunki, emitujące ultradźwięki o podobnej częstotliwości, preferując skrajnie różne siedliska mają małą możliwość regularnych kontaktów socjalnych. Zróznicowanie jakości emitowanych ultradźwięków, przejawiające się różną częstotliwością, może ułatwiać identyfikację osobników własnego gatunku i zapobiegać niepotrzebnym reakcjom na osobniki obcego

gatunku. Dotyczy to w szczególności gatunków, których siedliska częściowo pokrywają się umożliwiając wzajemny kontakt. Przeprowadzenie dalszej, bardziej szczegółowej analizy częstotliwości ultradźwięków, obejmującej analizę wartości maksymalnej i minimalnej jak i początkowej czy końcowej może wykazać, że istnieją także różnice pomiędzy ultradźwiękami emitowanymi przez nornika polnego i nornicę rudą.

Badania czynników regulujących emisję dźwięków emitowanych przez nornicę rudą podczas kontaktów międzyosobniczych w obrębie tej samej płci wykazały, że istotną rolę odgrywają zarówno czynniki wewnętrzne jak i zewnętrzne.

U samców nornicy rudej emisja ultradźwięków znajduje się pod kontrolą męskiego hormonu płciowego, testosteronu [poz. 3]. Zmniejszenie poziomu tego hormonu, krążącego we krwi (kastacja), istotnie ogranicza liczbę emitowanych podczas wzajemnych interakcji ultradźwięków obniżając równocześnie aktywność socjalną samców, szczególnie ich agresywność. Efekt ten zostaje zniwelowany poprzez egzogenne podanie hormonu. Istotną rolę w regulacji wokalizacji samców nornicy rudej odgrywa także czynnik socjalny jakim jest doświadczenie seksualne [poz. 3]. Samce, które miały wcześniej kontakt seksualny z samicą, wykazują bardzo silny wzrost agresji w stosunku do innych samców. Agresji tej towarzyszy istotne zmniejszenie emisji ultradźwięków, a wzrost emisji dźwięków o niskich częstotliwościach. Analiza jakościowa emitowanych sygnałów dźwiękowych wykazała, że żaden z badanych czynników, ani testosteron ani doświadczenie seksualne, nie zmieniły jakości emitowanych sygnałów dźwiękowych. Przedstawione i opublikowane wyniki są pierwszym doniesieniem dotyczącym czynników regulujących ultradźwiękową wokalizację podczas interakcji samców z podrodziny nornikowatych, ale także jednym z nielicznych wśród gatunków z rzędu gryzoni [poz. 3].

Komunikacja dźwiękowa samic nornicy rudej w kontaktach z osobnikami tej samej płci w sposób istotny zależy od fazy cyklu rozrodczego [poz. 4]. Samice dziewicze wykazują niewielki stopień zachowań agresywnych, a ich wzajemnym kontaktom towarzyszy emisja ultradźwięków i prawie całkowity brak emisji sygnałów o niskich częstotliwościach. Emisja ultradźwięków nie znajduje się pod kontrolą żeńskich hormonów płciowych produkowanych przez jajniki, o czym świadczy fakt, że usunięcie jajników (owariektomia), będących głównym źródłem estrogenów, nie wywołało zmian w produkcji tychże sygnałów dźwiękowych. Istotną zmianę zachowania wywołuje ciąża oraz laktacja. Samice nornicy rudej w tej fazie życia cechuje bardzo wysoka agresja względem innych samic. Towarzyszy jej emisja sygnałów o niskich częstotliwościach, co potwierdza hipotezę o ścisłej zależności

emitowanych sygnałów od prezentowanego behawioru. Samice ciężarne nie produkowały ultradźwięków, a samice karmiące tylko sporadycznie. Można przypuszczać, że emisja sygnałów dźwiękowych przez te samice, kontrolowana jest pośrednio przez hormony związane z tymi fazami. Hipoteza ta wymaga jednak dalszych, szczegółowych badań. Podobnie jak w przypadku samców, ani czynniki zewnętrzne ani wewnętrzne, nie wywołały zmian w jakości emitowanych przez samice sygnałów dźwiękowych co wskazuje na fakt, że jest ona cechą gatunkową niezależną od wpływu czynników regulujących behawior.

W przypadku nornicy rudej, w warunkach naturalnych, w okresie rozrodczym, dochodzi do kontaktów osobników tej samej płci na granicy ich terytoriów lub na obszarach neutralnych. Ultradźwięki mogą więc być nośnikiem informacji o obecności innego osobnika własnego gatunku, która poprzez słyszalność w bliskiej odległości i krótką trwałość (w przeciwieństwie do substancji zapachowych), zmniejsza ryzyko wykrycia przez drapieżniki. Ultradźwięki te mogą ponadto informować o obecności osobnika, ostrzegać potencjalnego konkurenta, wpływając na zmniejszenie liczby walk i ułatwiając utrzymanie stabilnej struktury socjalnej. W przypadku bezpośredniego kontaktu osobników, które cechuje bardzo wysoka agresja (samice ciężarne i karmiące oraz samce, które kopulowały z samicą) ultradźwięki wydają się nie odgrywać istotnej roli.

Reasumując, rola ultradźwięków w behawiorze gryzoni jest obecnie szeroko badana. Uważam, że moje badania przyczyniają się do pełnego poznania roli ultradźwięków jako jednego ze sposobów komunikacji wewnątrzgatunkowej gryzoni. Za główne osiągnięcia uznaję:

- 1) wykonanie pełnej ilościowej i jakościowej analizy sygnałów dźwiękowych emitowanych przez trzy gatunki gryzoni z podrodziny nornikowatych (nornicy rudej, nornika polnego i nornika burego) podczas kontaktów pomiędzy osobnikami tej samej jak i przeciwnej płci. W przypadku nornika burego i nornika polnego jest to pierwsza, publikowana, pełna informacja dotycząca zdolności do emisji ultradźwięków przez osobniki tych gatunków.
- 2) wykazanie, że ultradźwięki mogą odgrywać rolę w komunikacji wewnątrzgatunkowej badanych nornikowatych o czym świadczy:
 - znaczne osłabienie emisji ultradźwięków podczas interakcji osobników różnych gatunków (międzygatunkowe), zarówno w kontaktach tej samej jak i przeciwnej płci.

- zróżnicowanie jakościowe ultradźwięków jakie stwierdziłam u osobników gatunków, których kontakt w warunkach naturalnych jest możliwy częściej. Nornik bury, którego siedlisko występowania (łąki, obrzeża lasów) graniczy z siedliskiem występowania nornika polnego (łąki, pola) i nornicy rudej (lasy, zadrzewienia śródpolne) emituje ultradźwięki o wyższej częstotliwości.
- 3) wykazanie, że w przypadku nornikowatych ultradźwięki towarzyszą zachowaniom nieagresywnym. Emitowane są one częściej przez osobniki gatunku charakteryzującego się strukturą socjalną opartą na funkcjonowaniu grupy i bardziej tolerancyjnym zachowaniem w stosunku do osobników własnego gatunku (nornik polny). Nornica ruda, będąca gatunkiem terytorialnym emituje mniej ultradźwięków, które pojawiają się podczas zachowań nieagresywnych.
 - 4) określenie czynników regulujących wokalizację samców nornicy rudej podczas kontaktów osobników tej samej płci. Testosteron jest hormonem regulującym in plus emisję ultradźwięków. Doświadczenie seksualne, któremu towarzyszy bardzo wysoki poziom agresji obniża emisję ultradźwięków, zwiększając liczbę dźwięków słyszalnych. Jest to pierwsza analiza czynników zewnętrznych i wewnętrznych wpływających na wokalizację samców nornikowatych w relacjach osobników tej samej płci.
 - 5) określenie roli dźwięków w relacjach pomiędzy samicami nornicy rudej w zależności od fazy cyklu rozrodczego. Samice dziewicze wykazują słabą agresję i podczas wzajemnych kontaktów emitują ultradźwięki. Dźwięki te nie odgrywają istotnej roli w relacjach samic ciężarnych i karmiących, których zachowanie cechuje silna agresja. Analiza ta jest pierwszym doniesieniem dotyczącym wokalizacji samic nornikowatych w zależności od fazy cyklu rozrodczego w jakiej się znajdują.

Potencjalne wykorzystanie otrzymanych wyników

Oprócz zwiększenia wiedzy na temat biologii gryzoni, w szczególności nornikowatych, otrzymane wyniki mogą stać się użyteczne zarówno w badaniach medycznych jak zwalczaniu szkodników. Norniki oraz nornica ruda są coraz częściej wykorzystywanym modelem w badaniach neurologicznych czy badaniach dotyczących rozrodu ssaków. Ultradźwięki przez nie produkowane, mogą więc być łatwym do oceny wskaźnikiem zachowania oraz stanu rozrodczego. W związku z tym mogą być wykorzystane w badaniach wpływu czynników fizycznych czy też związków farmakologicznych na rozród oraz zachowanie. Ultradźwięki są wykorzystywane w walce ze szkodnikami takimi jak szczury

czy myszy, chociaż skuteczność urządzeń wykorzystujących ultradźwięki jest wciąż jeszcze niewielka. Zarówno norniki jak i nornica ruda są szkodnikami upraw czy szkółek leśnych. Wykorzystanie sygnałów ultradźwiękowych jako repelentów mogłoby stanowić atrakcyjną formę walki z tymi szkodnikami. Znajomość cech fizycznych emitowanych ultradźwięków, sytuacji w jakich są wykorzystywane oraz roli jaką pełnią podczas interakcji socjalnych tych gryzoni może pomóc w powyższych badaniach.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych .

a) Wpływ czynników wewnętrznych i zewnętrznych na behawior socjalny dorosłych osobników nornicy rudej (*Myodes* (dawniej *Clethrionomys) glareolus*)

Badania te stanowiły podstawę mojej pracy magisterskiej oraz doktorskiej. Pracę magisterską zatytułowaną „Wpływ hormonów jajnikowych na agresywne zachowanie samic nornicy rudej (*Clethrionomys glareolus*)” wykonywałam w Pracowni Rozrodu Ssaków Instytutu Zoologii pod kierunkiem prof. dr hab. Anny Marchlewskiej-Koj. Głównym efektem tej pracy było wykazanie, że czynniki środowiskowe istotnie wpływają na zachowanie samic nornicy rudej, a stopień modyfikacji zależy od warunków środowiskowych w jakich zwierzę się znajduje. Samice przebywające w nowym, obcym środowisku (test „open field”) charakteryzowały się większą aktywnością socjalną w której dominowały zachowania nieagresywne, podczas gdy na własnym terenie (test „home cage”) wykazywały silną agresję w stosunku do obcych osobników tej samej płci. W badaniach dotyczących zachowania gryzoni, przeprowadzanych w warunkach laboratoryjnych istotny jest zatem wybór właściwego testu behawioralnego. Egzamin magisterski zdałam w 1991, a uzyskane w pracy magisterskiej wyniki zostały opublikowane w *Polish Ecological Studies* [Zał. 4, poz. 1]. W tym samym roku zdałam egzamin i zostałam przyjęta na Środowiskowe Studia Doktoranckie przy Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Tematyka pracy doktorskiej dotyczyła wpływu czynników socjalnych oraz hormonów na zachowanie samic nornicy rudej. Efektem prowadzonych badań była rozprawa doktorska pt. „Behawior samic nornicy rudej (*Clethrionomys glareolus*) – wpływ hormonów i czynników socjalnych”. Promotorem pracy była prof. dr hab. Anna Marchlewska-Koj, a recenzentami prof. dr hab. Andrzej Drożdż z Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego

oraz prof. dr hab. Halina Krzanowska z Instytutu Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Pracę doktorską obroniłam w 1998 roku.

Rozród i zachowanie zwierząt zależy od szeregu czynników socjalnych czyli interakcji między osobnikami żyjącymi na danym terenie, w obrębie danej populacji. Wpływ czynników socjalnych na aktywność hormonalną nornicy rudej jest już zbadany, niewiele natomiast wiadomo było na temat wpływu tychże czynników na zachowanie. Nornica ruda jest gatunkiem, którego struktura socjalna opiera się na terytorializmie. W sezonie rozrodczym dojrzałe osobniki obu płci wyznaczają swoje terytoria. Ustalanie terytoriów, jak również ich utrzymanie i obrona wiążą się z całym szeregiem interakcji między osobnikami żyjącymi w danej populacji, zarówno w obrębie tej samej jak i przeciwnej płci. Składają się na nie elementy zachowania agresywnego jak np. atak, gonienie oraz elementy zachowania nieagresywnego, eksploracyjnego wraz z elementami poddania się i ucieczki. Interakcje te są procesem złożonym, na który wpływa wiele czynników zarówno zewnętrznych jak i wewnętrznych.

Rola hormonów płciowych i czynników socjalnych

Przeprowadzona przeze mnie analiza czynników kontrolujących interakcje socjalne samic nornicy rudej wykazała, że w relacjach pomiędzy osobnikami tej samej płci istotną rolę odgrywa stan hormonalny zwierząt [Zał. 4, poz. 7]. Do najważniejszych hormonów, wywołujących istotny efekt, należy estrogen i progesteron. Ten ostatni wydaje się odgrywać rolę w regulacji zachowań agresywnych typowych dla samic ciężarnych, u których hormon ten utrzymuje się we krwi na bardzo wysokim poziomie. Zachowania agresywne są również istotnym elementem behawioru samic karmiących. Obecność młodych w gnieździe stymuluje matczyną agresję samic zarówno we wczesnym jak i środkowym okresie laktacji [Zał. 4, poz. 6]. Zachowania socjalne samic nornicy rudej pozostają także pod kontrolą czynników socjalnych. Dojrzały płciowo samiec stymuluje istotnie aktywność socjalną, a w szczególności zachowania agresywne samic w stosunku do samic obcych [Zał. 4, poz. 6]. Produkcja przez samca bodźców wpływających na zachowanie samic nornicy rudej znajduje się pod kontrolą męskiego hormonu płciowego jakim jest testosteron, o czym świadczy brak podobnej reakcji behawioralnej samic przebywających z samcem pozbawionym źródła tego hormonu (samcem kastrowanym). Brak reakcji behawioralnej u samic na substancje zapachowe obecne w moczu samca dojrzałego płciowo wskazuje na możliwość działania innych dodatkowych bodźców, np. wizualnych czy akustycznych, nie tylko zapachowych.

Rola doświadczenia seksualnego

Równolegle z badaniami wpływu różnych czynników środowiskowych na zachowanie samic normicy rudej podjętymi w pracy doktorskiej, prowadziłam badania wpływu czynników socjalnych na zachowania podczas kontaktów osobników płci przeciwnej. Wykazałam, że istotnym czynnikiem modyfikującym interakcje normicy rudej w parach mieszanych jest doświadczenie seksualne [Zał. 4, poz. 2]. U osobników obu płci wcześniejsze doświadczenie seksualne znacznie zwiększyło ogólną aktywność behawioralną. Zachowanie samców nie zależało od doświadczenia seksualnego samic, podczas gdy samice rozróżniały stopień doświadczenia seksualnego samca i wykazywały większą aktywność socjalną w stosunku do samców niedoświadczonych seksualnie. Można przypuszczać, że aktywność ta ma na celu pobudzić układ hormonalny samca i wywołać właściwą reakcję behawioralną.

Rola bodźców węchowych

Wzajemna stymulacja oraz wpływ czynników socjalnych na rozród gryzoni odbywa się głównie poprzez emisję i percepcję bodźców zapachowych. U gryzoni główną rolę w identyfikacji zapachów odgrywają dwa układy węchowe: główny układ węchowy oraz dodatkowy układ węchowy (układ womeronasalny) odpowiedzialny za percepcję feromonów związanych z rozrodem. Analiza dróg percepcji sygnałów zapachowych wpływających na behavior socjalny normicy rudej wykazała, że podstawową rolę odgrywa główny układ węchowy. Jego uszkodzenie, poprzez usunięcie głównych opuszków węchowych (odwęchowanie = bulbektomia), powoduje wzrost agresywnego zachowania samców w stosunku do samic, czego nie obserwuje się u nieoperowanych osobników płci męskiej oraz w bardzo niewielkim stopniu u samców z uszkodzonym układem womeronasalnym [Zał. 4, poz. 5]. Selektywne usunięcie układu womeronasalnego jedynie osłabia reakcję behawioralną nie eliminując jej całkowicie. Ponadto bulbektomia samców istotnie ogranicza emisję ultradźwięków w obecności samicy lub jej zapachu, czego nie stwierdza się u samców pozbawionych jedynie dodatkowego układu węchowego [Zał. 4, poz. 3]. Bulbektomia samców wpływa nie tylko na zachowanie samego operowanego osobnika, ale także modyfikuje reakcję behawioralną samic będących z nim w kontakcie. Wykazują one istotne osłabienie agresji wobec samców z uszkodzonym głównym układem węchowym. Główny układ węchowy odpowiedzialny jest także za percepcję substancji zapachowych regulujących behavior pomiędzy samicami. [Zał. 4, poz. 6].

Efekt stresu

Jednym z czynników środowiskowych regulujących dojrzewanie i behavior normicy rudej jest stres. Jak już wspomniano wcześniej, struktura socjalna normicy rudej opiera się na terytorializmie poszczególnych osobników. W sezonie rozrodczym samice, szczególnie ciężarne i karmice, przebywają na własnym terytorium, a każdy dłuższy trwający kontakt z inną samicą jest dla nich sytuacją stresową. Stres jest czynnikiem modyfikującym aktywność hormonalną samic ciężarnych, a zachodzące zmiany mogą wpływać na rozwój płodów, ich fizjologię, morfologię oraz zachowanie. W prowadzonych badaniach poddawałam samice będące w 13, 14 i 15 dniu ciąży stresowi konfrontacji. Nornice rude urodzone przez matki poddane stresowi, wykazują istotne opóźnienie tempa dojrzewania płciowego [Zał. 4, poz. 11]. Negatywny wpływ stresu prenatalnego jest tak silny, że jego efekt widoczny jest u osobników w życiu dorosłym, przy czym jego oddziaływanie jest silniejsze na samice. Stres prenatalny wywoływał maskulinizację samic. Jako osobniki dorosłe są one mniej atrakcyjne dla samców niż samice niestresowane, wzbudzają natomiast większe zainteresowanie u osobników tej samej płci [Zał. 4, poz. 11]. Samce urodzone przez matki poddane stresowi wykazują zwiększoną agresję w stosunku do osobników tej samej płci, atakując wcześniej i częściej niż samce niestresowane. U samic natomiast obserwuje się osłabienie zachowań nieagresywnych, a stopień agresji zależy o rodzaju stresu jakiemu poddawana była matka [Zał. 4, poz. 12]

Rola sygnałów akustycznych

W trakcie trwania studiów doktoranckich, w roku akademickim 1992/1993 uzyskałam stypendium w ramach programu TEMPUS. Jako stypendystka przebywałam 6 miesięcy w Division of Life Science, King's College w Londynie, gdzie pod kierunkiem dr Gillian D. Sales uczestniczyłam w badaniach dotyczących roli ultradźwięków emitowanych przez gryzonie w ich biologii. W trakcie tych badań poznałam podstawowe techniki rejestracji i analizy dźwięków, szczególnie w zakresie wysokich częstotliwości (ultradźwięki). Praca w zespole dr Sales otworzyła nowe pole mojej działalności badawczej dotyczące roli sygnałów dźwiękowych w komunikacji gryzoni. W oparciu o doświadczenia i nabytą wiedzę w trakcie wyżej wymienionego stażu zorganizowałam pracownię behawioralno-akustyczną, w której prowadzę badania zarówno behavioru jak i wokalizacji drobnych ssaków.

Podczas badań czynników wpływających na interakcje samicy z samcem normicy rudej stwierdziłam emisję ultradźwięków. Analiza szczegółowa wykazała, że emisja tych

sygnałów dźwiękowych podczas kontaktów osobników płci przeciwnej jest przede wszystkim elementem behawioru samców [Zał. 4, poz. 3]. Poziom emisji ultradźwięków podczas interakcji osobników aktywnych oraz podczas kontaktów samców z samicą uśpioną była zbliżona, natomiast podczas kontaktów samic z uśpionym samcem nie rejestrowano ultradźwięków. Nie wyklucza to oczywiście emisji ultradźwięków przez samicę w obecności aktywnego samca, sugeruje jednak, że te sygnały dźwiękowe mogą być wykorzystywane głównie przez samce celem stymulacji zachowania samic. Hipotezę tę potwierdza fakt, że samce doświadczone seksualnie emitowały ultradźwięki szybciej i intensywniej w obecności samicy niż samce niedoświadczone seksualnie [Zał. 4, poz. 2].

b) Wpływ czynników wewnętrznych i zewnętrznych na emisję ultradźwięków przez noworodki nornicy rudej (*Myodes* (dawniej *Clethrionomys) glareolus*).

Jednym z ważniejszych obszarów mojej działalności badawczej jest analiza roli sygnałów dźwiękowych w komunikacji gryzoni. W początkowym okresie badań, głównym przedmiotem moich zainteresowań była rola ultradźwięków w komunikacji pomiędzy matką a potomstwem. Wiadomo, że noworodki wielu gatunków gryzoni pod wpływem stresu produkują ultradźwięki (dźwięki o częstotliwości powyżej 20 kHz). Sygnały te są słyszalne dla matki i stanowią ważny element komunikacji pomiędzy samicą i jej potomstwem. W przeprowadzonych przeze mnie badaniach wykazałam, że ultradźwięki emitowane przez młode nornice rude poddane stresowi izolacji i zimna ulegają modyfikacji pod wpływem różnych bodźców zapachowych [Zał. 4, poz. 4]. Było to pierwsze doniesienie dotyczące emisji ultradźwięków przez młode nornice rude w reakcji na stres oraz wykazanie zdolności zróżnicowanej odpowiedzi wokalne tychże młodych na obecność różnych substancji zapachowych. Zapach własnego gniazda łagodził działanie stresu izolacji i wychłodzenia, co przejawiało się zmniejszeniem liczby emitowanych ultradźwięków oraz skróceniem ich długości. Zapach ściółki pochodzącej od dorosłych osobników wpływał na jakość ultradźwięków powodując obniżenie częstotliwości początkowej i końcowej oraz maksymalnej i minimalnej.

W latach 1999-2004 wspomagałam Hajnalkę Szentgyörgyi w pracach nad jej doktoratem, badając wokalizację młodych nornic rudych i czynników ją regulujących. Mój wkład w te badania był niewielki, przyczyniłam się jednak do wykazania, że intensywność i jakość emitowanych ultradźwięków przez noworodki nornicy rudej zależy od wieku oraz od rodzaju i siły działającego czynnika stresującego [Zał. 4, poz. 15]. Najwięcej ultradźwięków

zarejestrowano u młodych w pierwszym tygodniu życia. Izolacja od gniazda wywołała znacznie silniejszą emisję ultradźwięków u noworodków przebywających w temperaturze niższej niż temperatura gniazda. Reakcję tę potęgowała dłuższa nieobecność matki w gnieździe (3 godz.).

c) Wpływ czynników wewnętrznych i zewnętrznych na emisję ultradźwięków przez myszy laboratoryjne szczepu CBA.

Dalsze badania, prowadzone na myszach laboratoryjnych szczepu CBA wykazały, że noworodki rozróżniają zapach własnego genotypu. Zapach ściółki karmiącej samicy własnego genotypu (CBA) był czynnikiem łagodzącym działanie stresu izolacji i powodował zmniejszenie wokalizacji trzydniowych noworodków. Zapach ściółki samicy karmiącej, ale o innym genotypie (szczepu C57BL), nie wywoływał takiej reakcji, nawet jeżeli wcześniej przebywały z nią w gnieździe [Zał. 4, poz. 8]. Reakcja ta nie jest ograniczona wyłącznie do zapachu samic karmiących, ale rozciąga się także na dorosłe samice i samce [Zał. 4, poz. 10 i 13]. Obecność ściółki z gniazd dorosłych osobników, obcych szczepów C57BL oraz DBA powodowała wzrost emisji ultradźwięków przez noworodki CBA. Te różnice w liczbie emitowanych ultradźwięków utrzymywały się w reakcji na substancje zapachowe zawarte w moczu dorosłych samców różnych szczepów [Zał. poz. 13]. Bodźce chemiczne identyfikowane przez noworodki są wydzielane wraz w moczem, ale ich produkcja nie znajduje się pod kontrolą męskiego hormonu płciowego - testosteronu. [Zał. 4, poz. 13]. Zapach osobników o odmiennym genotypie wpływał także na jakość ultradźwięków, powodując istotne wydłużenie emitowanych ultradźwięków w stosunku do sygnałów emitowanych w obecności zapachu własnego genotypu. Po raz pierwszy wykazałam także, że noworodki są w stanie rozróżnić płeć osobników dorosłych w oparciu o bodźce chemiczne. Krótsze ultradźwięki emitują w obecności substancji zapachowych moczu samic [Zał. 4, poz.13]. Emisja ultradźwięków w odpowiedzi na różne bodźce zapachowe jest uwarunkowana genetycznie. Młode osobniki szczepu CBA produkują więcej ultradźwięków, które są dłuższe i charakteryzują się wyższą częstotliwością, niż ultradźwięki emitowane przez młode szczepu C57BL, [Zał. 4, poz. 10].

d) Emisja ultradźwięków przez różne gatunki gryzoni z rodziny Cricetidae.

Równolegle z badaniami dotyczącymi wokalizacji noworodków gryzoni, prowadziłam badania wokalizacji osobników dorosłych. Analiza ultradźwiękowej wokalizacji osobników pochodzących z dwóch geograficznie izolowanych populacji tego samego gatunku, jak również osobników sympatrycznie żyjących, ale blisko spokrewnionych gatunków może przyczynić się do poznania procesów specjacji. Różnice w zachowaniu, w tym także wokalizacji jako elemencie komunikacji wewnątrzgatunkowej, mogą prowadzić do izolacji rozrodczej i powstawania nowych gatunków

W 1997 roku rozpoczęłam współpracę z dr Pachingerem z Uniwersytetu Komeńskiego w Bratysławie. W ramach tej współpracy przeprowadziłam badania różnic w wokalizacji i zachowaniu socjalnym dwóch izolowanych populacji nornika północnego (*Microtus oeconomus*: rodzina Cricetidae, podrodzina Arvicolinae); populacji północnej występującej w Polsce, w okolicy Białowieży oraz populacji południowej występującej na Słowacji w okolicy Bratysławy [Zał. 4, poz. 9]. Osobniki obu populacji preferują siedliska wilgotne i podmokłe, występują na torfowiskach, w dolinach rzek i strumieni. Słabszą emisją ultradźwięków charakteryzowały się osobniki populacji południowej, czemu towarzyszyła istotnie słabsza aktywność behawioralna podczas kontaktów międzyosobniczych, zarówno w obrębie tej samej jak i przeciwnej płci. Ultradźwięki wydają się odgrywać większą rolę w populacji, której osobniki charakteryzują się wyższą aktywnością socjalną.

Badania dwóch sympatrycznie występujących gatunków gryzoni prowadziłam we współpracy z Instytutem Ekologii i Ewolucji Rosyjskiej Akademii Nauk. Analizowałam zachowania socjalne, ze szczególnym uwzględnieniem wokalizacji, dwóch sympatrycznie występujących w regionie Dolnej Wołgi gatunków chomików; *Cricetulus migratorius* i *Allocricetulus eversmanni* [Zał. 4, poz. 14]. Istnieją wyraźne różnice pomiędzy osobnikami obu gatunków w ilości i jakości emitowanych sygnałów dźwiękowych w zakresie ultradźwięków i dźwięków słyszalnych. Więcej dźwięków emitowały osobniki *Allocricetulus eversmanni*, gatunku, który w warunkach naturalnych zajmuje mniejsze terytoria niż *Cricetulus migratorius*. Prowadzi to do częstszych kontaktów międzyosobniczych, podczas których dźwięki wydają się odgrywać istotną rolę pełniąc funkcję informacyjną i odstraszającą. Hipotezę tę potwierdzają różnice w jakości emitowanych ultradźwięków. Częstotliwość maksymalna ultradźwięków emitowanych przez osobniki obu gatunków była podobna, podczas gdy częstotliwość minimalna była niższa w dźwiękach emitowanych przez *Cricetulus migratorius*, co istotnie zwiększyło szerokość pasma dźwięku. Cecha ta sprawia, że dźwięki mogą przemieszczać się na dalsze odległości, co jest istotne dla osobników *Cricetulus migratorius*, które żyją w większym rozproszeniu. Ultradźwięki *Allocricetulus*

eversmanni są także nieco krótsze. Występowanie różnic międzygatunkowych w wokalizacji dwóch gatunków występujących na tym samym terenie i preferujących zbliżone siedliska sugeruje, że ultradźwięki odgrywają istotną rolę w komunikacji wewnątrzgatunkowej

e) Wpływ sezonu na rozród nornicy rudej hodowanej w warunkach laboratoryjnych.

W ramach utrzymywanej w Zespole Biologii Rozrodu Ssaków hodowli nornicy rudej prowadzę badania związane z procesem adaptacji osobników dzikiego gatunku do warunków laboratoryjnych. Pomimo ponad 40 lat hodowania w stałych warunkach laboratoryjnych, zbliżonych do warunków charakterystycznych dla okresu rozrodczego, nornica ruda wykazuje sezonową aktywność rozrodczą. Wprawdzie samice wydają na świat podobną liczbę młodych w sezonie letnim i zimowym, niemniej jednak osobniki urodzone w okresie zimowym są mniejsze i mniej z nich przeżywa do wieku osiągnięcia samodzielności (18-20 dni). Osobniki 20 dniowe urodzone w sezonie zimowym posiadają mniejsze narządy płciowe niż osobniki urodzone w okresie letnim. Ponadto ilość i jakość spermy 6-tygodniowych samców urodzonych zimą jest mniejsza. Wyniki tych badań w formie maszynopisu zostały wysłane do *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* [Zał. 4, poz. 16].

Podsumowanie:

Przeprowadzone przez mnie badania przyczyniły się do wzrostu wiedzy na temat biologii rozrodu nornicy rudej i wniosły istotny wkład w poznanie dróg komunikowania się gryzoni, szczególnie komunikacji dźwiękowej opartej na emisji i percepcji ultradźwięków.

Przeprowadziłam pierwszą szczegółową analizę ultradźwięków emitowanych przez gryzonie z rodziny Cricetidae, podrodziny Arvicolinae oraz czynników wpływających na emisję tychże dźwięków przez osobniki dorosłe oraz noworodki. Moje badania wskazują, że komunikacja dźwiękowa szczególnie w zakresie wysokich częstotliwości odgrywa istotną rolę w interakcjach socjalnych i może jednocześnie być pomocna w utrzymaniu stabilnej struktury populacji.

Wierzę, że przedstawione powyżej osiągnięcia naukowe mogą stanowić podstawę wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego.

Joanna Kapusta