

Celem badań jest porównanie podatności na zakażenie wirusem zakaźnej martwicy trzustki (z ang. Infectious Pancreas Necrosis Virus – IPNV) ryb łososiowatych z podrodziny *Salmoninae*: pstrąga źródlanego *Salvelinus fontinalis* oraz jego krzyżówki międzygatunkowej z pstrągiem tęczowym *Oncorhynchus mykiss*, tzw. tęczaka źródlanego *Salvelinus fontinalis* x *Oncorhynchus mykiss*. Otrzymane wyniki dostarczą informacji o przebiegu zakażenia zakaźnej martwicy trzustki u najmłodszych stadiów rozwojowych pstrąga źródlanego. Nasze badania będą pionierskie ze względu na zastosowanie technik mikromanipulacji do przeprowadzenia zakażenia eksperymentalnego oraz wykorzystanie krzyżówki międzygatunkowej.

W projekcie poza standardowymi metodami analizy śmiertelności kumulatywnej, oceny biometrycznej i anatomopatologicznej, zostaną wykorzystane techniki molekularne. Zakażenie doświadczalne zostanie wykonane przy użyciu mikroiniekcji do ikry w 50 godzin po zapłodnieniu. Podczas doświadczenia na podstawie obserwacji zbadamy śmiertelność kumulatywną ikry w każdej z podgrup badawczych, dzięki czemu będziemy mogli wykryć, czy istnieje zwiększona śmiertelność w grupie zakażonej. Ponadto dzięki zastosowaniu grupy poddanej mikroiniekcji bez wirusa, będzie można określić wpływ zastosowanej techniki na śmiertelność ikry. Po wykluciu rozpocznie się monitoring zachowania ryb w poszczególnych podgrupach. Wylęg zostanie poddany ocenie biometrycznej, ze szczególnym uwzględnieniem wielkości woreczka żółtkowego. Ponadto podczas każdego próbkobrania pobrane zostaną tkanki do badań histopatologicznych z wykorzystaniem barwienia hematoksylina-eozyną. Zamierzamy również przeanalizować ekspresję genów związanych z odpornością oraz jej zmiany w czasie. Wytypowaliśmy geny odpowiedzialne za kodowanie cytokin prozapalnych IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF α , chemokiny IL-8 i biorących udział w reakcji przeciwwirusowej: IFN γ oraz lizozymu. Wykorzystamy do tego techniki izolacji RNA, reakcję PCR z odwrotną transkryptazą (RT-PCR) oraz ilościowy PCR (qPCR).

Projekt pozwoli odpowiedzieć na pytanie, czy zakażenie IPNV wpływa na śmiertelność ikry pstrąga źródlanego i tęczaka źródlanego w trakcie inkubacji oraz śmiertelność wylęgu w ciągu trzech tygodni od wyklucia. Ponadto dowiemy się, czy zakażenie IPNV może mieć wpływ na wzrost, czas absorpcji woreczka żółtkowego i zachowanie się larw. Dzięki symulacji zakażenia pionowego, możliwym będzie określenie, jak reaguje na zakażenie organizm młodociany, z nie w pełni dojrzałym układem odpornościowym i czy zakażenie może mieć wpływ na stan narządów wewnętrznych na tak wczesnym etapie rozwoju. Ponadto informacje na temat przebiegu śmiertelności przybliżą nas do informacji, czy tęczak źródlany dziedziczy podatność na IPNV w linii matczynej (po pstrągu tęczowym) czy ojcowskiej (po pstrągu źródlanym). Dodatkowo będziemy mieli możliwość oceny wykorzystania technik mikroiniekcji u ryb hodowlanych.

Temat ten jest interesujący, ponieważ dotychczas nie badano IPN na tak młodych rybach, ani tym bardziej z wykorzystaniem podobnych metod. Zakaźna martwica trzustki przyczynia się do znacznych strat w hodowli ryb łososiowatych Salmonidae na całym świecie, zwłaszcza młodocianych stadiów rozwojowych. Dlatego informacje uzyskane w naszym badaniu mogą w przyszłości przyczynić się do lepszej walki z tą groźną chorobą.