



PISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA
WYDAWANE PRZY WSPÓŁDZIAŁE: AKADEMII GÓRNICZO-HUTNICZEJ,
MINISTERSTWA NAUKI I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO, POLSKIEJ AKADEMII UMIEJĘTNOŚCI

TOM 117
ROK 134

KWIECIEŃ – MAJ – CZERWIEC 2016

ZESZYT 4–6
2628–2630

TAJEMNICZY KOD WOKALNEGO POROZUMIEWANIA SIĘ SZCZURÓW

Stefan M. Brudzyński (St. Catharines, Ontario, Kanada)

Streszczenie

Artykuł podaje przegląd głównych typów ultradźwiękowych wokalizacji, które są emitowane zarówno przez nowonarodzone, jak i dorosłe szczury, oraz biologiczne sytuacje, w których są obserwowane. Nowonarodzone szczury emitują wokalizacje separacyjne, kiedy wypadną z gniazda. Wokalizacje te mają zmienne parametry akustyczne, ale ich dominującą cechą jest zmieniająca się częstotliwość na podobieństwo wibrującego sygnału pogotowia ratunkowego. Ułatwia to matce zlokalizowanie zgubionego noworodka i przyniesienie go do gniazda. Dorosłe szczury mają dwa podstawowe typy ultradźwiękowych wokalizacji: (1) wokalizacje alarmowe (lub 22 kHz), emitowane gdy zbliża się drapieżnik i także w innych awersywnych, niebezpiecznych sytuacjach, oraz (2) wokalizacje afiliacyjne (lub 50 kHz) związane z pozytywnymi oddziaływaniami społecznymi. Wokalizacje 50 kHz mają skomplikowaną strukturę akustyczną i dzielą się dalej na kilka podtypów o sugerowanej biologicznej roli w społecznym zachowaniu. Do najczęstszych podtypów należą „płaskie” wokalizacje o niezmienniej częstotliwości, stopniowane wokalizacje ze skokami częstotliwości i tryle.

Abstract

The article reviews the main types of ultrasonic vocalizations emitted by both newborn and adult rats, as well as biological situations in which they appear. Newborn pups emit separation calls when they fell out of the nest. These vocalizations have variable acoustic parameters but their dominating feature is fluctuating frequency similar to the ambulance siren. This feature enables mother to localize the pup and bring it back to the nest. Adult rats produce two basic types of ultrasonic vocalizations: (1) alarm vocalizations (or 22 kHz calls) that are emitted in the proximity of a predator or other aversive, dangerous situations, as well as (2) affiliative vocalizations (or 50 kHz calls) associated with positive social interactions. The 50 kHz calls have complex acoustic structure and may be further subdivided into several subtypes with suggested biological roles in social behavior. The most frequent subtypes are “flat” 50 kHz calls with constant frequency, step calls with rapid jumps of frequency, and trills.

Wprowadzenie

Obecny artykuł stanowi kontynuację tematu zapoczątkowanego publikacją we *Wszechświecie* z 2013 roku (Brudzynski, tom 114, Nr 4–6, str. 129–133), która odpowiadała na pytanie, dlaczego szczury zaczęły używać ultradźwięków do wewnątrzgatunkowej komunikacji. Szczury, jak i inne gryzonie, są bardzo lęklivymi zwierzętami, żyją w norach i prowadzą nocny tryb życia, gdyż pod osłoną ciemności są bardziej bezpieczne. Procesy adaptacyjne zmusiły je dalej do porozumiewania się w zakresie ultradźwięków, które nie są słyszalne dla większości drapieżników (przede wszystkim ptaków drapieżnych). Co prawda wiele drapieżnych ssaków może słyszeć znaczną część dolnego pasma ultradźwięków, ale nie na daleką odległość, zatem ogólnie ultradźwięki zwiększają bezpieczeństwo życia szczurów.

Pierwsze doniesienie o ultradźwiękowej wokalizacji szczurów pojawiło się w 1954 roku [1], a więc dość dawno. Badania nad tymi wokalizacjami rozwijały się powoli z powodu technicznych trudności w odbiorze i analizie tych dźwięków. Przez długie lata nie było wiadomo, jakie informacje szczury sobie przekazują. Początkowo wydawało się, że szczury używają ultradźwięków jako prostych sygnałów alarmowych lub ostrzegawczych, które nie mają żadnej wewnętrznej struktury i przypominają gwizdy lub piski. Przypuszczano, że sygnały te działałyby tak, jak powtarzający się dźwięk sygnalizatora lub brzęczyka, co szczególnie odnosiłoby się do szczurzych noworodków wołających matkę na pomoc w trudnej sytuacji. Okazało się, że potrzeba było więcej niż pół wieku, aby zacząć rozumieć nie tylko znaczenie tych sygnałów, ale cały złożony system wokalnego porozumiewania się tych zwierząt. Wyrażenie “tajemniczy kod” w tytule tego artykułu nie jest użyte w ludzkim znaczeniu tajemniczości, ale w znaczeniu, że powstały w ewolucji kod porozumiewania się szczurów był w pewien sposób ukryty, bardziej złożony i trudny do rozszyfrowania niż się badaczom wydawało. Jeszcze do dzisiaj nie wszystkie elementy szczurzej wokalnej komunikacji są dla nas jasne. Wyjaśnienie tych sygnałów wymaga nie tylko dalszych długotrwałych badań laboratoryjnych, ale pełnego zrozumienia biologii zachowania się tych zwierząt, szczególnie ich zachowania emocjonalnego i neurofizjologicznych procesów w ich mózgu.

Wokalizacje separacyjne nowonarodzonych szczurów

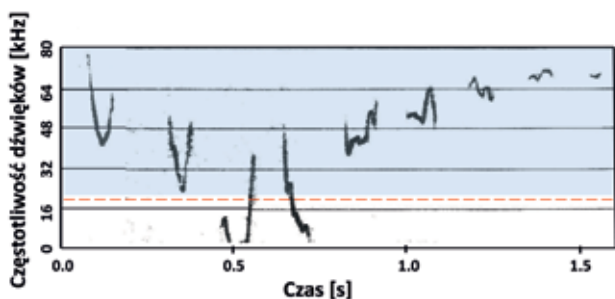
Badacze zwrócili szczególną uwagę na wokalizacje emitowane przez szczurze noworodki kierowane

do ich matki. Były one zarejestrowane pierwsze i ich rola biologiczna wydawała się prosta. W wypadku zagrożenia, zwykle wypadnięcia poza gniazdo, szczurek wokalizuje i kiedy matka słyszy jego wołanie, przynosi go spowrotem do grupy rodzeństwa w gnieździe. Małe noworodki nie umieją jeszcze dobrze chodzić, są zmiennocieplne (poikilotermiczne) aż do 5 dnia życia, więc poza gniazdem szybko stygną i bez pomocy matki, jedzenia i jej opieki grozi im zagłada. Toteż takie wokalizacje nazwano separacyjnymi (ang. *separation calls*, lub *isolation calls*), gdyż wokalizujący noworodek jest odseparowany od matki, ciepła w gnieździe i matczynego mleka. I chociaż ten schemat zachowania się noworodków jest całkowicie prawdziwy, liczne rejestracje separacyjnych wokalizacji wprowiły badaczy w zdziwienie.

Okazało się, że separacyjne wokalizacje, zwane czasem po angielsku *distress vocalizations* (tzn. emitowane w nieszczęśliwej lub rozpaczliwej sytuacji), prezentują zadziwiającą różnorodność dźwięków, której nikt się nie spodziewał [11]. Różnorodność ta była tak duża, że wręcz trudno było wyobrazić sobie jakąkolwiek sensowną komunikację z matką. Każdy noworodek emitował inne dźwięki, a każdy dźwięk wydawał się mieć inną akustyczną charakterystykę za każdym razem, kiedy szczurek go emitował. A zatem w małym przybliżeniu otrzymano tyle różnych wokalizacji, ile było szczurków w miocie i ile razy wokalizowały. Sprawiało to wrażenie totalnego chaosu. Zakres częstotliwości sięgał od dźwięków słyszalnych dla ludzi (pisków) aż do ponad 120 kHz, a więc niemal do górnego zakresu ultradźwięków nietoperzy. Długość trwania pojedynczych wokalizacji także zmieniała się od mniej niż 10 ms do ponad 600 ms, czyli 60 razy. Jedne z nich prezentowały się jako krótkie odcinki o stałej częstotliwości, inne zmieniały się w czasie rosnąc, malejąc, rosnąc i malejąc, malejąc i rosnąc, a jeszcze inne strzelały przez wszystkie częstotliwości od 2 kHz (dźwięk słyszalny dla człowieka) do ponad 100 kHz w jednym wydechu, jak gwizd. Na dodatek jeden infant potrafił emitować kilkanaście typów tych wokalizacji w jednym ciągu emisji trawającej 1–2 sekund (Ryc. 1). Zmieniała się także ilość wydawanych wokalizacji od sporadycznych do prawie 100 wokalizacji na minutę. Co ciekawe jednak, że matki tych noworodków w większości przypadków szybko reagowały na te, jak się wydawało, chaotyczne dźwięki i szukały zgubionego noworodka, aby przynieść go z powrotem do gniazda [12].

Zostały podjęte próby bardziej systematycznego badania separacyjnych wokalizacji podczas rozwoju, aby dowiedzieć się, czy zmieniają się one w kolejnych

dniach po urodzeniu. Ultradźwiękowe wokalizacje separacyjne pojawiają się już w pierwszym i drugim dniu po urodzeniu i ich ilość nasila się aż do 4–5 dnia życia, potem utrzymuje się do 17 dnia życia i szybko spada, zanikając całkowicie około 20 dnia życia. Szczury rosną wyjątkowo szybko i po 3 tygodniach (21–22 dni) opuszczają już gniazdo rodzinne. Zauważono także, że noworodki samców emitują więcej wokalizacji niż samic [18].



Ryc. 1. Przykładowy sonogram (częstotliwość zilustrowana w czasie) serii 10 separacyjnych wokalizacji emitowanych jednym ciągiem przez pojedynczego 15-dniowego szczurka (szczepu Sprague-Dawley). Poza różnorodnością wokalizacji, ich dominująca częstotliwość spada po pierwszych dwóch zawołaniach do dźwięków słyszalnych dla ludzi, po czym znów rośnie aż niemal do 70 kHz. Czerwona przerywana linia zaznacza górną granicę ludzkiej słyszalności, tzn. około 80% dźwięków w tej serii jest poza ludzką słyszalnością (obszar zaznaczony na jasnoniebieski kolor). Czas trwania pokazanych wokalizacji zawiera się między 35 a 121 ms.

Dalsze badania separacyjnych wokalizacji w zakresie czasu od 10–17 dnia po urodzeniu wykazały, że długość pojedynczych wokalizacji znacznie rośnie w czasie, od średnio 80 ms w dniu 10 do 140 ms pięć dni później (dzień 15), a potem zaczyna powoli spadać. Natomiast najsilniejsza komponenta częstotliwości dźwięków wzrasta od około 50 kHz w dniu 10. do 53 kHz w dniu 15. i do 64 kHz w dniu 17 [11]. Szczurki rosną szybko i pojemność ich płuc wzrasta, a mechanizmy krtaniowe w ciągu tych paru dni rozwoju stają się bardziej wydajne i precyzyjne przy produkcji dźwięków. A zatem podczas rozwoju pojawiły się pewne cechy wokalizacji, które mogły naprowadzić nas na elementy, które są ważne w komunikacji z matką i stanowią biologicznie istotną informację zawartą w tych wokalizacjach.

Najpierw wszystkie wokalizacje zastały skategoryzowane na podstawie ich akustycznego wyglądu na zapisie sonograficznym. Zapis taki ilustruje zmiany częstotliwości dźwięków w czasie. Względnie czysty ton wyglądałby na takim zapisie jako linia (patrz Ryc. 1). Wyróżniono 10 różnych typów separacyjnych wokalizacji (oznaczonych liczbami 0–9 na Ryc. 2). Ilościowa analiza tych typów dla noworodków w wieku od 10–17 dni wykazała, że emitują one dużo więcej wokalizacji, które są złożone, tzn. jedna

wokalizacja zawiera dźwięki szybko narastające, a potem malejące (tzw. ang. *sweeps*, przelatujące przez wiele częstotliwości), albo dźwięki szybko malejące, a potem narastające. Wreszcie pojawiły się też wokalizacje mające więcej nagłych zmian częstotliwości, dając na sonogramie wygląd przypominający dużą literę N lub W (Ryc. 2). I wreszcie zauważono, że im starsze szczurki, tym bardziej złożone są emitowane wokalizacje i tym więcej zmian częstotliwości pojawiało się w każdej wokalizacji. Ta obserwacja dała możliwość zrozumienia, co noworodki emitują lub starają się emitować.

| Typ | Sonogramy | Opis sonogramu |
|-----|-----------|--|
| 0 | — — — | Kształt kreski lub zbliżony do kreski |
| 1 | • • • | Kształt kropki lub przecinka |
| 2 | | Kształt malejącego "sweep'u" |
| 3 | / / / | Kształt rosnącego "sweep'u" |
| 4 | U U U | Kształt litery "U" |
| 5 | ∩ ∩ ∩ | Kształt odwróconej litery "U" |
| 6 | N N N | Kształt litery "N" lub jej lustrzane odbicie |
| 7 | M W W | Kształt litery "M" lub "W" |
| 8 | ~ ~ ~ | Wężyki |
| 9 | ~ ~ ~ | Kształt złożony |

Ryc. 2. Graficzne zestawienie wyróżnionych typów separacyjnych wokalizacji zarejestrowanych z dziesięciu 17. dniowych noworodków szczurów szczepu Sprague-Dawley. Na każdy typ wokalizacji pokazane są trzy przykładowe wokalizacje (w jasnoniebieskim obszarze) i opisane obok. Wokalizacje uporządkowane są według złożoności sygnałów od typu 0 do 9. Znaczek kalibracyjny na dole sonogramów oznacza 50 ms (pozioma kreska) i 32 kHz (pionowa kreska). Zmodyfikowane z Brudzynski et al. (1998).

Okazało się, że w czasie kilkunastu dni rozwoju, noworodki starają się emitować jak najdłuższe dźwięki i zmieniać je w górę i w dół częstotliwości na wzór syreny pogotowia ratunkowego [11]. W pierwszym dniu po urodzeniu, właściwie wszystkie ich wokalizacje są "nieudane", tzn. niekompletne i krótkie. Potem, w miarę prób, noworodki zaczynają zmieniać częstotliwość w czasie każdej wokalizacji i przedłużać je. Początkowo nie stać je na więcej niż dźwięki, które wyglądają jak krótkie kreski, laseczki lub wężyki. Potem pojawiają się wokalizacje, które wyglądają na zapisie jak duże litery U lub odwrócone U, czyli mające dwie zmiany kierunku. Aż wreszcie najstarsze noworodki produkują wokalizacje przypominające zmienny dźwięk syreny zmieniający kierunek tam i spowrotem, parę razy w jednej wokalizacji. A zatem okazało się, że ta zmienność częstotliwości jest właściwym sygnałem dla matki. Ma to biologiczny sens, ponieważ zmieniająca się powtarzalnie

częstotliwość lepiej pozwala zlokalizować źródło dźwięku i szybciej znaleźć zgubionego noworodka. Trudność w rozszyfrowaniu tego kodu polegała na tym, że tuż po urodzeniu noworodka nie umiały jeszcze emitować prawidłowo skonstruowanych wokalizacji. Stąd zmienność częstotliwości samego sygnału nałożyła się na zmienność spowodowaną początkowym nieporadnym emitowaniem i uczeniem się w kolejnych dniach po urodzeniu, powodując wrażenie chaosu.

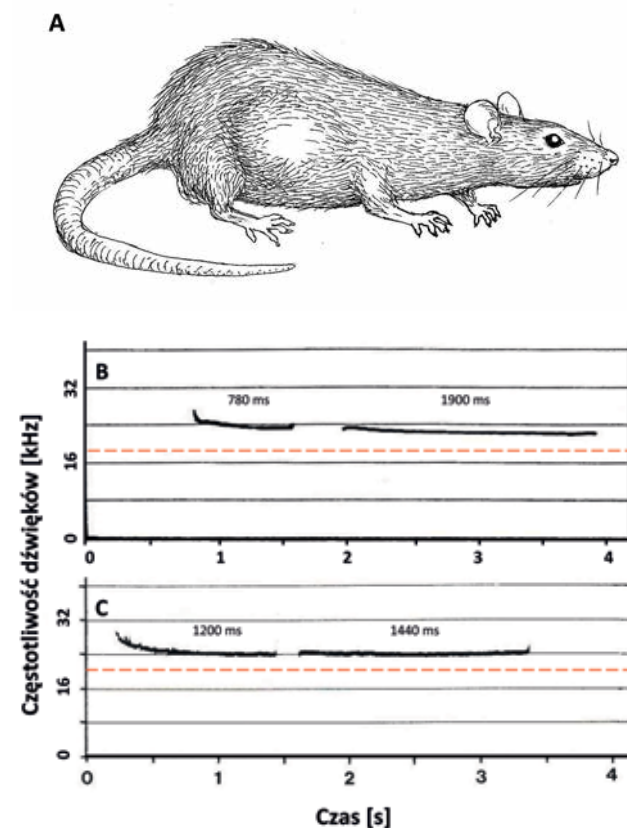
Wokalizacje alarmowe dorosłych szczurów

Kiedy młode szczury opuszczają gniazdo, sytuacja zmienia się diametralnie. Szczury nie mogą już liczyć na opiekę i ochronę matki. Teraz emisja wokalizacji, nawet w ultradźwiękowym zakresie, może być usłyszana przez drapieżnika i stanowi zagrożenie dla życia. Dorastające szczury już nigdy w życiu nie będą emitować separacyjnych wokalizacji, gdyż ułatwiłyby one drapieżnikowi ich zlokalizowanie. Na ogół dorosłe szczury milczą, a wokalizacje wymieniają tylko w ścisłej grupie społecznej w sytuacjach biologicznie ważnych i emocjonalnych i to według zupełnie innego kodu. Szczury są także bardziej wokalnie aktywne w ukryciach i w norach niż na otwartej przestrzeni.

Najważniejsze biologicznie są wokalizacje alarmowe ostrzegające członków grupy o istniejącym lub potencjalnym niebezpieczeństwie. Wokalizacje alarmowe ostrzegają wielu osobników w grupie jednocześnie, więc stanowią wyższy poziom reakcji obronnej, w której zwierzę nie tyle broni samo siebie, ale przede wszystkim ochrania wszystkich innych osobników, którzy, na przykład, drapieżnika nie zauważyli. Może to być interpretowane jako rodzaj reakcji altruistycznej, ale bez narażania własnego życia. Takie wokalizacje musiały powstać w ewolucji bardzo dawno i stanowią efektywny system ostrzegawczy zwiększający przeżywalność.

Natomiast w wypadkach, kiedy szczur znajdzie się w sytuacji bez wyjścia, np. zaskoczony przez kota, bez możliwości ucieczki, szczur nie będzie emitował ultradźwiękowych wokalizacji, natomiast zacznie wydawać słyszalne piski, bezpośrednio kierowane do drapieżnika, tak aby drapieżnik mógł je wyraźnie odebrać. Te słyszalne dźwięki stanowią ostrzeżenie, że szczur jest gotowy do aktywnej obrony [17]. Jest to zadziwiająca obserwacja wskazująca, że szczury najprawdopodobniej odróżniają ultradźwiękowy zakres komunikacji we własnym gronie od słyszalnej komunikacji z innymi gatunkami, łącznie z człowiekiem, co często obserwuje się w laboratoryjnych badaniach.

Szczury emitują ultradźwiękowe alarmowe wokalizacje (ang. *alarm vocalizations* albo *alarm calls*) w bardzo stereotypowy sposób. Wokalizacje są bardzo długo trwającymi ultradźwiękami, o względnie niskiej i zadziwiająco stałej częstotliwości (Ryc. 3). Alarmowe wokalizacje zawierają się między 20 i 26 kHz (bardzo rzadko sięgają 30 kHz), a więc wszystkie są powyżej górnej granicy ludzkiej słyszalności i nazywane są wokalizacjami 22 kHz, jako zbiorcza nazwa na cały typ alarmowych sygnałów (ang. *22 kHz vocalizations*). Nie oznacza to, że wszystkie te wokalizacje są dokładnie w 22 kHz, ale (patrz Ryc. 3) nazwa pozostała jako historycznie ustalony termin dla całej kategorii alarmowych wokalizacji, dla jednoznaczności nazewnictwa.



Ryc. 3. Emisja 22 kHz wokalizacji. A - Rysunek szczura szczepu Wistar emitującego alarmową wokalizację. Przd ciała jest wydłużony, głowa obniżona i ustawiona liniowo z tchawicą, pysk lekko otwarty, widoczne są nadęte powłoki brzuszne, aby stworzyć odpowiednie ciśnienie powietrza wydychanego z płuc. B, C - Przykładowe sonogramy alarmowych wokalizacji zarejestrowane z dwóch różnych dorosłych zwierząt szczepu Wistar (górny i dolny zapis). Dla każdego zwierzęcia pokazano dwie pierwsze wokalizacje z serii zawołań. Widać wyraźnie, że pierwsza wokalizacja zaczyna się w trochę wyższych częstotliwościach, a potem szczur dostraja ją do pasma komunikacyjnego. Nad każdą wokalizacją podane jest jej trwanie w milisekundach (od 780-1900 ms). Średnie częstotliwości pokazanych alarmowych wokalizacji zawierają się między 23,7 a 24 kHz. Czerwone przerywane linie oznaczają górną granicę ludzkiej słyszalności. Porównaj skalę czasu z tą na Ryc. 1. Sonogram C zmodyfikowany z Brudzynski et al., (1993).

Długość trawania poszczególnych wokalizacji (zawołań) zawiera się między 300 ms a ponad 3000 ms (tzn. aż do ponad 3 sekund monotonnego dźwięku emitowanego w jednym wydechu). Trudno było uwierzyć, że szczury mogą zainwestować tyle energii w jedną wokalizację i wstrzymać funkcje oddechowe na tak długo, oraz powtarzać te wokalizacje, jedna za drugą, przez bardzo długi czas, czasem z odstępami zaledwie 100 ms, minimum na zaczerpnięcie szybkiego oddechu. Najwidoczniej emisja alarmowych wokalizacji okazała się krytyczna dla przeżycia. Sposób emisji tych wokalizacji wymaga pewnej wprawy, aby dźwięki były bardzo długie, o niezmienniej częstotliwości i stale utrzymane w wąskim paśmie częstotliwości. Charakterystyczna postawa wokalizującego szczura (w 22 kHz) jest pokazana na Ryc. 3A. W niektórych sytuacjach szczury mogą także emitować krótkie 22 kHz wokalizacje, które, jak się uważa, reprezentują awersywny stan bez zewnętrznego źródła zagrożenia [6, 7].

Młode szczury wykazują pewną wrodzoną predyspozycję do ich emisji, ale muszą się także nauczyć precyzji ich produkcji. Pierwsza wokalizacja alarmowa w odpowiedzi na bodziec podlega pewnej modulacji, tak jakby szczur starał się znaleźć właściwy zakres częstotliwości, a po jego znalezieniu wszystkie następne wokalizacje mają już stałą częstotliwość (Ryc. 3 B,C) [10]. Długi dźwięk alarmowy zaczyna się bardzo cicho i powoli narasta utrzymując nadal tę samą częstotliwość, aż do głośności 60–80 dB SPL (decybele wyrażające poziom ciśnienia akustycznego, od ang. *SPL – sound pressure level*) z odległości około 20–30 cm. Następnie natężenie dźwięku stopniowo zanika, nadal utrzymując tę samą częstotliwość. Taki sposób emisji wokalizacji utrudnia ich zlokalizowanie przez drapieżnika [9]. A więc cechy powolnego narastania i zanikania dźwięku, precyzyjnie monotony ton bez żadnej modulacji oraz produkowanie dźwięków w terenach bogatych w roślinność lub inne przeszkody, które odbijają i rozpraszają fale dźwiękowe, stanowią względną gwarancję, że drapieżnik nie usłyszy wokalizacji, a jeśli je usłyszy, nie będzie mógł ich precyzyjnie zlokalizować.

Badania zachowania się społecznych grup szczurów wykazały, że wprowadzenie kota w pobliże wejścia do szczurzych nor (około 1 metra od wejścia) spowodowało, że szczur-dominant pierwszy zaczął emitować alarmowe wokalizacje, po czym schował się do nory. Za nim podążyli członkowie jego grupy społecznej, którzy byli na zewnątrz i wszyscy zaczęli powtarzać te wokalizacje, już będąc w bezpiecznym ukryciu. Powtarzane wokalizacje trwały od kilkudziesięciu minut do 2 godzin po usunięciu kota

[4, 3]. Początkowo szczury spędzały 50% czasu na wokalizowaniu, a potem wokalizacje powoli zmniejszały się. Co jest ciekawe, że wokalizował nie tylko ten osobnik, który zobaczył drapieżnika, ale alarmowe wokalizacje były powtarzane przez wszystkich członków grupy, nawet przez tych, którzy byli cały czas w norach i kota nie widzieli [3]. Efektem takiego zachowania był akustyczny alarm, który rozbrzmiewał w całym gnieździe, we wszystkich jego tunelach i komorach i który trwał do 2 godzin już po odejściu kota. Takiego zachowania nie zaobserwowano, kiedy żywego kota zastąpiono wypchaną kukłą kota [3].

Co jeszcze bardziej ciekawe, że po takim długim epizodzie gremialnej alarmowej wokalizacji, szczury wychodziły na powierzchnię bardzo ostrożnie, a niektóre nie wyszły z gniazda wcześniej niż po paru godzinach od zakończenia alarmu. Wychodzenie z gniazda (z nory) po stresie alarmu odbywa się zawsze w charakterystyczny sposób. Szczur pozostaje w połowie w wyjściu na powierzchnię, a swoją przednią część ciała wdłuża jak najdalej może poza wyjście na otwarty teren, obserwując środowisko i węsząc intensywnie. Takie zachowanie zostało nazwane behawiorem oceny ryzyka (ang. *risk assessment behavior*) [4]. Badania farmakologiczne sugerują dalej, że ocena ryzyka jest zachowaniem motywowanym lękiem [5].

Jak się okazało w badaniach behawioralnych, stała częstotliwość w zakresie 20–25 kHz oraz długie wokalizacje są cechami kodującymi niebezpieczeństwo, mimo że samice emitują krótsze wokalizacje niż samce [2]. Odegranie wokalizacji alarmowej, lub podobnych dźwięków z głośnika do naiwnych szczurów w klatce, które nie miały możliwości schowania się, powodowało, że zmniejszały one swoją aktywność i najczęściej zamierały w zupełnym bezruchu (ang. *freezing response*) przez dłuższy czas [8]. Jeśli dźwięki alarmowe były bardzo słabe, sugerując dużą odległość, szczury ignorowały je, ale natychmiast zamierały w bezruchu, kiedy dźwięk ustawał i następowała dłuższa cisza. Najwyraźniej sprawdzając, czy potencjalny drapieżnik się nie zbliża.

Szczury emitują takie same 22 kHz wokalizacje w obliczu każdego niebezpieczeństwa lub zagrożenia, nie tylko drapieżnika. Alarmowe wokalizacje pojawiają się przy stresie, bardzo głośnym i niespodziewanym dźwięku, który powoduje przestraszenie (ang. *startle response*) lub kiedy jeden z walczących szczurów przegrywa i przyjmuje uległą postawę, ale także i w innych sytuacjach. Taki szeroki wachlarz bodźców mogący wywołać alarmowe wokalizacje został wykorzystany w badaniach laboratoryjnych, w których 22 kHz wokalizacje wywołuje się np. niespodziewanym dmuchnięciem powietrza z wąskiej

rukki (ang. *air puff*), głośnym bodźcem akustycznym, albo podaniem lekkiego bodźca elektrycznego przez metalowe pręty w podłodze klatki (ang. *foot shock*) nb. ta nazwa jest sarkastyczna, gdyż bodźce te nie są szokiem elektrycznym, tylko nieprzyjemnym bodźcem odbieranym przez nieowłosione poduszki łap). Każdy niespodziewany i nieprzyjemny bodziec wywołuje takie wokalizacje. Powstaje więc pytanie, czy szczury emitują alarmowe wokalizacje w obliczu każdego nieprzyjemnego bodźca bez względu na otoczenie? Byłoby to ryzykowne.

Okazało się jednak, iż tak nie jest. Szczury precyzyjnie obserwują otoczenie i emitują alarmowe wokalizacje z pozycji względnego własnego bezpieczeństwa i tylko, kiedy w pobliżu są inne osobniki mogące je usłyszeć [17]. Zjawisko to zostało nazwane „efektem publiczności” (ang. *audience effect*). To do tej „publiczności” (szczurzej grupy społecznej) kierowane są ich wokalizacje. Kiedy szczur jest zupełnie sam, nie wydaje na ogół żadnych dźwięków, albo emituje tylko sporadyczne wokalizacje, ale wokalizacje te gwałtownie rosną, kiedy pojawiają się inne osobniki w pobliżu. Natomiast wspomniane wyżej słyszalne dla człowieka piski, które w krytycznych sytuacjach kierowane są bezpośrednio do drapieżnika, nie wykazują efektu publiczności. Szczur ostrzega drapieżnika bez względu na to czy są w pobliżu inne szczury, czy nie.

Ponadto wykazano, że sytuacje związane z emisją 22 kHz wokalizacji są szybciej zapamiętywane, pamiętane przez szczury dłużej niż sytuacje związane z innymi dźwiękami, oraz że te ślady pamięciowe są bardziej odporne na zapomnienie [15]. Są to typowe cechy stanu emocjonalnego, którego głównym celem jest zwrócenie większej uwagi na biologicznie ważne sytuacje i trwalsze zapamiętanie ich niż innych sytuacji.

Wokalizacje afiliacyjne dorastających i dorosłych szczurów

Cechą wspólną wszystkich opisanych wyżej wokalizacji było to, że pojawiają się one w nieprzyjemnych, awersyjnych sytuacjach i odzwierciedlają negatywny stan emocjonalny szczura, który jest homologiczny z ludzkim lękiem lub obawą. Szczury emitują także wokalizacje sygnalizujące pozytywne stany emocjonalne w wielu sytuacjach społecznych, kiedy się bawią, współdziałają, spotykają, wspólnie żywią czy rozmnażają. Wszystkie te pozytywne sytuacje cechują się zwiększoną spójnością społeczną (ang. *social cohesion*), kiedy osobniki działają razem, zbliżają się do siebie, kiedy akty agresywne znikają i zwierzęta wykazują „przyjazne” (tzn. nieagresywne)

i pomocne zachowanie. Takie zachowania można wspólnie nazwać zachowaniem afiliacyjnym (ang. *affiliative behavior*, z łacińskiego słowa *affiliare*, co oznacza dosłownie „adoptować syna”, a w przenośni „być adoptowanym przez społeczność”).

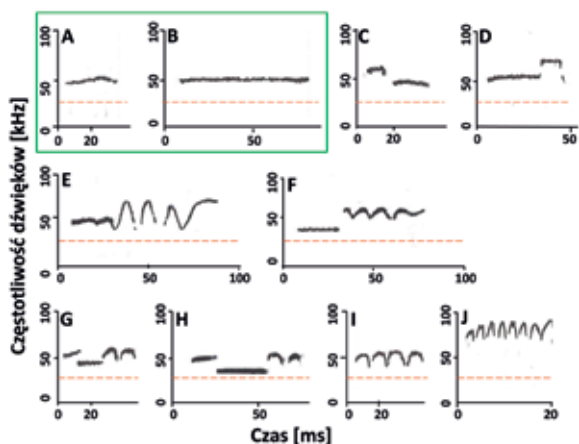
W sytuacjach afiliacyjnych szczury wykazują wyjątkową aktywność wokalną i wszystkie wokalizacje emitowane w takich sytuacjach można nazwać wokalizacjami afiliacyjnymi. Są one homologiczne z ludzkim stanem wokalnego wyrażania radości i zadowolenia. Wokalizacje afiliacyjne u szczurów nazywa się wokalizacjami 50 kHz, od dominującej częstotliwości emitowanych zawołań. Jest to także zbiorcza nazwa na ten typ wokalizacji, gdyż dominujące częstotliwości zawierają się między 35 kHz a 70 kHz, a nawet mogą sięgać do aż do 80 kHz.

Obserwacje i analizy laboratoryjne 50 kHz wokalizacji sprawiły badaczy znów w zdziwienie i zakłopotanie. Wokalizacje te nie są podobne do żadnych innych zawołań emitowanych przez szczury, są wyjątkowo krótkie, o bardzo wysokiej częstotliwości dźwięków, akustycznie skomplikowane i bardzo różnorodne. Przez długie lata trudno było nawet rejestrować te dźwięki. Nie tylko informacje są kodowane według innego kodu niż wokalizacje separacyjne czy alarmowe, ale ilość informacji musi być pokaźna, zważywszy na różnorodność tych dźwięków i dużą ich ilość. Złożoność wokalizacji 50 kHz okazała się tak duża, że pomimo 15 lat badań nie udało się całkowicie rozszyfrować biologicznego znaczenia wszystkich podtypów tych sygnałów.

Pojedyncze typowe wokalizacje 50 kHz trwają średnio od 20 ms do 120 ms lub nieco dłużej i mogą być emitowane w wielkich ilościach, przekraczając 90 wokalizacji na minutę. Jeśli założymy, że wszystkie one kodują pewne informacje, to szczurze tempo emisji i odczytywania wokalnych informacji przewyższałoby znacznie tempo ludzkich możliwości produkowania i rozumienia naszego mówionego języka. Ale należy wyraźnie podkreślić, że szczurze porozumiewanie się nie jest językiem, tylko pewnym rozbudowanym systemem komunikacji. System ten nie ma wyrazów, zdań ani gramatyki, ale ma pewną liczbę wokalnych sygnałów, które mniej lub bardziej precyzyjnie określają stany emocjonalne, zagrożenia, sytuacje, intencje, deficyty, itp. Tłumaczenie znaczenia szczurzych wokalizacji na ludzki język jest antropomorfizmem i nie jest pomocne. Każda z wokalizacji nie da się zamienić na jedno ludzkie słowo, a musiałaby być opisana przez kilkadziesiąt zdań związanych z jej funkcją, sytuacją, w której jest emitowana, stanem fizjologicznym nadawcy, do kogo jest kierowana, kto ją odbiera, itp. Każdy z tych

czynników ma modyfikujący wpływ na znaczenie sygnału. Podobne sygnały mogą zmieniać swoje znaczenie w zależności od sytuacji. Zbliżone obserwacje dotyczą n.p. ludzkiego płaczu, kiedy ktoś może płakać z powodu zgubienia czegoś, z powodu bólu, z powodu lęku, wykluczenia z grupy oraz wielu innych niemiłych sytuacji. Podobna sytuacja jest ze śmiechem. Dlatego ludzie zawsze zadają pytanie: „dlaczego płaczesz?” albo „dlaczego się śmiejesz?”, bo same dźwięki śmiechu i płaczu o szczegółach nie informują, tzn. nie zawierają informacji leksykalnej, tylko emocjonalną. Dlatego też obydwie te emisje w naszym gatunku, głośny płacz i głośny śmiech, zalicza się do ludzkich wokalizacji.

Pierwsze obserwacje pokazały, że 50 kHz wokalizacje szczurów można podzielić na dwie kategorie: takie, w których częstotliwość dźwięku nie jest modulowana („płaskie” wokalizacje, ang. *flat calls*) i takie, gdzie częstotliwość jest modulowana i to zwykle bardzo znacznie (wokalizacje z modulowaną częstotliwością, ang. *frequency-modulated calls*) (Ryc. 4). Badania sytuacji, w których takie wokalizacje się pojawiają wykazały, że wokalizacje z modulowaną częstotliwością cechują sytuacje wysoce emocjonalne, np. podczas zachowania seksualnego lub kiedy młode szczury są pochłonięte niepojętą zabawą [13, 16]. Natomiast



Ryc. 4. Sonograficzne przykłady różnych podtypów afiliacyjnych 50 kHz wokalizacji dorosłych szczurów szczepu Long-Evans. Dwa pierwsze sonogramy w zielonej ramce ilustrują płaskie 50 kHz wokalizacje (nie modulowane), podczas gdy wszystkie pozostałe są wokalizacjami z modulowaną częstotliwością. A, B – dwa przykłady krótkiej i długiej płaskiej 50 kHz wokalizacji, C, D – przykłady dwóch różnych stopniowanych wokalizacji, E, F – dwa przykłady połączenia płaskiej wokalizacji z trylami, G, H – dwa przykłady najbardziej rozbudowanych wokalizacji łączących stopniowaną wokalizację z trylami, I, J – dwa różne przykłady samych tryli, różniące się wysokością dźwięków i częstością powtarzanych elementów tryli. Czerwone przerywane linie oznaczają górną granicę ludzkiej słyszalności. Wszystkie te wokalizacje są bardzo krótkie, poniżej 0,1 sekundy. Najkrótsza trwała około 30 ms, a najdłuższa około 87 ms. Sonogramy otrzymane dzięki uprzejmości pana magistra Micheala Silkstone’a, Brock University.

płaskie wokalizacje występują w innych sytuacjach, mniej emocjonalnych, n.p. wspólnego jedzenia. Wiele dalszych badań udowodniło, że szczury rozróżniają te dwie kategorie sygnałów bardzo dobrze.

Odegranie z głośnika modulowanych wokalizacji 50 kHz powodowało, że szczury przybiegały do źródła dźwięku – głośnika i badały go [21]. Mało tego, kiedy pozwolono szczurom na samodzielne odtwarzanie wokalizacji 50 kHz z głośnika przez naciśnięcie dźwigni (oczywiście po wstępnym okresie uczenia), szczury chętnie naciskały na dźwignię i odgrywały sobie te wokalizacje w dużych ilościach, wykazując zachowanie nazywane samostymulacją [13]. Po angielsku dokładniej określa się to zachowanie słowem *self-application* (samopodawaniem) niż samostymulacją (*self-stimulation*), która bardziej odnosi się do elektrycznej stymulacji mózgu. Eksperyment ten udowodnił, że odbieranie modulowanych 50 kHz wokalizacji jest stanem przyjemnym dla szczurów. Podobnie w ludzkich społecznościach, słyszenie śmiechu powoduje przyjemne odczucia i często także wywołuje śmiech.

Zaproponowano więc, że emisja szczurzych wokalizacji 50 kHz jest odpowiednikiem ludzkiego śmiechu [19]. Nie oznacza to, że szczury się śmieją ludzkim śmiechem, ale że wyrażają wokalnie swój stan emocjonalny zbliżony do radości w homologiczny sposób do ludzkiego śmiechu, szczególnie takiego perlстого śmiechu, jakim dzieci śmieją się podczas wesołej ruchowej zabawy. Obydwie te wokalizacje, ludzka i szczurza, wykazują wiele cech wspólnych. Pojawiają się w emocjonalnie przyjemnych stanach, są emitowane przez homologiczny system wokalny, są krótkimi dźwiękami i są rytmicznie powtarzane. Powstały także i zastrzeżenia, czy można przyrównać ludzki śmiech do szczurzej wokalizacji, gdyż obydwie te gatunki bardzo znacznie różnią się kognitywną częścią mózgowia, a zatem znaczenie śmiechu może być nieporównywalne. Niemniej jednak nie jest błędem stwierdzenie, że 50 kHz wokalizacje stanowią pewien ewolucyjny odpowiednik i prekursor ludzkiego śmiechu.

Podtypy 50 kHz wokalizacji szczurów

Bioakustyczne badania 50 kHz wokalizacji szczurów wykazały, że głównymi cechami kodującymi wyrażanie pozytywnego stanu emocjonalnego jest wysoka częstotliwość ultradźwięku (od 45 kHz do 80 kHz), bardzo krótki czas trwania wokalizacji i często dość gwałtowne zmiany częstotliwości zauważane na sonogramach. Szereg badań zmierzało więc do dalszego rozszyfrowania podtypów modulowanych

wokalizacji i ich potencjalnego biologicznego znaczenia.

Poza „płaskimi” 50 kHz wokalizacjami, modulowane wokalizacje zostały podzielone na dwie dalsze podkategorie: stopniowane 50 kHz wokalizacje (ang. *step vocalizations*) i wokalizacje z trylami, podobnymi do muzycznych ozdobników (ang. *trill vocalizations*) (Ryc. 4). Tryle wyglądają na sonogramie jak małe sinusoidalne oscylacje trwające od 20 ms do ponad 100 ms. Obydwa te podtypy są związane z afiliacyjnymi zachowaniami, ale szczególnie tryle wywołują duże zainteresowanie szczurów i podchodzenie szczurów do ich źródła. Tryle mogą występować same albo mogą być dołączona na końcu innych 50 kHz wokalizacji, zwłaszcza stopniowanych wokalizacji (Ryc. 4 E-J). Większość tych wokalizacji zachowuje podobną szczytową częstotliwość dźwięku, a różnią się one zwykle profilem zmian częstotliwości w czasie. Płaskie 50 kHz wokalizacje są krótsze w czasie, trwają 10–100 ms i ich częstotliwości zawierają się średnio między 35 a 40 kHz, podczas gdy wokalizacje stopniowane i z trylami trwają od 30 ms do 150 ms (lub dużo więcej) i mają średni zakres częstotliwości od 45 kHz do 80 kHz [6].

Badania behawioralne wykazały dalej, że szczury odróżniają te główne podkategorie i reagują na nie. Wyniki wskazują, że płaskie 50 kHz wokalizacje spełniają rolę koordynującą społeczne zachowanie, oraz rolę wokalizacji kontaktowych, t.j., gdy szczury spotykają się po pewnym czasie niewidzenia się lub sygnalizują swoje zbliżenie się [22]. Jest to szczególnie ważne w ciemnych podziemnych tunelach, kiedy wchodzący szczur sygnalizuje swoje wejście afiliacyjnym sygnałem, zabezpieczając się tym samym przed niespodziewanym obronnym atakiem rezydentów

gniazda. Także zwiększona emisja płaskich 50 kHz wokalizacji była zaobserwowana podczas jedzenia. Natomiast wokalizacje z trylami (same tryle, wokalizacje stopniowane z trylami lub rzadziej płaskie wokalizacje z trylami; patrz Ryc. 4) pojawiały się w zachowaniach z wysoką motywacją i w zachowaniach wysoce emocjonalnych, np. w sytuacjach zachowania seksualnego lub agresji [14].

Emisja 50 kHz wokalizacji jest regulowana przez mięśnie krtani. Aby otrzymać odpowiedni dźwięk, długość emisji, modulację i głośność, zwłaszcza krótkich 50 kHz zawołań i ich różnych podtypów, mięśnie krtani muszą szybko wykonać precyzyjne skurcze. Bezpośrednie elektromiograficzne rejestracje z elektrod zaimplantowanych w mięśniach krtani wykazały, że mięśnie te inaczej pracują podczas produkowania wszystkich płaskich dźwięków niż podczas krótkich modulowanych dźwięków. Regulacja ta jest kierowana przez odpowiednie grupy neuronów ruchowych w pniu mózgu i program motoryczny i jest krytyczna dla utrzymania normalnych charakterystycznych dla gatunku wokalizacji [20]. Nie ulega wątpliwości, że mózg szczurzy z wielką precyzją produkuje ultradźwiękowe wokalizacje i to w zadziwiająco szybkim tempie.

Obecnie rosnące zainteresowanie szczurzymi wokalizacjami i prowadzone laboratoryjne badania kierują się głównie w kierunku metod farmakologicznych. Badacze starają się znaleźć neuroaktywne związki, które mogą wywołać specyficzne podkategorie wokalizacji, co oznaczałoby, że związki te mogą wpływać na zdefiniowane stany emocjonalne. Dostarczyłoby to ważnych narzędzi do badań stanów emocjonalnych i ich patologicznych zaburzeń u zwierząt i u ludzi.

Bibliografia

1. Anderson, J.W. (1954). The production of ultrasonic sounds by laboratory rats and other mammals. *Science*, 119: 808–809.
 2. Blanchard, R.J., Agullana, R., McGee, L., Weiss, S., Blanchard, D.C. (1992). Sex differences in the incidence and sonographic characteristics of antipredator ultrasonic cries in the laboratory rat (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*, 106(3):270–277.
 3. Blanchard, R.J., Blanchard, D.C., Agullana, R., Weiss, S.M. (1991). Twenty-two kHz alarm cries to presentation of a predator, by laboratory rats living in visible burrow systems. *Physiology & Behavior*, 50(5):967–972.
 4. Blanchard, R.J., Blanchard, D.C., Rodgers, J., Weiss, S.M. (1990a). The characterization and modelling of antipredator defensive behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 14(4):463–472.
 5. Blanchard, D.C., Blanchard, R.J., Tom, P., Rodgers, R.J. (1990b). Diazepam changes risk assessment in an anxiety/defense test battery. *Psychopharmacology (Berl.)*, 101(4):511–8.
 6. Brudzynski, S.M. (2015). Pharmacology of ultrasonic vocalizations in adult rats: significance, call classification and neural substrate. *Current Neuropharmacology*, 13(2):180–192.
 7. Brudzynski, S.M., Bihari, F., Ociepa, D., Fu, X.W. (1993). Analysis of 22 kHz ultrasonic vocalization in laboratory rats: long and short calls. *Physiology & Behavior*, 54(2):215–221.
-

8. Brudzynski, S.M. Chiu, E.M. (1995). Behavioural responses of laboratory rats to playback of 22 kHz ultrasonic calls. *Physiology & Behavior*, 57: 1039–4104.
9. Brudzynski, S.M. Fletcher N.H. (2010). Rat ultrasonic vocalization: short-range communication. Chapter 3.3., In: *Handbook of Mammalian Vocalization. An Integrative Neuroscience Approach*. Brudzynski, S.M. (ed.) Elsevier/ Academic Press, Amsterdam, 2010, pp. 69–76.
10. Brudzynski, S.M. Holland, G. (2005). Acoustic characteristics of air puff-induced 22-kHz alarm calls in direct recordings. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29:1169–1180.
11. Brudzynski, S.M., Kehoe, P., Callahan, M. (1998). Sonographic structure of isolation-induced ultrasonic calls of rat pups. *Developmental Psychobiology*, 34: 195–204.
12. Brunelli, S.A., Shair, H.N., Hofer, M.A. (1994). Hypothermic vocalizations of rat pups (*Rattus norvegicus*) elicit and direct maternal search behavior. *Journal of Comparative Psychology*, 108: 298–303.
13. Burgdorf, J., Kroes, R.A., Moskal, J.R., Pfau, J.G., Brudzynski, S.M., Panksepp, J. (2008). Ultrasonic vocalizations of rats (*Rattus norvegicus*) during mating, play, and aggression: Behavioral concomitants, relationship to reward, and self-administration of playback. *Journal of Comparative Psychology*, 122: 357–367.
14. Burgdorf, J., Moskal, J. (2010). Frequency modulated 50 kHz ultrasonic vocalizations reflect a positive emotional state in the rat: neural substrates and therapeutic implications. In: *Handbook of Mammalian Vocalization. An Integrative Neuroscience Approach*. Brudzynski, S.M. (ed.) Elsevier/ Academic Press, Amsterdam, 2010, pp. 209–214.
15. Endres, T., Widmann, K., Fendt, M. (2007). Are rats predisposed to learn 22 kHz calls as danger-predicting signals? *Behavioural Brain Research*, 185(2):69–75.
16. Knutson, B., Burgdorf, J., Panksepp, J. (1998). Anticipation of play elicits high-frequency ultrasonic vocalizations in young rats. *Journal of Comparative Psychology*, 112: 65–73.
17. Litvin, Y., Blanchard, C.D., Blanchard, R.J. (2007). Rat 22 kHz ultrasonic vocalizations as alarm cries. *Behavioural Brain Research*, 182: 166–172.
18. Naito, H., Tonoue, T. (1987). Sex difference in ultrasound distress call by rat pups. *Behavioural Brain Research*, 25: 13–21.
19. Panksepp, J., Burgdorf, J. (2003). “Laughing” rats and the evolutionary antecedents of human joy? *Physiology & Behavior*, 79: 533–547.
20. Riede, T. (2011). Subglottal pressure, tracheal airflow, and intrinsic laryngeal muscle activity during rat ultrasound vocalization. *Journal of Neurophysiology*, 106(5):2580–92.
21. Seffer, D., Rippberger, H., Schwarting, R.K., Wöhr, M. (2015). Pro-social 50-kHz ultrasonic communication in rats: post-weaning but not post-adolescent social isolation leads to social impairments-phenotypic rescue by re-socialization. *Frontiers of Behavioral Neuroscience*, 9:102 (e-publication).
22. Wöhr, M., Houx, B., Schwarting, R.K., Spruijt, B. (2008). Effects of experience and context on 50-kHz vocalizations in rats. *Physiology & Behavior*, 93(4–5):766–776.

Prof. dr hab. Stefan M. Brudzynski, neurofizjolog, neurobiolog i biopsycholog, jest profesorem w Zakładzie Psychologii i w Zakładzie Nauk Biologicznych w Brock University, St. Catharines, Ontario, L2S 3A1 Canada, a także członkiem i byłym dyrektorem Instytutu Neuroscience w tym uniwersytecie. Email: sbrudzyn@brocku.ca

ZWIERZĘTA TRANSGENICZNE I ICH ZASTOSOWANIE W BADANIU CHOROBY PARKINSONA

Barbara Kosmowska (Kraków)

Streszczenie

Choroba Parkinsona (PD) to obecnie jedna z najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych, dotykająca osoby starsze między 55 a 70 rokiem życia. Do wystąpienia objawów choroby dochodzi na skutek postępującej degeneracji neuronów dopaminergicznych części zbitej istoty czarnej, a co za tym idzie, silnego spadku poziomu dopaminy (DA) w prążkowie, gdzie dochodzą zakończenia szlaku czarno-prążkowiego. Badania mające na celu poznanie patomechanizmu choroby i opracowanie skuteczniejszej terapii PD przeprowadza się przy użyciu modeli zwierzęcych. Do modelowania PD powszechnie wykorzystuje się neurotoksyny (np. 6-OHDA czy MPTP), zdolne do selektywnego uszkodzenia neuronów DA. Coraz częściej używa się również modeli genetycznych, czyli zwierząt transgenicznych, których materiał genetyczny został odpowiednio