

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Żaby zielone kompleksu *Pelophylax esculentus* jako wektory chorób płazów

2. Czas trwania projektu 1 rok i 3 miesiące (01.08.2016-30.10.2017)

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): *Pelophylax esculentus*, *P. lessonae*, *P. ridibundus*, *Batrachochytrium dendrobatidis*, ranavirus

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) – A, G

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Płazy należą do najszybciej wymierających zwierząt na świecie. Jedną z przyczyn zaniku ich populacji są choroby wywoływane przez ranawirusy oraz grzyb *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) wywołujący chytridiomikozę. Patogeny te zostały rozprzestrzenione na wszystkie kontynenty m.in. przez działalność ludzką (introdukcje i uciezki z hodowli gatunków inwazyjnych itp.). Dotychczas sądzono, że u żab z kompleksu *Pelophylax esculentus* choroby te nie występują, a mogą być one jedynie nośnikami ww. patogenów (Balaz i in. 2014). Jednakże ostatnie obserwacje żab zielonych z okolic Wrocławia wykazały, że są one w słabej kondycji oraz wykazują objawy charakterystyczne na obu ww. chorób (Kolenda i in. 2016).

Celem projektu jest ustalenie przyczyn wywołujących spadek kondycji i śmiertelność wśród żab

zielonych występujących w wybranych populacjach woj. dolnośląskiego. Od dorosłych osobników żab zielonych pobrana zostanie krew, którą następnie wykorzystamy do wykonania badania jej morfologii w celu określenia wpływu *Bd* na funkcje życiowe płazów, a następnie ustalenia czy występują w niej ranavirussy. Również od każdego osobnika pobrany zostanie wymaz z brzusznej części ciała, który posłuży do molekularnej analizy grzybów znajdujących się w naskórku żab, w tym potencjalnie *Bd*.

Uzyskane wyniki badań pozwolą opisać nieznane dotąd relacje zachodzące między chorobotwórczymi patogenami, a żabami zielonymi z kompleksu *Pelophylax esculentus*. Jednocześnie pozwolą na skuteczniejsze planowanie działań ochronnych populacji płazów.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Badania będą przeprowadzone na gatunkach: żaba wodna *Pelophylax esculentus*, żaba śmieszka *Pelophylax ridibundus*, żaba jeziorkowa *Pelophylax lessonae*. Od 270 osobników wszystkich trzech taksonów zostaną pobrane wymazy z brzusznej części ciała, natomiast od 60 żab jeziorkowych dodatkowo pobrane zostaną wymazy krwi.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

EBSCO; PUBMED; Google Scholar; ScienceDirect; Web of Science (JCR);

Wykorzystałam słowa kluczowe:

Pelophylax esculentus/ *P. lessonae*/ *P. ridibundus*/ ranavirus/ *Batrachochytrium dendrobatidis*

Na podstawie przeszukanej istniejącej literatury stwierdzono że: zastosowane metody są standardowymi

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

metodami wykorzystywanymi w badaniach płazów. Nie powodują dodatkowego dyskomfortu ani dystresu. W literaturze nie ma podanych alternatywnych metod do uzyskania założonego celu badawczego, a planowane oznaczenia można wykonać jedynie na próbkach świeżo pobranej krwi. Ten rodzaj pobierania krwi należy do powszechnie stosowanych metod u płazów (np. Berger i in. 1998, Forson i Storfer 2006, Pasmans i in. 2008). Wszystkie wykorzystywane procedury wykonywane będą z należytą dokładnością i poszanowaniem dla życia i dobrostanu badanych zwierząt.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, prewalencji Bd wśród badanych populacji, a także miarodajnych wyników badania krwi. Dzięki takiej ilości materiału nie będzie konieczności wykonywania badań na tych samych populacjach ponownie.

B. Brak jest danych dotyczących negatywnego wpływu Bd na kondycję żab zielonych. W przeciwieństwie do naszych obserwacji dotychczasowe wyniki sugerują, że żaby zielone są jedynie wektorem dla *Batrachochytrium dendrobatidis*. Uzyskane wyniki posłużą zatem do wyjaśnienia nieznanego dotąd wpływu Bd na organizmy żab zielonych i jednocześnie pozwolą na skuteczniejsze planowanie działań ochronnych populacji płazów.

Uwzględnienie zasady zastąpienia:

Ranawirusy i *B. dendrobatidis* powodują wymieranie jedynie w populacjach płazów, a ponieważ żaby z okolic Wrocławia wykazują objawy występowania obu patogenów nie ma możliwości zastąpienia ich innymi zwierzętami.

Uwzględnienie zasady ograniczenia:

Wymazy zostaną pobrane od 270 osobników *P. esculentus*, *P. lessonae* oraz *P. ridibundus* z populacji w Rakowie i miejscowościach sąsiadujących. Jest to minimalna liczebność, która umożliwi analizę liczebności zoospor *B. dendrobatidis* na poszczególnych osobnikach oraz posłuży do wyliczenia prewalencji w populacjach.

Krew pobrana zostanie od 60 osobników *P. lessonae* w Rakowie i miejscowościach sąsiadujących. Jest to niezbędna liczebność potrzebna do prawidłowej oceny morfologii krwi i kondycji płazów. Do tej procedury wykorzystane zostaną osobniki, od których wcześniej pobierano wymazy z brzusznej strony ciała.

Uwzględnienie zasady udoskonalenia:

Wykorzystywane do badań zwierzęta będą przetrzymywane przez możliwie najkrótszy czas, a wykonanie badań w miejscu ich złowienia i natychmiastowe wypuszczenie żab po przeprowadzeniu wszystkich analiz ograniczy ich stres związany z transportem i długotrwałym przebywaniem poza miejscem naturalnego występowania. Ten rodzaj pobierania krwi należy do powszechnie stosowanych metod u płazów (np. Berger i in. 1998, Forson i Storfer 2006, Pasmans i in. 2008). Zastosowane procedury charakteryzują się niską inwazyjnością oraz będą przeprowadzane z maksymalnym ograniczeniem bólu, strachu i dystresu.

Piśmiennictwo

Baláž V, Vojar J, Civiš P, Šandera M, Rozínek R. 2014. Chytridiomycosis risk among Central European amphibians based on surveillance data. *Diseases of Aquatic Organisms* 112(1):1-8

Berger L., Speare R., Daszak P., Green D.E., Cunningham A.A., Goggin C.L., Slocombe R., Ragan M.A., Hyatt A.D., Mc Donald K.R., Hines H.B., Lips K.R., Marantelli G., Parkes H. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 95: 9031–9036.

Forson D.D., Storfer A. 2006. Atrazine increases ranavirus susceptibility in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Ecol. App.* 16:2326-2332

Kolenda K., Najbar A., Ogielska M., Baláž V. 2016. *Batrachochytrium dendrobatidis* is present in Poland and is associated with reduced fitness in wild population of *Pelophylax lessonae*. *Diseases of Aquatic Organisms*; in review.

Pasmans F., Blahak S., Martel A., Pantchev N., Zwart P. 2008. Ranavirus-associated mass mortality in imported red tailed knobby newts (*Tylototriton kweichowensis*): A case report. *The veterinary journal* 176:257-259.