

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Warunkowanie instrumentalne szczurów z wykorzystaniem szczurzych wokalizacji ultradźwiękowych

2. Czas trwania projektu: 01.07.2019-01.07.2023

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): wokalizacje ultradźwiękowe, uczenie się instrumentalne

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): A

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Celem projektu będzie zaprojektowanie modelu uczenia się instrumentalnego wykorzystującego wokalizacje jako obserwowane reakcje. Mierzone będą m. in.: liczba wokalizacji emitowanych przez zwierzęta, nagród uzyskiwanych w kolejnych sesjach oraz czas potrzebny do nauki/wygaśnięcia pożądanego zachowania.

Uczenie się instrumentalne wymaga od zwierzęcia wykonania określonej czynności w celu otrzymania nagrody / uniknięcia kary. Doświadczenia przeprowadza się w klatce zawierającej **urządzenie**, które zwierzę może użyć w ramach wykonywania odpowiedzi na bodziec (np. dźwignia, otwór na nos). Jedną z naturalnych reakcji ssaków jest wokalizacja (u gryzoni w paśmie ultradźwiękowym, ang. *ultrasonic vocalization*, USV). Dlatego w zaprojektowanym przez nas modelu instrumentalnym planujemy wykorzystanie odpowiedzi **bardziej naturalnej**: poprzez emisję USV tzw. „apetytywnych” – **pasma 55 kHz**. Nagrodą będzie pastylka sacharozowa.

Planujemy przeprowadzić dwa rodzaje doświadczeń: warunkowanie proste z nagradzaniem za wokalizowanie podczas przebywania w klatce doświadczalnej) oraz warunkowanie na USV prezentowane

z głośnika (nagradzane będzie wokalizowanie tylko po uprzedniej emisji USV z głośnika). Ponieważ w procesie warunkowania przewidziana jest nagroda pokarmowa, zwierzę będzie motywowane do jej poszukiwania przez deprywację pokarmową.

Zaproponowany model behawioralny posłuży w przyszłości do testowania roli struktur mózgu odpowiedzialnych za powstawanie USV i uczenie się. Będzie mógł także być wykorzystany do badań innych aspektów zachowania zwierząt (np. komunikacji, złożoności USV, zdolności naśladowania, zdolności arytmetycznych etc.). Przewagą proponowanego modelu nad dotychczasowymi będzie jego naturalność: zwierzę nie będzie musiało uczyć się korzystać z „narzędzia” (dźwigni), lecz będzie musiało opanować nowe użycie własnych USV. Badania na tym polu znajdują wykorzystanie w dziedzinach związanych z fizjologią słuchu, komunikacją, emocjami, lękiem, depresją, czy autyzmem.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczury Wistar – stado szczurów nieposiadające dodatkowych cech charakterystycznych, stosowane jako podstawowe w badaniach czynnościowych i behawioralnych. Liczba szczurów: 128.

Szczury Sprague-Dawley – stado szczurów nieposiadające dodatkowych cech charakterystycznych, stosowane jako podstawowe w badaniach czynnościowych i behawioralnych. Liczba szczurów: 128.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: __PUBMED; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR);

Wykorzystałem słowa kluczowe: operant conditioning, ultrasonic vocalizations, rats, Wistar rats, Sprague-Dawley rats, nose-poke conditioning, lever-pressing conditioning, food deprivation, long-term food deprivation, overnight food deprivation

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że:

- W pracach dotyczących uczenia się instrumentalnego szczurów głównie wykorzystywana jest dźwignia (*lever-pressing*) lub otwory na nos (*nose-poke*).
- W pracach przedstawiających warunkowanie instrumentalne szczurów zawsze stosowana jest deprywacja pokarmowa w celu zwiększenia motywacji do poszukiwania pokarmu. Stosuje się różne metody deprywacji pokarmowej: ilościowe ograniczenie paszy oraz całkowite usunięcie dostępu do paszy na 12 godzin lub więcej. W trakcie trwania deprywacji pokarmowych masa ciała szczura jest monitorowana 2 razy w tygodniu, by nie osiągnęła wartości poniżej 80% wagi szczura przed rozpoczęciem deprywacji.

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

- Istnieją pojedyncze prace opisujące różnice między szczurami Wistar i Sprague-Dawley: w wokalizacjach ultradźwiękowych u dorosłych szczurów po podaniu środków farmakologicznych, u osesków i w warunkowaniu strachu.

A. Zgromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:

Zwierzęta stada Wistar, eksponowane na odtwarzane USV innych szczurów, reagują na nie emisją własnych USV. Reakcja ta nie zmienia się w zależności od sposobu chowu zwierząt: dynamika odpowiedzi szczurów chowanych w parach i chowanych samotnie jest podobna.

W innym doświadczeniu, w którym szczury Wistar chowane samotnie lub w parach eksponowane były na pustą klatkę doświadczalną, **szczury chowane samotnie wokalizowały częściej niż szczury chowane w parach** – co jest także kolejnym argumentem za chowaniem szczurów pojedynczo.

B. Brak jest danych dotyczących: nie prowadzono jeszcze doświadczeń z uczeniem się instrumentalnym szczurów z wykorzystaniem wokalizacji ultradźwiękowych; szczury stada Wistar i Sprague-Dawley są wykorzystywane w pracach dotyczących uczenia się instrumentalnego, lecz nie ma analizy porównawczej; brak danych porównawczych USV emitowanych przez szczury Wistar i Sprague-Dawley w odpowiedzi na USV z głośnika.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Stworzenie nowego modelu behawioralnego uczenia się instrumentalnego, w którym szczur wykonuje zadanie, w ramach którego, zamiast używania dźwigni lub otworów na nos, zwierzę wykorzystuje naturalną odpowiedź na bodźce: własne wokalizacje ultradźwiękowe

B/ Wskazanie różnic w uczeniu się instrumentalnym samców szczurów Wistar i Sprague-Dawley. Oba stada szczurów są powszechnie wykorzystywane w podstawowych badaniach behawioralnych, dzięki czemu efektywność uzyskanego behawioralnego modelu instrumentalnego uczenia się będzie można łatwo zestawiać z wynikami uzyskanymi z wykorzystaniem klasycznych modeli uczenia się.

C/ Stworzenie charakterystyki emitowanych USV przez samce szczurów Wistar i Sprague-Dawley. Na charakterystykę szczurzych USV składają się różne składowe biofizyczne, takie jak: długość, częstotliwość i modulacja, a także łączenie USV w serie. Ultradźwięki emitowane przez szczury różnych stad mogą różnić się między sobą właśnie tymi elementami. Być może w procesie warunkowania zwierzęta będą używały określonej klasy USV. Być może zwierzęta łatwiej będzie uwarunkować prezentując im z głośnika określoną klasę USV. Będzie to ważnym wkładem w opis właściwości USV szczurów, które, choć badane od wielu lat, nie zostały jeszcze dokładnie sklasyfikowane.

* * *

Przewidziany jest czas przyzwyczajania do nowych pomieszczeń i eksperymentatora, a także do klatki eksperymentalnej i pastylek sacharozowych (nagroda w procesie warunkowania), by ograniczyć stres wywołany nowym otoczeniem i zapobiec neofobii pokarmowej.

Duży nacisk położony jest na przyzwyczajenie zwierząt do wszystkich osób uczestniczących w eksperymencie, co jest kluczowe w doświadczeniach behawioralnych.

Szczury z ilościową deprywacją pokarmową zostaną na czas przeprowadzanego doświadczenia rozdzielone do pojedynczych klatek. Wiąże się to z koniecznością dokładnego monitorowania spożywanej przez nie paszy. Trzymanie szczurów w parach zwiększa ryzyko nierównej ilości paszy spożytej przez jednego osobnika. U szczurów zwykle jeden osobnik jest dominujący, przez co może konsumować więcej paszy, co może wiązać się z niepożądanym zwiększeniem stopnia deprywacji pokarmowej szczura podległego. Ilość paszy przypadająca na jednego osobnika przeliczana będzie zgodnie z przyjętą praktyką, tj. około 5 g paszy na 100 g masy ciała szczura [8]. Szczur zostaje zważony 1 dzień przed rozpoczęciem deprywacji. Jego waga monitorowana jest 3 razy w tygodniu, aby utrzymywała się w zakresie 90-95% wagi sprzed deprywacji przy paszy dostępnej *ad libitum*. W naszym laboratorium, w ramach innych projektów, prowadzone są badania w klatkach metabolicznych, co daje nam obraz dynamiki zmian masy ciała szczurów i dobowego spożycia przez nie paszy.

Liczba zwierząt wykorzystanych w doświadczeniu zostanie ograniczona do minimum na podstawie zależności statystycznych przedstawionych w punkcie 5, dzięki którym oszacowano najmniejszą liczebność grupy, dającą wiarygodną analizę statystyczną po zakończeniu doświadczenia.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☒ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.