

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta**

**Vliv handlingu na osobnostní rysy hraboše polního (*Microtus
arvalis*)**

Diplomová práce

Bc. Tereza Dikošová

Školitel: doc. RNDr. František Sedláček, CSc.

Konzultant: Mgr. Gabriela Urbánková

České Budějovice 2016

Dikošová, T., 2016: Vliv handlingu na osobnostní rysy hraboše polního (*Microtus arvalis*) [The effect of handling on personality traits of the common vole (*Microtus arvalis*), Master thesis, in Czech.] – 67 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech republic.

Annotation:

The aim of this study was to investigate whether daily handling in the form of tactile stimulation can influence behaviour of adult common voles (*Microtus arvalis*). The voles were tested in three types of behavioural experiments - Acoustic startle test, Open Field test (OFT), and Elevated Plus Maze test (EPM). No significant impact of handling on personality traits was detected.

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích 14. 12. 2016

.....
Bc. Tereza Dikošová

Poděkování:

Ráda bych poděkovala Františku Sedláčkovi a Gabriele Urbánkové za veškerou pomoc, připomínky a cenné informace při sepisování této práce. Dále děkuji Nelle Mladěnkové a Honzovi Riegertovi za obrovskou pomoc se statistickým zpracováním a Petře Kolářové za důležité rady a neutuchající trpělivost při vysvětlování práce s programem EthoVision. Také bych ráda poděkovala celé hraboší skupině za péči o zvířata v chovech a celkovou podporu, Radce Peškové a Lence Janochové pak ještě zvláště za výpomoc při provádění testů. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svým rodičům, kteří mi i přes nekonečné komplikace a prodlužování studia umožnili tuto práci dokončit. A ohromný dík patří i mým kamarádům za povbuzení a toleranci mých nálad při zpracovávání této diplomové práce.

Obsah

1	OSOBNOST ZVÍŘAT	1
1.1	Definice osobnosti	1
1.2	Osobnostní rysy	2
1.2.1	Shy–bold	3
1.2.2	Proactive-reactive.....	4
1.2.3	Coping style	4
1.2.3.1	Úzkost (anxiety)	5
1.3	Metody hodnocení osobnostních rysů	6
1.3.1	Open Field test	7
1.3.2	Vyvýšený labyrint (Elevated Plus Maze test)	8
1.3.3	Úlekový test (Startle test).....	9
1.3.4	Habituaace versus senzitivace	10
2	VÝVOJ OSOBNOSTNÍCH RYSŮ	12
2.1	Faktory ovlivňující osobnostní rysy	12
2.1.1	Genetická determinace	12
2.1.2	Věk.....	13
2.1.3	Pohlaví	13
2.1.4	Sociální interakce	14
3	HANDLING	15
3.1	Typy handlingu.....	16
3.1.1	Neonatální handling versus handling dospělců	17
3.2	Efekt handlingu	19
3.2.1	Pozitivní versus negativní handling	20
3.2.2	Změny fyziologické a neurologické	21
3.2.3	Odvaha a explorace	22
3.2.4	Úzkost a emocionalita	23
3.2.5	Kognitivní schopnosti, učení a paměť	24

4	HRABOŠ POLNÍ.....	26
4.1	Biologie druhu	26
4.1.1	Způsob života.....	26
4.1.2	Reprodukce	27
4.2	Využití druhu v osobnostních studiích	27
4.3	Laboratorní pokusy.....	30
5	CÍL PRÁCE A TESTOVANÉ HYPOTÉZY.....	32
6	MATERIÁL A METODIKA	33
6.1	Zvířata a chovné podmínky	33
6.2	Experimentální design	33
6.2.1	Handling.....	34
6.2.2	Úlekový test (Startle test).....	36
6.2.3	Open Field test	36
6.2.4	Vyvýšený labyrint (Elevated Plus Maze test)	37
6.3	Získaná data a statistické zpracování.....	38
6.3.1	Vliv handlingu na behaviorální projev v úlekovém testu.....	40
6.3.2	Vliv handlingu na projev jedince v behaviorálních testech. Vliv pohlaví a rodiny na handling	40
7	VÝSLEDKY	41
7.1	Vliv handlingu na behaviorální projev jedince v úlekovém testu.....	41
7.2	Vliv handlingu na projev jedince v behaviorálních testech. Vliv pohlaví a rodiny na handling.	41
8	DISKUZE	44
8.1	Vliv handlingu na behaviorální projev jedince v úlekovém testu, OFT a EPM	44
8.2	Další zjištěné tendence	47
9	ZÁVĚR.....	50
10	POUŽITÁ LITERATURA	51
11	PŘÍLOHY.....	67

1 OSOBNOST ZVÍŘAT

Odedávna lidé uznávali podobnost lidské a zvířecí anatomie a fyziologie (Gosling & John, 1999). Připisovat ovšem zvířatům individuální vlastnosti, či dokonce schopnost cítit, myslet nebo učit se bylo po dlouhá staletí tabu. Morfologické a fyziologické rozdíly zjištěné mezi příslušníky stejného druhu, věku a pohlaví byly opomíjeny, interpretovány jako výsledky nepřesného měření nebo důsledky neadaptivní variace kolem adaptivního průměru (Carere & Eens, 2005; Carere & Locurto, 2011; Wilson & Coleman, 1998), a bývaly uměle odstraňovány. Vědci příkládající důležitost těmto inter-individuálním rozdílům a hovořící o existenci zvířecí osobnosti byli obviňováni z antropomorfismu.

Změna nastala v sedmdesátých letech minulého století, kdy Stevenson-Hinde et al. (1980) provedli průkopnickou studii zabývající se chováním makaků rhesus (*Macaca mulatta*). V devadesátých letech se pak studium zvířecí osobnosti stalo středem velkého zájmu a začala se objevovat celá řada prací dokládajících konzistentnost individuálních rozdílů v chování zvířat (např. Benus et al., 1991; Drent et al., 2003; Wilson et al., 1994). Variabilita chování byla pozorována a zaznamenána u širokého množství druhů, ať už obratlovců (savci, ryby, ptáci), tak bezobratlých (chobotnice, mravenci, mšice) (Gosling, 2001; Koolhaas et al., 1999; Stamps & Groothuis, 2010). Koncept osobnosti zvířat se tak brzy stal plnohodnotnou samostatnou vědeckou disciplínou v oboru behaviorální ekologie (Koolhaas et al., 1999).

Přístup a terminologie studia zvířecí osobnosti vycházely zpočátku z lidské psychologie. Bylo však nutné stanovit, jak moc se zvířecí osobnost liší od té lidské, čímž vyvstaly snahy o striktní oddělení personality lidské a zvířecí (Gosling, 2001; Koolhaas et al., 1999; Réale et al., 2000). To ovšem přineslo jistou terminologickou nejednotnost, která víceméně přetrvává dodnes (viz níže).

1.1 Definice osobnosti

Jasně vymezení osobnosti – personality – zvířat je poněkud komplikované. Na jedné straně stojí snaha vytvořit definici co nejjednoznačnější, na druhé pak, vzhledem k využitelnosti ve větším množství prací, co nejširší (Gosling, 2001). *Sensu lato* je zvířecí osobnost definována jako inter-individuální rozdíly v určitém typu chování (např. reakce na nové prostředí), které jsou konzistentní v čase a v různých situacích, nezávisle na věku

a pohlaví zvířete (Gosling, 2001; Groothuis & Carere, 2005; Réale et al., 2007; Sih et al., 2004). *Sensu stricto* se jedná o soubory vzájemně korelovaných chování (osobnostních rysů), jež společně vytvářejí mnohorozměrnou charakteristiku psychických vlastností každého jedince (Carere & Eens, 2005; Réale et al., 2007).

Personalita je dominantním, ovšem nikoliv jediným termínem, objevujícím se v behaviorálních studiích a článcích týkajících se osobnosti zvířat. Lze se setkat také s pojmy „coping style“ (Coppens et al., 2010; Koolhaas et al., 1999), temperament (Poirier et al., 2013; Réale et al., 2000), behaviorální profil (Groothuis & Carere, 2005) nebo behaviorální syndrom (Sih et al., 2004). Všechny tyto pojmy označují inter-individuální variabilitu chování a až na drobné rozdíly se dají považovat za ekvivalentní. V rámci konceptu behaviorálního syndromu ještě bývá rozlišována pestrá škála behaviorálních (osobnostních) typů, které představují individuální vlastnosti přímo určitého jedince a jejichž výčet charakterizuje behaviorální vlastnosti celého druhu (Sih et al., 2004).

1.2 Osobnostní rysy

Osobnost, ať už lidskou nebo zvířecí, je nutno vnímat jako mnohorozměrný model složený z jednotlivých osobnostních dimenzí (Gosling, 2001), v němž každý jedinec zaujímá svou specifickou polohu. K posouzení behaviorálních tendencí lidí i zvířat bývá používán tzv. Pětifaktorový model neboli "Velká pětka" (The Big Five) (John, 1990). Jak již název napovídá, pracuje tento model celkem s pěti dimenzemi. Jsou to Extraverze, Přívětivost, Emocionální stabilita (taktéž zvaná Neuroticismus), Otevřenost vůči nové zkušenosti, a Svědomitost. Všechny tyto dimenze mají dva protipóly, jako jsou například extraverze a introverze, mezi nimiž probíhá kontinuum, na němž se jedinec vymezuje.

Model Velké pětky však nelze generalizovat a aplikovat na celou živočišnou říši (Gosling, 2001). U většiny živočichů byly doposud zjištěny pouze první tři z pěti zmíněných dimenzí – Extraverze odrážející sociabilitu a aktivitu jedince, Přívětivost hodnotící sklony jedince k agresivitě a dominanci a Emocionální stabilita zahrnující schopnost jedince vyrovnávat se s nejrůznějšími podněty prostředí a se stresem (Gosling & John, 1999).

Vedle Velké pětky bývá k hodnocení zvířecí osobnosti využíváno i jiných modelů, například bývají přidávány dimenze Dominance a Aktivita (Gosling & John, 1999). Principiálně se však všechny dimenze univerzálně odrážejí ve zvířecích super-rysech v rámci koncepce rysové studie osobnosti. Rys osobnosti je přitom definován jako behaviorální

vlastnost individua, jež je stálá napříč různými situacemi (Pervin & John, 1999). Zvířecí superryso, nebo též superfaktory, jsou charakterizovány pouze jednorozměrnou osou, přičemž mezi nejvýznamnější patří kontinuum: „shy-bold“, nebo velmi podobné „proactive-reactive“ či „slow-fast“.

1.2.1 Shy–bold

Mezi jeden z nejstabilnějších osobnostních rysů jedince patří jeho poloha v shy-bold kontinuu (Wilson et al., 1994). Definuje míru odvážnosti (boldness) a nesmělosti (shyness) jedince, ovlivňuje průzkum nového prostředí či vyhýbání se mu a do jisté míry i ochotu riskovat. Jeden krajní bod této behaviorální osy je představován jedinci bojácnými, plachými (shy), kteří v případě neznámého objektu či situace přechájejí, ustupují nebo jsou zcela neaktivní. Naopak odvážní (bold) jedinci reprezentující druhý kraj osy jsou aktivní, projevují zájem o nový neznámý objekt a snahu ho prozkoumat, a to i za cenu ohrožení (např. potenciální útok predátora) (Wilson & Coleman, 1998). U prvně jmenovaných se pak často vyskytuje intenzivnější stresová reakce (Wilson et al., 1994).

Pozici jedince v rámci shy-bold gradientu lze zaznamenat již v raném věku (Wilson & Coleman, 1998) a během života je stabilní. Kagan et al. (1987, 1988) ve svých studiích opakovaně zjistili, že je-li juvenilní jedinec shy, v dospělosti rovněž zůstává shy. Zdá se také, že je tato shy-bold poloha do jisté míry dědičná (Réale et al., 2000; Wilson et al., 1994) a může mít vliv na rychlost dosažení dospělosti a reprodukční úspěch (Réale et al., 2000).

Co se týká studií prováděných na odchycených zvířatech, přináší shy-bold kontinuum jistá úskalí. Do pastí vyžadujících aktivní přístup zvířete, jež jsou k odchytu volně žijících živočichů nejčastěji používány, se chytají spíše jedinci odvážnější než bázlivi (Biro & Dingemans, 2009; Wilson & Coleman, 1998). Tím pádem může snadno docházet k nevědomé selekci osobnostních typů, což může následně vést ke zkreslení výsledků, ať už se jedná o studie behaviorální či mapující početnost druhů.

Existence shy-bold konceptu již byla prokázána u primátů (Réale et al., 2000; Stevenson-Hinde et al., 1980; Suomi et al., 1991), psovitých šelem (MacDonald, 1983), kočkovitých šelem (Feaver et al., 1986; Svartberg & Forkman, 2002), ptáků (Jones et al., 1991), hlodavců (Blanchard et al., 1986) i ryb (Wilson et al., 1994; Wilson & Coleman, 1998).

1.2.2 Proactive-reactive

Pro přežití zvířat je velice důležitá reakce na změny v prostředí a s tím související stresová odpověď. Ke shromáždění informací o novém či měnícím se prostředí zvířata využívají explorační chování, míry agrese či naopak bázlivosti lze stanovit další rys osobnosti - polohu jedince na ose proaktivita-reaktivita.

Proaktivní jedinci, dříve označovaní jako „fight-flight“ (útok-útěk, Cannon, 1915 in Koolhaas et al., 1999), vykazují vysokou míru explorační, vyšší agresivitu a intenzivněji brání své teritorium (Koolhaas et al., 1999; Sih et al., 2004). Oproti tomu pro jedince reaktivní, také nazývané „conservation-withdrawal“ (ochrana-ústup, Cannon, 1915 in Koolhaas et al., 1999), je typická pomalejší explorační s vnímáním většího množství detailů, nízká úroveň agrese až bázlivost, imobilita a celková pasivita (Koolhaas et al., 1999; Sih et al., 2004).

Přítomnost obou krajních typů chování se zdá být evolučně stabilní strategií. Ve stálém prostředí jsou zvýhodňováni jedinci proaktivní, kdežto v nestabilním prostředí jsou díky své lepší adaptační schopnosti kompetičně úspěšnější spíše jedinci typu reactive. A ačkoliv koncept proaktivita-reaktivita vychází ze studií zaměřených na chování myši a potkanů (Benus et al., 1991; Sih et al., 2004), byl aplikován také na prasata (Hessing et al., 1993) nebo norky (Malmkvist & Hansen, 2002).

Jistou alternativou k ose proactive-reactive je kontinuum fast-slow. To bylo odvozeno z latence reakce na nový podnět u sýkor koňader (*Parus major*) (Drent et al., 2003), a objevuje se tudíž zejména v pracích zabývajících se personalitou ptáků. Osobnostní typy fast oproti typu slow aktivněji explorační nové prostředí, jsou agresivnější a mají větší sklon k rutinnímu chování (Drent et al., 2003; Sih et al., 2004; Verbeek et al., 1994). Dá se tedy říci, že jedinci typu fast odpovídají jedincům proaktivním a jedinci typu slow naopak jedincům reaktivním. Tato podobnost v typech chování mezi rozdílnými třídami živočichů mimo jiné poukazuje na existenci shodného základního principu organizace zvířecí personality (Groothuis & Carere, 2005).

1.2.3 Coping style

V úvodní kapitole o osobnosti zvířat byl mezi jedním z částečně ekvivalentních termínů k pojmu personalita uveden i termín coping style. Konkrétněji je jako coping style

označována sada koherentních (tj. vzájemně souvisejících) a v čase konzistentních behaviorálních prvků projevujících se jako odpověď na stres (Koolhaas et al., 1999), neboli se jedná o schopnost jedince vyrovnat se s výzvou vyvolanou nově nastalými situacemi (Groothuis & Carere, 2005).

Koncept coping style často dává do souvislosti osobnostní typ zvířete s jeho fyziologickými vlastnosti. Nejčastěji přitom bývá sledována reaktivita osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA osa) a aktivita sympatiku a parasympatiku. Kupříkladu Koolhaas et al. (1999) ve své studii na hlodavcích zjistili, že proaktivní jedinci vykazují při stresové zátěži vyšší hladinu katecholaminů a nižší hladinu glukokortikoidů v krevní plazmě oproti jedincům reaktivním. Ferrari et al. (2013) zase na populaci divokých svišťů alpských (*Marmota marmota*) prokázali existenci těsného vztahu mezi zájmem o nové podněty a dechovou a srdeční frekvencí.

1.2.3.1 Úzkost (anxiety)

Jedním ze základních rysů, jež koncept coping style zahrnuje, je úzkost (tj. anxiety z anglického anxiety). Jedná se o velmi složitý psychologický, fyziologický a behaviorální stav (Lister, 1990; Steimer, 2011), jenž je nezbytný pro život každého jedince, neboť mu pomáhá vyhnout se nebezpečí či vyrovnat se s potenciálním rizikem (Hohoff, 2009; Steimer, 2011). Je ovšem důležité rozlišovat strach, který je odpovědí na okamžité reálné nebezpečí, od úzkosti, která je reakcí pouze na možné ohrožení a potenciální nebezpečí (Steimer, 2011).

Mezi podněty vyvolávající úzkost patří kupříkladu přítomnost predátora či jeho pouhý hlas nebo pach, vystavení neznámému prostředí nebo setkání s cizími jedinci. Anxiózní jedinci neboli jedinci s vysokou mírou úzkosti se v případě ohrožení projevují zvýšením pozornosti, zrychlením srdečním tepu, krevního tlaku a dechové frekvence (Hohoff, 2009) nebo u nich dochází k tzv. freezingu („zamrznutí“) – ztuhnutí na místě bez jakéhokoli pohybu, a to obvykle na delší časový interval (Lister, 1990). Někteří jedinci naopak reagují i opačným extrémem, kdy zahájí obranný útok či se dají na útěk (Steimer, 2011).

Úroveň anxiety je hodnocena pomocí testů, jež simulují konfliktní situace a využívají přirozené averze druhu k určitým stimulům (Sudakov et al., 2013). U hlodavců je to například strach z otevřených, vyvýšených a intenzivně osvětlených prostor (Carola et al., 2002; Sudakov et al., 2013; Walf & Frye, 2007) a nejčastěji prováděnými testy jsou Open

Field test, vyvýšený křížový labyrint a Light-dark box test (O'Leary et al., 2013; Ramos & Mormède, 1998; Ramos, 2008). Indexy, na základě nichž je míra úzkosti jedince stanovována, jsou pak (vzhledem k užitému testu) čas strávený v centru Open Field arény, čas strávený v otevřených ramenech vyvýšeného labyrintu nebo čas strávený ve světlém prostoru light-dark boxu (O'Leary et al., 2013; Ramos, 2008).

Úzkost u zvířat je v posledních letech intenzivně zkoumána, a to zejména v souvislosti s nárůstem výskytu úzkostných poruch u člověka. Zvířecí model se totiž zdá být užitečným nástrojem jednak k hlubšímu pochopení lidské úzkosti a jednak k vývoji účinnějších anxiolytik (Cryan & Holmes, 2005; Steimer, 2011).

1.3 Metody hodnocení osobnostních rysů

Lidská psychologie je oproti zoopsychologii o poznání jednodušší v rámci zachycování složek osobnosti. Zatímco vlastnosti člověka jsou hodnoceny na základě dotazníkových šetření, jež vyplňuje sám sledovaný jedinec nebo jemu blízká osoba, u zvířat musí být záznam osobnostních charakteristik vždy zprostředkován pozorovatelem (Carere & Eens, 2005; Gosling, 2001; Miller et al., 2006).

V současné době je pro objasnění a zhodnocení personality zvířat využíváno dvou přístupů: metoda hodnocení vlastností (trait rating) a záznam prvků chování (behavioural coding). Prvně zmíněná metoda spočívá v hodnocení vlastností sledovaného jedince souborem předem určených termínů (např. odvážný, bázlivý, aktivní apod.). Tato metoda je postavena na důvěrnější a dlouhodobější znalosti sledovaného zvířete, která však s sebou přináší i sníženou mírou objektivity. Je tudíž vhodnější tuto metodu provádět prostřednictvím více nezávislých pozorovatelů. Výhodou tohoto způsobu hodnocení je naopak šetrnost k posuzovaným jedincům, neboť zvíře není výrazněji stresováno. Metoda hodnocení vlastností bývá používána především u primátů.

Druhá metoda čili záznam prvků chování je založena na reakci jedince podrobeného určitému behaviorálnímu testu. Během testu je zvíře vystaveno specifické experimentální situaci, často spojené s navozením stresových podmínek, jež umožňují lepší zachycení behaviorální variability. Chování zvířete je natočeno a následně hodnoceno pomocí předem definovaných prvků chování užitím počítačových programů (např. Observer), které výrazně zpřesňují a usnadňují analýzu. Výhodou osobnostních testů je jejich objektivnost a časová nenáročnost oproti pozorování (za stejné časové období je možné zhodnotit větší počet

jedinců). Nevýhodou je však možný vstup nežádoucích faktorů, které mohou výsledky ovlivnit a které je nutné odstranit nebo zohlednit při vyhodnocování testu (např.: pachové stopy nebo hluk). Mezi nejpoužívanější behaviorální testy patří Open Field test, Hole Board test, Novel Object test, Elevated Plus Maze test (vyvýšený labyrint), Resident-Intruder test (interakce domácího a vetřelce), Morris Water Maze (Morrisův vodní labyrint) nebo Startle test (úlekový test).

V této studii byla použita metoda záznamu prvků chování, a to konkrétně za využití Open Field testu, vyvýšeného labyrintu a úlekového testu.

1.3.1 Open Field test

Jedním z nejpoužívanějších testů zachycujících osobnostní dimenze zvířat je tzv. Open Field test (OFT). Byl vyvinut Calvinem Springerem Hallem roku 1934 ke stanovení emocionální stability potkanů. Nadto je dnes tento test využíván k hodnocení individuální míry explorační aktivity, spontánní lokomoční aktivity, úzkosti či prostorové paměti široké škály zvířat, zejména pak hlodavců (Arakawa, 2005; Montiglio et al., 2010).

V principu se jedná o umístění jedince do prázdné, nasvícené aparatury, která je výrazně větší než je velikost boxu, v němž je zvíře před testováním chováno. Tato aparatura může mít buď kruhový, nebo čtvercový půdorys. V obou případech je aréna rozdělena na menší výseče/čtverce, které se dále dělí na centrální a periferní sektory. Střed arény je přitom považován za nejvíce anxiogenní zónu (Hall, 1934). Nevýhodou hranatých experimentálních zařízení oproti kruhovým je možnost využití rohů jako potenciálních úkrytů (Roy & Chapillon, 2004). Tato skutečnost však nesnižuje výpovědní hodnotu testu, neboť v rozích se ukrývají spíše jedinci stresovaní, anxiózní (Matzel et al., 2003; Roy & Chapillon, 2004).

Nové, nezvykle velké prostředí vyvolává u zvířat explorační chování. Obecně je explorační prvek chování nezbytným pro přežití, kompetiční zdatnost i celkovou fitness jedince. U některých jedinců je však explorační aktivity potlačována strachem z otevřeného intenzivně osvětleného prostoru (Archer, 1973; Hessing et al., 1993) a může vést ke vzniku úzkostného stavu. Při OFT jsou hodnoceny doba trvání a frekvence výskytu vybraných prvků chování (např. panáčkování, čištění), počet vstupů do periferní/centrální zóny a je měřena délka trajektorie pohybu. Ukazatelem míry úzkosti je pak snížená lokomoční aktivita, tigmotaxe (pohyb poblíž stěn aparatury), freezing (ztuhnutí na místě) a zvýšená

defekace a urinace (Archer, 1973; Hall, 1934; Matzel et al., 2003; Roy & Chapillon, 2004). Vyšší míru explorační (a tudíž odvahy zvířete) zase odráží vyšší počet vstupů do centrální zóny arény, delší čas strávený v centru arény a panáčkování. Souhrnně je tedy chování v OFT ovlivňováno celkovou aktivitou, explorační a mírou strachu (Arakawa, 2005).

Ačkoli je OFT široce využíván v převážné většině prací (např. Arakawa, 2005; Carola et al., 2002; Costela et al., 1995; Ferrari et al., 2013; Genaro & Schmidek, 2002; Chapillon et al., 2002; Pritchard et al., 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998; Sudakov et al., 2013), objevuje se proti němu řada námitek. Jednak že nedokáže postihnout komplexní projev zvířete (Dingemans et al., 2010; File, 2001; Ohl et al., 2001) a jednak, že nelze jednoduše odlišit jedince, kteří daný prostor neexplorují z důvodu, že jej považují za nezajímavý, od jedinců, kteří se ho prozkoumávat bojí (Renner, 1990). Problém je i s výpovědní hodnotou vysoké lokomoce – ta může svědčit jak o nízké míře anxiety, kdy se zvíře o prostředí aktivně zajímá, tak naopak o vysoké úzkostnosti, kdy je zvíře ve stresu a snaží se spíše najít únikovou cestu (Bohacek & Daniel, 2007; Carola et al., 2002; File, 2001). Z těchto důvodů jsou hledány přesnější, lépe vypovídající testy vedoucí k odhalení osobnostních rysů. Pro OFT byla proto vyvinuta řada modifikací, z nichž neznámější je pravděpodobně tzv. Hole-board test (HBT – viz např. Dingemans et al., 2010; Ohl et al., 2001; Třísková, 2010). Při HBT je využívána stejná aréna jako při OFT, která je však opatřena dvojitým dnem s otvory ve svrchní vrstvě. Frekvence nahlížení do otvorů pak bývá interpretována jako míra zvědavosti zvířete. Tento závěr je však také diskutabilní, poněvadž kupříkladu zemní a podzemní zvířata mohou otvory vnímat spíše jako možnost úkrytu či úniku (Renner, 1990). Hojně je HBT využíván také jako učící úloha, kdy je do otvorů v určité konfiguraci umisťována odměna v podobě potravy.

1.3.2 Vyvýšený labyrint (Elevated Plus Maze test)

Test ve vyvýšeném labyrintu (Elevated Plus Maze test – EPM) je behaviorální test široce využívaný již více než dvě desetiletí. Svědčí o tom existence přes 2 000 článků spojených s tímto tématem (Walf & Frye, 2007). Uplatňuje se nejen v behaviorálních, ale i ve farmakologických studiích, kde hraje důležitou roli zejména při posuzování anxiolytických a anxiogenních účinků léčiv či hormonů (Pellow et al., 1985; Varty et al., 2002; Walf & Frye, 2007). Co se týká hodnocení osobnosti, zaměřuje se vyvýšený labyrint na reakci jedince na stres a míru úzkosti (Walf & Frye, 2007).

Aparatura tohoto testu je tvořena labyrintem ve tvaru znaménka plus (+), jehož dvě protilehlá ramena jsou opatřena bočními i koncovými stěnami, zatímco druhá dvě ramena stěny nemají. Celá aparatura je přitom umístěna v určité výšce nad zemí. Místo průniku všech čtyř ramen tvoří centrální plošinu, do níž je testovaný jedinec na počátku testu situován. Zvířeti je následně umožněna nerušená explorace prostředí po dobu 3–5 min. Tento časový limit byl stanoven Montgomerym (1958 in Walf & Frye, 2007), který zjistil, že nejsilnější reakce se objevuje během prvních pěti minut po umístění do labyrintu.

O míře úzkosti jedince vypovídá čas strávený v otevřených ramenech a počet vstupů do otevřených ramen (vzhledem k počtu vstupů do všech ramen) (Pellow et al., 1985; Walf & Frye, 2007). Zvíře vykazující zvýšenou aktivitu v otevřených ramenech labyrintu (tzn. s delším časovým úsekem v nich stráveným či vyšším počtem vstupů do nich) je považováno za odvážné, jeho index úzkosti je nižší (Pellow et al., 1985; Varty et al., 2002; Walf & Frye, 2007). S vyšší mírou anxiety jsou naopak spojeny další projevy chování, jako například freezing/imobilita nebo defekace, které jsou s vyšší frekvencí zaznamenávány na otevřených spíše než na uzavřených ramenech (Walf & Frye, 2007).

Nejčastěji je EPM test aplikován na hlodavce, např. na potkany (Costa et al., 2012; de Paula et al., 2005; Pritchard et al., 2013; Roy & Chapillon, 2004; Schmitt & Hiemke, 1998; Sudakov et al., 2013), myši (Carola et al., 2002; Gouveia & Hurst, 2013; Holmes et al., 2000), pískomily (Varty et al., 2002) a také hrabošovité (Gracceva et al., 2014; Greenberg et al., 2012; Hostetler et al., 2012; Smith et al., 2013). Vychází totiž z náchylnosti hlodavců k tmavým, uzavřeným prostorům a nepodmíněného strachu z výšek a otevřených prostor (Carola et al., 2002; Walf & Frye, 2007). Jinými slovy chování v tomto testu odráží konflikt mezi hlodavčí preferencí skrytých prostor a jejich vnitřní motivací exploraovat nové prostředí.

1.3.3 Úlekový test (Startle test)

Mezi další, ačkoli méně využívané, testy, jež se objevují v personalitních studiích, patří úlekový test (Startle test). Výpovědní hodnotou úlekového testu je poloha jedince v rámci shy-bold kontinua a jeho míra úzkosti (Miller et al., 2006), neboť princip tohoto testu spočívá v reakci jedince na negativní stimul či na působení mírného stresoru (Conrad et al., 2011). Mezi nejpoužívanější negativní stimuly patří ty, jež simulují ohrožení jedince, např. útok predátora (Miller et al., 2006). Averzivní stimul přitom může nabývat různého

charakteru, nejčastěji však bývá vizuální (např. expozice atrapy predátora), akustický (např. jakýkoli hlasitý zvuk) nebo kombinovaný (např. atrapa predátora společně s jeho hlasem).

U zvířete exponovaného zmíněnému negativnímu stimulu obvykle dojde k tzv. úlekové odpovědi (startle response) – k vylekání a k nepodmíněnému reflexu, jenž se projevuje rapidní kontrakcí kosterních svalů, která má za následek ztuhnutí na místě neboli freezing (Gaese et al., 2009). Časový úsek, během něhož je jedinec imobilní, je brán jako latence návratu ke spontánnímu chování a na jeho základě je stanovována odvážnost/bázlivost jedince (Miller et al., 2006). Jedinci navrátilivší se k běžnému chování po krátkém časovém intervalu jsou popisováni jako bold, naproti tomu jedinci projevující dlouhý freezing, a tím pádem i měřenou latenci, jsou označováni jako shy (Daldrup et al., 2015). Rovněž u jedinců úzkostných je čas potřebný k návratu k normálnímu chování signifikantně delší, než u jedinců s nižší mírou anxiety. Van Oers et al. (2004) došli ve své studii ke srovnatelným výsledkům i v rámci hodnocení osy proactive-reactive.

Parametry stimulů, jež vyvolávají úlekovou reakci u hlodavců a člověka, jsou téměř identické a lze je velmi dobře porovnávat. Z tohoto důvodu je úleková reakce hlodavců hojně využívána jako zvířecí model v neuropsychiatrii, pro studium lidských psychických poruch (např. schizofrenie, stavů úzkosti, Tourettova syndromu, posttraumatických stresových poruch nebo záchvatů paniky)(Gaese et al., 2009; Miller et al., 2006). Mimochodem pomocí úlekového testu jsou také stanovovány sluchové prahy zvířat. Kupříkladu rozmezí slyšitelných frekvencí drobných hlodavců (např. potkan, pískomil, myš) se překrývá s lidským audiogramem, nadto jej však převyšuje až do oblasti ultrazvuku (Gaese et al., 2009; Gosling, 2001).

1.3.4 Habituační versus senzitivizační

Základním předpokladem osobnosti je konzistence jejích projevů v čase. Pro postihnutí této stability je potřebné absolvovat s každým jedincem několik sezení v daném behaviorálním testu. Opakované umístění jedince do stejné testovací aparatury však přináší jistá úskalí.

Už Groves a Thomson (1970 in Pilz & Schnitzler, 1996) si všimli, že behaviorální odpověď během repetitivní stimulace je ovlivněna dvěma procesy – habituací a senzitivizací. Situace či stimul vyvolávající odpověď jednak přináší habituaci na danou situaci/daný stimul a jednak ovlivňuje stav zvířete vedoucí k senzitivizaci (Pilz & Schnitzler, 1996). Konkrétněji,

při habituaci si zvíře zvyká na danou situaci či na opakovaně prezentovaný totožný podnět, čímž postupně dochází k oslabení, až případnému vymizení jeho reakce. Naopak zvýšení reakce je spojeno se senzitivací, kdy zvíře zvyšuje svou vnímavost, a zesiluje tak reakci v dané situaci či na daný stimul.

Behaviorální změny vyvolané habituací či senzitivací jsou zcela individuální, a to jak v projevu, tak v intenzitě. Faktorem přispívajícím k daným změnám může být jak věk, tak osobnostní typ. Zatímco u mladých zvířat nebyla habituace téměř zaznamenána, u dospělců dochází v průběhu opakovaných testování ke stále rychlejší habituaci, jež se projevuje např. snížením aktivity (Pilz & Schnitzler, 1996). Odlišná rychlost habituace se objevuje i u různých behaviorálních typů, např. shy jedinci vykazují tendenci ke zvyšování aktivity a exploračního chování (např. v OFT) v průběhu času, kdežto bold či agresivní jedinci naopak mívají sklon k vytváření stereotypního chování a snižování aktivity a explorační (Benus et al., 1991; Carere & Eens, 2005; Joshi & Pillay, 2016; Sih et al., 2004). V úlekovém testu se zase habituace projevuje zkrácením doby trvání freezingu, a tedy snížením latence návratu jedince k běžnému chování. Při senzitivaci se naopak freezing s latencí prodlužují (Pilz & Schnitzler, 1996).

2 VÝVOJ OSOBNOSTNÍCH RYSŮ

Jak již bylo zmíněno výše, klíčovými charakteristikami osobnosti jsou jednoznačně stabilita a konzistence osobnostních rysů v čase. Chování však nemá striktně daný rámec a jedinec může v různých kontextech projevovat odlišné rysy (např. adekvátně reagovat na změny sezóny) (Gracceva et al., 2014). To mu umožňuje tzv. plasticitu chování v rámci daného osobnostního typu. Jinými slovy, osobnost je dynamická vlastnost jedince (Stamps & Groothuis, 2010) a jako taková prochází vývojem.

Stejně jako i v případě člověka, je osobnost zvířat v juvenilním stádiu života teprve formována nejrůznějšími vnějšími i vnitřními vlivy (viz kapitola Faktory ovlivňující osobnost). Dlouhou dobu byl uznáván názor, že po dosažení dospělosti se tato osobnost již dále nemění a zůstává stabilní (Müller & Schrader, 2005; Suomi et al., 1991). Zdá se však, že časová stálost osobnosti není absolutní a i v dospělosti se může ještě vyvíjet (Capitano, 1999; Groothuis & Trillmich, 2011). Vždyť teprve během dospělosti jedinec nabírá řadu zkušeností, (např. reprodukce, výchova mláďat), které mohou jeho chování značně ovlivnit.

2.1 Faktory ovlivňující osobnostní rysy

Vnitrodruhové rozdíly v behaviorálním projevu zvířat jsou jakousi mozaikou mnoha vlivů. Mezi faktory, které významně ovlivňují individualitu jedince, patří: dědičnost, věk, pohlaví, genotyp, ontogeneze a získávání zkušeností, sociální vlivy atd.

2.1.1 Genetická determinace

Genetické faktory jsou jedním ze základních kamenů individuálních rozdílů v personalitě (Bouchard & Loehlin, 2001; van Oers et al., 2004). Studie využívající selektivního křížení jedinců rozdílných osobnostních typů (např. Benus et al., 1991; Drent et al., 2003; Groothuis & Carere, 2005; van Oers et al., 2004) jednoznačně ukazují, že behaviorální rysy jsou geneticky ovlivněné. Dle odhadů odpovídá dědičnost za 30 až 60 % komponent personality (Bouchard & Loehlin, 2001). Konkrétněji, u reakce na nové podněty a explorační byla hodnota dědivosti odhadnuta na cca 50 % (Drent et al., 2003), u ochoty riskovat pak 19 % (Van Oers et al., 2004).

I nositelé stejného genotypu se však mohou významně behaviorálně lišit, a to díky fenotypové plasticitě (Wilson et al., 1994). Výsledná exprese osobnostního typu závisí na interakci genů a prostředí za účasti prenatálního a postnatálního vlivu stresorů na daného jedince (Farrell et al., 2015).

2.1.2 Věk

Již z dříve zmíněného je patrné, že věk bezpochyby hraje důležitou roli v projevech osobnosti. Pokusy Groothuise & Carera (2005), Koolhaase et al. (1999) a Verbeeka et al. (1994) dokazují, že věk pozitivně koreluje s latencí přístupu k neznámému objektu a jeho explorací. Na druhou stranu je ovšem obtížné rozlišit, zdali je reakce jedinců různého věku ovlivněna pouze věkem samotným nebo s ním souvisejícím větším množstvím zkušeností (Müller & Schrader, 2005). Odlišné zkušenosti, zejména v rané fázi ontogeneze, vytvářejí individuální rozdíly i mezi jedinci stejného osobnostního typu (Sih et al., 2004). Např. stresující či traumatizující podmínky mohou vést ke zvýšené bázlivosti a úzkosti jedince přetrvávající po celý život.

2.1.3 Pohlaví

Co se týče mezipohlavních rozdílů v chování, ty jsou velice intuitivní, jelikož vychází ze samotné biologie druhů a byly zaznamenány již v bezpočtu studií (např. Dingemanse et al., 2010; Harris et al., 2010; Suomi et al., 1991). Obecně mají samci větší sklon riskovat, jsou odvážnější, dominantnější a agresivnější, zatímco samice bývají bázlivější a úzkostnější (Dingemanse et al., 2010; Harris et al., 2010).

S pohlavím dále souvisí i pohlavní hormony a reprodukční fáze, v níž se jedinec momentálně nachází. Například vyšší hladina testosteronu všeobecně vede k vyšší míře agresivity (ať už u dospělého nebo prenatálně v děloze – např. fenomén u skotu známý jako freemartinismus), stejně jako laktační období u samic. Bylo zjištěno, že samice jsou v době laktace agresivnější a naopak méně anxiózní (Rödel et al., 2012). Tento jev lze vysvětlit zvýšenou potřebou agrese v rámci obrany mláďat, ať už před predátory či před cizími samci.

2.1.4 Sociální interakce

Na morfologické a behaviorální parametry má vliv jak prenatální, tak i postnatální fáze ontogeneze (Farrell et al., 2015). Zejména rodičovská péče výrazně ovlivňuje charakter behaviorálních projevů (Fouqueray, 2013). Vliv interakce mezi matkou a potomky na osobnostní typ byl pozorován kupříkladu u potkanů (Meaney, 2001), makaků rhesus (Stevenson-Hinde et al., 1980) nebo myši (Rödel et al., 2008). Kupříkladu bylo zjištěno, že mláďata laboratorních hlodavců, jímž se v raných fázích ontogeneze dostávalo intenzivní mateřské péče, jsou v dospělosti méně anxiózní a aktivněji explorují nové prostředí (Rödel et al., 2008).

Rozhodující pro vývoj osobnostních rysů je i poměr pohlaví ve vrhu. Důkazem jsou studie provedené na hlodavcích – na potkanech (Gracceva et al., 2011) a na myších domácích (Laviola & Alleva, 1995). V obou studiích shodně vyšlo, že samci vyrůstající ve skupině sester vykazují nižší míru agresivity než samci, kteří vyrůstali pouze mezi bratry. V Open Field testu se naopak samci vyrůstající s bratry jeví jako emočně nestabilní a byli bázlivější.

Kromě rodiny jsou důležité i vztahy s dalšími členy society. Chování jedinců se může měnit v závislosti na počtu ostatních členů ve skupině a jejich projevech (Van Oers et al., 2004). Řada zvířat (např. myši, slepice, kočky, primáti) vykazuje rozdílné chování v souvislosti s hustotou populace (Arakawa, 2005). Wilson et al. (1994) dokonce přímo tvrdí, že nadměrná hustota populace je příčinou vzniku shy-bold kontinua. Pravdou je, že u mnoha druhů hlodavců již bylo prokázáno, že s rostoucí populační hustotou roste agresivita jedinců, především tedy samců (Arakawa, 2005). Naproti tomu nepřítomnost dalších jedinců působí negativně na sociálně žijící druhy (Müller & Schrader, 2005).

Určité behaviorální projevy souvisejí rovněž s hierarchií ve skupině a sociální dominancí. Například odvážný jedinec s větší pravděpodobností získává dominantnější postavení, kdežto naopak dominantní jedinec se automaticky nestává odvážnějším (Wilson et al., 1994).

3 HANDLING

Práce se zvířaty přináší mnohá úskalí, ať už se jedná o jejich odchyt, pokusy o reprodukci či dlouhodobější přežití v zajetí. Jedním z největších problémů však bývá zvolení vhodných chovných podmínek a způsobu manipulace se zvířaty při samotném provádění pokusů. Mnoho studií totiž vyžaduje chov zvířat a zacházení s nimi po několik týdnů až měsíců, včetně opakovaných manipulací s jedincem. Je tedy vhodné, aby podmínky chovu i veškeré manipulace byly voleny co nejšetrnější. Jak bylo již uvedeno, je osobnost zvířat do určité míry plastická a její vývoj významně ovlivňují i faktory prostředí. Právě chovné podmínky, pracovní postupy a procedury tudíž mohou mít výrazný vliv na fyziologii a chování laboratorních zvířat.

Laboratorní prostředí bývá pro zvířata často stresující, neposkytuje jim dostatečnou stimulaci a sociální kontakt a často vede k vytváření nevhodných podmíněných reflexů (např. asociace mezi experimentátorem a testováním) (Poole, 1997; Vecsey et al., 2013) či ke stereotypnímu chování, jenž provedení řady experimentů ztěžuje či přímo znemožňuje (Joshi & Pillay, 2016; Poole, 1997). A jak již bylo zmíněno výše, může se u zvířat objevit i reakce v podobě habituace či senzitivace na dané podmínky. Výsledky studií pak nereflektují reakce „*in natura*“, nýbrž jsou zkráceny použitými metodami, způsobem chovu apod. (Poole, 1997). Také role samotného experimentátora je velice důležitá. Většina laboratorních savců a ptáků vnímá člověka jako specifického jedince a cizí osoby v nich neoddiskutovatelně vyvolávají nervozitu, strach a stres (Poole, 1997). Je tudíž výhodné, je-li experimentátorem osoba zvířeti familiární, na niž je zvíře zvyklé a k níž má určitou důvěru.

V současnosti je vliv chovu a celkového zacházení se zvířaty na behaviorální (i fyziologické) vlastnosti jedince intenzivně zkoumán. V angličtině je v popisu práce se zvířaty nejčastěji používáno sloveso „handle“ a z něj odvozené substantivum „handling“. Čeština, která nedisponuje odborným termínem pro zacházení se zvířaty, tento anglický výraz přejala. Jeho používání je však poněkud dvousečné. Samotný výraz „handling“ v užším smyslu slova evokuje pouhé zacházení pomocí rukou (tj. braní zvířete do ruky). V širším slova smyslu se však handling vžil jako obecné označení pro veškeré environmentální změny a manipulace se zvířaty, které mohou mít mnoho podob a mohou modifikovat chování zvířat (Costela et al., 1995). Pro rozlišení bývá občas handling v užším

smyslu označován jako jemný (gentle handling) (Genaro & Schmidek, 2002; Chapillon et al., 2002; Poole, 1997; Rebouças & Schmidek, 1997; Sighieri et al., 2006; Vecsey et al., 2013).

3.1 Typy handlingu

Nejčastějším typem handlingu je taktilní stimulace neboli zmíněný handling *sensu stricto*. Při něm je zvíře vyjmuto z chovného boxu, umístěno do dlaně experimentátora (pokud to jeho velikost dovoluje – např. potkani, myši) nebo na podložku a je hlazeno po hřbetě, na zátylku či po celém těle, a to přímo rukou experimentátora (např. Costa et al., 2012; Genaro & Schmidek, 2002; Nerem et al., 1980; Rebouças & Schmidek, 1997; Sighieri et al., 2006), nebo jemným štětečkem (např. Wei et al., 2013). Kupříkladu potkani bývají během handlingu umisťováni nejen do dlaně, ale je jim rovněž umožněn volný pohyb po pažích a ramenou experimentátora (Bohacek & Daniel, 2007; Schmitt & Hiemke, 1998). Délka taktilní stimulace závisí na druhu zvířete, avšak obecně se pohybuje mezi jednou až pěti minutami (Bohacek & Daniel, 2007; Costa et al., 2012; Genaro & Schmidek, 2002; Pritchard et al., 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998; Sighieri et al., 2006; Vecsey et al., 2013). Zvířata také často bývají v těchto studiích na handling aklimatizována postupně (Schmitt & Hiemke, 1998; Vecsey et al., 2013), aby nedocházelo ke silné stresové reakci.

K metodě taktilní stimulace bývá dále přidružován těsný úchop zvířete za krk (Gouveia & Hurst, 2013; Schmitt & Hiemke, 1998), případně pod předními končetinami (Bohacek & Daniel, 2007). Oba tyto chvaty jsou běžně využívány v procedurách farmakologických a fyziologických studií, neboť slouží nejen k přenesení zvířete, ale i k jeho znehybnění a umožnění vstříknutí injekce, odebrání vzorku krve, zavedení žaludeční sondy nebo sběru vaginálních stěrů (Bohacek & Daniel, 2007; Gouveia & Hurst, 2013). Podobné je to i s metodou zvedání za ocas, která je zejména u hlodavců standardní součástí manipulačního protokolu mnoha studií (např. Gouveia & Hurst, 2013; Sharp et al., 2002).

Větší zvířata, zvláště lidoopi a opice, bývají handlingem učena spolupráci při experimentálních procedurách. Kupříkladu jsou trénována, aby sama natahovala paži pro vstříknutí injekce, otevírala tlamu pro dentální vyšetření, přemísťovala se mezi klecemi, samice jsou učeny zaujímat pozici, jež umožňuje umělou inseminaci, nebo samci jsou naváděni k masturbaci v určitém prostoru, která zjednodušuje odběr spermií (Reinhardt 1990, 1991, 1992 in Poole, 1997). Také u menších zvířat existují metody handlingu,

při kterých nedochází k přímému kontaktu experimentátora se zvířetem. Při přemísťování, např. z domovského boxu do pokusné aparatury, může být zvíře handlováno prostřednictvím nástroje, který dobře zná. Kupříkladu u hlodavců bývá k tomuto účelu využíván tzv. tunel (Gouveia & Hurst, 2013; Pritchard et al., 2013; Vallée et al., 1997; Vallée et al., 1996), neboli část plastové trubky, jež sloužíc jako úkryt a zároveň environmentální obohacení (environmental enrichment – EE) bývá součástí domovského boxu jedince. Minimalizace lidského kontaktu přitom snižuje pravděpodobnost vytvoření averze vůči experimentátorovi (Gouveia & Hurst, 2013).

Kromě již zmíněného může handling zahrnovat také nejrůznější rušivé vlivy, jako je například ťukání na klec/chovný box, třesení s klecí/chovným boxem, odstranění víka, výměnu předmětů EE, narušování hnízdního materiálu a potravy, či celkové pravidelné čištění apod. (Poole, 1997; Pritchard et al., 2013; Vecsey et al., 2013). Dokonce i ultrazvuky vydávané laboratorními přístroji mohou mít vliv na chování pokusných zvířat (Sales et al., 1988).

3.1.1 Neonatální handling versus handling dospělců

Specifickým typem handlingu je handling neonatální, který zavedl už v roce 1956 Levin (Fernández-Teruel et al., 2002; Garoflos et al., 2008; Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2012; Kosten et al., 2007; Papaioannou et al., 2002; Schmidt et al., 2010). Jeho výzkum alterující funkci HPA osy a schopnost organismu odpovídat, vypořádat se stresujícími stimuly a adaptovat na ně přinesl klíčové zjištění, že interakce mezi organismem a prostředím během postnatální periody může vést k důležitým neurobiologickým změnám (Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2012; Papaioannou et al., 2002). Levinovo experimentální paradigma je proto dodnes široce přijímáno, využíváno a doplňováno.

Jako neonatální handling je označována denní fyzická manipulace vrhu, při které jsou mláďata oddělena od matky po krátký časový úsek (nejčastěji 15 min), během něhož podstupují taktilní stimulaci či pouze běžné laboratorní procedury jako například vážení (Cirulli et al., 2010; Costela et al., 1995; Garoflos et al., 2008; Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2007; Meerlo et al., 1999; Papaioannou et al., 2002; Schmidt et al., 2010; Vallée et al., 1997, 1996). Taktilní stimulace má přitom nahrazovat mateřskou péči v podobě lízání a čištění matkou (Fernández-Teruel et al., 2002; Garoflos et al., 2008; Papaioannou et al., 2002; Schmidt et al., 2010; Vallée et al., 1997; Wei et al., 2013). Tato procedura prováděná

během rané postnatální periody (1–21. den života) má silný dopad na interakci matka-mláďe a ovlivňuje vývoj mláďete (Cirulli et al., 2010; Costa et al., 2012; Costela et al., 1995; Fernández-Teruel et al., 2002; Garoflos et al., 2008; Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2012, 2007; Meerlo et al., 1999; Papaioannou et al., 2002; Schmidt et al., 2010; Vallée et al., 1997, 1996). Toto působení může následně vést k fyziologickým a behaviorálním změnám, které pokračují až do dospělosti (Costa et al., 2012; Papaioannou et al., 2002).

Široká škála studií již skutečně ukázala, že dlouhodobé účinky manipulace v brzké fázi života mají jak behaviorální, tak neurální a hormonální konsekvence. Neonatální handling nejen odráží přirozeně se vyskytující rozdíly v mateřské péči (Papaioannou et al., 2002; Schmidt et al., 2010), ale vyvolává i akutní neuroendokrinní odpovědi mláďat a indukuje změny především v odpovědi na strach-způsobující situace (Cirulli et al., 2010; Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2012; Papaioannou et al., 2002). Účinky neonatálního handlingu však závisí na délce odloučení mláďat od matky (Cirulli et al., 2010; Kosten et al., 2012). Delší maternální separace (3–6h) (např. ve studii Wei et al., 2013) má většinou protikladné efekty na chování a fyziologickou reaktivitu na stres potomků než běžnější krátkodobá separace. Podrobněji bude o důsledcích handlingu pojednáno v kapitole Efekt handlingu.

Vedle neonatálního se objevuje i handling prenatalní neboli manipulace s březí samicí. Byly například provedeny studie, v nichž byly březí samice podrobeny kutánní injekci soli, toluenu nebo alkoholové inhalaci, byly vystaveny podmínkám imobilizace (Vallée et al., 1997, 1996), vysoké teplotě, spánkové deprivaci, nedostatku potravy, hypertermii, opakovaným elektrickým šokům či byly ponořeny do studené vody (přehled in Chapillon et al., 2002). Jinde byl pozorován vliv stresorů aplikovaných denně v opakovaných sekvencích, a to v průběhu celé březosti nebo v jejích určitých etapách. Hodnocen byl vliv těchto na matce prováděných manipulací na její mláďata jak ve fázi juvenilní, tak teprve po dosažení dospělosti (Chapillon et al., 2002; Poole, 1997; Vallée et al., 1997, 1996).

I v tomto případě se handling, byť aplikovaný „pouze“ na matku, ukázal být důležitým faktorem měnícím chování mláďat, ačkoli jeho účinky bývají přesně opačné než účinky handlingu neonatálního (krátkodobého), postnatálního nebo handlingu dospělců (Chapillon et al., 2002; Vallée et al., 1997, 1996). Prenatální handling zpravidla indukuje

změny podobné následkům chronickému stresu (Chapillon et al., 2002) a nadto přispívá k vývoji psychopatologie, jež je pozorována u dospělých jedinců (Kosten et al., 2012, 2007; Papaioannou et al., 2002).

Zatímco studií zabývajících se vlivem neonatálního, případně prenatalního nebo postnatálního (po odstupu do dosažení dospělosti), handlingu je nepřehledné množství, prací, kde by byl handling aplikován až na dospělé jedince, je nemnoho (Costa et al., 2012; Pritchard et al., 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998). Nejspíše proto, že teze o neměnnosti personality po dosažení pohlavní dospělosti, byla dlouhá léta brána jako základní kámen koncepce. Teprve nyní, kdy je rozpoznávána i určitá plasticita a možnost formovat jistými faktory i osobnost dospělců, se tato tematika začíná rozvíjet.

3.2 Efekt handlingu

Handling indukují mnoho trvalých behaviorálních změn, a to především ve spojení s odvahou (polohou jedince v rámci shy-bold kontinua), exploračními, úzkostnými a kognitivními. Tyto změny se přitom zdají být univerzální, jak dokazují studie prováděné nejen na různých kmenech téhož druhu (např. potkanů – Gouveia & Hurst, 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998), ale i na různých druzích jako jsou myši (Cirulli et al., 2010; Vecsey et al., 2013), potkani (Bohacek & Daniel, 2007; Costa et al., 2012; Costela et al., 1995; Garoflos et al., 2008; Meerlo et al., 1999; Sharp et al., 2002 aj.), hraboši (Wei et al., 2013), svišti (Ferrari et al., 2013), králíci (Nerem et al., 1980), prasata (Hemsworth & Barnett, 1987), psi (Sighieri et al., 2006) nebo makiové trpasličí (Hämäläinen et al., 2014).

Přesné účinky handlingu však závisí na konkrétním prostředí, v němž jsou zvířata vychovávána (Cirulli et al., 2010; Fernández-Teruel et al., 2002; Kosten et al., 2012; Poole, 1997; Pritchard et al., 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Sharp et al., 2002). Bylo například zjištěno, že účinek sociální izolace (např. zvýšená úzkost, vyšší senzitivita na psychostimulanty) je mnohem hlubší u nehandlovaných potkanů než u handlovaných (Genaro & Schmidek, 2002; Pritchard et al., 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Sharp et al., 2002; Wei et al., 2013). Naopak sociální obohacení ve formě kooperativní péče několika samic o mláďata se zdá mít pronikavější účinek než fyzická manipulace jakou je handling (Cirulli et al., 2010). Účinky handlingu jsou také velmi podobné účinkům, jež vyvolává environmentální enrichment (EE) v podobě různého hnízdního materiálu a předmětů (PVC roury, plastové balonky, dřevěné bloky aj.) (Fernández-Teruel et al., 2002). Obě tyto metody

poskytování doplňkové environmentální stimulace přitom působí zcela nezávisle na sobě, jak dokazují výzkumy porovnávající chování handlovaných jedinců pocházejících z izolovaného a obohaceného prostředí (např. Fernández-Teruel et al., 2002; Pritchard et al., 2013 aj.).

3.2.1 Pozitivní versus negativní handling

Různý způsob handlingu s sebou přináší rozdílné výsledky. Obecně lze handling podle zpětné vazby, kterou zvířata projevují, rozdělit na pozitivní a negativní. Za pozitivní je přitom považován takový handling, při němž dochází ke snížení stresu, redukcii úzkosti, zlepšení kognitivních schopností, paměti a učení nebo celkovému snížení emocionality (Gouveia & Hurst, 2013; Hurst & West, 2010; Kosten et al., 2012; Meerlo et al., 1999; Poole, 1997). Z uvedených metod jsou takovéto pozitivní efekty sledovány zejména při použití taktilní stimulace nebo handlingu prostřednictvím tunelu či jiného nástroje. Naopak zvedání za ocas a uchopování zvířete za zátylek se jeví jako handling negativní, neboť oba tyto způsoby obvykle indukují averzi k experimentátorovi a vedou k vyšší emocionalitě a úzkostnosti, nižší exploraci, zvýšení stresové reakce, případně až k deprivaci jedinců (Gouveia & Hurst, 2013; Hurst & West, 2010; Kosten et al., 2012; Poole, 1997). Příčinou je nejspíše nepřirozenost pozice zvířete při těchto metodách, která mu neumožňuje normální lokomoci a ve své podstatě simuluje útok predátora (Gouveia & Hurst, 2013).

Podstatný rozdíl ve spolupráci mezi zvířetem a experimentátorem v závislosti na použité metodě handlingu byl pozorován například Hurstem & Westem (2010) nebo Gouveiou & Hurstem (2013). V jejich studiích myši handlované tunelem nebo otevřenou dlaní strávily více času ve volné interakci s handlerem a jejich ochota handlingu a pozitivní reakce na tunel s průběhem času rostly. Naopak myši handlované za ocas se i po několika dnech vyhýbaly interakci s handlerem. Rozdíl přitom nezávisel na tom, zda byl tunel pro myš již známý, či nikoliv, ačkoli jeho familiarita ochotu interakce značně zvyšovala (Gouveia & Hurst, 2013; Hurst & West, 2010).

Nebude-li specifikováno jinak, bude v této práci nadále pojednáváno výhradně o handlingu pozitivním, a to zejména v podobě taktilní stimulace jak u dospělců, tak u mláďat. Handlingu prenatalnímu nebude, vzhledem k přínosu zcela opačných výsledků, věnováno více pozornosti.

3.2.2 Změny fyziologické a neurologické

Handling je obecně považován za střední stresor, a to zejména z počátku procedury. Proto bývá u handlovaných zvířat zpravidla naměřen zvýšený srdeční tep a vyšší dechová frekvence (Ferrari et al., 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Sharp et al., 2002). Ty jsou však až důsledkem mnohem dřívějších změn aktivity autonomního nervového systému a humorální regulace hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA osa), které zvyšují schopnost adaptace, vypořádání se s novým nebo stresujícím stimulem (Cirulli et al., 2010; Fernández-Teruel et al., 2002; Kosten et al., 2012; Meerlo et al., 1999; Vallée et al., 1996).

Nejdůležitější změny se týkají hladin stresových hormonů (Pritchard et al., 2013; Vallée et al., 1997, 1996; Vecsey et al., 2013). První kontakt zvířete s experimentátorem obvykle vede k dočasnému zvýšení hladiny adrenalinu (Costa et al., 2012) a kortikosteronu (Cirulli et al., 2010; Hämäläinen et al., 2014; Vecsey et al., 2013). Pokud je však handling aplikován opakovaně, zejména pak v řádu dnů až týdnů, k žádnému navýšení adrenalinu ani kortikosteronu nedochází a jejich hladiny nepřevyšují standardní cirkadiánní píky, nýbrž dokonce klesají (Costa et al., 2012; Costela et al., 1995; Fernández-Teruel et al., 2002; Hämäläinen et al., 2014; Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2012; Meerlo et al., 1999; Papaioannou et al., 2002; Poole, 1997; Vallée et al., 1996, 1997; Vecsey et al., 2013; Wei et al., 2013). Dlouhodobý handling taktéž vede ke snížení sekrece noradrenalinu (Costa et al., 2012), adrenokortikotropního hormonu (ACTH) (Costela et al., 1995; Fernández-Teruel et al., 2002; Papaioannou et al., 2002) a prolaktinu (Fernández-Teruel et al., 2002; Meerlo et al., 1999). Endokrinní změny jsou navíc extrémně dlouhotrvající (pravděpodobně celoživotní) a zdají se být význačnější u kmenů potkanů či myší, které jsou relativně vnímavější na stres (Fernández-Teruel et al., 2002).

Neměnné či snížené hladiny stresových hormonů značí, že handling snižuje aktivitu sympatických nervů, a tedy i celkovou stresovou reakci. Z toho lze vyvodit, že zvířata jsou schopna se na opakovaný handling adaptovat a daná procedura pro ně po aklimatizaci nepředstavuje stresový faktor (Costa et al., 2012; Vecsey et al., 2013).

Efekty handlingu jsou spojeny i s plastickými změnami v centrální nervové soustavě (CNS) (Fernández-Teruel et al., 2002). Adaptivní mozková plasticita přitom souvisí s hladinou nervového růstového faktoru (NGF), jenž ovlivňuje růst a život nervových buněk a jehož hladinu handling výrazně zvyšuje (Fernández-Teruel et al., 2002; Garoflos et al., 2008). Největší neurobiologické změny jsou patrné v oblasti hipokampu, kde dochází k vyšší

neurogenezi a dlouhodobé potenciaci (Cirulli et al., 2010; Fernández-Teruel et al., 2002; Kosten et al., 2007). Dále handling způsobuje kupříkladu redukcí počtu buněk paraventriculárního jádra hypothalamu nebo loku coerulei (Cirulli et al., 2010; Garoflos et al., 2008; Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2012; Wei et al., 2013), které vylučují kortikoliberin (tj. kortikotropin uvolňující faktor), respektive noradrenalin, a tím spouští kaskádu reakcí odpovědí na stres. Stejně tak lze zmínit, že handling vede ke zvýšení dopaminu obsaženého v *nucleus accumbens*, jenž hraje důležitou roli v mechanismech odměny, závislosti, agrese, strachu apod., dále k nárůstu počtu GABA-A a benzodiazepinových receptorů, k permanentnímu nárůstu *corpus callosum* nebo k celkovému zvýšení kortikálních dendritických trnů (Bohacek & Daniel, 2007; Cirulli et al., 2010; Costela et al., 1995; Fernández-Teruel et al., 2002; Garoflos et al., 2008; Kosten et al., 2007; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998).

Denní přivyknutí na handling rovněž působí změny hladiny N-methyl-D-aspartátu (NMDA) (Bohacek & Daniel, 2007; Vecsey et al., 2013). Receptory pro NMDA v CNS savců jsou rozhodující pro mnoho fyziologických procesů, včetně vývoje mozku, učení a paměti. Nejen z tohoto důvodu je handling protektivním faktorem proti některým s věkem spojeným deficitům (Fernández-Teruel et al., 2002; Kosten et al., 2007), především co se týká neurodegenerace nebo poklesu kognice a hipokampálně závislé paměti (Bohacek & Daniel, 2007; Costa et al., 2012; Fernández-Teruel et al., 2002; Kosten et al., 2012; Papaioannou et al., 2002).

Zvířata podstupující handling jsou také méně náchylná k vyvinutí depresivních stavů (Cirulli et al., 2010; Costela et al., 1995; Papaioannou et al., 2002), hyperaktivity (Rebouças & Schmidek, 1997) a stereotypního chování (Pritchard et al., 2013), za což z hlediska fyziologického odpovídají nižší hladiny mozkového neurotrofického faktoru (BDNF) (Cirulli et al., 2010).

3.2.3 Odvaha a explorace

Handlovaná zvířata vykazují zpravidla nižší bázlivost, vyšší explorační chování i celkovou lokomoční aktivitu v porovnání se zvířaty, jež handlingovou proceduru nepodstoupila (Costa et al., 2012; Costela et al., 1995; Fernández-Teruel et al., 2002; Genaro & Schmidek, 2002; Meerlo et al., 1999; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998; Vallée et al., 1997). V OFT i EPM (stejně jako v dalších testech, např. v HBT, RAM

testu aj.) podávají handlovaní potkani a myši lepší výkon, neboli prochází více sekcí arény a urazí větší celkovou vzdálenost (Bohacek & Daniel, 2007; Cirulli et al., 2010; Costa et al., 2012; Fernández-Teruel et al., 2002; Genaro & Schmidek, 2002; Chapillon et al., 2002, 2002; Papaioannou et al., 2002; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998; Vallée et al., 1997; Wei et al., 2013). Také štěňata, která v brzkém stádiu života obdržela denní taktilní stimulaci, projevovala v izolačním testu (obdoba OFT) delší explorační aktivitu ve srovnání se štěňaty kontrolními (Sighieri et al., 2006).

Redukce bázlivosti je u handlovaných jedinců oproti jedincům nehandlovaným patrná zejména z delšího času stráveného v centru arény OFT (Bohacek & Daniel, 2007; Costa et al., 2012; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998), ze zkrácené latence prvního vstupu do centra arény v OFT (Bohacek & Daniel, 2007; Costa et al., 2012; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998), respektive do otevřeného ramene EPM (Cirulli et al., 2010; Costa et al., 2012; Fernández-Teruel et al., 2002; Gouveia & Hurst, 2013; Meerlo et al., 1999; Pritchard et al., 2013; Schmitt & Hiemke, 1998; Vallée et al., 1997) či do osvětlené části Light-dark box testu (LDB) (Costela et al., 1995; Papaioannou et al., 2002). Při exploraci je navíc u handlovaných zvířat zaznamenávána vyšší míra panáčkování (tj. vzpřímeného postoje na zadních končetinách bez opory) a očichávání aparatury (Meerlo et al., 1999; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998), což také svědčí o odvážnosti jedinců. Na druhou stranu je však třeba zdůraznit, že handling výrazně neovlivňuje míru agresivity (Chapillon et al., 2002; Wei et al., 2013).

3.2.4 Úzkost a emocionalita

Přivyknutí na handling redukuje úzkost (anxiety) a celkovou emocionalitu zvířat (Cirulli et al., 2010; Costa et al., 2012; Genaro & Schmidek, 2002; Chapillon et al., 2002; Meerlo et al., 1999; Papaioannou et al., 2002; Pritchard et al., 2013; Vallée et al., 1997; Vecsey et al., 2013; Wei et al., 2013). Tento efekt se přitom zdá být silnější u juvenilních jedinců než u dospělců (Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2007).

Anxiolytický účinek je u handlovaných jedinců patrný z nárůstu explorační aktivity v otevřených ramen bludiště EPM a celkového času stráveného v otevřených ramenech (Cirulli et al., 2010; Costa et al., 2012; Fernández-Teruel et al., 2002; Gouveia & Hurst, 2013; Meerlo et al., 1999; Pritchard et al., 2013; Schmitt & Hiemke, 1998; Vallée et al., 1997). Nárůst vstupů do otevřených ramen přitom nemůže být jednoduše vysvětlen zvýšenou

lokomocí, poněvadž počet vstupů do uzavřených ramen EPM nebývá handlingem nijak ovlivněn (Costa et al., 2012). Rovněž méně času stráveného v rozích aparatury OFT (Vallée et al., 1997, 1997), a tedy slabší projev tigmataxe, vypovídá o snížené úzkostnosti handlovaných zvířat. Snížená úroveň defekace handlovaných jedinců v průběhu testů (Cirulli et al., 2010; Costela et al., 1995; Fernández-Teruel et al., 2002; Schmitt & Hiemke, 1998) zase reflektuje redukci celkové emocionality.

Podobně jako ve výše zmíněných pracích, jež byly prováděny na hlodavcích, i v práci Sighieriho et al. (2006) projevovala handlovaná štěňata nižší neklid než jedinci nehandlovaní. V této práci byla sledována štěňata různých plemen psů, a jako ukazatel míry úzkosti sloužila míra štěkání. Štěňata handlovaná štěkala v pokusných testech méně a po uplynutí delšího časového intervalu než štěňata vychovaná bez taktilní stimulace.

Handling taktéž snižuje emocionalitu při podmiňování vyhýbavého chování v úlohách jako je „avoidance“ test (Costela et al., 1995; Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2007; Meerlo et al., 1999; Papaioannou et al., 2002), v nichž jsou neutrální stimuly či činnosti spojeny s elektrickým šokem. V těchto testech, jakožto i v OFT, EPM či v plavacím testu (*swimming test*), handlovaná zvířata projevují kratší dobu imobility a freezingu (Costela et al., 1995; Kosten et al., 2012, 2007; Meerlo et al., 1999) oproti zvířatům kontrolním.

3.2.5 Kognitivní schopnosti, učení a paměť

Handling, ať už neonatální či dospělců, zlepšuje předpoklady pro projev kognitivních schopností (Costa et al., 2012; Kosten et al., 2012, 2007). Podporuje například senzoryckou stimulaci (Vecsey et al., 2013), zvyšuje zvědavost (Costa et al., 2012) nebo v testech podmiňování vyhýbavého chování zvyšuje bdělost a reaktivitu jedinců na elektrický šok (či jiný negativní stimul) (Chapillon et al., 2002; Papaioannou et al., 2002). Zvláště u starších jedinců pak snižuje s věkem spojenou regresi kognitivních, učících a paměťových schopností (Costela et al., 1995).

Pozitivní vliv handlingu na schopnost učit se demonstroval poprvé už samotný Levin v roce 1956 (Fernández-Teruel et al., 2002). Názor, že handling zlepšuje procesy spojené s učením a pamětí (Bohacek & Daniel, 2007; Costa et al., 2012; Fernández-Teruel et al., 2002), a to pravděpodobně doživotně (Fernández-Teruel et al., 2002; Kosten et al., 2012), je podporován výsledky bezpočtu studií, jež využívají rozličné behaviorální testy (Kosten et al.,

2012; Poole, 1997). Kupříkladu v opakovaných testech v EPM i RAM vykazují handlovaná zvířata signifikantně nižší únikovou latenci (tj. snahu uniknout z aparatury) než zvířata kontrolní (Bohacek & Daniel, 2007; Costa et al., 2012; Chapillon et al., 2002; Vallée et al., 1997) nebo se v „avoidance“ testu více vyhýbají oblastem, kde obdržela elektrický šok (Costela et al., 1995; Chapillon et al., 2002; Meerlo et al., 1999; Papaioannou et al., 2002). Oba tyto výsledky značí, že handlovaná zvířata si daný pokus lépe pamatují.

Nejkonzistentnější účinky se handling ukazuje mít v učicích úlohách, které vystavují zvířata vysoké míře averzivnosti či komplexity a přinášejí velké množství motivačních/emocionálních faktorů (Fernández-Teruel et al., 2002). Takovým příkladem jsou zejména prostorové úlohy, konkrétně např. Morrisův vodní labyrint, v němž handlovaná zvířata rychleji a snadněji vyhledávají ponořený ostrůvek a při posledním sezení tráví nejvíce času v kvadrantu aparatury, kde se ostrůvek dříve nacházel (Cirulli et al., 2010; Fernández-Teruel et al., 2002; Chapillon et al., 2002; Kosten et al., 2012). Také v cirkulárním labyrintu (*circular maze*), který využívá útěku z jasného světla a měří prostorovou paměť, handlování potkani vykazují kratší latenci v nalezení tmavého místa v porovnání s kontrolou (Kosten et al., 2007).

V úloze rekognice předmětu, která na rozdíl od Morrisova vodního labyrintu a cirkulárního labyrintu nezahrnuje averzivní stimul, jeví handlovaná zvířata preferenci nového objektu oproti již známému, zatímco kontrolní skupina o nový objekt zájem spíše neprojevuje (Kosten et al., 2007; Wei et al., 2013). Z toho lze vyvodit nejen, že handling redukuje neofobii, ať už předmětovou (Kosten et al., 2007; Wei et al., 2013) či potravní (Fernández-Teruel et al., 2002; Chapillon et al., 2002; Meerlo et al., 1999; Rebouças & Schmidek, 1997), ale zlepšuje i rozpoznávací paměť (Kosten et al., 2007).

4 HRABOŠ POLNÍ

4.1 Biologie druhu

Hraboš polní (*Microtus arvalis*) je drobný savec, který se řadí mezi nejhojnější druhy naší fauny (Mitchell-Jones, 1999; Niethammer & Krapp, 1982). Tento druh, dříve obývající spíše stepi a lesostepi, se dnes vyskytuje zejména v zemědělské krajině, a to téměř na celém území Evropy (s výjimkou Britských ostrovů, Skandinávského poloostrova a většiny Středomoří) (Anděra & Gaisler, 2012; Anděra et al., 2005; Aulagnier, 2009; Kratochvíl et al., 1959; Pelikán et al., 1979; Zapletal et al., 2000). Jedná se o euryfágního herbivora, jehož potrava zahrnuje nejrůznější výhonky, kořínky a oddenky rostlin, dále pak semena, obilná zrna a kůru dřevin. Denní spotřeba hraboše přitom činí asi 110-120 % hmotnosti těla (Anděra & Gaisler, 2012).

4.1.1 Způsob života

Hraboš polní je živočichem s polyfázickou aktivitou (Mitchell-Jones, 1999; Niethammer & Krapp, 1982), tedy je aktivní během dne i noci zhruba po 2 až 3 hodinách. Patří mezi druhy sociální a vytváří poměrně složité hnízdní systémy. Tyto hnízdní systémy jsou budovány v hloubce 10-20 cm pod povrchem a zahrnují několik hnízdních komor, zásobárny potravy, únikové chodby a řadu východů (Anděra & Gaisler, 2012; Boyce & Boyce, 1988a; Pelikán, 1959a). Samice žijí v této spleti chodeb ve skupinách průměrně čítající tři samice, synchronizují svůj estrální cyklus a následně společně vychovávají potomky, kteří později dispergují do blízkého okolí (Boyce & Boyce, 1988b; Dobby, 2008). Pokud je však populační hustota vysoká, bývají některé samice ze society vyloučeny a jsou nuceny vychovávat potomky samostatně v menších jednoduchých norách (Boyce & Boyce, 1988a). Kupodivu je reprodukční úspěch takovýchto solitérních samic vyšší než samic ze skupiny (Boyce & Boyce, 1988a). Pro samice je přitom výhodné sdružovat se s nepříbuznými jedinci, neboť dcery zůstávající s matkami mají potlačenou reprodukci a opožděný počátek pohlavní reprodukce (Dobby, 2008).

Samci se samicemi setrvávají pouze po krátkou dobu (Borkowska & Ratkiewicz, 2010) a vůči ostatním samcům jsou (během reprodukční sezóny) velmi agresivní (Boyce & Boyce, 1988c). Nemají však stálá, striktně bráněná území a postupně navštěvují říjné samice dané kolonie (Anděra & Gaisler, 2012; Mitchell-Jones, 1999; Niethammer & Krapp, 1982).

Na podzim, kdy se utlumuje pohlavní aktivita, a tím i rivalita samců se hraboši sdružují do velkých skupin (Anděra et al., 2005; Niethammer & Krapp, 1982; Pelikán, 1959b). Tato tzv. zimní společenstva jsou tvořena většinou příbuznými jedinci různého věku a pohlaví, leč v nich mohou být přítomni i jedinci nepříbuzní (Pelikán, 1959a).

4.1.2 Reprodukce

Hraboši polní pohlavně dospívají průměrně ve 4. až 6. týdnu věku (Pelikán et al., 1979), přičemž samice obvykle dříve než samci. Některé samice dokonce mohou zabřeznout již ve stáří 15 dnů, zatímco samci dosahují pohlavní zralosti teprve ve stáří 30 dnů (Pelikán, 1959b). Rozmnožovací sezóna probíhá od března do poloviny listopadu (Moravec, 1985) s vrcholem v květnu, avšak za vhodných podmínek se mohou reprodukovat i přes zimu (Boyce & Boyce, 1988b; Moravec, 1985). Samice je březí zhruba 19 až 21 dnů a jeden vrh průměrně čítá 5 až 6 mláďat (Anděra et al., 2005; Pelikán, 1959b). Co se týká délky života, je značně ovlivněna ročním obdobím narození jedince. Zatímco jarní kohorta hrabošů žije 2 až 7 měsíců, letní a podzimní kohorty, které se obvykle rozmnožují až následující rok, se mohou dožít i více než 10 měsíců (Moravec, 1985). Nejvyšší věk jedince zaznamenaný v přírodě je rok a půl (Anděra & Gaisler, 2012). V laboratorních podmínkách však nejsou výjimkou ani jedinci doživší se 2 i 3 let.

4.2 Využití druhu v osobnostních studiích

Důvodů, proč byl hraboš polní použit jako modelový druh, je několik. Zaprvé se jedná o živočicha v České republice velmi hojného, jenž se snadno chytá, dobře snáší zajetí a ochotně se v něm i rozmnožuje. Zadruhé, jeho generační doba je poměrně krátká, tudíž lze testovat více generací za relativně krátkou dobu nebo sledovat vývoj chování či konzistenci určitého osobnostního rysu v průběhu celého života jedince. Zatřetí, na tomto druhu bylo provedeno již několik behaviorálních studií, dokládajících mimo jiné právě i přítomnost inter-individuálních rozdílů v chování jedinců (viz níže). Navíc, na Jihočeské univerzitě je osobnost hraboše polního studovaná již řadu let a bylo na ní zaměřeno hned několik bakalářských či diplomových prací (Eliáš, 2015; Janochová, 2014; Kolářová, 2015; Roubová, 2007; Šichová, 2008, 2010; Třísková, 2010; Urbánková, 2012).

Existence konzistentních inter-individuálních behaviorálních rozdílů u hrabošů polních byla demonstrována již v několika studiích (např. Eccard & Herde, 2013; Graceva

et al., 2014; Herde & Eccard, 2013; Lantová et al., 2011a, 2011b). Opakovatelnost (repeatability) chování jedinců, neboli rozsah projevů chování v daném kontextu v určitém čase korelovaný s rozsahem projevů chování ve stejném kontextu v pozdějším čase (Herde & Eccard, 2013), dosáhla signifikantní úrovně jak ve studii Herde a Eccardové (2013), tak ve studii Lantové et al. (2011a). Jinými slovy hraboši v obou studiích projevovali značnou konzistentnost chování v čase v odlišných testech, a to i v různých stádiích života. Tím byla splněna první podmínka pro klasifikaci behaviorálních rozdílů u hraboše polního jako osobnostních rysů.

Druhou podmínkou bylo prokázání stálosti chování napříč různými kontexty, a to prostřednictvím korelace projevů chování jedince napříč různými behaviorálními testy. I tato podmínka byla splněna, neboť bylo například zjištěno, že jedinci aktivní a odvážní v OFT vykazují také vyšší aktivitu v radiálním labyrintu (RAM testu) (Lantová et al., 2011a), v osvětlené části boxu LDB testu (Herde & Eccard, 2013) i v bariérovém testu (Eccard & Herde, 2013; Graceva et al., 2014; Herde & Eccard, 2013). Dále bylo zjištěno, že jedinci vykazující vyšší exploraci otvorů v hole-testu (obdoba HBT) explorují rovněž více i v prostředí arény OFT (Herde & Eccard, 2013). Taktéž se ukázalo, že čím úzkostněji se zvíře projevuje v OFT, tím méně ramen radiálního labyrintu RAM testu navštíví (Lantová et al., 2011a) a tím bázlivěji se chová v bariérovém testu (Graceva et al., 2014). Nadto bylo zjištěno, že anxiózní jedinci v RAM testu vykazují spíše algoritmickou strategii explorační (po nebo proti směru hodinových ručiček) oproti jedincům s nižší mírou úzkostnosti, kteří labyrint prozkoumávají spíše náhodně, bez náznaku určitého definovatelného vzoru (Lantová et al., 2011a). Výše uvedená strategičnost pohybu v labyrintu pravděpodobně souvisí s tigmotaxí, tedy s úzkostností projevovanou v OFT pohybem pouze při periférii arény.

Práce Lantové et al. (2011a) přinesla ještě další zajímavé výsledky. Zdá se, že velikost chovné skupiny má signifikantní vliv na úzkost daného jedince, neboť hraboši z větších rodin byli méně úzkostní, vstupovali do testových arén dříve a více v nich explovali. Tento závěr kontrastuje s předpokladem, že mláďata z vrhů s vyšším počtem sourozenců, a tím pádem vyšší kompeticí (nižší dostupnost mléka a mateřské péče), budou projevovat vyšší míru úzkosti a nižší exploraci v OFT. Ukázalo se také, že příbuzní jedinci vykazují podobné projevy aktivity, útekového chování i úzkosti, tudíž že všechny tyto osobnostní rysy mají u hraboše genetické pozadí (Lantová et al., 2011a).

Co se týká behaviorálních rozdílů v pohlaví, jsou samci hrabošů aktivnější než samice (Eccard & Herde, 2013; Gracceva et al., 2014; Herde & Eccard, 2013; Lantová et al., 2011a; Tikhonova et al., 2008). Samci rovněž vykazují vyšší míru agresivity, a to zejména mezi sebou navzájem (Tikhonova et al., 2008). Vzhledem k reprodukčnímu systému hrabošů s promiskuitními samicemi (viz kapitoly Způsob života a Reprodukce) a samci přesunujícími se mezi samičími skupinami lze oba tyto pohlavní rozdíly snadno vysvětlit. Jiné odlišnosti v projevech ani v konzistentnosti chování nebyly mezi samci a samicemi zaznamenány ani mezi různými věkovými skupinami (Herde & Eccard, 2013). Jinými slovy juvenilní jedinci nevykazují vyšší exploraci či odvážnost než dospělci a naopak.

Kromě genů, sociálního prostředí nebo pohlaví mají na behaviorální rysy hraboše polního výrazný vliv i sezónní změny (Eccard & Herde, 2013; Gracceva et al., 2014). Eccard & Herde (2013) zjistily, že hraboši projevovali nejvyšší aktivitu a odvalu na jaře, kdy jsou v populaci přítomni pouze přezimovavší příslušníci letní a podzimní kohorty. Naproti tomu na podzim, kdy jsou v populaci přítomny všechny 3 tohoroční kohorty, byla zvířata nejbázněnější a nejméně aktivní. Vyšší míra riskování jedinců podzimní a pozdně letní kohorty na jaře bývá interpretována jako investice do chování, které umožňuje reprodukci, tj. nalezení partnera nebo uhájení teritoria či postavení v hierarchii, a to vzhledem k jejich vyššímu věku, a tudíž nižší reprodukční hodnotě. Gracceva et al. (2014) také zjistili, že hraboši byli více bázlivi v zimě než v létě. Nicméně v tomto případě se jednalo o pouhou simulaci zimních podmínek v laboratoři (prostřednictvím fotoperiody a dostupnosti potravy) a bázlivěji se projevovali pouze juvenilní jedinci, kteří byli ihned po odstavu přemístěni z letních podmínek do zimních. Dospělci naopak nevykazovali žádnou behaviorální změnu, ačkoli na úrovni fyziologické u nich došlo ke zvýšení hladiny kortikosteroidů. Autoři tak z toho usoudili, že juvenilní fáze života hrabošů se zdá být senzitivní a umožňuje adaptaci chování na změny prostředí, jako je například posun na ose shy-bold kontinua, kdežto plasticita chování dospělců je, minimálně v tomto kontextu, značně omezená.

Z výše uvedeného vyplývá, že přestože je chování hrabošů polních flexibilní v rámci různých podmínek prostředí, pohybuje se vždy v mezích určitých osobnostních rysů. Lze tedy hovořit o personalitě u tohoto druhu a je třeba zkoumat jeho chování s ohledem na behaviorální syndromy či rozdílné osobnostní rysy, zejména pak v odvaze, celkové aktivitě, exploraci a úzkosti.

4.3 Laboratorní pokusy

Hraboš polní je jakožto jeden z nejrozšířenějších a snadno chovatelných drobných hlodavců Evropy využíván v celé řadě studií. Zejména v posledních letech přibývá prací prováděných na tomto druhu nejen na poli etologickém, ale i fyziologickém a ekofyziologickém.

Jansen et al., (2000, 2007) a van der Veen et al. (2006) používali hraboše polního jako modelový druh při odhalování fyziologické podstaty cirkadiálních rytmů. Ve svých studiích sledovali uvolňování vazopresinu ze suprachiasmatického jádra (Jansen et al., 2000), jeho imunoreaktivitu (Jansen et al., 2007) či expresi genů zodpovídajících za cirkadiální rytmy v suprachiasmatickém jádře hypothalamu a v játrech (van der Veen et al., 2006).

Biologickými rytmy u hraboše se zabývali i van der Vinne et al. (2014) nebo van der Veen et al. (2011). Prvně jmenovaní testovali, jak vyšší teplota okolí (30°C) ovlivní laktující samice v rámci jejich ultradiálních a cirkadiálních rytmů chování. Vysoká okolní teplota totiž značně limituje disipaci tepla, neboli schopnost samice alokovat energii, následkem čehož dochází k redukci produkce mléka a tedy i růstu mláďat. Druzí zmiňovaní pak hodnotili behaviorální odpověď (konkrétně načasování denní aktivity hrabošů) na interakci světla s dočasnou dostupností potravy.

Lantová et al. (2012) provedli na hraboších studiích propojující fyziologii s etologií. Studovali v ní vztah mezi vytvářením pachových značek pomocí moči u samců se stanoveným individuálním osobnostním profilem v OFT a reakcí na značky cizích samců. Tato studie přinesla nejen zjištění, že míra vytváření močových značek je konzistentní a specifická pro každého jedince a odráží personalitu jedince, ale také že hraboši polní používají močení spíše jako signál přítomnosti v dané oblasti a prostředek redukce hrozby agresivních setkání než jako signál kompetice. Výsledek rovněž odráží nízkou úroveň teritoriality hraboše polního.

A od teritoriality se dostáváme k problematice sociality, v rámci které jsou hraboši také široce využívaným modelovým druhem. Kupříkladu Heise & Van Acker (2000) na hraboších zkoumali vliv sociálního prostředí na imunitní odpověď samic, konkrétně proti ovčím erytrocytům. Dobly (2008) se zase zabýval sociálním vlivem na reprodukci, kdy v přítomnosti nepřibuzných samic dochází k supresi rozmnožování. Říčánková et al. (2007)

hodnotili sociální preference partnera u samic hrabošů a jejich tendenci k vytváření těsných sociálních vztahů, Gromov (2013) pak zkoumal otcovskou péči o mláďata a vliv přítomnosti otce na rodičovské chování potomků v dospělosti.

Mezi behaviorálně-ekologické studie lze zařadit příspěvek Haupta et al. (2010) ke stanovení schopnosti hraboše polního a norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*) využívat habitat s proměnnou prostorovou dostupností potravy. Obecně se však hraboš polní objevuje spíše v populačně-ekologických studiích zabývajících se např. vlivem predace a kompetice na chování kořisti a její reprodukci (viz např. Jochym & Halle, 2012, 2013; Liesenjohann et al., 2013) nebo rozdíly v chování sympatrických druhů (např. hraboše polního, norníka rudého a hraboše mokřadního (*Microtus agrestis*)), (viz např. Sales & Kapusta, 2009).

Poněvadž hraboš patří mezi významné škůdce zemědělských plodin, zaměřuje se mnoho studií také na možné způsoby redukce těchto škod a na vliv jejich aplikací na hraboše. Například Hansen et al. (2016) nebo Jokić et al. (2014) zjišťovali vliv rodenticidů a sekundárních metabolitů rostlin na potravní chování hrabošů polních.

A i v medicíně nacházejí hraboši polní své uplatnění. Drobní hlodavci fungují jako přenašeči hantavirů, jež jsou původci mnoha lidských onemocnění (zejména dýchacího systému a ledvin). Hraboši proto byli použiti například v práci Detera et al. (2008), která se snažila odhalit způsob přenosu hantaviru (konkrétně se jednalo o *Tula virus*) v populacích hlodavců a porozumět tak jeho perzistenci.

Z výše uvedeného přehledu je patrné, že hraboš polní je oblíbeným modelovým druhem pro nejrůznější typy studií. Většina experimentů je však prováděna v laboratorních podmínkách, což s sebou přináší i značnou potřebu manipulace se zvířaty. Tyto manipulace, stejně jako i samotné laboratorní prostředí, mohou vést k řadě behaviorálních změn, které pak významně ovlivní výsledky testů, jak už bylo ostatně popsáno v kapitole Handling. Vzhledem k jeho využívanosti by tudíž bylo vhodné zjistit, jaký vliv má handling na osobnostní rysy tohoto modelového druhu – hraboše polního.

5 CÍL PRÁCE A TESTOVANÉ HYPOTÉZY

Cílem této diplomové práce bylo:

Zjistit zda denní manipulace (handling) s hraboši vede ke změnám v projevu chování v behaviorálních testech.

Testovány byly následující hypotézy:

H_{0a}: Handling neovlivňuje behaviorální projev dospělých hrabošů v úlekovém testu.

H_{0b}: Handling neovlivňuje množství lokomoční aktivity v OFT.

H_{0c}: Handling neovlivňuje míru odvahy projevenou v OFT.

H_{0d}: Handling neovlivňuje množství lokomoční aktivity v EPM.

H_{0e}: Handling neovlivňuje míru úzkosti projevenou v EPM.

H_{0f}: Handling není ovlivněn pohlavím.

H_{0g}: Handling neovlivňuje změnu hmotnosti jedince.

H_{0h}: Handling není ovlivněn příslušností jedince k rodině.

6 MATERIÁL A METODIKA

6.1 Zvířata a chovné podmínky

V pokusech byli použiti hraboši polní (*Microtus arvalis*) laboratorně odchovaní v chovech Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity. Jednalo se o F1 generaci, která byla získána množением jedinců odchycených ve volné přírodě. Odchyty probíhaly v létě 2015 na třech od sebe vzdálených lokalitách v okolí Českých Budějovic a v září 2015 také v okolí terénní stanice Lužnice u Třeboně. Při párování byly přítom chovné páry sestavovány tak, aby samec a samice vždy pocházeli z různých lokalit, a nedocházelo tudíž k příbuzenskému křížení. S cílem získat co nejvyšší počet mlád'at byla provedena dvě párování: první v prosinci 2015 (sestaveno 33 párů, získáno 36 mlád'at) a druhé v únoru 2016 (sestaveno 27 párů, získáno 17 mlád'at). Celkově bylo získáno 53 mlád'at, z nichž všemi testy prošlo 35 jedinců (21 samic, 14 samců).

Mlád'ata byla odstavena od matky po 21 dnech života a byla nadále držena soliterně v chovných boxech typu Velaz T3 o rozměrech 430 x 275 x 140 mm. Jako podestýlka byly používány dřevěné hobliny a trubka z tvrdého neprůhledného plastu sloužila jako úkryt. Boxy byly umístěny do chovné místnosti, kde byla udržována konstantní teplota 18–22°C a kde byl nastaven světelný režim 12–12 (L–D). Základní strava zvířat sestávala ze standardního granulovaného krmiva pro hlodavce MOK a ST1 a byla doplňována čerstvou trávou, senem, tvrdým chlebem a větvičkami s pupeny. Voda byla zajištěna pomocí napáječek. Potravu i vodu měla zvířata k dispozici *ad libitum*.

Všichni jedinci byli při odstavu individuálně označeni a před každým jednotlivým testem váženi. Zvířata byla testována od 3 měsíců, tedy až po dosažení pohlavní dospělosti, jež je předpokladem pro stabilitu chování (Müller & Schrader, 2005). Všechny testy byly prováděny mezi 12. a 16. hodinou. Hraboši byli po ukončení všech experimentů použiti pro udržování chovné kolonie Přírodovědecké fakulty.

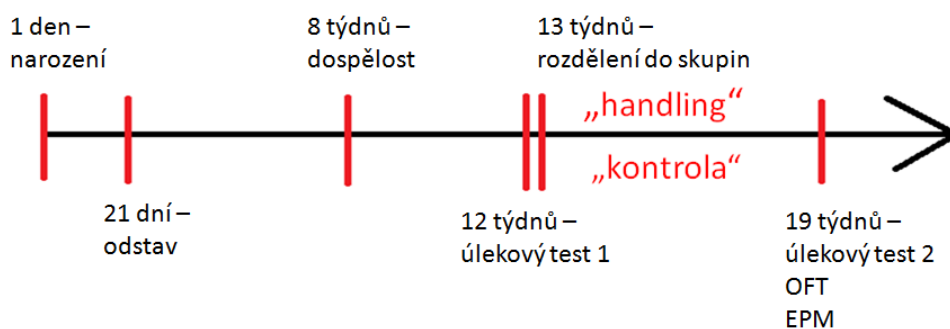
6.2 Experimentální design

Zvířata podstoupila první test ve věku 12 týdnů. Byl jím akustický úlekový test (více viz podkapitola Úlekový test (Startle test)), který byl zvolen, neboť při něm nedochází k přímému kontaktu mezi experimentátorem a zvířetem. Cílem prvního testu bylo otestovat chování jedince bez jakéhokoli vlivu experimentátora.

Po provedení úlekového testu byla zvířata rozdělena do dvou skupin (handlování a kontrolní), přičemž každá skupina čítala na počátku experimentu 19 jedinců. Při rozdělování byl brán zřetel na výsledky úlekového testu a na chování jedinců zjištěné fokálním snímkováním v průběhu několika dní před započítáním procedury (např. obě skupiny zahrnovaly rovnocenný počet jedinců s vysokou latencí zaznamenanou v úlekovém testu, resp. jedinců vykazujících stereotypní chování). V obou skupinách byl rovněž dodržen stejný poměr pohlaví (8 samců a 11 samic).

Po uplynutí šesti týdnů handlingové procedury podstoupil každý jedinec (z experimentální i kontrolní skupiny) postupně druhý úlekový test, Open Field test (OFT – viz podkapitola Open Field test) a test ve vyvýšeném labyrintu (EPM – viz podkapitola Vyvýšený labyrint (Elevated Plus Maze test)). Testy na jednom jedinci nebyly prováděny v rámci jednoho dne, nýbrž v rozestupu několika dní. Všechny pokusy prováděné, jak na kontrolní, tak handlované skupině zvířat (včetně samotné procedury handlingu) byly přitom prováděny vždy stejným experimentátorem. Časový plán celého průběhu pokusu znázorňuje Obr. 1.

Věk zvířat



Obr. 1: Znázornění časové posloupnosti celého experimentu vzhledem k věku zvířat

6.2.1 Handling

Jak již bylo několikrát zmíněno, hraboši byli handlováni až po dosažení dospělosti (konkrétně v rozmezí stáří 12–20 týdnů). Handling probíhal denně po 4 dny v týdnu po dobu 6 týdnů vždy mezi 14. a 16. hodinou. Během handlingu bylo zvíře vždy stejným

experimentátorem vyjmutu z chovného boxu a po určitý časový interval bylo volně drženo v dlani a hlazeno po hřbetě. Tento interval se po dobu trvání celé procedury postupně prodlužoval – viz Tab. 1.

Den handlingu	Trvání handlingu
1. den	30s
2. - 8. den	60 s
9. - 16. den	90 s
17. - 24. den	120 s

Tab. 1: Časový interval trvání handlingu v průběhu 6 týdnů procedury

Tento časový protokol byl zvolen z důvodu postupné habituace zvířat a omezení vzniku silné stresové reakce. V řadě studií (např. Costa et al., 2012; Costela et al., 1995; Schmitt & Hiemke, 1998) byl prováděn handling trvající 5 min. Tyto studie však byly prováděny na kmenech laboratorních potkanů, kteří jsou již po několik generací laboratorně odchováni, a dá se říci, že i částečně domestikováni. Manipulace s nimi byla tedy značně jednodušší ve srovnání s hraboši, kteří byli v laboratoři pouze narozeni jako potomci zcela divoké populace. V jiných studiích (Bohacek & Daniel, 2007; Pritchard et al., 2013; Vecsey et al., 2013) byli potkani handlováni pouze 2–3 min, v pracích autorů Genaro & Schmidek (2002), Gouveia & Hurst (2013) nebo Rebouças & Schmidek (1997) pak jen kolem jedné minuty. Zvolená maximální doba trvání handlingu 2 minuty se později v našem experimentu ukázala být jako ideální, neboť i zvířata po šesti týdnech habituovaná na denní handling po uplynutí dvou minut začínala být neklidná.

Z důvodu zachování stejných podmínek pro všechna zvířata a udržení stejného pachu experimentátora (a neovlivnění tak chování zvířat) během celého období handlingu používal experimentátor při proceduře stále stejný laboratorní plášť a vlněné rukavice, v nichž se zvířaty manipuloval. Fotografie z průběhu handlingu viz Obr. č. 4 (Přílohy).

Kontrolní skupina byla ponechána bez jakéhokoliv narušení a zásahů experimentátora. Výjimku představovalo pouze čištění boxu, které mělo rovnocenný průběh u všech zvířat a bylo prováděno pravidelně, avšak zřídka, za účelem co nejmenšího narušení kontrolní skupiny.

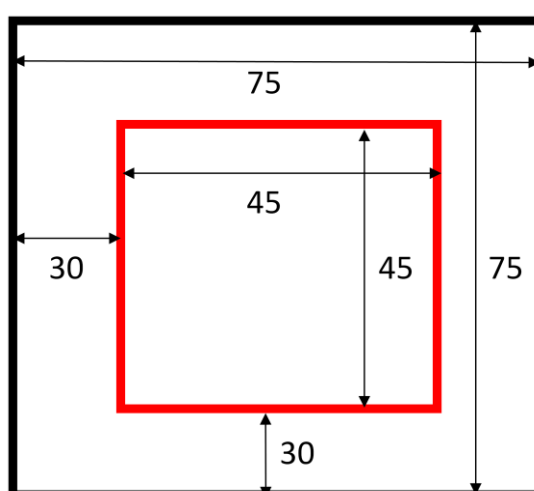
6.2.2 Úlekový test (Startle test)

Při akustickém úlekovém testu zůstávala zvířata umístěna ve svém chovném boxu. Přibližně 30 min před začátkem testu byla zvířeti z chovného boxu odebrána trubka, aby nemohla být v průběhu testu využita k úkrytu. Po habituaci jedince na změněné podmínky domácího prostředí (tzn., že zvíře projevovalo běžnou lokomotorickou aktivitu) bylo experimentátorem provedeno 1 s dlouhé, hlasité písknutí na ultrazvukovou píšťalku, a to ze vzdálenosti cca 30 cm od boxu. Byla přitom pozorována reakce jedince (tzv. freezing – strnutí na místě) a byla měřena latence návratu ke spontánnímu chování.

Úlekový test (stejně jako i další testy) probíhal v oddělené experimentální místnosti kvůli redukci vlivu ostatních faktorů a neovlivnění ostatních jedinců. Po skončení testu bylo zvíře odneseno zpět do chovné místnosti a do boxu mu byla vrácena jeho úkrytová trubka.

6.2.3 Open Field test

Open Field test (OFT) byl prováděn v oddělené experimentální místnosti v aparatuře o rozměrech 75 x 75 x 40 cm. Aparatura byla vyrobena z neprůhledného mléčného plexiskla, neobsahovala žádnou podestýlku ani jiné objekty, byla rovnoměrně nasvícena 18 W žárovkou a byla umístěna na zemi. Prostředí arény bylo pomyslně rozděleno na periferní a středovou zónu, přičemž střed byl představován vnitřním čtvercem o rozměrech 45 x 45 cm ve vzdálenosti 30 cm od okrajů aparatury (viz Obr. 2).



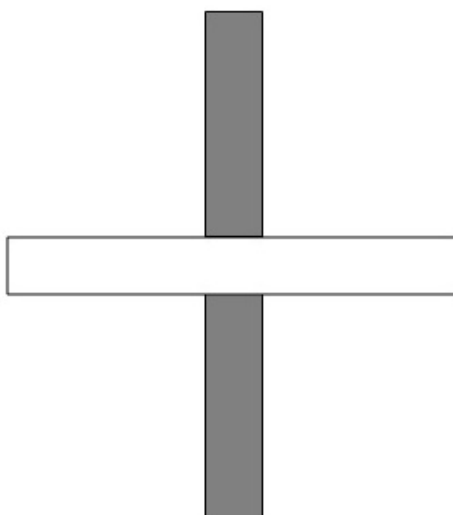
Obr. 2: Schéma rozdělení arény Open Field Testu – červeně je vyznačena hranice středové a periferní zóny, rozměry jsou udány v cm.

Zvířata byla do pokusné aparatury přenášena pomocí plastové trubky pocházející z jejich chovného boxu a byla opatrně umístěna vždy do stejného rohu aparatury. Zvířeti bylo následně umožněno volně prozkoumávat nové prostředí. Test trval 5 minut, po jejichž uplynutí bylo zvíře odchyceno do skleněné nádoby a vráceno zpět do svého chovného boxu. Průběh každého testu byl přitom zaznamenán kamerou.

Před započítáním každého testu byla aparatura vyčištěna a vytřena zředěným lihem, s cílem odstranit veškeré pachové značky, které by mohly ovlivnit chování dalšího jedince umístěného do aparatury.

6.2.4 Vyvýšený labyrint (Elevated Plus Maze test)

Pro test ve vyvýšeném labyrintu (EPM) byla zvolena aparatura ve tvaru kříže (viz Obr. 3) umístěná ve výšce 60 cm nad zemí a nasvícená 18 W žárovkou. Podlaha aparatury byla vyrobena z tmavého a stěny pak z mléčného plexiskla. Dvě protilehlá ramena byla na bocích a na konci lemována stěnami o výšce 40 cm, dvě příčná ramena byla naopak beze stěn, zcela otevřená. Šířka každého ramene činila 10 cm a délka byla 50 cm (tj. jedna linie kříže včetně středové části měřila 110 cm). Pro případ pádu či skoku z otevřených ramen byly pod labyrintem umístěny boxy s měkkou výplní, aby nedošlo ke zranění zvířat. Stejně jako u OFT byla aparatura EPM rovněž před každým jednotlivým testem čištěna zředěným lihem a byly z ní odstraňovány exkrementy.



Obr. 3: Schéma vyvýšeného křížového labyrintu – šedou barvou jsou znázorněna uzavřená ramena, bílou otevřená.

Zvířata byla do pokusu opět přenášena v trubce z chovného boxu a byla jemně umístována do středové části aparatury (tj. do místa styku všech čtyř ramen o rozměrech 10 x 10 cm) čelem k uzavřenému rameni. Následný test probíhal po dobu 5 min a jeho průběh byl zaznamenáván pomocí kamery.

V případě pádu/skoku zvířete z pokusné aparatury EPM bylo toto odchyceno a vráceno zpět do pokusu. Vyskočil-li však jedinec více než jednou, musel být pokus ukončen a byl zopakován následující den. U dvou jedinců nebyl z tohoto důvodu EPM vůbec hodnocen, neboť i při třetím sezení zvíře dvakrát (většinou po velmi krátkém intervalu) seskočilo z pokusné aparatury.

6.3 Získaná data a statistické zpracování

Videozáznamy z OFT i EPM byly analyzovány pomocí programu EthoVision 8.0 XT, jehož prostřednictvím je možné sledovat trajektorii zvířete v testovací aréně. Získaná data z testů (1. a 2. úlekového testu, OFT, EPM; Tab. 2) byla otestována na normalitu dat a zlogaritmována.

Název	Popis	Jednotky
ST1	latence návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu v 1. úlekovém testu	s
ST2	latence návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu v 2. úlekovém testu	s
OFTper	délka trajektorie ušlé v periferní zóně arény OFT	m
OFTstred	délka trajektorie ušlé ve středové zóně arény OFT	m
EPMopen	délka trajektorie ušlé v otevřených ramenech arény EPM	m
EPMclosed	délka trajektorie ušlé v uzavřených ramenech EPM	m

Tab. 2: Data získaná z úlekového testu, OFT a EPM

Dále byla data analyzována pomocí zobecněného lineárního modelu (GLM – general linear model, binomická data). Tímto modelem se testoval vliv handlingu na behaviorální projev zvířete. Do modelu vstupoval handling jako *vysvětlovaná proměnná*. Pomocí metody postupného výběru (forward selection) byly otestovány *vysvětlující proměnné* (zmena hmotnosti, $\text{Log}(\text{ST1}/\text{ST2})$, $\text{OFT}_{\text{ubehnuto}}$, $\text{OFT}_{\text{central}}$, $\text{EPM}_{\text{ubehnuto}}$, EPM_{open} ; *kategoriální proměnné*: sex, family; Tab. 3.)

Název	Popis	Vzorec
$\text{Log}(\text{ST1}/\text{ST2})$	podíl latence návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu v 1. úlekovém testu vůči latenci návratu k normálnímu behaviorálnímu projevu v 2. úlekovém testu	$\log(\text{ST1}/\text{ST2})$
$\text{OFT}_{\text{ubehnuto}}$	celková vzdálenost ušlá v OFT – jak na periferii, tak ve středu arény	$\log(\text{OFT}_{\text{per}} + \text{OFT}_{\text{stred}})$
$\text{OFT}_{\text{central}}$	podíl vzdálenosti ušlé ve středu arény OFT z celku	$\text{OFT}_{\text{stred}} / \log(\text{OFT}_{\text{per}} + \text{OFT}_{\text{stred}})$
$\text{EPM}_{\text{ubehnuto}}$	celková vzdálenost ušlá v EPM – jak v otevřených, tak v uzavřených ramenech	$\log(\text{EPM}_{\text{open}} + \text{EPM}_{\text{closed}})$
EPM_{open}	podíl vzdálenosti ušlé v otevřených ramenech EPM z celku	$\text{EPM}_{\text{open}} / \log(\text{EPM}_{\text{open}} + \text{EPM}_{\text{closed}})$
zmena hmotnosti	poměr hmotnosti jedince na konci pokusu (tj. po handlingu) oproti hmotnosti před pokusem (tj. před handlingem)	$\log(\text{hmotnost2} / \text{hmotnost1})$

Tab. 3: Vysvětlující proměnné použité v GLM

6.3.1 Vliv handlingu na behaviorální projev v úlekovém testu

K odhalení vztahu mezi handlingem a změnou chování dospělých hrabošů v úlekovém testu byl použit zobecněný lineární model (GLM). Změnu chování v úlekovém testu přitom představoval podíl latence návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu v 1. úlekovém testu vůči latenci návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu v 2. úlekovém testu: $\log(ST1/ST2)$. Jako vysvětlovaná proměnná byl použit handling. Vysvětlující proměnnou představovala změna latence návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu v prvním úlekovém testu oproti druhému úlekovému testu.

6.3.2 Vliv handlingu na projev jedince v behaviorálních testech. Vliv pohlaví a rodiny na handling

Ke zjištění, zda handling ovlivňuje projevy dospělých zvířat ve standardních behaviorálních testech používaných v laboratořích (OFT, EPM, úlekový test), byl sestaven zobecněný lineární model (GLM) s postupným výběrem (forward selection), a jako *vysvětlující* proměnné byly použity lokomoční aktivita a míra odvahy projevované v OFT, lokomoční aktivita a míra úzkosti projevované v EPM, změna latence návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu v úlekovém testu, změna hmotnosti, pohlaví a rodina (Tab. 3). Na základě AIC kritéria byl vybrán nejlepší model a srovnán s nulovým modelem.

Všechna statistická zpracování byla provedena v programu R 3.0.2. a Canoco 5.

7 VÝSLEDKY

Na každém ze sledovaných zvířat byly provedeny celkem čtyři testy – dva úlekové testy, OFT a EPM – přičemž jeden úlekový test byl proveden před handlovací procedurou a zbylé tři testy (2. úlekový test, OFT, EPM) po ní. Celkem bylo otestováno 37 jedinců (celkem ze 14 rodin), avšak data ze všech čtyř testů mohla být hodnocena pouze pro 35 jedinců. Z tohoto vzorku 19 jedinců prošlo handlovací procedurou a 16 jedinců bylo kontrolních. Poměr pohlaví činil z důvodu vyššího počtu narozených samic 3:2 (21 samic, 14 samců).

7.1 Vliv handlingu na behaviorální projev jedince v úlekovém testu

Pomocí zobecněného lineárního modelu (GLM) byl hodnocen vliv handlingu na změnu chování v úlekovém testu. Vysvětlující proměnnou byl zlogaritmovaný podíl latence návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu v úlekovém testu prováděném před handlingem vůči latenci návratu v úlekovém testu prováděném po 6 týdnech handlingu, přičemž handling sloužil jako vysvětlovaná proměnná. Vliv handlingu na změnu latence návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu ve 2. úlekovém testu oproti 1. úlekovému testu nebyl průkazný ($F = 0,248$; $p = 0,618$). Nulovou hypotézu (H_{0a}) nelze na 5% hladině významnosti zamítnout. Handling neovlivňuje behaviorální projev dospělých hrabošů v úlekovém testu.

7.2 Vliv handlingu na projev jedince v behaviorálních testech. Vliv pohlaví a rodiny na handling

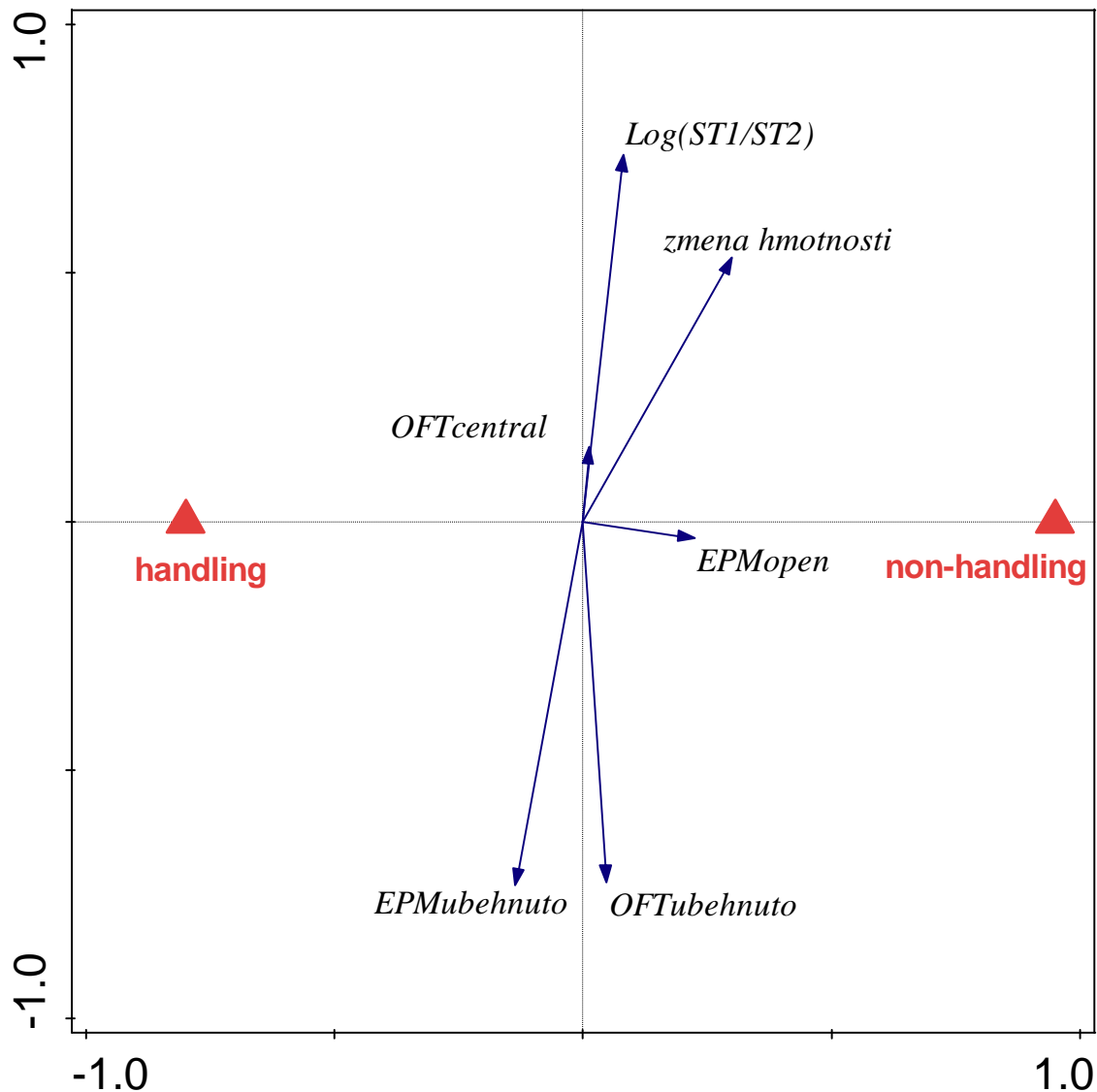
Pro zjištění vlivu handlingu na parametry dosažené v testech byl použit zobecněný lineární model (GLM), kde jako *vysvětlovaná* proměnná vystupuje handling a jako *vysvětlující proměnné*: změna hmotnosti, $\text{Log}(ST1/ST2)$, OFTubehnuto, OFTcentral, EPMubehnuto, EPMopen; *kategoriální proměnné*: pohlaví, rodina. Na základě kritéria AIC byl zvolen nejlepší model a porovnán s nulovým. Nejlepšího AIC kritéria dosáhla proměnná rodina, ale ani tento prvek nakonec neměl průkazný vliv na vysvětlující proměnnou – handling (Tab. 4).

Název proměnné	AIC	F	p
Log (ST1/ST2)	48,014	0,2486	0,618
OFTubehnuto	48,184	0,0787	0,779
OFTcentral	48,252	0,011	0,916
EPMubehnuto	47,626	0,637	0,425
EPMopen	46,575	1,688	0,193
pohlaví (sex)	48,186	0,077	0,782
zmena hmotnosti	45,131	3,131	0,078
rodina (family)	34,143	1,086	0,365

Tab. 4: Hodnoty AIC, F a p pro vysvětlující proměnné získané pomocí GLM

Výsledky prokázaly, že handling nemá vliv na pozorované proměnné, tudíž ani jednu z hypotéz (H_{0b} , H_{0c} , H_{0d} , H_{0e} , H_{0f} , H_{0g} , H_{0h}) nelze na 5% hladině významnosti zamítnout.

Vzhledem k neprůkazným výsledkům, které byly získány ze zobecněného lineárního modelu, bylo přistoupeno ještě k provedení redundanční analýzy (Redundant analysis – RDA) pro získání celkového pohledu na vztahy mezi proměnnými vůči proměnné handling (Graf 1).



Graf 1: Graf RDA znázorňující vztahy mezi proměnnými. První ordinační osa vysvětluje 2,8 % variability, druhá ordinační osa vysvětluje 31,9 % variability. Vysvětlivky: handling/non handling – jedinci handlovaní/kontrolní, $\text{Log}(ST1/ST2)$ – změna latence návratu k přerušnému behaviorálnímu projevu v úlekovém testu, OFTubehnuto – celková vzdálenost uražená v OFT, OFTcentral – podíl vzdálenosti uražené ve středu arény OFT oproti celku, EPMubehnuto – celková vzdálenost uražená v EPM, EPMopen – podíl vzdálenosti uražené v otevřených ramenech EPM oproti celku, zmena hmotnosti – poměr hmotnosti jedince na konci pokusu oproti hmotnosti před pokusem.

8 DISKUZE

Poznání vlivu zacházení se zvířetem na jeho osobnostní rysy se v poslední době zdá být zcela esenciální. Je intenzivně zkoumáno, zda je možné pomocí handlingu a dalších manipulací ovlivnit chování experimentálních zvířat, a to jak ve fázi rané ontogeneze, tak v dospělosti. Při studiu osobnosti zvířat je často namítáno (Biro & Dingemans, 2009; McMahon et al., 2012; Poole, 1997), že výsledky mohou být zkresleny manipulací s daným jedincem např. při vkládání do behaviorálního testu, či že by bylo dosaženo lepších výsledků, pokud by byla zvířata habituována na manipulaci daným experimentátorem. Práce se však soustřeďují téměř výhradně na laboratorní potkany, případně myši.

Pro zjištění vlivu handlingu na chování dospělých zvířat byl v této práci aplikován design porovnání chování dvou skupin hrabošů polních, z nichž jedna podstoupila denní handling po dobu 6 týdnů, zatímco druhá byla ponechána bez zásahu. Porovnání pak bylo provedeno prostřednictvím 3 typů behaviorálních testů. Aby mohla být sledována změna chování, byla zvířata podrobena jednomu testu (úlekový test) jak před procedurou handlingu, tak po ní, zatímco další dva testy (OFT a EPM) zvířata podstoupila pouze na konci pokusu.

8.1 Vliv handlingu na behaviorální projev jedince v úlekovém testu, OFT a EPM

V této práci nebyl vliv handlingu na behaviorální projev dospělých hrabošů prokázán, a to ani v jednom ze tří prováděných testů. Handling v předkládané práci neovlivňoval chování jedinců v úlekovém testu, jejich lokomoční aktivitu, ať už v OFT, či v EPM, ani míru odvahy projevovanou v OFT, ani míru úzkosti projevovanou v EPM. Tento výsledek se lišil od ostatních studií (např. Costa et al., 2012; Pritchard et al., 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998), v nichž handling signifikantně pozitivně ovlivňoval explorační chování, míru odvahy, úzkosti, ba i kognitivní schopnosti, učení a paměť. Ve zmíněných studiích se zvířata, jež byla podrobena dennímu handlingu v podobě taktilní stimulace, projevovala oproti zvířatům kontrolním jako výrazně odvážnější, méně úzkostná a více explorovala prostředí testovací arény.

Co se týká ostatních parametrů, nebyl v uvedených pracích, jakožto i v této práci, výsledek handlingu závislý na pohlaví či příslušnosti jedince k určité rodině. Použití parametru rodiny přitom vycházelo z možnosti, že příslušníci některých rodin by z hlediska

genetického mohly být na handling senzitivnější či naopak méně vnímaví, jako je tomu například v případě různých kmenů potkanů (Gouveia & Hurst, 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998). Ani tento vliv však nebyl prokázán. A v neposlední řadě handling neovlivňoval ani změnu hmotnosti zvířat v průběhu trvání celého experimentu. Handlování jedinci tedy oproti kontrolním výrazně nepřibírali, ani u nich nedocházelo k výraznému snížení hmotnosti.

Příčinou rozdílných výsledků vlivu handlingu na osobnostní rysy zvířat může být samotné použití odlišných biologických druhů. Zatímco ve výše zmíněných studiích byli použiti laboratorní potkani, v této práci byl experimentálním subjektem hraboš polní. Chování hlodavců sice lze do jisté míry obecně charakterizovat, nicméně každý druh má svá vlastní behaviorální specifika, a reakce rozdílných druhů na podobné podněty se tudíž může lišit (Gosling & John, 1999; Gosling, 2001; Steimer, 2011). Navíc, laboratorní potkani jsou již po mnoho generací chováni výhradně v laboratorním prostředí a dalo by se říci, že jsou částečně domestikováni. Tato práce naopak pracovala s potomky zcela divokých zvířat. Skutečnost, že zvířata dlouhodobě držená v chovných boxech mají omezené množství pohybu a nízký počet stimulů oproti podmínkám v přírodě, může vést ke zvýšení vnímavosti jedinců (McMahon et al., 2012; Poole, 1997). Tato senzitivizace může být v následujících generacích pozitivně selektována, v důsledku čehož může být mladší generace značně vnímavější na veškeré stimuly, kupříkladu v podobě handlingu. Možným důvodem pro nalezení rozdílného vlivu handlingu by tedy rovněž mohlo být i pořadové číslo generace, z níž experimentální skupina zvířat pochází.

Nesoulad výsledků může pramenit rovněž z věku experimentálních zvířat. Většina studií zabývajících se handlingem pracuje s jedinci v juvenilní fázi života, jež je pro vývoj osobnostních rysů klíčová (Groothuis & Trillmich, 2011; Müller & Schrader, 2005; Stamps & Groothuis, 2010). Účinek handlingu byl nicméně prokázán i v případě jeho aplikace na dospělé potkany (Costa et al., 2012; Pritchard et al., 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998). V této práci byli handlingu podrobováni výhradně dospělí jedinci hraboše polního. Zatímco juvenilní jedinci vykazují poměrně vysokou senzitivitu a schopnost adaptace chování na změny prostředí, osobnost dospělých hrabošů se oproti tomu z hlediska vlivu nejrůznějších faktorů zdá být značně limitována (Gracceva et al., 2014). Je tudíž možné, že osobnost dospělých hrabošů má v tomto směru značně omezenou plasticitu, a nelze ji tímto způsobem modifikovat.

Dále by mohlo být namítnuto, že použitý čas handlingu v trvání dvou minut byl příliš krátký na výrazné ovlivnění osobnostních rysů. Tento časový protokol byl však zvolen na základě ostatních prací (např. Bohacek & Daniel, 2007; Costa et al., 2012; Costela et al., 1995; Genaro & Schmidek, 2002; Gouveia & Hurst, 2013; Pritchard et al., 2013; Rebouças & Schmidek, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998), v nichž byl vliv handlingu na chování hlodavců signifikantně prokázán. Vzhledem k délce života hraboše je minutový až dvouminutový handling po dobu 6 týdnů relativně dlouhá doba. Navíc se zvířata na handling prokazatelně habituovala. V průběhu 6 týdnů handlingu nejen, že vymizel počáteční neklid handlovaných jedinců v průběhu samotné procedury, ale také rostla ochota jejich spolupráce s experimentátorem. O stejné změně v chování handlovaných jedinců a postupném vymizení averze vůči experimentátorovi referovali např. i Gouveia & Hurst (2013) nebo Hurst & West (2010). Tezi, že handling pro zvířata nepředstavoval výrazný stresor, podporují i výsledky týkající se změny hmotnosti jedinců v průběhu procedury – nebyl u nich zaznamenán signifikantní pokles hmotnosti. Zvířata dlouhodobě stresovaná přitom na hmotnosti obvykle ztrácejí (Brown et al., 2007; Careau et al., 2008; Poole, 1997).

Ačkoli tedy vliv handlingu na chování v použitých behaviorálních testech nebyl statisticky prokázán, k určité změně chování u handlovaných jedinců došlo. Jedinci vykazující zpočátku stereotypní chování se na handling postupně habituovali a při manipulaci, jak v průběhu procedury, tak při přenášení do testovacích aparatur, byli klidnější v porovnání s podobně stereotypními jedinci z kontrolní skupiny. Toto zjištění mimo jiné koresponduje s tvrzením Pritcharda et al. (2013), že handlovaná zvířata mívají menší sklon k vývoji stereotypního chování než zvířata, jež jsou handlingem nedotčená. Uklidnění jedinců v průběhu handlingové procedury však nemělo žádný vliv na chování v samotných behaviorálních testech, kde se zvířata projevovala opět v celé přirozenosti. Prostředí behaviorálních testů se tedy zdá být natolik specifické, že zvířata i přes habituaci na laboratorní podmínky a veškerou manipulaci s nimi stále adekvátně odpovídají na dané testy.

Jak píše Poole (1997): „Pouze šťastná zvířata vytváří dobrou vědu," ("Only happy animals make good science."). Jinými slovy, k zajištění dobrých vědeckých výsledků je potřeba, aby pokusná zvířata měla normální fyziologii a chování a nebyla prostředím zbytečně stresována, s výjimkou specifických účinků testů. Nespokojená, stresovaná zvířata často projevují fyziologické a imunologické abnormality a experimenty na nich prováděné poté mohou přinášet nespolehlivé výsledky (Joshi & Pillay, 2016; McMahan et al., 2012;

Poole, 1997; Pritchard et al., 2013). Je tedy výhodné laboratorní zvířata na experimentátora a veškerou manipulaci habituovat. Nejen že habituovaná zvířata se jeví jako klidnější, ale i manipulace s nimi, potřebná například k přemístění jedinců mezi chovným boxem a testovací aparaturou, je poté značně usnadněna. Metoda postupného navykání na experimentální procedury je mimochodem již dlouhou dobu používána v medicínských a farmakologických studiích. Experimentální zvířata jsou pro lepší manipulaci a snížení stresové odpovědi v těchto pracích habituována například na vstříknutí injekcí, zavedení sond či odebírání stěrů (Bohacek & Daniel, 2007; Gouveia & Hurst, 2013; Poole, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998). Welfare zvířat je také zásadní otázkou z hlediska etiky. Dobrý fyziologický stav laboratorních zvířat by proto měl být jedním z důležitých zájmů vědců a laborantů hned ze dvou důvodů.

Jak naznačují výsledky této práce, je možné u divokých zvířat stresovou reakci vyvolávanou laboratorním prostředím a osobou experimentátora snížit prostřednictvím handlingu v podobě denní taktilní stimulace, a to bez následků ovlivnění výsledků samotného experimentu. Zdá se, že u hrabošů handling působí na jiné dimenze osobnosti, než které jsou zkoumány běžnými behaviorálními testy. Kukulová et al. (2013), jež se zabývali vlivem handlingu na aktivitu volně žijícího plcha velkého (*Glis glis*), dospěli k podobnému závěru. Totiž, že disturbance v podobě handlingu může modifikovat určité aspekty chování zvířat, aniž by však narušovala aspekty jiné nebo samotnou účinnost rutinních testovacích protokolů. Ve zmíněné práci handling u plchů ovlivňoval dobu strávenou v jednom hnízdě, zatímco na další aspekty chování jako např. na noční aktivitu neměl vliv žádný. Jedinci přitom byli zpětně odchyťováni a nezdálo se, že by handling pro ně představoval výrazný stresující zážitek (Kukulová et al., 2013). Jak vidno, i zvířata zcela divoká se dokážou na handling habituovat, aniž by u nich došlo k významné změně chování. Handling se tedy zdá být relativně efektivní metodou ke „zkrocení“ a uklidnění zvířat, jež následně umožňuje snadnější a rychlejší manipulaci s nimi. Malý či nulový efekt na fyziologii a chování zvířat je přitom klíčový nejen z hlediska splnění požadavků welfare, ale i přijatelnosti vědeckých výzkumů například pro zastánce práv zvířat.

8.2 Další zjištěné tendence

Výsledky této práce naznačují souvislost dvou nejpoužívanějších behaviorálních testů – OFT a EPM – a to konkrétně v parametru lokomoční aktivity. Jedinci vykazující vyšší lokomoční aktivitu v OFT (hodnota OFTubehnutu), měli tendenci urazit delší

vzdálenost i v EPM (hodnota EPMubehnuto) a naopak (viz Graf 1). Tedy jedinci projevující vysokou aktivitu v jednom testu, se zpravidla jeví jako aktivní i ve druhém testu. Ačkoliv jsou tyto dva testy prováděny simultánně v mnoha studiích (např. Greenberg et al., 2012; Chapillon et al., 2002; Pritchard et al., 2013; Schmitt & Hiemke, 1998), jen zřídka jsou jejich výsledky porovnávány. Korelace celkové lokomoce projevené v EPM a OFT naznačená v této práci však byla zaznamenána např. ve studiích Carola et al. (2002), Kalueff et al. (2007), Kazlauckas et al. (2005) a Lalonde & Strazielle (2008).

Z hlediska ostatních parametrů se naopak OFT a EPM jeví jako testy vzájemně nezávislé. Z grafu RDA (Graf 1) je patrné, že aktivita jedince ve středové zóně OFT (hodnota OFTcentral) a v otevřených ramenech EPM (hodnota EPMopen) spolu nesouvisí. Obdobných výsledků bylo přitom dosaženo například v Carola et al. (2002), Eliáš (2015), Lalonde & Strazielle (2008) nebo Sudakov et al. (2013). Ačkoliv výše zmíněné výsledky ohledně vzájemné (ne)provázanosti OFT a EPM mohou na první pohled vypadat zdánlivě nesourodě, indikují selektivní asociaci mezi těmito testy pouze pro parametry měřící explorační chování a nikoliv pro jiné, s explorační nesouvisející hodnoty (Lalonde & Strazielle, 2008). Jinými slovy, OFT a EPM v tomto druhém případě měří jiné dimenze osobnosti. OFT měří odvalu jedince (jeho polohu na shy-bold kontinuu), a to prostřednictvím množství aktivity strávené ve středové zóně arény. Vstup do středové zóny arény totiž pro hlodavce znamená potlačení přirozeného strachu z otevřených, osvětlených prostor (Arakawa, 2005; Archer, 1973; Roy & Chapillon, 2004). EPM naproti tomu zachycuje spíše míru úzkosti (anxiety) a emocionality jedince, a to skrze množství aktivity strávené v otevřených ramenech, které pro hlodavce pro jejich averzi k výškám představují značně anxiózní prostředí (Carola et al., 2002; de Paula et al., 2005; Pellow et al., 1985; Sudakov et al., 2013; Varty et al., 2002; Walf & Frye, 2007).

Z výše uvedeného mimo jiné vyplývá, že různé parametry ve stejném behaviorálním testu mohou zachycovat rozdílné osobnostní rysy a naopak různé testy mohou měřit stejný osobnostní rys. Jakkoli se tedy OFT a EPM překrývají v měření celkové lokomoční aktivity zvířete, v jiných parametrech jsou stále dvěma na sobě nezávislými behaviorálními testy, jež se navzájem doplňují.

Další tendencí, kterou tato práce odhalila, je vzájemná souvislost výsledků aktivity strávené ve středové zóně OFT (OFTcentral) a latence zaznamenané v úlekových testech (ST1, ST2). Naopak EPM (v podobě EPMopen) a úlekový test se zdály přinášet výsledky

nezávislé. V literatuře (např. Conrad et al., 2011; Daldrup et al., 2015; Miller et al., 2006) bývá úlekový test uváděn jako behaviorální test měřící jednak míru úzkosti a emocionální stability jedince, jednak jeho polohu v rámci shy-bold kontinua. Z výše zmíněných výsledků RDA však lze vyvodit, že v této práci úlekový test zaznamenával především odvahu, spíše než úzkost a emocionalitu jedince. Podstatou použitého úlekového testu bylo vylekání jedince negativním akustickým stimulem simulujícím blízkost predátora. Riziko útoku predátora je přitom vyšší v otevřeném prostoru. Strach ze vstupu do otevřené středové zóny OFT by tak mohl ve své podstatě pramenit ze strachu z útoku predátora, kdežto strach ze vstupu do otevřených ramen EPM je motivován spíše strachem z pádu z výšky. Z toho důvodu možná úlekový test a OFT v předkládané studii měřily stejnou dimenzi osobnosti – odvahu, zatímco EPM měřil jiný osobnostní rys – sklon k úzkosti.

Dále bylo zjištěno, že změna chování v úlekovém testu (hodnota $\text{Log}(\text{ST1}/\text{ST2})$) pravděpodobně souvisí se změnou hmotnosti jedince (hodnota změna hmotnosti) – viz Graf 1. Jedinci, u nichž byl v průběhu více než 6 týdnů trvání experimentu zaznamenán největší přírůstek hmotnosti, se ve druhém úlekovém testu jeví odvážnější než v prvním úlekovém testu (poměr latence z prvního úlekového testu oproti druhému úlekovému testu byl větší), a to nezávisle na tom, zda se jednalo o jedince handlované či kontrolní. S rostoucí hmotností tedy měla tendenci zvyšovat se i odvážnost jedinců. Tento výsledek je v souladu s výsledky studií např. Brown et al. (2007), Urbánková (2012) nebo Wirth-Dzięciolowska et al. (2005), v nichž byla nalezena souvislost chování a velikosti zvířat. Větší a těžší zvířata se zpravidla projevují jako odvážnější, emocionálně stabilnější, aktivnější a agresivnější (Archer, 1973; Brown et al., 2007; Urbánková, 2012; Wirth-Dzięciolowska et al., 2005). Jelikož je celkový (bazální) metabolismus přímo úměrný velikosti zvířete (Careau et al., 2008), projevují větší a těžší jedinci rovněž nutnost příjmu většího množství potravy. S tím v důsledku může souviset i ochota více riskovat, například při vyhledávání potravy (Kurvers et al. 2012).

9 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývala vlivem handlingu v podobě denní taktilní stimulace na osobnostní rysy hraboše polního (*Microtus arvalis*). Ke zhodnocení tohoto vlivu byly využity výsledky ze tří typů behaviorálních testů – akustického úlekového testu, Open Field testu a vyvýšeného labyrintu.

V této práci vliv handlingu na behaviorální projev dospělých hrabošů nebyl prokázán. Handling nijak neovlivňoval odvahu, úzkost ani lokomoční aktivitu jedinců projevovanou v použitých testech, a to bez ohledu na jejich pohlaví či příslušnost k rodině. Handlovaná zvířata však projevovala habituaci na samotnou proceduru handlingu a experimentátora. Handling tedy pravděpodobně působí změny v rámci jiných osobnostních rysů než v těch, jež se odrážejí v běžně používaných behaviorálních testech.

Dále byla nalezena souvislost mezi výsledky OFT a EPM v rámci měření lokomoční aktivity. Jedinec vykazující vysokou aktivitu v jednom testu byl s vysokou pravděpodobností výrazně aktivní i ve druhém testu. Z hlediska ostatních parametrů se však tyto behaviorální testy zdají nezávislé. Nejspíše měří jiné osobnostní rysy zvířat, vzájemně se doplňují a je tedy vhodné pro stanovování osobnostních rysů tyto testy kombinovat.

Z dalšího bylo zjištěno, že změna chování v úlekovém testu pravděpodobně souvisí se změnou hmotnosti jedince. Zvířata s vyšším přírůstkem hmotnosti se jevila odvážnější než zvířata, u nichž došlo k nízkému přírůstku či poklesu hmotnosti.

Bylo by vhodné provést další testování vlivu handlingu, které by zahrnovalo větší vzorek zvířat (kupříkladu i s různou věkovou strukturou) a případně prokázalo tendence nastíněné touto prací. To by mohlo přispět k důkladnějšímu prověření vlivu manipulací s experimentálními zvířaty, který je v současné době aktuálním tématem.

10 POUŽITÁ LITERATURA

- Anděra, M., & Gaisler, J. (2012). *Savci České republiky: popis, rozšíření, ekologie, ochrana*. Praha: Academia. ISBN 978-8-0200-2185-4.
- Anděra, M., Horáček, I., Hosek, J., & Rozánková, J. (2005). *Poznáváme naše savce*. Praha: Sobotáles. ISBN 978-8-0868-1708-8.
- Arakawa, H. (2005). Age dependent effects of space limitation and social tension on open-field behavior in male rats. *Physiology & Behavior*, 84(3), 429–436.
- Archer, J. (1973). Tests for emotionality in rats and mice: A review. *Animal Behaviour*, 21(2), 205–235.
- Aulagnier, S. (2009). *Mammals of Europe, North Africa and the Middle East*. London: A. & C. Black. ISBN 978-1-4081-1399-8.
- Benus, R. F., Bohus, B., Koolhaas, J. M., & Van Oortmerssen, G. A. (1991). Heritable variation for aggression as a reflection of individual coping strategies. *Experientia*, 47(10), 1008–1019.
- Biro, P. A., & Dingemanse, N. J. (2009). Sampling bias resulting from animal personality. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(2), 66–67.
- Blanchard, R. J., Flannelly, K. J., & Blanchard, D. C. (1986). Defensive behavior of laboratory and wild *Rattus norvegicus*. *Journal of Comparative Psychology (Washington, D.C.: 1983)*, 100(2), 101–107.
- Bohacek, J., & Daniel, J. M. (2007). Increased daily handling of ovariectomized rats enhances performance on a radial-maze task and obscures effects of estradiol replacement. *Hormones and Behavior*, 52(2), 237–243.
- Borkowska, A., & Ratkiewicz, M. (2010). Promiscuity, male reproductive success and mate relatedness in a natural population of the common vole. *Journal of Zoology*, 280(2), 195–201.
- Bouchard, T. J., & Loehlin, J. C. (2001). Genes, evolution, and personality. *Behavior Genetics*, 31(3), 243–273.
- Boyce, C. C. K., & Boyce, J. L. (1988a). Population Biology of *Microtus arvalis*. II. Natal and Breeding Dispersal of Females. *The Journal of Animal Ecology*, 57(3), 723.

- Boyce, C. C. K., & Boyce, J. L. (1988b). Population Biology of *Microtus arvalis*. I. Lifetime Reproductive Success of Solitary and Grouped Breeding Females. *The Journal of Animal Ecology*, 57(3), 711.
- Boyce, C. C. K., & Boyce, J. L. (1988c). Population Biology of *Microtus arvalis*. III. Regulation of Numbers and Breeding Dispersion of Females. *The Journal of Animal Ecology*, 57(3), 737.
- Brown, C., Jones, F., & Braithwaite, V. A. (2007). Correlation between boldness and body mass in natural populations of the poeciliid *Brachyrhaphis episcopi*. *Journal of Fish Biology*, 71(6), 1590–1601.
- Capitanio, J. P. (1999). Personality dimensions in adult male rhesus macaques: prediction of behaviors across time and situation. *American Journal of Primatology*, 47(4), 299–320.
- Careau, V., Thomas, D., Humphries, M. M., & Réale, D. (2008). Energy metabolism and animal personality. *Oikos*, 117(5), 641–653.
- Carere, C., & Eens, M. (2005). Unravelling Animal Personalities: How and Why Individuals Consistently Differ. *Behaviour*, 142(9/10), 1149–1157.
- Carere, C., & Locurto, C. (2011). Interaction between animal personality and animal cognition. *Current Zoology*, 57(4), 491–498.
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2), 49–57.
- Cirulli, F., Berry, A., Bonsignore, L. T., Capone, F., D'Andrea, I., Aloe, L., ... Alleva, E. (2010). Early life influences on emotional reactivity: Evidence that social enrichment has greater effects than handling on anxiety-like behaviors, neuroendocrine responses to stress and central BDNF levels. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34(6), 808–820.
- Conrad, J. L., Weinersmith, K. L., Brodin, T., Saltz, J. B., & Sih, A. (2011). Behavioural syndromes in fishes: a review with implications for ecology and fisheries management. *Journal of Fish Biology*, 78(2), 395–435.

- Coppens, C. M., De Boer, S. F., & Koolhaas, J. M. (2010). Coping styles and behavioural flexibility: towards underlying mechanisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1560), 4021–4028.
- Costa, R., Tamascia, M. L., Nogueira, M. D., Casarini, D. E., & Marcondes, F. K. (2012). Handling of adolescent rats improves learning and memory and decreases anxiety. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 51(5), 548–553.
- Costela, C., Tejedor-Real, P., Mico, J. A., & Gibert-Rahola, J. (1995). Effect of neonatal handling on learned helplessness model of depression. *Physiology & behavior*, 57(2), 407–410.
- Cryan, J. F., & Holmes, A. (2005). Model organisms: The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(9), 775–790.
- Daldrup, T., Remmes, J., Lesting, J., Gaburro, S., Fendt, M., Meuth, P., ... Seidenbecher, T. (2015). Expression of freezing and fear-potentiated startle during sustained fear in mice: Phasic and sustained fear in mice. *Genes, Brain and Behavior*, 14(3), 281–291.
- De Paula, H. M. G., Gouveia, A., De Almeida, M. V., & Hoshino, K. (2005). Anxiety levels and wild running susceptibility in rats: assessment with elevated plus maze test and predator odor exposure. *Behavioural Processes*, 68(2), 135–144.
- Deter, J., Chaval, Y., Galan, M., Gauffre, B., Morand, S., Henttonen, H., ... Cosson, J.-F. (2008). Kinship, dispersal and hantavirus transmission in bank and common voles. *Archives of Virology*, 153(3), 435–444.
- Dingemans, N. J., Kazem, A. J. N., Réale, D., & Wright, J. (2010). Behavioural reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(2), 81–89.
- Dobly, A. (2008). Breeding suppression between two unrelated and initially unfamiliar females occurs with or without social tolerance in common voles (*Microtus arvalis*). *Journal of Ethology*, 27(3), 299–306.
- Drent, P. J., Oers, K. v., & Noordwijk, A. J. v. (2003). Realized heritability of personalities in the great tit (*Parus major*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1510), 45–51.

- Eccard, J. A., & Herde, A. (2013). Seasonal variation in the behaviour of a short-lived rodent. *BMC ecology*, *13*(1), 1.
- Eliáš, Z. (2015). *Osobnostní rysy hraboše polního (Microtus arvalis): Chování ve vyvýšeném labyrintu*. České Budějovice: Bakalářská práce, ZF Jihočeské univerzity.
- Farrell, T., Kriengwatana, B., & MacDougall-Shackleton, S. A. (2015). Developmental Stress and Correlated Cognitive Traits in Songbirds. *Comparative Cognition & Behavior Reviews*, *10*, 1–23.
- Feaver, J., Mendl, M., & Bateson, P. (1986). A method for rating the individual distinctiveness of domestic cats. *Animal Behaviour*, *34*(4), 1016–1025.
- Fernández-Teruel, A., Giménez-Llort, L., Escorihuela, R. M., Gil, L., Aguilar, R., Steimer, T., & Tobeña, A. (2002). Early-life handling stimulation and environmental enrichment: are some of their effects mediated by similar neural mechanisms? *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, *73*(1), 233–245.
- Ferrari, C., Pasquareta, C., Carere, C., Cavallone, E., Von Hardenberg, A., & Réale, D. (2013). Testing for the presence of coping styles in a wild mammal. *Animal Behaviour*, *85*(6), 1385–1396.
- File, S. E. (2001). Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. *Behavioural Brain Research*, *125*(1-2), 151–157.
- Fouqueray, T. (2013, December). Maternal effects modulate offspring development and population dynamics in the wild. *BioSciences Master Reviews*.
- Gaese, B. H., Nowotny, M., & Pilz, P. K. D. (2009). Acoustic startle and prepulse inhibition in the Mongolian gerbil. *Physiology & Behavior*, *98*(4), 460–466.
- Garoflos, E., Stamatakis, A., Rafrogianni, A., Pondiki, S., & Stylianopoulou, F. (2008). Neonatal handling on the first postnatal day leads to increased maternal behavior and fos levels in the brain of the newborn rat. *Developmental Psychobiology*, *50*(7), 704–713.
- Genaro, G., & Schmidek, W. R. (2002). The influence of handling and isolation postweaning on open field, exploratory and maternal behavior of female rats. *Physiology & Behavior*, *75*(5), 681–688.

- Gosling, S. D. (2001). From mice to men: What can we learn about personality from animal research? *Psychological Bulletin*, *127*(1), 45–86.
- Gosling, S. D., & John, O. P. (1999). Personality Dimensions in Nonhuman Animals: A Cross-Species Review. *Current Directions in Psychological Science*, *8*(3), 69–75.
- Gouveia, K., & Hurst, J. L. (2013). Reducing Mouse Anxiety during Handling: Effect of Experience with Handling Tunnels. (E. M. Mintz, Ed.) *PLoS ONE*, *8*(6), e66401.
- Gracceva, G., Herde, A., Groothuis, T. G. G., Koolhaas, J. M., Palme, R., & Eccard, J. A. (2014). Turning Shy on a Winter's Day: Effects of Season on Personality and Stress Response in *Microtus arvalis*. (J. Wright, Ed.) *Ethology*, *120*(8), 753–767.
- Gracceva, G., Koolhaas, J. M., & Groothuis, T. G. G. (2011). Does the early social environment affect structure and consistency of personality in wild-type male rats? *Developmental Psychobiology*, *53*(6), 614–623.
- Greenberg, G. D., Van Westerhuyzen, J. A., Bales, K. L., & Trainor, B. C. (2012). Is it all in the family? The effects of early social structure on neural–behavioral systems of prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Neuroscience*, *216*, 46–56.
- Gromov, V. S. (2013). Care of young and the effect of the presence of a male on parental behavior in the common vole (*Microtus arvalis*) in captivity. *Contemporary Problems of Ecology*, *6*(3), 330–335.
- Groothuis, T. G. G., & Carere, C. (2005). Avian personalities: characterization and epigenesis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *29*(1), 137–150.
- Groothuis, T. G. G., & Trillmich, F. (2011). Unfolding personalities: The importance of studying ontogeny. *Developmental Psychobiology*, *53*(6), 641–655.
- Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, *18*(3), 385–403.
- Hämäläinen, A., Heistermann, M., Fenosa, Z. S. E., & Kraus, C. (2014). Evaluating capture stress in wild gray mouse lemurs via repeated fecal sampling: Method validation and the influence of prior experience and handling protocols on stress responses. *General and Comparative Endocrinology*, *195*, 68–79.

- Hansen, S. C., Stolter, C., & Jacob, J. (2016). Effect of plant secondary metabolites on feeding behavior of microtine and arvicoline rodent species. *Journal of Pest Science*, 89(4), 955–963.
- Harris, S., Ramnarine, I. W., Smith, H. G., & Pettersson, L. B. (2010). Picking personalities apart: estimating the influence of predation, sex and body size on boldness in the guppy *Poecilia reticulata*. *Oikos*, 119(11), 1711–1718.
- Haupt, M., Eccard, J. A., & Winter, Y. (2010). Does spatial learning ability of common voles (*Microtus arvalis*) and bank voles (*Myodes glareolus*) constrain foraging efficiency? *Animal Cognition*, 13(6), 783–791.
- Heise, S. R., & Van Acker, A. (2000). The effect of social environment on the immune response of female common voles in matriarchal laboratory groups. *Physiology & Behavior*, 71(3-4), 289–296.
- Hemsworth, P. H., & Barnett, J. L. (1987). Human-Animal Interactions. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 3(2), 339–356.
- Herde, A., & Eccard, J. A. (2013). Consistency in boldness, activity and exploration at different stages of life. *BMC ecology*, 13(1), 1.
- Hessing, M. J. C., Hagelsø, A. M., Van Beek, J. A. M., Wiepkema, R. P., Schouten, W. G. P., & Krukow, R. (1993). Individual behavioural characteristics in pigs. *Applied Animal Behaviour Science*, 37(4), 285–295.
- Hohoff, C. (2009). Anxiety in mice and men: a comparison. *Journal of Neural Transmission*, 116(6), 679–687.
- Holmes, A., Parmigiani, S., Ferrari, P. F., Palanza, P., & Rodgers, R. J. (2000). Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. *Physiology & Behavior*, 71(5), 509–516.
- Hostetler, C. M., Anacker, A. M. J., Loftis, J. M., & Ryabinin, A. E. (2012). Social housing and alcohol drinking in male-female pairs of prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Psychopharmacology*, 224(1), 121–132.
- Hurst, J. L., & West, R. S. (2010). Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods*, 7(10), 825–826.

- Chapillon, P., Patin, V., Roy, V., Vincent, A., & Caston, J. (2002). Effects of pre- and postnatal stimulation on developmental, emotional, and cognitive aspects in rodents: A review. *Developmental Psychobiology*, *41*(4), 373–387.
- Janochová, L. (2014). *Vnitrodruhová variabilita dechové frekvence během stresové reakce u hraboše polního (Microtus arvalis)*. České Budějovice: Bakalářská práce, ZF Jihočeské univerzity.
- Jansen, K., Van der Zee, E. A., & Gerkema, M. P. (2000). Being circadian or not: vasopressin release in cultured SCN mirrors behavior in adult voles. *NeuroReport*, *11*(16), 3555–3558.
- Jansen, K., Van der Zee, E. A., & Gerkema, M. P. (2007). Vasopressin immunoreactivity, but not vasoactive intestinal polypeptide, correlates with expression of circadian rhythmicity in the suprachiasmatic nucleus of voles. *Neuropeptides*, *41*(4), 207–216.
- John, O. P. (1990). The “Big Five” factor taxonomy: Dimensions of personality in the natural language and in questionnaires. In L. A. Pervin (Ed.), *Handbook of Personality: Theory and Research*. New York: Guilford Press. 66–100.
- Jochym, M., & Halle, S. (2013). Influence of predation risk on recruitment and litter intervals in common voles (*Microtus arvalis*). *Canadian Journal of Zoology*, *91*(5), 281–286.
- Jochym, Mateusz, & Halle, S. (2012). To breed, or not to breed? Predation risk induces breeding suppression in common voles. *Oecologia*, *170*(4), 943–953.
- Jokić, G., Vukša, M., Đedović, S., & Kljajić, P. (2014). Laboratory testing of wood mouse and common vole sensitivity to bromadiolone, sodium selenite, and cellulose. *Journal of Pest Science*, *87*(2), 309–314.
- Jones, R. B., Mills, A. D., & Faure, J. M. (1991). Genetic and experiential manipulation of fear-related behavior in Japanese quail chicks (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Comparative Psychology (Washington, D.C.: 1983)*, *105*(1), 15–24.
- Joshi, S., & Pillay, N. (2016). Association between personality and stereotypic behaviours in the African striped mouse *Rhabdomys dilectus*. *Applied Animal Behaviour Science*, *174*, 154–161.

- Kagan, J., Reznick, J. S., & Snidman, N. (1987). The physiology and psychology of behavioral inhibition in children. *Child Development*, 58(6), 1459–1473.
- Kagan, J., Reznick, J. S., & Snidman, N. (1988). Biological bases of childhood shyness. *Science (New York, N.Y.)*, 240(4849), 167–171.
- Kalueff, A. V., Jensen, C. L., & Murphy, D. L. (2007). Locomotory patterns, spatiotemporal organization of exploration and spatial memory in serotonin transporter knockout mice. *Brain Research*, 1169, 87–97.
- Kazlauckas, V., Schuh, J., Dall'Igna, O. P., Pereira, G. S., Bonan, C. D., & Lara, D. R. (2005). Behavioral and cognitive profile of mice with high and low exploratory phenotypes. *Behavioural Brain Research*, 162(2), 272–278.
- Kolářová, P. (2015). *Koreluje denní aktivita ve známém prostředí s aktivitou v experimentálních aparaturách?* České Budějovice: Bakalářská práce, ZF Jihočeské univerzity.
- Koolhaas, J. M., Korte, S. M., De Boer, S. F., Van Der Vegt, B. J., Van Reenen, C. G., Hopster, H., ... Blokhuis, H. J. (1999). Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23(7), 925–935.
- Kosten, T. A., Kim, J. J., & Lee, H. J. (2012). Early life manipulations alter learning and memory in rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(9), 1985–2006.
- Kosten, T. A., Lee, H. J., & Kim, J. J. (2007). Neonatal handling alters learning in adult male and female rats in a task-specific manner. *Brain Research*, 1154, 144–153.
- Kratochvíl, J., Balát, F., Grulich, I., Holišová, V., Pelikán, J., Sýkora, I., & Zapletal, M. (1959). *Hraboš polní Microtus arvalis*. Praha: ČSAV.
- Kukalová, M., Gazárková, A., & Adamík, P. (2013). Should I Stay or Should I go? The Influence of Handling by Researchers on Den use in an Arboreal Nocturnal Rodent. (T. Tregenza, Ed.) *Ethology*, 119(10), 848–859.
- Kurvers, R. H. J. M., Nolet, B. A., Prins, H. H. T., Ydenberg, R. C., & Van Oers, K. (2012). Boldness affects foraging decisions in barnacle geese: an experimental approach. *Behavioral Ecology*, 23(6), 1155–1161.

- Lalonde, R., & Strazielle, C. (2008). Relations between open-field, elevated plus-maze, and emergence tests as displayed by C57/BL6J and BALB/c mice. *Journal of Neuroscience Methods*, *171*(1), 48–52.
- Lantová, P., Brixová, L., & Lanta, V. (2012). Urine marking in male common voles: Does behavioural activity matter? *Behavioural Processes*, *90*(2), 174–179.
- Lantová, P., Šíchová, K., Sedláček, F., & Lanta, V. (2011). Determining Behavioural Syndromes in Voles - The Effects of Social Environment. *Ethology*, *117*(2), 124–132.
- Lantová, P., Zub, K., Koskela, E., Šíchová, K., & Borowski, Z. (2011). Is there a linkage between metabolism and personality in small mammals? The root vole (*Microtus oeconomus*) example. *Physiology & Behavior*, *104*(3), 378–383.
- Laviola, G., & Alleva, E. (1995). Sibling effects on the behavior of infant mouse litters (*Mus domesticus*). *Journal of Comparative Psychology (Washington, D.C.: 1983)*, *109*(1), 68–75.
- Liesenjohann, M., Liesenjohann, T., Palme, R., & Eccard, J. (2013). Differential behavioural and endocrine responses of common voles (*Microtus arvalis*) to nest predators and resource competitors. *BMC Ecology*, *13*(1), 33.
- Lister, R. G. (1990). Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacology & Therapeutics*, *46*(3), 321–340.
- MacDonald, W. B. (1983). The wetness of a dog's nose. *Malahat Review*, (63), 157.
- Malmkvist, J., & Hansen, S. W. (2002). Generalization of fear in farm mink, *Mustela vison*, genetically selected for behaviour towards humans. *Animal Behaviour*, *64*(3), 487–501.
- Matzel, L. D., Han, Y. R., Grossman, H., Karnik, M. S., Patel, D., Scott, N., ... Gandhi, C. C. (2003). Individual differences in the expression of a “general” learning ability in mice. *The Journal of neuroscience*, *23*(16), 6423–6433.
- McMahon, C. R., Harcourt, R., Bateson, P., & Hindell, M. A. (2012). Animal welfare and decision making in wildlife research. *Biological Conservation*, *153*, 254–256.

- Meaney, M. J. (2001). Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review of Neuroscience*, 24(1), 1161–1192.
- Meerlo, P., Horvath, K. M., Nagy, G. M., Bohus, B., & Koolhaas, J. M. (1999). The influence of postnatal handling on adult neuroendocrine and behavioural stress reactivity. *Journal of neuroendocrinology*, 11(12), 925–933.
- Miller, K. A., Garner, J. P., & Mench, J. A. (2006). Is fearfulness a trait that can be measured with behavioural tests? A validation of four fear tests for Japanese quail. *Animal Behaviour*, 71(6), 1323–1334.
- Mitchell-Jones, A. J. (1999). *The atlas of European mammals*. London: T & AD Poyser : Academic. ISBN 978-0-8566-1130-8.
- Montiglio, P.-O., Garant, D., Thomas, D., & Réale, D. (2010). Individual variation in temporal activity patterns in open-field tests. *Animal Behaviour*, 80(5), 905–912.
- Moravec, J. (1985). Age structures in a wild population of *Microtus arvalis* during its population cycle (Mammalia: Rodentia). *Věstník československé společnosti zoologické*, 49, 123–131.
- Müller, R., & Schrader, L. (2005). Behavioural Consistency during Social Separation and Personality in Dairy Cows. *Behaviour*, 142(9/10), 1289–1306.
- Nerem, R., Levesque, M., & Cornhill, J. (1980). Social environment as a factor in diet-induced atherosclerosis. *Science*, 208(4451), 1475–1476.
- Niethammer, J., & Krapp, F. (1982). *Handbuch der Säugetiere Europas, Band 2/I: Nagetiere II: Cricetidae, Arvicolidae, Zapodidae, Spalacidae, Hystricidae, Capromyidae*. (H. Henttonen, Ed.). Wiesbaden: Akademische Verlagsgesellschaft. ISBN 978-3-400-0459-5.
- O’Leary, T. P., Gunn, R. K., & Brown, R. E. (2013). What are We Measuring When We Test Strain Differences in Anxiety in Mice? *Behavior Genetics*, 43(1), 34–50.
- Ohl, F., Holsboer, F., & Landgraf, R. (2001). The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 33(3), 392–397.

- Papaioannou, A., Gerozissis, K., Prokopiou, A., Bolaris, S., & Stylianopoulou, F. (2002). Sex differences in the effects of neonatal handling on the animal's response to stress and the vulnerability for depressive behaviour. *Behavioural brain research*, *129*(1-2), 131–139.
- Pelikán, J. (1959a). Stanoviště, sídliště a etologie. In J. Hanzák (Ed.), *Hraboš polní *Microtus arvalis**. Praha: ČSAV. 80–100.
- Pelikán, J. (1959b). Rozmnožování a populační dynamika. In J. Hanzák (Ed.), *Hraboš polní *Microtus arvalis**. Praha: ČSAV. 130–136.
- Pelikán, J., Gaisler, J., & Rödl, P. (1979). *Naši savci*. Praha: ČSAV. ISBN 21-003-78.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, *14*(3), 149–167.
- Pervin, L. A., & John, O. P. (Eds.). (1999). *Handbook of personality: theory and research* (2nd ed.). New York: Guilford Press. ISBN 157-2-3048-39.
- Pilz, P. K. D., & Schnitzler, H.-U. (1996). Habituation and Sensitization of the Acoustic Startle Response in Rats: Amplitude, Threshold, and Latency Measures. *Neurobiology of Learning and Memory*, *66*(1), 67–79.
- Poirier, G. L., Cordero, M. I., & Sandi, C. (2013). Female vulnerability to the development of depression-like behavior in a rat model of intimate partner violence is related to anxious temperament, coping responses, and amygdala vasopressin receptor 1a expression. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *7*.
- Poole, T. (1997). Happy animals make good science. *Laboratory Animals*, *31*(2), 116–124.
- Pritchard, L. M., Van Kempen, T. A., & Zimmerberg, B. (2013). Behavioral effects of repeated handling differ in rats reared in social isolation and environmental enrichment. *Neuroscience Letters*, *536*, 47–51.
- Ramos. (2008). Animal models of anxiety: do I need multiple tests? *Trends in Pharmacological Sciences*, *29*(10), 493–498.
- Ramos, A., & Mormède, P. (1998). Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *22*(1), 33–57.

- Réale, D., Gallant, B. Y., Leblanc, M., & Festa-Bianchet, M. (2000). Consistency of temperament in bighorn ewes and correlates with behaviour and life history. *Animal Behaviour*, *60*(5), 589–597.
- Réale, D., Reader, S. M., Sol, D., McDougall, P. T., & Dingemanse, N. J. (2007). Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews*, *82*(2), 291–318.
- Rebouças, R. C., & Schmidek, W. R. (1997). Handling and isolation in three strains of rats affect open field, exploration, hoarding and predation. *Physiology & behavior*, *62*(5), 1159–1164.
- Renner, M. J. (1990). Neglected aspects of exploratory and investigatory behavior. *Psychobiology*, *18*(1), 16–22.
- Rödel, H. G., Hudson, R., Rammler, L., Sängler, N., Schwarz, L., & Machnik, P. (2012). Lactation does not alter the long-term stability of individual differences in behavior of laboratory mice on the elevated plus maze. *Journal of Ethology*, *30*(2), 263–270.
- Rödel, H. G., Prager, G., Stefanski, V., Von Holst, D., & Hudson, R. (2008). Separating maternal and litter-size effects on early postnatal growth in two species of altricial small mammals. *Physiology & Behavior*, *93*(4-5), 826–834.
- Roubová, V. (2007). *Personalita hraboše polního (Microtus arvalis): Chování v novém prostředí*. České Budějovice: Bakalářská práce, PřF Jihočeské univerzity.
- Roy, V., & Chapillon, P. (2004). Further evidences that risk assessment and object exploration behaviours are useful to evaluate emotional reactivity in rodents. *Behavioural Brain Research*, *154*(2), 439–448.
- Říčánková, V., Šumbera, R., & Sedláček, F. (2007). Familiarity and partner preferences in female common voles, *Microtus arvalis*. *Journal of Ethology*, *25*(1), 95–98.
- Sales, G. D., Wilson, K. J., Spencer, K. E. V., & Milligan, S. R. (1988). Environmental ultrasound in laboratories and animal houses: a possible cause for concern in the welfare and use of laboratory animals. *Laboratory Animals*, *22*(4), 369–375.
- Sales, G., & Kapusta, J. (2009). Male–female interactions and ultrasonic vocalization in three sympatric species of voles during conspecific and heterospecific encounters. *Behaviour*, *146*(7), 939–962.

- Sharp, J. L., Zammit, T. G., Azar, T. A., & Lawson, D. M. (2002). Stress-like responses to common procedures in male rats housed alone or with other rats. *Contemporary topics in laboratory animal science / American Association for Laboratory Animal Science*, 41(4), 8–14.
- Schmidt, M. V., Wang, X.-D., & Meijer, O. C. (2010). Early life stress paradigms in rodents: potential animal models of depression? *Psychopharmacology*, 214(1), 131–140.
- Schmitt, U., & Hiemke, C. (1998). Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 59(4), 807–811.
- Sighieri, C., Mariti, C., Martelli, F., Baragli, P., Ducci, M., & Gazzano, A. (2006). Effects of Postnatal Handling on the Ontogenesis of Canine Behaviour. *Veterinary Research Communications*, 30(S1), 211–213.
- Sih, A., Bell, A., & Johnson, J. C. (2004). Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(7), 372–378.
- Smith, A. S., Lieberwirth, C., & Wang, Z. (2013). Behavioral and physiological responses of female prairie voles (*Microtus ochrogaster*) to various stressful conditions. *Stress*, 16(5), 531–539.
- Stamps, J., & Groothuis, T. G. G. (2010). The development of animal personality: relevance, concepts and perspectives. *Biological Reviews*, 85(2), 301–325.
- Steimer, T. (2011). Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 13(4), 495–506.
- Stevenson-Hinde, J., Stillwell-Barnes, R., & Zunz, M. (1980). Subjective assessment of rhesus monkeys over four successive years. *Primates*, 21(1), 66–82.
- Sudakov, S. K., Nazarova, G. A., Alekseeva, E. V., & Bashkatova, V. G. (2013). Estimation of the Level of Anxiety in Rats: Differences in Results of Open-Field Test, Elevated Plus-Maze Test, and Vogel's Conflict Test. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 155(3), 295–297.
- Suomi, S. J., O'Neill, P. L., & Novak, M. A. (1991). Normalizing laboratory-reared rhesus macaque (*Macaca mulatta*) behavior with exposure to complex outdoor enclosures. *Zoo Biology*, 10(3), 237–245.

- Svartberg, K., & Forkman, B. (2002). Personality traits in the domestic dog (*Canis familiaris*). *Applied Animal Behaviour Science*, 79(2), 133–155.
- Šíchová, K. (2008). *Personalita hraboše polního (Microtus arvalis): chování ve dvou behaviorálních testech*. České Budějovice: Bakalářská práce, PŘF Jihočeské univerzity.
- Šíchová, K. (2010). *Vliv sociálního prostředí na vývoj osobnostních rysů hraboše polního (Microtus arvalis)*. České Budějovice: Diplomová práce, PŘF Jihočeské univerzity.
- Tikhonova, G. N., Tikhonov, I. A., & Osipova, O. V. (2008). Some behavioral characteristics of common voles *Microtus arvalis arvalis* and *Microtus arvalis obscurus* in family groups under experimental conditions. *Biology Bulletin*, 35(5), 482–488.
- Třísková, L. (2010). *Vliv osobnostních rysů hraboše polního (Microtus arvalis) na rychlost učení v klasickém labyrintu*. České Budějovice: Diplomová práce, PŘF Jihočeské univerzity.
- Urbánková, G. (2012). *Vývoj projevů osobnostních rysů: Studie na hraboši polním (Microtus arvalis)*. České Budějovice: Diplomová práce, PŘF Jihočeské univerzity.
- Vallée, M., Mayo, W., Dellu, F., Le Moal, M., Simon, H., & Maccari, S. (1997). Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. *The Journal of Neuroscience*, 17(7), 2626–2636.
- Vallée, M., Mayo, W., Maccari, S., Le Moal, M., & Simon, H. (1996). Long-term effects of prenatal stress and handling on metabolic parameters: relationship to corticosterone secretion response. *Brain Research*, 712(2), 287–292.
- Van der Veen, D. R., Minh, N. L., Gos, P., Arneric, M., Gerkema, M. P., & Schibler, U. (2006). Impact of behavior on central and peripheral circadian clocks in the common vole *Microtus arvalis*, a mammal with ultradian rhythms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(9), 3393–3398.
- Van der Veen, Daan R., Saaltink, D.-J., & Gerkema, M. P. (2011). Behavioral Responses to Combinations of Timed Light, Food Availability, and Ultradian Rhythms in the Common Vole (*Microtus arvalis*). *Chronobiology International*, 28(7), 563–571.

- Van der Vinne, V., Simons, M. J. P., Reimert, I., & Gerkema, M. P. (2014). Temporal niche switching and reduced nest attendance in response to heat dissipation limits in lactating common voles (*Microtus arvalis*). *Physiology & Behavior*, *128*, 295–302.
- Van Oers, K., Drent, P. J., De Goede, P., & Van Noordwijk, A. J. (2004). Realized heritability and repeatability of risk-taking behaviour in relation to avian personalities. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *271*(1534), 65–73. doi:10.1098/rspb.2003.2518
- Varty, G. B., Morgan, C. A., Cohen-Williams, M. E., Coffin, V. L., & Carey, G. J. (2002). The Gerbil Elevated Plus-Maze I Behavioral Characterization and Pharmacological Validation. *Neuropsychopharmacology*, *27*(3), 357–370.
- Vecsey, C. G., Wimmer, M. E. J., Havekes, R., Park, A. J., Perron, I. J., Meerlo, P., & Abel, T. (2013). Daily Acclimation Handling Does Not Affect Hippocampal Long-Term Potentiation or Cause Chronic Sleep Deprivation in Mice. *SLEEP*.
- Verbeek, M. E. M., Drent, P. J., & Wiepkema, P. R. (1994). Consistent individual differences in early exploratory behaviour of male great tits. *Animal Behaviour*, *48*(5), 1113–1121.
- Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, *2*(2), 322–328.
- Wei, B., Tai, F., Liu, X., Ma, L., Yang, X., Jia, R., & Zhang, X. (2013). Neonatal tactile stimulation alleviates the negative effects of neonatal isolation on novel object recognition, sociability and neuroendocrine levels in male adult mandarin voles (*Microtus mandarinus*). *Physiology & Behavior*, *112-113*, 14–22.
- Wilson, Clark, A. B., Coleman, K., & Dearstyne, T. (1994). Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution*, *9*(11), 442–446.
- Wilson, & Coleman, K. (1998). Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Animal Behaviour*, *56*(4), 927–936.
- Wirth-Dzięciolowska, E., Lipska, A., & Węsierska, M. (2005). Selection for body weight induces differences in exploratory behavior and learning in mice. *Acta Neurobiol Exp*, *65*, 243–253.

Zapletal, M., Obdržálová, D., Pikula, J., Zejda, J., Beklová, M., & Heroldová, M. (2000).
Hraboš polní (Microtus arvalis). Brno: SRS. ISBN 80-7084-235-0.

11 PŘÍLOHY



Obr. 4: Koláž z fotografií zaznamenávajících průběh handlingu