

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



Geneticky modifikované organismy v akvakultuře

Bakalářská práce

Autor práce: Jakub Palička

Obor studia: ABPR

Vedoucí práce: Ing. Miloslav Petrtýl, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Geneticky modifikované organismy v akvakultuře" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19.4.2018

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu bakalářské práce Ing. Miloslavu Petrtýlovi, Ph.D. za metodické vedení, odbornou pomoc, cenné rady a věcné připomínky při vypracovávání této bakalářské práce.

Geneticky modifikované organismy v akvakultuře

Souhrn

Hlavními cíli genetické modifikace je intenzivnější růst, efektivnější využívání krmiva, zvýšení tolerance vůči environmentálním vlivům jako je teplota nebo salinita, vytvoření nových barevných variant akvariálních ryb nebo vývoj nových forem odolných vůči chorobám. Na tvorbu transgenních ryb byly vyvinuty různé metody jako je mikroinjekce nebo elektropolace, z nichž každá má svoje výhody i nevýhody vyžadující další zlepšení. Ze studií vyplývá, že transgenní ryby konzumovaly větší množství krmiva, ale díky rychlejšímu růstu a lepší konverzi krmiva dosáhly požadovaného přírůstku za výrazně kratší dobu, konkrétně o 40-50 % oproti netransgenním rybám. Celková spotřeba krmiva na jednotku biomasy byla u transgenních ryb o 20 % nižší než u konvenčně chovaných v akvakultuře. V současné době je nejdůležitější geneticky modifikovanou rybou losos obecný (*Salmo salar* Linnaeus, 1758), který byl v USA jako první geneticky modifikovaný živočich schválen pro lidskou spotřebu. Povolení na produkci geneticky modifikovaného lososa společnosti Aquabounty, udělila FDA v roce 2015. Transgenní losos společnosti Aquabounty vzniknul vložením genu růstového hormonu z lososa čavyča (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum, 1792). „AquAdvantage salmon“ jak je nazýván losos společnosti Aquabounty, roste průměrně dvakrát rychleji oproti tradičně chovaným lososům. Předpokládaná produkce transgenního lososa v Kanadě v roce 2019 je 1200 tun. Na schválení k produkci čekají i další geneticky modifikované ryby, jako kapr obecný (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) s růstovým hormonem z tilápie (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), který roste rychleji, vykazuje lepší přežití a retenci bílkovin. Další geneticky modifikovanou rybou, čekající na schválení je pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) se zvýšenou odolností proti chorobám. Studie ukázaly, že většina transgenních pstruhů vykazuje odolnost vůči infekci *Aeromonas salmonicida*. Kromě ryb sloužících k lidské spotřebě se produkují transgenní akvariální ryby, které mohou mít různé barvy nebo slouží pro detekci

nebezpečných látek v oblasti ekotoxikologie. Velký význam mohou mít geneticky modifikované mořské řasy, které mají velký potenciál především jako obnovitelný zdroj na výrobu bioethanolu. Jedním z rizik spojených s chovem geneticky modifikovaných organismů je únik do volné přírody a případné šíření transgenu na původní populace. Řešením je produkce zcela sterilních jedinců, spojená s opatřeními proti úniku z chovných zařízení. Takto chované organismy nepředstavují pro své okolí žádné nebezpečí.

Klíčová slova: akvakultura, rybářství, produkce, vodní hospodářství

Genetically modified organisms in aquaculture

Summary

The main goals of genetic modification are increased growth, more efficient use of feed, increased tolerance to environmental influences such as temperature or salinity, creation of new color variants of aquarium fish or development of new disease-resistant forms. Various methods such as microinjection or electroporation have been developed for the production of the transgenic fish, each of which has its advantages and drawbacks requiring further improvement. Studies show that transgenic fish consumed a larger amount of feed but due to faster growth and better feed conversion, they achieved the desired increase for a significantly shorter period, namely 40-50% compared to non-transgenic fish. Total feed consumption per unit of biomass was 20% lower for transgenic fish than conventionally reared in aquaculture. At present, the most important genetically modified atlantic salmon (*Salmo salar*), which was first approved for human consumption in the USA as the first GMO. Permit for the production of genetically modified salmon from Aquabounty was granted by the FDA in 2015. Aquabounty's transgenic salmon originated from the introduction of the growth hormone gene from chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). "AquAdvantage salmon," as it is called Aquabounty salmon, grows on average two times faster than traditionally farmed salmon. The estimated production of transgenic salmon in Canada in 2019 is 1200 tons. Other genetically modified fish such as common carp (*Cyprinus carpio*) with growth hormone of tilapia (*Oreochromis niloticus*), which grows faster, exhibit better survival and protein retention, are awaiting approval. Another genetically modified fish pending approval is rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with increased resistance to disease. Studies have shown that most transgenic trout exhibits resistance to infection with *Aeromonas salmonicida*. In addition to fish for human consumption, transgenic aquarium fish are produced, which may be of different colors or for the detection of dangerous substances in the field of

ecotoxicology. Very important could be genetically modified seaweeds, which have a great potential, primarily as a renewable source for the production of bioethanol. One of the risks associated with the cultivation of genetically modified organisms is the release into the wild and the possible spread of the transgen to the native population. The solution is the production of completely sterile individuals, coupled with measures against leakage from breeding facilities. Such organisms are no danger to their surroundings.

Keywords: aquaculture, fisheries, production, water managemen

Obsah

1 Obsah

2 Úvod.....	1
Cíl práce	1
2.1 Akvakultura.....	2
2.2 Postup genetické modifikace	3
2.2.1 Výběr cílových genů	3
2.2.2 Izolace genu	4
2.2.3 Klonování genu	5
2.2.4 Konstrukt.....	5
2.2.5 Techniky pro indukci transgenik	5
2.2.6 Integrační místa	7
2.2.7 Exprese genu.....	8
2.2.8 Dědičnost genu	8
2.3 Přínosy gmo	8
2.3.1 Ekonomické faktory	8
2.4 Druhy vhodné pro aplikaci gm	11
2.4.1 Ryby určené pro akvakulturu.....	13
2.4.2 Geneticky modifikované akvarijní ryby	15
2.4.3 Aplikace transgenních ryb v ekotoxikologii	16
2.4.4 Geneticky modifikované mořské řasy.....	16
2.4.5 Geneticky modifikování měkkýši	17
2.5 Hrozby, rizikové faktory a ochrana.....	17
2.5.1 Hrozby a rizikové faktory	17
2.5.2 Vliv gmo na lidské zdraví.....	20
2.5.3 Vliv gmo na ekosystémy	21
2.5.4 Způsoby zamezení šíření transgenních ryb.....	21
2.6 Legislativa	24
2.6.1 Povolení	24
2.6.2 Hodnocení rizika	25
2.6.3 Havarijní plán	25
2.6.4 Označování.....	25
2.7 Perspektiva gmo.....	26
2.8 Závěr.....	27
2.9 Seznam použitých zkratk	28
2.10 Seznam použité literatury.....	29

2 Úvod

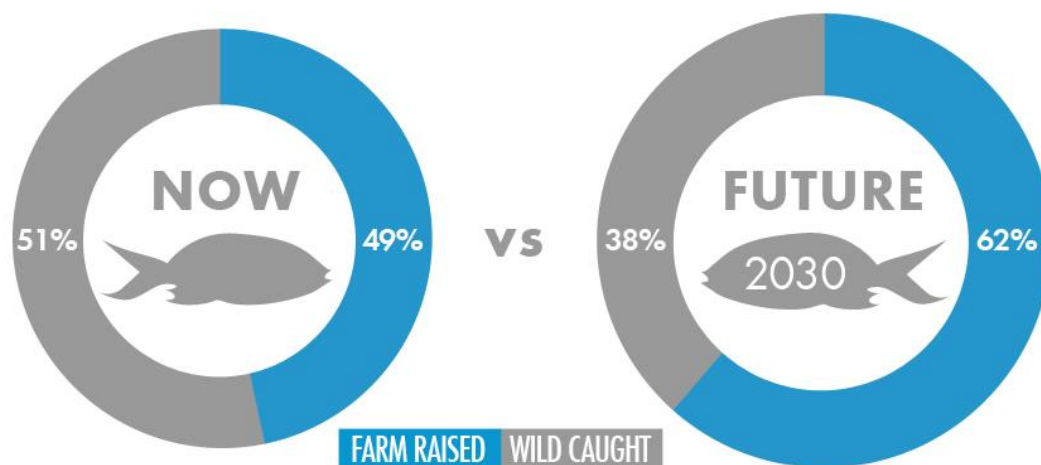
Podle předpovědí se lidská populace na planetě do roku 2050 zvýší na 9,7 miliard obyvatel. Odhad naznačuje, že v roce 2009 představovaly ryby 17 % spotřeby živočišných bílkovin na celém světě a 6,5 % všech konzumovaných bílkovin. Ryby jsou však více než jen zdrojem živočišných bílkovin. Obsahují několik esenciálních aminokyselin, zejména lysin a methionin, polynenasycené mastné kyseliny, ale také důležité zdroje základních mikroživin-vitamíny D, A a B a minerály (vápník, fosfor, jod, zinek, železo a selen), což je zvláště atraktivní v současném boji proti podvýživě v zemích s nízkými příjmy a nedostatkem jídla (Béné et al., 2015). Kvůli rostoucí světové populaci a s tím spojenou vzrůstající poptávkou po potravinách je kladen stále větší důraz na rozvoj akvakultury (Beardmore & Porte, 2003). Geneticky modifikovaným organismem je označován organismus, kromě člověka, jehož dědičný materiál byl změněn genetickou modifikací. Produkce vhodných geneticky modifikovaných organismů nabízí účinnější a efektivnější využívání akvakultury (Beardmore & Porte, 2003). Intenzivní akvakultura však může vytvářet problémy v oblasti životního prostředí, zejména prostřednictvím odpadů nebo kvůli vysokým populačním koncentracím, kde se často vyskytují viry a parazité např. (*Lepeophtheirus salmonis*) (Beardmore & Porte, 2003). Z tohoto důvodu je velice atraktivní alternativou chov transgenních, triploidních jedinců, kteří se většinou nemohou dále rozmnožovat a nepřenášejí tak nechtěné geny do divokých populací. (Tibbetts a kol., 2013).

Cíl práce

Cílem práce je tvorba literárního přehledu se zaměřením na aktuální stav a perspektivy využívání geneticky modifikovaných organismů v akvakultuře.

2.1 Akvakultura

V roce 2008 celosvětová produkce akvakultury dosáhla 68,8 milionů tun z nichž 52,9 milionů tun vodních živočichů. V daném roce činil podíl akvakultury na světové produkci vodních organismů 46,7 %. Za pouhé 4 roky do roku 2012 stoupl podíl akvakultury o další 2,3 %, což znamená každoroční růst akvakultury o více než 0,5 % za rok. V akvakultuře se používá okolo 600 druhů vodních organismů, ať už pocházejí z chovů ve sladké, brakické nebo slané vodě (FAO, 2012). V roce 2010 FAO zaznamenalo 181 zemí s akvakulturní produkcí. Béné (2015) uvádí, že každá druhá ryba, kterou konzumujeme, v současné době pochází z akvakultury. 1,4 milionů tun lososů což je asi 74 % produkce lososů, pochází z klecových chovů v Atlantském oceánu, při lepší snášenlivosti studené vody by toto číslo mohlo být ještě vyšší (Tibbetts et al., 2013). Vzhledem k rostoucí populaci a faktu, že množství ryb pocházejících z mořského rybolovu se bude zvyšovat, jen za předpokladu nadměrného drancování oceánů, předpokládá se, že k udržení současné úrovně spotřeby na osobu do roku 2030, musí se produkce akvakultury zvýšit nejméně o dalších 23 milionů tun živočišných produktů (FAO, 2012). V současné době rostoucí světové energetické nároky a vyčerpávání fosilních paliv, získávají stále větší pozornost mořské řasy jako atraktivní obnovitelné suroviny pro výrobu paliv a chemických látek. Celková produkce mořských řas v roce 2010 činila 19 milionů tun s celkovou hodnotou přibližně 5,7 miliardy USD, což je od roku 2008 nárůst o 30 %. Lídry v produkci mořských řas jsou země východní a jihovýchodní Asie. Globální rozsah pěstování mořských řas je však stále malý ve srovnání s jeho rostoucí poptávkou, jako alternativním obnovitelným palivem (Lin, H., & Qin, S. 2014).



Graf 1 Podíl produkce akvakultury a mořského rybolovu (FAO, 2014)

2.2 Postup genetické modifikace

Genetická modifikace

Cílená změna dědičného materiálu spočívající ve vnesení cizorodého dědičného materiálu do dědičného materiálu organismu nebo vynětí části dědičného materiálu organismu způsobem, kterého se nedosáhne přirozenou rekombinací (Česko. zákon č. 78 ze dne 25. února 2004 o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty).

Ryby nabízejí oproti savcům snazší genetickou manipulaci, protože se snadno chovají a samice mají velké množství vajíček. Primární cíle genetické modifikace jsou: zintenzivnit růst, zvýšit toleranci teploty a salinity, vyvinout formy odolné vůči chorobám nebo vyzdvihnout nové varianty barevných okrasných a akvariálních ryb. Transgenní ryby obsahují cizí sekvenci DNA, která je integrována do chromozomální DNA. (Rasal, K. D., et al., 2016).

2.2.1 Výběr cílových genů

Nejčastěji používaný gen u vodních živočichů je růstový hormon (GH), který se používá ke zlepšení růstových vlastností ryb. GH byl široce používán u pozemských druhů a sekvence genu

je vysoce konzervativní. Produkt se snadno používá i přes hranice druhů. Lze také poznamenat, že alespoň v některých případech je zvýšený růst spojen s efektivnějším využíváním potravy (Beardmore & Porte, 2003).

Studená voda je v akvakultuře často velkým problémem, zejména v mírném klimatu, kdy mimořádně chladná zima může vážně poškodit jak produkci, tak i rybí populace. Některé mořské ryby mají vysokou hladinu „anti-freeze proteinů“ (AFP) nebo glykoproteinů (AFGP), které snižují bod mrazu tím, že zabraňují růstu ledových krystalů. (Beardmore & Porte, 2003). Fletcher, Hew a Davies (2001) zjistili, že existuje jedna třída AFGP a čtyři třídy AFP. Většina z nich je primárně exprimována v játrech. Z platýse (*Pleuronectes americanus* Walbaum, 1792) byl odebrán AF protein, který byl úspěšně zaveden do genomu atlantického lososa, integrovaný do zárodečné linie a přenesen na potomky F3 generace, kde byl exprimován v játrech.

Genetická manipulace byla také provedena za účelem zvýšení odolnosti ryb vůči patogenům. To je v současné době řešeno použitím DNA vakcín (kódujících část genomu patogenů) a antimikrobiálních činidel jako je lysozym (Beardmore & Porte, 2003).

2.2.2 Izolace genu

V současné době díky technice může být izolovaný gen upraven a převeden zpět do zárodečné linie živočicha nebo rostliny tak, aby se stal funkční a dědičnou součástí genomu organismu (Alberts et al., 2002).

Obvykle je zájmový gen dostupný jako prvek krátkých úseků celkového genomu dárcovského kmene nebo druhu. Pokud se jedná o tento případ, postupuje se tak, že se použije polymerázová řetězová reakce (PCR). Pokud však je gen odebrán z genomu, který nebyl dříve ošetřen, je zapotřebí složitější postup. Použití metody polymerázové řetězové reakce (PCR) umožňuje, aby byl gen ve všech výše uvedených případech vynásoben na úrovni několika milionů kopií potřebných pro generování konstruktů (Beardmore & Porte, 2003).

2.2.3 Klonování genu

Když se vygeneruje mnoho kopií cílového genu, je gen umístěn do tzv. konstruktů. Jakmile požadovaný gen navazuje na konstrukt, celý tento komplex navazuje na bakteriální plazmidy, které působí jako produkční vektory a umožňují, aby byl gen mnohokrát replikován uvnitř bakteriálních buněk. Pak se bakterie vysadí. To obvykle zahrnuje určitou změnu barvy kolonií obsahujících vloženou DNA. Mnohokrát rozšířený konstrukt DNA je potom enzymaticky vystřižen z plazmidů (poté, co byly odstraněny z bakteriálních buněk) a je připraven k použití pro vložení do vajíček hostitelských druhů (Beardmore & Porte, 2003).

2.2.4 Konstrukt

Konstrukt DNA je uměle vytvořený segment nukleové kyseliny, který má být transplantován do cílové tkáně nebo buňky (Liu, 2013). Konstrukt je kus DNA, který funguje jako nosič nebo vektor nesoucí cílový gen do hostitelské buňky. Má několik různých oblastí. Existuje promotorová oblast, která řídí aktivitu cílového genu, oblast, kde je vložena cílová DNA, obvykle nějaký typ reporterového genu, který umožňuje zjistit, zda je cíl kombinován úspěšně s konstrukcí a ukončením sekvence. Zdrojem těchto několika DNA sekvencí mohou být různé druhy, i když ideální by bylo, kdyby promotor a cílový gen byly odvozeny od stejného druhu (Beardmore & Porte, 2003).

2.2.5 Techniky pro indukci transgenik

Pro indukci transgenik se nejvíce využívá mikroinjekce do oplodněných vajíček nebo časných stadií embryí. Další úspěšně aplikovanou metodou je elektroporace spermií, která byla vyzkoušena u některých druhů jako dánío pruhované (*Danio rerio* Hamilton, 1822), losos čavyča nebo piskoř dálnovýchodní (*Misgurnus anguillicaudatus* Cantor, 1842). U artémií (*Artemia franciscana*) byly zkoumány balistické metody využívající mikroprojektily s cílem vytvořit transgenní korýše (Beardmore & Porte, 2003).

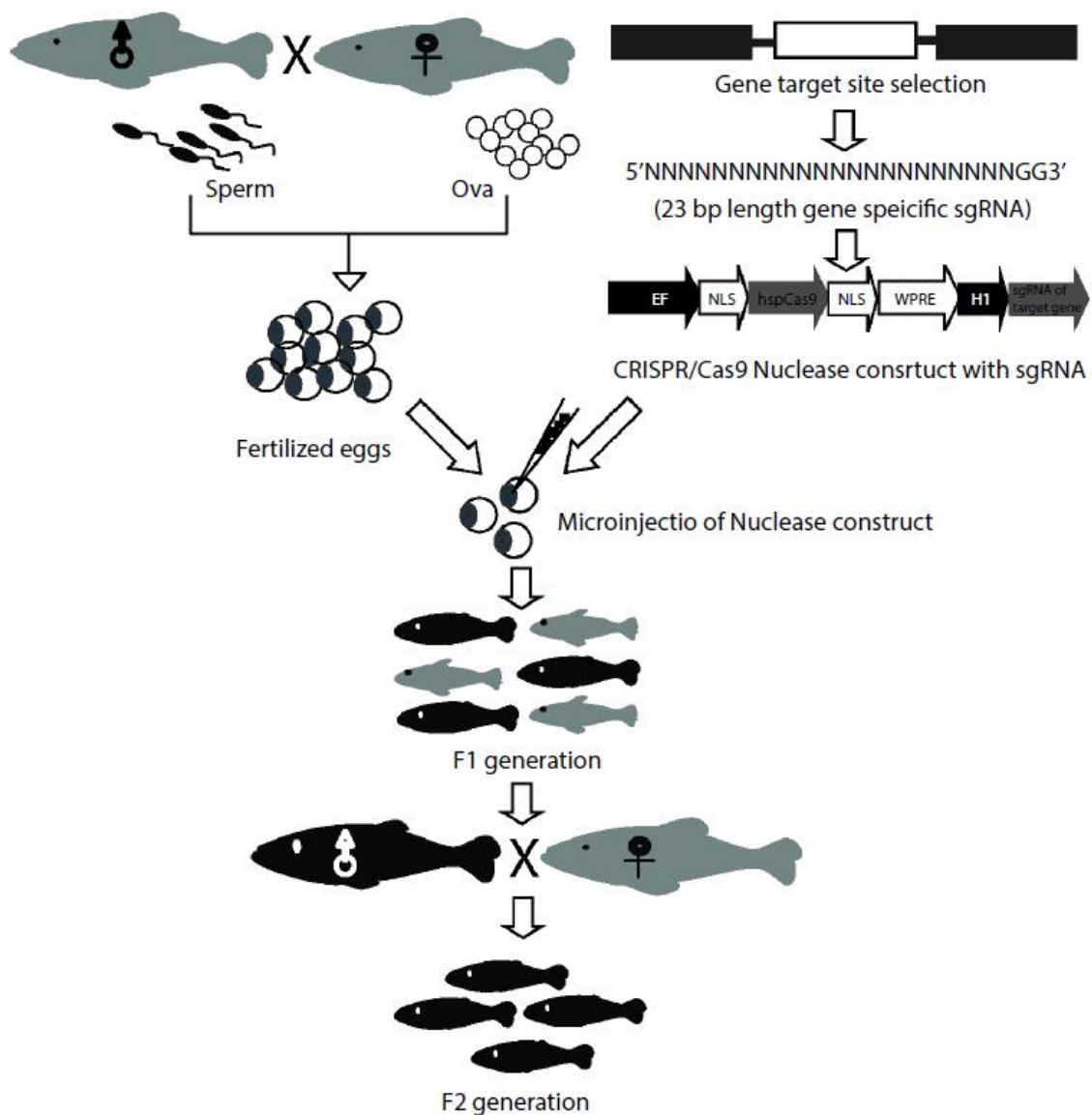
Další metodou je použití embryonálních kmenových buněk (ESC). Tyto buňky jsou nediferencované a zůstávají totipotentní, takže mohou být použity in vitro a následně znovu zavedeny do časných embryí, kde mohou přispívat k zárodečné linii hostitele. Jednou z neúspěšnějších metod přenosu genů je použití pantropních retrovirových vektorů. Ty jsou schopné infikovat širokou škálu hostitelských buněk (Beardmore & Porte, 2003).

Mikroinjekce

Metoda mikroinjekce je běžně používanou metodou při výrobě transgenních ryb. Při této metodě se vkládá cizí sekvence DNA do oplodněných vajíček pomocí skleněných mikropipet nebo injekcí (Obr. 1). Použití mikroinjekce vede k vyšší míře přežití u manipulovaných embryí, než je tomu u elektropolace. DNA vstříkovaná do cytoplazmy oplodněných embryí se může integrovat do rybího genomu a může být zděděna v zárodečné linii (Wakchaure et al., 2015). Studie popisují míru přežití rybních embryí v rozmezí od 35 % do 80 %, což závisí na druhu a odbornosti (Rasal et al., 2016). Metody mikroinjekce a použití pantropních retrovirových vektorů vykazují podobnou účinnost (Beardmore & Porte, 2003). Účinnost mikroinjekce není příliš velká pouze u 1 z každých 100 mikroinjektovaných embryí bude začleněna rekombinantní sekvence DNA do jejího genomu a následně bude předávat transgen na své potomstvo (Wakchaure et al., 2015). Mikroinjekce je vhodnější pro manipulaci s relativně malým počtem organismů, zatímco elektropolace je vhodnější pro masové využití (Beardmore a kol., 2003). Potíže při aplikaci této metody způsobuje tvrdý a neprůhledný chorion, který brání vložení skleněných mikropipet a injekcí jádra oocytů. Tato technika je komplikovaná, pomalá, zdlouhavá, vyžaduje velké množství dovedností a poměrně drahé vybavení (Rasal et al., 2016).

Elektropolace

Při elektropolaci se používá krátký elektrický impuls, který dočasně dokáže v cílové buňce vytvořit porézní plazmatickou membránu tak, že cizí gen může vstoupit do cytoplazmy. Účinnost elektropolace je o 30-100 % větší, než je tomu u mikroinjekce, kde je zapotřebí vysoce kvalifikovaný pracovník se zkušenou rukou. Proto je elektropolace účinná technika vhodná pro masové využití (Tripathi & Gopal, 2015). Je to jednoduchá, na operátorovi nezávislá a rychlá metoda, vylučující obtíže, které doprovázejí mikroinjekci (Rasal et al., 2016).



Obrázek 1 Schéma metody mikroinjekce, vložení cizí DNA do oplodněných vajíček (Rasal, et al., 2016)

2.2.6 Integrační místa

Faktory určující místa integrace zatím nejsou dostatečně pochopeny a je třeba dalšího výzkumu. Zvláště důležité je získat větší přesnost v kontrolovaném místě integrace kvůli nepředvídatelným účinkům nekontrolované integrace na rezidentní geny (Beardmore & Porte, 2003).

2.2.7 Exprese genu

Příjem a integrace transgenu nezaručuje, že se gen bude projevovat v novém genetickém prostředí. Je zřejmé, že pro komerční akvakulturu budou zajímavé pouze ty transgeny, které exprimují cílový gen na dostatečně vysoké úrovni (Beardmore & Porte, 2003).

2.2.8 Dědičnost genu

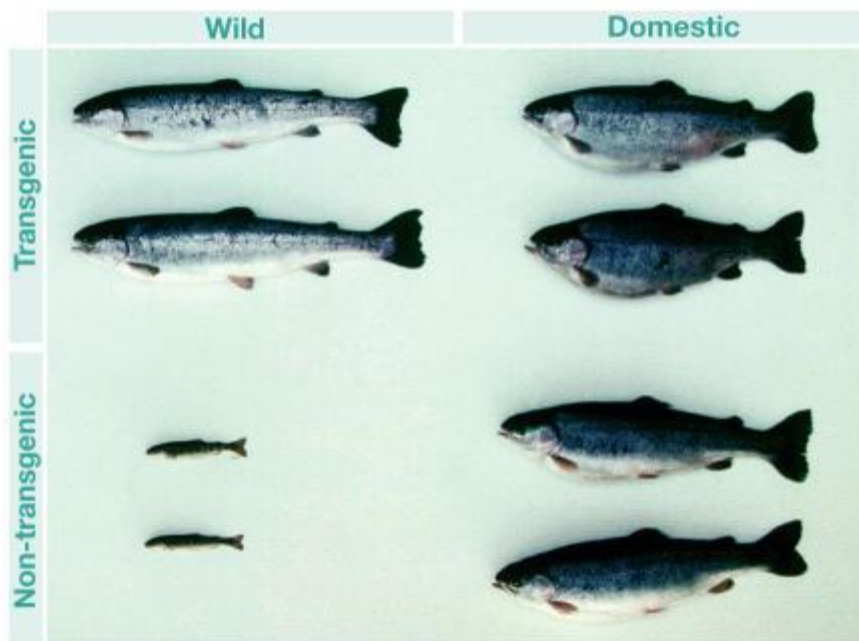
I když ryba exprimuje gen na přijatelné úrovni, nemusí být schopná přenést tento gen na své potomstvo. Pokud nejsou tkáně obsahující transgen zastoupeny v gonádách nemusí ho přenést na své potomstvo (Beardmore & Porte, 2003).

2.3 Přínosy gmo

2.3.1 Ekonomické faktory

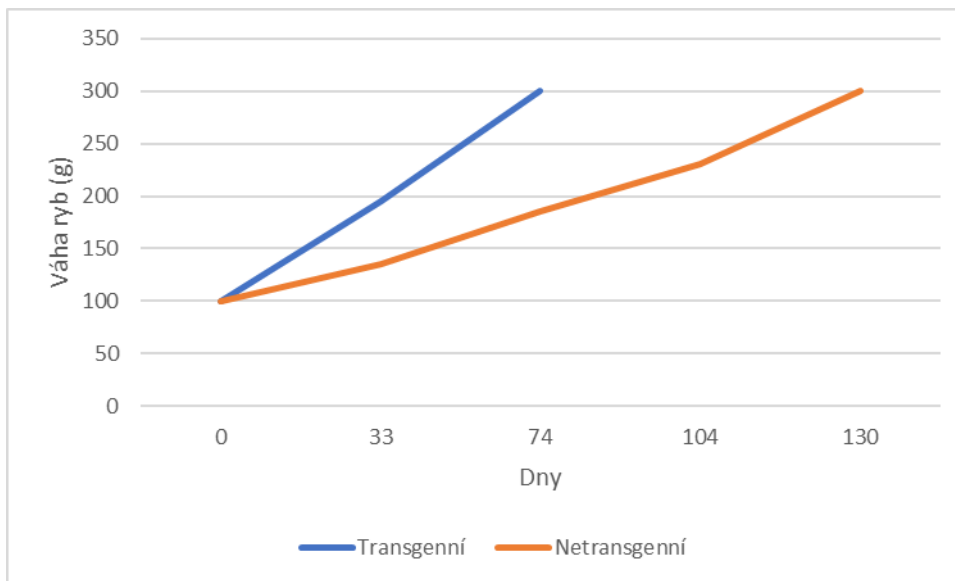
Spotřeba lososa v USA na jednoho obyvatele se v letech 1994 až 2004 zdvojnásobila z 0,5 až 1 kg za rok. Vzhledem ke snížení výrobních nákladů spojených s nižší spotřebou krmiva se dá předpokládat snížení ceny, které povede k lepší přijatelnosti pro spotřebitele (Smith et al., 2010).

Důkazy o skutečném přínosu z hlediska ekonomicky významných znaků pocházejí převážně z práce na růstovém hormonu (GH). Ryby ovlivněné růstovým hormonem vykazují výrazně vyšší míru růstu, než je tomu u ryb, u kterých nebyl růstový hormon použit (v některých případech u sourozenců). Studie ukázaly zvýšení růstu zejména u lososovitých ryb průměrně o 3 až 5 ti násobek, oproti netransgenním rybám, u některých jedinců dosahuje 10 až 30 ti násobek (Obr 2). Ekonomické přínosy, které plynou z použití GMO, jsou zřejmé a transgenika by měla být považována za možnou cestu budoucnosti (Beardmore & Porte, 2003).



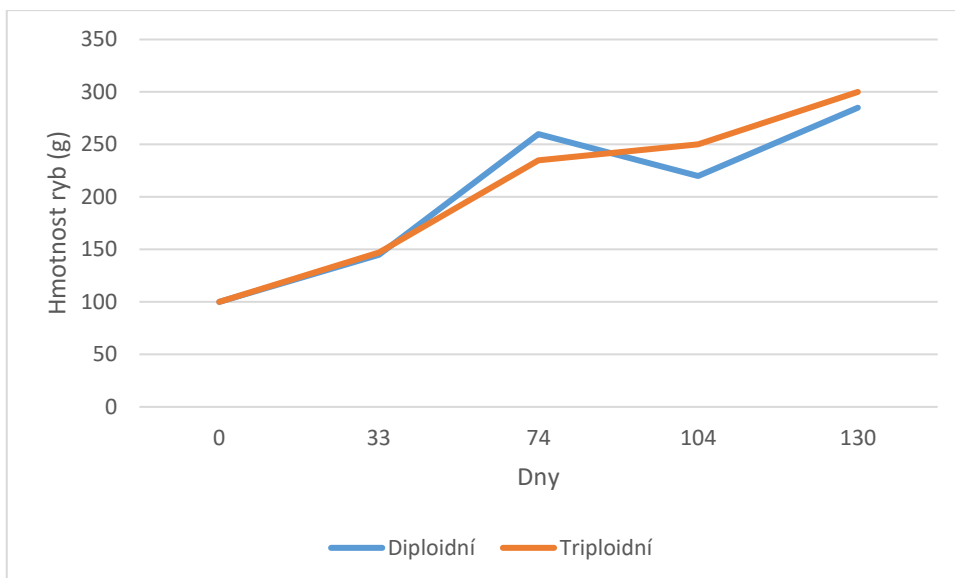
Obrázek 2 Vliv růstového hormonu na pstruha duhového (Muir, 2004)

Tibbetts et al., (2013) provedli pokusy v nichž hodnotili faktory: růstový výkon, konverzi krmiva, stravitelnost živin, poruchy kostry a minerální složení kostí. Všechny ryby byly krmeny do té doby, než ztrojnásobily svou hmotnost. Pro pokus použili 4 modely ryb a to netransgenní-diploidní, netransgenní-triploidní, transgenní-diploidní a transgenní-triploidní. Pro transgenní ryby byl použit růstový hormon (EO-1a). Transgenní ryby konzumovaly výrazně vyšší množství krmiva, ale díky vyššímu růstu, lepší konverzi krmiv a lepší účinnosti retence dusíku, dosáhly cílového přírůstku hmotnosti za výrazně kratší dobu (40 %) než netransgenní (Graf 2).



Graf 2 Růstová křivka transgenního a netransgenního Lososa obecného, který byl krmen tradiční krmnou směsí do hmotnosti 300 g (Tibbetts et al., 2013).

Celkové množství krmiva spotřebovaného k produkci stejné biomasy bylo sníženo o 25 %. U ryb TG/DIP a TG/TRIP byla pozorována stejná účinnost krmiva, stravitelnost a efektivita zadržování živin. Ačkoli obsah kostí v popelu byl u TG mírně nižší než u ryb NTG, nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v klíčové kostní minerální kompozici a výskyt kosterních poruch byl nízký (4 %) bez ohledu na transgenní nebo ploidní účinky. Stejně tak vliv ploidie na růst neměl negativní vliv a rozdíl mezi diploidním a triploidním jedincem byl zanedbatelný (Graf 3), (Tibbetts et al., 2013). Jelikož triploidie činí obě pohlaví reprodukčně sterilní, zejména samice mohou vkládat větší investice do somatického růstu než na podporu sexuální zralosti.



Graf 3 Růstová křivka *Lososa obecného* s ohledem na ploidii, který byl krměn tradiční krmnou směsí do hmotnosti 300 g (Tibbetts et al., 2013).

2.4 Druhy vhodné pro aplikaci gm

Transgenní technika přímou manipulací genů poskytuje rychlou a účinnou metodu genetického zlepšení pro některé druhy ryb. První zpráva o tvorbě transgenních ryb v oblasti akvakultury byla u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), u okrasných pak u karasa zlatého (*Carrasius auratus* Linnaeus, 1758). I když od té doby uplynulo více než 25 let, na světě se produkuje jediná transgenní ryba určená pro lidskou spotřebu. V akvaristice jsou dostupné transgenní ryby jako dánio pruhované (*Danio rerio*), karas zlatý a medaka (*Oryzias latipes* Temminck a Schlegel, 1846) (Rasal et al., 2016).

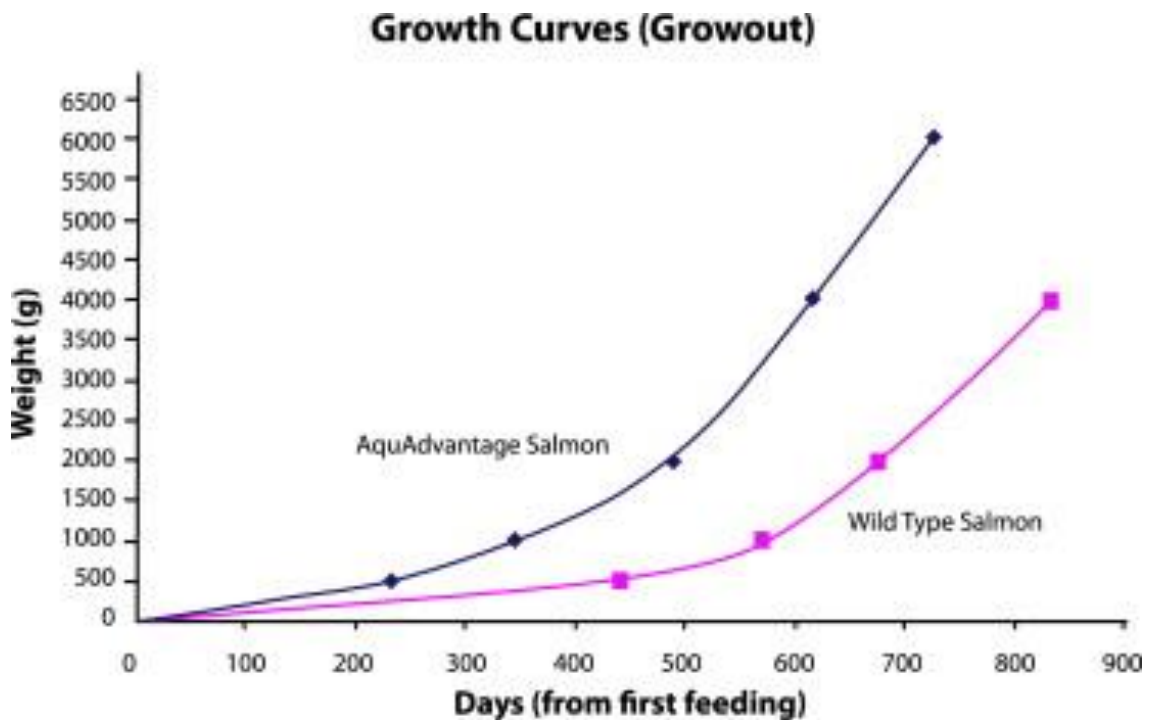
Tabulka 1 Druhy používané pro genetické modifikace (Beardmore & Porte, 2003)

Český název	Anglický název	Latinský název	Počet konstruktů použitých pro generování transgenů
Losos obecný	Atlantic salmon	<i>Salmo salar</i>	6
Losos kisuč	Coho salmon	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	4
Losos čavyča	Chinook salmon	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	3
Tilápie	Tilapia	<i>Oreochromis niloticus</i>	12
Medaka japonská	Medaka	<i>Oryzias latipes</i>	17
Dánio pruhované	Zebra fish	<i>Brachydanio rerio</i>	14
Kapr obecný	Common carp	<i>Cyprinus carpio</i>	14
Sumeček tečkovaný	Channel catfish	<i>Ictalurus punctatus</i>	9
Keříčkovec červenolemý	African catfish	<i>Clarias gariepinus</i>	1
Pstruh duhový	Rainbow trout	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	7
Pstruh žlutohrdlý	Cutthroat trout	<i>Oncorhynchus clarki</i>	1
Karas zlatý	Goldfish	<i>Carrassius auratus</i>	5
Štika obecná	Northern pike	<i>Esox lucius</i>	2
Piskoř dálnovýchodní	Loach	<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	2
Mořan zlatý	Sea bream	<i>Sparus aurata</i>	2
	Red Sea Bream	<i>Pagrus major</i>	1
Cejnovec čínský	Blunt snout bream	<i>Megalobrama amblycephala</i>	1
Candát severoamerický	Walleye	<i>Stizostedion vitreum</i>	1
Artémie	Brine shrimp	<i>Artemia franciscana</i>	1
Laminárie	Seaweed	<i>Laminaria japonica</i>	1
Ježovka purpurová	Sea Urchin	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	1
Ušeň červená	Abalone	<i>Haliotis rufescens</i>	1

2.4.1 Ryby určené pro akvakulturu

Losos obecný (*Salmo salar*)

AquAdvantage losos (obr. 3), jak je nazýván první geneticky modifikovaný losos je produktem firmy Aquabounty a je zkonstruován tak, aby trvale produkoval nízkou hladinu růstového hormonu, čímž dosáhne tržní velikosti přibližně dvakrát rychleji (Graf 4) než konvenčně chovaný losos (Waltz, 2016).



Graf 4: Růstová křivka transgenního lososa produkovaného firmou AquaBounty a divoce žijícího lososa (Lievens et al., 2015)

Genetická modifikace proběhla přidáním genu růstového hormonu z lososa čavyča (*Oncorhynchus tshawytscha*), který byl řízen promotorem a terminátorem AF proteinu z d'asa amerického (*Lophius americanus* Valenciennes, 1837). Tato genetická modifikace byla poprvé představena již v roce 1989 a od té doby čekala na schválení americkými úřady. V roce 2010 společnost Aquabounty předložila všechny analýzy a data týkající se jejich lososa a agentura FDA vydala předběžnou analýzu, v níž bylo potvrzeno, že ryba je ve všech směrech bezpečná.

Jako podmínku pro schválení nařídila FDA omezení produkce jen na dva závody, a to líheň na ostrově prince Edwarda a výkrmnu v Panamě (Waltz, 2016). Ředitel společnosti AquaBounty uvádí, jestliže jejich zařízení pracuje na 100 % jsou schopni vyprodukovat 1200 tun lososa za rok v hodnotě 10 mil. dolarů. Vědci nyní doufají, že i další druhy ryb budou schváleny k produkci (Waltz, 2016).



Obrázek 3 Transgenní losos AquAdvantage v pozadí v porovnání se stejně starým netransgenním lososem. V dospělosti oba dosáhnou stejné hmotnosti (Waltz, 2016).

Kapr obecný (Cyprinus carpio)

Faridah et al., (2016) provedli pokusy ve kterých porovnávali růst, přežití a tělesnou stavbu transgenního kapra obecného s růstovým hormonem pocházejícím z tilápie (*Oreochromis niloticus*) a tradiční formou kapra obecného. Ryby byly chovány v akváriu o objemu 250 litrů po 25 kusech. Byly krmeny komerčním krmivem s obsahem bílkovin 36 %, třikrát denně. Výsledky ukázaly, že transgenní ryby rostly v průměru 1,49krát rychleji ve srovnání s netransgenním kaprem obecným. Transgenní ryby měly vyšší spotřebu krmiva, avšak nižší poměr konverze krmiva. Vykazovaly též lepší přežití, obsah tělesných proteinů a retenci bílkovin. Kultivace transgenního kapra obecného ukázala velký potenciál k dosažení vysoce produktivní a efektivní akvakultury.

Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*)

Chiou et al., (2014) vytvořili transgenního pstruha duhového se zvýšenou odolností proti chorobám. Vytvořili transgenního pstruha duhového, který exprimuje cecropin P1 nebo syntetický analog cecropin B, transgenní metodou přenosu genů zprostředkovanou spermií.

Transgen neslo přibližně 30 % narozených ryb. Expres transgenů byla detekována v transgenních rybách pomocí reverzní transkripce. Zjistilo se, že velikost těl transgenních a netransgenních jedinců se významně nelišila. Výsledky však ukázaly, že většina transgenních ryb vykazuje odolnost vůči infekci *Aeromonas salmonicida* a infekčním hematopoetickým nekrózním virem (IHNV).

Tilápie (*Oreochromis niloticus*)

Transgenní tilápie byla vytvořena použitím konstruktů AF promotoru z d'asa amerického řízeným růstovým hormonem z genu lososa čavyča. Bylo u ní prokázáno dramatické zvýšení růstu, ve kterém průměrná hmotnost 7 měsíčních transgenních ryb je více než trojnásobná než u jejich netransgenních sourozenců (Rahman et al., 1998).

2.4.2 Geneticky modifikované akvarijní ryby

Kromě ryb určených pro lidskou spotřebu byly vyvinuty také transgenní okrasné a akvarijní ryby. Byly generovány stabilní linie transgenních dánií (*Danio rerio*), které exprimují proteiny jako GFP, RFP, YFP a BFP. Dánia a medaky (*Oryzias latipes*) se stali modelovými druhy v mnoha laboratořích, díky jejich vlastnostem jako je vnější oplození, krátká životnost a produkce průsvitných jiker. Geneticky modifikované ryby jsou komerčně využívány. Najdeme je pod názvem "GloFish". Vyznačují se atraktivní fluorescenční barvou v odstínech: zelené, červené, žlutooranžové, fialové, růžové a modré (Obr. 4) (Rasal et al., 2016).

FDA 2003 ve svém prohlášení říká, že vzhledem k tomu, že tropické akvarijní ryby se nepoužívají pro potravinářské účely, nepředstavují pro konzumenty žádné ohrožení. Neexistují žádné důkazy o tom, že geneticky upravené ryby Dánio pruhované představují pro životní prostředí více ohrožení než jejich nemodifikované protějšky, které byly již dlouho prodávány ve Spojených státech. Pokud neexistuje jasné riziko pro veřejné zdraví,

FDA nemá důvod regulovat tyto konkrétní ryby. Dovoz, prodej i držení těchto ryb jsou v Evropské unii zakázány.



Obrázek 4 GLofish <https://www.glofish.com/>

2.4.3 Aplikace transgenních ryb v ekotoxikologii

Transgenní ryby byly aplikovány také v ekotoxikologii, kde mají velký potenciál poskytovat informace pro posouzení vlivů chemických látek na zdraví. Nejčastěji se používá jako transgenní model dánío pruhované, a to z důvodu jejich vysoké plodnosti, průhlednosti embryí a dostupnosti rozsáhlých genetických zdrojů. Nejčastější používanou technikou pro produkci transgenních dáníí je mikroinjekce transgennů do oplodněných vajíček. Tyto ryby byly vyvinuty pro studium účinků toxicity těžkých kovů, oxidativního stresu pro různé organické chemické látky, draslíkových a glukokortikoidních odpovědí a estogenicity (Lee et al., 2015).

2.4.4 Geneticky modifikované mořské řasy

Mezi geneticky modifikované organismy patří také mořské řasy. Mořské řasy jsou mimo jiné zdrojem krmiva pro akvakulturu. Velký význam mají v chemickém a farmaceutickém průmyslu, při výrobě agaru, karotenoidů nebo triglyceridů. Velký potenciál mohou mít jako obnovitelný zdroj na výrobu bioethanolu, který se používá jako biopalivo (Qin et al., 2012). Obtížemi

v genetickém inženýrství jsou nedostatečná znalost genomů nebo rozmanitost genetického prostředí a fyziologické aktivity mezi různými kmeny mořských řas. Genetické transformace byly provedeny u několika druhů červených, zelených a hnědých mořských řas, např. *Laminaria*, *Pyropia yezoensis* nebo *Macrocystis pyrifera*. Pro přenos genů se u mořských řas nejčastěji používají metody elektropolace, mikroinjekce nebo mikroprojektily (Lin & Qin, 2014).

2.4.5 Geneticky modifikovaní měkkýši

Z komerční produkce ušně midasovi (*Haliotis midae* Linnaeus, 1758) v Jižní Africe, pocházejí největší příjmy pro tamní region, což se akvakulturní produkce měkkýšů týká. Vývoz v roce 2011 činil celkem 1036 tun, s příjmy 40 milionů USD. Komerční produkce ušně midasovi se vyznačuje dlouhým životním intervalem. Ušně se dodávají na trh ve věku pěti let. Genetická modifikace ušní by mohla tento interval zkrátit, což by vedlo k efektivnější produkci. Hlavním problémem při produkci geneticky modifikovaných ušní, je jejich možný únik z výrobních systémů a potencionální negativní dopad na přírodní zdroje v okolí. Riziko je o to větší, jelikož podle studie nemá funkce gonád vliv na ploidii a triploidní jedinci se následně mohou rozmnožovat (Fourie, 2014).

2.5 Hrozby, rizikové faktory a ochrana

2.5.1 Hrozby a rizikové faktory

Ryby, jako důležitý zdroj bílkovin pro většinu lidí na planetě, jsou stále primárně získávány z volné přírody s vážnými důsledky. Většina rybářských oblastí je nadměrně přelovena tak, že je významně ohrožena jejich životaschopnost. Spotřeba ryb vzrostla od roku 1990 do roku 1997 o 31 %, avšak produkce ryb pocházejících z mořského rybolovu vzrostla jen o 9 % (Muir, 2004).

Transgenní ryby mohou produkovat nové nebo modifikované proteiny, které by mohly být toxické pro člověka. Při krmení jsou také více aktivní, agresivní a ochotnější se vystavit riziku predace, což je na jednu stranu může ohrozit, na druhou stranu však mohou vytlačovat původní populace (Wakchaure et al., 2015).

První transgenní ryby, které se začali komerčně produkovat, můžeme najít pod značkou GloFish. Mezi ně patří např. dánío pruhované (*Danio rerio*) nebo tetra černá (*Gymnocorymbus ternetzi* Boulenger, 1895), které při osvětlení svítí různými barvami. Nejsou však určeny pro lidskou spotřebu ale pro akvaristiku (Muir, 2004).

Velkým problémem spojovaným s akvakulturou je krmivo. A to zejména u karnivorních druhů jako je losos, pstruh, mořský vlk (*dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) nebo tuňák žlutoploutvý (*Thunnus albacares* Bonnaterre, 1788), jelikož průmyslově vyráběné krmení je tvořeno zejména z ryb, které pocházejí z oceánů (FAO, 2012).

Vědci se domnívají, že geneticky modifikované ryby, které by unikly do volné přírody, mohou narušit jemnou ekologii oceánů a v extrémním případě zapříčinit vyhynutí některých druhů, a to díky transgenům, které by umožnily jejich rozšíření na nová území. To mohou způsobit transgeny, které zvyšují toleranci chladu, tepla nebo salinity. Největší obava panuje v situaci, kdy se uniklá geneticky modifikovaná ryba úspěšně spáří s původními druhy a předá transgeny na divokou populaci. Ve vodním prostředí se dá tato skutečnost mnohem hůře kontrolovat, než je tomu u GM rostlin na souši. I když jsou ryby chovány v bezpečných systémech, riziko úniku je zde poměrně vysoké, a to z důvodu lidské chyby nebo přírodních katastrof. Tato myšlenka však může být nadhodnocená, protože lososi, kteří uniknou mají tendenci hladovět, jelikož jsou zvyklí pravidelně přijímat potravu ve formě pelet a neumí si hledat potravu (Muir, 2004). Je tu však možnost, jak zabránit šíření transgenů do volně žijících populací, a to produkcí sterilních ryb, které se nemohou rozmnožovat, což by vedlo ke snížení tlaku na ohrožené ekosystémy (Beardmore & Porte, 2003).

Muir & Howard, (2002) vyvinuli takovou metodu, nazývanou metodika net-fitness, na základě standardních metod hodnocení rizik a biologického modelování. Tato metoda umožňuje pochopit vztahy mezi jednotlivými rizikovými faktory. Riziko vyplývá z řetězce událostí-útek následovaný šířením, následovaný poškozením. Analogie řetězce naznačuje, že je jen tak silný jako jeho nejslabší vazba. Proto nemusíme vyčíslit všechna rizika, pokud pravděpodobnost některého spojení bude téměř nulová. Nejslabší vazba proto definuje horní hranici rizika.

$$\text{risk} = P(\text{Harm/Exposure}) \times P(\text{Escape}) \times P(\text{Transgene spread/Escape}).$$

Riziko vyjadřuje pravděpodobnost expozice (tj. zda se transgen rozšíří) a poškození, pokud se transgen rozšíří, $P(\text{Harm / Exposure})$. Pravděpodobnost expozice je opět produktem alespoň dvou částí, jedna podmíněná druhou. První je pravděpodobnost, že organismus unikne do volné přírody, rozptýlí se a stane se divokým, $P(\text{Escape})$. Druhým faktorem je schopnost samotného transgenu šířit se v divoké populaci, $P(\text{Transgene spread/Escape})$, (Muir & Howard, 2002).

Produkce transgenních ryb vyvolává mnoho obav ohledně ekologického dopadu v případě úniku do volné přírody. Tyto obavy vznikají především z výzkumu laboratorně chovaných zvířat a teoretických modelování. Sundström et al., (2007) v jejich studii vytvořili uměle vybudovaný průtočný systém, který měl co nejlépe napodobit přirozené prostředí, kde se ryby vyskytují a konvenční systém, ve kterém se ryby chovají za účelem výkrmu. Myšlenkou pokusu bylo ukázat, že rozdíly ve fenotypu mezi transgenními a divokými genotypy závisí na podmínkách chovu. Do obou typů chovných systémů byla vložena divoká forma lososa kisuč (*Oncorhynchus kisutch*) odchycená z přírody a losos kisuč s růstovým hormonem. Při chovu ve standartních podmínkách líhně rostly transgenní ryby třikrát rychleji a měli silnější predační efekt na kořist než, divoké genotypy. Naproti tomu transgenní ryby chované v průtočném, uměle vytvořeném systému rostly jen o 20 % rychleji a predační efekt byl mnohem menší. Tyto údaje ukazují, že interakce genotypu podle prostředí mohou ovlivnit relativní fenotyp transgenních a divokých organismů a že extrapolace ekologických důsledků z fenotypů vzniklých v nepřirozeném laboratorním prostředí může vést k nadhodnocení nebo podcenění ekologického rizika (Sundström et al., 2007).

Kritici akvakultury také poukázali na použití rybí moučky a rybího oleje, jako krmiva, které pochází z volně žijících ryb (Béné et al., 2015). Při produkci transgenních lososů, kteří spotřebují přibližně o 25 % méně krmiva než tradičně chovaný losos, by se mohlo snížit zatížení, volně žijících populací.

2.5.2 Vliv gmo na lidské zdraví

Bezpečnost

Užívání geneticky modifikovaných potravin znepokojuje spotřebitele na celém světě. Požadují ujištění, že geneticky modifikované produkty byly před tím, než se dostaly na trh dostatečně testovány a je zajištěna jejich bezpečnost. Jeden přístup, který se používá při posuzování rizik geneticky modifikovaných organismů vychází z toho, že cílem posouzení není stanovit absolutní nebezpečnost, ale zvážit, zda geneticky modifikovaná potravina je stejně bezpečná jako její tradiční pojetí. Faktory, které se berou v úvahu při porovnávání geneticky modifikované potravy s konvenčním protějškem jsou: totožnost, zdroj, složení, vliv na zpracování, vaření, transformační proces, samotná DNA, produkty exprese proteinu zavedeného do DNA, vliv na funkci, potencionální toxicita, potencionální alergenita a možné vedlejší účinky. Pokud je potravina pocházející z geneticky modifikovaných organismů považována za v podstatě ekvivalentní jejímu konvenčnímu protějšku, je považována za stejně bezpečnou jako protějšek. Pokud tomu tak není, jsou prováděny další testy (FAO, 2001)

Z 10 nejčastěji konzumovaných ryb v USA má losos nejvyšší hladinu omega-3 mastných kyselin, které mohou snižovat pravděpodobnost ischemické choroby srdeční. U dospělých Američanů, kteří v současnosti nejedí nekonzumují téměř žádné rybí maso, konzumace jedné porce lososa týdně může snížit riziko koronárních srdečních onemocnění až o 36 %. Omega-3 mastné kyseliny jsou také důležité pro rozvoj mozku plodu (Smith et al., 2010).

Je pravděpodobné, jestliže se rozšíří trh s lososem a jeho cena bude díky nižším vstupům klesat, více spotřebitelů bude konzumovat rybí maso na úkor ostatních živočišných bílkovin. To může zlepšit zdraví spotřebitelů. Geneticky modifikovaný losos by také mohl být přijatelný pro domácnosti s nízkými příjmy, které mají problémy s potravinami s nízkou nutriční hodnotou (Smith et al., 2010).

Jedno z rizik spojených s konzumací transgenních ryb je možnost, že budou produkovat bílkoviny, které nejsou přirozené v ostatní populaci. Jejich spotřeba může způsobit alergie, které mohou být v nejhorším případě smrtelné, nebo mohou aktivovat virové sekvence. Riziko vyplývá z příkladu sóji. Při genetické modifikaci s pomocí transgenu z ořechů se u sóji zvýšil obsah bílkovin. Takto upravená sója působila na některé uživatele jako alergen. Při experimentech s transgenními rybami jako je tilápie nebo losos, které obsahovali růstový hormon a rostli rychleji, však nebyly nalezeny změny v modifikacích bílkovin. Nejjistější ochranou je tepelné opracování, při kterém bílkoviny denaturují a nejsou pak nebezpečné. Nakonec byli jak losos, tak tilápie prohlášeni jako nepředstavující hrozbu pro lidské zdraví (Tripathi & Gopal, 2015).

2.5.3 Vliv gmo na ekosystémy

Velké množství farmově chovaných ryb uniká každý rok do volné přírody. Ryby, které uniknou z akvakulturních chovů, však mohou stejně jako geneticky modifikované ryby způsobovat vážné škody. V roce 1996 v Chile uniklo do Atlantiku 150000 lososů, ve Skotsku 100000 lososů a v Norsku bylo 15-20 % ulovených ryb na volném moři původem z akvakultury (Beardmore & Porte, 2003). V případě geneticky modifikovaných ryb je nebezpečí v možnosti kontaminovat domorodé populace. Je to nevyhnutelný jev, v němž uniká transgenní ryba z akvakultury nebo výzkumných zařízení. Transgenní ryby mají na životní prostředí větší vliv než netransgenní ryby chované v akvakultuře. Rychle rostoucí geneticky modifikované ryby mohou přinést zásadní změnu komerčního chovu ryb. Důležité pro životní prostředí může být fakt, že rychlejší růst a nižší konverze krmiva, může pomoci zmírnit nadměrné využívání divokých populací. Ať už přímo jako cílové ryby jako například losos, nebo jako krmivo, které pochází z ryb lovených ve volných vodách, které tvoří hlavní složku potravy farmově chovaných ryb (Sundström et al., 2015).

2.5.4 Způsoby zamezení šíření transgenních ryb

K tomu, aby se hrozby spojené s geneticky modifikovanými organismy nestaly skutečností, je zapotřebí učinit určitá opatření. Mezi nimi může být například produkce polyploidních jedinců nebo chov ryb v prostředí odkud se nemohou dostat do volné přírody. Pokud by se geneticky modifikované ryby chovali v klecových systémech jako je tomu nyní, hrozby spojené s jejich

produkcí by mohli být oprávněné. V rámci vědeckého projektu Jackson et al., (2015) zjistili, že během tříletého sledování uniklo v Evropě z klecových chovů 8,922,863 ryb. Jelikož metoda triploidie nemá vždy 100 % účinek, určité množství ryb uniklých z klecových chovů by mohlo být reprodukce schopné.

Většina obav okolo geneticky modifikovaných ryb je založena na myšlence, že by ryby mohly uniknout a způsobit škody na divoké populaci. Společnost AquaBounty, která jako jediná v současné době může produkovat transgenní lososy však dokazuje, že při dodržení určitých podmínek je pravděpodobnost úniku, následného přežití a schopnost reprodukce je velmi malá nebo dokonce vůbec žádná (Waltz, 2016).

V zařízeních na chov ryb společnosti AquaBounty (Obr. 5) existují přinejmenším čtyři mechanické bariéry, které zamezí úniku a přežití ryb. Další bariérou je geografická poloha. Řeky v okolí výrobních míst nabízejí pro lososy suboptimální habitat. Na řekách v Panamě jsou vodní elektrárny v kombinaci se smrtelně vysokou teplotu vody. Dalším opatřením je produkce pouze samic s využitím gametogeneze a tlakového šoku, který způsobí triploidii. Podle nařízení FDA musí být úspěšnost triploidie přes 95 %. Dosavadní výsledky vykazují v průměru 99,8 triploidních jedinců (Waltz, 2016).



Obrázek 5: Zařízení rybí líhně AquaBounty v Kanadě (Waltz, 2016)

Fyzikální omezení

Dá se nazvat jako první linie obrany před únikem transgenních organismů do volné přírody. V minulosti se již mnohokrát ukázalo, že mořské klece pro chov ryb nejsou dostatečnou ochranou před únikem ryb do oceánů. Jsou snadno poškoditelné při bouřích, průmyslových haváriích, vlivem opotřebení a dravců a ryby z nich snadno unikají. Podle odhadů v Britské Kolumbii unikají ročně až 2 % lososů chovaných právě v klecových systémech. Řešením mohou být chovy v ryb uzavřeném prostředí, daleko od míst, kde by mohly způsobovat nějaké škody. Jako nejlepší řešení se jeví recirkulační systémy. I zde se však nedá na sto procent zajistit ochrana před přírodními vlivy jako jsou hurikány nebo povodně, které by mohly způsobit únik ryb (Wong et al., 2008).

Fyzikálně-chemické omezení

Slouží k vyvolání 100 % mortality v určitém životním stádiu, díky změnám ve vodním prostředí. Patří mezi ně změny teploty, změna pH, nebo úprava vody chemikáliemi jako chlor, brom nebo ozon, které slouží k zabití uniklých transgenních jedinců. Odpadní voda obvykle prochází přes komoru, která poskytuje smrtelnou podmínku po danou dobu kontaktu a poté, než je odpadní voda vypouštěna do životního prostředí, je obnovena její kvalita. Nicméně fyzikálně-chemické omezení jde praktikovat jen v uzavřených podmínkách. Při chovu v klecích se používat nedá (Wong et al., 2008).

Reprodukční omezení

Nejlepší ochranou by podle všeho bylo produkovat zcela sterilní jedince. Jako nejefektivnější metoda k omezení reprodukce se jeví triploidie. Fyzická indukce triploidie zahrnuje přesné použití hydrostatického tlaku, teploty, elektrického šoku nebo chemické úpravy ve specifickém čase po oplodnění vajíčka. Aplikace elektrického šoku nebo chemického ošetření inhibuje polymeraci mikrotubulů, která přerušuje tvorbu dělicího vřeténka a brání vytlačování polárního tělíška (1n) během druhého meiotického dělení. Zachování druhého polárního tělíška vede k embryu, které obsahuje dvě sady haploidních chromozomů od samice a třetí sadu haploidních chromozomů od samce ($2n$ vajíčko + $1n$ spermie = $3n$ embryo). Nejčastěji používaná je tlaková metoda, i když tepelná metoda je méně náročná na vybavení, tlaková metoda je snadněji aplikovatelná. Použití chemických látek se ve větším měřítku nevyužívá, a

to zejména kvůli výsledkům s různým úspěchem, jelikož ne vždy je všech 100 % jedinců triploidních. Míra úspěšnosti triploidie se značně liší podle druhu, způsobu léčby a kvality vajíček. Ve většině případů zůstává malé procento embryí diploidní. U některých triploidních jedinců mohou zůstat gonády diploidní, což může ohrozit sterilitu (Wong et al., 2008).

2.6 Legislativa

Prodej a používání geneticky modifikovaných organismů v České republice je dán zákonem 78/2004 sbírky, o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty. Tento zákon zpracovává příslušné předpisy Evropské unie, zároveň navazuje na přímo použitelné předpisy Evropské unie a upravuje práva a povinnosti osob a působnost správních orgánů při nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty (Česko. zákon č. 78 ze dne 25. února 2004 o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty).

2.6.1 Povolení

Podle § 4 lze nakládat s genetickými organismy a genetickými produkty, jen na základě oprávnění podle tohoto zákona. Povolení o nakládání s geneticky modifikovanými organismy se uděluje na základě žádosti, kterou žadatel podává na ministerstvu. Žadatel je povinen doložit ministerstvu hodnocení rizika, které zpracovává odborný poradce. Odborným poradcem podle tohoto zákona může být určena pouze bezúhonná a odborně způsobilá fyzická osoba (Česko. zákon č. 78 ze dne 25. února 2004 o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty).

2.6.2 Hodnocení rizika

Hodnocení rizika je písemný rozbor vycházející z porovnání nakládání s modifikovanými organismy a nemodifikovanými organismy za obdobných podmínek a posouzení možných přímých i nepřímých, bezprostředních i následných škodlivých účinků tohoto nakládání zejména na působení na zdraví lidí, působení na zvířata a rostliny, usídlení a rozšíření geneticky modifikovaných organismů v životním prostředí nebo přenos vloženého genetického materiálu na jiné organismy (Česko. zákon č. 78 ze dne 25. února 2004 o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty).

2.6.3 Havarijní plán

Je dokument, v němž jsou popsány činnosti a opatření prováděné při vzniku havárie, které vedou k zmírnění nebo odstranění jejich následků pro zdraví a životní prostředí za použití všech dostupných opatření. Havarijní plán přikládá žadatel k žádosti o udělení povolení na ministerstvo (Česko. zákon č. 78 ze dne 25. února 2004 o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty).

2.6.4 Označování

Ve Spojených státech zákon vyžaduje, aby informace o potravinách byly jasné a jednoznačné. Štítky jsou určeny k poskytnutí smysluplných informací a varování a jako instruktáž spotřebitele. Další zavádějící nebo nepotřebné informace jsou v rozporu s osobními právy spotřebitelů na to, aby si mohli rozumně vybrat. Jestliže se GMO neliší od svých tradičních protějšků, pokud jde o výživu, složení nebo bezpečnost, označování se považuje za zbytečné až zavádějící (FAO, 2001).

V Evropské unii je označování bráno jako způsob, jak zajistit právo spotřebitelů znát jakoukoli skutečnost, kterou považují za důležitou. Je to způsob, jak dát spotřebitelům možnost volby a informovat je o GMO. Přístup Evropské unie k označování se pokouší dosáhnout kompromisu mezi průmyslovým, vědeckým a veřejným sektorem. V Evropské unii není otázkou, zda označit produkty biotechnologie, ale jak je označit (FAO, 2001).

Podle 78/2004 sbírky §11 je osoba, která v rámci své podnikatelské činnosti uvádí geneticky modifikovaný organismus nebo genetický produkt na trh, je povinna zajistit, aby na štítku nebo v původním dokumentu produktu byla uvedena slova “ Tento produkt obsahuje geneticky modifikované organismy“. Dále musí obsahovat obchodní název modifikovaného produktu, název geneticky modifikovaného organismu, jméno a adresu sídla osoby usazené na území některého z členských států, která je zodpovědná za uvedení na trh a údaj o tom kde je možné získat další veřejné informace o tomto genetickém produktu (Česko. zákon č. 78 ze dne 25. února 2004 o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty).

Registr povolených geneticky modifikovaných organismů a registr uživatelů

Ministerstvo vede registr organismů a uživatelů, pro které bylo uděleno povolení (Česko. zákon č. 78 ze dne 25. února 2004 o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty).

2.7 Perspektiva gmo

Produkce transgenních ryb určených pro lidskou spotřebu v USA a Kanadě pomalu začíná. Společnost Aquabounty rozšiřuje svou výrobu na ostrově prince Edwarda. Jejich geneticky modifikovaný „AquAdvantages“ losos byl v říjnu roku 2015 schválen pro komerční prodej v USA je to první geneticky modifikované zvíře určené pro lidskou spotřebu. Byl to velký krok pro genetiky zabývající se živočišnou produkcí, protože doufají, že se tím otevřely dveře i pro další geneticky modifikovaná zvířata (Waltz, 2016). Bude zajímavé sledovat, zdali i ostatní společnosti dostanou od FDA povolení produkovat transgenní ryby a za jakých podmínek.

Zahájení produkce geneticky modifikovaných ryb dlouho zdržovaly úřady. A to hlavně kvůli regulačním otázkám. Po předložení analýz ohledně vlivu na lidské zdraví, vlivu na ekosystémy nebo bezpečnosti zařízení pro chov ryb povolila FDA společnosti Aquabounty zahájit produkci a následný prodej. Schvalovací proces trval přibližně 25 let. Je otázkou, zdali i další potencionální producenti transgenních ryb nejen v USA, ale i jinde ve světě budou muset

podstoupit tak zdlouhavý proces nebo se bude postupovat podle jiné metodiky, protože i další geneticky modifikované ryby čekají na schválení pro jejich využití.

Američtí a evropští vědci vyvinuli geneticky modifikovaného lososa obecného vložením genu růstového hormonu z lososa čavyča. Význam genetické modifikace je zrychlení růstu a lepší konverze krmiva. V Kanadě je ve výzkumu pstruh duhový s růstovým hormonem z Lososa nerka. Kubánský výzkum má také své zastoupení, a to geneticky modifikovanou tilápii. Předpokládané využití je lidská spotřeba. V Číně se pokoušejí zlepšit odolnost kaprů vůči chorobám vložením lidského interferonu (Tripathi & Gopal, 2015).

V případě okrasných a akvariálních ryb je možné použít transgenní techniky pro vývoj ryb v nových barevných kombinacích nebo tvarech. Z prodeje „Glofish“ plynou velké ekonomické zisky. Jedna fluoreskující transgenní tetra černá (*Gymnocorymbus ternetzi*) stojí přibližně 9 amerických dolarů, zatímco netransgenní tetra černá stojí 1 americký dolar. Perspektiva u akvariálních ryb spočívají hlavně v rozšiřování druhové nabídky fluorescenčních ryb a produkci pro ekotoxikologické výzkumy.

2.8 Závěr

Vzhledem k celosvětové rostoucí poptávce po potravinách a rozvoji akvakultury mohou být transgenní ryby vhodným krokem pro zvýšení produkce ryb a zajištění potravinové bezpečnosti. Je však nutné vyřešit všechny hrozby a rizika, které jsou s chovem transgenních ryb spojená. Bylo by vhodné vyvinout nové metody, popřípadě vylepšit aktuálně používané jako je mikroinjekce nebo elektropolace, které by zajistili 100 % sterilitu všech chovaných ryb. Tím by se vyloučila rizika spojená s kontaminací přirozených populací v přírodě. V případě, že by se nové metody tvorby sterilních jedinců nepodařilo vyvinout, bude zapotřebí zacházet s transgenními rybami opatrně. Je třeba dbát na poučení plynoucí z klecových chovů ryb, kdy každoročně unikají miliony lososů do oceánů. Ti poté konkurují původním populacím a přenášejí choroby. Je třeba chovat transgenní ryby na místech, kde nemohou uniknout a způsobovat škody. Řešením může být chov ryb v recirkulačních zařízeních s různými typy

ochrany proti úniku. Je pravděpodobné, že díky snížení nákladů na produkci transgenních lososů a rozšíření trhu s rybím masem bude jeho cena klesat. Tím by se mohl stát přijatelnější pro rodiny s nižšími příjmy a díky jeho vlastnostem zlepšit jejich zdraví. Produkce transgenních ryb může být použita také pro okrasné a akvarijní ryby. Z nich mají největší význam transgenní ryby používané v ekotoxikologii, jako bioindikátor pro posouzení vlivu chemických látek na lidské zdraví. Produkce geneticky modifikovaných mořských řas na výrobu biopaliva, je kvůli ubývajícím fosilním palivům vhodnou cestou do budoucna.

2.9 Seznam použitých zkratk

IHNV- infekční hematopoetický nekrozní virus

GH- růstový hormon

AFP- anti-freeze protein

AFGP- anti-freeze glykoprotein

PCR- polymerázová řetězová reakce

ECS- embryonální kmenové buňky

TG- transgenní

NTG- netransgenní

DIP- diploidní

TRIP- triploidní

GMO- geneticky modifikované organismy

GFP- zelený fluorescenční protein

RFP- červený fluorescenční protein

YFB- žlutý fluorescenční protein

BFP- modrý fluorescenční protein

GM- genetická modifikace

FDA- US Food and drug administration

FAO- Food and agriculture organization of United Nations

2.10 Seznam použité literatury

Alberts, B., Johnson, A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., (2002) Isolating, cloning, and sequencing DNA. Molecular Biology of the Cell 4. ISBN-10: 0-8153-3218-1 Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26837/>

Beardmore, J. A., Porte, J. S. (2003). Genetically modified organisms and aquaculture. [online] Food and Agriculture Organization of the United Nations, ISSN 0429-9329 Dostupné z: <http://www.fao.org/docrep/006/Y4955E/Y4955E00.HTM>

Béné, C., Barange, M., Subasinghe, R., (2015). Feeding 9 billion by 2050—Putting fish back on the menu. Food Security, 7 (2). 261-274

Chiou, P., Chen, M., Lin, Ch., Khoo, J., Larson, J., Holt, R., Leong, J., Thorgarrd, G., Chen, T., (2014). Production of homozygous transgenic rainbow trout with enhanced disease resistance. Marine biotechnology, 16 (3). 299-308

Cohen, J. E., (2003). Human population: the next half century. Science, 302 (5648). 1172-1175

Faridah, N., Yoshizaki, G., Nuryati, S., & Setiawati, M. (2016). Growth, Survival, and Body Composition of Transgenic Common Carp *Cyprinus carpio* 3rd Generation Expressing Tilapia Growth Hormone cDNA. HAYATI Journal of Biosciences, 23 (3), 150-154.

Fourie, Lize. The evaluation of biological, mechanical and chemical methods to contain South African abalone species (*Haliotis midae*). (2014) [cit. 2018-5-02]. Dostupné z: <http://scholar.sun.ac.za/handle/10019.1/86530>

Jackson, D., Drumm, A., McEvoy, S., Jensen, Ø., Mendiola, D., Gabiña, G., & Black, K. D. (2015). A pan-European valuation of the extent, causes and cost of escape events from sea cage fish farming. Aquaculture, 436, 21-26.

Lee, O., Green, J. M., & Tyler, C. R. (2015). Transgenic fish systems and their application in ecotoxicology. *Critical reviews in toxicology*, 45 (2), 124-141.

Lievens, A., Petrillo, M., Querci, M., & Patak, A. (2015). Genetically modified animals: Options and issues for traceability and enforcement. *Trends in Food Science & Technology*, 44 (2), 159-176.

Lin, H., & Qin, S. (2014). Tipping points in seaweed genetic engineering: scaling up opportunities in the next decade. *Marine drugs*, 12(5), 3025-3045.

Liu, Chengyu. (2013) "Strategies for designing transgenic DNA constructs." *Lipoproteins and Cardiovascular Disease*. Humana Press, Totowa, 183-201.

Muir, W. M. (2004). The threats and benefits of GM fish: A generally accepted model for assessing the environmental risk of GM organisms would not only help regulators but also address fears about this technology. *EMBO reports*, 5 (7), 654-659.

Qin, S., Lin, H., & Jiang, P., (2012) *Advances in genetic engineering of marine algae*. *Biotechnology advances* 30 (6), 1602-1613

Rahman, M. A., Mak, R., Ayad, H., Smith, A., & Maclean, N., (1998) Expression of a novel piscine growth hormone gene results in growth enhancement in transgenic tilapia (*Oreochromis Niloticus*). *Transgenic research*,. 7(5), 357-370

Rasal, K. D., Chakrapani, V., Patra, S. K., Ninawe, A. S., Sundaray, J. K., Jayasankar, P., & Barman, H. K. (2016). Status of transgenic fish production with emphasis on development of food fishes and novel color varieties of ornamental fish: implication and future perspectives. *Journal of FisheriesSciences. com*, 10 (3), 52.

Smith, M. D., Asche, F., Guttormsen, A. G., & Wiener, J. B. (2010). Genetically modified salmon and full impact assessment. *Science*, 330 (6007), 1052-1053.

Sundström, L. F., & Devlin, R. H. (2015). Ecological implications of genetically modified fishes in freshwater fisheries, with a focus on salmonids. *Freshwater Fisheries Ecology*, 594-615.

Sundström, L. F., Löhmus, M., Tymchuk, W. E., & Devlin, R. H. (2007). Gene–environment interactions influence ecological consequences of transgenic animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104 (10), 3889-3894.

Tibbetts, S. M., Wall, C. L., Barbosa-Solomieu, V., Bryenton, M. D., Plouffe, D. A., Buchanan, J. T., & Lall, S. P. (2013). Effects of combined ‘all-fish’ growth hormone transgenics and triploidy on growth and nutrient utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a practical grower diet of known composition. *Aquaculture*, 406, 141-152.

Tripathi, S., & Gopal, K. (2015). Impact of Transgenic Fishes on Aquatic Ecosystem and Biodiversity of Freshwater Teleost. *Journal of Ecophysiology and Occupational Health*, 15(3/4), 133.

Wakchaure, R., Ganguly, S., Qadri, K., Praveen, P. K., & Mahajan, T. (2015). Importance of transgenic fish to global aquaculture: a review. *Fish Aquac J*, 6, 124.

WALTZ, E. GM salmon declared fit for dinner plates. [online] *Nature Biotechnology* 2016. 34 (7–9) [cit. 2018-5-02]. Dostupné z: <http://www.emilywaltz.com/Salmon - January 2016.pdf>

Wong, A. C., & Van Eenennaam, A. L. (2008). Transgenic approaches for the reproductive containment of genetically engineered fish. *Aquaculture*, 275(1-4), 1-12.

The state of world fisheries and aquaculture 2012. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012. ISBN 9789251072257, 24-174 [online] [cit. 2018-5-02]. Dostupné z: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>

Sbírka zákonů České republiky č. 78/2004, o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty [online] [cit. 2018-5-02]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/aktualni-temata/gm-potraviny-a-krmiva->

[1/legislativa-gmo/legislativa-cr/ obsah cz mze ministerstvo-zemedelstvi legislativa Legislativa-ostatni uplna-zneni zakon-2004-78-GMO.html](#)

FAO. Genetically modified organisms, consumers, food safety and the environment. Rome: FAO, 2001. ISBN 9251045607, 14-19, [online] [cit. 2018-5-02]. Dostupné z: <http://www.fao.org/docrep/003/x9602e/x9602e06.htm>

FDA Statement Regarding glofish (2003) Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20100305141709/http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/GeneticEngineering/GeneticallyEngineeredAnimals/ucm161437.htm>