

## Život a zrak parem po celogenomové duplikaci

Parma obecná (*Barbus barbus*) je zajímavá ryba, kterou můžeme potkat v rychleji proudících úsecích řek. Přes den spíše odpočívá a se soumrakem začíná být aktivnější, ovšem dělení na ryze noční a denní druhy není u ryb úplně jasné a částečná aktivita bývá častěji patrná po celý den. Také proto jsou parmy oblíbeným úlovkem rybářů, kteří oceňují jejich bojovnost. Jak parmy obecné žijí, co víme o příbuzných druzích a rodech parem, o genomu parem a jeho duplikaci? A jak tyto ryby vidí svůj svět? Mohou vidět barvy? A jak to vše ovlivnila evoluce tohoto druhu?

Parmy obecné patří mezi kaprovité ryby (Cyprinidae), které obývají střední toky řek. Ideálním prostředím je pro ně řeka s kamenitým dnem a rychlým silným proudem, na které se vyskytují jezy nebo peřeje, zátoky a místa s vodní vegetací. Podle parmy byl dokonce v minulosti pojmenován jedním ze zakladatelů české ichtologie Antonínem Fričem i charakteristický úsek evropských tekoucích vod – parmové pásmo. Jsou aktivní především za soumraku a v noci, i když během jarních a podzimních měsíců byla pozorována jejich zvýšená aktivita i během dne. Přes den se rády sdružují do hejn a odpočívají pod padlými stromy, ve vyhloubeninách dna nebo se schovávají v tekoucí vodě těsně pod peřejemi (obr. 1 a na 4. str. obálky). Takové typické místo může být třeba na Vltavě v ústí „šlajсны“ ve Zlaté Koruně, a to i přes velký provoz vodáků na kánoích.

Jestli tudy někdy pojedete na lodi, zkuste si vzpomenout, že pod sebou můžete mít tyto více než půlmetrové ryby.

Parma má v našich končinách nezaměnitelný vzhled s protaženým rypcem a spodními masitými ústy, která jsou lemována čtyřmi vousky (obr. 2 a 3). Tyto vousky jí daly i vědecký název *Barbus barbus*, barba znamená v latině vous. Parma je využívá při hledání potravy (zejména měkkýšů, korýšů a larev hmyzu) v říčních dně. Silným rypcem potravu vyrývá a je schopna ji získat i zpod velkých kamenů. Řadí se mezi potamodromní druhy – podniká sezonní migrace v rámci sladkých vod. V období od dubna do června se hejna vydávají proti proudu řeky na svá trdliště, která mohou být vzdálena až 20 km. Samci vyrazí kvůli rozmnožování na cestu dříve než samice. Parmy se trou skupinově, jedna samice obvykle s několika



1 Parma obecná (*Barbus barbus*) odpočívající přes den ve vyhloubenině v řece Traun mezi rakouskými jezery Attersee a Traunsee. Voda je zde průhledná, ale relativně teplá, proudící a přibližně 3 m hluboká.

2 a 3 Detail hlavy a úst parmy obecné. Na obr. 3 je viditelná destička na dolním rtu. Připomeňme, že kaprovití nemají žádné zuby v čelistech, ke zpracování potravy jim slouží jen požerákové zuby, přeměněné z posledního žaberního oblouku. Parma má typické komorové oko jako ostatní obratlovci a zaostřuje pomocí pohybu čočky jako další ryby.

samci, své jedovaté jikry kladou přímo na šterkové dno a trdliště pak opouštějí. Nová generace dosáhne pohlavní dospělosti ve věku 2–3 let, pokud jde o samce, nebo 4–5 let v případě samic.







### Celogenomová duplikace a co to znamená pro parmu

Parma obecná je rozšířená ve velké části Evropy – její areál se táhne od západního pobřeží (na sever od Pyrenejí a Alp) až k hranicím Ruska, na jihovýchodě zasahuje do povodí Dunaje a Dněpru, ale i do severní Anatólie. Neobývá pouze chladné oblasti severní Evropy a horkou a suchou oblast mediteránní, v níž ji však nahrazují jiné druhy palem. Do některých řek např. v Itálii byla lidmi vysazena.

Rod *Barbus* prodělal v posledních desetiletích postupně výrazné taxonomické změny. Dříve šlo o sběrný rod, do něhož

na základě jisté vnější morfologické podobnosti patřily ryby z různých, často i nepříbuzných skupin (včetně mnoha známých afrických a asijských akvarijských parmiček, nyní řazených do rodů *Barbonymus*, *Puntius* aj.). Během taxonomických revizí bylo mnoho druhů a rodů vyčleněno, aby se z rodu *Barbus* stal přirozený monofyletický rod, zahrnující pouze příbuzné druhy. Dnes má více než 30 rozlišovaných západopalearktických druhů, které jsou nejbližšími příbuznými naší parmy obecné. S parmou karpatskou (*B. carpathicus*) se dokonce může p. obecná i křížit, což bylo doloženo také u některých dalších

druhů palem. Spolu např. s rody *Luciobarbus* (Evropa, západní Asie a severní Afrika, obr. 4, 7 a 8), *Capoeta* (středoasijská Asie, obr. 5; tento rod je dokonce hexaploidní) a *Aulopyge* (s jediným regionálně endemickým druhem, obývajícím balkánský kras, obr. 9) tvoří rod *Barbus* linii, u níž došlo k významné evoluční události – zdvojení genomu, někdy i vícenásobně.

Zdvojení genomu neboli celogenomové duplikace stály i na úplném počátku evoluce obratlovců. Počet chromozomů se u předka obratlovců zdvojnásobil hned dvakrát a pozůstatek těchto událostí lze v genomu všech obratlovců stále detekovat. Většina nadbytečných genů byla sice časem ztracena, některé konzervativní genové rodiny, např. vývojové Hox geny, však zůstaly zachovány a dnes je nacházíme na čtyřech různých chromozomech. (Při první duplikaci vznikly z jednoho chromozomu nesoucího Hox geny dva a při druhé duplikaci z těchto dvou chromozomů čtyři.) Zatímco pro ptáky a savce by dnes už bylo podobné zdvojení letální, u plazů, obojživelníků a ryb stále nacházíme druhy se zmoženým genomem – polyploidní druhy. Nejenže přežívají bez větších problémů, duplikace genomu pro ně může být dokonce výhodná.

U předka eurasijských palem proběhla již zmíněná duplikace před 11–16 miliony let. Velmi pravděpodobně nešlo o typické zdvojení vlastního genomu, tedy autopolyploidizaci, ale o zdvojení po křížení mezi dvěma různými tehdejšími druhy neboli alopolyloidizaci (běžný jev např. u rostlin). Proběhla tedy hybridizace s následným zachováním celých chromozomových sad od obou rodičů (o poly-







4 Parma středoasijská (*Lucioibarbus mursa*) z Ázerbájdžánu. Rod *Lucioibarbus* patří společně s rodem *Barbus* a několika dalšími do skupiny, u níž proběhlo zdvojení genomu.

5 Parma balúčistánská (*Capoeta capoeita*) rovněž z Ázerbájdžánu, patří do skupiny sesterské rodu *Lucioibarbus*. Oproti němu má zavalitější tělo a mohutnější vzezření. U rodu *Capoeta* došlo dokonce k vícenásobnému zmnožení genomu – je hexaploidní.

6 Proudny přítok Debeda v systému řeky Kury (Ázerbájdžán), kde žijí parmy středoasijské i p. balúčistánské.

7 Portugalské parmy Bocageho (*L. bocagei*) v lokalitě Olhos de Água, kde vyvěrá řeka Alviela z podzemního systému na povrch.

8 Zástupce rodu *Lucioibarbus* (pravděpodobně *L. albanicus*, nahoře) a *Barbus rebeli* z řeky Vjosa v Albánii (viz obr. 13). Oba druhy byly pozorovány společně na stejné lokalitě.

9 Parmička dalmatská (*Aulopyge huegelli*) z Bosny a Hercegoviny má pouze omezený areál a je jediným zástupcem svého rodu a „bazální“ větví příbuzenské skupiny evropských parem.

10 Příklad konzumace ázerbájdžánských parem v menší velikosti, než na jakou jsme zvyklí u „konzumních“ ryb v našich končinách.

11 a 12 Porovnání šířky hlavy a tvaru tlamy dvou druhů (a rodů) parem vyskytujících se společně na jedné lokalitě. Vlevo *Barbus*, vpravo *Lucioibarbus*

13 Přirozené koryto albánské řeky Vjosa (neboli AooS). Jde o poslední velkou neregulovanou řeku v Evropě. I se svými přítoky je domovem minimálně dvou druhů parem. Snímky Z. Musilové

druhu otce. O jaké druhy šlo, ale zatím s jistotou nevíme, i když na základě analýzy dvou genů byli navrženi nejbližší současní příbuzní, avšak s velkou mírou nejistoty. Samotné zdvojení genomu u parmy i jeho spojení s hybridizací bylo odhaleno různými genetickými metodami (např. pomocí mikrosatelitů) před více než 20 lety (Chenuil, Galtier a Berrebi 1999). K určení rodičovských druhů bude však zapotřebí podrobná analýza genomu parmy, jehož sekvenční byla zveřejněna teprve nedávno – v květnu 2022 (dostupná na [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA\\_023566175.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_023566175.1)) – na publikaci s navrhovanými rodičovskými druhy si tak budeme muset ještě nějakou chvíli počkat.

Dávne „rodiče“ parem zatím neznáme, přesto však ze zveřejněného genomu můžeme vyčíst leccos zajímavého. Již nyní např. víme, že od doby duplikace zůstaly chromozomy zachovány v celé své délce, což je pro alopolyloidizaci (zdvojení po

hybridizaci) typické. U autopolyploidie a alopolyloidie se totiž liší osud jednotlivých genů. Po duplikaci vlastního genomu (autopolyploidie) jsou všechny geny na počátku víceméně identické a začínou se od sebe odlišovat až v dlouhém evolučním čase nahromaděním mutací. Většina genů je časem ztracena, neboť není potřeba mít dvě stejné kopie. Evolučně zachovány zůstanou pouze ty geny, které se „stihnou“ odlišit a začnou vykonávat třeba mírně odlišné funkce. Zato u alopolyloidů jsou jednotlivé geny již rozdílné, a proto je větší šance, že více z nich bude mít také funkční divergenci, díky které budou v selekci zachovány častěji než u autopolyploidů. A to je právě případ parmy a jejích genů pro barevné vidění.

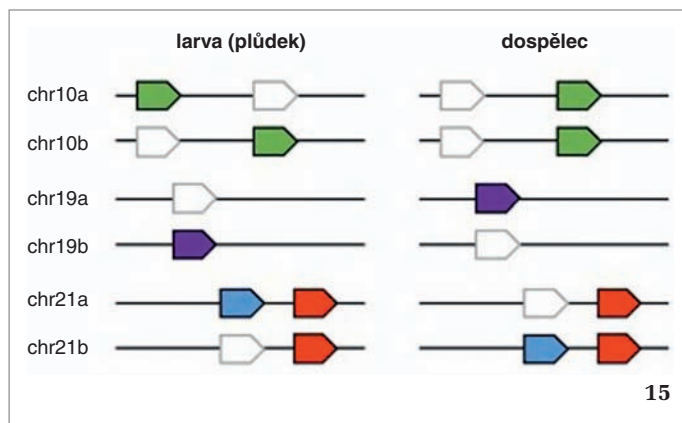
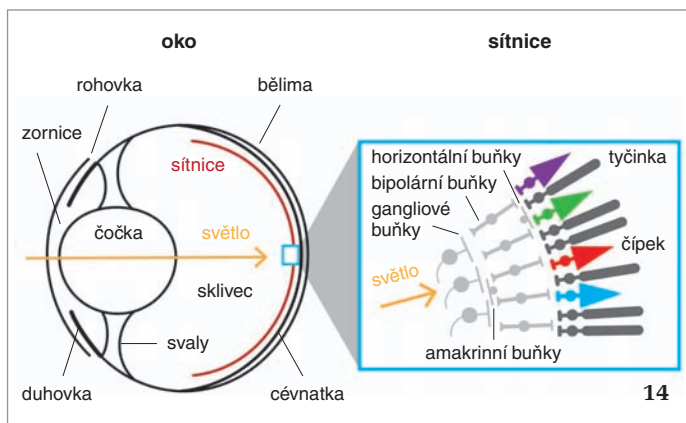
#### Jak parma vidí?

Oči všech obratlovců jsou si v základní stavbě podobné, parma má tedy komorové oko (obr. 14; o původu a stavbě očí blíže



ploidizaci u ryb podrobněji v Živě 2013, 6: 261–264). Geny/chromozomy rodičovských druhů se příliš nemíchají a dodnes je tak možné od sebe oddělit „subgenom“ zdrojového druhu matky a zdrojového





také v Živě 2009, 5: 219–222). Protože však ryby žijí ve vodním prostředí, které je na rozdíl od vzduchu variabilnější (změna světelných podmínek je větší např. s rostoucí hloubkou), lokálně proměnlivé (oko se musí vyrovnávat s neustálými fluktuacemi intenzity osvětlení, zejména v blízkosti hladiny) a liší se také fyzikálními vlastnostmi (viz dále), můžeme v oku parem najít několik jedinečných přizpůsobení. Velice nápadná je především velká kulatá čočka, na kterou se napojují speciální svaly. Pohybují čočkou dopředu, dozadu i do stran tak, aby oko zaostřilo na požadovaný objekt. Rybí čočka musí mít velkou optickou mocnost, protože na rozdíl od suchozemských živočichů nemohou ryby využít k lomu světla rohovku (indexy lomu vody a rohovky mají totiž podobnou hodnotu). Další zvláštnost bychom našli ve stavbě sítnice. Pod mikroskopem lze u ryb odlišit tři tvarově rozdílné typy světločivných buněk – tyčinky, čípky a dvojčípky, což jsou vlastně dva čípky přiložené těsně k sobě a spojené dohromady. Právě čípky a dvojčípky bývají u ryb často uspořádány v pravidelně se opakujícím vzoru, nazývaném sítnicová mozaika. Ukazuje se, že druhy ryb s pravidelnější mozaikou vidí ostřeji. Jelikož parma sítnicovou mozaiku má, lze předpokládat, že vidí docela dobře.

Světločivné buňky se neliší jen tvarově, ale také funkčně. Každá z nich je citlivá jen na určitou vlnovou délku (barvu) světla. O tom, jaká barva to bude, rozhoduje světločivný pigment přítomný v buňce. Jde o bílkovinu opsin s molekulou retinalu ve speciální kapse. Opsin určuje, která barva světla bude zachycena, a retinal pak přichází světlo přímo zachytí. Pro opsiny existují geny přímo kódované v genomu, může jich být různý počet, ale každá světločivná buňka zpravidla exprimuje pouze jeden. Zatímco např. člověk má tyto geny čtyři (jeden je exprimován v tyčinkách a tři v čípcích), u ryb jich často bývá více. V genomu parmy obecné jsme ve spolupráci s dalšími kolegy (zejména s Pavlem Lepičem z Fakulty rybářství a ochrany vod JU) našli hned 14 opsinových genů! Tak vysoký počet má parma i díky celogenomové duplikaci. Co s tolika geny pro světločivné pigmenty dělá?

V začátcích pátrání po odpovědi na tuto otázku jsme se zaměřili na sítnice dospělých jedinců. Zjistili jsme, že dospělé parmy využívají jen 6 z celkových 10 genů pro opsiny čípků, ale ty pokrývají celé barevné spektrum (od ultrafialového záření přes modrou, zelenou až po červenou barvu).

14 Stavba komorového oka obratlovců a jeho sítnice. Různé typy nervových buněk: horizontální, bipolární, gangliové a amakrinní buňky, a fotoreceptorové buňky – tyčinky a čípky

15 Grafické znázornění vypínání a zapínání alternativních sesterských genů u larválních stadií a u dospělců parem. Čípkové opsinové geny jsou umístěny na 6 chromozomech – číslovány podle podobnosti jako tři dvojice a označeny a nebo b podle rodičovského druhu. Barevně jsou označeny aktivní (zapnuté, exprimované) geny, bílou barvou geny vypnuté. Barva genu na obrázku odpovídá barvě světla, kterou daný opsin zachytí, tedy čtyřem základním typům opsinů u obratlovců, UV/fialový, modrý, zelený a červený čípkový opsin. Přepínání genů se týká UV/fialového a modrého opsinu, kde jde o přepnutí mezi kopiemi od různých rodičů (tedy mezi chromozomy a, b), a dále zelených opsinů, kde k přepnutí dojde u genů ležících na stejném chromozomu. Červený čípkový opsin je jediný, kterého se změna netýká, a ukazuje stabilní expresi napříč stadii vývoje. Orig. autorky článku (obr. 14 a 15)

Posléze se naskytla možnost v rámci spolupráce rozšířit bádání i na larvální stadia parem. Když jsme porovnali zrakovou výbavu dospělců a larválních stadií, čekalo nás obrovské překvapení. Ukázalo se, že u většiny čípkových genů dochází k postupné změně aktivity během vývoje a larvy používají nejprve gen od jednoho rodičovského druhu předka, celé již zmíněné příbuzenské skupiny rodů, který s růstem vymění za „sesterský“ gen z druhého rodičovského druhu předka.

Změna fotoreceptorové výbavy během ontogeneze není u ryb úplnou novinkou. Většinou ale jde o změnu „barvy“, kterou jedinec vnímá, tedy např. přítomnost čípků citlivých k UV záření u larev, jež s vývojem jedince mizí. Nebo běžně pozorujeme mnohem větší poměr krátkovlnných světločivných buněk (UV/fialovo-modrá) v sítnici a dlouhovlnné čípky (červené) jsou na počátku vývoje v menšině a přibývají postupně. U parmy však nevidíme funkční změny poměrů – poměry UV/fialových, modrých, zelených a červených čípků na sítnici jsou velmi podobné během celého vývoje – ale vymění se kopie od jednotlivých rodičů (obr. 15). Tyto „sesterské“ kopie se mírně liší ve svých aminokyselinách, kódují tedy opsiny, jejichž barevná citlivost může být posunuta. Mohou proto

mírně pozměnit funkci zrakového systému. Změna ale není tak výrazná jako v případě nahrazení jednoho typu za jiný (např. modrý čípkový gen za zelený).

Evoluční význam tohoto nedávného zjištění ontogenetického vývoje zraku u parmy zatím neumíme plně pochopit. Vliv má pravděpodobně určité konzervativní vývojové nastavení (alternativní využití genů mezi larvou a dospělcem je častý jev), které se potkalo s tím, že po celogenomové duplikaci byly k dispozici dvě kopie podobných genů. Druhým aspektem může být přizpůsobení rozdílnému způsobu života v larválním a dospělém stadiu. Zatímco dospělci parem bývají aktivní zejména za soumraku a v noci a žijí benticky (u dna), plůdek a juvenilní ryby jsou aktivní ve dne i v noci. Mladé larvy se navíc v prvních týdnech života pohybují volně ve vodním sloupci, než se přesunou ke dnu a zahájí způsob života podobný dospělcům.

Za zmínku také stojí, že ke změně zrakové výbavy z „larvální“ na „dospělou“ dochází již ve stáří kolem 14 dní, tedy dříve než mladá parma zahájí bentický způsob života (larvy se rozplavávají asi 8 dní po oplození a žijí ve volném vodním sloupci přibližně od 11.–12. dne až do 28. dne, kdy se „vracejí“ ke dnu k bentickému životu). Přeměna zrakového systému předcházející změně způsobu života je opět fenomén, který pozorujeme u celé řady druhů ryb. Asi nejlépe to lze ilustrovat např. u dospělých úhořů, kteří metamorfojí své smyslové orgány (oči, nozdry), aby byly přizpůsobeny k tahu do moře, a to včetně přepnutí exprese tyčinkového rodopsinu ze „sladkovodní“ varianty na „mořskou“. Teprve poté se – již s „mořským“ rodopsinem v tyčinkách – vydávají na cestu. Zrakový systém je tak připraven v předstihu.

Zatím nevíme, zda se u parmy povede prokázat nějaká ekologická korelace s pozorovanou proměnou zraku nebo životním obdobím. Je však fascinující vidět, že i naše běžné a známé druhy ryb mají pořád svá skrytá tajemství, a jakmile se ponoříme do jejich odhalování, zjistíme, že o jejich životě nevíme zdaleka vše.

*Výzkum byl podpořen Grantovou agenturou ČR (21-31712S) a Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (350122). Autorky by rády poděkovaly za terénní pomoc kolegům a členům Českého rybářského svazu, jejichž seznam je uveden na webu Živy.*

Seznam použité literatury najdete na webových stránkách Živy.