

Pocta Petru Rábovi

Většině z nás mohou připadat ryby chladné, a tak trochu nepochopitelné. Pětice článků, vybraných z 15 příspěvků konference Life of Musing and Inspiration: A Tribute to Petr Ráb (Živa 2025, 4: CVII–CVIII), však ukazuje, že ryby mohou být zdrojem

poutavých příběhů. Dočteme se, kam může zajít zvyšování ploidie jeseterů. Karas stříbřitý odhalí paletu forem, dále komplikovanou samicemi, které se rozhodly obejít bez samců, a rozmanitost mřenek vypráví o geologické a klimatické proměně sladko-

vodní říše Eurasie od třetihor po dnešek. Piskoři v bahně skrývají tajemství genetické variability a je otázka, zda ho rozluštíme dříve, než navzdory své odolnosti a ekologickému oportunismu kvůli nám vyhynou. A sumeček černý – invazní hrozba, jejíž úspěch vyvolává mnoho otázek. Vše spojuje odkaz prof. Petra Rába, také dlouholetého člena redakční rady Živy a autora jejich článků, který by dodal, že „matka příroda má stále dost tajemství, která je třeba vyrvat.“

Barbora Vošlajerová
a redakce Živy

Martin Flajšhans

Ploidní diverzita u jeseterů

Evoluce jeseterů a veslonosů (řád *Acipenseriformes*) je neodmyslitelně spojena s polyploidizačními a hybridizačními událostmi, které vedly k rozrůznění počtu chromozomů a úrovní ploidie (počtů chromozomových sad) u současných druhů této skupiny (poznámka k taxonomii níže). Výzkumy dokazují, že alopolyloidizace i autopolyploidizace (podrobněji dále) jsou u těchto ryb probíhající procesem a v populacích jeseterů jsou relativně často pozorovány jedinci s abnormálními úrovněmi ploidie. Společná práce našeho týmu na Fakultě rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a týmu prof. Petra Rába z Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR se ploidní diverzitou jeseterů zabývala posledních 26 let, se snahami vysvětlit příčiny vzniku abnormálních počtů chromozomových sad a odhalovat jejich možné důsledky pro organismy samotné, stejně jako pro chov a ochranu diverzity jeseterů.

Evoluční polyploidie u jeseterů

Polyploidie – zvýšení počtu chromozomových sad nad běžnou úroveň dvou, tedy diploidní – je mimořádně důležitý evoluční mechanismus přispívající k obrovské biodiverzitě současných ryb. Podobně snadnost, s jakou se polyploidie různého stupně vyskytuje přirozeně nebo může být experimentálně vyvolána pomocí různých technologických postupů, svědčí o významu tohoto biologického jevu spojeného s plasticitou genomu ryb, tedy se schopností genomu měnit se a přizpůsobovat (blíže také Živa 2013, 6: 261–264). Existuje

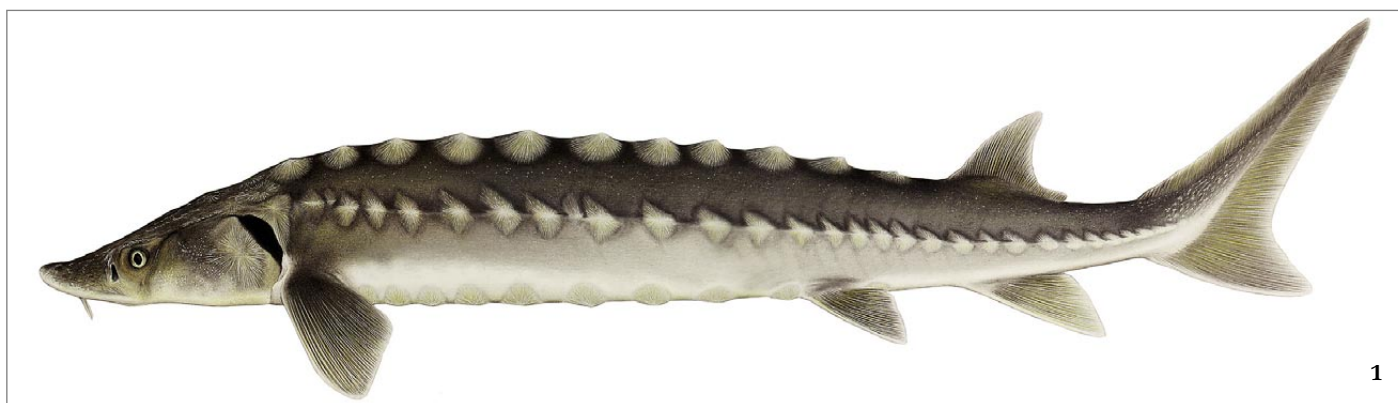
však jen málo jevů v biologii a genetice ryb, o kterých stále máme tak neúplné, fragmentární a někdy zkreslené znalosti jako o rybí polyploidii.

Živým příkladem tohoto jevu jsou jeseterovití (*Acipenseridae*) spolu s veslonosy (*Polyodontidae*; Živa 2021, 5: 251–255) jako nejstarší žijící skupina paprskoploutvých ryb, živých fosilií, které „zapomínají vyhynout“. Ještě k doplnění v úvodu naznačené poznámky k taxonomii – Chace D. Brownstein a Thomas J. Near (Bulletin of the Peabody Museum of Natural History 2025, 1: 3–24) letos na jaře na podkladě

sekvenace DNA a morfologických údajů navrhli přehodnotit fylogenetickou základnu pro taxonomii čeledi jeseterovití revolučním způsobem. Zejména z rodu *Acipenser* by tak mnoho nezůstalo. Dokud nebude jejich návrh zhodnocen dalšími autory, přidržuje se náš článek dosud používané taxonomické nomenklatury.

Od fylogenetické větve ostatních obratlovců se *Acipenseriformes* odchytili po dvou kolech duplikace genomu. Karyotypy těchto ryb také nevykazují podobnost s karyotypy jiných paprskoploutvých s výjimkou kostlínů rodů *Lepisosteus* a *Atractosteus* a svědčí o velké roli polyploidizačních událostí při formování genomu ryb z řádu jeseterů. Obecně se předpokládá, že vyhynulý společný diploidní předek všech jeseterů měl 60 chromozomů (Birstein a kol. 1997, Ráb a kol. 1999), došlo u něj k první duplikaci celého genomu (Whole Genome Duplication, WGD) a poté produkoval linii jeseterů se 120 chromozomy, která se zdá být bazální pro všechny zástupce čeledi (Ludwig a kol. 2001). Zda tato WGD proběhla před, nebo po rozdělení jeseterů a veslonosů, není v současnosti jasné. Autoři Karen D. Crow a kol. (2012) dospěli k závěru, že u veslonosů amerických (*Polyodon spathula*, obr. 2) se specificky duplikoval genom přibližně před 42 miliony let po divergenci od jeseterů datované před 180 až 140 miliony let, což naznačuje, že se veslonosovití oddělili od jeseterovitých už před první WGD jeseterů. Pro úplné zodpovězení této otázky však budou zapotřebí data, která zahrnou kompletní zastoupení jeseterů. Podle práce

1 Jeseter krátkorýpý (*Acipenser brevirostrum*) z východního pobřeží Severní Ameriky je jediným popsáním evolučně dodekaploidním (12n), resp. funkčně hexaploidním (6n) zástupcem čeledi.



1

Zuoganga Penga a kol. (2007) druhá WGD nastala u jeseterovitých, pravděpodobně odděleně v atlantické linii (před asi 53 miliony let) a tichomořské linii (přibližně před 70 miliony let), po jejich rozdělení před asi 121 miliony let a další WGD je pokládána za specifickou pro jesetera krátkorypého (*Acipenser brevirostrum*, obr. 1) před asi 35 miliony let. Stručně řečeno, v evoluci jeseterů se vyskytly nejméně tři nezávislé WGD spojené s několika hybridizačními událostmi, ale někteří autoři se domnívají, že jich mohlo být mnohem více.

V současné době lze identifikovat tři dobře oddělené skupiny druhů (A, B, C) podle počtu chromozomů a velikosti jejich genomu. Počet chromozomů u ryb jednotlivých skupin je kolem 120 (A), 240 (B) a 360 (C) a velikost genomu se pohybuje od 2,44 pg DNA na buněčné jádro (1 pg odpovídá 978 milionům párů bází) u vyzy velk (Huso huso, obr. 3) do 13,78 pg DNA na jádro u jesetera krátkorypého. Pro kategorizaci ploidie v těchto skupinách používají vědecké školy buď evoluční stupnici odkazující na úroveň (paleo)ploidie, předpokládající tetraploidii (4n, pro druhy skupiny A) – oktaploidii (8n, pro B) – dodekaploidii (12n, pro jediný druh skupiny C) podle Vadima Birsteina a kol. (1997), nebo funkční stupnici, která předpokládá, že genom funguje jako diploidní (funkčně 2n; A) – tetraploidní (4n; B) – hexaploidní (6n; C) v důsledku rediploidizace, tedy ztráty funkcí, převzetí nových funkcí nebo jen části původních funkcí genů, funkčního genomu v evoluci řádu jeseterů.

Druhou stupnici zastává celá řada vědců. Je však velmi obtížné se k jedné ze stupnic přiklonit kategoricky a bez zbytku: na příkladu veslonosa amerického nebo jesetera malého (*A. ruthenus*), obou ze skupiny A, je dokázáno, že po WGD nedošlo ke kompletní diploidizaci, některé geny nebo skupiny genů, paralogy, jsou technikou fluorescenční *in situ* hybridizace stále vizualizovatelné na čtveřičích chromozomů, a tento jev je nazýván mezopolyploidie, segmentální paleotetraploidie nebo segmentální rediploidizace. Obdobně některé mikrosatelitní lokusy genomu jeseterů považovaných za funkčně diploidní stále vykazují reziduální tetrasomické vzory. U druhů skupiny B a u druhu skupiny C je podle některých autorů postup jejich zpětné diploidizace nejistý a pravděpodobně se liší u druhů pocházejících z různých WGD. V následujícím textu je používána evoluční stupnice už proto, že jinak by bylo komplikovanější popisovat liché úrovně ploidie.

Alopolyploidie jeseterovitých

Polyploidizace úzce spojená s mezidruhovou hybridizací, tedy alopolyploidizace, mohla sloužit jeseterům během jejich evoluce jako zdroj adaptivní genetické variability, šířit genetickou rozmanitost a vést k novým adaptacím, což by umožnilo vyšší zdatnost v rychle se měnícím prostředí. Jedna z významných osobností jeseteřího výzkumu ruský vědec Vadim Birstein konstatoval, že jeseterovití jsou jedinou skupinou mezi obratlovci, jejíž příslušníci se dosud mohou v přírodě mezi sebou běžně navzájem křížit, jestliže se překrývají jejich trdliště (místa přirozeného výtěru).



2



3

Zrekapituloval celkem 40 dokumentovaných nálezů přirozených mezidruhových kříženců uvnitř rodu jeseter, dvou rodů lopatonosů (*Pseudoscaphirhynchus*, *Scaphirhynchus*) a mezirodových kříženců rodů jeseter a vyza v povodích řek spadajících do úmoří Kaspického, Azovského a Černého moře, v sibiřských řekách, ve středoasijské Amudarje a v povodích Missouri a Mississippi v Severní Americe (Birstein a kol. 1997). Tento proces stále probíhá a zesilují ho rostoucí antropogenní vlivy na obývané prostředí druhů a populací jeseterů v posledních desetiletích, vedoucí ke zvýšenému výskytu přirozených hybridů, k dramaticky klesajícím přirozeným populacím čistých druhů a jejich nižší šanci na reprodukci. To představuje, spolu s předchozí nadměrnou exploatací přirozených populací lovem, další vážnou hrozbu pro existenci čistých druhů v důsledku vyhynutí populací ohrožených hybridizací.

Životaschopní hybridy přitom vznikají nejen mezi druhy a rody stejné ploidní úrovně (např. 4n × 4n ve skupině A nebo 8n × 8n ve skupině B), ale rovněž mezi druhy a rody rozdílné ploidní úrovně (např. 4n × 8n nebo 8n × 4n, tedy A × B nebo B × A; obr. 4 a 5). V takových případech je hybridní potomstvo s intermediární úrovní ploidie, např. hybridizací jesetera malého (4n = 120 chromozomů) s j. sibiřským (*A. baerii*, 8n kolem 240) vznikají F₁ hybridy s 6n ~180 chromozomy. Tento neobvyklý příběh zde však nekončí a někteří F₁ hybridy jsou také plodní a jejich hybridizace v závislosti na úrovni ploidie druhého rodiče dává potomstvo opět s intermediární úrovní ploidie. Společnou prací se týmu R. Symonové (2010) podařilo dokončit rekonstrukci celé polyploidní série vzorků od karyotypů 4n ~120, 5n ~150, 6n ~180, 7n ~210, 8n ~240, 9n ~270, 10n ~300, 11n ~330, 12n ~360, 13n ~390 až po 14n ~420 (histogramy relativního obsahu DNA změřeného průtokovou cytometrií u některých takto vzniklých jedinců uvedeny na obr. 6). Zjevné rozdíly v ~30 chromozomech mezi příslušnými úrovněmi ploidie by stále mohly odrážet počet chromozomů v původním haploidním genomu vyhynulého evolučně diploidního předka jesetera, což podporuje hypotézu ruského ichtyologa Viktora Vasiljeva (1999)

2 Veslonos americký (*Polyodon spathula*), jediný v současnosti žijící zástupce čeledi veslonosovití (Polyodontidae). Veslonos čínský (*Psephurus gladius*) recentně vyhynul po negativních zásazích do jeho životního prostředí (Živa 2021, 5: 251–255).

3 Vyza velká (*Huso huso*), jeden z největších druhů jeseterovitých (Acipenseridae) původem z úmoří pontokaspické oblasti, patří do evolučně tetraploidní (4n), resp. funkčně diploidní (2n) skupiny jeseterovitých. Ilustrace R. Boškove pro sbírku Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (FROV JU, obr. 1–3)

4 a 5 Tříletí F₁ hybridy jeseterů z experimentálního chovu FROV JU. Oktaploidní hybrid (~244 chromozomů) samice jesetera ruského (*A. gueldenstaedtii*) se samcem j. sibiřského (*A. baerii*, obr. 4) a hexaploidní hybrid (~180 chromozomů) samice jesetera sibiřského se samcem j. malého (*A. ruthenus*, 5). Snímky M. Flajšhanse

o hybridním původu jeseterů prostřednictvím retikulárního neboli síťovitého způsobu speciace s hybridními systémy kombinací genomů. Pozitivní korelace velikosti genomu s velikostí buněčného jádra u většiny těchto polyploidních jedinců jsme v Živě již představili (2013, 6).

Při studiu metodami komparativní genomové hybridizace (CGH) a genomové *in situ* hybridizace (GISH) některých našich uměle odchovaných jeseteřích hybridů bylo zjištěno, že druhově specifické oblasti byly překvapivě identifikovatelné pouze na některých mikrochromozomech a menších makrochromozomech (Symonová a kol. 2013). Byl vysloven předpoklad, že tyto rozlišitelné oblasti jsou reprezentovány druhově specifickými repetitivními sekvencemi řízenými dynamičtějšími molekulárními evolučními mechanismy. Na větších chromozomech GISH slabě vizualizovala pouze bloky pericentromerických a telomerických repetitivních sekvencí, tedy opakujících se úseků DNA v oblastech kolem centromery a na koncích (telomerách) chromozomů, zbývající oblasti byly rovnoměrně sdíleny oběma rodičovskými druhy. Došli jsme k závěru, že produkci životaschopného (a v některých



případech plodného) potomstva mezidruhovou hybridizací umožňuje skutečnost, že genomy zúčastněných druhů se patrně liší pouze na úrovni repetitivních sekvencí a pravděpodobně jsou vysoce konzervované v kódujících sekvencích.

Autopolyploidie jeseterů

Častým jevem u jednotlivých druhů jeseterovitých ryb je vznik spontánních autopolyploidů, resp. triploidů, tedy jedinců, kteří mají počet chromozomů a obsah DNA

zhruba 1,5× zvýšený proti hodnotám obvykle udávaným pro daný druh. To svědčí o „biologicky triploidním“ stavu bez ohledu na skutečnou ploidii druhu. Přesně se neví, proč je spontánní autopolyploidie u jeseterovitých tak rozšířená, ale jejich již polyploidní genomy jim zřejmě mohou umožnit lépe se vyrovnat s dalšími kopiemi genomu ve srovnání s plně diploidizovanými druhy. Výskyt biologických triploidů byl během posledních desetiletí dokumentován různými autory u zástupců

všech tří ploidních skupin jeseterovitých, tedy jak u evolučních tetraploidů skupiny A (kde je biologický triploid de facto hexaploidem, 6n), u evolučních oktaploidů skupiny B (biologický triploid de facto dodekaploidem, 12n) i u evolučního dodekaploida skupiny C (biologický triploid ve skutečnosti dekaoktaploidní, 18n). Výskyt spontánních polyploidů byl vzácně zaznamenán i u divokých populací jeseterů, ale mnohem častěji k němu dochází v umělých chovech, v akvakultuře.

Různými autory bylo doloženo na příkladech několika druhů, mimo jiné jesetera bílého (*A. transmontanus*), j. sibiřského, j. malého a j. sachalinského (*A. mikadoi*), že nejčastější příčinou vzniku spontánní polyploidie je fúze spermie s neredukovanou samičí gametou (oocytem). U takových oocytů dochází k zadržení druhého pólového tělíska vlivem cytoskeletárních poruch, resp. poruchy tvorby dělicího vřeténka při stárnutí po ovulaci, tedy po uvolnění oocytů z vaječnickových folikulů, ale před oplozením. Právě skutečnost, že většina dosud analyzovaných spontánních polyploidů jeseterů pocházela z umělých chovů, také svědčí o tom, že ke stárnutí (přezrávání) oocytů dochází *in vivo* prodloužením doby mezi ovulací a umělým výtěrem s oplozením nebo *in vitro* prodloužením doby uchování ovulovaných a vytřených oocytů (jiker) do oplození. Obojí může svědčit o nevhodné chovatelské praxi. Ale i v přírodě mohou být gamety jeseterů v důsledku vnějšího oplození potenciálně vystaveny stresu z nestabilního prostředí, který by mohl vést k meiotické nebo mitotické duplikaci chromozomů. Samice jeseterů by mohly být v rychle se měnících podmínkách prostředí na přirozených trdlišťích nuceny prodloužit dobu tření, a to by mohlo vést k přezrávání jiker a vysokému výskytu spontánní polyploidie.

Diskutovanou alternativní hypotézou vzniku spontánních autopolyploidů je i polyspermické oplození – oplození jednoho oocyta více spermiemi. Jeseteri oocyty (jiky) totiž mají na rozdíl od oocytů většiny ryb skupiny Teleostei více mikropylí, kanálků v chorionu, které umožňují přístup spermie. Vstup více spermií najednou je tak možný, ale zároveň existuje obrana – kortikální reakce. Při vstupu první spermie se granule v kortikální vrstvě (oocytárním obalu pod vnitřní membránou obalující vajíčko – zona radiata) spojí s plazmatickou membránou a začnou se rozpadat, což způsobí oddělení plazmatické membrány od cytoplazmy. Pokud k polyspermickému oplození dojde, vede k abnormálnímu rýhování zygoty a úhynu moruly, vzácněji k vývoji životaschopného mozaikového jedince, který obsahuje ve svých tkáních dvě nebo více buněčných linií s různým karyotypem (Igorova a kol. 2018).

Dosud ne zcela dořešenou otázkou je i plodnost takto vzniklých biologických triploidních jeseterů. U většiny druhů Teleostei triploidie vyvolává sterilitu, protože tři sady chromozomů se nevyrovnaně rozcházejí do gamet při meióze – jev nazýváme „meiotický nesoulad“ (nondisjunkce), jehož výsledkem je aneuploidie gamet. Sterilita ryb a s tím spojený lepší somatický růst bývají také hlavním důvodem, proč se triploidie u chovaných druhů kostnatých

