

Wykorzystanie testu „otwartego pola” w badaniach dotyczących zachowania królików

Dorota Kowalska¹, Andrzej Gugolek²

¹*Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy,*

Dział Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt, 32-083 Balice k. Krakowa

²*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Hodowli Zwierząt Futerkowych i Łowiectwa,
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn*

Każde nowe środowisko wywołuje u zwierząt reakcje emocjonalne (strach, lęk, niepokój) oraz potrzebę zdobycia informacji w celu ewentualnej modyfikacji czy manipulacji bodźcami otoczenia lub zmiany środowiska (ucieczka). Zachowanie udomowionych królików w stosunku do dzikich nie uległo dużej zmianie, mimo że ich domestykacja nastąpiła wiele wieków temu. Króliki, zarówno dzikie jak i hodowlane, wykazują:

- behawior terytorialny, znacząc nowe środowisko, do którego trafiają; w naturze jest to nowe terytorium, w hodowli klatka;
- behawior socjalny; w naturze żyją bowiem w koloniach, natomiast w hodowli – jak wykazują liczne badania – utrzymywane po odsadzeniu od matek w grupie, są mniej podatne na stres;
- behawior seksualny, związany z instynktem terytorialnym (znaczenie własnym zapachem); stąd zawsze do klatki samca wpuszcza się samicę;
- behawior matczyzny, objawiający się budową gniazda i opieką nad młodymi.

Króliki są zwierzętami bardzo płochliwymi, a próg pobudliwości, wyzwalający u nich strach, jest znacznie niższy niż np. dla bodźców bólowych. Widoczne objawy strachu to: wzmożona obserwacja, nasłuchiwanie, zamieranie w bezruchu, często nagłe nieskoordynowane ru-

chy, zwiększenie częstotliwości oddechów. Reakcję alarmową wzbudzają uwolnione z rdzenia nadnerczy adrenalina i noradrenalina. Dochodzi do przyspieszenia częstotliwości skurczów serca, podniesienia ciśnienia krwi i tzw. nieekonomicznej mobilizacji źródeł energii. W praktyce hodowlanej często spotyka się zwierzęta, które nie potrafiły przystosować się do stworzonych przez człowieka warunków, a ich nadpobudliwość odbija się na wynikach produkcyjnych. Jak podają Kostro i Gliński (2005), jeżeli stres utrzymuje się dłużej, wówczas rozwijają się negatywne następstwa – upośledzenia przepływu krwi, prowadzące do dysfunkcji narządów nimi objętych. Zahamowanie motoryki jelit i zmiana równowagi drobnoustrojów końcowego odcinka przewodu pokarmowego sprzyjają rozwojowi biegunki, zapalenia jelit oraz enterotoksemii. Zużycie rezerw energetycznych wątroby prowadzi do niedoboru podstawowych substratów w tkankach, co nierzadko ma skutki letalne. Nadpobudliwe królice gorzej odchowują potomstwo, młode króliczka słabiej przyrastają, a pochodzące od nich mięso może być obciążone wadą PSE (Kowalska i Gugolek, 2007, 2008).

Obecnie w praktyce hodowlanej coraz większego znaczenia nabierają proste badania obserwacyjne, pozwalające na określenie przystosowania zwierząt do środowiska i eliminację tych, których temperament nie pozwala na właściwą aklimatyzację. Badania takie były prowadzone od lat na małych gryzoniach, a obecnie

znalazły przełożenie na inne gatunki zwierząt. W testach, ogólnie określanych jako badające zachowanie spontaniczne, obserwuje się zachowanie zwierząt w odpowiednio zaaranżowanym otoczeniu. Analiza doświadczenia obejmuje różne aspekty ich zachowania.

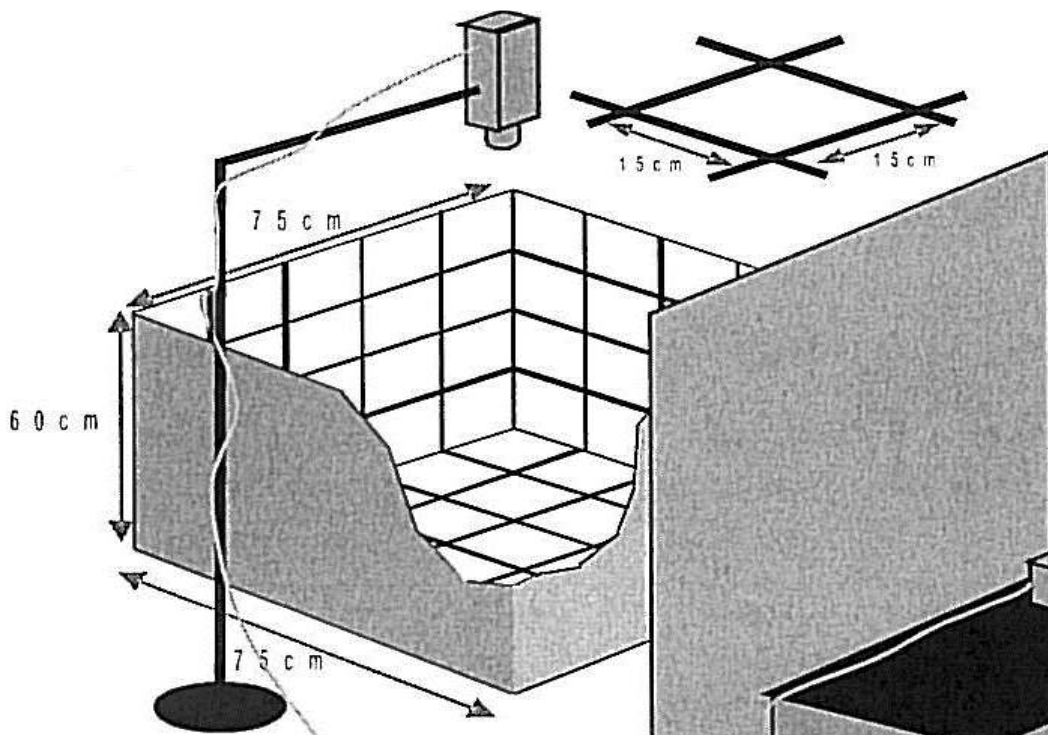
Podczas modelowania zjawisk i patologii procesów psychicznych badaczy interesuje wpływ różnych czynników na ogólny profil zachowania się zwierząt, a nie na wykonanie pojedynczej czynności.

Ważna jest reakcja zwierzęcia, zarówno na jednorazowy silny stresor, jak i stresor umiarkowany, ale działający w sposób ciągły w dłuższym okresie (stres chroniczny). Do tego

rodzaju testów możemy zaliczyć m.in. test „otwartego pola” (open field).

Historia testu „otwartego pola”

W 1934 r. Calvin Hall skonstruował urządzenie, służące do badania reaktywności emocjonalnej szczurów, wpuszczonych na 3 do 5 minut do nieznanego im wcześniej środowiska. Była to skrzynia z wymalowanymi na podłodze liniami, które służyły do zliczania odległości przebytej przez zwierzęta. Obok otwartej przestrzeni urządzenia znajdowało się silne źródło światła, co było warunkiem koniecznym do ujawnienia się różnego typu zachowań w tym ubogim w bodźce środowisku (rys. 1).



Rys 1. Skrzynia do testu „otwartego pola” (wg Trojan i Matysiak, 2007)
Fig. 1. An open-field test box (according to Trojan and Matysiak, 2007)

Wskaźnikami reaktywności emocjonalnej były: defekacja, mierzona liczbą „bobków” oraz lokomocja, mierzona liczbą przekroczonych linii, znajdujących się na podłożu aparatu (Greenberg, 1994).

Przez pierwszych 20 lat badań utrzymywała się taka interpretacja zachowań w teście. Pod koniec lat 50. XX w. zainteresowanie badaczy eksploracją sprawiło, że „otwarte pole” za-

częło być używane jako narzędzie, służące do mierzenia „popędu ciekawości”. Whimbley i Denenberg (1967) na podstawie przeprowadzonej analizy czynnikowej stwierdzili, że zachowanie badanych szczurów można opisać, posługując się dwoma konstruktami teoretycznymi: emocjonalnością, której wskaźnikiem jest liczba defekacji oraz eksploracją, której wskaźnikiem jest lokomocja. Od tego czasu „otwarte pole” zaczęto

wykorzystywać jako aparat do diagnozowania, obok zachowań emocjonalnych, także eksploracji.

Pod koniec lat 70. zainteresowanie „otwartym polem” rosło równie szybko, jak liczba mierzonych w nim zmiennych, która sięgnęła około 30 (Walsh i Cummins, 1976). Obecnie jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych aparatów do badania zachowań dowolnych w wielu laboratoriach świata. Test „otwartego pola” znalazł miejsce w badaniach nad farmakologią, psychofizjologią, psychologią porównawczą, neurologią. Obok reaktywności emocjonalnej i eksploracji, diagnozuje się w nim lęk, potrzebę stymulacji i zachowania społeczne. Nazwa samego urządzenia nie jest może zbyt trafna, ponieważ nie ma ono nic wspólnego z nieograniczoną przestrzenią, ale jest powszechnie używana i akceptowana od ponad 80 lat. Standardowo jest to skrzynia o powierzchni nie przekraczającej 1 m², choć na przestrzeni lat próbowano eksperymentować z większymi powierzchniami. Znane są badania, prowadzone na aparatach zbudowanych na planie koła lub kwadratu, otoczonego wysoką ścianką, uniemożliwiającą zwierzętom ucieczkę.

Zachowanie królików w teście „otwartego pola”

W przypadku królików, w teście „otwartego pola” badano zachowanie się tego gatunku zwierząt pod wpływem stresu, jakim było umieszczenie ich w otwartej przestrzeni. Uzyskane wyniki służyły wówczas do podziału zwierząt w zależności od prezentowanych przez nie dwóch fundamentalnie różnych, warunkowanych genetycznie strategii (sposoby funkcjonowania w środowisku) – aktywnej i pasywnej (Daniewski, 2003; Kowalska i Gugolek, 2008). Druga grupa badań dotyczyła zachowania królików w teście „otwartego pola” po wcześniejszym wprowadzeniu do ich otoczenia dodatkowych bodźców. Zucca i in. (2012) badali zachowanie tych zwierząt w omawianym teście w zależności od ilości osobników utrzymywanych w klatce oraz dodatkowego wyposażenia klatki w tzw. elementy zapobiegające nudzie (akacje, wieszaki zwisające od góry).

W badaniach własnych prowadzono obserwacje, mające na celu podział królików na osobniki aktywne i pasywne. Zwierzęta w liczbie 40 sztuk (20 samic i 20 samców), poddane testowi „otwartego pola”, pochodziły z fermy

należącej do Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Balicach. Test przeprowadzono trzykrotnie – w 50., 60. i 70. dniu życia zwierząt, w godzinach porannych przed karmieniem (pomiędzy 8.00 a 9.00). Skonstruowane na potrzeby doświadczenia „otwarte pole” stanowiła prostokątna arena o wymiarach: 2 x 1,4 m. Pole podzielono na 20 równej wielkości prostokątów 0,4 x 0,35 m. Ściany „otwartego pola” o wysokości 1 m wykonano z białej dykty. W rogu areny umieszczono drewnianą skrzynkę startową o wymiarach 0,5 x 0,4 x 0,3 m, z okrągłym wyjściem w przedniej ściance. Zwierzęta donoszono na arenę w wiklinowych koszach, umieszczając w skrzynce startowej. Każdy test trwał 5 minut. Króliki obserwował eksperymentator, siedzący w pobliżu areny. Każdorazowo po zakończonej obserwacji skrzynkę, podłogę oraz ściany przecierano szmatką nasączoną detergentem, usuwając pozostawione przez zwierzęta ślady zapachowe. W celu opisanego jakościowo i ilościowo zachowania się zwierząt w „otwartym polu” określano szczegółowo prezentowane przez nie zachowania. W trakcie trwania testu notowano:

- ogólną aktywność ruchową w „otwartym polu” – liczbę prostokątów, które królik przekroczył obiema przednimi kończynami po wyjściu ze skrzynki startowej;
- zachowanie po wyjściu ze skrzynki startowej:
 - stawianie słupka,
 - defekacja,
 - znakowanie wydzieliną gruczołów,
 - pielęgnacja ciała (czyszczenie łapkami okrywy włosowej),
 - wspinanie się po ściankach „otwartego pola”,
 - próby wyskakiwania poza arenę,
 - liczba przekroczonych pól zewnętrznych i środkowych,
 - stereotypie (uporczywe wykonywanie czynności bez konkretnego celu).

Podstawą przydziału do grupy była miara zachowania zwierząt we wszystkich trzech testach. Do grupy aktywnej zaliczano króliki swobodnie poruszające się po arenie, do pasyw-

nej – te, które nie opuściły skrzynki startowej lub cechowała je mała aktywność ruchowa.

W pierwszym teście „otwartego pola” skrzynkę startową opuściło 28 królików (18 samców i 10 samic), w drugim dodatkowo 7 (6 samic i 1 samiec), w trzecim jeszcze 3 samice. Już w skrzynce startowej przed wyjściem w „otwarte pole” obserwowano u zwierząt charakterystyczne dla tego gatunku zachowanie, odzwierciedlające konflikt popędów – wyciągały one głowę w różnych kierunkach, eksplorując otoczenie, podczas gdy tułów pozostawał nieruchomy. Początkowo wysuwały tylko głowę poza skrzynkę startową, stopniowo wychodząc coraz dalej. Podobnie zachowywały się po wyjściu ze skrzynki startowej, przy czym w każdym kolejnym teście coraz szybciej i pewniej przekraczały kolejne pola. Ciekawość nowego otoczenia zaczynała dominować nad strachem przez nieznanym.

W pierwszym teście najwięcej zwierząt (60%) wyszło jedynie na zewnątrz skrzynki startowej; nie przekraczały kolejnych pól, trzymały się blisko miejsca, które postrzegały jako schronienie. Zwierzęta o przewadze ciekawości (40%) wchodziły w „otwarte pole”, jednak poruszały się głównie po skrajnych prostokątach wokół ścianek, przystając i obwąchując otoczenie. Oznaką rozładowania strachu było tupanie i stawianie słupka.

Obserwowano również zabiegi pielęgnacyjne, związane z bardzo szybkim i krótkotrwałym czyszczeniem ciała (głównie pocieranie łapką okolic ucha). Zachowanie takie nie można jednak uznać za właściwy, ale tzw. „wymuszony grooming” wywołany stresem w nowym otoczeniu. Było to zapewne działanie relaksacyjne, prowadzące do przywrócenia homeostazy organizmu. Wysoki procent samców (75), które weszły w „otwarte pole”, znaczył teren moczem, wydzieloną gruczołów podbródkowych (pocierając brodą o ścianki) lub pozostawiając kał. Podczas poruszania się obserwowano charakterystyczną reakcję „zamierania” w bezruchu (pod wpływem nagłego nieznanego bodźca), która jest uznawana za typową reakcję obronną królików dzikich, umożliwiającą zamaskowanie się przed drapieżnikiem.

Zwierzęta prezentowały dwie formy wyjścia z tej reakcji – nagłą ucieczkę do skrzynki startowej lub powolny powrót do dalszej penetracji środowiska. Wśród królików, które

uciekały do skrzynki startowej, po ponownym jej opuszczeniu obserwowano większe napięcie i wzmogoną czujność. Pamięć strachu jest bowiem trwała, łatwo przywoływana i trudno ją wyeliminować. W żadnym z trzech przeprowadzonych testów zwierzęta nie wyskakiwały poza arenę, próbowały jedynie wspinać się po jej ściankach.

W drugim i trzecim teście stopniowo malała aktywność królików w części peryferyjnej na korzyść części wewnętrznej, jednak zwierzęta poruszały się po niej ostrożnie, wycofując się w razie stwierdzenia niebezpieczeństwa. Obserwowano osłabienie zachowań defensywnych, co manifestowało się wzrostem ruchliwości i obniżeniem unikania otwartej przestrzeni. Prawdopodobnie informacje zdobyte w pierwszym teście były pewnym kapitałem zwierzęcia, z którego czerpało ono korzyści. Króliki żyjące na wolności unikają otwartych przestrzeni, szczególnie w ciągu dnia, dalej poza swoją norę wychodzą głównie o zmroku.

Węsierska (2002) przeprowadziła podobny test behawioralny na dwóch grupach zwierząt: oposach i szczurach laboratoryjnych. Szczury, podobnie jak króliki, prezentowały typowe zachowania bierno-obronne, preferując obszar przy ściankach „otwartego pola”, a zachowanie ich zmieniało się stopniowo w kolejnych dniach testu. Zwierzęta te w naturze, podobnie jak króliki, nowość odbierają jako zagrożenie, a będąc w grupie wysyłają zwiadowcę. Oposy cechowała duża ruchliwość i szybka penetracja otoczenia wraz z jego częścią centralną. Brak unikania tej części wskazuje na skłonność oposów do podejmowania większego ryzyka. Te obserwacje są zgodne z biologią oposów, które prowadzą samotniczy, drapieżny tryb życia, a ryzyko stania się samemu łupem drapieżnika jest wliczone do zysku, jakim jest zdobycie pokarmu.

Już w drugim teście „otwartego pola” zaobserwowano u królików pewne strategie zachowań. Pierwsza grupa prezentowała „rozproszony” wzór zachowania, który był charakterystyczny u większości zwierząt w pierwszym teście, druga – sekwencję związaną z eksploracją: węszenie-lokomocja-stójka lub węszenie-lokomocja-stójka-grooming, powtarzaną kilkakrotnie w ciągu trwania badań.

Wśród zwierząt mało aktywnych, które opuściły skrzynkę startową dopiero w drugim

lub trzecim teście, obserwowano powolne, ostrożne wejście w „otwarte pole”. Część z nich pozostawała w pobliżu skrzynki, inne szukały schronienia w rogach areny, pozostając tam do końca badań. Dwie samice, spłoszone dźwiękami dochodzącymi z zewnątrz, zareagowały szybkim biegiem w kółko, wzdłuż ścianek

„otwartego pola”, co można uznać za stereotypię ruchową.

Analiza uzyskanych wyników, dotyczących stopnia aktywności ruchowej w „otwartym polu”, wykazała, że wśród zwierząt poddanych obserwacjom 75% (30 sztuk, w tym 16 samców i 14 samic) prezentowało strategię aktywną.

Literatura

Daniewski W. (2003). Efektywność dwukierunkowej selekcji królików na aktywność ruchową w teście „otwartego pola” oraz jej wpływ na cechy skorelowane. Rozpr. dokt., Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu.

Greenberg G. (1994). The open field test in comparative psychology: a critical analysis (referat). Proc. VIIth Meeting of the International Society for Comparative Psychology, 4–8.07.1994, Sao Paulo, Brazylia.

Kostro K., Gliński Z. (2005). Choroby królików. PWRiL, Warszawa, 336 ss.

Kowalska D., Gugolek A. (2007). Przydatność testów behawioralnych w określeniu sposobów funkcjonowania królików w środowisku i ich powiązanie z niektórymi cechami produkcyjnymi. Roczn. Nauk. PTZ, ss. 165–172.

Kowalska, D., Gugolek, A. (2008). Reakcja na stres a wyniki produkcyjne królików. Roczn. Nauk. PTZ, ss. 135–148.

Trojan M., Matysiak J. (2007). Próba standaryzacji testu otwartego pola. W: Zachowanie się zwierząt. Przegląd wybranych zagadnień z zakresu psychologii porównawczej, Warszawa.

Walsh R.N., Cummins R.A. (1976). The open field test: A critical review. Psychol. Bull., 83: 482–504.

Węsierska M. (2002). Specyfika zachowań eksploracyjnych oposa (*Monodelphis domestica*) i szczura (*Rattus norvegicus*) odmiany long-evans. Kosmos. Probl. Nauk Biol., 51 (1): 19–33.

Whimbley A.E., Denenber V.H. (1967). Two independent behavioral dimensions in open field performance. J. Comp. Physiol. Psychol., 63: 500–504.

Zucca D., Redaelli V., Marelli S.P., Bonazza V., Heinzl E., Verga M., Luzi F. (2012). Effect of handling in pre-weaning rabbits. World Rabbit Sci., 20: 97–101.

APPLICATION OF THE OPEN-FIELD TEST TO INVESTIGATE RABBIT BEHAVIOUR

Summary

A novel environment causes emotional reactions (fear, anxiety) and induces animals to seek information needed to modify or manipulate environmental stimuli, or to change the environment (escape). Present-day breeders are making increasing use of simple observation tests, which determine the environmental adaptation of animals and allow for elimination of those animals whose temperament prevents proper acclimatization. These observations use the open-field test, which, in addition to emotional reactivity and exploration, diagnoses fear, the need for stimulation, and social behaviours. Farmed rabbits show two fundamentally different, genetically determined environment coping strategies: active and passive. Research performed to date indicates that the active group is better adjusted to farm conditions, which translates into better production results. In our study, a three-time open-field test revealed that 75% of the observed animals (30 animals, including 16 males and 14 females) showed the active strategy and the remaining 25% (10 animals, including 4 males and 6 females) presented the passive strategy. To provide a quantitative and qualitative characterization of the rabbits' behaviour in the open field, their behaviours were described in detail. The following behaviours were recorded during the test: overall walking activity in the open field – number of rectangles that a rabbit crossed with its front legs after leaving the start box; and behaviour after leaving the start box – standing on hind legs, defecation, scent marking, grooming, climbing the open field walls, attempts to jump out of the arena, number of external and central fields crossed, and stereotyped behaviours.