

Badanie rozwoju, funkcjonowania oraz roli rytmu okołodobowego u wczesnych stadiów rozwojowych okonia (*Perca fluviatilis*)

Rytm okołodobowy kieruje ewolucją organizmów już od milionów lat, a wszystkie zwierzęta - w tym ryby - wyewoluowały w naturalnych warunkach fluktuacji światła. W ekosystemach strefy klimatu umiarkowanego najważniejszym więc parametrem, pozwalającym „dostrzegać” rybom porę dnia, czy też roku, jest fotoperiod (okres czasu oddziaływania światła w cyklu dobowym). Dlatego też, **głównym celem projektu jest sprawdzenie czy „poczucie czasu”** (rozumiane w tym przypadku jako fizjologiczna/biologiczna reakcja na codzienne zmiany rytmu dobowego wywołane zmieniającymi się warunkami świetlnymi) **po raz pierwszy pojawia się już u embrionów, czy może dopiero u larw okonia europejskiego, *Perca fluviatilis* oraz w jaki sposób owo „poczucie czasu” ulega zmianom w trakcie dalszego rozwoju ryby** (w dalszym okresie larwalnym i/lub młodocianym). Ponadto, dzięki zaplanowanym eksperymentom i badaniom projekt pozwoli odpowiedzieć na pytania „czy” i „w jakim stopniu” inny od naturalnego fotoperiodu i/lub spektrum światła wpływają na zegar biologiczny i rytm okołodobowy u wczesnych stadiów rozwojowych okonia. Przeprowadzone badania pozwolą również jednoznacznie ustalić czy, a jeżeli tak, to w jakim stopniu larwy i osobniki juwenilne (młodociane) okonia mogą dostosować się do zmodyfikowanych warunków świetlnych. W przypadku większości gatunków ryb słodkowodnych (a przede wszystkim ich embrionów oraz larw) obecnie posiadana wiedza z tego zakresu jest bardzo ograniczona, a dla okonia europejskiego pozostaje niemal zupełnie nieznana.

Planowany projekt składa się z dwóch etapów: wstępnego i eksperymentalnego. **Celem etapu wstępnego** będzie ustalenie, czy już embriony czy może dopiero larwy okonia europejskiego uzyskują „poczucie czasu”, w związku z czym ich układ okołodobowy zaczyna działać w sposób prawidłowy. W tym celu embriony i larwy będą inkubowane i podchowywane w warunkach „kontrolnego” fotoperiodu 14 h światła:10 h ciemności (14Ś:10C), w naturalnym (białym) spektrum światła - które to parametry naśladują warunki świetlne podczas okresu tarłowego okoni w ich środowisku naturalnym. W specjalnie wybranych momentach embriony i larwy będą pobierane w celu oceny parametrów zootechnicznych (takich jak, np.: średnica jaja, masa ciała larwy, długość całkowita larwy, przeżywalność), a także w celu przeprowadzenia badań molekularnych, takich jak transkryptomika i proteomika. Transkryptomika, jako zastosowana metoda badawcza pozwoli nam na analizę ekspresji dziesiątek-tysięcy genów jednocześnie, co umożliwi identyfikację procesów będących pod kontrolą warunków świetlnych (fotoperiodu i spektrum światła) oraz wyłoni potencjalnie nowe, dodatkowe markery (geny) będące kandydatami do określenia rytmu okołodobowego. Natomiast, za pomocą technik proteomicznych będziemy w stanie „sięgnąć o poziom wyżej niż geny” i postarać się znaleźć markery białkowe odpowiadające za przebieg rytmu okołodobowego u wczesnych stadiów rozwojowych okonia. **Drugi etap projektu**, to etap eksperymentalny, który będzie wykorzystywał zdobytą podczas etapu wstępnego wiedzę. Ma nam on udzielić odpowiedzi na temat zmian w funkcjonowaniu rytmu okołodobowego oraz zmian w „poczuciu czasu” u embrionów, larw i osobników młodocianych okonia. W tym celu w pierwszym eksperymencie embriony, larwy i osobniki młodociane będą podchowywane w trzech różnych fotoperiodach: 24Ś:0C, 12Ś:12C i 6Ś:18C, ale w jednym „kontrolnym” (białym) widmie światła. Natomiast w eksperymencie drugim podchów będzie odbywał się w trzech różnych widmach światła (białym, czerwonym i niebieskim), ale w jednym „kontrolnym” fotoperiodzie (14Ś:10C). Bardzo ważną cechą eksperymentu pierwszego i drugiego będzie podział każdej grupy eksperymentalnej (w momencie wyklucia i po zakończeniu okresu larwalnego) na trzy różne podgrupy, które znajdą się pod wpływem pozostałych (innych niż pierwotnie), zastosowanych fotoperiodów lub spektrów światła. Zastosowanie takiego właśnie podejścia eksperymentalnego pozwoli zweryfikować: (1) wpływ różnych fotoperiodów lub spektrów światła na przebieg rozwoju embrionów, larw oraz osobników młodocianych okonia, a także (2) przystosowanie larw i osobników młodocianych do zmian w fotoperiodzie lub/i w spektrum światła. W wybranych momentach drugiego etapu projektu zostaną pobrane próby biologiczne, w celu weryfikacji parametrów zootechnicznych oraz próby do analizy qPCR.

Dzięki swojemu wielowymiarowemu podejściu **projekt pozwoli uzupełnić ważne luki w wiedzy na temat rozwoju i funkcjonowania zegara biologicznego i rytmu okołodobowego u wczesnych stadiów rozwojowych okonia.** Uzyskane w trakcie realizacji projektu wyniki pozwolą nam zrozumieć jaki wpływ posiadają modyfikacje warunków świetlnych na ogólną jakość biologiczną larw oraz na ich zdolności adaptacyjne. Oczekiwane wyniki, w perspektywie długoterminowej, dostarczą również informacji mających istotne znaczenie przy ochronie ekosystemów słodkowodnych przed coraz częściej pojawiającym się, antropogenicznie wywołanym zanieczyszczeniem świetlnym (rozumianym jako obecność sztucznego światła w nocy w naturalnym środowisku), a także mogą być pomocne w określeniu przyszłych priorytetów badawczych w tej dziedzinie. Uzyskane wyniki poszerzą wiedzę podstawową z zakresu szeroko rozumianych „warunków świetlnych”, będą więc potencjalnie przydatne nie tylko dla komercyjnych hodowców ryb, lecz także w przypadku hodowli ryb w celach operacji restytucyjnych (nie tylko okonia, ale także innych gatunków ryb słodkowodnych).