



JESETĚŘI

ryby z pradávných časů
(2. část)



Vyzy velké z loňského
odchovu na GRC FROV JU

Na FROV JU probíhá v současnosti výuka předmětu Chov chrupavčitých ryb, jehož cílem je poskytnout studentům základní znalosti o jejich biologii, systematice, způsobech chovu a ochraně, a to včetně využití jejich produktů. Předmět zahrnuje teoretické přednášky i praktická cvičení v laboratořích a rybochovných objektech fakulty.

Text: Bc. Martin Kahanec, DiS a kol. **foto:** Radek Koubek a Matěj Jírovec

Pro úspěšné absolvování předmětu je nutné složit poznávací test druhů chrupavčitých ryb. Tým vědců zabývající se problematikou jeseterovitých ryb je zároveň součástí mezinárodního sdružení vědců World Sturgeon Conservation Society: WSCS, kdy byla v rámci tohoto členství ve Vodňanech pořádána jeseteří mezinárodní konference. V současné době se problematice jeseterovitých ryb věnují čtyři fakultní laboratoře.

VĚDA A VÝZKUM JESETEROVITÝCH RYB NA FROV JU

1) LABORATOŘ ZÁRODEČNÝCH BUNĚK (LZB) ve Vodňanech patří mezi několik málo pracovišť na světě, kde se náhradní rodičovství ryb řeší jako reálný nástroj pro záchranu cenných a ohrožených druhů. Cílem je, aby v budoucnu dokázal menší a rychleji dospívající náhradní rodič produkovat vajíčka a spermie vzácného, pomalu rostoucího druhu. Ideálním příkladem je vyza velká (*Huso huso*), jejíž gamety by mohl v budoucnu produkovat náhradní rodič – například jeseter malý (*Acipenser ruthenus*). Aby to bylo možné, je potřeba vyvinout přesně koordinovaný postup: nejprve sterilizovat budoucího náhradního rodiče, poté izolovat zárodečné buňky dárce, vytvořit z nich buněčnou kulturu, označit je, a nakonec transplantovat do těla příjemce. Pokud všechny kroky proběhnou úspěšně, vzniká tzv. chiméra zárodečné linie – na pohled běžná ryba, která však ve svých gonádách nese pohlavní buňky jiného druhu. Jak tomu obvykle s jesetery bývá, celá cesta za náhradním rodičovstvím je značně komplikovaná. Nicméně v laboratoři již bylo dosaženo náhradní reprodukce u dalšího významného druhu – kapra obecného, jehož buňky byly přeneseny do karasů zlatých, kteří následně produkovali kapří vajíčka a spermie.

Kromě této biotechnologie se laboratoř věnuje i jevu, který je pro jesetery nečekaně typický – polyspermii. U většiny živočichů by vstup více spermií při oplození jedné jikry vedl k okamžitému zániku embrya. U jeseterů ale část takto oplodněných jiker pokračuje ve vývoji dál a může vzniknout dokonce životaschopný „mozaikový“ jedinec, jehož buňky nesou různý počet chro-

mozomových sad. Tento fenomén zásadně mění pohled na vývoj embryí jeseterů i na optimalizaci umělého výtěru.

A právě jeseteři ukazují, že ani jejich pozdější vývoj není „obyčejný“. Moderní výzkumy odhalily, že jejich kostěné štítky – známý tělesný pancíř – vznikají z buněk neurální lišty. Jde o unikátní skupinu buněk v embryu, která se dokáže přesouvat po těle a vytváří struktury jako kosti, chrupavky nebo zuby. U většiny dnešních ryb má neurální lišta kostitvornou schopnost jen v oblasti hlavy, ale u jeseterů funguje po celé délce těla. To je stav, který se velmi podobá úplně prvním obrněným obratlovcům, a díky němu nám jeseteři doslova umožňují nahlédnout do hluboké evoluční minulosti.

Dohromady tak výzkum v laboratoři zárodečných buněk ukazuje, že jeseteři nejsou jen objektem biotechnologií pro záchranu ohrožených druhů, ale také mimořádně cenným modelem pro pochopení základních principů vývoje živočichů. Od náhradního rodičovství přes neobvyklou polyspermii až po starobylé mechanismy vzniku kostního pancíře – všude zde jeseteři odhalují, jak překvapivě rozmanité mohou být procesy, které stojí u zrodu nového jedince.

2) LABORATOŘ FYZIOLOGIE REPRODUKCE RYB (LFR) – i zde je jeseterům věnována nemalá pozornost. Především spermiím, jikrám, dále pak některým aspektům procesu oplození a v neposlední řadě technice zmrazování spermií, tzv. kryokonzervace. A to vše prostřednictvím různých technik a přístrojů.

Spermie, samčí pohlavní buňky, jsou u jeseterů specifické a liší se od spermií kostnatých ryb stavbou, způsobem dozrávání i aktivace – „nastartování“ pohybu spermie po kontaktu s vodou: Hlavička spermie je protáhlá, s akrozomem na vrcholu hlavičky, který u ostatních ryb s vnějším oplozením nenajdeme. Bičík spermie jeseterů je asi 10x delší než hlavička a v části své délky je opatřen postranními membránovými „ploutvičkami“, které zlepšují hydrodynamiku jejího pohybu. Specifické je také dozrávání spermií: spermie opouštějí testes (varle, pohlavní žlázu) a procházejí přes ledviny a jejich vývodné kanálky, kde se mísí s močí a teprve v tomto prostředí dokončují zrání a získávají schopnost



Výběr ryb vhodných pro produkci kaviáru se neobejde bez využití sonografie (ultrazvuku) a chirurgického odběru vzorku tkáně vaječníků.

➔ Umělý výtěr jesetera ruského



aktivace při kontaktu s vodou. A pro vlastní aktivaci pohybu spermií jeseterů není hlavním faktorem změna osmotické úrovně při smísení s vodou, ale změna poměru koncentrace iontů draslíku a vápníku.

V praxi nás u spermií zajímá, zda jdou aktivovat, čím, jak dlouho a jakým způsobem se pohybují, kolik spermií je v ml spermatu. To vše nejen z důvodu obecného poznání, ale i z praktického důvodu: pro oplozování jiker na rybích líhních při procesu umělého výtěru potřebujeme používat „správně fungující“ spermií pro dosažení dobré oplozenosti jiker. Při práci se spermiemi je používána řada mikroskopických technik počínaje mikrosko-

píi ve fázovém kontrastu, přes temné pole, fluorescenční mikroskopii, vysokorychlostní videomikroskopii až po rastrovací a transmisní elektronovou mikroskopii.

Svá specifika a odlišnosti mají i jikry-vajíčka jeseterů. Zatímco například u kostnatých ryb má jikra na povrchu pouze jednu mikropyl (oplozovací kanálek), u jeseterů a veslonosů se běžně vyskytuje několik až desítky mikropylů na jedné jikře.

Pro potřeby praktické řízené reprodukce jeseterů a případnou produkci kaviáru je na straně jiker věnována pozornost především procesu dozrávání jiker ve vaječnících s cílem najít a vybrat pohlavně dospělé a dozrá-

lé ryby vhodné pro daný účel. Nejprve podle velikosti, potom podle polarizace jádra jikry (oocyty), což se neobejde bez využití sonografie („ultrazvuk“) a chirurgického odběru vzorku tkáně vaječníků (biopsie vaječníků). Specializovanou oblastí v zootechnické praxi, ryby včetně jeseterů nevýmáje, je zmrazování – kryokonzervace spermií (spermatu) za účelem jeho dlouhodobého uchování ve stavu schopném oplození. Laborator se této problematice věnuje již více než 20 let, a to jak experimentálně, tak pro potřeby kryobanky spermatu hospodářsky významných druhů ryb v rámci Národního programu ochrany genových zdrojů hospodářsky významných zvířat, kam patří jeseter malý a vyza velká, a jejichž dávky zmrazeného spermatu jsou součástí kolekce této kryobanky. Navíc, v experimentální kryobance jsou v současnosti dávky spermatu dalších druhů jeseterů (např. jeseter ruský, jeseter sibiřský, jeseter malý albinotická forma, jeseter bílý, jeseter krátkorýpý, jeseter hvězdnatý, veslonos americký) včetně spermatu od mlíčáků abnormálních ploidii (jeseter sibiřský). Experimentální činnost v oblasti kryokonzervace spermatu stále pokračuje a řeší především optimalizaci postupů s ohledem na měnící se kvalitu čerstvého spermatu a na praktické provedení a použití kryospermatu.

3) LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ, BUNĚČNÉ A KVANTITATIVNÍ GENETIKY (LMBKG) představuje další z renomovaných pracovišť FROV JU, které dedikuje

← První odchov vzácného jesetera krátkorýpého mimo americký kontinent





↑ Půl roku stará ryba jesetera sibiřského

značnou část svých výzkumných aktivit zkoumání jeseterovitých ryb. Jedním z ústředních řešených témat je tzv. polyploidie, tedy biologický fenomén, při němž vznik nového života neprobíhá „standardním“ způsobem, kdy se na vývoji jedince podílí právě polovina genetického materiálu (pro zjednodušení jedna chromosomová sada) od každého z rodičů, ale figuruje zde navíc další chromosomová sada či více sad. Tyto polyploidní organismy nesoucí tři nebo více sad se v různých aspektech fyziologie a reprodukce odlišují od těch běžných, což pro ně může, ale také nemusí být výhodné. Jeseteři jsou v tomto ohledu naprostým unikátem, neboť v průběhu své evoluce prošli hned několika vlastními epizodami polyploidizace, které přispěly k formování celé skupiny do dnešní podoby. Všichni žijící zástupci jeseterů jsou tedy takzvanými evolučními polyploidy, přičemž se od sebe jednotlivé druhy navíc liší v tom, „jak moc“, a křížením různě polyploidních druhů může běžně vznikat životaschopné potomstvo.

Zásadním objevem, ke kterému laboratoř v minulosti přispěla, je mimo jiné to, že k polyploidizaci u jeseterů běžně dochází i dnes, a to v kontrolovaných podmínkách při umělé reprodukci. Nevhodné nastavení dílčích kroků umělého výtěru, například používání příliš vysoké výtěrové teploty, dlouhého skladování vytřených jiker před oplozením či příliš dynamického míchání jiker během procesu odlepkování může vést k odchylkám od běžného vývoje a zvyšovat zastoupení nově vznikajících polyploidů (tzv. neopolyploidů) v potomstvu až na desítky procent. To je pro běžnou praxi krajně nežádoucí, neboť takoví jeseteři jsou vlastně geneticky abnormální a dle závěrů pracovníků laboratoře jsou některé typy polyploidů často neschopny reprodukce, jiné se rozmnožovat mohou, ale sterilita se projeví v dalších generacích. Část výzkum-

INZ 1/4 výška
Vodňany

ných aktivit laboratoře se proto v současné době soustředí na odhalování souvislostí mezi jednotlivými kroky umělého výtěru a výskytem neopolyploidů za účelem navržení těch nejvhodnějších postupů pro produkci geneticky nezatíženého potomstva ideálního pro vysazování, obnovu genových zdrojů či například produkci kaviáru.

Laboratoř se dále zabývá například analýzou populačních struktur či úrovně genetické variability, k čemuž používá moderní metody genotypování pomocí molekulárních markerů. Metody molekulární genetiky využívají výzkumníci třeba i ke

stanovování rodičovství, či dokonce neinvazivnímu určování pohlaví u jeseterů, které jsou schopni provádět u ryb o velikosti pouhých pár centimetrů z drobného vzorku ploutevní tkáně. Zkoumáme také, jak si jeseteři udržují integritu své DNA při různých typech stresu. Zjistili jsme, že embrya jeseterů jsou na znečištění vody citlivější než embrya jiných druhů ryb. Dále se zabýváme tím, jak se mechanismy opravy DNA podílejí na vývoji embrya. Bylo prokázáno, že různé typy poškození DNA vyvolávají u embryí odlišné vývojové poruchy. Proto mohou mít některé znečišťující látky ve vodě mnohem

závažnější účinky, zejména pokud způsobují takové poškození DNA, které embrya jeseterů nedokážou snadno opravit. Tyto poznatky jsou obzvlášť důležité vzhledem k jejich kriticky ohroženému stavu a mohou přispět ke zlepšení strategií jejich ochrany.

Poznatky všech těchto vědeckých činností laboratoře se pak skládají dohromady jako mozaika a ve výsledku slouží jak k uchování biologické rozmanitosti jeseterovitých ryb, tak k rozvoji sladkovodní akvakultury.

4) LABORATOŘ SLADKOVODNÍCH EKOSYSTÉMŮ (LSE)

se v rámci integrovaného projektu LIFE Living Rivers (101069837/LIFE21-IPE-SK-Living Rivers) věnuje mnoha aktivitám spojených s jesetery, jejich ochranou a zlepšením současného stavu jejich populací ve slovenské části Dunaje. Jedná se o monitoring skladby rybích obsádek ve slovenské části původní vnitrozemské delty řeky Dunaj, tzn. ve Starém Dunaji a ramenné soustavě. Pro přímé posílení početních stavů jesetera malého zajišťují pracovníci LSE produkci přírodě blízkých násad v podobě vysazování a inkubace oplozených jiker jesetera malého v inkubátorech na vhodných přírodních lokalitách. Cílem je také etablovat metodu inkubace jiker jesetera malého přímo v přírodních podmínkách, která bude co možná nejjednodušší a nepřívětivější jak pro jesetery, tak pro následující uživatele této metody. Dále je stav jesetera malého v Dunaji posilován nasazováním juvenilních jedinců do vhodných přírodních lokalit. Pohyb jeseterů ve slovenské části Dunaje a zhodnocení jejich šance na překonání současných migračních překážek v podobě soustavy vodních děl Gabčíkovo je prováděn pomocí rozsáhlého telemetrického výzkumu.

ČEŠTÍ VĚDCI POMÁHAJÍ SE ZÁCHRANOU JESETERŮ VE SVĚTĚ

Pracovníci FROV JU zabývající se problematikou jeseterovitých ryb se aktivně účastní různých seminářů a konferencí, kde jsou i pravidelnými příspěvovatelé. Vedle pedagogické a vědecké činnosti se snaží využívat své poznatky i v praxi, a to zejména k záchraně vzácných volně žijících druhů. Aktivně se podíleli na záchraně jesetera čínského v Číně, veslonose amerického v USA nebo na reintrodukci jesetera malého do Dunaje na Slovensku. ■

↓ Spodní postavení úst vyzy velké



← Jikernačka jesetera jadranského připravená k výtěru

69 – 1/1 INZ – ADV