

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Zemědělská fakulta**

Studijní program: Speciální zemědělství

Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů

Katedra: Katedra biologických disciplín

Vedoucí katedry: doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph. D.

bakalářská práce

**Vnitrodruhová variabilita dechové frekvence během  
stresové reakce u hraboše polního (*Microtus arvalis*)**

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. František Sedláček, CSc.

Konzultan bakalářské práce: Mgr. Klára Šíchová

autor bakalářské práce: Lenka Janochová

České Budějovice, 2014

**ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**  
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lenka JANOCHOVÁ**  
Osobní číslo: **Z11251**  
Studijní program: **B4106 Zemědělská specializace**  
Studijní obor: **Biologie a ochrana zájmových organismů**  
Název tématu: **Vnitrodruhová variabilita dechové frekvence během stresové reakce u hraboše polního (*Microtus arvalis*)**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických disciplin**

**Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :**

1. Vypracovat krátký literární přehled na téma vnitrodruhová variabilita v chování zvířat.
2. Vypracovat krátký literární přehled na téma dechová frekvence, její změny během stresové reakce a vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci.
3. Změřit změny dechových frekvencí vyvolaných stresem u pokusné skupiny hrabošů polních pomocí změn tlaku v respirometrické komůrce napojené na tlakové čidlo a osciloskop.
4. Zjistit, zda studovaný druh vykazuje vnitrodruhovou variabilitu ve změně dechové frekvence vyvolané stresem.
5. Zjistit, zda jsou případné individuální rozdíly ve změně dechové frekvence vyvolané stresem konzistentní.
6. Zjistit, zda případná vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci souvisí s vnitrodruhovou variabilitou v chování studovaného druhu (behaviorální data byla získána v rámci předchozího společného projektu).

Rozsah grafických prací: 5  
Rozsah pracovní zprávy: 20  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná  
Seznam odborné literatury:

Dall, S. R. X., Houston, A. L., McNamara, J. M. (2004). The behavioral ecology of personality: Consistent individual differences from an adaptive perspective. *Ecology Letters* 7: 734-739

Šichová K. (2008). Personalita hraboše polního (*Microtus arvalis*): chování ve dvou behaviorálních testech. Bakalářská práce, PřF Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích

Sih, A., Bell, A. & Johnson, J.C. (2004). Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 19: 372-378


Réale, D., Reader, S. M., Sol, D., McDougall, P. T. and Dingenmanse, N. J. (2007). Integrating animal temperament within ecology and evolutionary biology. *Biological Reviews*. 82: 291-318.

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. František Sedláček, CSc.  
Katedra zoologie  
Konzultant bakalářské práce: Mgr. Klára Šichová  
Katedra zoologie

Datum zadání bakalářské práce: 7. dubna 2014  
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2014

  
prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDEJOVICÍCH  
ZEMĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení  
Studentská 13  
370 05 České Budějovice

  
doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 8. dubna 2014

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci 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 bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných zemědělskou fakultou - 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 dne.....

.....

Lenka Janochová

## Poděkování

Děkuji doc. Františkovi Sedláčkovi a Mgr. Kláře Šíchové, bez nichž by tato práce nevznikla. Za jejich ochotu, cenné rady a připomínky a také za pomoc při statickém zpracování výsledků. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Janu Okrouhlíkovi za propůjčení osciloskopu a cenné rady a Radce Peškové, která se ochotně starala o studovanou hraboše. A Daně Jílkové za její společnost v chovech.

## Abstrakt

Úkolem této práce bylo zjistit, zda existují individuální rozdíly v dechových frekvencích hrabošů polních (*Microtus arvalis*) a zda je jejich povaha konzistentní. Dalším cílem bylo prověřit jejich možný vztah s osobnostními charakteristikami sledovaných jedinců.

Individuální hodnoty dechových frekvencí byly naměřeny pomocí přístroje sestávajícího se z respirometrické komůrky napojené na tlakové čidlo a osciloskop. Měřena byla klidová (*resting breath frequency, RBF*) a stresová dechová frekvence (*stress breath frequency, SBF*), následně byl spočten jejich procentuální rozdíl. Osobnostní charakteristiky sledovaných zvířat (reakce na *Open Field test*) byly získány převzetím dat získaných v rámci předchozího projektu.

Bylo zjištěno, že studovaný druh vykazuje konzistentní inter-individuální rozdíly v dechových frekvencích, a to ve všech měřených parametrech. Výsledky této studie také dokládají velmi těsný vztah individuální hodnoty SBF a procentuálního rozdílu mezi RBF a SBF s osobnostními charakteristikami sledovaných zvířat. U jedinců projevujících se v *Open Field testu* jako "shy" (tj. anxiózní zvířata snadno podléhající stresu) byly naměřeny vyšší hodnoty SBF a procentuálního rozdílu mezi RBF a SBF.

Klíčová slova: osobnost, coping style, dechová frekvence, stres

## Abstract

The goal of this study was to assess possible inter-individual differences in breath rate in common voles (*Microtus arvalis*) and to evaluate its consistency. The next aim was to explore their potential relationship with personality characteristics of studied voles.

Individual values of breath frequencies were measured by device consisting of respirometry chamber, a pressure sensor and an oscilloscope. Resting breath frequency (RBF) and stress breath frequency (SBF) were measured and their percentage difference was calculated. Personality characteristics of studied animals (reaction of Open Field test) were taken from the previous project.

It was found that studied species shows consistent inter-individual differences in all measured breath rate parameters. Further, considerable evidence for close relationship between personality characteristics and individual SBF values and percentage differences between RBF and SBF was detected. Individuals with high values of SBF and percentage differences between RBF and SBF were assessed as „shy“ (anxious animals which get easily stressed) in Open Field test.

Keywords: personality, coping style, breath rate, stress

# Obsah

1. ÚVOD .....	10
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	11
2.1 Vnitrodruhová variabilita v chování.....	11
2.2 Vnitrodruhová variabilita v chování - vymezení pojmů.....	11
2.2.1 Osobnost .....	11
2.2.2 Behaviorální syndrom .....	12
2.2.3 Shy-bold kontinuum .....	13
2.2.4 Fast-slow kontinuum .....	13
2.2.5 „Coping style“ .....	14
2.3 Dechová frekvence a osobnostní rysy.....	15
2.3.1 Dýchání obratlovců .....	15
2.3.2 Dýchací centrum .....	15
2.3.3 Činnost dýchací soustavy.....	16
2.3.4 Dýchání vnější .....	16
2.3.5 Dechová frekvence .....	17
2.3.6 Vztah dechové frekvence a srdečního tepu.....	17
2.3.7 Reakce na stres .....	17
2.3.8 Metody měření dechové frekvence .....	19
2.3.9 Vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci.....	19
2.4 Studovaný druh.....	21
2.4.1 Biologie druhu .....	21
2.4.2 Reprodukce.....	21
3. CÍLE PRÁCE.....	23
4. MATERIÁL A METODIKA .....	24
4.1 Zvířata a podmínky chovu .....	24
4.2 Experimentální design.....	24
4.2.1 Open Field test.....	24



4.2.2	Měření dechové frekvence .....	25
4.3	Statistické zpracování dat .....	28
4.3.1	Vyazuje studovaný druh vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem? .....	28
4.3.2	Jsou individuální rozdíly v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem konzistentní? .....	28
4.3.3	Souvisí vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci s vnitrodruhovou variabilitou v chování? .....	29
5.	VÝSLEDKY .....	30
5.1	Vyazuje studovaný druh vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem? .....	30
5.2	Jsou individuální rozdíly v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem konzistentní? .....	32
5.3	Souvisí vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci s vnitrodruhovou variabilitou v chování? .....	33
6.	DISKUZE .....	36
6.1	Vyazuje studovaný druh vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem? .....	36
6.2	Jsou individuální rozdíly v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem konzistentní? .....	36
6.3	Souvisí vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci s vnitrodruhovou variabilitou v chování? .....	37
7.	ZÁVĚR .....	39
8.	Seznam použité literatury .....	40
9.	Seznam použitých zkratk .....	45

# 1. ÚVOD

Vnitrodruhová variabilita v chování zvířat byla po dlouhou dobu opomíjena (Carere & Locurto 2011). V posledních desetiletích se však náhled na tuto problematiku rapidně změnil, a to především díky studiím, které doložily konzistentní povahu vnitrodruhových rozdílů (např. Wilson 1994). Právě toto zjištění vyvrátilo domněnku, že individuální rozdíly v chování zvířat jsou výsledkem náhodných procesů či nepřesného měření. Zvířata nevykazují vnitrodruhovou variabilitu pouze v chování, ale také ve fyziologických charakteristikách. Spojitost mezi behaviorální a fyziologickou individualitou se na základě dosud provedených studií jeví jako velmi těsná (přehled Koolhaas *et al.* 1999). V současné době je pozornost věnovaná vnitrodruhovým rozdílům ve změnách dechové frekvence vyvolané stresem (úlek, handling apod.) a jejich možnou souvislostí s osobnostními charakteristikami zvířete (např. Carere & van Oers 2004) a právě to je i tématem mojí bakalářské práce.

Pro studium uvedených souvislostí byl vybrán hraboš polní (*Microtus arvalis*), a to z několika důvodů. Na našem území se jedná o běžného hlodavce (Kratochvíl *et al.* 1959), jehož odchyt je snadný a který velmi dobře snáší laboratorní chov. Na tomto druhu bylo provedeno již také několik studií zaměřených na vnitrodruhovou variabilitu v chování, které dokládají přítomnost konzistentních rozdílů (Lantová *et al.* 2011).

Cílem mojí práce bylo zjistit, zda existuje vnitrodruhová variabilita ve změnách dechových frekvencí vyvolaných stresem u studovaného druhu a jakou má povahu. Postup byl naplánován následovně: 1) Pokud se individuální rozdíly podaří nalézt, 2) bude dále testováno, zdali je jejich povaha konzistentní (tzn. opakovatelná na úrovni jedince). Pokud se podaří prokázat i toto, bude 3) ohodnocen jejich možný vztah s osobnostními charakteristikami sledovaných zvířat (behaviorální data budou převzata z diplomové práce Mgr. Gabriely Urbánkové, která s jejich poskytnutím souhlasila).

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Vnitrodruhová variabilita v chování

Vnitrodruhové rozdíly v chování zvířat, jak již bylo uvedeno, tedy nejsou jen nežádoucí neadaptivní variabilitou (Carere & Locurto 2011), ale byl doložen těsný vztah mezi behaviorálním profilem zvířete a jeho „life-history“ (např. Wilson 1994, Réale *et al.* 2000). Prokázána byla také výrazná dědivost některých osobnostních rysů zvířat (Drent *et al.* 2003).

### 2.2 Vnitrodruhová variabilita v chování - vymezení pojmů

#### 2.2.1 Osobnost

Vnitrodruhové rozdíly v chování, které jsou konzistentní v čase, v různých situacích a kontextech jsou nejčastěji označovány jako osobnost (personalita). Z pohledu behaviorální ekologie jsou v současné době akceptovány dva koncepty osobnosti (Réale *et al.* 2007, 2010). Zvířecí osobnost v širším slova smyslu (*broad sense personality concept*, Réale 2007) je definována jako konzistentní inter-individuální rozdíly ve vybraném druhu chování (např. reakce na predátora). Tento koncept je nejčastěji používán ve studiích zabývajících se vlivem selekce na evolučně významná chování.

Naproti tomu definice osobnosti v užším slova smyslu (*narrow sense personality concept*, Réale 2007) pracuje se soubory vzájemně korelovaných chování (osobnostními rysy/dimenzemi), které společně vytvářejí mnohorozměrnou charakteristiku psychických vlastností každého jedince. Těmito osobnostními rysy mohou být na mezidruhově univerzální úrovni například odvaha (*boldness* - reakce zvířete na stresovou situaci jako je například průzkum nového prostředí apod.), sociabilita (reakce na jedince stejného druhu, nezahrnuje agresivní reakce) a agresivita (intenzita řešení konfliktních situací silou). Tento koncept se přibližuje pojetí osobnosti v lidské psychologii (Pervin & John 1997) a také ve fyziologických studiích (zde je označován jako "coping style", Koolhaas *et al.* 1999, více Kap. 2.2.5 „Coping style“).

V behaviorálních studiích se lze také velmi často setkat s termínem "temperament" (např. Réale *et al.* 2000), jehož definice se shoduje s pojetím personality v užším slova smyslu (Réale *et al.* 2010).

## 2.2.2 Behaviorální syndrom

Tento koncept je velmi často používán v behaviorální ekologii. Na rozdíl od konceptu osobnosti v užším slova smyslu (viz předchozí kapitola) není jeho základem předem daný soubor vzájemně nezávislých osobnostních rysů. Behaviorální individualita je sledována na úrovni jednotlivých chování a jejich vzájemné vztahy jsou zjišťovány až následně.

Takto bylo zjištěno, že vztahy mezi jednotlivými osobnostními dimenzemi se mohou lišit u jedinců z různých populací stejného druhu. Příkladem mohou být výsledky studie provedené na koljuškách tříostných (*Gasterosteus aculeatus*, Dingemanse *et al.* 2007). U ryb z populace žijící v prostředí s vysokým predaním tlakem byla nalezena korelace mezi agresivitou, aktivitou a exploračním chováním. Nicméně chování ryb z rybníka, v němž byla zjištěna jen velmi malá predace, tento trend nevykazovalo. Tento výsledek poukazuje na to, že povaha behaviorálních syndromů není pouze výsledkem náhodného evolučního procesu, ale také důsledkem adaptivních procesů.

Studie zaměřené na behaviorální syndromy se velmi často zabývají otázkou přítomnosti vnitrodruhové variability v chování, která se z pohledu evoluční biologie jeví jako velmi neadaptivní. Podle teorie sociální niky (Bergmüller & Taborsky 2010) je však pro každého jedince výhodné chovat se unikátním a pro ostatní jedince předvídatelným způsobem. Pouze takto je možné využít všechny druhy sociálních i ekologických nik, které má určitý druh k dispozici. Podle teoretické práce Sih a kolektivu (2004) jsou vysoce agresivní jedinci zvýhodněni v prostředí se silným kompetičním tlakem (prostředí s nedostatkem zdrojů - např. potrava, rozmnožovací partneři apod.). Tito jedinci jsou však znevýhodněni v prostředích s vysokou mírou predace (míra agresivity je velmi často přímo úměrná tendenci riskovat Huntingford 1976 ex Sih *et al.* 2004). V takovémto typu prostředí se naopak lépe prosadí méně agresivní jedinci, pro které je typická zvýšená míra opatrnosti a pozornosti (Sih *et al.* 2004)

V rámci konceptu behaviorálního syndromu je možné rozlišovat ještě behaviorální typ (Sih *et al.* 2004). Ten může být vnitrodruhové povahy a označovat individuální vlastnost jedince nebo mezidruhové, kdy charakterizuje behaviorální vlastnosti celého druhu.

### 2.2.3 Shy-bold kontinuum

Koncept shy-bold byl převzat z lidské psychologie. Jeho pomocí lze kvantifikovat individuální rozdíly v chování, a to u širokého spektra živočišných druhů – např. u kočkodana obecného (Fairbanks 1993), kočky domácí (Feaver *et al.* 1986), psa (MacDonald 1983), potkana (Blanchard *et al.* 1986), křepelky japonské (Jones 1991) či slunečnice pestré (Coleman & Wilson 1998).

Podstatou jeho vymezení jsou individuální rozdíly v reakcích zvířat na nové a/nebo riskantní situace (Coleman & Wilson 1998). Krajní body shy-bold kontinua jsou poté reprezentovány jedinci označovanými jako „shy“ (bojácná zvířata) a „bold“ (odvážná zvířata). Zatímco jedinci typu „bold“ reagují na nový podnět se zájmem a snaží se jej, i přes možné riziko, prozkoumat (např. vystavení se predátorovi), jedinci „shy“ jsou ve stejné situaci zdrženlivější (Coleman & Wilson 1998). Poloha v shy-bold kontinuu je stabilní v biologicky relevantních úsecích ontogeneze - jedinci, kteří jsou v mládí charakterizováni jako „shy“ se budou s velkou pravděpodobností projevovat jako „shy“ i v dospělosti (Kagan *et al.* 1987).

Pozice v shy-bold kontinuu souvisí s celou řadou dalších charakteristik jedince. Jednou z nich je i jeho „trapabilita“ - pravděpodobnost, s jakou je možné volně žijící zvíře odchytit (Melbourne 1999). Příkladem může být studie uskutečněná na slunečnicích pestrých (*Lepomis gibbosus*). Bylo zjištěno, že pokud jsou k odchytu používány pasti vyžadující aktivní přístup zvířete, dochází k odchycení zejména jedinců „bold“, zatímco zvířata „shy“ se tomuto typu pasti vyhnou (Wilson *et al.* 1993). Vzhledem k tomu, že v drtivé většině případů je k odchytu volně žijících živočichů používán právě tento typ pasti, může docházet k nevědomému a velmi často i nechtěnému selektování úzkého spektra osobnostních typů. To může mít za následek podhodnocení abundance sledované populace či zkreslení výsledků studií, ke kterým jsou takto odchycená zvířata dále používána (např. individuální variabilita v chování může souviset s variabilitou v kognitivních schopnostech, Carere & Locurto 2011, či fyziologických charakteristikách, Koolhaas *et al.* 1999).

### 2.2.4 Fast-slow kontinuum

Tento model vychází ze studií na sýkorách koňadrách (*Parus major*). Jedním z jeho základů je selekce jednotlivých linií sýkor na základě jejich aktivity v novém prostředí (Sih *et al.* 2004). Takto byly získány osobnostní typy „fast“, které ve srovnání s jedinci

„slow“ aktivněji exploruji nové prostředí (Verbeek *et al.* 1994 ex Fucikova *et al.* 2009, Sih *et al.* 2004). Následně bylo zjištěno, že „fast“ sýkory také prokazují větší odvahu při obraně hnízda (Hollander *et al.* 2008 ex Fucikova 2009) a jsou celkově agresivnější (Verbeek *et al.* 1996 ex Fucikova *et al.* 2009).

Selekčními studii byla také doložena role dědičnosti u některých osobnostních charakteristik (Drent *et al.* 2003, van Oers *et al.* 2004). U reakce na nové podněty byla zjištěna dědivost o přibližné hodnotě 54 % (Drent *et al.*, 2003). V ochotě riskovat byly selektovány po dvě generace dvě linie - s nízkou a vysokou úrovní. Jedinci s nízkou hodnotou k riskování se navraceli ke krmení po vyrušení po delší době než jedinci s vysokou hodnotou. Hodnota dědivosti v ochotě riskovat zde činila přibližně 19 % (van Oers *et al.* 2004).

### 2.2.5 „Coping style“

„Coping style“ je definován jako soubor behaviorálních a fyziologických odpovědí na stres, které jsou pro daného jedince unikátní a jejichž povaha je konzistentní v čase a v různých situacích (Koolhaas *et al.* 1999, de Ruiter *et al.* 1992, Sgoifo *et al.* 1996). Tento koncept byl dosud uplatněn u různých druhů zvířat, jako je potkan (*Rattus norvegicus*), myš domácí (*Mus musculus domesticus*), prase divoké (*Sus scrofa*), či makak rhesus (*Macaca mulatta*, celkový přehled v Koolhaas *et al.* 1999).

Studie zaměřené na „coping style“ velmi často dokládají velmi těsnou vazbu mezi osobnostním typem zvířete a jeho fyziologickými charakteristikami. Podle Koolhaase a kolektivu (1999) se obecně proaktivní jedinci hlodavců vyznačují nižší reaktivitou osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (dále jen HPA osa, při stresové zátěži se projeví nízkou hladinou glukokortikoidů v plazmě) a vyšší sympatickou reaktivitou (při stresové zátěži se projeví vysokou hladinou katecholaminů). Naproti tomu reaktivní jedinci vykazují vyšší reaktivitu HPA osy a vyšší parasympatickou reaktivitu.

V devadesátých letech byly provedeny selekční studie na myších domácích (*Mus musculus domesticus*). Jedinci byly vyselektovány na základě latence útoku na linie „short attack latency“ (SAL, rychle útočící) a „long attack latency“ (LAL, pomalu útočící, Benus *et al.* 1989). Jedinci SAL byli více agresivní, rychleji prozkoumávali nové prostředí, ale byli také více náchylní k rutinnímu chování. Jedinci LAL naopak byli méně agresivní, pomaleji prozkoumávali nové prostředí, ale více si všímali detailů a byli více plastičtí v chování (Benus *et al.* 1990). Bylo také zjištěno, že SAL a LAL

myši se liší v hladinách testosteronu, kdy jedinci SAL vykazují vyšší hladiny než jedinci LAL (de Ruiter *et al.* 1992).

Ve studii provedené na divokých potkanech (*Rattus norvegicus*) chovaných v laboratoři, kteří byli stejně jako v případě výše uvedené práce na myších selektováni na základě latence útoku, měli SAL jedinci vyšší sympatiko-adrenomedulární reaktivitu (koncentrace katecholaminů v plasmě) zároveň vykazovali vyšší úzkostnost (Sgoifo *et al.* 1996). Přítomnost vztahu mezi osobnostními a fyziologickými charakteristikami dokládá i studie provedená na divoké populaci svišťů alpských (*Marmota marmota*), která našla pozitivní vztah mezi zájmem o nové podněty a dechovou a srdeční frekvencí (Ferrari *et al.* 2013).

## **2.3 Dechová frekvence a osobnostní rysy**

### **2.3.1 Dýchání obratlovců**

Základní funkcí dýchání je výměna plynů (příjem kyslíku, výdej oxidu uhličitého). Tato funkce je zajišťována dýchací soustavou, díky níž dochází k pasivní difuzi plynů mezi organismem a vnějším prostředím. Primárními dýchacími orgány obratlovců jsou žábry a plicní vaky nebo plíce. U savců jsou to plíce, které vznikly zdokonalením plicních vaků (viz např. Gaisler & Zima 2007).

Výměna plynů je také zajišťována kožním dýcháním, a to na základě difúze. Tento způsob dýchání lze považovat za pozůstatek po nižších strunatcích (Gaisler & Zima 2007). U vyšších obratlovců tvoří kožní dýchání jen nepatrný podíl na výměně plynů (cca 1 %), neboť povrch plic (padesátkrát až stokrát větší než povrch kůže) zvládá zajistit téměř celou výměnu plynů. Podíl dýchání kůží se u vyšších obratlovců mírně zvyšuje při práci, např. u koně se může zvýšit až na 8 % (Koudela 2003).

### **2.3.2 Dýchací centrum**

Centrum dýchání, jehož činnost je regulována neurohumorálně, je uloženo v prodloužené míše. Z funkčního hlediska má dvě části, vdechovou a výdechovou. Dýchací centrum vysílá rytmické impulzy k dýchacím svalům. V humorální regulaci se uplatňují chemoreceptory, které registrují podněty jako jsou parciální tlak (p) CO<sub>2</sub> a pH a pO<sub>2</sub>, čímž dochází k podráždění dýchacího centra (viz např. Sova 1990, Koudela 2003).

### 2.3.3 Činnost dýchací soustavy

Činnost dýchací soustavy spočívá ve ventilaci plic a respiraci. Při ventilaci plic dochází k výměně vzduchu v plicích, to je zajišťováno změnami tlaku v dýchací soustavě. Působením dýchacích svalů se mění při vdechu a výdechu objem hrudní dutiny, změny objemu se přenášejí i na plíce. Změny v jejich objemu umožňuje negativní tlak mezi pohrudnicí a poplicnicí (v pohrudničním vaku), který je nižší než atmosférický, u koně např. činí na konci vdechu 4,0 kPa a na konci výdechu 1,33 kPa, a retrakční síla plic, která je dána jejich pružností (Koudela 2003, Sova 1990).

Respirační funkce má několik úrovní - dýchání vnější, vnitřní, tkáňové a nitrobuněčné. Při vnějším dýchání dochází k výměně plynů mezi vnějším prostředím a plícemi, během vnitřního dýchání dochází k výměně plynů mezi vzduchem v plicích sklípcích a krví, dýchání na tkáňové úrovni zajišťuje dýchání mezi krví a tkáněmi (Koudela 2003).

Vzhledem k tomu, že je má práce zaměřená na dechovou frekvenci, je dále detailněji popsáno pouze dýchání vnější.

### 2.3.4 Dýchání vnější

Jak již bylo uvedeno výše, vnější dýchání zajišťuje výměnu plynů mezi vnějším prostředím a plícemi. Vdechovaný vzduch obsahuje 78,06 % dusíku, 20,98 % kyslíku, 0,92 % vzácných plynů a jen 0,04 % oxidu uhličitého. Pouze 5 % kyslíku je z vdechovaného vzduchu zachyceno v organismu a přibližně stejné množství je vydechováno oxidu uhličitého spolu s vydechovaným vzduchem. Vydechovaný vzduch skládající se obecně u savců z 16,3 % kyslíku, 4,2 % oxidu uhličitého a 79,5 % dusíku může vykazovat určité mezidruhové rozdíly (Sova 1990, Koudela 2003).

Zevními projevy dýchání jsou jeho různé atributy: dýchací šelesty, dechová frekvence a hloubka dechu. Jednotlivé typy dýchání rozlišujeme na základě toho, zda převažují pohyby mezižeberních svalů nebo bránice. Tímto způsobem lze dýchání rozlišit na žeberní, břišní anebo smíšený typ. Dýchací šelesty vznikají při proudění vzduchu v jednotlivých částech dýchací soustavy - buď mohou být trubicové (tracheální a bronchiální), vytvářené v hrtanu, průdušnici, průduškách, nebo sklípkové (vezikulární, alveolární), které se vytvářejí při vniknutí vzduchu do alveolů (Koudela 2003, Sova 1990, Čihák 2002).



### 2.3.5 Dechová frekvence

Dechová frekvence, nejčastěji vyjádřená počtem dechů za minutu, je zpravidla závislá na věku, pohlaví, velikosti a reprodukčním stavu zvířete a řadě dalších faktorů. Ke zvýšení počtu dechů dochází se stoupající pracovní zátěží, zvýšením teploty zevního prostředí, po požití velkého množství potravy či při březosti. Naopak ke snížení dochází se zvyšující se tělesnou hmotností a s přibývajícím věkem (Koudela 2003, Sova 1990).

Dechová frekvence je u malých zvířat vyšší než u velkých, což je z části způsobeno jejich rychlejším metabolismem (Crosfill & Widdicombe 1961). U savců jako je kočka se dechová frekvence pohybuje od 20 do 50 dechů.min<sup>-1</sup> a u psa od 10 do 40 dechů.min<sup>-1</sup> (Kleinman & Radford 1964). Dechová frekvence menších savců, např. myši, se pohybuje od 80 do 200 dechů.min<sup>-1</sup>, u křečka a potkana od 60 do 110 dechů.min<sup>-1</sup>, u morčat od 70 do 100 dechů.min<sup>-1</sup> (Kleinman & Radford 1964). U bělozubky nejmenší (*Suncus etruscus*) se průměrná dechová frekvence pohybuje kolem 661 dechů/min (Jürgens *et al.* 1996). U rejska šedého (*Sorex cinereus*) vážícího 3,4 g je to dokonce 800 dechů.min<sup>-1</sup> (Morrison *et al.* 1953 ex Calder 1968).

### 2.3.6 Vztah dechové frekvence a srdečního tepu

Dechová frekvence je stejně jako tepová frekvence z velké části kontrolována autonomním nervovým systémem. Změny dechové frekvence vyvolané stresem proto reflektují změny srdečního tepu (Carere & van Oers 2004). Zajímavé jsou však výsledky studie provedené na lidech, kde bylo zjištěno, že dechová frekvence koreluje nepřímo úměrně se srdeční dechovou frekvencí, a to pouze u mužů, u žen tento vztah nebyl prokázán (Wallin *et al.* 2010). V práci, která testovala divokou populaci svišťů (*Marmota marmota*) byla zjištěna pozitivní korelace mezi dechovou frekvencí a srdečním tepem (Ferrari *et al.* 2013). K výraznému snížení frekvence dýchání a srdečního tepu dochází u savců např. při hibernaci nebo estivaci, kdy se snižují nároky na respirační výměnu plynů při zpomalení metabolismu (viz např. Bartholomew *et al.* 1957, Lyman 1982 ex Thomas *et al.* 1990).

### 2.3.7 Reakce na stres

Při stresu dochází vlivem vnějších a vnitřních faktorů (stresorů) k narušení vnitřní rovnováhy -homeostáze (Barreto & Volpato 2004, Reeder & Kramer 2005). Stresory

mohou být fyzického, psychického nebo kombinovaného charakteru. Mezi vnitřní tělesné stresory patří např. hypoglykémie, anoxie, mezi vnější např. chlad, nebo naopak teplo, pohybová (pracovní) aktivita nebo zranění. Mezi psychické stresory patří podněty, které ovlivňují emoce (vyvolávají strach, hněv, úzkost (anxieta). V reakci na stresor pak přichází stresová odpověď, která je souborem fyziologických a behaviorálních reakcí a slouží k neutralizaci působení stresoru a obnovení homeostáze (Reeder & Kramer 2005).

Vzhledem k tomu, že je v těchto situacích nutné mobilizovat co nejvíce energie, dochází ke zvýšení aktivity neurálně-autonomního systému a humorální sekreci (Renwartz & Spielvogel 2011, Barreto & Volpato 2004, Reeder & Kramer 2005). Nejdůležitějšími fyziologickými reakcemi na stres jsou u savců stimulace sympatického nervového systému a humorální osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (tzv. HPA osa). První systém zajišťuje velmi rychlou odpověď - po aktivaci sympatického nervového systému dochází k uvolnění katecholaminů adrenalinu a noradrenalinu, přičemž zvýšení jejich hladin bezprostředně způsobí zvýšení dechové frekvence, krevního tlaku a tepové frekvence (Reeder & Kramer 2005, Rietmann *et al.* 2004 Renwartz & Spielvogel 2011). Druhý systém je pomalejší - po aktivaci paraventriculárního jádra hypotalamu neurony začnou syntetizovat kortikotropin („releasing“ hormon) a vasopresin. Kortikotropin putuje k adenohipofýze (přední lalok hypofýzy) a dochází k uvolnění adrenokortikotropinu (dále jen ACTH) do krevního oběhu. ACTH pak působí na kůru nadledvin. Jeho vlivem dochází k sekreci glukokortikoidů, které zvyšují dostupnou energii pomocí zvýšené glykoneogeneze, sníženého využití glukózy, snížené citlivosti k inzulínu (Reeder & Kramer 2005).

Jak je uvedeno výše, v odpovědi na stres dochází k zvýšení dechové frekvence. Například průměrná stresová dechová frekvence bělozubky nejmenší, zjištěná po doteku tyčky na čenich testovaného jedince, je 758 dechů.min<sup>-1</sup>. Oproti naměřené bazální dechové frekvenci (661 dechů/min) je 1,15 krát větší (Jürgens *et al.* 1996). Dechová frekvence je tak využívána v mnoha pracích jako ukazatel stresu (např. na rybách, Bell *et al.* 2010, Barreto & Volpato 2004, Barreto *et al.* 2003, na ptácích Carere & Oers 2004, Oers & Carere 2007, Davit *et al.* 2011, na savcích Jürgens *et al.* 1996).

Reakce na stresovou situaci může být značně individuální (Bell *et al.* 2010). Vnitrodruhové rozdíly existují především v rychlosti navýšení hladiny katecholaminů (Koolhaas *et al.* 1999). Právě katecholaminy ovlivňují dechovou frekvenci (Rietmann *et*

*al.* 2004 Renwranz & Spielvogel 2011) a lze tak předpokládat, že jedinci snáze podléhající stresu budou i rychleji dýchat (Bell *et al.* 2010). Právě tato možná souvislost mezi osobnostním profilem zvířete a změnou dechové frekvence vyvolané stresem se v poslední době dostala do popředí vědeckého zájmu. Dosud provedené studie však nepřinášejí jednoznačné výsledky (více viz Kap. 2.3.9 Vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci).

### **2.3.8 Metody měření dechové frekvence**

Metody měření dechové frekvence jsou u jednotlivých skupin obratlovců různé. U ryb se k měření dechové frekvence využívá vizuální metoda, při níž se počítají pohyby skřele. Jedná se o neinvazivní metodu, která je hojně využívána (např. Bell *et al.* 2010, Barreto & Volpato 2004, Barreto *et al.* 2003). Může být měřena doba, během které dojde k 20 pohybům skřele (Barreto & Volpato 2004), či se měří počet pohybů skřele za určitou jednotku času (např. 15 s, Bell *et al.* 2010). U ptáků se využívá měření pohybů prsou za určitý časový úsek (David *et al.* 2012, van Oers & Carere 2007, Carere & van Oers 2004, Fucikova *et al.* 2009).

U malých savců je měření dechové frekvence poměrně složité. Ve studii Jürgense a kolektivu (1996) byla dechová frekvence bělozubky nejmenší měřena pomocí elektrokardiografie dále (EKG), kdy elektrody snímaly elektrické změny při pracovní aktivitě svalů v podobě elektrokardiogramu. Původně byla tímto způsobem měřena tepová frekvence srdce, nicméně v průběhu studie bylo zjištěno, že kromě ní je snímána i frekvence dechová, a to v důsledku elektrické aktivity dýchacích svalů při vdechování. Bylo také zjištěno, že výsledky z EKG souhlasí s výsledky získanými pomocí laserového systému s automatickým zaostřováním (měřil pohyby hrudníku v rozsahu mikrometrů, aniž by se dotýkal zvířete, Jürgens *et al.* 1996). Další možností je použití piezoelektrického převodníku (PZT), který lze kombinovat s EKG a lze tak současně získat záznam dechové a tepové frekvence (Zehendner *et al.* 2013).

### **2.3.9 Vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci**

Jak již bylo uvedeno, zvířata stejného druhu se nemusí lišit pouze ve svém chování, ale i ve fyziologických charakteristikách (Koolhaas *et al.* 1999). V současné době je značná pozornost věnována možnému vztahu mezi osobnostním profilem zvířete a změnou dechové frekvence vyvolané stresem (např. Bell *et al.* 2010, Carere & Oers

2004, David *et al.* 2012). Výsledky dosud provedených studií budou popsány v následujících odstavcích.

Vnitrodruhovou variabilitu, tentokrát na úrovni jednotlivých populací stejného druhu, dokazuje práce provedená na koljuškách tříostných (*Gasterosteus aculeatus*, Bell *et al.* 2010). Bazální dechová frekvence se u sledovaných ryb pohybovala kolem 72 dechů.min<sup>-1</sup>. Po přenosu koljušky do kádinky s vodou byla měřena její změna vyvolaná stresem. V prvních 15 s po přenosu byla dechová frekvence nejvyšší, během dalších tří 15 s intervalů se dechová frekvence snižovala. Průměrná hodnota dechové frekvence během jedné minuty pozorování byla 108 dechů.min<sup>-1</sup>, maximální činila 174 dechů.min<sup>-1</sup>. Mezi sledovanými populacemi byly tímto způsobem zjištěny podstatné rozdíly - ryby z populací s vysokým predačním tlakem vykazovali větší změny dechových frekvencí, než tomu bylo u jedinců z málo predovaných populací.

Přítomnost vnitrodruhové variability dokazují také práce provedené na ptácích (Carere & van Oers 2004, David *et al.* 2012), avšak jejich výsledky nejsou jednoznačné. Ve studii Carera a van Oerse (2004) byly testovány dvě skupiny sýkor koňader (*Parus major*) - odchycené divoké sýkory a sýkory z vyselektovaných linií (FAST a SLOW, viz Kap. 2.2.4 Fast-slow kontinuum). U divokých sýkor byla na začátku měření (ihned po odchyty) dechová frekvence vyšší než dechová frekvence naměřená po pěti minutách strávených v látkovém pytlíku. U selektovaných sýkor nebyl příliš nápadný rozdíl v dechové frekvenci mezi dvěma měřeními. Byl zjištěn nápadný vztah mezi změnou dechové frekvence a osobnostním typem zvířete - jedinci SLOW měli v obou měřeních vyšší dechovou frekvenci než jedinci FAST.

Také další studie tentokrát zaměřená na 14 denní mláďata sýkory koňadry ze selektovaných linií a z divoké populace prokázala vztah mezi osobnostním typem zvířete a jeho dechovou frekvencí. U mláďat a následně dospělců ze selektovaných linií byla u jedinců FAST zjištěna vyšší dechová frekvence než u jedinců SLOW. U mláďat divokých sýkor byl zjištěn pozitivní vztah mezi individuální mírou explorační a dechovou frekvencí (Fucikova *et al.* 2009). Nicméně, podobná studie provedená na samicích zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*) podobnou závislost neuvádí (David *et al.* 2012).

Jak již bylo zmíněno dříve (viz Kap. 2.2.5 „Coping style“), výsledky studie provedené na divoké populaci svišťů alpských dokazují pozitivní korelaci mezi dechovou frekvencí, srdečním tepem a explorační (Ferrari *et al.* 2013).

Právě rozporuplnost uvedených výsledků byla jednou z hlavních motivací k vypracování této bakalářské práce. Jako studovaný druh byl vybrán hraboš polní (*Microtus arvalis*), u něhož byla prokázána přítomnost konzistentní vnitrodruhové variability v chování (Lantová *et al.* 2011).

## **2.4 Studovaný druh**

### **2.4.1 Biologie druhu**

Hraboš polní je jedním z nejhojnějších druhů naší fauny, který je rozšířen po celém území (Kratochvíl *et al.* 1959). Dnes můžeme tento druh, původně obývající stepi, nalézt v kulturních zemědělských krajinách střední Evropy. Hojně se vyskytuje na polích, úhorech, holých mezích, loukách a v podobných travnatých habitatech (Pelikán 1955, Zejda *et al.* 2002), ale při vysokých populačních hustotách se s ním můžeme setkat i na okraji lesa (Zejda *et al.* 2002). Hraboši polní vykazují polyfázickou aktivitu (Niethammer & Krapp 1982).

Jako zdroj potravy si přednostně vybírá trvalé porosty s dostatkem zelené hmoty (Holišová 1959, Zejda *et al.* 2002). Kromě zelených částí rostlin obsahuje potrava hraboše také semena a kůru dřevin. Potřeba zelené hmoty přijímané v potravě klesá s věkem zvířete. Subadultní jedinci se živí zejména zelenou potravou, obsah semen v potravě subadultních jedinců nepřesahuje většinou 5 %. Adultní jedinci mají již větší zastoupení semen v potravě. U adultních jedinců, zejména u samic je pak součástí potravy i malý podíl živočišné složky. Složení stravy se mění též během ročních období (Holišová 1959).

### **2.4.2 Reprodukce**

Rozmnožuje se hlavně od března do poloviny listopadu (Moravec 1985). V květnu je v rozmnožování zapojeno nejvíce samic, většina je březích nebo kojí (Pelikán 1959b). Pokud jsou dobré podmínky, mohou se rozmnožovat i přes zimu (Moravec 1985, Boyce & Boyce 1988a). Samice pohlavně dospívají rychleji než samci, některé mohou zabřeznout již ve stáří 15 až 20 dnů, naproti tomu samci se zapojují do rozmnožování ve stáří 25 až 30 dní. Průměrně samice poprvé zabřezávají ve stáří 4-6 týdnů (Pelikán 1959b). Délka březosti je 19 až 21 dnů, nejčastěji je v jednom vrhu 5 až 6 mláďat, naproti tomu jedno mládě ve vrhu je ojedinělé (Pelikán 1959b). Jarní kohorty žijí od 2

do 7 měsíců, zatímco letní až podzimní kohorty mohou žít až 10 měsíců (Moravec 1985).

Samice se shromažďují do skupin kolem třech samic a obsazují rozsáhlé hnízdní systémy a společně vychovávají potomky, kteří později dispergují do blízkého okolí (Dobly 2009, Boyce & Boyce 1988a). Hnízdní systém se skládá z několika zásobáren potravy, východů, hnízdních komor a únikové chodby (Boyce & Boyce 1988b, Pelikán 1959a). Používané chodby jsou udržované v čistotě, vyhlazené a zbavené přesahujících kořínků a kamínků, nepoužívané chodby se časem rozpadají a zarůstají kořeny (Pelikán 1959a). Pokud je vysoká populační hustota, jsou některé samice ze skupiny vyhnány. Ty pak osidlují malé hnízdní nory a potomstvo vychovávají samostatně (Boyce & Boyce 1988b). Zajímavé je, že solitérní samice mají vyšší reprodukční úspěšnost, než samice žijící ve skupinách (Boyce & Boyce 1988b).

Samci nemají stálé území, ale postupně navštěvují v době rozmnožování říjné samice v koloniích (Pelikán 1959a, Nithammer & Krapp 1982). Samci zůstávají se samicí do té doby, než zabřezne, a poté vyhledávají další samici, která je právě v říji (Pelikán, 1959a). Protože jsou samci připraveni na rozmnožování o několik týdnů dříve, je pravděpodobné, že samice mají ovulaci na začátku reprodukční sezóny vyprovokovanou (Zejda *et al.* 2002).

Na podzim se utlumuje pohlavní aktivita a tím i rivalita samců (Pelikán 1959a). Utváří se zimní společenstva, ve kterých nezáleží na pohlaví nebo stáří jedince (Nithammer & Krapp 1982, Pelikán 1959a). Nejčastěji jsou zimní společenstva tvořena příbuznými jedinci, ale mohou zde být i jedinci nepříbuzní (Pelikán 1959a).

### **3. CÍLE PRÁCE**

**Cílem této bakalářské práce je odpovědět na následující otázky navržené na základě současné literatury věnující se vnitrodruhové variabilitě v behaviorálních a fyziologických charakteristikách zvířat:**

1. Vykazuje studovaný druh vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem?
2. Jsou případné individuální rozdíly v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem konzistentní?
3. Souvisí případná vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci s vnitrodruhovou variabilitou v chování studovaného druhu? (Behaviorální data byla převzata z diplomové práce Mgr. Gabriely Urbánkové, která s jejich poskytnutím souhlasila.)

## 4. MATERIÁL A METODIKA

### 4.1 Zvířata a podmínky chovu

K pokusům byli použiti laboratorně odchovaní hraboši polní (*Microtus arvalis*) pocházející z první generace mláďat získaných množením jedinců odchycených ve volné přírodě. Zvířata byla po odstavu chována individuálně v chovných boxech typu Velaz T3. Jako podestýlka byly použity dřevěné hobliny, plastová trubička sloužila jako úkryt. Chovné boxy byly umístěny do chovné místnosti s kontrolovanou teplotou (18-20 °C) a světelným režimem (12/12). Základem krmení byly směsi pro hlodavce MOK a ST1 doplněné o tvrdý chléb, seno, čerstvou trávu a kořenovou zeleninu. Potrava i voda byly zvířatům po celou dobu přístupné *ad libitum*. Všichni testovaní jedinci byli při odstavu individuálně označeni a v pravidelných intervalech váženi.

### 4.2 Experimentální design

#### 4.2.1 Open Field test

„Open Field“ test (dále jen OFT) je behaviorální experiment sloužící k ohodnocení individuální míry explorační aktivity, spontánní lokomoční aktivity a anxiety zvířat (Hall 1934). Jeho principem je umístění sledovaného jedince do prázdné, nasvícené aparatury, která je výrazně větší než jeho domovský box. Takovýto typ prostředí vyvolává ve zvířeti explorační chování, které je u úzkostných jedinců potlačováno strachem z otevřeného a nasvíceného prostoru (Archer, 1973).

Průběh testu je zaznamenáván kamerou a následně je hodnoceno celkové trvání a frekvence výskytu vybraných prvků chování (např. lokomoce, panáčkování, čištění) či je měřena délka trajektorie pohybu zvířete. Reakce zvířat mohou být značně individuální, přičemž za spolehlivý ukazatel míry vyvolaného strachu lze považovat sníženou lokomoční aktivitu (tj. krátkou trajektorii pohybu), zdržování se u stěn aparatury (tzv. thigmotaxe) či zvýšenou defekaci (viz např. Hall 1934, Archer 1973).

OFT byl na sledovaných zvířatech proveden v rámci diplomové práce kolegyně Gabriely Urbánkové, která souhlasila s použitím získaných dat v mojí bakalářské práci. V průběhu OFT byl testovaný hraboš umístěn do neprůhledné aparatury o rozměrech 75 x 75 cm, která byla rovnoměrně nasvícená 18 W zářivkou. Zvířata byla z chovného boxu do pokusné aparatury přenášena v PVC trubičce, která byla součástí jejich chovných boxů. OFT probíhal po dobu tří minut a byl zaznamenán kamerou.

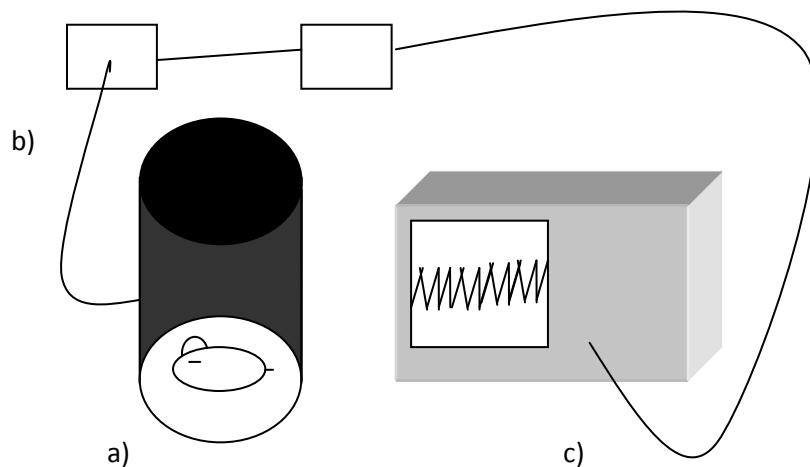


Po ukončení každého testu byla aparatura vytřena naředěným lihem a vyčištěna, s cílem zamezit možnému ovlivnění chování dalších testovaných zvířat pachovými značkami. OFT byl proveden na každém testovaném jedinci celkem pětkrát. Analýza videozáznamů byla provedena pomocí programu „Modular tracking system 1.07“, kterým lze sledovat pohyb zvířete v testovací aparatuře. Výstupní informací je délka trajektorie, která je udávána v metrech.

Jednotlivé délky trajektorií byly následně zprůměrovány a výsledná hodnota použita jako behaviorální charakteristika každého jedince. Délku trajektorie, kterou zvíře v Open Field testu urazilo, lze považovat za jeho osobnostní charakteristiku, jelikož byla prokázána konzistentní povaha tohoto parametru (Urbánková DP 2012).

#### **4.2.2 Měření dechové frekvence**

Dechová frekvence byla měřena pomocí respirometrické komůrky o objemu  $3 \text{ dm}^3$  napojené na tlakový převodník zaznamenávající změny tlaku v komůrce, které jím byly převedeny na změny elektrického napětí. Tyto změny elektrického napětí v čase se pak zobrazovaly na obrazovce osciloskopu, který byl na tlakový převodník napojen - viz Obr 1: Schéma propojení jednotlivých částí a Obr. 2: Umístění měřícího zařízení v pokusné místnosti. Komůrka byla vybavena dvojitým dnem, do kterého byl vložen filtrační papír nasáklý roztokem hydroxidu draselného o koncentraci  $1 \text{ mol.l}^{-1}$ , který sloužil jako absorbent oxidu uhličitého. Vydechovaný oxid uhličitý by totiž zvyšoval hladinu oxidu uhličitého v komůrce. Zvýšená hladina oxidu uhličitého by pak ovlivnila dechovou frekvenci hraboše. Důležitá také byla koncentrace kyslíku ve vzduchu, pokles této koncentrace by neměl být větší než 4% (Sova 1990). Pracovali jsme s údajem, že drobný savec velikosti hraboše spotřebuje 3 ml kyslíku na 1g tělesné hmotnosti a hodinu (Vyskočil 2004, Daan & Slopsema 1978). V našem pokusu jsme tedy uvedenou kritickou hranici zdaleka nepřekročili.



Obr. 1: Schéma propojení jednotlivých částí. a) respirometrická komůrka s dvojitým dnem napojená na b) tlakový senzor, propojený s c) osciloskopem – výstupní informace.

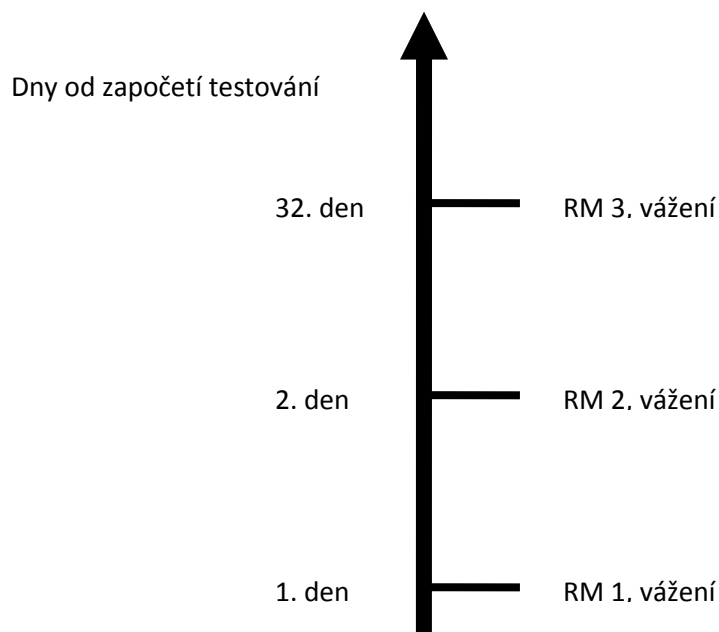


Obr. 2: umístění měřícího zařízení v pokusné místnosti.

Testovaný hraboš byl do respirometrické komůrky přemístěn pomocí PVC trubičky, která byla součástí jeho domácího boxu. Měření dechové frekvence probíhalo celkem 20 minut a jeho průběh byl kamerově zaznamenáván. Testovaný jedinec byl ihned po umístění do komůrky vystrašen zvukovým signálem - tímto způsobem byla získána individuální hodnota stresové dechové frekvence (*stress breath frequency*, SBF).

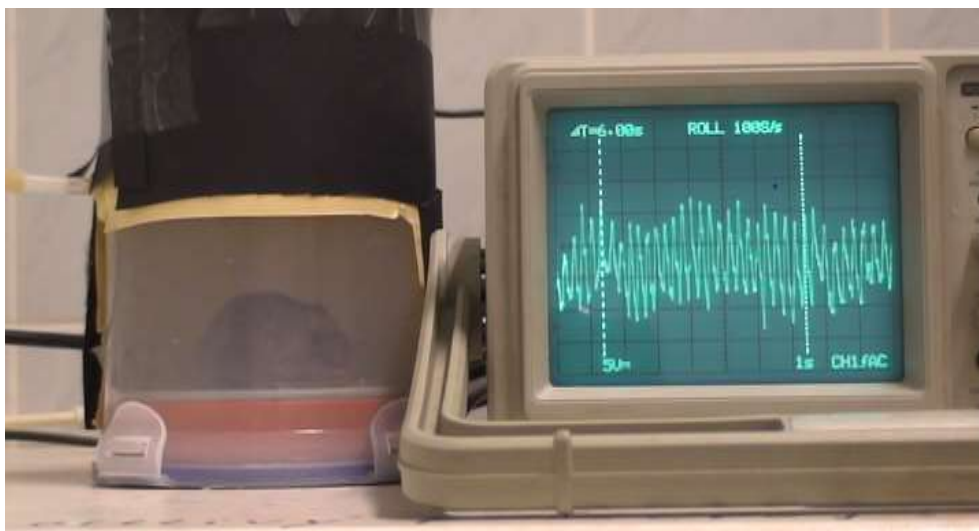
Po uklidnění (usnutí, ležení) byla poté odečtena klidová dechová frekvence (*resting breath frequency*, RBF). Zaznamenána byla také latence tohoto uklidnění. Každý jedinec byl po skončení testu zvážen.

Po každém sezení byla komůrka vmyta vodou, naředěným lihem a vysušena, aby bylo zamezeno ovlivnění chování zvířat pachem předchozích jedinců. Každý hraboš (N= 29) byl testován celkem třikrát (RM - respiratory measurement 1-3). Odstup mezi prvním a druhým sezením byl 24 hodin, třetí sezení bylo provedeno s měsíčním odstupem od druhého (časovou posloupnost jednotlivých testů měření dechové frekvence znázorňuje Obr. 3).



Obr. 3: Znázornění časové posloupnosti jednotlivých testů měření dechové frekvence. Jako RM 1 je znázorněno první měření dechové frekvence, RM 2 a RM 3 pak znázorňují repetice měření dechové frekvence.

Výstupní parametry (SBF, RBF, latence uklidnění) byly vyhodnocovány z kamerového záznamu experimentálních sezení (Obr. 4 - záznam z 1. sezení, Hraboš ID 134, SBF= 210 dechů.min<sup>-1</sup>). Na videozáznamu byl změřen počet nádechů v úseku šesti vteřin, vynásobením 10 byla získána dechová frekvence - počet dechů.min<sup>-1</sup>.



Obr. 4: záznam z prvního měření, Hraboš ID 134, SBF= 210 dechů.min<sup>-1</sup>

### 4.3 Statistické zpracování dat

#### 4.3.1 Vykazuje studovaný druh vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem?

Pro každé zvíře byla zaznamenána hodnota RBF, SBF a následně bylo spočteno o kolik procent se RBF a SBF lišily - tento parametr byl použit jako hodnota změny dechové frekvence vyvolaná stresem (manipulací se zvířetem a akustickým vylekáním na začátku měření). Pomocí jednocestné analýzy variance (*One Way ANOVA*) a jednoduché regrese bylo provedeno ohodnocení vlivu proměnných (pohlaví, hmotnosti a latence uklidnění), které by mohly mít vliv na vnitrodruhovou variabilitu v RBF, SBF a změně dechové frekvence vyvolané stresem. Následně bylo provedeno vizuální porovnání individuálních hodnot sledovaných parametrů dechové frekvence, a o jejich vynesení do sloupcových grafů.

#### 4.3.2 Jsou individuální rozdíly v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem konzistentní?

Pro zjištění, zda byla sledována konzistentní dechová frekvence jednotlivce, byl spočítán koeficient vnitrotřídní korelace (ICC, *Intraclass Correlation Coefficient*, ( $\tau$ ), Boake, 1989). Tento koeficient byl vypočten zvlášť pro stresovou dechovou frekvenci, klidovou dechovou frekvenci a změnu v dechové frekvenci. Výpočet ICC se prováděl následovným způsobem:  $V_{ind} / (V_{ind} + V_{residual})$ , kde  $V_{ind}$  je inter-individuální

variabilita a  $V_{residual}$  je intra-individuální variabilita naměřená v rámci opakovaných měření (Hayes & Jenkins, 1997). Příslušné parametry se spočítaly porovnáním hodnot průměrných čtverců (MS - mean square) pro jedince s MS Error získaných pomocí jednocestné ANOVY (vysvětlující proměnná - identita jedince, vysvětlovaná proměnná – stresová dechová frekvence, klidová dechová frekvence, změna v dechové frekvenci). Testovány byly tyto nulové hypotézy:

*H<sub>01</sub>: Variabilita v klidové dechové frekvenci (RBF) je na úrovni jedince vyšší než na úrovni skupiny.*

*H<sub>02</sub>: Variabilita ve stresové dechové frekvenci (SBF) je na úrovni jedince vyšší než na úrovni skupiny.*

*H<sub>03</sub>: Variabilita ve změně dechové frekvence vyvolané stresem je na úrovni jedince vyšší než na úrovni skupiny.*

#### **4.3.3 Souvisí vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci s vnitrodruhovou variabilitou v chování?**

Ohodnocení vztahu mezi sledovanými parametry dechové frekvence a osobnostními charakteristikami bylo provedeno pomocí jednoduché regrese (*Simple regression*). Všechny analýzy, včetně těch výše uvedených, byly provedeny v programu Statistica 8.

Testovány byly tyto nulové hypotézy:

*H<sub>01</sub>: Klidová dechová frekvence nesouvisí s průměrnou délkou trajektorie nachozenou v jednotlivých Open Field testech.*

*H<sub>02</sub>: Stresová dechová frekvence (SBF) nesouvisí s průměrnou délkou trajektorie nachozenou v jednotlivých Open Field testech.*

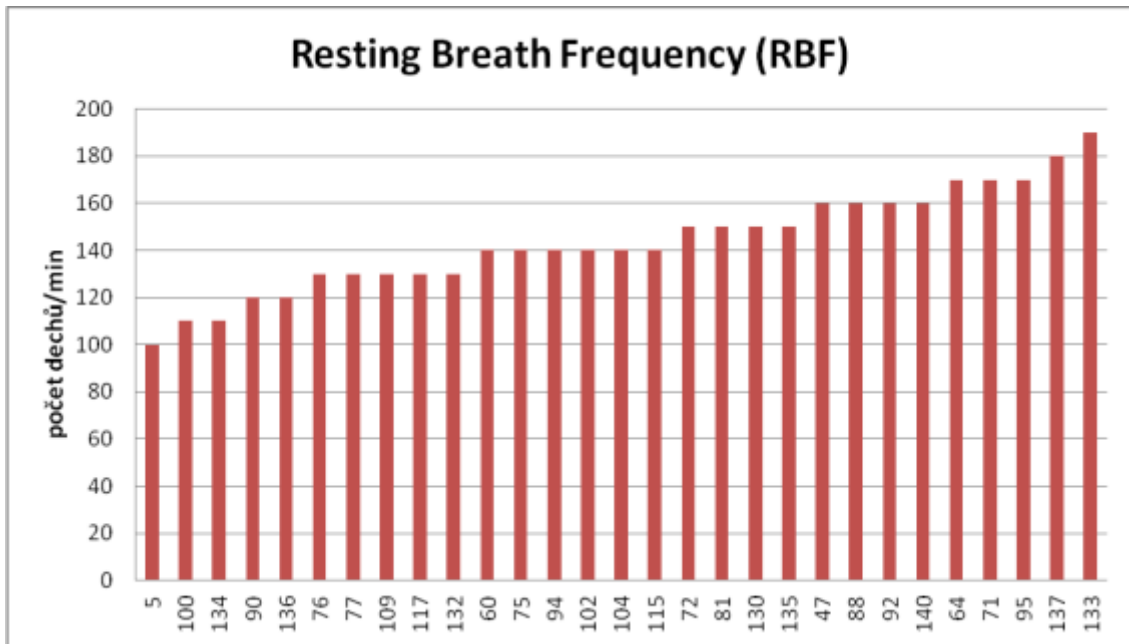
*H<sub>03</sub>: Změna dechové frekvence vyvolané stresem nesouvisí s průměrnou délkou trajektorie nachozenou v jednotlivých Open Field testech.*

## 5. VÝSLEDKY

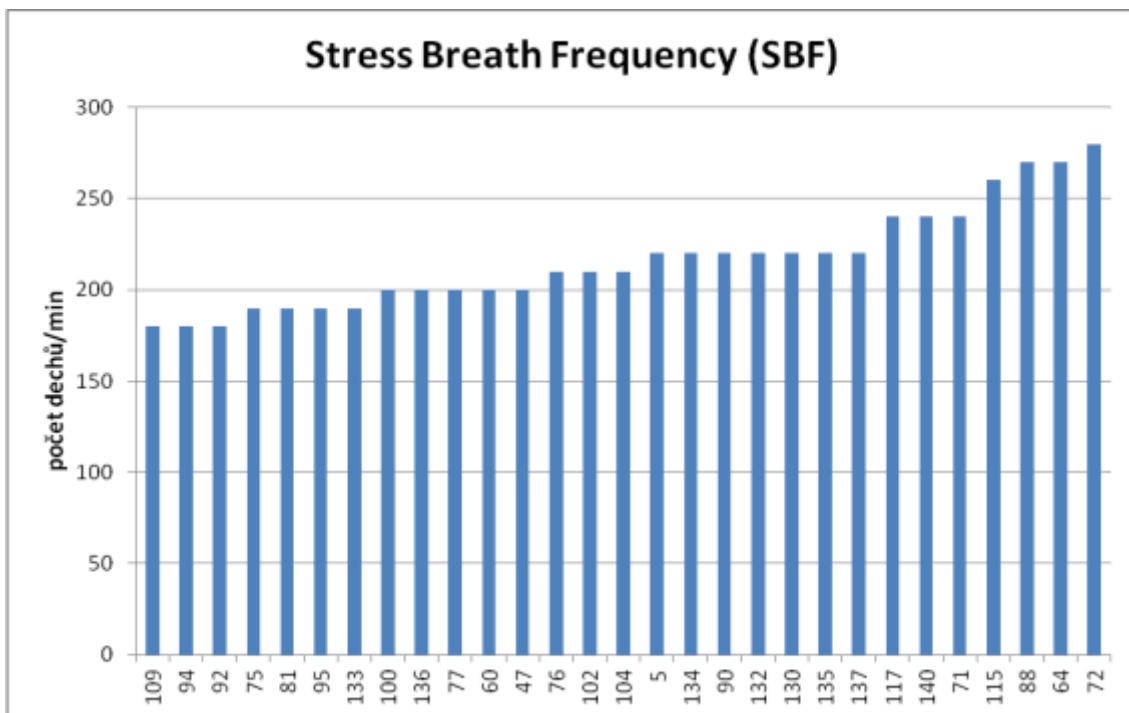
### 5.1 Vykazuje studovaný druh vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem?

Bylo zjištěno, že pohlaví nemá průkazný vliv na zaznamenanou vnitrodruhovou variabilitu v klidové dechové frekvenci (RBF, jednocestná ANOVA,  $F(1,27) = 0,101$ ,  $p = 0,752$ ), ve stresové dechové frekvenci (SBF, jednocestná ANOVA,  $F(1,27) = 0,001$ ,  $p = 0,981$ ) a v procentuální změně dechové frekvence vyvolané stresem (jednocestná ANOVA,  $F(1,27) = 0,144$ ,  $p = 0,707$ ). Podobný výsledek byl zjištěn i v případě vlivu vnitrodruhových rozdílů v hmotnosti, která neměla vliv ani na jeden ze sledovaných parametrů - RBF (jednoduchá regrese,  $n = 29$ ,  $p = 0,22$ ), SBF (jednoduchá regrese,  $n = 29$ ,  $p = 0,740$ ) a procentuální změna dechové frekvence vyvolaná stresem (jednoduchá regrese,  $n = 29$ ,  $p = 0,191$ ). Stejně tak ani latence uklidnění neměla průkazný vliv na RBF (jednoduchá regrese,  $n = 29$ ,  $p = 0,56$ ).

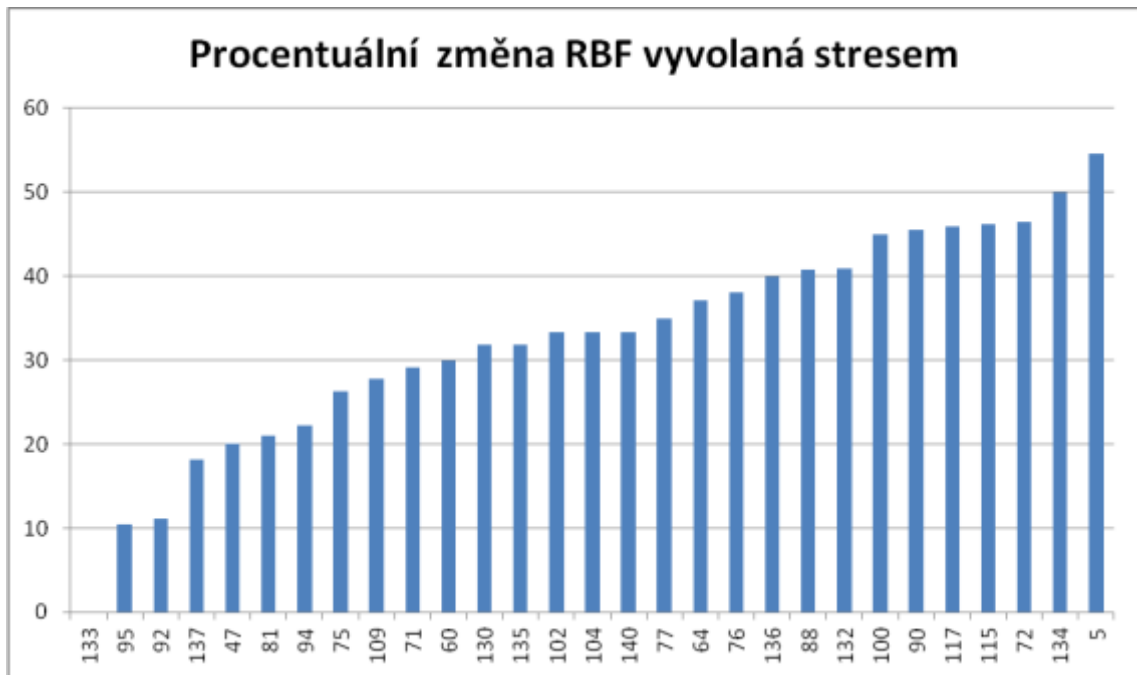
Vizuální porovnání individuálních hodnot dechových frekvencí bylo provedeno jejich vynesemím do sloupcových grafů. Rozsah hodnot u RBF se pohyboval od 100 do 190 dechů.min<sup>-1</sup> ( $n = 29$ ) - viz Graf. 1. a představoval až 90% rozdíl. Rozsah hodnot u SBF se pohyboval od 180 do 280 dechů.min<sup>-1</sup> ( $n = 29$ ) - viz Graf. 2. a představoval až 60% rozdíl. Rozsah hodnot u změny RBF vyvolané stresem se pohyboval od 10 do 55 % ( $n = 29$ ) - viz Graf. 3. a představoval rozdíl v podílu až 45 %. Na základě těchto výsledků je možné konstatovat, že všechny tři parametry dechové frekvence vykazovaly velmi vysokou míru variability.



Graf. 1: klidová dechová frekvence (RBF, počet dechů.  $\text{min}^{-1}$ ) jednotlivých zvířat (n = 29).



Graf 2: stresová dechová frekvence (SBF počet dechů.  $\text{min}^{-1}$ ) jednotlivých zvířat (n = 29).



Graf 3: procentuální změna RBF vyvolaná stresem u jednotlivých zvířat (n = 29).

## 5.2 Jsou individuální rozdíly v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem konzistentní?

*Testované hypotézy:*

$H_{01}$ : Variabilita v klidové dechové frekvenci (RBF) je na úrovni jedince vyšší než na úrovni skupiny.

Variabilita v klidové dechové frekvenci (RBF) je na úrovni jedince nižší než na úrovni skupiny, a to jak v případě měření opakovaného s jednodenním odstupem (Jednocestná ANOVA,  $F(28, 29) = 5,63$ ,  $p < 0,0001$ , ICC = 69,9 %), tak i v případě měsíčního odstupu (Jednocestná ANOVA,  $F(28, 29) = 4,29$ ,  $p < 0,0001$ , ICC = 62,3 %). Nulovou hypotézu lze tedy na 5% hladině významnosti zamítnout - hodnota klidové dechové frekvence je na úrovni jedince konzistentní.



*H<sub>02</sub>: Variabilita ve stresové dechové frekvenci (SBF) je na úrovni jedince vyšší než na úrovni skupiny.*

Variabilita ve stresové dechové frekvenci (RBF) je na úrovni jedince nižší než na úrovni skupiny, a to jak v případě měření opakovaného s jednodenním odstupem (Jednocestná ANOVA,  $F(28, 29) = 10,54$ ,  $p < 0,0001$ , ICC = 71,3 %), tak i v případě měsíčního odstupu (Jednocestná ANOVA,  $F(28, 29) = 6,70$ ,  $p < 0,0001$ , ICC = 74 %). Nulovou hypotézu lze tedy na 5% hladině významnosti zamítnout - hodnota stresové dechové frekvence je na úrovni jedince konzistentní.

*H<sub>03</sub>: Variabilita ve změně dechové frekvence vyvolané stresem je na úrovni jedince vyšší než na úrovni skupiny.*

Variabilita ve změně dechové frekvence je na úrovni jedince nižší než na úrovni skupiny, a to jak v případě měření opakovaného s jednodenním odstupem (Jednocestná ANOVA,  $F(28, 29) = 4,81$ ,  $p < 0,0001$ , ICC = 65,6 %), tak i v případě měsíčního odstupu (Jednocestná ANOVA,  $F(28, 29) = 3,49$ ,  $p < 0,0001$ , ICC = 55,5 %). Nulovou hypotézu lze tedy na 5% hladině významnosti zamítnout - hodnota změny stresové dechové frekvence vyvolaná stresem je na úrovni jedince konzistentní.

### **5.3 Souvisí vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci s vnitrodruhovou variabilitou v chování?**

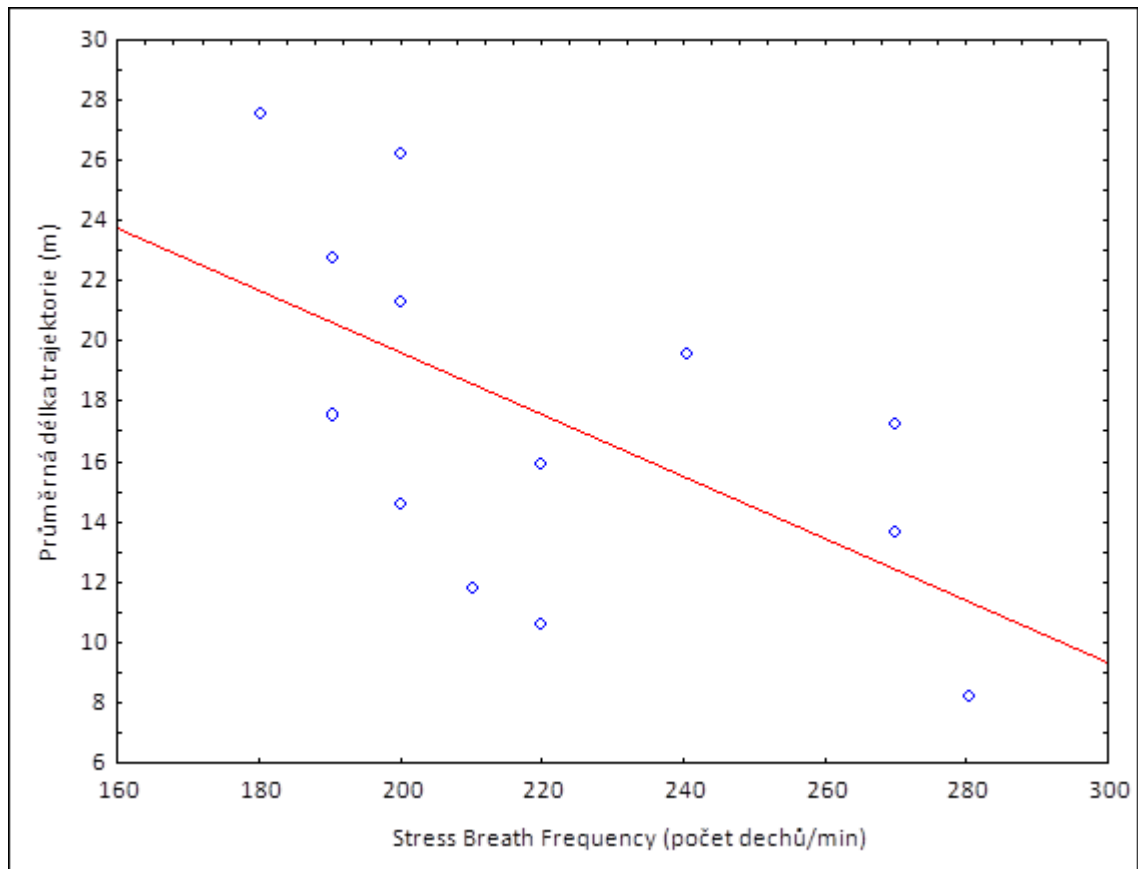
*H<sub>01</sub>: Klidová dechová frekvence nesouvisí s průměrnou délkou trajektorie nachozenou v jednotlivých Open Field testech.*

Klidová dechová frekvence nesouvisí s průměrnou délkou trajektorie, kterou zvíře urazilo v jednotlivých Open Field testech (Jednoduchá regrese,  $n = 13$ ,  $p = 0,254$ ). Nulovou hypotézu tedy nelze na 5% hladině významnosti zamítnout.

*H<sub>02</sub>: Stresová dechová frekvence (SBF) nesouvisí s průměrnou délkou trajektorie nachozenou v jednotlivých Open Field testech.*

Stresová dechová frekvence negativně souvisí s průměrnou délkou trajektorie, kterou zvíře urazilo v jednotlivých Open Field testech (Jednoduchá regrese,  $n = 13$ ,  $p = 0,031$ ) - viz Graf 4. Nulovou hypotézu lze tedy na 5% hladině významnosti zamítnout - zvířata

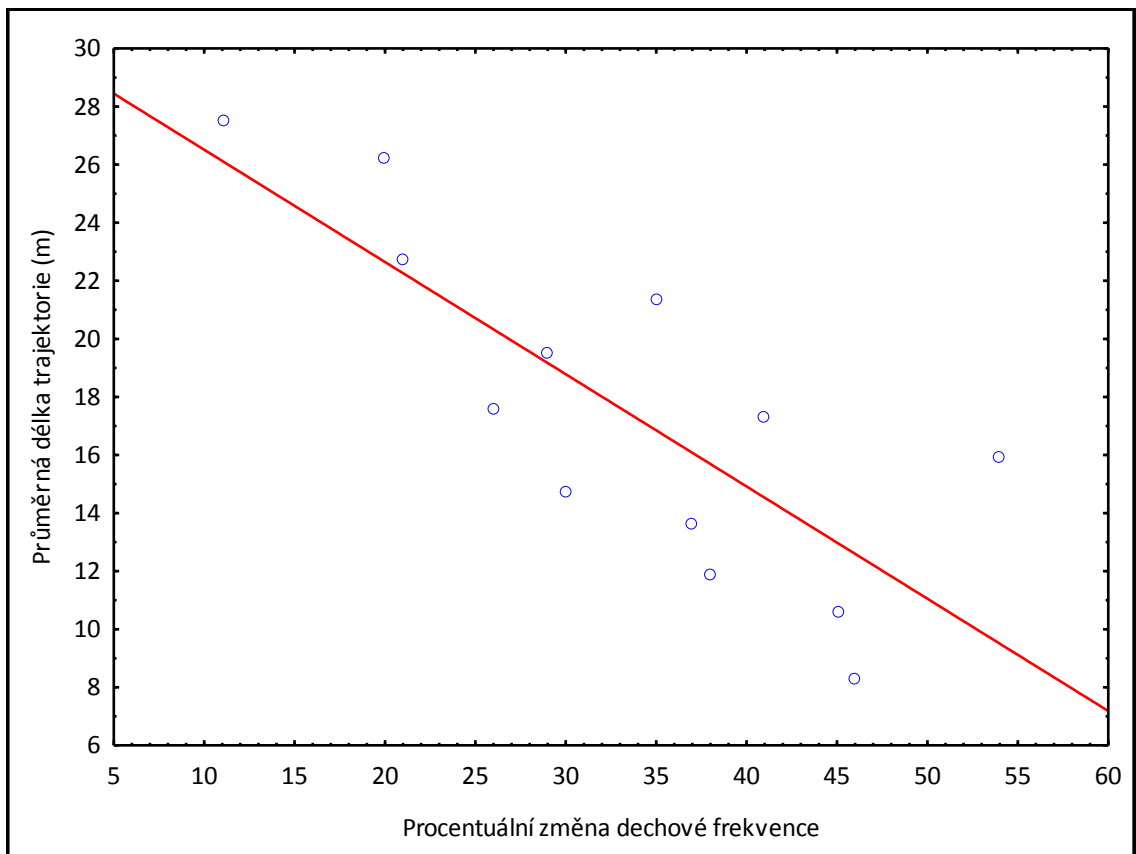
snadno podléhající stresu vykazovala tento trend i v průběhu jednotlivých Open Field testů, kdy byla jejich lokomoční aktivita inhibována (trajektorie zkrácená) vyvolaným stresem.



Graf 4: Závislost průměrné délky trajektorie v jednotlivých OFT testech (celkem bylo provedeno pět sezení) na stresové dechové frekvenci (SBR, počet dechů/min). Zvíře s vyšší stresovou dechovou frekvencí mělo kratší průměrnou délku trajektorie v OFT ( $n = 3$ ,  $p=0,031$ )

*H<sub>03</sub>: Změna dechové frekvence vyvolané stresem nesouvisí s průměrnou délkou trajektorie nachozenou v jednotlivých Open Field testech.*

Změna dechové frekvence vyvolaná stresem negativně souvisí s průměrnou délkou trajektorie, kterou zvíře urazilo v jednotlivých Open Field testech (Jednoduchá regrese,  $n = 13$ ,  $p = 0,001$ ) - viz Graf 5. Nulovou hypotézu lze tedy na 5% hladině významnosti zamítnout - zvířata, snadno podléhající stresu (tj. s velkým rozdílem mezi RBF a SBF) vykazovala tento trend i v průběhu jednotlivých Open Field testů, kdy byla jejich lokomoční aktivita inhibována (trajektorie zkrácená) vyvolaným stresem.



Graf. 5: Závislost průměrné délky trajektorie v jednotlivých OFT (celkem bylo provedeno 5 sezení) na procentuální změně dechové frekvence vyvolané stresem. Hraboši, kteří vykazovali vyšší změnu v dechové frekvenci vyvolané stresem, zároveň měli nižší průměrnou délku trajektorie v OFT ( $n = 13$ ,  $p = 0,001$ ).

## 6. DISKUZE

### 6.1 Vykazuje studovaný druh vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem?

Bylo zjištěno, že hraboš polní vykazuje vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem. I v případě této charakteristiky se tedy lze podobně jako v případě dalších fyziologických parametrů (přehled v Koolhaas *et al.* 1999) setkat se značnými individuálními rozdíly. Hlavními zdroji této variability by mohly být zejména pohlaví a hmotnost zvířete a v případě mé práce také latence uklidnění hraboše v respirometrické komůrce. Nicméně ani jeden z uvedených faktorů neměl na hodnotu sledovaných parametrů dechové frekvence významný vliv a zaznamenané rozdíly jsou proto s největší pravděpodobností odrazem individuality testovaných zvířat.

Toto zjištění odpovídá dalším studiím, které také našly vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci. Příkladem jsou práce provedené na sýkorách koňadrách autorů Carera a van Oerse (2004), Fucikové a kolektivu (2009) či studie na zebříčkách pestrých Davida a kolektivu (2012).

### 6.2 Jsou individuální rozdíly v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem konzistentní?

V této práci bylo zjištěno, že hodnoty klidové a stresové dechové frekvence a také jejich procentuální změny mají na úrovni jedince vysokou míru opakovatelnosti. To poukazuje na to, že zjištěné vnitrodruhové rozdíly nejsou výsledkem nepřesného měření či podobných nestandardních podmínek, nýbrž se jedná o projev individuálních charakteristik testovaných hrabošů.

Tento výsledek je v souladu s dalšími studiemi, které dokládají konzistentní povahu individuálních rozdílů v hodnotách dechových frekvencí. Práce provedená na zebříčkách pestrých uvádí 66% opakovatelnost individuální hodnoty dechové frekvence (David *et al.* 2012). Právě tato hodnota se velmi blíží míře opakovatelnosti zjištěné v mé práci.

Opakovatelnost individuálních hodnot dechové frekvence může souviset s délkou časového rozestupu mezi jednotlivými měřeními a jejich načasováním v ontogenezi sledovaných jedinců, jak vyplývá ze studie Fucikové a kolektivu (2009). V té byla měřena opakovatelnost hodnot stresové dechové frekvence u sýkor koňader, a to poprvé ve stáří 14 dnů a podruhé v jejich šesti měsících. Zjištěná hodnota - 33,8 %

- je ve srovnání s výše uvedenými hodnotami poměrně nízká. Nicméně jak již bylo uvedeno, tento rozdíl je s největší pravděpodobností zapříčiněn rozdílným designem jednotlivých experimentů, kdy v mojí studii a studii Davida a kolektivu (2012) byla měřena dechová frekvence dospělých zvířat, zatímco u Fucikove a kol. (2009) byly získány výchozí hodnoty relativně krátce po vylihnutí a ty se mohou v průběhu dospívání významně měnit (viz např. Koudela 2003) – opakovatelnost se tím snižuje.

U dalších fyziologických indikátorů stresu lze nalézt podobně vysoké hodnoty jako v této studii. Například hodnota opakovatelnosti stresové tepové frekvence na úrovni jedince byla u husy velké (*Anser anser*) 84,1 % a 77,1 % pro množství vyplavených kortikosteronů (Kralj-Fišer *et al.* 2007, Kralj Fišer *et al.* 2010). V porovnání s opakovatelností u behaviorálních projevů hrabošů polních - viz Lantová *et al.* (2011) a Urbánková (2012) jsou hodnoty zjištěné pro dechovou frekvenci samozřejmě vyšší, což je dáno povahou měřených charakteristik - dechová frekvence je jedním z fyziologických parametrů, které jsou projevem přísné regulace vnitřního prostředí.

### **6.3 Souvisí vnitrodruhová variabilita v dechové frekvenci s vnitrodruhovou variabilitou v chování?**

Klidová dechová frekvence (RBF) nesouvisela s průměrnou délkou trajektorie, kterou zvíře urazilo v jednotlivých Open Field testech (celkem bylo provedeno pět sezení v dvouměsíčních odstupech). Zdůvodněním může být, že vnitrodruhové rozdíly v chování se nejvýrazněji projevují ve stresových kontextech (Koolhaas *et al.* 1994). Na mezipopulační úrovni lze toto zjištění podpořit i výsledky studie provedené na koljušce tříostné, kdy nebyly nalezeny žádné rozdíly v bazální dechové frekvenci u populací žijících v prostředí s různým predačním tlakem (Bell *et al.* 2010).

Stresová dechová frekvence (SBF) souvisela negativně s průměrnou délkou trajektorie, kterou hraboš urazil v jednotlivých Open Field testech. Podobný trend byl nalezen i v případě procentuální změny mezi RBF a SBF. Jedinci, kteří na vyvolaný stres (handling a akustické vylekání) reagovali větší změnou dechové frekvence, se v OFT testech projevovali jako anxiózní ("shy" osobnostní typ) - jejich lokomoční aktivita byla inhibována vyvolaným stresem.

Zjištěné výsledky poukazují na to, že stres zřejmě skutečně vyvolává u jedinců behavioralního typu "shy" intenzivnější fyziologickou odpověď, která se v případě mojí studie projevila rapidním zvýšením dechové frekvence. Podobnost můžeme najít v práci Carere a van Oerse (2004), kde jedinci SLOW (terminologická analogie

osobnostního typu "shy") vykazovali, v porovnání s jedinci FAST, vyšší stresovou dechovou frekvenci.

Nicméně jak již bylo uvedeno v úvodu mé práce, výsledky dosud provedených studií zaměřených na vztah dechové frekvence a osobnostních charakteristik se ne zcela shodují. Práce Fucikové a kolektivu tak dochází ke zcela opačnému vztahu, kdy sýkory typu "bold" (terminologická analogie osobnostního typu FAST) vykazovaly ve srovnání s jedinci "shy" vyšší hodnotu stresové dechové frekvence. Opět se však může jednat o nesrovnalost způsobenou odlišným experimentálním designem, neboť k vyšší dechové frekvenci může přispět také fyzická (pracovní) aktivita rychle se pohybujících jedinců.

Existují však i studie, které podobný vztah nedokládají vůbec. Jednou z nich je práce provedená na zebříčkách pestrých (David *et al.* 2012). To by mohlo být způsobeno důsledkem odlišného designu handling testu, který nemusel nutně vyvolávat takovou intenzitu stresu, která by vedla k plnému projevu individuálních charakteristik sledovaných zvířat, nebo byla jeho úroveň naopak tak vysoká, že tyto rozdíly zastřela.

Nicméně zjištění, že dechová frekvence odráží tak složitou charakteristiku, jakou je osobnostní profil zvířete, by bylo velmi cenné, a to nejen z pohledu behaviorální ekologie, ale i dalších vědních oborů. Mezi nesporné výhody patří nejen časově velmi nenáročný způsob, jakým lze individuální hodnoty tohoto parametru získat, ale především jeho neinvazivnost. To je výhodné nejen z hlediska etického, ale i metodického.

Zatím jedinou metodou, která se svými výhodami měření dechové frekvence přibližuje, je stanovování hodnot stresových hormonů z exkrementů. Nicméně v jejím případě je vždy obtížná mezidruhová komparace výsledků a spolehlivost interpretace získaných hodnot vzhledem k sumě proběhlého chování (Palme 2005).

## 7. ZÁVĚR

Cílem této práce bylo zjistit, zda hraboš polní vykazuje konzistentní vnitrodruhovou variabilitu v dechové frekvenci a její změně vyvolané stresem a zda tyto charakteristiky souvisí s vnitrodruhovou variabilitou v chování. Měření dechové frekvence probíhalo neinvazivně pomocí přístroje, který se skládal z respiometrické komůrky napojené na tlakové čidlo a osciloskop. Jako stresový podnět byl použit zvukový signál. S použitím této metodiky byla změřena stresová dechová frekvence a klidová dechová frekvence.

V dechové frekvenci hraboše polního a její změně vyvolané stresem byla nalezena vnitrodruhová variabilita, která byla zároveň na úrovni jedince konzistentní.

Byl nalezen velmi těsný vztah mezi osobnostními charakteristikami sledovaných zvířat a jejich individuální hodnotou stresové dechové frekvence. Ta byla nejvyšší u jedinců projevujících se v Open Field testech spíše anxiózně (zvířata snadno podléhající stresu), naopak nejnižší byla u jedinců, kteří se v tomto testu projevovali proaktivně (vykazovali vyšší odolnost vůči stresu - aktivně prozkoumávali nové prostředí).

Předností využití dechové frekvence jako jednoho z fyziologických indikátorů stresu je její neinvazivní měření. Zatím jedinou metodou, která se svými výhodami měření dechové frekvence přibližuje je stanovování hodnot stresových hormonů z exkrementů. Nicméně v jejím případě je vždy obtížná mezidruhová komparace výsledků a spolehlivost interpretace získaných hodnot.

## 8. Seznam použité literatury

- Archer, J. (1973). Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Animal Behaviour*, 21(2): 205–235.
- Barreto, E. R., Luchiari, A. C., Marcondens, A. L. (2003). Ventilatory frequency indicates visual recognition of an allopatric predator in naive *Nile tilapia*. *Behavioural Processes*, 60: 235-239.
- Barreto, R. E., Volpato, G. L. (2004). Caution for using ventilatory frequency as an indicator of stress in fish. *Behavioural Processes*, 66: 43-51.
- Bartholomew, G. A., Cade, T. J. (1957). Temperature regulation, hibernation, and aestivation in the little pocket mouse, *Perognathus longimembris*. *Journal of Mammalogy*, 38 (1): 60-72.
- Bell, A. M., Henderson, L., Huntingford, F. A. (2010). Behavioral and respiratory responses to stressors in multiple populations of three-spined sticklebacks that differ in predation pressure. *Journal Comp Physio*, 180 (2): 211-220.
- Benus, R. F., Bohus, B., Koolhaas, J. M., van Oortmerssen, G. A. (1990). Behavioural strategies of aggressive and non-aggressive male mice in response to inescapable shock. *Behavioural Processes*, 21(2): 127-141.
- Benus, R. F., Bohus, B., van Oortmerssen, G. A. (1989). Behavioural strategies of aggressive and non-aggressive male mice in active shock avoidance. *Behavioural Processes*, 20 (1): 1-12.
- Bergmüller, R., Taborsky, M. (2010). Animal personality due to social niche specialisation. *Trends in Ecology & Evolution*, 25 (9): 504-511.
- Blanchard, R. J., Flanely, K. J., Blanchard, D. C. (1986). Defensive behavior of laboratory and wild *Rattus norvegicus*. *Journal of comparative psychology*, 100 (2): 101-107.
- Boake, Ch. R. B. (1989). Repeatability: its role in evolutionary studies of mating behavior. *Evolutionary Ecology*, 3 (2): 173-182.
- Boyce, Ch. C. K. Booyce, J. L., (1988a). Population biology of *Microtus arvalis*. I. Lifetime reproductive success of solitary and grouped breeding females. *Journal of Animal Ecology*, 57: 711-7122.
- Boyce, Ch. C. K. Booyce, J. L., (1988b) Population biology of *Microtus arvalis*. III. Regulation of numbers and breeding dispersion of females. *Journal of Animal Ecology*, 57: 737-754.
- Calder, W. A. (1968). Respiratory and heart rates of birds at rest. *The Condor*, 70 (4): 358-365.



- Carere, C., Locurto, Ch., (2011). Interaction between animal personality and animal cognition. *Current Zoology*, 57 (4): 491-498.
- Carere, C., van Oers, K. (2004). Shy and bold great tits (*Parus major*): body temperature and breath rate in response to handling stress. *Physiology & behavior*, 82 (5): 905-912.
- Coleman, K., Wilson, D. S. (1998). Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context specific. *Animal Behaviour*, 56: 927-936.
- Crosfill, M. L., Widdicombe, J. (1961). Physical characteristics of the chest and lungs and the work of breathing in different mammalian species. *The Journal of physiology*, 158 (1): 1-14.
- Daan, S., Slopsema, S. (1978). Short-term rhythms in foraging behaviour of the common vole, *Microtus arvalis*. *Journal of comparative Physiology*, 127 (3): 215-227.
- David, M., Auclair, Y., Dechaume-Moncharmont, F. X., Cézilly, F. (2012). Handling Stress Does Not Reflect Personality in Female Zebra Finches (*Taeniopygia guttata*). *Journal of Comparative Psychology*, 126 (1): 10-14.
- de Ruiter, A. J. H., Koolhaas, J. M., Kijser J. N., van Oortmerssen, G. A., Bohus, B. (1992). Differential testosterone secretory capacity of the testes of aggressive and nonaggressive house mice during ontogeny. *Aggressive behavior*, 18 (2): 149-157.
- Dingemanse, N. J., Wright, J., Kazem, A. J. N., Thomas, D. K., Hickling, R., Dawnay, N. (2007). Behavioural syndromes differ predictably between 12 populations of three-spined stickleback. *Journal of Animal Ecology*, 76 (6): 1128-1138.
- Dobly, A. (2009). Breeding suppression between two unrelated and initially unfamiliar females occurs without social tolerance in common voles (*Microtus arvalis*). *Journal of Ethology*, 27 (3): 299-306.
- Drent, P. J., van Oers, K., van Noordwijk, A. J. (2003). Realized heritability of personalities in the great tit (*Parus major*). *Proceedings of the Royal Society of London B*, 270: 45-51.
- Fairbanks L. A. (1993). Risk-taking by juvenile vervet monkeys. *Behaviour*, 124: 57-72.
- Feaver, J., Mendl, M., Bateson, P. (1986). A method for rating the individual distinctiveness of domestic cats. *Animal Behaviour*, 34 (4): 1016-1025.
- Ferrari, C., Pasquaretta, C., Carere, C., Cavallone, E., von Hardenberg, A., Réale, D. (2013). Testing for the presence of coping styles in wild mammal. *Animal Behaviour*, 85: 1385-1396.
- Fucikova E., Drent P. J., Smits N., van Oers, K. (2009). Handling Stress as measurement of personality in Great Tit Nestlings (*Parus major*). *Ethology*, 115: 366-374.

- Gaisler, J., Zima, J. (2007). Zoologie obratlovců. Academia, Praha: 692 pp.
- Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, (22): 385-403.
- Hayes, J. P., Jenkins, S. H. (1997). Individual Variation in Mammals. *Journal of Mammalogy*, 78 (2): 274-293.
- Holišová V. (1959): Potrava hraboše polního. In: Hanzák, J. [ed.]: Hraboš polní *Microtus arvalis*. ČSAV, Praha: 120-129.
- 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*, 105 (1): 15.
- Jürgens, K. D., Fons, R., Peters, T., Sender, S. (1996). Heart and respiratory rates and their significance for convective oxygen transport rates in the smallest mammal, the etruscan shrew *Suncus etruscus*. *The Journal of experimental biology*, 199 (12): 2579-2584.
- Kagan, J., Reznick, J.S. & Snidman, N. (1987). The physiology and psychology of behavioral inhibition in children. *Child Development*, 58 (6): 1459-1473.
- Kleinman, L., Radford, E. P. (1964). Ventilation standard for small mammals. *Journal of applied physiology*, 19 (2): 360-362.
- Koolhaas, J. M., Korte, S. M., de Boer, S. F., Van Der Vegt, B. J., Van Reenen, C. G., Hopster, H., De Jong, I. C., Ruis, M. A. W., Blokhuis, H. J. (1999). Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23 (7): 925-935.
- Koudela, K. (2003). Výměna plynů mezi organismem a prostředím, hlasové projevy. In Dvořáková, D., Hemza, M. [eds.]: Fyziologie hospodářských zvířat. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno: 414 pp.
- Kralj-Fišer, S., Scheiber, I. B. R., Blejec, A., Moestl, E., Kotrschal, K. (2007). Individualities in a flock of free-roaming greylag geese: behavioral and physiological consistency over time and across situations. *Hormones and Behavior*, 51 (2): 239-248.
- Kralj-Fišer, S., Weiss, B. M., Kotrschal, K. (2010). Behavioural and physiological correlates of personality in greylag geese (*Anser anser*). *Journal of ethology*, 28 (2): 363-370.
- Kratochvíl, J., Balát, F., Grulich, I., Holišová, V., Pelikán, J., Sýkora, I., Zapletal, M. (1959). Hraboš polní *Microtus arvalis*. ČSAV, Praha: 359 pp.
- Lantová, P., Šíchová, K., Sedláček, F., Lanta, V. (2011). Determining Behavioural Syndromes in Voles – The Effects of Social Environment. *Ethology*, 117 (2): 124-132.

- MacDonald, W. B. (1983). The wetness of a dog's nose. *Malabar Review* 63: 157.
- Melbourne, B. A. (1999). Bias in the effect of habitat structure on pitfall traps: An experimental evaluation. *Australian Journal of Ecology*, 24: 228-239.
- 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.
- Niethammer, J., Krapp, F. (1982). Handbuch der Säugetiere Europas, Band 2/I: Nagetiere II: Cricetidae, Arvicolidae, Zapodidae, Spalacidae, Hystricidae, Capromyidae. Akademische Verlagsgesellschaft, Wiesbaden, 649 pp.
- Palme, R. (2005). Measuring fecal steroids: guidelines for practical application. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1046(1): 75-80.
- Pelikán (1959a). Stanoviště sídliště a etologie. In Hanzák, J. [ed.]: Hraboš polní *Microtus arvalis*. ČSAV, Praha: 80-100.
- Pelikán (1959b). Rozmnožování a populační dynamika. In Hanzák, J. [ed.]: Hraboš polní *Microtus arvalis*. ČSAV, Praha: 130-166.
- Pelikán J. (1955): Studie über die Standorte von *Microtus arvalis* Pall. *Práce Brněnské Základny ČSAV* 27: 1-32.
- Pervin, L., John, O.P. (1997). Personality: Theory and research (7th Ed.). New York: Wiley. Psychology 111: 399-411.
- Réale, D., Dingemans, N. J., Kazem, A. J., Wright, J. (2010). Evolutionary and ecological approaches to the study of personality. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1560): 3937-3946.
- 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., & Dingemans, N. J. (2007). Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews*, 82 (2): 291-318.
- Reeder, D. M., Kramer, K. (2005). Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history. *Journal of Mammalogy*, 86 (2): 225-235.
- Renwanz, L., Spielvogel, F. (2011). Heart rate and hemocyte number as stress indicators in disturbed hibernating vineyard snails, *Helix pomatia*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part a 160: 467-473.
- Rietmann, T. R., Stauffacher, M., Bernasconi, P., Auer, J. A., Weishaupt, M. A. (2004). The association between heart rate, heart rate variability, endocrine and behavioural pain measures in horses suffering from laminitis. *Journal of veterinary medicine*, 51 (5): 218-25.

- Sgoifo, A., de Boer, S. F., Haller, J., Koolhaas, J. M. (1996). Individual differences in plasma catecholamine and corticosterone stress responses of wild-type rats: relationship with aggression. *Physiology & Behavior*, 60 (6): 1403-1407.
- Sih A., Bell A., Johnson C. (2004). Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview *Trends in Ecology and Evolution*, 19 (7): :372-378.
- Sova, Z. (1990). Dýchání. In Hálová, O [ed.]: Fyziologie hospodářských zvířat. Státní zemědělské nakladatelství, Praha:472 pp.
- Statistica 8, StatSoft ČR,s.r.o.
- Thomas, D. W., Cloutier, D., Gacné, D. (1990). Arrhythmic breathing, apnea and non-steadystate oxygen uptake in hibernating little brown bats (*Myotis lucifugus*). *Journal of Experimental Biology*, 149 (1): 395-406.
- Urbánková, G. (2012). Vývoj projevů osobnostních rysů: Studie na hraboši polním (*Microtus arvalis*). Diplomová práce, PřF Jihočeské univerzity v Českých budějovicích.
- van Oers, K., Carere, C. (2007). Long-term effects of repeated handling and bleeding in wild caught Great Tits (*Parus major*). *Journal of ornithology*, 148 (2): 185-190.
- van Oers, K., Drent, P. J., de Goede, P., van Noodwijk, A. J. (2004). Realized heritability and repeatability of risk-taking behaviour in relation to avian personalities. *Proceedings of the Royal Society of London. B* 271: 65-73.
- Wallin, B. G., Hart, E. C., Wehwein, E. A., Charkoudian, N., Joyner, M. J. (2010). Relationship between breathing and cardiovascular function at rest: sex related differences. *Acta Physiol*, 200 (2): 193-200.
- Wilson D. S., Clark, A. B., Coleman, K., Dearstyne T. (1994). Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology et Evolution*, 9: 442-446.
- Wilson, D. S., Coleman, K., Clark, A. B., Biederman, L. (1993). The shy-bold continuum in pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*): an ecological study of a physiological trait. *Journal of Comparative Psychology*, 107 (3): 250-260.
- Vyskočil, F. (2004). Kapitoly z fyziologie živočichů a člověka. Praha: 132 pp.
- Zehendner, Ch. M., Luhman, H. J., Yang, J. W. (2013). A simple and novel method to monitor breathing and heart rate in awake and urethane-anesthetized. *PLoS ONE*, 8 (5): 1-9.
- Zejska, J., Zapletal, M., Pikula, J., Obdržálková, D., Heroldová, M., & Hubálek, Z. (2002). Hlodavci v zemědělské a lesnické praxi. Agrospoj, s. r. o., Praha.

## **9. Seznam použitých zkratek**

ACTH – adrenokortikotropní hormon

HPA – osa hypotalamus-hypofýza-nadledviny

EKG - elektrokardiografie

ID – identifikační číslo studovaného druhu hraboše polního

OFT – open field test

RBF - klidová dechová frekvence (resting breath frequency)

RM – měření dechové frekvence (respiratory measurement)

SBF – stresová dechová frekvence (stress breath frequency)