

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vokální a behaviorální repertoár laboratorního potkana
při heterospecifické hře s člověkem**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Mariia Radchenko

Obor studia: Management zdraví a welfare zvířat

Vedoucí práce: doc. RNDr. Marek Špinko, CSc.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vokální a behaviorální repertoár laboratorního potkana při heterospecifické hře s člověkem" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19.04.2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. RNDr. Marku Špinkovi, CSc. za cenné rady, pomoc při statistických analýzách a neocenitelnou příležitost psát tuto práci pod jeho vedením. Taktéž velmi děkuji Ing. Tereze Ilčíkové za pomoc při provádění experimentů a Dr. Quaxiao Liu Ph.D., který mi poskytl cenné zkušenosti a rady, zejména při zpracování statistických dat. Ráda bych také poděkovala své rodině za jejich morální podporu.

Vokální a behaviorální repertoár laboratorního potkana při heterospecifické hře s člověkem

Souhrn

Laboratorní potkan (*Rattus norvegicus*) je neocenitelným modelem chování savců, protože vykazuje komplexní chování a je ideálně vhodný pro behaviorální experimenty. Potkani vykazují bohatou vokální produkci v ultrazvukovém pásmu a z tohoto důvodu se tento druh často používá jako nástroj pro zkoumání komunikačních systémů.

Cílem naší práce bylo zjistit souvislost mezi chováním laboratorních potkanů při taktilní hravé interakci s člověkem zvanou „tickling“ nebo „lechtání“ a bioakustickou charakteristikou ultrazvukových vokalizací (USV) vydávaných potkany v průběhu této hry. Snažili jsme se také zjistit, zda ontogenetická zkušenost hry ovlivňuje vztah mezi ultrazvuky vydávanými potkany a jejich chováním.

V rámci našeho výzkumu bylo 18 potkanů plemene Long-Evans (LE) náhodně rozděleno do tří skupin (kontrolní, sociálně redukovaná a kinematicky redukovaná) po 6 jedincích. Potkani LE v kontrolní skupině si mohli hrát s partnerem stejného plemene 1 hodinu denně. Potkani ve skupině se sníženou sociální interakcí byli spárováni s potkanem plemene Fischer-344 (F-344), u kterého bylo v předchozích studiích prokázáno méně sociálních interakcí než u potkanů LE. Potkani LE v kinematicky redukované skupině si mohli hrát s partnerem stejného plemene v kleci se sníženým stropem tak, aby nemohli plně vykonávat typické pohyby při herních interakcích.

Kromě toho experimentátoři po dobu 10 dnů napodobovali s potkany jejich sociální hru „rough-and-tumble“ neboli hravé souboje pomocí heterospecifické hry „tickling“. Za tímto účelem byli potkani umístěni do speciálního herního boxu. Experimentátor nechával volně viset jednu ruku na 15 sekund doprostřed boxu a případně s ní pomalu pohyboval, pokud ji potkan sledoval. V následujících 15 sekundách ruka postupně lechtala potkana na zátylku, převrátila ho na záda, lechtala ho na břicho a tuto sérii úkonů opakovala. Lechtání trvalo 2 minuty, poté bylo ukončováno a potkan byl vrácen do jeho domovské klece.

Bylo zjištěno, že některé USV potkanů jsou skutečně spojeny s určitými typy chování během hry „tickling“. Také bylo potvrzeno, že vztah mezi různými behaviorálními prvky hry a typy vokalizací u potkanů během této hry je modifikován herní zkušeností v průběhu jejich ontogeneze. Výsledky naznačují, že potkani z kinematicky redukované skupiny, ve srovnání s kontrolními potkany vydávali méně určitých podtypů USV. Potkani z této skupiny vydávali také obecně méně USV při různých behaviorálních prvcích spojených s hrou ve srovnání s kontrolními potkany. Z hlediska welfare mohou tyto výsledky sloužit jako nástroj pro lepší pochopení potřeb zvířat.

Některá data a výsledky této diplomové práce byly zahrnuty do dvou publikovaných vědeckých článků, jejichž jsem spoluautorkou a které jsou uvedeny ve zvláštní příloze na konci diplomové práce.

Klíčová slova: hravé chování, ultrazvuková vokalizace, mezidruhová hra, lechtání, ontogeneze

Vocal and behavioural repertoire in interspecies play of laboratory rats with humans

Summary

The laboratory rat (*Rattus norvegicus*) is an invaluable model of mammalian behaviour because it exhibits complex behaviours and is ideally suited for behavioural experiments. Rats exhibit rich vocal production in the ultrasonic range and for this reason this species is often used as a tool for investigating communication systems.

The aim of our work was to investigate the relationship between the behavior of laboratory rats during a tactile playful interaction with humans called „tickling“ and the bioacoustic characteristics of the ultrasonic vocalizations (USV) emitted by the rats during this play. We also tried to determine whether the ontogenetic experience of play influences the relationship between the ultrasounds emitted by rats and their behavior.

In our study, 18 Long-Evans (LE) rats were randomly divided into three groups (control, socially reduced and kinematically reduced) of 6 individuals each. LE rats in the control group were allowed to play with a partner of the same breed for 1 h per day. Rats in the socially reduced group were paired with a Fischer-344 (F-344) rat, which has been shown in previous studies to have fewer social interactions than LE rats. LE rats in the kinematically reduced group were allowed to play with a partner of the same breed in a cage with a lowered ceiling so that they could not fully execute typical movements during play interactions.

In addition, for 10 days, the experimenters mimicked with the rats their social game „rough-and-tumble“ or playful fighting using a heterospecific game „tickling“. For this purpose, the rats were placed in a special game box. The experimenter let one hand hang freely in the middle of the box for 15 seconds and moved it slowly if the rat followed it. In the following 15 seconds, the hand successively tickled the rat on the back of the neck, rolled it over onto its back, tickled its belly, and repeated this series of actions. The tickling lasted for 2 minutes, after which it was terminated and the rat was returned to its home cage.

It has been found that some rat USVs are indeed associated with certain types of behavior during the „tickling“ game. It was also confirmed that the relationship between different behavioural elements of the game and the types of vocalizations in rats during this game is modified by the game experience during their ontogeny. The results suggest that rats from the kinematically reduced group, compared to control rats, emitted fewer of certain subtypes of USVs. Rats from this group also emitted fewer USVs in general during various behavioral elements associated with play compared to control rats. From a welfare perspective, these results may serve as a tool to better understand the needs of the animals.

Some of the data and results of this thesis have been included in two published scientific papers, which I co-authored and which are listed in a separate appendix at the end of the thesis.

Keywords: playful behaviour, ultrasonic vocalization, interspecies play, tickling, ontogeny

Obsah

1	Úvod	7
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	8
3	Literární rešerše	9
3.1	Hra v biologii	9
3.1.1	Mechanismus hry	10
3.1.2	Adaptivní význam hry	12
3.1.3	Funkce hry	13
3.1.4	Evoluční význam hry	14
3.2	Sociální hra u potkanů	16
3.3	Ultrazvuková vokalizace potkanů	18
3.3.1	Vokalizace potkanů během sociální hry	20
3.4	Heterospecifická hra člověka s potkany: „Tickling“	22
4	Metodika	23
4.1	Laboratorní potkani a jejich ustájení	23
4.2	Rozdělení potkanů do herních skupin	24
4.3	Metodika hry „Tickling“ pro zkoumání vydávaných typů USV	26
4.4	Rozdělení 50 kHz USV na bioakustické typy	28
4.5	Klasifikace 5 typů 50 kHz USV	29
4.6	Behaviorální analýza	30
4.7	Statistická analýza	31
5	Výsledky	33
5.1	Popisná statistika	33
5.2	Testování hypotéz	34
6	Diskuze	39
7	Závěr	42
8	Literatura	43
9	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Hravé chování bylo navrženo jako jeden z ukazatelů pozitivních afektivních stavů (Boissy et al. 2007). U dětí je hra důležitá v rámci vývojové psychologie, je klíčovým ukazatelem kognitivního a fyzického vývoje a pozitivního afektu (Piaget 1952). V poslední době se hra stala klíčovou pro studium pozitivních afektivních stavů u zvířat (Graham & Burghardt 2010), což je aktuální změna, protože naprostá většina výzkumu welfare zvířat byla a stále je zaměřena spíše na negativní aspekty života zvířat (Lawrence et al. 2017). Toto zaměření na negativní afekty vedlo k relativnímu nedostatku kvantifikovatelných modelů pozitivního afektivního stavu zvířat (Hammond et al. 2019).

Absence hry je široce uznávána jako indikátor negativních psychologických a environmentálních podmínek (Lawrence 1987; Burghardt 2005; Boissy et al. 2007; Held & Špinka 2011; Bateson 2014; Ahloy-Dallaire et al. 2018;). Tato citlivost hry na prostředí, např. na dostupnost potravy, sociální podmínky a prožívání bolesti (Held & Špinka 2011), naznačuje, že ke hře dochází pouze tehdy, jsou-li uspokojeny primární potřeby přežití a zajištěna bezprostřední fitness (Lawrence 1987; Boissy et al. 2007). Pro pozitivní welfare zvířat jsou však významnější neurobiologické a behaviorální důkazy, podle nichž se má za to, že hra představuje pozitivní psychický stav (Siviy 2016) a často se využívá ke snížení úzkosti a negativních emocí u dětí (Li et al. 2016).

Pozitivní emoce zvířat (afekt) jsou klíčovou složkou dobrých životních podmínek zvířat (Boissy et al. 2007) a hrají důležitou roli při zvládání stresu a odolnosti (Kalisch, Muller et al. 2015). Proto mají zásadní význam metody pro spolehlivé vyvolání pozitivního afektu, ale takové metody jsou zatím u potkanů omezeně dostupné. U potkanů je jedním ze slibných způsobů navození pozitivních afektivních stavů heterospecifická hra s člověkem nazývaná „tickling“ (Burgdorf & Panksepp 2001; Burgdorf et al. 2008).

Hodnocení pohody zvířat a jejich interakcí s lidmi může být velmi náročné. Mezi již ověřená a dosti přesná hodnotící kritéria patří ultrazvuková vokalizace zvířat (Cloutier et al. 2012). Vhodným zvířetem pro zkoumání ultrazvukových signálů jako indikátorů welfare je laboratorní potkan, který vydává ultrazvukové vokalizace, a to jak z hlediska možného přínosu pro welfare samotného zvířete, tak z hlediska jeho využití jako potenciálního modelu pro jiné druhy. (Burman et al. 2007). Analýza jejich ultrazvukových signálů se stala široce používaným nástrojem ve výzkumu chování potkanů, a to jak v oblasti základního výzkumu, tak i výzkumu zaměřeného na nemoci.

Zvířecí hlasy (a lidská vokalizace) zůstávají jednoduchými signály, i když mohou mít určitý situační obsah nebo mohou být vydávány opakovaně či v kombinaci hlasů. Vokalizace představují evolučně starší komunikační systém než lidská řeč s odlišnou nervovou regulací a odlišnou semiózou („významem“) a tyto dva typy hlasové komunikace by se neměly zaměňovat. Navíc se předpokládá, že zvířecí vokalizace jsou interpretovány spíše jako prostředky obecného ovlivňování chování ostatních jedinců než jako signály vysílající konspicivní informace, jak je známe z lidské řeči (Rendall et al. 2009).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem literární rešerše bylo osvětlit hlavní aspekty sociální hry u zvířat, a to podle Tinbergenových 4 úrovní, tj: mechanismus, funkce, adaptivní a evoluční význam hry. Dalším cílem rešerše bylo proniknout hlouběji, podrobněji rozebrat sociální hru potkanů, popsat různé detaily této hry, jako je například výměna rolí, vývin hry během ontogeneze a rozdílnost ve hře mezi pohlavími. V rešerši je rovněž popsán význam a různé typy ultrazvukových signálů u potkanů a jejich komunikace pomocí těchto signálů během sociální hry. Nakonec je v přehledu literatury podrobně popsána samotná metodika heterospecifické hry mezi člověkem a potkany, tzv. „lechtání“ neboli „tickling“.

Cílem výzkumné části diplomové práce bylo ověřit, jestli určité behaviorální prvky potkanů jsou spojené s odlišnými typy vokalizace a jaký vliv na tento vztah mezi vokalizací a chováním má různá zkušenost se sociální hrou během ontogeneze.

V rámci tohoto cíle byly testovány tři konkrétní hypotézy:

H1: Různé behaviorální prvky potkanů v průběhu heterospecifické hry s člověkem jsou doprovázeny odlišnými typy USV vokalizace.

H2: Snížená herní zkušenost v průběhu ontogeneze ovlivní, které typy USV vokalizace budou potkani v průběhu heterospecifické hry s člověkem vydávat.

H3: Snížená herní zkušenost v průběhu ontogeneze ovlivní, při kterých behaviorálních prvcích budou potkani v průběhu heterospecifické hry s člověkem vydávat nejvíce vokalizací.

3 Literární rešerše

3.1 Hra v biologii

Hra se významně liší od ostatních typů chování, které jsou obvykle definovány svou funkcí – shánění a přijímání potravy udržuje energetickou rovnováhu, námluvy a páření vedou k rozmnožování a chování proti predátorům snižuje riziko zabití kvůli potravě. V těchto případech "vážného" chování je navíc příčinná souvislost mezi činností a jejími důsledky většinou zřejmá a rozpoznatelná. Naproti tomu hra není definována svými důsledky, ale obvykle částečně jejich absencí (Bekoff & Byers 1981; Burghardt 2005).

Hra zvířat se tradičně dělí na tři typy: lokomoční, objektovou a sociální hru. Lokomoční hra zahrnuje intenzivní fyzické pohyby, jako je běh, skákání, otáčení, šplhání a houpání (Bekoff & Byers 1981); hra s předměty se týká nejrůznější manipulace s živými a neživými předměty, jako jsou živá a mrtvá zvířata, rostliny, kameny a klacky (Fagen 1981); sociální hra zahrnuje chování, jako je honění, naskakování, zápasení a hravé souboje s jinými jedinci (Wilson & Kleiman 1974).

Problémy, které vznikají při vytváření popisu hry, jsou umocněny rozmanitostí typů hry a bohatstvím a různorodostí akcí, a to i v rámci jednoho zápasu (McDonnell & Poulin 2002; Petrů et al. 2009). Otázka, zda je hra užitečnou jednotnou kategorií činnosti, nebo svazkem nesouvisejících chování s podobnými charakteristikami, zůstává otevřená (Bateson 2010; Pellis et al. 2019). V průběhu minulého století bylo navrženo mnoho pravděpodobných typů funkce hry (Baldwin & Baldwin 1977; Fagen 1981; Burghardt 2005; Bateson 2010; Gray 2019).

Burghardt (2005) spojil různé charakteristiky, které byly použity v předchozích pokusech charakterizovat hru (Bekoff & Byers 1981; Fagen 1981), do definice hry zahrnující pět kritérií. Aby mohla být daná sekvence chování klasifikována jako hra, musí splňovat všechna kritéria. Tato kritéria jsou následující: (1) chování musí být neúplně funkční ve svém kontextu, (2) musí být dobrovolné nebo odměňující, (3) musí být určitým způsobem vývojově nebo strukturálně modifikované ve srovnání s chováním používaným v normálním, funkčním kontextu, (4) musí být prováděno opakovaně, ale ne nutně v neměnné podobě, a (5) musí být iniciováno u zdravých, relativně nestresovaných zvířat v klidném prostředí. Ústředním rysem těchto kritérií je, že charakterizují hru podle toho, kdy a jak jsou vzorce chování prováděny (Pellis et al. 2019).

Mezi nejvýznamnější vysvětlení existence hry patří, že hra slouží jako prostředek k vytváření sociálních vazeb a navazování spolupráce (Cordoni 2009; Palagi 2023), jako forma fyzického cvičení (Brownlee 1954), k hodnocení vlastních schopností (Thompson 1998), k tréninku na neočekávané situace (Špinka et al. 2001) a jako zdroj inovací (Bateson 2014). Běžná jsou i alternativní vysvětlení, zejména jako způsob výdeje přebytečné energie (Barber 1991).

Hravé chování se vyskytuje u řady živočichů, zejména u savců a ptáků (Burghardt 2005; Kaplan 2020) a dokonce i u některých plazů a bezobratlých (Siviy & Panksepp 2011). U většiny druhů, které si hrají, hra převládá zejména v období mládí (Fagen 1981), tedy ve věku od odstavení do pohlavní dospělosti (Pagel & Harvey 1993). Mezi ptáky byla zaznamenána sociální hra pouze u papoušků, zoborožců a euroasijských žvanilů (Diamond & Bond 2003). Srovnávací studie u savců a ptáků identifikovaly některé obecné trendy ve způsobech, kterými se hra může systematicky lišit. Větší hravost byla například zaznamenána u druhů, u nichž dochází k většímu růstu po narození, které mají větší celkovou velikost mozku a u nichž jsou

specifické mozkové struktury, jako je amygdala a hypotalamus, relativně zvětšené. (Pellis & Iwaniuk 2000; Iwaniuk et al. 2001; Diamond & Bond 2003, Lewis & Barton 2006).

Přesto se i blízce příbuzné druhy mohou ve svém herním chování značně lišit, jak ilustruje příklad potkana a myši domácí, *Mus musculus*: myši provozují hodně lokomočních her, ale málo herních soubojů, kterými jsou potkani proslulí (Pellis & Pellis 2009). Důvody velké části této mezidruhové variability ve hře nejsou vysvětleny (srovnání potkanů a myši viz Pellis & Pellis 2009). Pro výzkum her u jakéhokoli zvířete výhodně začít charakteristikou jeho druhově specifických herních prvků a jejich frekvencí (Petru et al. 2009). Totéž jednoznačně platí pro jakýkoli výzkum her v oblasti věd o welfare zvířat, kde je taková charakterizace nutná předtím než lze vyvodit platné závěry o významu her pro welfare daného druhu. Protože některé druhy si hrají mnohem více než jiné, může se význam hry jako ukazatele a nástroje welfare mezi nimi lišit (Held & Spinka 2011).

Hra se také značně liší v rámci daného druhu. Celé volně žijící populace nebo jiné skupiny zvířat se mohou lišit v množství her kvůli různým podmínkám prostředí jako je počasí, dostupnost potravy a struktura biotopu (Berger 1979; Barrett et al. 1992; Sommer & Mendoza-Granados 1995; Sharpe et al. 2002; Stone 2008). V zajetí se podobně mohou stáda, skupiny nebo jiná seskupení zvířat značně lišit v míře hry kvůli specifickým podmínkám jejich chovu jako je nabídka potravy, složitost prostředí a vnímaná bezpečnost (Bolhuis et al. 2005; Chaloupková et al. 2007). Korelace mezi hrou a stavem welfare tak může být obzvláště silná na mezipopulační úrovni. U mnoha druhů se navíc hra liší mezi pohlavími jak kvalitativně, tak kvantitativně (Chau et al. 2008; Pellis & Pellis 2009). U domácích zvířat byly rovněž zdokumentovány rozdíly mezi plemeny nebo kmeny (Walker & Byers 1991; Ferguson & Cada 2004).

Ještě důležitější je, že to, jak moc zvíře hraje, závisí do značné míry na jeho věku. Hra má obvykle v průběhu ontogeneze rozložení ve tvaru obráceného U, přičemž nejvyšší frekvence se objevuje v období kojeneckého věku a mládí (Byers & Walker 1995). Snížení počtu her v těchto obdobích tak může signalizovat problém welfare a vést k současnému i budoucímu snížení kvality života. V obdobích života zvířete, kdy je hra přirozeně méně častá, může mít její absence jen malé důsledky pro welfare. To by mohl být případ dospělých nebo novorozených zvířat u mnoha druhů.

Většina zvířecích her je snadno blokována nepříznivými podmínkami prostředí, ale za příznivých podmínek se může díky svým odměňujícím, sebezposilujícím vlastnostem stát významnou součástí behaviorálního repertoáru zejména kojenců a mláďat. Existuje dvě sebezposilující vlastnosti hry: za první, hra pravděpodobně poskytuje zvířeti psychologické výhody v podobě příjemného zážitku zprostředkovaného opioidy a zvířata, která se cítí dobře, si budou více hrát; za druhé, hra má tendenci šířit se na další jedince, což může vést k nárůstu hry ve skupinách. Tyto vlastnosti vedou k tomu, že hra by měla být zkoumána nejen jako potenciální ukazatel welfare, ale také jako prostředek pro zlepšení současného a budoucího welfare jedince nebo skupiny zvířat (Held & Spinka 2011).

3.1.1 Mechanismus hry

Rozšířenost hry u různých druhů naznačuje, že hra jako fenotyp chování se pravděpodobně vyvinula poměrně brzy. V současné době existují dobré důkazy o tom, že

nutkání ke hře je vysoce dědičné, jak zdůrazňují robustní a konzistentní rozdíly ve hře pozorované mezi různými kmeny potkanů (Siviy et al. 1997, 2003; Ferguson & Cada 2004) a mezi potkany, kteří byli selektivně chováni na základě jiných souvisejících složek, jako je afektivní vokalizace (Burgdorf et al. 2005; Brunelli et al. 2006) a náchylnost k vysoké aktivitě amygdaly (Reinhart et al. 2004, 2006). To vše naznačuje, že hra je základním neurobehaviorálním procesem v mozku savců, který vzniká na základě aktivity specifických neuronálních okruhů (Siviy & Panksepp 2011).

Jedním z přístupů k neuroanatomii hry bylo použití koncepce Paula MacLeana o "trojediném mozku" (MacLean 1985, 1990), která byla velmi důležitá při vedení některých prvních prací určených k identifikaci příslušných nervových struktur. Podle této koncepce by se nejvýznamnější nervové obvody pro řízení hry savců s největší pravděpodobností nacházely mezi staršími limbickými strukturami. Naproti tomu neokortex by měl mít na hravost minimální vliv. V první práci testující tuto hypotézu (Murphy et al. 1981) bylo uvedeno, že úplné odstranění neokortexu u křečků nemělo zásadní vliv na prevalenci hry projevované v mládí. Pokud se však poškození rozšířilo na limbické struktury, měla hra tendenci klesat. S určitými výhradami bylo toto původní zjištění MacLeanovy skupiny potvrzeno u potkanů (Pellis et al. 1992; Panksepp et al. 1994). Například Panksepp et al. (1994) zjistili, že dekortikáti se navzájem otáčeli na záda méně než kontrolní skupina, když jim bylo umožněno hrát si s jinými nedekortikáty, ale celková hra „rough-and-tumble“ usnadňující celkovou motorickou aktivitu (sledovanou pomocí stabilizačních plošek) nebyla snížena, protože zvířata stále vykazovala motivaci ke hře (Normansell & Panksepp 1984). Stejně tak se herní dominance dekortikátů nelišila od kontrolní skupiny, když byli spárováni s touto skupinou. Podobně Pellis et al. (1992) uvedli, že dekortikáti se nelišili od kontrolních potkanů, pokud jde o frekvenci hravých kontaktů na zátylku ani celkovou pravděpodobnost odpovědi na tyto kontakty. Nicméně částečná dekortikace, stejně jako selektivní poškození somatosenzorické oblasti, snížila hravost (Panksepp et al. 1994), zatímco selektivní frontální léze hravost zvýšily, i když byly provedeny jednostranně (Panksepp et al. 2003).

Jednou z důležitých vlastností sociální hry je, že umožňuje zvířatům experimentovat s vlastním chováním a interakcemi s ostatními. Předpokládá se, že toto experimentování během sociální hry usnadňuje rozvoj bohatého repertoáru chování, který jedinci umožňuje rychlou adaptaci v proměnlivém světě (Bijnsma et al. 2023). Sociální hra tak může sloužit rozvoji dovedností závislých na prefrontálním kortexu (PFC), jako je flexibilita, kreativita a rozhodování (Spinka et al. 2001; Pellis & Pellis 2009; Vanderschuren & Trezza 2014). Během hry je totiž PFC zapojována (Van Kerkhof et al. 2014) a vyžadován (Bell et al. 2009; van Kerkhof et al. 2013). Navíc se ukázalo, že omezení doby, po kterou si mladí jedinci mohou hrát, vede ke zhoršení sociálních interakcí (Hol et al. 1999; Van Den Berg et al. 1999) a k dlouhodobým změnám ve funkci a obvodech PFC v dospělosti (Bell et al. 2010; Baarendse et al. 2013; Vanderschuren & Trezza 2014).

PFC se skládá z několika podoblastí, které vykazují funkční specializaci a překrývání (Verharen et al. 2020). Z nich jsou pro sociální hru potřebné jak mediální prefrontální kortex (mPFC), tak orbitofrontální kortex (OFC) (Van Kerkhof et al. 2013) a sociální hra usnadňuje zrání těchto oblastí (Pellis et al. 2010; Baarendse et al. 2013; Himmler et al. 2018). Oba subregiony se podílejí na vyšších kognitivních, tzv. exekutivních funkcích, přičemž OFC je považován za důležitý pro emočně ovlivněnou kognici, například při rozhodování založeném

na odměně (O'Doherty et al. 2003), a mPFC (mediální prefrontální kortex) podporuje funkce v oblasti pracovní paměti a plánování (Bechara & Damasio 2005; Posner et al. 2007; Euston et al. 2012). Existuje však také značná míra funkčního překrývání mezi oblastmi PFC (Sul et al. 2010; Lodge 2011; Hardung et al. 2017). Během produkce sociálního chování jsou mPFC a OFC funkčně a vzájemně propojeny (Singer et al. 2009; Hoover & Vertes 2011).

Existuje také mnoho důvodů předpokládat, že mozkové dopaminové systémy mohou hrát roli v hravém chování. Využití dopaminu se skutečně během hry zvyšuje (Panksepp 1993), dopaminoví antagonisté (tiaprid, sulpirid, amisulprid) shodně snižují hravost (Beatty et al. 1984; Niesink & Van Ree 1989; Siviy et al. 1996) a neonatální poškození 6-OHDA narušují sekvenci behaviorálních prvků během herních interakcí (Pellis et al. 1993a, b). Ačkoli je obtížné dosáhnout konzistentního zvýšení hry s dopaminovými agonisty (Beatty et al. 1984; Field & Pellis 1994; Siviy et al. 1996), zvýšení hry po alkoholu, nikotinu a nepřímých kanabinoidních agonistech lze zablokovat malými dávkami dopaminových antagonistů (Trezza et al. 2009a,b; Trezza & Vanderschuren 2008a). Souhrnně tyto údaje naznačují, že hra je spojena se zvýšeným uvolňováním dopaminu (Robinson et al. 2011), a předpokládá se, že pro hru je nezbytná optimální úroveň dopaminu (Trezza et al. 2010).

Dopamin může mít také přípravnou nebo apetitivní funkci. (Pfaus & Phillips 1991; ; Ikemoto & Panksepp 1996, 1999; Berridge & Robinson 1998; Berridge 2007). Hru lze snadno rozdělit na apetitivní a konzumační složky; potkani budou vykazovat anticipační zvýšení aktivity, když budou umístěni do prostředí, které bylo dříve spojeno s hrou, a to lze oslabit antagonistou dopaminu haloperidolem (Siviy 1998). Potkani budou také vydávat pozitivní ultrazvukové vokalizace v rozsahu 50-55 kHz, když budou umístěni do prostředí dříve spojeného s hrou (Knutson et al. 1998; Burgdorf et al., 2008), a zdá se být jasné, že tyto druhy vokalizací jsou zprostředkovány dopaminem (Burgdorf et al. 2007).

3.1.2 Adaptivní význam hry

Hra je nejčastěji spojována s juvenilním obdobím (Bekoff & Byers 1981), což je období mezi odstavem a pohlavní dospělostí jedince (Pagel & Harvey 1993). Během juvenilního období postupně mizí mnohé systémy chování, které jsou nezbytné v dětství, a postupně se objevují mnohé, které jsou užitečné v dospělosti (Coppinger & Smith 1989). Právě v tomto přechodném věku se objevují ty sekvence chování, které lze s největší pravděpodobností označit za hru (Fagen 1981). U druhů, které si mohou hrát více způsobů, se jednotlivé typy her v různém věku střídají a fáze jejich vzniku se mohou překrývat (Barrett & Bateson 1978; Gomendio 1988; Pellis 1981a). V některých fázích vývoje systémů chování se mohou jednotlivé složky pohybových vzorců nejen objevovat nesoustavně, ale také mohou být ve srovnání s jejich dospělou podobou neúplné, modifikované a/nebo nesprávně zaměřené (Golani & Fentress 1985; Eilam & Golani 1988; Groothuis 1993; Vestergaard et al. 1990).

Z tohoto vývojového hlediska nemusí být hra vůbec samostatnou formou chování, ale to, co se jeví jako „hra“, může být spíše vedlejším produktem zrání systémů chování a jejich možných spolupůsobení. Pokud jde o hru „rough-and-tumble“, jednu z nejčastěji studovaných forem hry (Pellis & Pellis 1998), několik autorů skutečně tvrdí, že je to prostě nezralým projevem agrese (Lazar & Beckhorn 1974; Taylor 1980; Hurst et al. 1996; Cervantes et al.

2007). U mnohá druhů však vývojová posloupnost této hypotéze „hry jako nezralosti“ neodpovídá.

To, že hra není jen nezralou verzí vyvíjejícího se systému chování, jako je agrese, podporují i zjištění, která ukazují, že možnost zapojit se do hravého souboje je vysoce odměňující. Mladí potkani se naučí správně se pohybovat v T-bludišti, aby získali přístup k vrstevníkovi (Humphreys & Einon 1981), a v podmíněném úkolu preference místa se přesunou do výběhu, v němž má zvíře zkušenost s hrou s partnerem (Trezza et al. 2009). V obou těchto případech platí, že pokud je cílový partner podáním drogy méně hravý, efekt na volbu ramene nebo výběhu, do kterého má vstoupit, se ztlumí. To naznačuje, že hraní je více odměňující než pouhé vyhledávání nehravého sociálního kontaktu.

Tento poslední bod dále zdůrazňují studie s mladými šimpanzi (Mason et al. 1963). Zvířata byla vycvičena ke stisknutí páček pro přístup buď k preferované potravě, nebo k sociálnímu partnerovi, přičemž v případě druhého zmíněného přístupu mohl být přístup omezen na dotek a blízkost nebo umožnit plné herní zapojení. Zapojení do hry bylo voleno častěji než obyčejný sociální kontakt a možnost hrát si mohla mít přednost před přístupem k potravě, i když zvířata měla hlad. Tyto studie spolu s řadou dalších, které zahrnují manipulaci s mechanismy odměňování mozku, silně podporují názor, že zvířata nejen považují hru za odměnu, ale za určitých okolností vymění příležitost k jiným motivačně významným činnostem, jako je krmení, za zapojení do hry (Vandershuren 2010).

Vzhledem k tomu, že nezralost sama o sobě nemůže vysvětlit, co zvířata během hry dělají, a že hra má pro mnoho zvířat silnou odměňující hodnotu, jeví se jako přesvědčivý závěr, že hra představuje vlastní systém chování (Panksepp 1998; Siviy & Panksepp 2011; Panksepp & Biven 2012).

3.1.3 Funkce hry

Hypotézy o funkcích hry lze obecně rozdělit do dvou kategorií: hypotézy zaměřené na dlouhodobé přínosy hry a hypotézy zaměřené na okamžité přínosy hry. Do první kategorie spadají veškeré zlepšené dovednosti, kompetence a somatické vlastnosti zvířete, které jsou výsledkem hraní. Tyto účinky mohou přetrvávat po omezenou nebo dlouhou dobu, nebo dokonce po celý život. Většina teorií etologické a psychologické tradice spadá do této kategorie, protože předpokládala, že hra přináší především dlouhodobé benefity: trénink chování v jeho „herní formě“ při malém fitness riziku během dětství nebo v juvenilním období zvyšuje jeho výkonnost a kompetence v ekvivalentní „seriózní“ formě u dospělých. Tento předpoklad vycházel z pozorování, že hra se objevuje hlavně v juvenilním období, nemá zřejmě žádné bezprostřední cíle a obsahuje vzorce chování podobné dospělým (Fagen 1981; Smith 1982).

Do této kategorie spadají tři hlavní typy hypotéz. První z nich jsou hypotézy, které předpokládají, že hra podporuje nebo usměrňuje somatický vývoj. Byers & Walker (1995) například navrhli, že hra slouží k řízení synaptogeneze v mozečku a k finálnímu vyladění diferenciací mezi pomalými a rychlými vlákny kosterního svalstva. Za druhé se předpokládá, že hra slouží k nácvičování druhově typického chování, které se používá v pozdějším životě. Pellis & Pellis (2009) ve své analýze hravých soubojů u potkaních samců například naznačují, že hravý souboj zlepšuje efektivitu sexuálního chování samců. V neposlední řadě se předpokládá, že hravé chování také zlepšuje obecnější fyzické a emocionální dovednosti, které lze využít v

mnoha situacích. Spinka et al. (2001) a Pellis & Pellis (2009) například navrhuje, že vyšší emoční odolnost a kinematická flexibilita v průběhu života se získává díky zkušenosti s nepředvídatelností ve hře. Je však stále jasnější, že si hrají i dospělá zvířata (Watson 1998), že mnohé prvky hry se nepodobají žádným vzorcům chování dospělých (Renouf 1993; Petru et al. 2009) a hlavně, že chování ve hře často předchází, doprovází nebo následuje vzorce chování, které jsou důležité v současnosti (de Oliveira et al. 2003; Palagi et al. 2006). Vědci proto nyní považují hru jako chování s okamžitými benefity za stejně pravděpodobnou jako chování s opožděnými benefity (Martin & Caro 1985, Burghardt 2005).

Druhou kategorií fitness následků hry tak tvoří novější hypotézy, které navrhuje okamžité výhody. Výhody jsou „bezprostřední“ v tom smyslu, že jsou spojeny s aktuální situací zvířete: hrající si zvíře získává nebo dosahuje něčeho, co je relevantní tady a teď, ale může zmizet, pokud se situace změní. I zde lze hypotézy roztrždit do tří širokých tříd: (1) někteří autoři předpokládají, že hra pomáhá zvířeti získat užitečné informace o prostředí (Stamps 1995), o členech skupiny (Feuerriegel 1997; Cordoni 2009) nebo o sobě samém prostřednictvím sebehodnocení (Thompson 1998), případně může zvířeti umožnit poskytnout informace o svém vývoji nebo postavení, například rodiči (rodičům) (Fagen 1992); (2) hra může být způsobem samoléčby, například k samopodání endogenních opioidů (Pellis & Pellis 2009); a (3) zvíře může hrou ovlivnit svou aktuální sociální situaci, například k posílení svého dominantního postavení (Feuerriegel 1997; Bauer & Smuts 2007), ke snížení napětí kolem krmení (Palagi et al. 2006) nebo k tomu, aby z cizího zvířete udělalo známé (Antonacci et al. 2010).

Empirické důkazy pro většinu výše shrnutých hypotéz zůstávají nejednotné a obecný konsenzus ohledně adaptivní hodnoty hry nám zjevně stále uniká. To má několik důvodů. Prvním z nich je, že herní chování savců se u různých druhů značně liší a slouží různým specifickým funkcím (Burghardt 2005; Pellis & Pellis 2009). Dosažení shody o jediné globální funkci hry se tak zdá být obtížným úkolem. Za druhé, shromáždit přesvědčivé důkazy o jakékoli domnělé funkci hry je metodologicky obtížné. Experimentální přístupy, které mají potenciál poskytnout přímé důkazy o jakýchkoli kauzálních účincích hry, jsou ztíženy praktickým problémem manipulace s hrou bez ovlivnění jiných vzorců chování (Donaldson et al. 2002; Pellis & Pellis 2009). A konečně, pozitivní vztah mezi množstvím hry a výslednými benefity nemusí být lineární a spojitý. Je například možné, že u některých druhů je pro vývojový efekt, jako je diferenciací svalových buněk, nutná pouze minimální prahová úroveň hry (Byers & Walker 1995). V takovém případě nemusí studie odhalit žádný prospěšný účinek, pokud pozorovaná variabilita v množství hry spadá zcela pod (nebo nad) prahovou hodnotu.

Předpokládá se, že hra ve volné přírodě buď lépe připravuje zvířata na život v budoucnosti, nebo jim pomáhá minimalizovat rizika fitness v daném období, a to za určitou cenu. Jako taková potenciálně zlepšuje budoucí i současnou pohodu zvířat v zajetí: zatímco náklady na hru obvykle hradí lidé, její navrhovaná konečná funkce spočívající zejména v tréninku všeobecných schopností může zlepšit biologické funkce a pohodu zvířat v zajetí (Held & Špínka 2011).

3.1.4 Evoluční význam hry

Ze zhruba 30 kmenů živočišné říše se zatím pouze u tří prokázalo, že obsahují druhy, které si hrají (tj. splňují pět kritérií), a v rámci těchto kmenů nemají všechny linie hrající si

druhy (Burghardt 2005). Dokonce ani v nejhravějším kmeni Chordata není hra univerzální. Zaprvé, byla zaznamenána pouze v podtypu Vertebrata a v rámci tohoto podtypu je sporadická ve většině tříd, převažuje pouze u ptáků a zejména u savců. A dokonce i v rámci savců existují řády, které nehrají (Pellis et al. 2019).

Ačkoli od roku 2005 při aplikaci definice hry založené na pěti kritériích přibylo na straně hravých více druhů z různých taxonů, celkový obraz se nezměnil (Pellis et al. 2015; Pellis & Burghardt 2017). Bližší zkoumání typu projevované hry ukazuje, že tři různé typy hry se mohou objevovat nezávisle na sobě napříč různými liniemi (Burghardt 2005). To znamená, že hra s předměty se může v linii vyvinout nezávisle na sociální nebo lokomoční hře atd. Například hra s objekty u hlodavců buď chybí, nebo je rudimentární, zatímco lokomoční a sociální hra jsou poměrně rozšířené (Fagen 1981). Srovnávací analýza sociální a lokomoční hry u hlodavců však ukazuje negativní korelaci (Pellis & Iwaniuk 2004), takže nárůst složitosti jednoho typu hry je doprovázen poklesem složitosti druhého. Navíc i v rámci jednoho druhu se tyto formy hry mohou lišit nezávisle na sobě napříč různými, geneticky selektovanými kmeny (Schneider et al. 2016). A konečně, studie v rámci druhů ukázaly, že jedinci, kteří vykazují více jednoho typu hry, nemají větší pravděpodobnost, že budou vykazovat více dalších typů hry (Melotti et al. 2014; Ahloy Dallaire & Mason 2016; Lampe et al. 2017).

Tyto fylogenetické aspekty naznačují, že hra se v živočišné říši vyvinula vícekrát, přičemž různé typy hry se vyvíjely nezávisle na sobě, ačkoli několik druhů, které mají ve svém repertoáru více než jeden typ hry, vykazují důkazy, že tyto typy mohou míchat novými způsoby (Shimada 2012; Burghardt et al. 2016).

Burghardt (2005) také vyvinul model nezávislého evolučního původu a transformace hry napříč různými liniemi živočichů. Tento model tvrdí, že za určitých podmínek, jako je snadno dostupná potrava, přebytek energie, relativně chráněné prostředí, prodloužené juvenilní období, se může objevit hravé chování. Tato začínající nebo primárně probíhající hra je formou hry, která je v živočišné říši nejrozšířenější, přičemž v různých liniích převažují lokomoční, předmětové nebo sociální formy (Burghardt 2005). Vzorce chování prováděné při takové hře se mohou lišit jen málo, pokud vůbec, od toho, jak se objevují v běžně se vyskytujících funkčních kontextech, ale obvyklé funkční důsledky jejich provádění nevznikají. Je možné, že za zvláště příznivých podmínek se taková hra může v populaci udržet, i když je neutrální z hlediska fitness benefitů (Auerbach et al 2015).

U hlodavců zahrnuje sociální hra v podobě hravého souboje především útok a obranu tělesných cílů (Pellis & Pellis 2009). V nejjednodušších formách takové hry může jeden jedinec zaútočit na svého partnera a ten se buď nebrání, nebo pokud se brání, omezí tuto obranu na vyhýbání se kontaktu, čímž se od útočnicka vzdálí (což odpovídá primární hře). Na složitější úrovni se obrana nejen vyskytuje relativně často, ale v tomto případě mnoho případů obrany zahrnuje použití taktiky, která podporuje výskyt hravého souboje (což odpovídá sekundární hře). Ještě vyšší úrovně složitosti dosahují účastníci tím, že zvyšují četnost provádění protiútoků a osvojují si manévry, které usnadňují výměnu rolí mezi partnery, a vedou tak k dlouhodobému a opakovanému hraní (odpovídá terciární hře). Z mechanického hlediska se zdá, že změny v náročnosti formy hry u hlodavců jsou doprovázeny změnami v nervových mechanismech, které hru regulují (Pellis & Iwaniuk 2004). Klesající podobnost mezi tím, co se provádí během hry a během sexuálního chování dospělých s rostoucí složitostí hry, je pravděpodobně podložena změnami v těchto nervových kontrolních mechanismech. Z

funkčního hlediska existuje jen málo důkazů o tom, že nejjednodušší formy hry mají za následek zvýšení fitness. Nejsložitější formy hry ovlivňují nejen sexuální výkonnost dospělých, ale také kognitivní dovednosti užitečné v jiných než sociálních kontextech.

Stejně jako v případě modelu hlodavců, který ukazuje transformaci sociální hry z primární na terciární proces hry (Pellis & Pellis 2009), mohou i jiné formy hry vykazovat podobné vzorce transformace v rámci linií. Bohužel ani objektová, ani lokomoční hra nemá v rámci specifických linií srovnatelné podrobné studie. Nicméně porovnání širšího okruhu druhů z různých linií naznačuje podobné vzorce. Například, jak bylo uvedeno dříve, lokomoční hra často zahrnuje vzorce chování, které se jinak vyskytují v chování proti predátorům. Srovnání v rámci linií ukazují, že složitost, s jakou lze tyto vzorce chování provádět a kombinovat, se může lišit (Pellis & Iwaniuk 2004). U některých druhů však může lokomoční hra zahrnovat vzorce chování, které se v chování proti predátorům nevyskytují, například běh nebo šplhání se zavřenými očima, jak to dělají některé opice a lidoopi (Kavanagh 1978; Russon & Vasey 2012; Palagi 2018), nebo hravé piruety šimpanzů (Nishida & Inaba 2009). Tyto poslední příklady se zdají odpovídat tomu, že jde o chování v rámci terciárního procesu hry, kdy se akce oddělily od základního funkčního mechanismu, z něhož mohly být původně odvozeny (Pellis et al. 2019).

3.2 Sociální hra u potkanů

U potkanů začíná sociální hra, když jedno zvíře vyzve druhé ke hře tím, že se pokusí čenichem přitisknout na zátylek druhého zvířete. Tomu se říká „nape contact“ nebo kontakt se zátýlkem. Zvíře, které je vyzváno ke hře, může reagovat různými způsoby. Může se například vzdálit, což může vést k tomu, že zvíře, které se ho snaží nutit k útoku, začne druhé zvíře pronásledovat. Může se také otočit čelem k druhému zvířeti, což může vést ke strkání a zápasu. Vyzvané ke hře zvíře může také reagovat otočením na záda, čímž se druhé zvíře postaví nad něj, což se označuje jako připnutí nebo „belly contact“ (Poole & Fish 1975; Panksepp & Beatty 1980; Vanderschuren et al. 1997; Pellis & Pellis 1998).

Důležité je, že rotace na záda, která vede k připnutí, je ve většině případů aktivním aktem přitlačeného zvířete, které využívá této pozice k získání přístupu k zátýlku druhého zvířete. Získání přístupu k zátýlku druhého zvířete je proto považováno za účel hravého aktu a přetočení na záda je pravděpodobně prostředkem k prodloužení hravé interakce. Jednou z nejdůležitějších charakteristik sociálního herního chování je totiž jeho recipocita v tom smyslu, že může dojít k mnoha výměnám poloh zvířat zapojených do interakce. Za nejcharakterističtější projevy chování při sociálních hrách u potkanů se považuje belly contact a nape contact. Jsou snadno rozpoznatelné a kvantifikovatelné a lze je spolehlivě vyvolat krátkými obdobími (tj. hodinami) sociální izolace (Panksepp & Beatty 1980; Niesink & Van Ree 1989; Hole 1991; Vanderschuren et al. 2008).

U potkanů a mnoha dalších hlodavců z čeledi myšovitých (Muridae) zahrnuje boj ve hře soupeření o tělesné cíle, které jsou během soubojů olizovány nebo okusovány (Pellis, 1993), u potkanů jemné kousnutí do oblasti zadečku tvoří malé procento herních interakcí (Pellis et al. 1989; Burke et al. 2021). U většiny kmenů používaných ke studiu hry u potkanů směřuje přibližně 90 % útoků na zátylek (Himmler et al. 2014). Díky tomu lze relativně snadno

rozlišit hravé souboje od vážných a také zjistit, kdy hravý boj přeroste ve vážný (Smith et al. 1999; Stark & Pellis 2020) - což je vlastnost, která se může ukázat jako užitečná při zkoumání hranice mezi přátelskými a agresivními interakcemi u zvířat (Pellis et al. 2022).

V závislosti na kmeni, věku a pohlaví partnera se přibližně 80-90 % útoků na zátylek příjemce brání (Himmler et al. 2016). K tomu má potkan dvě hlavní možnosti – vyhnout se kontaktu útekem, skokem nebo uhnutím, nebo se otočit čelem k útočnickovi a použít přední tlapy a obličej jako štít proti kontaktu se zátylkem. Úhybná obrana se vyskytuje přibližně ve 20-30 % případů, i když u některých kmenů může být vyšší, ale převažuje taktika obrany čelem (Siviy et al. 1997, 2003; Reinhart et al. 2004; Himmler et al. 2013; Himmler et al. 2014). Obrana čelem zahrnuje dvě hlavní taktiky – vertikální rotaci kolem pánve (tzv. plná rotace) a rotaci kolem podélné osy (tzv. částečná rotace) (Pellis et al. 2022). Při první z nich reaguje bránící se potkan na útočnicka, obvykle když se k němu blíží zezadu, vertikální rotací kolem pánve tak, aby se obrátil čelem k přicházejícímu partnerovi. V druhém případě reaguje bránící se potkan na útočnicka, typicky při přiblížení zezadu, otáčením kolem své podélné osy, počínaje hlavou a postupujíc k pánvi, čímž opět vytváří prostor mezi svým zátylkem a partnerovým čenichem (Pellis & Pellis 1987; Pellis et al. 1989; Whishaw et al. 2021). Tato taktika úplné rotace obvykle vede k „připíchnuté konfiguraci“ (Panksepp 1981), kdy jeden potkan leží na zádech a jeho partner stojí nad ním. Tato konfigurace však může vzniknout i tak, že bránící potkan přijme obrannou taktiku částečné rotace a poté je útočícím potkanem přetlačen nebo jeden z partnerů přetlačí druhého ze vzájemné vzpřímené pozice (Himmler, Himmler, Stryjek et al. 2016; Pellis & Pellis 1987, 1997).

Z vývojového hlediska se hravé souboje začínají objevovat kolem 17. dne věku (Baenninger 1967; Bolles & Woods 1964; Pellis & Pellis 1997), jejich frekvence vrcholí v juvenilním období, tedy ve 30-40 dnech věku, poté postupně klesá s nástupem puberty, ale pokračuje, i když s nižší frekvencí, až do dospělosti (Thor & Holloway 1984; Pellis & Pellis 1990, 1991a). V závislosti na věku dochází ke změnám v tom, které obranné taktiky jsou používány nejčastěji, ale obrana čelem zůstává převládající formou obrany ve všech věkových kategoriích (Pellis & Pellis 1990, 1997). Z taktik obrany čelem začíná kolem 28. dne věku převažovat úplná rotace (Pellis & Pellis 1997) a zůstává převažující v období mláďat u obou pohlaví (Pellis & Pellis 1990).

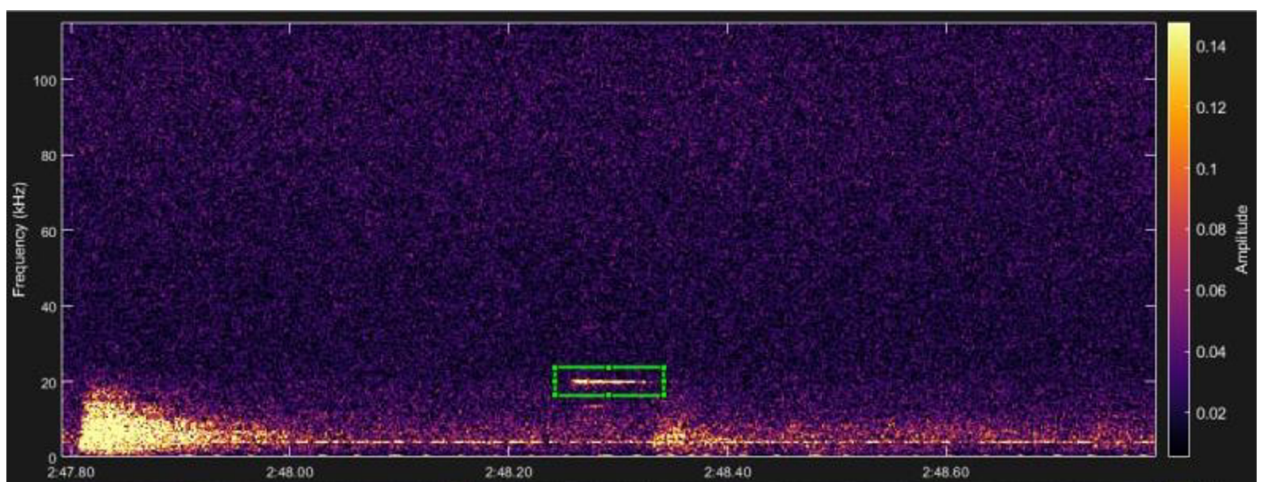
Uvádí se, že samci si jako mladí často hrají více než samice (Meaney & Stewart 1981; Thor & Holloway 1983; Meaney, 1988; Pellis & Pellis 1990), ale není tomu tak vždy (Panksepp 1981; Himmler, Stryjek et al. 2013; Himmler, Modlinska et al. 2014). K tomu, že si samci hrají více než samice, dochází s největší pravděpodobností v případě, že jsou potkani chováni ve skupinách s více zvířaty smíšeného pohlaví, a s nejmenší pravděpodobností v případě, že jsou chováni s jedním partnerem stejného pohlaví (Himmler, Himmler, Pellis & Pellis 2016). Na to, zda se projeví rozdíly ve hře mezi pohlavími, mohou mít vliv i další faktory, jako je délka sociální izolace před testem, pohlaví partnera a délka testovacího období (Thor & Holloway 1984; Argue & McCarthy 2015; Pellis et al. 2022). Přinejmenším u kmenů, které byly studovány, se změny v používání obranných taktik po dosažení pohlavní dospělosti v závislosti na věku mezi pohlavími podstatně liší (Pellis 2002).

3.3 Ultrazvuková vokalizace potkanů

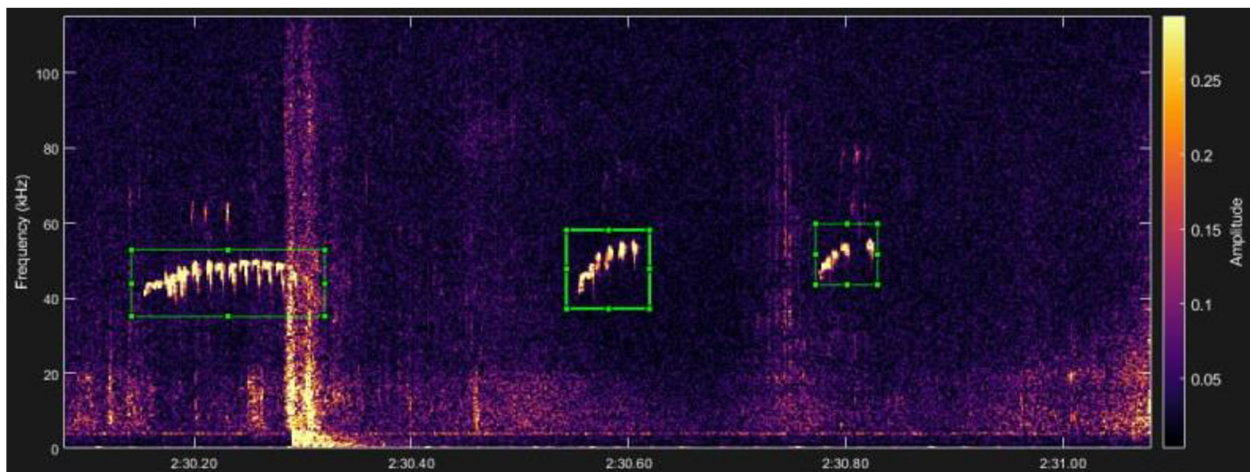
Vokalizace je jedním z nejlepších komunikačních prostředků většiny suchozemských obratlovců, přestože přenos zvuku ovlivňuje a ztěžuje mnoho fyzikálních podmínek a objektů v prostředí. Vokální komunikace není závislá na denním světle a viditelnosti ani na blízkosti organismů, nezanechává trvalé stopy a ve většině situací není kriticky ovlivněna vzdušnými proudy, vlhkostí nebo teplotou. Není tedy překvapivé, že vydávání vokalizace pro vnitrodruhovou komunikaci je jedním z nejstarších znaků přítomných u obratlovců a tetrapodů. (Bass et al. 2008, Bass & Chagnaud 2012; Bass 2014). Neuronální mechanismy pro regulaci základních vlastností vokalizace, jako je délka volání a frekvence zvuku, se nacházejí v zadním mozku, který hraničí s míchou (Bass & Baker 1997; Bass et al. 2008). V evoluci obratlovců jsou konzervované a bylo je možné prokázat u různých druhů, od ropušnic (Chagnaud & Baker 2011) až po savce, jako jsou potkani (Yajima & Hayashi 1983).

Frekvence zvuku a doba trvání vokalizace jsou regulovány samostatnými jádry zadního mozku (Chagnaud & Baker 2011), což umožňuje generovat velké množství kombinací zvukových parametrů, a tím i generovat různé signály s různým informačním obsahem, které stále využívají stejný akustický způsob komunikace. Stará fylogenetická historie vokalizace naznačuje, že vokální forma komunikace je vysoce adaptivní a je biologicky důležitá pro chování živočichů již stovky milionů let (přibližně 400 milionů let u tetrapodů) (Clack & Devonian 1997).

V závislosti na emoční valenci situace vydávají potkani různé typy ultrazvukových vokalizací (USV) (Wöhr & Schwarting 2013; Brudzynski 2013). Mláďata potkanů vydávají 40kHz USV hlavně v izolaci od matky a hnízda, ačkoli některé behaviorální podněty, jako je hrubé zacházení ze strany člověka nebo hrubá interakce s matkou, mohou u mláďat potkanů vyvolat ultrazvukové volání (Boulanger-Bertolus et al. 2017; Shair 2018). Mladí a dospělí potkani vydávají 22kHz USV (Obrázek 1) a/nebo 50kHz USV (Obrázek 2) v několika situacích, které mají behaviorální a sociální význam, a takové volání může ovlivňovat chování příjemců, plnit afiliační, emotivní nebo poplašnou funkci (Brudzynski 2005, 2013; Portfors 2007; Burgdorf et al. 2011; Simola & Brudzynski 2018a; Wöhr & Schwarting, 2013).



Obrázek 1 Příklad 22 kHz ultrazvukové vokalizace potkana.



Obrázek 2 Příklad 50 kHz ultrazvukové vokalizace potkana.

Potkani tedy vydávají 22 kHz USV s dlouhým trváním v sociálních situacích, které mohou způsobit újmu jednotlivým zvířatům nebo kolonii, například při detekci a/nebo setkání s predátory, agresivními konspecifickými jedinci nebo neznámými lidmi (Brudzynski & Ociepa 1992; Panksepp et al. 2004). Potkani navíc vydávají 22 kHz USV s dlouhým trváním během interakcí s konspecifickými jedinci nebo během sexuálních setkání, kdy samci potkanů volají, aby signalizovali nástup refrakterního období a ukončení kontaktu se samicí (Thomas et al. 1983; Barfield & Thomas 1986). Potkani navíc vydávají 22 kHz USV s dlouhým trváním během averzivních heterospecifických kontaktů s lidmi, které spočívají v dodání mírných hmatových podnětů na krk nebo záda potkanů (Inagaki et al. 2005; Drugan & Stafford, 2018).

Naopak potkani vydávají 50kHz USV v sociálních situacích, které mohou být pro jednotlivé zvíře nebo kolonii prospěšné. Příkladem takových situací jsou setkání s partnery v kleci po období odloučení, úspěšná kopulace a neagresivní kontakty s konspecifickými jedinci (Bialy et al. 2000; Brudzynski & Pniak 2002). Potkani vydávají 50kHz USV také během heterospecifické hry s člověkem, která se označuje jako „lechtání“ a připomíná sociální hru mladých jedinců (Knutson et al. 1998; Panksepp & Burgdorf 2000; Burgdorf & Panksepp 2001). Potkani vydávají 50kHz USV také v očekávací situaci, které jsou sociálně apetitivní, a předpokládá se, že takové volání značí očekávání pozitivních emočních stavů (Brudzynski & Pniak 2002).

Tato zjištění naznačují, že USV u potkanů fungují jako komunikační nástroj, který přenáší emocionální a/nebo environmentální informace. Pokud je tomu tak, může pár potkanů vydávat USV i v domácím prostředí (Takahashi et al. 2010).

USV o frekvenci 22 kHz a 50 kHz mají odlišné akustické parametry, což umožňuje potkanům-příjemcům rozlišit jednotlivá volání a jednoznačně rozpoznat emoční stav vysílajícího (Simola & Brudzynski 2018a). USV o frekvenci 22 kHz mají zvukovou frekvenci složenou z 20 až 35 kHz a nemají výraznou frekvenční modulaci. Navíc 22kHz USV jsou obvykle delší než 300 ms (Brudzynski & Ociepa 1992; Simola & Brudzynski 2018a), i když byla popsána i kratší volání (Barker et al. 2010; Brudzynski 1994). Byla vyslovena hypotéza, že potkani vydávají 22kHz USV s dlouhým trváním, aby signalizovali averzivní stavy způsobené vnějším nebezpečím, zatímco 22 kHz USV s krátkým trváním by sdělovali vnitřní

negativní emoční stavy (Brudzynski 2015). Volání typu 50 kHz mají zvukovou frekvenci zahrnující 35 až 80 kHz a trvání 30-40 ms (Simola & Brudzynski 2018a).

Přestože se USV hlodavců vyvinuly jako prostředek sociální komunikace (Kay & Hoekstra 2008; Simola & Brudzynski 2018a), potkani vokalizují i mimo sociální kontext. Potkani tak vydávají 22 kHz USV s dlouhým trváním v reakci na averzivní podněty postrádající sociální valenci, jako jsou například prudký proud vzduchu, hlasité zvuky nebo bolestivé podněty (Brudzynski & Holland 2005; Kaltwasser 1991; Oliveira & Barros 2006), a také během odvykání od drog, které mají potenciál zneužívání (Covington & Miczek 2003).

Na základě důkazů, že potkani vokalizují v sociálním i nesociálním kontextu, jsou USV hlodavců stále častěji hodnoceny ve výzkumu komunikace, emocí a afektů, jakož i při vývoji nových léčiv pro léčbu psychiatrických a neurologických onemocnění (Simola 2015; Faure et al. 2018; Simola & Brudzynski 2018b). Závěrem lze říci, že neinvazivní záznamy USV u potkanů mohou významně pomoci i při studiu chování a welfare zvířat.

3.3.1 Vokalizace potkanů během sociální hry

Komunikace během herní interakce může být klíčová pro usnadnění kontaktu a udržení hry (Palagi, Burghardt et al. 2016). Vzhledem k tomu, že hravý souboj a vážný souboj koexistují u téhož jedince v jakémkoliv věku (Pellis & Pellis 1987; Takahashi & Lore 1983; Smith et al. 1999), existuje riziko, že si zvířata mohou jednání svého partnera špatně vyložit a buď přestat hrát, nebo přejít do agrese. Proto se tvrdí, že používání signálů ke sdělení, jak má být jednání interpretováno, je rozhodující, zejména pokud je kontext nejednoznačný (Bateson 1956; Aldis 1975; Bekoff 1975; Pellis & Pellis 1996).

Bylo shromážděno mnoho empirických důkazů, které ukazují, že takové signály jsou strategicky vysílány pro usnadnění hry. Například psi s větší pravděpodobností provedou herní úklon směrem k partnerovi bezprostředně před výpadem spojeným s hravým kousnutím (Bekoff 1995). Podobně pokud partneři synchronizují své herní úklony, jsou schopni udržet déle trvající hravé zápasy (Palagi et al. 2015).

Zásadní práce Jaaka Pankseppa a jeho týmu ukázala, že když potkani očekávají nebo se skutečně zapojují do hry, vydávají ultrazvukové vokalizace (USV) (Burgdorf et al. 2008, Knutson et al. 1998). Se hrou jsou spojena zejména volání v rozsahu 50 kHz. Vzhledem k tomu, že mladí potkani aktivně vyhledávají jak hru, tak i 50 kHz USV (Wöhr & Schwarting 2007), a že volání v rozsahu 50 kHz je spojeno s dalšími apetitivními zážitky, jako je páření a přijímání potravy, Panksepp a jeho kolegové předpokládají, že tento typ USV slouží ke sdělování pozitivních afektů. Navrhl totiž, že volání 50 kHz vydávané během lechtání potkanů slouží podobnému účelu jako lidský smích (Panksepp & Burgdorf 2003).

Potkani nejčastěji vydávají USV signály bezprostředně před navázáním hravého kontaktu (Himmler et al. 2014) a tato předkontaktní volání vydává jak iniciátor, tak příjemce kontaktu (Kisko, Himmler et al. 2015). Navíc, když potkani neslyší, snižuje se frekvence soubojů během hravé interakce (Siviy & Panksepp 1987).

Seznámení dospělých potkaních samců, kteří se navzájem neznají, v neutrální aréně vede k drsnější verzi hry, která může občas přerůst v agresi (Smith et al. 1999). Pokud je jeden z partnerů devokalizovaný, riziko eskalace hry v agresi se výrazně zvyšuje (Kisko, Himmler et al. 2015); to je zřejmě způsobeno tím, že partneři nedokážou koordinovat své ultrazvukové

vokalizace (Burke, Kisko, Pellis & Euston 2017). U juvenilních potkanů devokalizace (Kisko, Euston, & Pellis 2015; Kisko, Himmler et al. 2015) hře nebrání, ani nezvyšují riziko eskalace agrese.

Obecně ultrazvukové volání potkanů o frekvenci 50 kHz lze dále rozdělit na různé typy volání, jako jsou například USV typu „Flat“ a USV s frekvenční modulací (FM) (Burgdorf et al., 2008), které se pak dělí na více než 12 subtypů (Burke et al. 2018). Podtypy USV a principy jejich rozlišení jsou podrobněji popsány v části „Metodika“.

USV mohou působit jako obecné motivátory hry a mohou být také důležité pro vyjednávání konkrétních akcí s partnerem. Konkrétní typy volání o frekvenci 50 kHz jsou spojeny s konkrétními akcemi při pohybu po výběhu, ve kterém je potkan vycvičen k tomu, aby předvídal příchod partnera na hru (Burke, Kisko, Swiftwolfe, Pellis, & Euston, 2017). Při samotné hře některé typy 50 kHz USV jsou spojeny s konkrétními obrannými akcemi během hravých soubojů (Himmler et al., 2014). Takové volání tedy může napomáhat koordinaci akcí partnerů (Burke et al. 2018).

Bylo také prokázáno, že USV o frekvenci 50 kHz není vysíláno náhodně, ale je vydáváno, když se jedinec věnuje určitým činnostem (Burke, Kisko, Pellis, et al. 2017; Burke et al. 2018), přičemž některé z těchto ultrazvukových signálů mají pravděpodobně vysoce specifický vliv na následné chování příjemce.

Burke et al 2020 prokázali, že, například, frekvenčně modulované USV, které jsou nejčastěji vydávanými voláními (Wright et al. 2010; Himmler et al. 2014), jsou spojeny s přibližováním a kontaktováním zátylku (Burke et al. 2018), a také i s lokomocí obecně (Burke, Kisko, Swiftwolfe, et al. 2017). Je možné, že vzácněji vydávaná volání jsou rozhodující pro koordinaci společných akcí mezi partnery, jako je například výměna rolí, ke které nejčastěji dochází při aktivním hravém souboji páru. Naproti tomu častěji vysílaná volání, jako jsou FM, mohou mít obecnější funkci zlepšující náladu během hry (Burke et al. 2020).

Mechanismy produkce ultrazvukových vokalizací jsou organizovány subkortikálně (Brudzynski 2009). Nicméně vzhledem k tomu, že přinejmenším některé USV mohou být modulované kontextově, což zřejmě naznačuje, že jsou využívána takticky k ovlivňování chování partnera, je možné, že prefrontální kortex může být důležitý pro rozhodování o kontextu a načasování volání. Na podporu této možnosti svědčí fakt, že sociální izolace v juvenilním období snižuje schopnost reagovat na konkrétní USV kontextově vhodným způsobem (Seffer et al. 2015). Zajímavé je, že stejná deprivace vede ke změně organizaci prefrontálního kortexu a snížení výkonných funkcí se souvisejícím oslabením sociálních dovedností (Burlison et al. 2016; Pellis, Pellis, & Himmler 2014; Schneider et al. 2016; Vanderschuren & Trezza 2014). Je možné, že pro komunikaci během hry jsou důležité nejen USV signály, ale také to, že hra poskytuje zkušenosti, které reflektují vývoj kortikálních mechanismů, které zlepšují schopnost potkanů používat různé USV kontextově vhodným způsobem (Pellis et al. 2018).

Dohromady tyto poznatky ukazují, že některé ultrazvukové hlasy potkanů v určitých situacích fungují jako prostředek komunikace a že 50 kHz USV fungují jako signály, které usnadňují vznik hry, zajišťují, že hra zůstane hrou a že bude pokračovat (Burke et al. 2020).

3.4 Heterospecifická hra člověka s potkany: „Tickling“

Vzhledem k tomu, že potkani jsou v přírodě kořisti mnohá predátorů, jsou pro ně interakce s člověkem zpočátku děsivé. Interakce mezi lidmi a potkany tak mohou vést k negativnímu ovlivňování potkanů a jejich špatnému welfare (Gartner et al. 1980). Tyto interakce a strach, který z nich vyplývá, jsou významným problémem vzhledem k všudypřítomnosti a důležitosti interakcí mezi potkanem a člověkem. Jednou se slibných metod pro zlepšení interakcí mezi lidmi a potkany je technika manipulace známá jako "lechtání" nebo heterospecifická hra (LaFollette et al. 2018).

Lechtání napodobuje sociální hru mladých potkanů (Panksepp 2000) a může být použito k navyknutí potkanů na manipulaci. Hra potkaních mláďat je charakterizována kontaktem na zátylku cílového potkana (nape contact), po kterém následuje otočení cílového potkana na záda (belly contact) (Pellis & Pellis 1987). Lechtání kopíruje tyto činnosti pomocí rychlých, lehkých pohybů prstů na zátylku potkana (nape contact), po nichž následuje rychlé otočení potkana na záda a rychlé, lehké pohyby prstů na břicho (belly contact). Systematický přehled lechtání potkanů zjistil, že lechtání zvyšuje pozitivní reakce a přístupové chování, zlepšuje manipulaci s potkany a snižuje celkovou úzkost a strach (LaFollette et al. 2018).

Postup lechtání se v jednotlivých studiích lišil, nejčastější metodou však bylo kopírování postupu vyvinutého Pankseppem a Burgdorfem, přičemž každé lechtání trvalo celkem 2 minuty, z toho 1 minuta aktivního lechtání střídáním 15 sekund odpočinku a 15 sekund aktivního lechtání. Nejčastěji se lechtání provádělo po dobu 5 dnů (LaFollette et al. 2017).

Hodnocení welfare potkanů může být náročné. Mezi již úspěšně zavedená a ověřená kritéria však patří ultrazvuková vokalizace, chování při hře, fekální kortikosteron a behaviorální testy (Siviy & Panksepp 1985; Thanos et al. 2009; Cloutier et al. 2012).

Během lechtání potkani obvykle vydávají velké množství 50kHz vokalizací (LaFollette et al. 2017). Avšak někteří potkani produkují při lechtání více vokalizace („high-callers“) než jiní („low-callers“) (Mällo et al. 2007). Tyto individuální odlišnosti mohou mít vliv na další vědecky zkoumané vlastnosti, jako je odolnost vůči stresu. Například potkani high-callers mohou být odolnější vůči stresu než potkani low-callers (Burgdorf et al. 2009; Mällo et al. 2009), což může být důsledkem jejich vrozeného trvalého vysokého pozitivního afektu nebo pozitivnější reakce na lechtání. Potkani high-callers vykazují po jednodenním lechtání pozitivní kognitivní zkreslení na nejednoznačný tón, zatímco potkani low-callers a potkani, kteří nejsou lechtáni, vykazují neutrální reakci (Rygula et al. 2012). Proto je pravděpodobné, že přínosy lechtání pro interakce mezi lidmi a potkany a welfare budou ovlivněny reakcí potkanů na lechtání.

Lechtání je užitečné pro studium pozitivního afektu, protože ho lze použít rychle, důsledně a spolehlivě na rozdíl od jiných testů. Například bylo opakovaně prokázáno, že počítání 50kHz vokalizace má vyšší spolehlivost mezi jednotlivými hodnotiteli i v rámci jednoho hodnotitele a snadno se trénuje. (LaFollette et al. 2018).

4 Metodika

4.1 Laboratorní potkani a jejich ustájení

Experiment byl prováděn v Demonstračním a experimentálním pracovišti České zemědělské univerzity. Pro provádění experimentu byli 5. května 2022 získáni samci potkanů Long-Evans (LE) ($n = 18$, ve věku 21 ± 1 den) z akreditovaného chovu Fyziologického ústavu AV ČR. Kromě toho 27. dubna bylo také získáno 6 potkanů Fischer-344 (F-344) ve věku 21-28 dní z akreditovaného chovu VELAZ, s.r.o. Potkani byli chováni po dvou jedincích ve speciálních Duna boxech značky „Ferplast Duna Multy Box“ o velikosti 70 x 46 x 31 cm (Obrázky 3, 4) do věku 45-51 dní.

Podestýlku jsme používali papírovou, značky „Pets Dream paper pure“, kterou jsme obnovovali jednou za 1 až 2 týdny. Každý potkan byl umístěn v polovině Duna boxu, který byl rozdělen uprostřed drátěným pletivem, takže prostor pro jednoho potkana byl 35 x 46 cm. Potkani ve stejném Duna boxu mohli komunikovat mezi sebou, vidět se, slyšet a cítit na dotek, ale byli omezeni v sociálních interakcích, jako je například hra.





Obrázky 3 a 4 Duna boxy (domovské klece) pro potkany.

Potkani měli ad libitum přístup ke standardnímu krmení pro laboratorní potkany značky „Versele-Laga Complete“ a pitné vodě. Experimentální zvířata byla umístěna v místnosti 2,9 x 5,9 m se stálou teplotou v rozmezí 22 °C-24 °C a s umělým osvětlením v režimu 14 hodin světla:10 hodin tmy.

4.2 Rozdělení potkanů do herních skupin

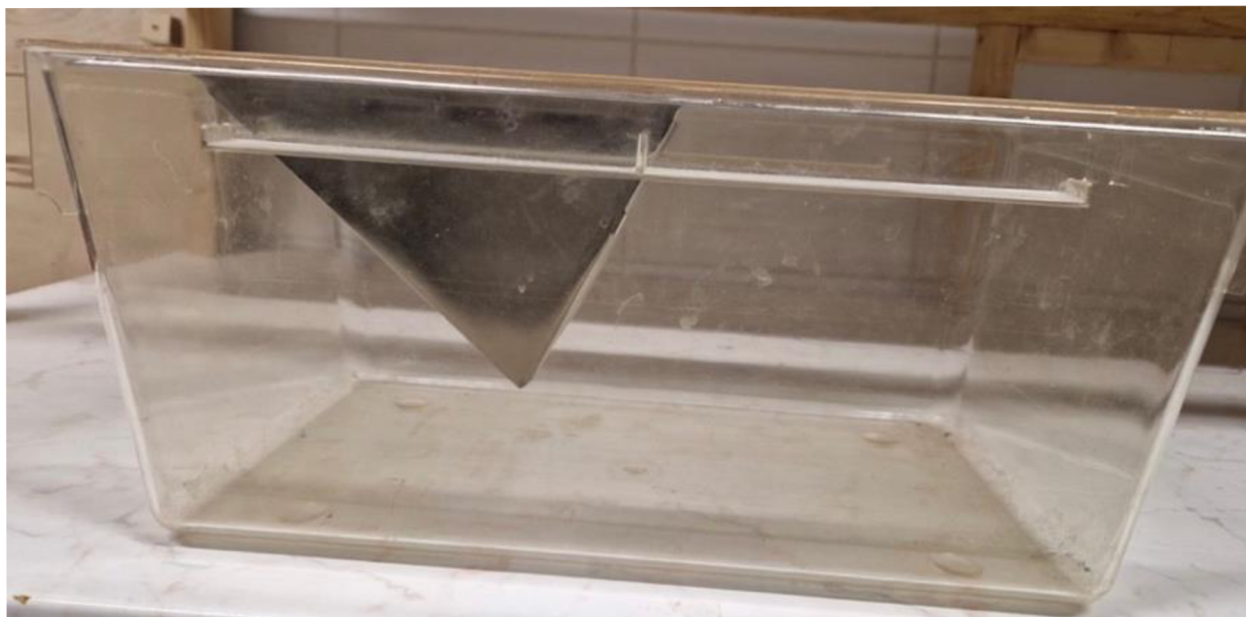
Pro ověření hypotéz **H2** a **H3** potkani byli náhodně zařazeni do jedné ze tří skupin (tedy různých způsobů odchovu): kontrolní, kinematicky redukované a sociálně redukované. Potkani ze stejného vrhu byli podle možností rovnoměrně rozděleni do všech skupin. V každé skupině bylo 6 potkanů. Všichni potkani si mohli hrát se svým spoluhráčem (potkanem ze stejného Duna boxu) jednu hodinu denně (10.00-11.00 h, pondělí až pátek) od 21 do 49 dnů věku v kleci pro hru (42 × 26 × 19,5 cm) s dřevěnou podestýlkou. Spoluhráči zůstávali po celou dobu experimentu stejní.

Podmínky pro hraní se však u tří skupin lišily:

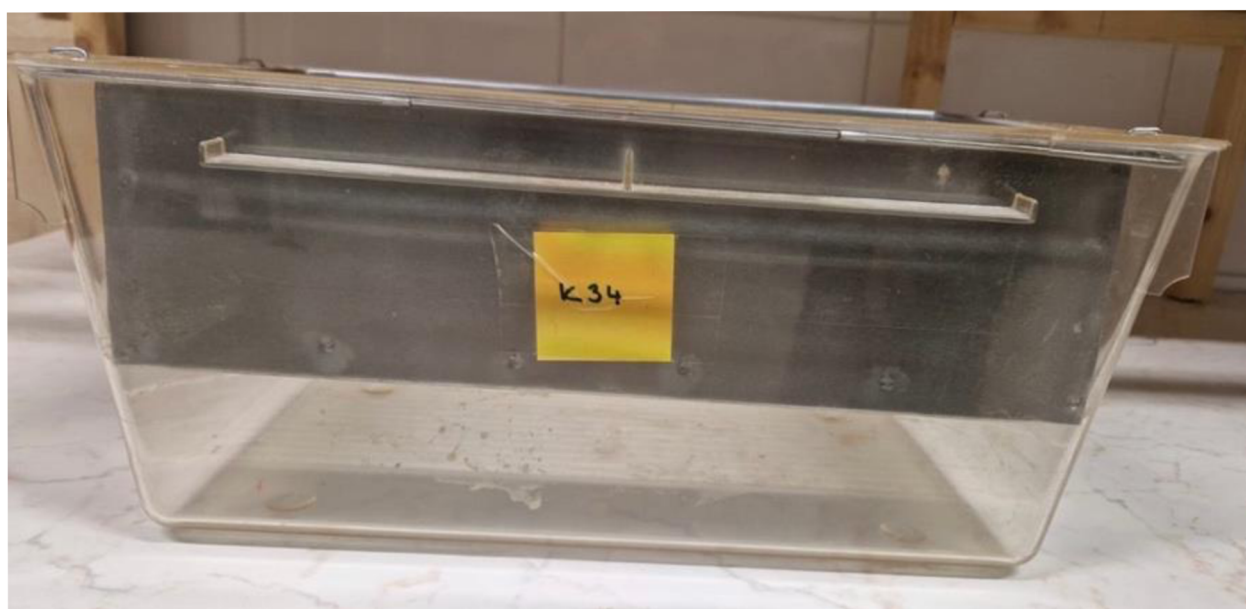
- Potkani LE v kontrolní skupině si neomezeně hráli se svým spoluhráčem LE v herní kleci (obrázek 5).
- Potkani LE ve skupině s kinematickým omezením si také hráli se svým spoluhráčem LE, jejich hrací aréna však byla výškově omezena stropem z kovového pletiva (Obrázek 6) a výška hrací arény se zvyšovala každý týden tak, aby rostoucí potkani mohli vždy pod stropem bez problémů prolézt (1. týden: 3 cm, druhý týden: 3,5 cm, třetí týden: 4,0 cm, čtvrtý týden: 4,5 cm). Toto výškové omezení znemožňovalo vertikální herní prvky, jako je skákání, přitahování,

přítlačování a především „belly contact“ a „nape contact“, ale potkani se stále mohli dotýkat, kontaktovat a plazit se kolem sebe.

- Potkani ve skupině se sníženou sociální interakcí si hráli v nezměněné herní aréně, ale byli spárováni s potkanem F-344, aby během hry zažili sníženou sociální interakci.



Obrázek 5 Herní klec, ve kterém probíhala hra pro potkany z kontrolní a sociálně redukované skupiny.



Obrázek 6 Herní klec pro potkany ze skupiny s kinematickým omezením.

Každý den v 9.55 h jsme potkanům na pět minut přehrávali zvukový podnět (úsek árie Leporella z Mozartovy opery „Don Giovanni“), abychom jim oznámili začátek hry. Po skončení tohoto podnětu jsme všechny potkany vyndávali z jejich domovských klecí, umístili je do

herních klecí a opustili místnost. O hodinu později jsme vrátili potkany do jejich domovských klecí.

4.3 Metodika hry „Tickling“ pro zkoumání vydávaných typů USV

Když potkani dosáhli věku 35 dní, provedli jsme standardizovaný postup hry člověka s potkanem („tickling“), abychom napodobili důležité prvky hravého chování, a to je kontakt se zátylkem, přitisknutí na záda a lechtání břicha před jejich každodenní sociální hrou v hravých klecích. Lechtání probíhalo jednou denně po dobu deseti pracovních dnů mezi 8.00 a 9.30 h.

Před začátkem lechtání byl plastový box na lechtání (42 × 26 × 19,5 cm, dřevěná podestýlka byla vyměněna po každém potkanovi) umístěn na stole ve výšce 93 cm ve vzdálenosti 100-300 cm od domovských klecí potkanů. Mikrofon (UltraSoundGate 116 H) byl umístěn 28 cm nad boxem pro lechtání a zaznamenával zvuk pomocí notebooku a softwaru Avisoft-RECORDER (verze 4.2). Dvě kamery (Milesight) byly umístěny před a na pravé straně boxu pro lechtání a zaznamenávaly chování potkanů.

Každý potkan byl lechtán po dobu dvou minut podle metodiky heterospecifické hry „tickling“ z protokolu od Cloutier et al. (2018). Každé lechtání začínalo tím, že jsme předložili před jednu kameru papír s ID potkana, datem a číslem záznamu USV. Poté experimentátor před jednou kamerou tleskl (kvůli pozdější synchronizaci zvukových a obrazových záznamů), přenesl potkana do boxu pro lechtání a jednou rukou zavěsil doprostřed boxu pro lechtání (Obrázek 7).



Obrázek 7 Ruka experimentátora volně ponechána uprostřed herního boxu.



Obrázek 8 Kontakt rukou experimentátora se zátylkem potkana (nape contact).



Obrázek 9. Kontakt rukou experimentátora s břichem potkana (belly contact).

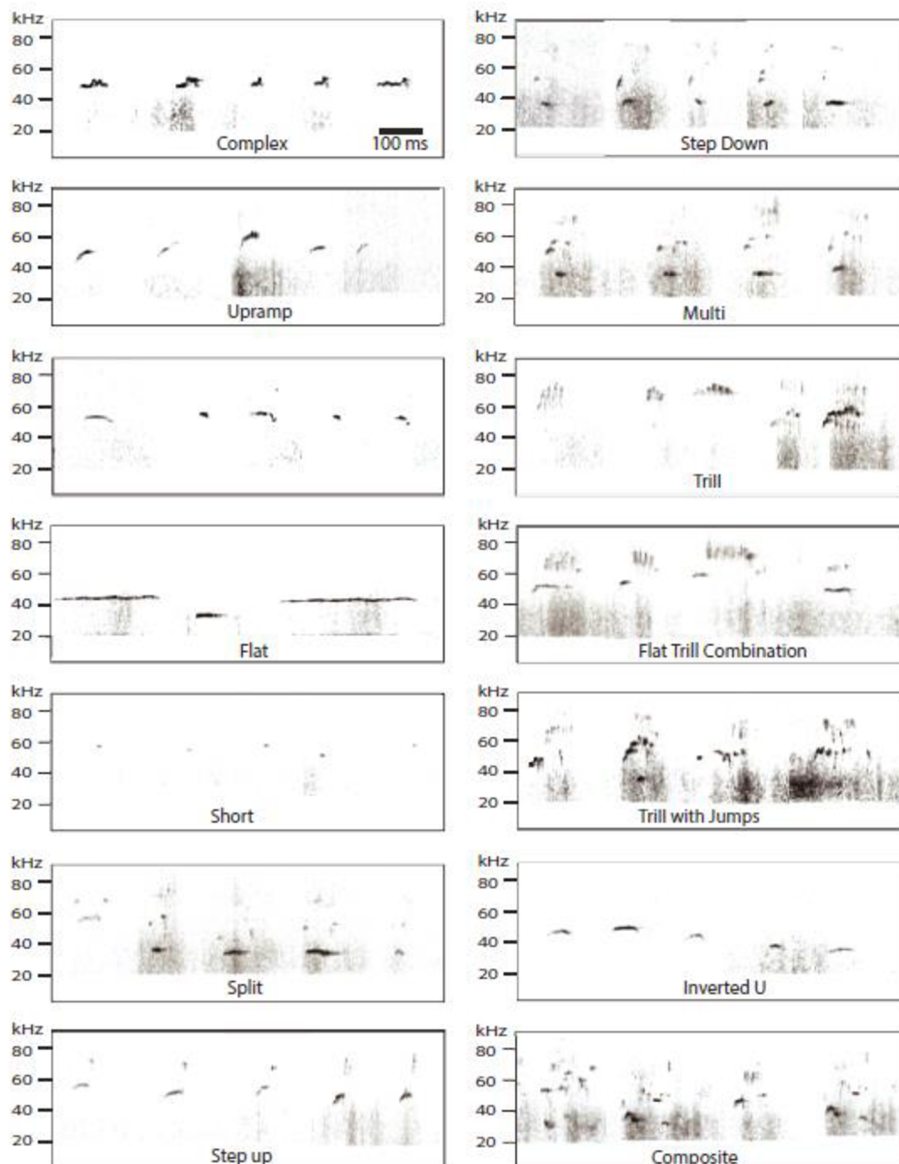
Prvních 15 sekund, pokud se potkan pokusil ruku očichat nebo se jí dotknout, experimentátor pomalu pohyboval rukou po boxu, dokud ji potkan nepřestal sledovat. V dalších 15 sekundách experimentátor opakoval pohyby napodobující hru „rough-and-tumble“ potkanů, včetně lechtání zátylku dvěma prsty (Obrázek 8), převrácení potkana na záda, lechtání břicha (Obrázek 9) a umožnění potkanovi narovnat se na nohy. Experimentátor po dobu dvou minut střídal 15 sekund lechtání a 15 sekund volného ponechání ruky v boxu, poté se experiment

ukončil a jsme vraceli potkany do jejich domovských klecí. Potkani z různých skupin byli náhodně rozděleni podle pořadí lechtání.

4.4 Rozdělení 50 kHz USV na bioakustické typy

Potkaní USV z 50 kHz skupiny lze rozdělit do tříd na základě jejich spektrotemporálních profilů (Burgdorf et al. 2008; Wöhr et al. 2008; Wright et al. 2010).

Jedním z problémů, které komplikují porozumění ultrazvukovým hlasům potkanů, je, že zatím není jasné, kde vést kategorické hranice mezi jednotlivými hlasy. Často se USV rozlišují na ploché a frekvenčně modulované (FM) USV (Wright et al; Burgdorf et al. 2008; Wöhr et al. 2008; Ciucci et al. 2009). Jejich frekvence může být relativně konstantní („Flat“), sledovat stereotypní modulaci na ~100 Hz (FM) nebo představovat náhlé skoky. Tyto prvky lze navíc v rámci jednotlivých hlasů kombinovat, což vede k potenciálně rozsáhlému „slovníku“ USV signálů (Wright et al., 2010). FM hlasy se někdy dále dělí. Například Takahashi et al (2010) rozdělili FM volání podle frekvencí, kolem kterých se pohybují (40 kHz nebo 60 kHz). Nejrozsáhlejší kategorizační schéma navrhli Wright et al (2010), kteří na základě akustických parametrů a profilů volání identifikovali 14 různých kategorií 50 kHz USV (Obrázek 10).



Obrázek 10. Příklady kategorizovaných 50kHz volání (jak je původně popsali Wright et al [3]) převzaté z dat Burke et al 2017.

Bylo však namítáno, že tato kategorizační schémata jsou podrobnější, než je nutné (Bruzynski 2013). Otázkou zůstává, které kategorie 50 kHz USV jsou přesně potřebné k zachycení podstatných charakteristik komunikace potkanů (Burke et al. 2017).

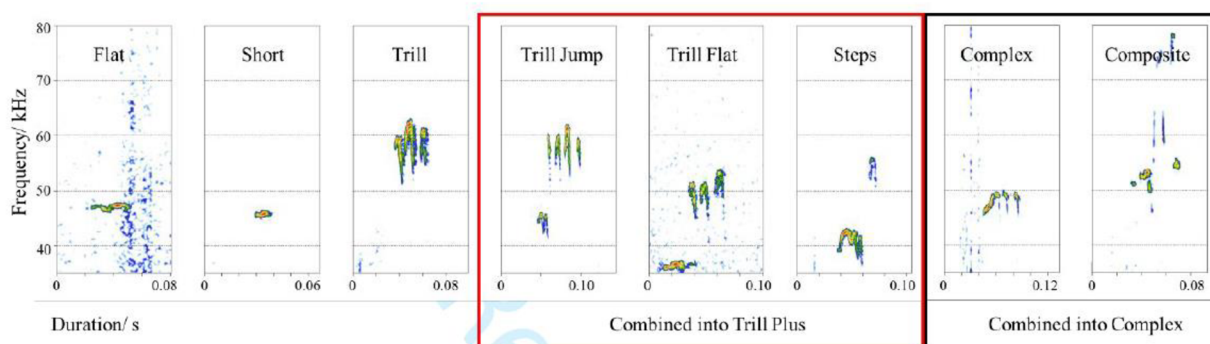
V rámci této práce bylo identifikováno 5 základních typů ultrazvuků u potkanů, přičemž jsme k tomuto účelu použili a natrénovali speciální programy využívající umělou inteligenci.

4.5 Klasifikace 5 typů 50 kHz USV

K trénování klasifikačního modelu založeného na hlubokém učení jsme nejprve použili program DeepSqueak (Coffey et al. 2019) a detekovali jsme manuálně 4616 USV v našich zvukových nahrávkách.

Po detekci USV v programu DeepSqueak pro co nejpřesnější rozlišení podtypů ultrazvuků, provedli jsme test spolehlivosti tak, že jsme náhodně vybrali 307 USV nahrávek a nejprve je vizuálně rozdělili na různé podtypy. Test spolehlivosti byl proveden v programu R pomocí dvakrát opakovaného manuálního rozdělení těchto 307 USV do 7 subtypů v časovém rozmezí 3 dny. Přesnost testu dosáhla těchto výsledků: první test ($Kappa = 0,817$), druhý test ($Kappa = 0,862$).

Často a vzájemně chybně označené podtypy bylo rozhodnuto pak sloučit, protože tyto podtypy nemůže experimentátor spolehlivě rozlišit a vizuálně nerozlišitelné skupiny by mohly v následujících krocích snížit efektivitu tréninku a přesnost modelu. Nakonec jsme tedy získali 5 podtypů 50 kHz USV, které byly zkoumány v této studii: Flat, Short, Trill, Trill Plus a Complex (Obrázek 11).



Obrázek 11 Příklady podtypů USV. Osa X zobrazuje čas v sekundách a osa y frekvenci v kHz. Modrý až červený barevný gradient představuje rostoucí energii. Každý obrázek zobrazuje jednotlivý podtyp USV a jeho název. Trill Jump, Trill Flat a Steps byly po testu spolehlivosti sloučeny do Trill Plus. Complex a Composite byly stejným způsobem sloučeny do podtypu Complex

Všechny spektrogramy označených USV byly nahrány jako obrázky „jpg“ do programu Roboflow, abychom mohli trénovat model „Roboflow 2.0 Classification“. Celkem 4616 obrázků bylo rozděleno na 3231:923:462 pro trénovací, validační a testovací skupinu. Náš model dosáhl 84,5 % přesnosti na testovací sadě. Poté byl tento model použit k předpovědi podtypu 21590 USV detekovaných přizpůsobeným skriptem v statistickém programu R (Liu et al., 2023) ve všech zvukových nahrávkách. Pro další ověření modelu bylo náhodně vybráno 1000 USV s předpovězenými podtypy a porovnáno předpověď modelu s výkonem člověka (slepého k předpovědi). U těchto 1000 USV jsme dosáhli shody 79,0 % s předpovědí modelu. V kombinaci s ručně označenými 4616 USV máme celkem 26206 USV v 5 výše uvedených podtypech.

4.6 Behaviorální analýza

Behaviorální prvky potkanů (dále nazývané jako „nape contact“, „belly contact“, „explore cage“, „explore hand“, „escape“ a „immobile“) během všech lechtacích sezení byly pozorovány a dokumentovány v programu BORIS (Friard & Gamba, 2016). Etogram byl proveden ručně nahráním videa do programu a pozorováním chování potkanů během lechtání. Jakmile potkan projevoval jedno z výše uvedených chování, bylo to zřetelné na videu a bylo

možné snadno určit přesné načasování a trvání různých behaviorálních prvků. Tímto způsobem jsme získali velké množství údajů o přesném načasování konkrétního chování.

Konkrétní behaviorální prvky jsou podrobně popsány v Tabulce 1

Tabulka 1. Etogram chování potkanů během lechtání.

Behaviorální prvky	Popis
Nape contact	Experimentátor napodobuje rukou hravé kousání potkanů do zátylku jako při hře „rough-and-tumble“. Konkrétně lechtá horní část zátylku dvěma prsty.
Belly contact	Experimentátor napodobuje rukou další část hry RT, kdy se jednomu potkanovi podaří otočit druhého potkana na záda a dotknout se tlapkami nebo čumákem břicha soupeře, čímž vznikne „lechtání“. Zkoušející lechtá potkana v oblasti břicha prsty, zatímco potkan leží na zádech.
Explore cage	Potkan očichává klec nebo podestýlku, když je v klidové poloze nebo se pohybuje po kleci. Potkan může začít okusovat podestýlku nebo klec, což se také považuje za zkoumání klece. Potkan nejeví zájem o ruku a nedívá se jejím směrem.
Explore hand	Potkan projeví jakýkoli zájem o ruku. Například otáčí hlavu směrem k ruce, zkoumá ruku a pokouší se ruku očichat na dálku nebo zblízka. Nebo potkan ruku pronásleduje, když experimentátor začne rukou pohybovat směrem od potkana. Během pronásledování ruky může zvíře ruku také aktivně očichávat, pokoušet se s ní komunikovat nebo ji lehce kousat.
Escape	Potkan se aktivně pokouší o únik z klece, např. skáče směrem k okrajům klece, přidržuje se okrajů předními nohama, předními nohama se přetahuje přes okraje klece. Jakékoli z těchto chování se považuje za útěk z klece, včetně samotného útěku, kdy se potkanovi podařilo být zcela nebo zčásti mimo klec.
Immobile	Potkan je nehybný, neotáčí hlavou, nesleduje ruku a nevykazuje žádnou jinou aktivitu.

Byly zaznamenány časové úseky všech behaviorálních prvků a tyto časové úseky jsme použili k výpočtu celkové doby trvání jednotlivých prvků v rámci jednoho lechtání. Poté jsme každému podtypu USV přiřadili počet jednotlivých behaviorálních projevů v rámci jednoho lechtání. Pokud potkani v daném prvku chování během 2 minut heterospecifické hry s člověkem nevydali žádný USV, přiřadili jsme všem podtypům USV hodnotu 0.

4.7 Statistická analýza

Pro ověření hypotéz **H1**, **H2** a **H3** a zjištění toho, jak typ treatmentu a behaviorální prvky ovlivňují emisi podtypů USV, byl vytvořen **úplný smíšený lineární model** (funkce `glmmTMB` v balíčku „`glmmTMB`“) v programu R. Závislou proměnnou v modelu byl celkový počet USV daného typu, který daný potkan emitoval během daného sezení a daného behaviorálního prvku, tedy například počet hlasů typu Trill, které potkan P1 vydal během behaviorálního prvku Nape contact v dané sezení. Tento počet byl před použitím v modelu logaritmičticky transformován, aby bylo dosaženo normálně rozdělené proměnné odpovědi.

V úplném modelu byly zahrnuty následující **fixní** efekty: skupina třícestná interakce (kontrolní/kinematicky redukována/sociálně redukována), podtyp USV (Trill plus/Trill/Complex/Short/Flat) a typ chování (Belly contact/Nape contact/Explore cage/Explore hand/Escape/Immobile), dále třícestná interakce těchto tří hlavních efektů a všechny tři dvoucestné interakce mezi nimi. Jako **kovariát** byla zahrnuta také celková doba trvání behaviorálního stavu, pořadí lechtání a dny testování lechtání.

ID potkanů a ID sezení byly zahrnuty jako dva **náhodné intercepty**. Poté byl vybrán nejjednodušší model podle nejvyššího Akaikeho kritéria $2\Delta AICc$ jako nejlepší model odvozený z tohoto úplného modelu (funkce dredge v balíčku „MuMIN“). Následně byly u významných interakcí post hoc testované všechny významné interakční podmínky.

5 Výsledky

5.1 Popisná statistika

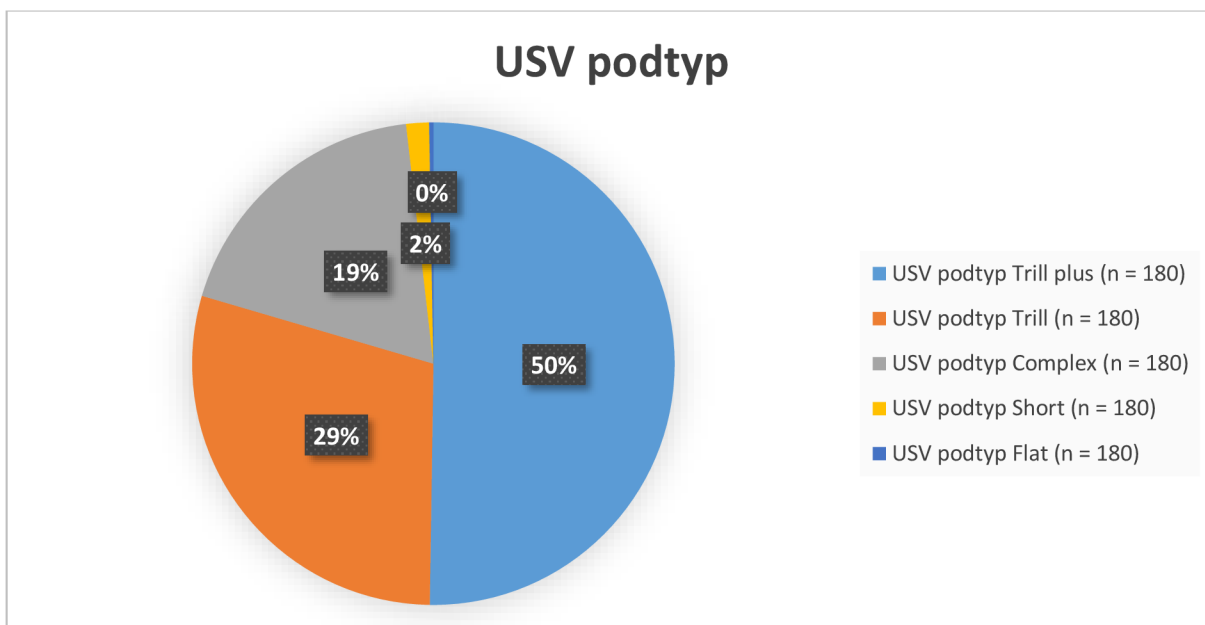
Během statistické analýzy bylo zjištěno, že potkani ze všech skupin vydávali během lechtání značné množství 50kHz USV (Tabulka 2) Vzhledem k tomu, že sezení trvalo 120 s, ukazují hodnoty v první části tabulky, že průměrně vydávali potkani více než 1 USV za sekundu.

Druhá část tabulky 2 ukazuje, že během heterospecifické hry bylo zaznamenáno všech 5 podtypů USV, ale v různém počtu. Procentuální zastoupení jednotlivých typů USV je zobrazeno obrázku 12.

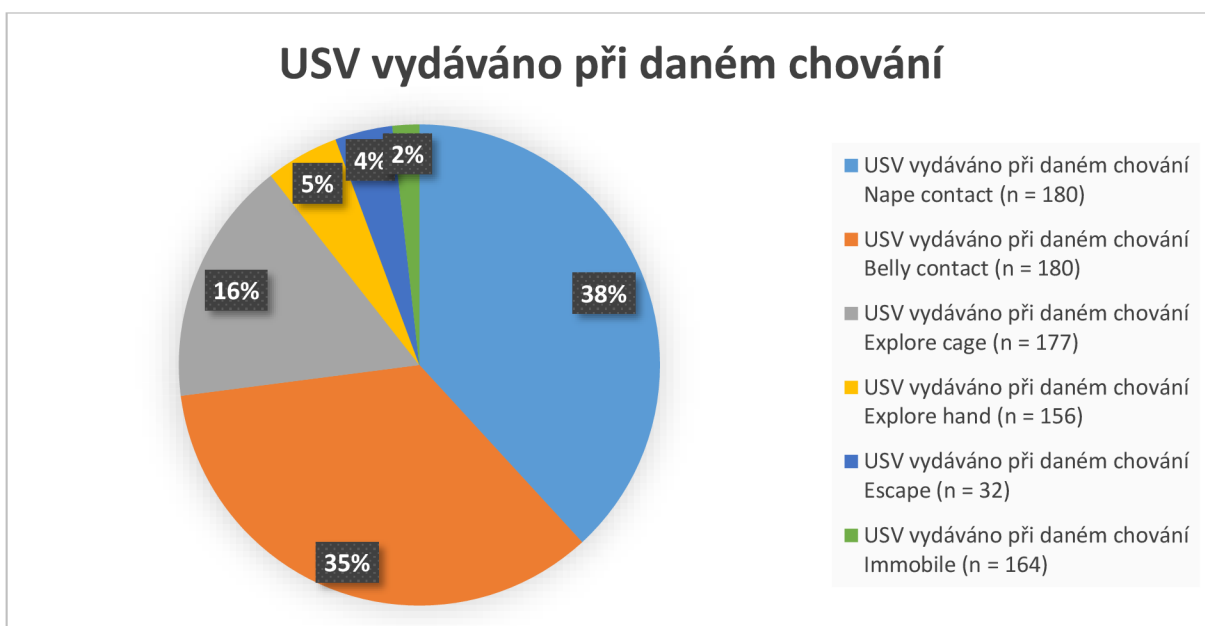
Třetí část tabulky ukazuje, že USV hlasy doprovázely všech 6 zaznamenávaných behaviorálních prvků, i když v různé četnosti. Obrázek 13 představuje procentuální podíl USV, které byly vydávány v souvislosti s daným behaviorálním prvkem.

Tabulka 2. Počet USV emitovaných na 1 sezení trvající 120 s. V závorce je počet sezení, kterých se daná statistika týká.

	Podmínky (pozorování)	Průměr	Dolní CL	Horní CL
Skupina	Kontrolní (n = 60)	173	159	186
	Kinematicky redukována (n = 60)	127	107	149
	Sociálně redukována (n = 60)	131	117	151
USV podtyp	Trill plus (n = 180)	72.2	65.6	78.8
	Trill (n = 180)	42.1	38.6	45.6
	Complex (n = 180)	26.8	24.2	29.5
	Short (n = 180)	2.2	1.8	2.6
	Flat (n = 180)	0.4	0.2	0.6
USV vydáváno při daném chování	Nape contact (n = 180)	57.3	52.9	61.6
	Belly contact (n = 180)	52.2	48.1	56.19
	Explore cage (n = 177)	24.7	21.8	27.6
	Explore hand (n = 156)	7.4	6.2	8.7
	Escape (n = 32)	5.8	3.4	9.2
	Immobile (n = 164)	2.7	2.1	3.4



Obrázek 12 Procentuální zastoupení jednotlivých typů USV



Obrázek 13 Procentuální podíl USV, které byly vydávány v souvislosti s daným behaviorálním prvkem

5.2 Testování hypotéz

Nejlepší model zahrnoval všechny tři hlavní efekty, dále všechny dvoustranné interakce (které nám sloužily jako k otestování hypotéz H1-H3), nikoli však třístrannou interakci mezi typy skupin, podtypy USV a chováním (Tabulka 3). Marginální a podmíněný R^2 tohoto modelu je 0,72 a 0,80 a model tedy vysvětluje značnou část variability v emisi vokalizací. V nejlepším modelu byla jako kovariát zahrnuta také celková doba trvání behaviorálních prvků, protože jednotlivé prvky zabíraly v průběhu sezení stejně dlouhou dobu. Identita potkana a identita sezení byly zahrnuty jako náhodné faktory. Emise USV byla skutečně ovlivněna jednotlivými

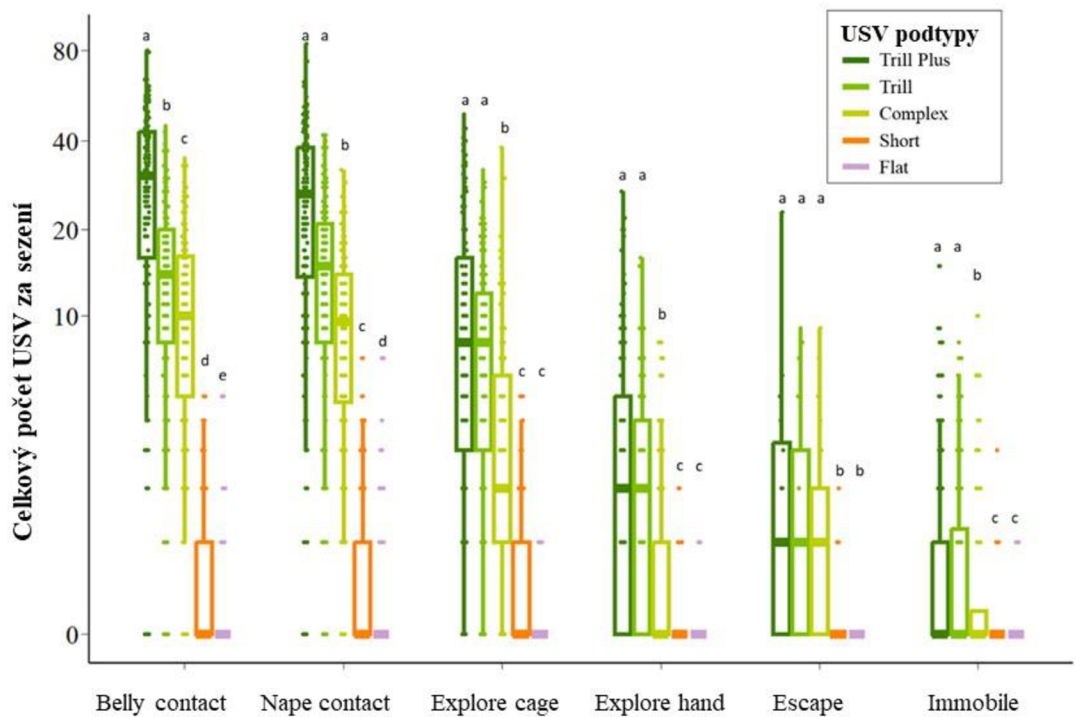
potkany (opakovatelnost = 0,214[0,106, 0,334], funkce 'rpt' z balíčku R 'rptR' s použitím nejlepšího modelu) a sezeními (opakovatelnost = 0,101[0,074, 0,133]).

Tabulka 3. Analýza nejlepšího modelu vysvětlujícího, jak způsob odchovu (skupina) a chování ovlivňují produkci pěti podtypů USV.

Efekt	Hypotéza	Chisq	Df	p hodnota
Skupina		3.67	2	0.160
Chování		2686.88	5	< 0.001
USV podtypy		8278.22	4	< 0.001
Chování * USV podtypy	H1	2228.69	20	< 0.001
Skupina * USV podtypy	H2	106.84	8	< 0.001
Skupina * Chování	H3	56.89	10	< 0.001
Trvání chování (kovariát)		396.25	1	< 0.001

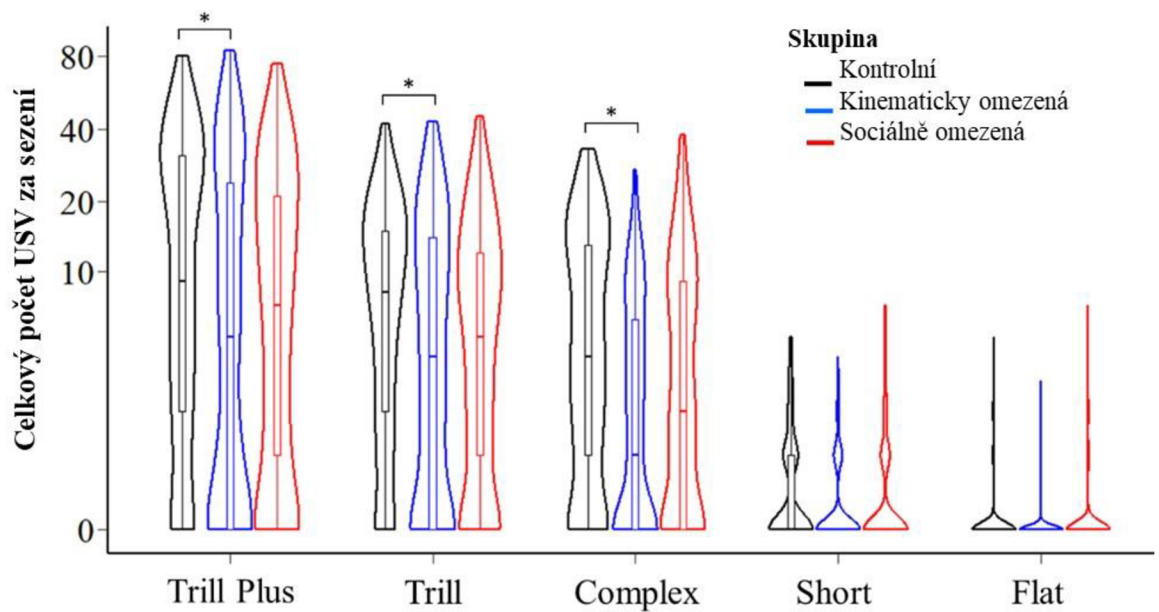
Nevýznamný hlavní efekt skupiny ukazuje, že způsob odchovu neovlivňoval celkový počet 50 kHz USV vokalizací. Statisticky významný efekt Chování prokazuje, že celkový počet vokalizací se liší mezi typy chování. Konkrétně bylo nejvíce USV hlasů emitováno při prvcích Belly Contact a Nape Contact (obrázek 14), tedy prvcích, kdy ruka lechtá potkana dorzálně nebo ventrálně. Statisticky významný efekt USV typu ukazuje, že některé typy vokalizací jsou častější než jiné, konkrétně nejčastějšími podtypy jsou Trill Plus a Trill a následně typ Complex (obrázek 13).

Výsledky modelu potvrzují hypotézu **H1** (obrázek 14). Statisticky významná interakce mezi Chováním a USV podtypy prokazuje, že různé behaviorální prvky potkanů v průběhu heterospecifické hry s člověkem jsou doprovázeny odlišnou četností jednotlivých typů USV vokalizace. Konkrétně při prvku Belly contact (tedy při přímém lechtání potkana na břichu) byl podtyp USV Trill Plus emitován častěji než Trill, zatímco při ostatních prvcích chování jsou oba typy používány stejně často. Dále platí, že pouze při prvku Escape byl podtyp Complex používán stejně často jako Trill Plus a Trill, zatímco při ostatních prvcích chování byl podtyp Complex méně častý než Trill Plus a Trill.



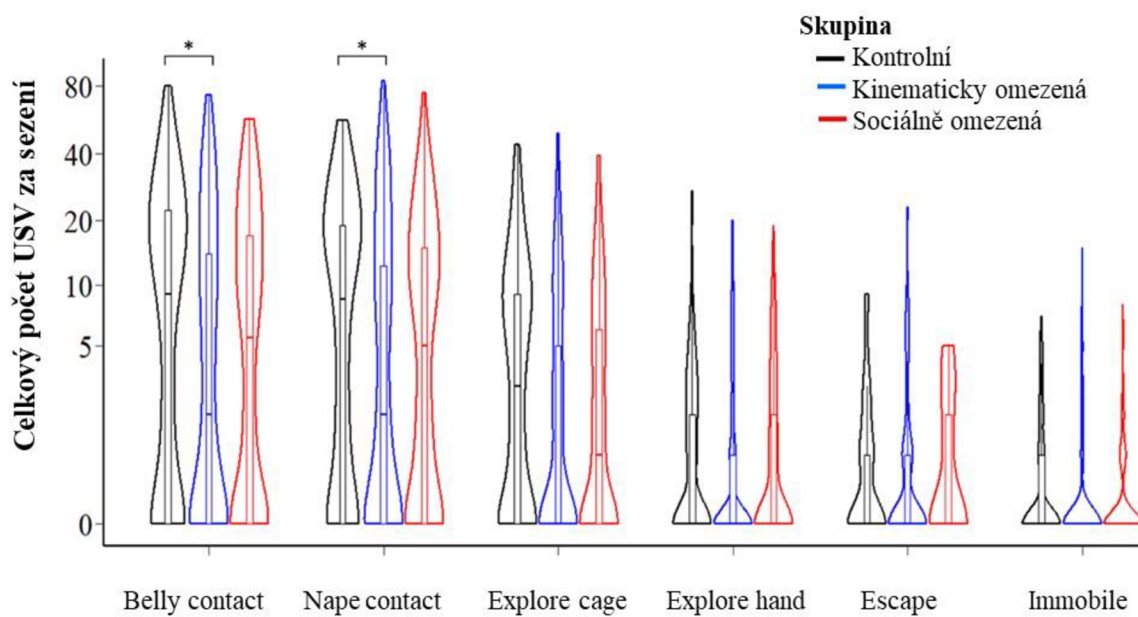
Obrázek 14. Krabicové grafy celkového počtu pěti typů USV vyslaných potkany během šesti různých stavů chování. Osa y ukazuje celkový počet USV na logaritmické stupnici. Sloupce ukazují medián skupiny a 1. a 3. kvartil. Horní a dolní úsečky sahají od sloupců k největší/nejmenší hodnotě ne dále než k 1,5násobku vzdálenosti mezi 1. a 3. kvartilem. Tečky s rozdělovačem znázorňují údaje pro jeden typ USV, pro jedno chování, pro jedno lechtání a pro jednoho potkana. Označení "abcde" označuje významné rozdíly mezi skupinami v post hoc analýze průměrů.

Hypotéza **H2** byla analýzou také potvrzena (obrázek 15). Potkani, u nichž během odchovu došlo ke kinematickému omezení hry, vydávali méně Trill Plus, Trill a Complex USV než potkani kontrolní skupiny.



Obrázek 15. „Houslové“ a sloupcové grafy celkových počtů USV emitovaných na sezení každé skupiny podle podtypů USV. Osa y ukazuje celkový počet USV na logaritmické stupnici. Sloupce ukazují medián skupiny a 1. a 3. kvartil. Horní a dolní úsečky sahají od sloupců k největší/nejmenší hodnotě ne dále než k 1,5násobku vzdálenosti mezi 1. a 3. kvartilem. Symbol * označuje významný rozdíl v post hoc analýze.

Hypotéza **H3** byla modelem rovněž potvrzena (obrázek 16). Potkani z kinematically omezené skupiny emitovali méně USV hlasů při prvcích chování zahrnujících přímé lechtání (Belly contact a Nape contact) než potkani z kontrolní skupiny.



Obrázek 16. „Houslové“ a sloupcové grafy celkových počtů USV emitovaných na sezení každé skupiny podle behaviorálních prvků. Osa y ukazuje celkový počet USV na logaritmické stupnici. Sloupce ukazují medián skupiny a 1. a 3. kvartil. Horní a dolní úsečky sahají od sloupců k největší/nejmenší hodnotě ne dále než k 1,5násobku vzdálenosti mezi 1. a 3. kvartilem. Symbol * označuje významný rozdíl v post hoc analýze.

6 Diskuze

V této studii jsme se zaměřili na rozlišování různých podtypů ultrazvukových signálů potkanů podle frekvenci a formy a na to, jak tyto podtypy USV souvisejí s behaviorálními prvky během heterospecifické hry s člověkem „tickling“. Dalším z úkolů této studie bylo zjistit, zda je či není tento vztah emisi určitých podtypů USV a chování modifikován herní zkušeností v průběhu ontogeneze. Hlavním ukazatelem našich výsledků byly ultrazvukové hlasy, které potkani běžně vydávají v očekávání sociální hry a během ní (Burgdorf et al. 2008; Knutson et al. 1998).

Výsledky naše studie naznačují, že podtypy USV Trill Plus, Trill a Complex byly produkovány během heterospecifické hry „tickling“ častěji než podtypy Short a Flat. Tento výsledek je v souladu s většinou předchozích studií (Burke et al. 2017; Himmler et al. 2014) zkoumajících funkce subtypů USV při hře „rough-and-tumble“. Například výsledky studie Burke et al 2017 ukazují, že specifické podtypy 50kHz vokalizace jsou silně spojeny se specifickým chováním během hry. Vokalizace se často vyskytovaly společně s aktivním chováním, jako je běh, chůze a skákání. Méně aktivní chování, jako je průzkumné očichávání a panáčkování, silně souviselo s absencí jakékoli vokalizace. Náš výsledek spolu s předchozími studii tedy ukazuje, že lechtání skutečně vyvolává podobné vokalizační reakce jako přirozená sociální hra „rough-and-tumble“ u potkanů a, že podtypy USV jako Trill Plus, Trill a Complex mají pozitivní valenci u potkanů.

Kromě toho jsme zjistili, že potkani vydávali různé typy 50 kHz USV vokalizací v odlišné četnosti podle toho, v jakém prvku chování se právě nacházeli. Konkrétně při lechtání na ventrální straně těla (belly contact) byl Trill Plus vydáván častěji než Trill, zatímco při jiných prvcích chování se četnost těchto dvou typů vokalizací nelišila. Tím se potvrdila naše **H1** a zároveň to naznačuje, že vlastní lechtání na břicho je potkany nejpozitivnější fází celé procedury, protože při něm zvláště často vydávají tento výrazný typ USV vokalizace.

Během statistické analýzy bylo zjištěno, že potkani, u kterých byl snížený kinematický aspekt ve hře během ontogeneze, ve srovnání s kontrolními potkany vydávali méně Trill Plus, Trill a Complex USV. Tyto výsledky potvrzují naši **H2**, která tvrdí, že snížená herní zkušenost v průběhu ontogeneze ovlivní, které typy USV vokalizace budou potkani v průběhu heterospecifické hry s člověkem vydávat. Studie také ukazují, že podtypy Trill Plus, Trill a Complex jsou FM USV spojené s pozitivní valencí (Brudzynski 2021). Potlačení těchto typů vokalizace u potkanů s kinematicky redukovanou herní zkušeností může naznačovat, že tato ontogenetická herní deprivace snižuje schopnost potkanů pozitivně prožívat lechtání člověkem. V budoucích studiích by bylo zajímavé prozkoumat, zda také prožívání přirozené sociální hry mezi potkany je ovlivněno předchozí kinematickou deprivací hry.

Podle obdržných výsledků můžeme potvrdit i **H3**. Bylo zjištěno, že potkani z kinematicky omezené skupiny vydávali obecně méně USV při „nape contact“ a „belly contact“ ve srovnání s kontrolními potkany během heterospecifické hry s člověkem. Kromě toho tyto výsledky naznačují, že ačkoli potkani se sníženým kinematickým aspektem ve hře během ontogeneze stále hodnotí lechtání pozitivně, míra jejich pozitivní reakce je slabší než u potkanů, kteří zažívali plnou sociální hru v juvenilním období. Ve shodě s výsledky hypotézy **H2** tyto výsledky podporují interpretaci, že pokud mladí potkani nedostanou zkušenost

s přirozenou podobou hry včetně třídimenzionálních taktilních interakcí, prožívají následně taktilní stimulaci při hře méně pozitivně.

Nedostatek vlivu deprivace herních aspektů na hodnocení v současné studii a pozorované účinky deprivace na konspicifiká sociální setkání (Pellis et al., 1999; Stark & Pellis, 2021) by mohly naznačovat, že na hodnocení a vedení sociálních setkání mají herní zkušenosti odlišný vliv, nebo potkání vnímají hru s lidmi a konspicifikou hru odlišně. V tomto ohledu by bylo užitečné provést další experimenty, které by porovnály, jak se liší vnímání konspicifikých a heterospicifikých her u potkanů.

Srovnání současných výsledků s předchozími studii (Liu et al., 2023), která nezjistila účinky různých typů odchovu na celkový počet 50kHz USV, naznačuje, že určité aspekty hry by mohly ovlivnit určité podtypy USV namísto obecné produkce USV. To naznačuje, že následné studie by měly být opatrné, pokud ve svých analýzách spojují všechny podtypy 50 kHz USV.

Kromě toho není jasné, zda samice a samci potkanů reagují na lechtání rozdílně a zda lechtání vyvolává pozitivní afekt ve stejné míře u samic a samců potkanů. To je důležité pro pochopení biologického významu pohlavních rozdílů v produkci USV. To naznačuje, že účinky snížené hry by mohly mít na obě pohlaví odlišný vliv, a proto by následné studie měly rovněž zkoumat možné rozdíly mezi pohlavími.

V této studii jsme zjistili, že některé podtypy USV jsou skutečně spojeny se specifickým chováním potkanů při heterospicifiké hře s lidmi. Studie Burke et al (2017) ukazuje, že specifické ultrazvukové vokalizace o frekvenci 50 kHz nesouvisí jedna ku jedné s jednotlivými pohyby, ale jsou spojeny se specifickými vzorci motorického chování a předpokládá se, že koordinují okamžik po okamžiku sociálních herní interakci mezi potkany. Nicméně naše výsledky se od výsledků této studie liší. To může být způsobeno tím, že tým Burke et al (2017) provedl podobný experiment, ale zaměřil se na konspicifikou hru u potkanů, tj. potkání si hráli mezi sebou bez účasti člověka. My jsme naproti tomu použili podobnou strategii ke studiu vztahu mezi ultrazvuky vydávanými potkany a jejich chováním, avšak založenou pouze na heterospicifiké hře „tickling“. Tuto otázku je však třeba dále studovat, protože doposud existuje jen málo článků, které by zkoumaly souvislost USV s pohyby u potkanů během lechtání člověkem.

To poskytuje příležitost k hlubšímu pochopení účelů, k nimž zvířata používají určité hlasové projevy. Studie behaviorálních charakteristik s emisí ultrazvukových vokalizací jako ukazatelů emočních stavů zvířat byly hojně využívány jako modely různých neurologických a psychiatrických dysfunkcí a onemocnění (Simola & Granon 2019). Intenzita a typ emitovaných ultrazvukových volání byly v těchto modelech použity jako měřítko příslušných afektů. Proto je třeba lépe porozumět původu, povaze a úloze ultrazvukových vokalizací potkanů, mechanismům jejich iniciace a interpretaci.

Pro lepší pochopení vztahu ultrazvukových vokalizací potkanů k jejich chování by bylo vhodné v budoucnu provést podobný experiment, při kterém by však byly USV zaznamenávány v jejich běžných životních podmínkách, bez vlivu hry, stresových faktorů apod. Dobrým řešením by bylo chovat potkany ne jednotlivě, ale více z nich v jedné kleci, kde by se mohli plně vzájemně kontaktovat bez jakýchkoliv podmínek a omezení. Podobnou práci provedli Takahashi et al (2010), kde se zaměřili právě na kategorizaci USV dvojic potkanů v běžných podmínkách ustájení a zkoumání vztahu mezi typy USV a chováním potkanů. Nicméně

Takahashi et al rozdělili ultrazvuky do jenom 3 podtypů, což znamená, že v dalších experimentech by mohlo být provedeno podrobnější rozpracování tohoto tématu s použitím většího počtu podtypů USV.

Potkaní ultrazvukové volání nelze srovnávat s lidskou řečí, protože řeč je pouze lidskou funkcí a hlodavci nemají pro tento způsob komunikace potřebné nervové mechanismy (Brudzynski 2021). Protože člověk komunikuje odlišným akustickým způsobem, je pro něj obtížné neverbální hlasové komunikaci jiných druhů porozumět. To ztěžuje i vědecký výzkum v této oblasti, a z tohoto důvodu není vztah mezi vokalizací a chováním zvířat dosud zcela pochopen. Tato diplomová práce se zabývá tímto tématem u potkanů, ale bylo by zajímavé provést další výzkum v podobné oblasti u jiných druhů zvířat, která produkují ultrazvukové vokalizace.

Různé funkce vokalizace reflektují naše chápání situací příznivých pro vokální komunikaci a neznamenají, že zvířata mají mnoho „porozumění“ nebo mnoho záměrných scénářů vydávání hlasů. Emise ultrazvukových volání navíc může sloužit více než jedné funkci současně. Proto stojí za to dále zkoumat vztah mezi chováním zvířat a jejich hlasy. Takové výzkumy by mohly být přínosem nejen pro obory, jako je zoopsychologie a medicína, ale také by mohly umožnit lépe pochopit, jak zlepšit životní pohodu zvířat.

7 Závěr

Naše studie potvrdila, že některé ultrazvukové signály potkanů byly skutečně spojeny s určitými typy chování během heterospecifické hry potkana s člověkem „lechtání“. Můžeme tedy potvrdit naši hypotézu **H1**. Naše výsledky také naznačují, že metodika hry s potkany „tickling“ vyvolává podobné vokalizační reakce jako přirozená sociální hra „rough-and-tumble“ u potkanů.

Zároveň jsme potvrdili naši hypotézu **H2**, jejímž cílem bylo prozkoumat, jestli snížená herní zkušenost v průběhu ontogeneze ovlivní, které typy USV vokalizace budou potkani v průběhu heterospecifické hry s člověkem vydávat. Výsledky ukázaly, že potkani z kinematicky omezené skupiny, ve srovnání s kontrolními potkany vydávali méně právě těch podtypů USV (Trill Plus, Trill a Complex), které by mohly být spojeny s pozitivním prožíváním hry.

Podle obdržených výsledků můžeme potvrdit i naši **H3**. Potkani z kinematicky redukováné skupiny vydávali obecně méně USV při těch behaviorálních prvcích spojených s hrou „rough-and-tumble“, při kterých dochází k přímé dotykové stimulaci na zátylku a na břiše.

Navíc můžeme říct, že potkani s omezeným kinematickým aspektem stále hodnotí lechtání pozitivně, ale míra této pozitivní reakce je slabší než u potkanů, kteří zažívali plnou sociální hru v průběhu ontogeneze.

Pro další studium ultrazvukových signálů a jejich funkcí u zvířat bychom doporučili provádět podobné experimenty, zahrnující nejen jedno pohlaví potkanů, ale obě. Kromě toho by bylo vhodné věnovat zvláštní pozornost podrobnějšímu rozdělení USV na podtypy. To může vyžadovat větší počet USV, a tudíž i větší počet potkanů a času. Měli bychom i dále zkoumat různé aspekty metodiky „Tickling“, ať už se jedná o zkoumání USV potkanů, jejich chování během této hry nebo jiné aspekty. To by nám mohlo pomoci lépe pochopit, jak můžeme zlepšit životní podmínky a welfare nejen laboratorních potkanů, ale zvířat obecně.

8 Literatura

- Ahloy-Dallaire J., Mason GJ. 2016. Play in juvenile mink: litter effects, stability over time, and motivational heterogeneity. *Developmental Psychobiology* **58**:945–957.
- Ahloy-Dallaire J, Espinosa J, Mason G. 2018. Play and optimal welfare: Does play indicate the presence of positive affective states? *Behavioural Processes* **156**:3–15.
- Aldis O. 1975. *Play fighting*. New York Academic Press, New York.
- Antonacci D, Norscia I, Palagi E. 2010. Stranger to familiar: wild strepsirhines manage xenophobia by playing. *PloS ONE* **5** (e13218) DOI: 10.1371/journal.pone.0013218.
- Argue KJ, McCarthy MM. 2015. Utilization of same- vs. mixed-sex dyads impacts the observation of sex differences in juvenile social play behavior. *Current Neurobiology* **6**:17–23.
- Auerbach J, Kanarek AR, Burghardt GM. 2015. To play or not to play? That`s a resource abundance question. *Adaptive Behavior* **23**:354–361.
- Baarendse PJJ, Counotte DS, O`Donnell P, Vanderschuren LJMJ. 2013. Early social experience is critical for the development of cognitive control and dopamine modulation of prefrontal cortex function. *Neuropsychopharmacology* **38**:1485–1494.
- Baenninger LP. 1967. Comparison of behavioural development in socially isolated and grouped rats. *Animal Behaviour* **15**:312–323.
- Baldwin JD, Baldwin JJ. 1977. The role of learning phenomena in the ontogeny of exploration and play. *Primate Biosocial Development* 343–406.
- Barber N. 1991. Play and energy regulation in mammals. *The Quarterly Review of Biology* **66**:129–147.
- Barfield RJ, Thomas DA. 1986. The role of ultrasonic vocalizations in the regulation of reproduction in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences* **474**:33–43.
- Barker DJ, Root DH, Ma S, Jha S, Megehee L, Pawlak AP, West MO. 2010. Dose-dependent differences in short ultrasonic vocalizations emitted by rats during cocaine self-administration. *Psychopharmacology* **211**:435–442.
- Barrett L, Dunbar RIM, Dunbar P. 1992. Environmental influences on play behaviour in immature gelada baboons. *Animal Behaviour* **44**:111–115.
- Barrett P, Bateson P. 1978. The development of play in cats. *Behaviour* **66**:106–120.
- Bass AH. 2014. Central Pattern Generator for Vocalization: Is There a Vertebrate Morphotype? *Current Opinion of Neurobiology* **28**:94–100.
- Bass AH, Baker R. 1997. Phenotypic Specification of Hindbrain Rhombomeres and the Origins of Rhythmic Circuits in Vertebrates. *Brain Behavior and Evolution* **50**:3–16.
- Bass AH, Gilland EH, Baker R. 2008. Evolutionary Origins for Social Vocalization in a Vertebrate Hindbrain-spinal Compartment. *Science* **321**:417–421.
- Bass AH, Chagnaud BP. 2012. Shared Developmental and Evolutionary Origins for Neural Basis of Vocal-acoustic and Pectoral-gestural Signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**:10677–10684.
- Bateson G. 1956. *The message „this is play“*. Madison, WI: Josiah Macy Jr. Foundation. 145–242.

- Bateson P. 2010. Theories of play. The Oxford handbook of the development of play. Oxford University Press, Oxford.
- Bateson P. 2014. Play, Playfulness, Creativity and Innovation. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bauer EB, Smuts BB. 2007. Cooperation and competition during dyadic play in domestic dogs, *Canis familiaris*. *Animal Behaviour* **73**:489–499.
- Beatty WW, Costello KB, Berry SL. 1984. Suppression of play fighting by amphetamine: effects of catecholamine antagonists, agonists and synthesis inhibitors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **20**:747–755.
- Bechara A, Damasio AR. 2005. The somatic marker hypothesis: a neural theory of economic decision. *Games Econ Behav* **52**:336–372.
- Bekoff M., Byers JA. 1981. A critical reanalysis of the ontogeny and phylogeny of mammalian social and locomotor play: An ethological hornet's nest. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bekoff M. 1975. The communication of play intention: Are play signals functional? *Semiotica* **15**:231–239.
- Bell HC, McCaffrey DR, Forgie ML, Kolb B, Pellis SM. 2009. The role of the medial prefrontal cortex in the play fighting of rats. *Behavioural Neuroscience* **123**:1158–1168.
- Bell HC, Pellis SM, Kolb B. 2010. Juvenile peer play experience and the development of the orbitofrontal and medial prefrontal cortices. *Behavioural Brain Research* **207**:7–13.
- Berger J. 1979. Social ontogeny and behavioural diversity: consequences for big-horn sheep, *Ovis canadensis*, inhabiting desert and mountain environments. *Journal of Zoology*, **188**:251–266.
- Berridge KC. 2007. The debate over dopamine's role in reward: the case for incentive salience. *Psychopharmacology* **191**:391–431.
- Berridge KC, Robinson TE. 1998. What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Research Reviews* **28**:309–369.
- Bialy M, Rydz M, Kaczmarek L. 2000. Precontact 50-kHz vocalizations in male rats during acquisition of sexual experience. *Behavioural Neuroscience* **114**:983–990.
- Boissy A, Manteuffel G, Jensen M, Moe R, Spruijt B, Keeling L, Winckler C, Forkman B, Dimitrov I, Langbein J, Bakken M, Veissier I, Aubert, A. 2007. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology and Behavior* **92**:375–397.
- Bolhuis JE, Schouten WGP, Schrama JW, Wiegant VM. 2005. Behavioural development of pigs with different coping characteristics in barren and substrate-enriched housing conditions. *Applied Animal Behaviour Science* **93**:213–228.
- Bolles RC, Woods PJ. 1964. The ontogeny of behavior in the albino rat. *Animal Behaviour* **12**:427–441.
- Boulanger-Bertolus J, Rincón-Cortés M, Sullivan RM, Mouly AM. 2017. Understanding pup affective state through ethologically significant ultrasonic vocalization frequency. *Scientific Reports* **7**:13483.
- Brownlee A. 1954. Play in domestical cattle in Britain: An analysis of its nature. *British Veterinary Journal* **110**:48–68.
- Brudzynski SM. 2021. Biological functions of rat ultrasonic vocalizations, arousal mechanisms, and call initiation. *Brain Sciences* **11**:605

- Brudzynski SM. 2013. Ethotransmission: communication of emotional states through ultrasonic vocalization in rats. *Current Opinion in Neurobiology* **23**:310–7.
- Brudzynski SM. 2009. Communication of adult rats by ultrasonic vocalization: Biological, socio-biological, and neuroscience approaches. *ILAR Journal* **50**:43–50.
- Brudzynski SM. 1994. Ultrasonic vocalization induced by intracerebral carbachol in rats: localization and a dose-response study. *Behavioural Brain Research* **63**:133–143.
- Brudzynski SM. 2013. Ethotransmission: communication of emotional states through ultrasonic vocalization in rats. *Current Opinion in Neurobiology* **23**:310–317.
- Brudzynski SM. 2015. Pharmacology of ultrasonic vocalizations in adult rats: significance, call classification and neural substrate. *Current Neuropharmacology* **13**:180–192.
- Brudzynski SM, Holland G. 2005. Acoustic characteristics of air puff-induced 22-kHz alarm calls in direct recordings. *Neurosciences & Biobehavioral Reviews* **29**:1169–1180.
- Brudzynski SM, Ociepa D. 1992. Ultrasonic vocalization of laboratory rats in response to handling and touch. *Physiology and Behavior* **52**:655–660.
- Brudzynski SM, Pniak A. 2002. Social contacts and production of 50-kHz short ultrasonic calls in adult rats. *Journal of Comparative Psychology* **116**:73–82.
- Brunelli SA, Nie R, Whipple C, Winiger V, Hofer MA, Zimmerberg B. 2006. The effects of selective breeding for infant ultrasonic vocalizations on play behavior in juvenile rats. *Physiology and Behavior* **87**:527–536.
- Burgdorf J, Kroes RA, Moskal JR, Pfaus JG, Brudzynski SM, Panksepp J. 2008. Ultrasonic vocalizations of rats (*Rattus norvegicus*) during mating, play, and aggression: Behavioral concomitants, relationship to reward, and self-administration of playback. *Journal of Comparative Psychology* **122**:357–367.
- Burgdorf J, Panksepp J. 2001. Tickling induces reward in adolescent rats. *Physiology and Behavior* **72**:167–173.
- Burgdorf J, Panksepp J, Brudzynski SM, Beinfeld MC, Cromwell HC, Kroes RA, Moskal JR. 2009. The effects of selective breeding for differential rates of 50-kHz ultrasonic vocalizations on emotional behavior in rats. *Developmental Psychobiology* **51**:34–46.
- Burgdorf J, Panksepp J, Brudzynski SM, Kroes R, Moskal JR. 2005. Breeding for 50-kHz positive affective vocalization in rats. *Behavior Genetics* **35**:67–72.
- Burgdorf J, Panksepp J, Moskal JR. 2011. Frequency-modulated 50 kHz ultrasonic vocalizations: a tool for uncovering the molecular substrates of positive affect. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **35**:1831–1836.
- Burgdorf J, Wood PL, Kroes RA, Moskal JR, Panksepp J. 2007. Neurobiology of 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats: electrode mapping, lesion, and pharmacology studies. *Behavioural Brain Research* **182**:274–283.
- Burghardt G. 2005. *The Genesis of Animal Play: Testing the Limits*. MIT Press, Cambridge.
- Burghardt GM, Albright JD, Davis KM. 2016. Motivation, development and object play: comparative perspectives with lessons from dogs. *Behaviour* **153**:767–793.
- Burke CJ, Euston DR, Pellis SM. 2020. What do you hear, what do you say? Ultrasonic calls as signals during play fighting in rats. *International Journal of Play* **9**:92–107.
- Burke CJ, Kisko TM, Euston DR, Pellis SM. 2018. Do juvenile rats use specific ultrasonic calls to coordinate their social play? *Animal Behaviour* **140**:81–92.

- Burke CJ, Kisko TM, Swiftwolfe H, Pellis SM, Euston DR. 2017. Specific 50-kHz vocalizations are tightly linked to particular types of behavior in juvenile rats anticipating play. *PLoS ONE*, 12 (e0175841) DOI: 10.1371/journal.pone.0175841
- Burke C, Kisko T, Pellis S, Euston D. 2017. Avoiding escalation from play to aggression in adult male rats: The role of ultrasonic calls. *Behavioural Processes* **144**:72–81.
- Burke CJ, Modlinska K, Mauro M, Aleksandrova LR, Pellis SM, Phillips AG, Euston DR. 2021. A naturalistic method for testing depression: anticipation of play. *Behavioural Brain Research* **398**:112975.
- Burleson CA, Pedersen RW, Seddighi S, DeBusk LE, Burghardt GM, Cooper MA. 2016. Social play in juvenile hamsters alters dendritic morphology in the medial prefrontal cortex and attenuates effects of social stress in adulthood. *Behavioral Neuroscience*, **130**:437–447.
- Burman OHP, Ilyat A, Jones G, Mendl M. 2007. Ultrasonic vocalizations as indicators of welfare for laboratory rats (*Rattus norvegicus*). *Applied Animal Behaviour Science* **104**:116–129.
- Byers JA, Walker C. 1995. Refining the motor training hypothesis for the evolution of play. *American Naturalist*, **146**:25–40.
- Cervantes MC, Taravosh-Lahn K, Wommack JC, Delville Y. 2007. Characterization of offensive responses during the maturation of play-fighting into aggression in male golden hamsters. *Developmental Psychobiology* **49**:87–97.
- Ciucci MR, Ahrens AM, Ma ST, Kane JR, Windham EB, Woodlee MT. 2009. Reduction of dopamine synaptic activity: degradation of 50-kHz ultrasonic vocalization in rats. *Behav Neurosci*. **123**:328–36.
- Clack JA. 1997. Devonian Tetrapod Trackways and Trackmakers; A Review of the Fossils and Footprints. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **130**:227–250.
- Cloutier S, LaFollette MR, Gaskill BN, Panksepp J, Newberry RC. 2018. Tickling, a technique for inducing positive affect when handling rats. *Journal of Visualized Experiments* **135**.
- Cloutier S, Panksepp J, Newberry RC. 2012. Playful handling by caretakers reduces fear of humans in the laboratory rat. *Applied Animal Behavior Science* **140**:161–171.
- Coffey KR, Marx RG, Neumaier JF. 2019. DeepSqueak: a deep learning-based system for detection and analysis of ultrasonic vocalizations. *Neuropsychopharmacology* **44**:859–868.
- Coppinger RP, Smith CK. 1989. A model for understanding the evolution of mammalian behavior. *Current Mammalogy*, Plenum Press, New York, NY 335–374.
- Cordoni G. 2009. Social play in captive wolves (*Canis lupus*): Not only an immature affair. *Behaviour* **146**:1363–1385.
- Covington 3rd HE, Miczek KA, 2003. Vocalizations during withdrawal from opiates and cocaine: possible expressions of affective distress. *European Journal of Pharmacology* **467**:1–13.
- de Oliveira CR, Ruiz-Miranda CR, Kleiman DG, Beck BB. 2003. Play behavior in juvenile golden lion tamarins (*Callitrichidae*: primates): organization in relation to costs. *Ethology* **109**:593–612.
- Diamond J, Bond AB. 2003. A comparative analysis of social play in birds. *Behaviour* **140**:1091–1115.

- Donaldson TM, Newberry RC, Špinka M, Cloutier S. 2002. Effects of early play experience on play behaviour of piglets after weaning. *Applied Animal Behaviour Science*, **79**:221–231.
- Drugan RC, Stafford NP. 2018. Effects of physical stress and pain on emission of ultrasonic vocalizations and social interaction. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Academic Press, Amsterdam **25**:345–355.
- Eilam D, Golani I. 1988. The ontogeny of exploratory behavior in the house rat (*Rattus rattus*): the mobility gradient. *Developmental Psychobiology* **21**:679–710.
- Euston DR, Gruber AJ, McNaughton BL. 2012 The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron* **76**:1057–1070.
- Fagen R. *Animal play behavior*. 1981. Oxford, Oxford University Press.
- Fagen R. 1992. Play, fun, and communication of well-being. *Play & Culture* **5**:40–58.
- Faure A, Nosjean A, Pittaras E, Duchêne A, Andrieux A, Charvériat M, Granon S. 2018. Dissociated features of social cognition altered in mouse schizophrenia models: focus on social dominance and acoustic communication. *Neuropharmacology*.
- Ferguson SA, Cada AM. 2004. Spatial learning/memory and social and nonsocial behaviors in the spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley rat strains. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **77**:583–594.
- Feuerriegel K. 1997. The role of play and agonistic behaviour for herding of oryx antelopes (*Oryx gazella callotis*). *Zeitschrift für Säugetierkunde* **62**:52–58.
- Field EF, Pellis SM. 1994. Differential effects of amphetamine on the attack and defense components of play fighting in rats. *Physiology and Behavior* **56**:325–330.
- Gartner K, Buttner D, Dohler K, Friedel R, Lindena J, Trautschold I. 1980. Stress Response of rats to handling and experimental procedures. *Laboratory Animals* **14**:267–274.
- Golani I, Fentress JC. 1985. Early ontogeny of face grooming in mice. *Developmental Psychobiology* **18**:529–544.
- Gomendio M. 1988. The development of different types of play in gazelles: implications for the nature and function of play. *Animal Behaviour* **36**:825–836.
- Graham K, Burghardt G. 2010. Current perspectives on the biological study of play: signs of progress. *The Quarterly Review of Biology* **85**:393–418.
- Gray P. 2019. Evolutionary functions of play: Practice, resilience, innovation, and cooperation. *The Cambridge handbook of play: Developmental and disciplinary perspectives*, Cambridge University Press.
- Groothuis TGG. 1993. Development of social displays: form, development, form fixation and change in context. *Advances in the Study of Behavior* **36**:269–322.
- Hammond T, Bombail V, Nielsen BL, Meddle SL, Lawrence AB, Brown SM. 2019. Relationships between play and responses to tickling in male juvenile rats. *Applied Animal Behaviour Science* **221**.
- Hardung S, Epple R, Jäckel Z, Eriksson D, Uran C, Senn V, Gibor L, Yizhar O, Diester I. 2017. A functional gradient in the rodent prefrontal cortex supports behavioral inhibition. *Current Biology* **27**:549–555.
- Held SM, Špinka, M. 2011. Animal play and animal welfare. *Animal Behaviour* **81**:891–899.

- Himmler BT, Mychasiuk R, Nakahashi A, Himmler SM, Pellis SM, Kolb B. 2018. Juvenile social experience and differential age-related changes in the dendritic morphologies of subareas of the prefrontal cortex in rats. *Synapse* **72**:1–9.
- Himmler BT, Kisko TM, Euston DR, Kolb B, Pellis SM. 2014. Are 50-kHz calls used as play signals in the playful interactions of rats? I. Evidence from the timing and context of their use. *Behavioural Processes*, **106**:60–66.
- Himmler BT, Pellis SM, Kolb B. 2013. Juvenile play experience primes neurons in the medial prefrontal cortex to be more responsive to later experiences. *Neuroscience Letters* **556**:42–45.
- Himmler BT, Stryjek R, Modlinska K, Derksen SM, Pisula W, Pellis SM. 2013. How domestication modulates play behavior: a comparative analysis between wild rats and a laboratory strain of *Rattus norvegicus*. *Journal of Comparative Psychology* **127**:453–464.
- Himmler SM, Himmler BT, Pellis VC, Pellis SM. 2016. Play, variation in play and the development of socially competent rats. *Behaviour* **153**:1103–1137.
- Himmler SM, Himmler BT, Stryjek R, Modlinska K, Pisula W, Pellis SM. 2016. Pinning in the play fighting of rats: a comparative perspective with some methodological recommendations. *International Journal of Comparative Psychology* **29**:1–14.
- Himmler SM, Modlinska K, Stryjek R, Himmler BT, Pisula W, Pellis SM. 2014. Domestication and diversification: a comparative analysis of the play fighting of the Brown Norway, Sprague-Dawley, and Wistar strains of laboratory rats. *Journal of Comparative Psychology* **128**:318–327.
- Hinchcliffe JK, Mendl M, Robinson ESJ. 2020. Rat 50 kHz calls reflect graded tickling-induced positive emotion. *Current Biology* **30**.
- Hol T, Van Den Berg CL, Van Ree JM, Spruijt BM. 1999. Isolation during the play period in infancy decreases adult social interactions in rats. *Behavioural Brain Research* **100**:91–97.
- Hole G. 1991. The effects of social deprivation on levels of social play in the laboratory rat *Rattus norvegicus*. *Behavioural Processes* **25**:41–53.
- Hoover WB, Vertes RP. Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *Journal of Comparative Neurology* **519**:3766–3801.
- Humphreys AP, Einon EF. 1981. Play as a reinforce for maze-learning in juvenile rats. *Animal Behaviour* **29**:259–270.
- Hurst JL, Barnard CJ, Hare R, Wheeldon EB, West CD. 1996. Housing and welfare in laboratory rats: time-budgeting and pathophysiology in single sex groups. *Animal Behaviour* **52**:335–360.
- Chagnaud BP, Baker R, Bass AH. 2011. Vocalization Frequency and Duration are Coded in Separate Hindbrain Nuclei. *Nature Communications* **2**:346.
- Chaloupková H, Illmann G, Bartos L, Spinka M. 2007. Effect of the pre-weaning housing system on play and agonistic behaviour in domestic pigs. *Applied Animal Behaviour Science* **103**:25–34.
- Chau MJ, Stone AI, Mendoza SP, Bales KL. 2008. Is play behavior sexually dimorphic in monogamous species? *Ethology* **114**:989–998.

- Ikemoto S, Panksepp J. 1996. Dissociations between appetitive and consummatory responses by pharmacological manipulations of reward-relevant brain regions. *Behavioral Neuroscience* **110**:331–345.
- Ikemoto S, Panksepp J. 1999. The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Research Reviews* **31**:6–41.
- Inagaki H, Kuwahara M, Kikusui T, Tsubone H. 2005. The influence of social environmental condition on the production of stress-induced 22 kHz calls in adult male Wistar rats. *Physiology and Behavior* **84**:17–22.
- Iwaniuk AN, Nelson JE, Pellis SM. 2001. Do big-brained animals play more? Comparative analyses of play and relative brain size in mammals. *Journal of Comparative Psychology*, **115**:29–41.
- Kalisch R, Müller MB, Tüscher O. 2015. A conceptual framework for the neurobiological study of resilience. *Behavioral and Brain Sciences* **38**:92.
- Kaltwasser MT. 1991. Acoustic startle induced ultrasonic vocalization in the rat: a novel animal model of anxiety? *Behavioural Brain Research* **43**:133–137.
- Kaplan G. 2020. Play behaviour, not tool using, relates to brain mass in a sample of birds. *Scientific Reports* **10**:20437.
- Kavanagh M. 1978. The social behavior of doucs (*Pygathrix nemaeus nemaeus*) at San Diego Zoo. *Primates* **19**:101–114.
- Kay EH, Hoekstra HE. 2008. Rodents. *Current Biology*. **18**:406–R410.
- Kisko TM, Euston DR, Pellis SM. 2015. Are 50-kHz calls used as play signals in the playful interactions of rats? III. The effects of devocalization on play with unfamiliar partners as juveniles and as adults. *Behavioural Processes* **113**:121.
- Kisko TM, Himmler BT, Himmler SM., Euston DR, Pellis SM. 2015. Are 50-kHz calls used as play signals in the playful interactions of rats? II. Evidence from the effects of devocalization. *Behavioural Processes* **111**:25–33.
- Knutson B, Burgdorf J, Panksepp J. 1998. Anticipation of play elicits high-frequency ultrasonic vocalizations in young rats. *Journal of Comparative Psychology*, **112**:65–73.
- LaFollette MR, O’Haire ME, Cloutier S, Gaskill BN. 2018. A happier rat pack: The impacts of tickling pet store rats on human-animal interactions and rat welfare. *Applied Animal Behaviour Science* **203**:92–102.
- LaFollette MR, O’Haire ME, Cloutier S, Blankenberger WB, Gaskill BN. 2017. Rat tickling: a systematic review of applications, outcomes, and moderators. *PLoS One* **12** (e0175320).
- Lampe JF, Burman O, Würbel H, Melotti L. 2017. Context-dependent individual differences in playfulness in male rats. *Developmental Psychobiology* **59**:460–472.
- Lawrence A. 1987. Consumer demand theory and the assessment of animal welfare. *Animal Behaviour* **35**:293–295.
- Lawrence A, Newberry R, Špinková M. 2017. Positive welfare: what does it add to the debate over pig welfare? Woodhead Publishing, Cambridge
- Lazar JW, Beckhorn GD. 1974. Social play or the development of social behavior in ferrets (*Mustela putorius*). *American Zoologist* **14**:405–414.

- Lewis KP, Barton RA. 2006. Amygdala size and hypothalamus size predict social play frequency in nonhuman primates: a comparative analysis using independent contrasts. *Journal of Comparative Psychology*, **120**:31–37.
- Li WH, Chung J, Ho K, Kwok B. 2016. Play interventions to reduce anxiety and negative emotions in hospitalized children. *BMC Pediatrics* **16**:16–36.
- Liu Q, Ilčíková T, Radchenko M, Junková M, Špinka M. 2023. Effects of reduced kinematic and social play experience on affective appraisal of human-rat play in rats. *Frontiers in Zoology* **20**.
- Lodge DJ. 2011. The medial prefrontal and orbitofrontal cortices differentially regulate dopamine system function. *Neuropsychopharmacology* **36**:1227–1236.
- Wöhr M, Schwarting RKW. 2013. Affective communication in rodents: ultrasonic vocalizations as a tool for research on emotion and motivation, *Cell Tissue Research* **354**:81–97
- MacLean PD. 1985. Brain evolution relating to family, play, and the separation call. *Archives of General Psychiatry* **42**:405–417.
- MacLean PD. 1990. *The Triune Brain in Evolution: Role in Paleocerebral Functions*. Plenum Press, New York.
- Mällo T, Matrov D, Herm L, Kõiv K, Eller M, Rincken A, Harro J. 2007. Tickling-induced 50-kHz ultrasonic vocalization is individually stable and predicts behaviour in tests of anxiety and depression in rats. *Behavioural Brain Research* **184**:57–71.
- Martin P, Caro TM. 1985. On the functions of play and its role in development. In: *Advances in the Study of Behavior*, Orlando, Florida: Academic Press **15**:59–103.
- Mason WM, Saxson SV, Sharpe LG. 1963. Preferential responses of young chimpanzees to food and social rewards. *The Psychological Record* **13**:341–345.
- McDonnell SM, Poulin A. 2002. Equid play ethogram. *Applies Animal Behaviour Science* **7**:263–290.
- Meaney MJ. 1988. The sexual differentiation of social play. *Trends in Neurosciences* **11**:54–58.
- Meaney MJ, Stewart J. 1981. A descriptive study of social development in the rat (*Rattus norvegicus*). *Animal Behaviour* **29**:34–45.
- Melotti L, Bailoo JD, Murphy E, Burman O, Würbel H. 2014. Play in rats: association across contexts and types, and analysis of structure. *Animal Behavior and Cognition* **1**:489–501.
- Murphy MR, MacLean PD, Hamilton SC. 1981. Species-typical behavior of hamsters deprived from birth of the neocortex. *Science* **213**:459–461.
- Niesink RJM, Van Ree JM. 1989. Involvement of opioid and dopaminergic systems in isolation – induced pinning and social grooming of young rats. *Neuropharmacology* **28**:411–418.
- Nishida, T., Inaba, A., 2009. Pirouettes: the rotational play of wild chimpanzees. *Primates* **50**, 333–341.
- Normansell L, Panksepp J. 1984. Play in decorticate rats. *Society for Neuroscience Abstracts* **10**:612.
- O’Doherty J, Critchley H, Deichmann R, Dolan RJ. 2003. Dissociating valence of outcome from behavioral control in human orbital and ventral prefrontal cortices. *Journal of Neuroscience* **23**:7931–7939.

- Oliveira AR, Barros HM. 2006. Ultrasonic rat vocalizations during the formalin test: a measure of the affective dimension of pain? *Anesthesia and Analgesia* **102**:832–839.
- Pagel MD, Harvey PH. 1993. *Evolution of the juvenile period in mammals*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Palagi E. 2023. Adult play and the evolution of tolerant and cooperative societies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **148**:105124.
- Palagi E. 2018. Not just for fun! Social play as a springboard for adult social competence in human and non-human primates. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **72**
- Palagi E, Burghardt GM, Smuts B, Cordoni G, Dall'Olio S, Fouts HN, Pellis SM. 2016. Rough-and-tumble play as a window on animal communication. *Biological Reviews, Cambridge Philosophical Society* **91**:311–327.
- Palagi E, Nicotra V, Cordoni G. 2015. Rapid mimicry and emotional contagion in domestic dogs. *Royal Society Open Science*.
- Palagi E, Paoli T, Borgognini S. 2006. Short-term benefits of play behavior and conflict prevention in *Pan paniscus*. *International Journal of Primatology* **27**:1257–1270.
- Panksepp J, Burgdorf J. 2003. „Laughing“ rats and the evolutionary antecedents of human joy? *Physiology and Behaviour* **79**:533–547.
- Panksepp J. 1981. The ontogeny of play in rats. *Developmental Psychobiology* **14**:327–332.
- Panksepp J. 1993. *Rough and tumble play: a fundamental brain process*. SUNY Press, Albany 147–184.
- Panksepp J. 1998. *Affective Neuroscience*. Oxford University Press, New York, NY.
- Panksepp J. 2000. The riddle of laughter: neural and psychoevolutionary underpinnings of joy. *Current Directions in Psychological Science* **9**:183–186.
- Panksepp J, Beatty WW. 1980. Social deprivation and play in rats. *Behavioral and Neural Biology* **30**:197–206.
- Panksepp J, Biven L. 2012. *The Archeology of Mind: Neuroevolutionary Origins of Human Emotions*. Norton, New York, NY.
- Panksepp J, Burgdorf J. 2000. 50-kHz chirping (laughter?) in response to conditioned and unconditioned tickle-induced reward in rats: effects of social housing and genetic variables. *Behavioral Brain Research* **115**:25–38.
- Panksepp J, Burgdorf J, Beinfeld MC, Kroes RA, Moskal JR. 2004. Regional brain cholecystokinin changes as a function of friendly and aggressive social interactions in rats. *Brain Research* **1025**:75–84.
- Panksepp J, Burgdorf J, Turner C, Gordon N. 2003. Modeling ADHD-type arousal with unilateral frontal cortex damage in rats and beneficial effects of play therapy. *Brain and Cognition* **52**:97–105.
- Panksepp J, Normansell L, Cox JF, Siviy SM. 1994. Effects of neonatal decortication on the social play of juvenile rats. *Physiology and Behavior* **56**:429–443.
- Pellis SM, Pellis VC, Bell HC. 2010. The function of play in the development of the social brain. *American Journal of Play*. **2**:278–296.
- Pellis SM, Pellis V. 2009 *The playful brain: venturing to the limits of neuroscience*. Oneworld Publications, London.
- Pellis S, Pellis V. 2009. *The Playful Brain*. Oneworld Publications, Oxford

- Pellis SM, Iwaniuk AN. 2000. Comparative analyses of the role of postnatal development on the expression of play fighting. *Developmental Psychobiology* 36:136–147.
- Pellis SM, Pellis VC. 1987. Play-fighting differs from serious fighting in both target of attack and tactics of fighting in the laboratory rat *Rattus norvegicus*. *Aggressive Behavior* 13:227–242.
- Pellis SM, Pellis VC. 1996. On knowing it's only play: The role of play signals in play fighting. *Aggression and Violent Behavior* 1:249–268.
- Pellis SM, Burke CJ, Kisko TM, Euston DR. 2018. Handbook of ultrasonic vocalization. Pages 117-126 in Brudzynski S. A window in the emotional brain Handbook of behavioral neuroscience. 50-kHz vocalizations, play and the development of social competence. New York, NY, Academic Press.
- Pellis SM, Pellis VC, Himmler BT. 2014. How play makes for a more adaptable brain:A comparative and neural perspective. *American Journal of Play* 7:73–98.
- Pellis SM, Pellis VC, Pelletier A, Leca JB. 2019. Is play a behavior system, and, if so, what kind? *Behavioural Processes* 160:1–9.
- Pellis SM. 1981a. Exploration and play in the behavioural development of the Australian magpie *Gymnorhina tibicen*. *Bird Behaviour* 3:37–49.
- Pellis SM. 1993. Sex and the evolution of play fighting: a review and a model based on the behavior of muroid rodents. *Journal of Play Theory Research* 1:56–77.
- Pellis SM. 2002. Sex-differences in play fighting revisited: traditional and nontraditional mechanisms for sexual differentiation in rats. *Archives of Sexual Behavior* 31:11–20.
- Pellis SM, Burghardt GM. 2017. Play and exploration. Pages 699–722. In Call J, Burghardt GM, Pepperberg I, Snowdon C, Zentall T. *APA Handbook of Comparative Psychology. Concepts, History, and Methods*, assoc. eds. American Psychological Association, Washington, D.C.
- Pellis SM, Burghardt GM, Palagi E, Mangel M. 2015. Modeling play: distinguishing between origins and current functions. *Adaptive Behavior* 23:331–339.
- Pellis SM, Casteneda E, McKenna MM, Tran-Nguyen LT, Whishaw IQ. 1993a. The role of the striatum in organizing sequences of play fighting in neonatally dopamine-depleted rats. *Neuroscience Letters* 158:13–15.
- Pellis SM, Iwaniuk AN. 2004. Evolving a playful brain: a levels of control approach. *International Journal of Comparative Psychology* 17:90–116.
- Pellis SM, Pellis VC. 1987. Play-fighting differs from serious fighting in both target of attack and tactics of fighting in the laboratory rat *Rattus norvegicus*. *Aggressive Behavior* 13:227–242.
- Pellis SM, Pellis VC. 1990. Differential rates of attack, defense and counterattack during the developmental decrease in play fighting by male and female rats. *Developmental Psychobiology* 23:215–231.
- Pellis SM, Pellis VC. 1991a. Attack and defense during play fighting appear to be motivationally independent behaviors in muroid rodents. *The Psychological Record* 41:175–184.
- Pellis SM, Pellis VC. 1997. The pre-juvenile onset of play fighting in rats (*Rattus norvegicus*). *Developmental Psychobiology* 31:193–205.

- Pellis SM, Pellis VC. 1998. Play fighting of rats in comparative perspective: a schema for neurobehavioral analyses. *Neuroscience and Biobehavioral Review* **23**:87–101.
- Pellis SM, Pellis VC, Burke CJ, Stark RA, Ham JR, Euston DR, Achterberg EJM. 2022. Measuring play fighting in rats: a multilayered approach. *Current Protocol* **2**:337
- Pellis SM, Pellis VC, Dewsbury DA. 1989. Different levels of complexity in the playfighting by muroid rodents appear to result from different levels of intensity of attack and defense. *Aggressive Behavior* **15**:297–310.
- Pellis SM, Pellis VC, McKenna MM. 1993b. Some subordinates are more equal than others: play fighting amongst adult subordinate male rats. *Aggressive Behavior* **19**:385–393.
- Pellis SM, Pellis VC, Whishaw IQ. 1992. The role of the cortex in play fighting by rats: developmental and evolutionary implications. *Brain, Behavior and Evolution* **39**:270–284.
- Pellis SM, Field EF, Whishaw IQ. 1999. The development of a sex-differentiated defensive motor-pattern in rats: A possible role for juvenile experience. *Developmental Psychobiology* **35**:156–164.
- Petru M, Spinka M, Charvátová V, Lhota S. 2009. Revisiting play elements and self-handicapping in play: a comparative ethogram of five old world monkey species. *Journal of Comparative Psychology*, **123**:250–263.
- Pfaus JG, Phillips AG. 1991. Role of dopamine in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in the male rat. *Behavioral Neuroscience* **105**:727–743.
- Piaget J. 1952. *Play, Dreams and Imitation in Childhood*. Routledge, New York.
- Poole TB, Fish J. 1975. An investigation of playful behavior in *Rattus norvegicus* and *Mus musculus* (Mammalia). *Journal of Zoology* **175**:61–71.
- Portfors CV. 2007. Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* **46**:28–34.
- Posner MI, Rothbart MK, Sheese BE, Tang Y. 2007. The anterior cingulate gyrus and the mechanism of self-regulation. *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience* **7**:391–395.
- Reinhart CJ, McIntyre DC, Metz GA, Pellis SM. 2006. Play fighting between kindling-prone (FAST) and kindling-resistant (SLOW) rats. *Journal of Comparative Psychology* **120**:19–30.
- Reinhart CJ, Pellis SM, McIntyre BC. 2004. The development of play fighting in kindling-prone (FAST) and kindling-resistant (SLOW) rats: how does the retention of phenotypic juvenility affect the complexity of play? *Developmental Psychobiology* **45**:83–92.
- Rendall D, Owren MJ, Ryan MJ. 2009. What do Animal Signals Mean? *Animal Behaviour* **78**:233–240.
- Renouf D. 1993. Play in a captive breeding colony of harbour seals (*Phoca vitulina*) - constrained by time or by energy. *Journal of Zoology* **231**:351–363.
- Robinson DL, Zitzman DL, Smith KJ, Spear LP. 2011. Fast dopamine release events in the nucleus accumbens of early adolescent rats. *Neuroscience* **176**:296–307.
- Russon AE, Vasey PL. 2012. Eye-covering play in Japanese macaques and orangutans. Pages 293–302 in Leca J-B, Huffman MA, Vasey PL. *The Monkeys of Stormy Mountain*: 60

- Years of Primatological Research on the Japanese Macaques of Arashiyama. University of Cambridge Press, Cambridge, UK.
- Rygula R, Pluta H, Popik P. 2012. Laughing rats are optimistic. *PLoS One*.12(e51959) DOI: 10.1371/journal.pone.0051959.
- Brudzynski SM. 2013. Ethotransmission: communication of emotional states through ultrasonic vocalizations in rats, *Current Opinion in Neurobiol.* **23**:310–317,
- Seffer D, Rippberger H, Schwarting RKW, Wöhr M. 2015. Pro-social 50-kHz ultrasonic communication in rats: Post-weaning but not post-adolescent social isolation leads to social impairments-phenotypic rescue by re-socialization. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* **9**:102–102.
- Shair HN. 2018. Infantile vocalization in rats. Pages 129–137 in Brudzynski SM. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Academic Press, Amsterdam.
- Sharpe LL, Clutton-Brock TH, Brotherton PNM, Cameron EZ, Cherry MI. 2002. Experimental provisioning increases play in free-ranging meerkats. *Animal Behaviour* **64**:113–121.
- Shimada M. 2012. The Monkeys of Stormy Mountain: 60 Years of Primatological Research on the Japanese Macaques of Arashiyama. Pages 258–283 in Leca J.-B, Huffman MA, Vasey PL. *Social object play among juvenile Japanese macaques: comparison between the provisioned Arashiyama–Kyoto troop and the non-provisioned kinkazan troop*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Schneider P, Bindila L, Schmahl C, Bohus M, Meyer-Lindenberg A, Lutz B, Schneider M. 2016. Adverse social experiences in adolescent rats result in enduring effects on social competence, pain sensitivity and endocannabinoid signaling. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* **10**:203.
- Simola N. 2015. Rat ultrasonic vocalizations and behavioral neuropharmacology: from the screening of drugs to the study of disease. *Current Neuropharmacology* **13**:164–179.
- Simola N, Brudzynski SM. 2018a. Repertoire and biological function of ultrasonic vocalizations in adolescent and adult rats. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, **25**:177–186.
- Simola N, Brudzynski SM., 2018b. Rat 50-kHz ultrasonic vocalizations as a tool in studying neurochemical mechanisms that regulate positive emotional states. *Journal of Neuroscience Methods* **310**:33–44
- Simola N, Granon S. 2019. Ultrasonic Vocalizations as a Tool in Studying Emotional States in Rodent Models of Social Behavior and Brain Disease. *Neuropharmacology* 159:107420.
- Singer BF, Tanabe LM, Gorny G, Jake-Matthews C, Li Y, Kolb B, Vezina P. 2009. Amphetamine-induced changes in dendritic morphology in rat forebrain correspond to associative drug conditioning rather than nonassociative drug sensitization. *Biol Psychiatry* **65**:835–840.
- Siviy SM, Panksepp J. 1987. Sensory modulation of juvenile play in rats. *Developmental Psychobiology* **20**:39–55.
- Siviy SM. 1998. *Animal Play: Evolutionary, Comparative, and Ecological Perspectives*. Pages 221–242 in Bekoff M, Byers JA. *Neurobiological substrates of play behavior: glimpses into the structure and function of mammalian playfulness*. Cambridge University Press, Cambridge.

- Siviy SM. 2016. A brain motivated to play: insights into the neurobiology of playfulness. *Behaviour* **153**:819–844. .
- Siviy SM, Baliko CN, Bowers KS. 1997. Rough-and-tumble play behavior in Fischer- 344 and buffalo rats: effects of social isolation. *Physiology and Behavior* **61**:597–602.
- Siviy SM, Fleischhauer AE, Kerrigan LA, Kuhlman SJ. 1996. D2 dopamine receptor involvement in the rough-and-tumble play behavior of juvenile rats. *Behavioral Neuroscience* **110**:1–9.
- Siviy SM, Love NJ, DeCicco BM, Giordano SB, Seifert TL. 2003. The relative playfulness of juvenile Lewis and Fischer-344 rats. *Physiology and Behavior* **80**:385–394.
- Siviy SM, Panksepp J. 1985. Energy balance and play in juvenile rats. *Physiology and Behavior* **35**:435–441.
- Siviy SM, Panksepp J. 2011. In search of the neurobiological substrates for social playfulness in mammalian brains. *Neuroscience and Biobehavioral Review* **35**:1821–1830.
- Smith LK, Fantella SL, Pellis SM. 1999. Playful defensive responses in adult male rats depend upon the status of the unfamiliar opponent. *Aggressive Behavior* **25**:141–152.
- Smith PK. 1982. Does play matter: functional and evolutionary aspects of animal and human play. *Behavioral and Brain Sciences* **5**:139–155.
- Sommer V, Mendoza-Granados D. 1995. Play as indicator of habitat quality: a field study of langur monkeys (*Presbytis entellus*). *Ethology* **99**:177–192.
- Spinka M, Newberry RC, Bekoff M. 2001. Play: training for the unexpected. *Quarterly Review of Biology* **76**:141–168.
- Stamps J. 1995. Motor learning and the value of familiar space. *American Naturalist* **146**:41–58.
- Stark RA, Pellis SM. 2021. Using the „stranger test“ to assess social competency in adult female Long Evans rats reared with a Fischer 344 partner. *Behavioural Processes* **192**:104492.
- Stark RA, Pellis SM. 2020. Male Long Evans rats reared with a Fischer 344 peer during the juvenile period show deficits in social competency: a role for play. *International Journal of Play* **9**:76–91.
- Stone AI. 2008. Seasonal effects on play behavior in immature *Saimiri sciureus* in eastern Amazonia. *International Journal of Primatology* **29**:195–205.
- Sul JH, Kim H, Huh N, Lee D, Jung MW. 2010. Distinct roles of rodent orbitofrontal and medial prefrontal cortex in decision making. *Neuron* **66**:449–460.
- Špinka M, Newberry R C, Bekoff M. 2001. Mammalian play: Training for the unexpected. *The Quarterly Review of Biology* **76**:141–168.
- Takahashi N, Kashino M, Hironaka N. 2010. Structure of rat ultrasonic vocalizations and its relevance to behavior. *PloS one* **11**:(e14115)
- Takahashi LK, Lore RK. 1983. Play fighting and the development of agonistic behavior in male and female rats. *Aggressive Behavior* **9**:217–227.
- Takahashi N, Kashino M, Hironaka N. 2010. Structure of rat ultrasonic vocalizations and its relevance to behavior. *PLoS ONE* **11**(e14115). DOI:10.1371/journal.pone.0014115
- Taylor GT. 1980. Fighting in juvenile rats and the ontogeny of agonistic behavior. *Journal of Comparative Physiology and Psychology* **94**:953–961.
- Thanos PK, Cavigelli SA, Michaelides M, Olvet DM, Patel U, Diep MN, Volkow ND. 2009. A non-invasive method for detecting the metabolic stress response in rodents:

- characterization and disruption of the circadian corticosterone rhythm. *Physiological Research* **58**:219–228.
- Thomas DA, Takahashi LK, Barfield RJ. 1983. Analysis of ultrasonic vocalizations emitted by intruders during aggressive encounters among rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology* **97**:201–206.
- Thompson KV. 1998. Self assessment in juvenile play. Pages 183–204 in Bekoff M, Byers JA. *Animal play: Evolutionary, comparative, and ecological perspectives*. Cambridge University Press.
- Thor DH, Holloway Jr WR. 1983. Play solicitation behavior in juvenile male and female rats. *Animal Learned Behavior* **11**:173–178.
- Thor DH, Holloway Jr WR. 1984. Developmental analysis of social play behavior in juvenile rats. *Bulletin of the Psychonomic Society* **22**:587–590.
- Trezza V, Baarendse PJJ, Vanderschuren LJMJ. 2009a. Prosocial effects of nicotine and ethanol in adolescent rats through partially dissociable neurobehavioral mechanisms. *Neuropsychopharmacology* **34**:2560–2573.
- Trezza V, Baarendse PJJ, Vanderschuren LJMJ. 2010. The pleasures of play: pharmacological insights into social reward mechanisms. *Trends in Pharmacological Sciences* **31**:463–469.
- Trezza V, Damsteegt R, Vanderschuren LJMJ. 2009. Conditioned place preference induced by social play behavior: parametrics, extinction, reinstatement and disruption by methylphenidate. *European Neuropsychopharmacology* **19**:659–669.
- Trezza V, Vanderschuren LJMJ. 2008a. Bidirectional cannabinoid modulation of social behavior in adolescent rats. *Psychopharmacology* **197**:217–227.
- Van Den Berg CL, Hol T, Van Ree JM, Spruijt BM, Everts H, Koolhaas JM. 1999. Play is indispensable for an adequate development of coping with social challenges in the rat. *Developmental Psychobiology* **34**:129–138.
- Van Kerkhof LWM, Damsteegt R, Trezza V, Voorn P, Vanderschuren LJMJ. 2013. Functional integrity of the habenula is necessary for social play behaviour in rats. *European Journal of Neuroscience* **38**:3465–3475.
- Van Kerkhof LWM, Damsteegt R, Trezza V, Voorn P, Vanderschuren LJMJ. 2013. Social play behavior in adolescent rats is mediated by functional activity in medial prefrontal cortex and striatum. *Neuropsychopharmacology* **38**:1899–1909.
- Van Kerkhof LWM, Trezza V, Mulder T, Gao P, Voorn P, Vanderschuren LJMJ. 2014. Cellular activation in limbic brain systems during social play behaviour in rats. *Brain Structure and Function* **219**:1181–1211.
- Vanderschuren, LJMJ. 2010. How the brain makes play fun. *American Journal of Play* **2**:315–337.
- Vanderschuren LJMJ, Trezza V. 2014. What the laboratory rat has taught us about social play behavior: role in behavioral development and neural mechanisms. *Current Topics in Behavioral Neuroscience* **16**:189–212.
- Vanderschuren LJMJ, Niesink RJM, Van Ree JM. 1997. The neurobiology of social play behavior in rats. *Neuroscience and Biobehavioral Review* **21**:309–326.

- Vanderschuren LJMJ, Trezza V, Griffioen-Roose S, Schiepers OJG, Van Leeuwen N, De Vries TJ, Schoffelmeer ANM. 2008. Methylphenidate disrupts social play behavior in adolescent rats. *Neuropsychopharmacology* **33**:2946–2956.
- Verharen JPH, den Ouden HEM, Adan RAH, Vanderschuren LJMJ. 2020. Modulation of value-based decision making behavior by subregions of the rat prefrontal cortex. *Psychopharmacology* **237**:1267–1280.
- Vestergaard K, Hogan JA, Kruijt JP. 1990. The development of a behavior system: dustbathing in the Burmese red jungle-fowl: I. The influence of the rearing environment on the organization of dustbathing. *Behaviour* **112**:99–116.
- Walker C, Byers JA. 1991. Heritability of locomotor play in house mice, *Mus domesticus*. *Animal Behaviour*, 42:891–897.
- Watson DM. 1998. Kangaroos at play. Cambridge University Press, Cambridge.
- Whishaw IQ, Burke CJ, Pellis SM. 2021. Does play shape hand use skill in rats? *Experimental Brain Research* **239**:1895–1909.
- Wilson S, Kleiman D. 1974. Eliciting play: a comparative study: (Octodon, Octodontomys, Pediolagus, Phoca, Chocropsis, Ailuropoda). *American Zoology* **14**:341–70.
- Wohr M, Houx B, Schwarting RK, Spruijt B. 2008. Effects of experience and context on 50-kHz vocalizations in rats. *Physiology and Behaviour* **93**:766–76.
- Wöhr M, Schwarting RKW. 2007. Ultrasonic communication in rats: Can playback of 50-kHz calls induce approach behavior? *PLoS ONE* 2(e1365) DOI: 10.1371/journal.pone.0001365.
- Wöhr M, Houx B, Schwarting RKW, Spruijt B. 2008. Effects of experience and context on 50-kHz vocalizations in rats. *Physiology and Behavior* **93**:766–776.
- Wright JM, Gourdon JC, Clarke PB. 2010. Identification of multiple call categories within the rich repertoire of adult rat 50-kHz ultrasonic vocalizations: Effects of amphetamine and social context. *Psychopharmacology*, **211**:1–13.
- Yajima Y, Hayashi Y. 1983. Ambiguous Motoneurons Discharging Synchronously with Ultrasonic Vocalization in Rats. *Experimental Brain Research* **50**:359–366.

9 Samostatné přílohy

Publikované vědecké články související s diplomovou prací

V této příloze uvádím dva publikované články ve vědeckých časopisech, jejichž jsem spoluautorkou a jejichž výsledky jsou zčásti založeny na výzkumu, který jsem prováděla v rámci své diplomové práce.

1. Liu, Q., Ilčíková, T., Radchenko, M., Junková, M. & Špinka, M. 2023. Effects of reduced kinematic and social play experience on affective appraisal of human-rat play in Norway rats. *Frontiers in Zoology*, 20, 34.

Abstract. Background Play is a common and developmentally important behaviour in young mammals. Specifically in Norway rats (*Rattus norvegicus*), reduced opportunity to engage in rough-and-tumble (RT) play has been associated with impaired development in social competence. However, RT play is a complex behaviour having both a kinematic aspect (i.e., performing complex 3D manoeuvres during play fights) and a social aspect (interacting with a playful partner). There has been little research so far on disentangling the two aspects in RT play, especially on how these two aspects affect the affective appraisal of the intense physical contact during play. Results To examine the developmental effects of kinematic and social play reduction on affective appraisal in rats, we subjected male Long-Evans rats from 21 days old to RT play experience that was reduced either kinematically (through playing in a low ceiling environment) or socially (through playing with a less playful Fischer-344 rat). Starting at 35 days, we measured their production of positively (50-kHz) and negatively (22-kHz) valenced ultrasonic vocalisations (USVs) in a 2-min standardised human-rat play procedure that mimicked the playful sequences of nape contact, pinning, and belly stimulation („tickling“) for ten days. We hypothesised that the rats with kinematically or socially reduced play would perceive the ‘tickling’ less positively and thus emit positive ultrasonic vocalisations at lower rates compared to control rats with non-reduced play experience. Our results confirmed that each of the treatments reduced play differently: while the kinematic reduction abolished playful pinnings entirely, the social reduction decreased the pinnings and made play highly asymmetric. During the tickling procedure, rats mostly produced 50 kHz USV, indicating that they appraised the procedure as positive. There was a wide inter individual variance and high individual consistency in rats’ USV responses to ‘tickling’. Crucially, neither the kinematically nor the socially reduced play experience affected either type of USV production when rats were ‘tickled’. Conclusions This finding indicates that the ability to appraise play-like interactions as positive remains unaffected even when the kinematic or the social aspect of play experience was substantially curtailed.

2. Liu, Q., Radchenko, M. & Špinka, M. 2024 in press. Disentangling developmental effects of play aspects in rat rough-and-tumble play. *Biology Letters*.

Abstract. Animal play encompasses a variety of aspects, with kinematic and social aspects being particularly prevalent in mammalian play behaviour. While the developmental effects of play have been increasingly documented in recent decades, understanding the specific contributions of different play aspects remains crucial to understand the function and evolutionary benefit of animal play. In our study, developing male rats were exposed to rough-and-tumble (RT) play selectively reduced in either the kinematic or the social aspect. We then assessed the developmental effects of reduced play on their appraisal of standardised human-rat play („tickling“) by examining their emission of 50 kHz ultrasonic vocalisations (USVs). Using a deep learning framework, we efficiently classified five subtypes of these USV across six behaviour states. Our results revealed that rats lacking the kinematic aspect in play emitted fewer USVs during tactile contacts by human and generally produced fewer USVs of positive valence compared to control rats. Rats lacking the social aspect did not differ from the control and the kinematically reduced group. These results indicate aspects of play have different developmental effects, underscoring the need for researchers to further disentangle how each aspect affects animals.