

ZOO Dvůr Králové a.s.



# VÝROČNÍ ZPRÁVA

## 2022



# In situ a další ochranné projekty Safari Parku Dvůr Králové



Samice nosorožce bílého severního odpočívají na pláních keňské rezervace Ol Pejeta. V popředí je samice Fatu, září 2022. (js)

## Záchrana nosorožců tuponosých severních

Jan Stejskal

### Základní informace o projektu:

V době přípravy této výroční zprávy byli na světě známi už jen dva nosorožci tuponosí severní (jinak též bílí nebo širokohubí, *Ceratotherium simum cottoni*). Obě zbývající samice, Nájín a Fatu, žijí v rezervaci Ol Pejeta v Keni, kam byli v roce 2009 převezeni ze Safari Parku Dvůr Králové. Dvorská zoo je jedinou zoo na světě, kde se tato vzácná zvířata podařilo rozmnožit, jejich reprodukce však probíhala příliš pomalu. V naději, že jim to v přirozenějších podmínkách půjde lépe, byli dva samci a dvě samice v roce 2009 vráceni do Afriky. V říjnu 2014 však jeden ze samců uhynul a při vyšetření v listopadu 2014 se ukázalo, že žádné ze zvířat už není schopné přirozené reprodukce. Safari Park Dvůr Králové se proto se svými partnery spolupodílí na vývoji metod, díky nimž by tito nosorožci mohli být rozmnoženi uměle. Do snah o jejich záchranu tak byla zahrnuta nejen poslední zvířata v Africe, ale i genetický materiál uchovaný z jedinců, kteří už uhynuli. K záchraně nosorožců tuponosých severních je potřeba vytvořit jejich embryo v umělých podmínkách, přičemž donosit by ho mohla jako náhradní matka samice nosorožce tuponosého jižního. Pro vytváření embryí je potřeba získávat vajíčka, a

to buď z posledních severních samic žijících v OI Pejetě, anebo jejich vytvořením z kmenových buněk. Vytvořit embrya z vajíček posledních samic v OI Pejetě se poprvé podařilo v roce 2019. Získání reprodukčních buněk z buněk kmenových se vědcům zatím podařilo u myši, už ne ale u jiných savců. Výzkum zaměřený na vytvoření reprodukčních buněk nosorožců z jejich kmenových buněk se tak pohybuje na samé hranici současného vědeckého poznání.

### **Vývoj projektu v roce 2022:**

Po úspěšných odběrech vajíček od samic přímo v Keni v letech 2019, 2020 a 2021, z nichž ten poslední se odehrál v říjnu 2021, pokračoval mezinárodní tým vědců a ochranářů ve své práci i od začátku roku 2022.

Hned v lednu 2022 proběhl v OI Pejetě osmý úspěšný odběr oocytů od samice Fatu. Stejně jako v předchozích případech za ním stál tým vědců a ochránců přírody ze Safari Parku Dvůr Králové, Leibnizova institutu pro výzkum zoo a divokých zvířat (Leibniz-IZW), Kenya Wildlife Service, Wildlife Research and Training Institute a OI Pejety. Po odběru byly oocyty letecky přepraveny do laboratoře Avantea v Cremoně v Itálii, kde došlo k jejich dozrání, oplodnění, vytvoření embryí a následné kryoprezervaci. S použitím spermatu severního bílého nosorožce Angalifu se následně podařilo vytvořit jedno embryo, což jejich celkový počet zvýšilo na 14.



Uspávání samice nosorožce bílého jižního Ariemet před kontrolou březosti, rezervace OI Pejeta, červenec 2022. (jz)

V březnu 2022 pak byl v časopise Scientific Reports publikován článek, jenž popsal vytvoření tzv. indukovaných pluripotentních kmenových buněk (iPSC) ze samice Nabiré, tedy z poslední samice nosorožce bílého severního v Evropě. Tento důležitý krok k vytvoření umělých oocytů z kmenových buněk se podařil kolegům z Centra Maxe Delbrücka pro molekulární medicínu (MDC) v Berlíně ve spolupráci s partnery z Helmholtzova institutu v Mnichově a Ósacké univerzity v Japonsku.

Devátý odběr oocytů provedl tým BioRescue v Ol Pejetě 24. dubna. Z 16 odebraných oocytů od samice Fatu byla v laboratoři Avantea vyprodukována tři embrya, opět s použitím spermatu samce Angalifu.

Jubilejní desátý odběr oocytů z Fatu pak stejný tým na stejném místě provedl 28. července 2022. Odebrat se podařilo 23 oocytů, po dozrání jich bylo sedm oplodněno pomocí rozmraženého spermatu, a to opět od samce Angalifu. Nakonec bylo úspěšně vyprodukováno pět embryí Fatu, což je vůbec největší počet embryí, jakého se z jednoho odběru vajíček podařilo dosáhnout.

Díky oběma zákrokům se celkový počet vytvořených embryí nosorožce bílého severního zvýšil na 22. Všechna pocházejí od samice Fatu, přičemž polovina z nich vznikla s použitím spermatu uhynulého samce Suniho, jenž se narodil v Safari Parku Dvůr Králové, zatímco druhá polovina s využitím spermatu samce Angalifu, který žil v Safari Parku Zoo San Diego v USA.

V červenci byla týmem BioRescue rovněž zkontrolována samice nosorožce bílého jižního Ariemet, jedna z potenciálních náhradních matek pro vložení embrya. Od července 2021 totiž byly dvě jižní samice, které se potenciálně mohly stát náhradními matkami pro severní embrya, ve společném výběhu se sterilizovaným samcem Owuanem. Po počátečních pokusech o páření, které měly indikovat dobu ovulace a tím i pomoci určit správnou dobu pro vložení embrya, však páření mezi zvířaty ustalo. Při vyšetření Ariemet se v červenci ukázalo, že je už několik měsíců březí. Následná kontrola samce Owuana v září pak přinesla vysvětlení – v jeho ejakulátu byly nalezeny motilní spermie, což znamenalo, že se mu podařilo sterilizaci překonat a znovu se stát plodným. Během stejné sedace proto byl Owuan znovu sterilizován přerušením kanálků vedoucích sperma v nadvarleti. Rovněž v září pak byla zkontrolována i druhá samice, která s Owuanem pobývala, Mojo. U ní ovšem odborníci zjistili, že necykluje a má omezenou možnost zabřeznout.

Vzhledem k výsledkům výše uvedených vyšetření se následně komise řídící projekt rozhodla obě samice od Owuana oddělit, k čemuž došlo v polovině listopadu. Nejdříve byl znovu zkontrolován Owuan, a když bylo potvrzeno, že jeho ejakulát



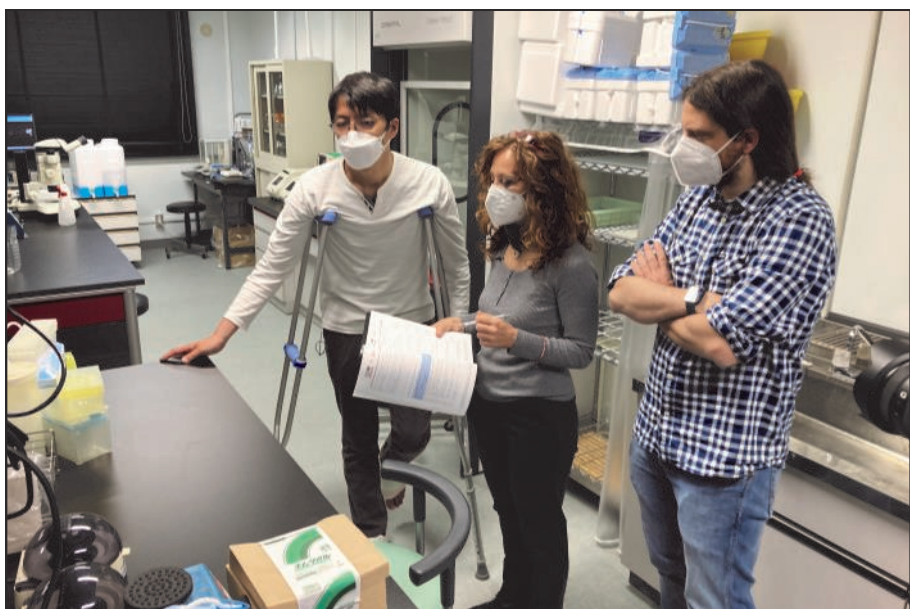
Vyšetření samice nosorožce bílého jižního jako potenciální náhradní matky, rezervace Ol Pejeta, červenec 2022. (jz)



Jednání týmu BioRescue včetně zástupců Safari Parku Dvůr Králové o dalším postupu v projektu, červenec 2022. (jz)



Odběr vajčiek od samice nosorožce bílého severního Fatu, rezervace Ol Pejeta, červenec 2022. (jz)



Tým z univerzity v Ósace pod vedením Katsuhika Hayashiho (vlevo) vytvořil primordiální zárodečné buňky nosorožce bílého severního. Na snímku Hayashi s odborníky BioRescue na etiku, univerzita v Ósace, listopad 2022. (js)

žádné živé spermie neobsahuje, byly od něj obě samice převezeny do jiného výběhu, a naopak k Owuanovi byly přesunuty dvě jiné samice nosorožce bílého jižního, Dalynge a Curra. Bude-li se s nimi Owuan pářit, mohly by se stát vhodnými náhradními matkami.

V listopadu byl rovněž uskutečněn už jedenáctý odběr vajíček od samice Fatu. V italské Cremoně se pak v laboratoři Avantea podařilo vytvořit dvě embrya, takže celkový počet embryí severních bílých nosorožců ke konci roku 2022 činil 24.

Všechny samice i samec byly v OI Pejetě pečlivě sledovány po všech zmíněných zákrocích a všechna zvířata se ze všech zákroků rychle zotavila.

Kromě odběrů vajíček od severní bílé samice Fatu pokračovala ve spolupráci s IZW Berlín a Avanteou v Kremoně i práce v Evropě. V listopadu 2021 proběhl odběr od samice nosorožce bílého jižního v Zoo Osnabrück, z odebraných vajíček se ale bohužel žádné embrya vytvořit nepodařilo.

V prosinci pak přišla jedna z významných událostí celého projektu. V časopise Science Advances byl zveřejněn odborný článek, který popisuje velký úspěch konsorcia BioRescue při záchraně severních bílých nosorožců: jako první na světě vytvořil tzv. primordiální zárodečné buňky z indukovaných pluripotentních kmenových buněk severního bílého nosorožce, samice Nabiré. Na tomto důležitém milníku mají zásluhu především odborníci z japonské univerzity v Ósace a dosud se ho nikdy nepodařilo dosáhnout u tak velkých savců.

Pomocí technik spojených s kmenovými buňkami (SCAT - stem cell associated techniques) se vědci z BioRescue snaží vytvořit embrya kompletně v laboratoři: z živé tkáně, např. z kůže nosorožců, je postupně možné vytvořit tzv. indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC – induced pluripotent stem cells), následně primordiální zárodečné buňky (PGC) a nakonec umělé gamety, tedy oocyty a spermie. Tím by se zvýšil počet jedinců, z nichž bude možné založit novou populaci, až na 12 zvířat. V nově publikovaném článku je popsáno, jak se týmu BioRescue podařilo z embryonálních kmenových buněk (ESC – embryonic stem cells) a z indukovaných pluripotentních kmenových buněk (iPSC), úspěšně kultivovat buňky s vlastnostmi primordiálních zárodečných buněk (tzv. PGCLCs z anglického primordial germ cell-like cells). Právě ty jsou předchůdkyněmi vajíček a spermií.

Hlavními autory článku byli Masafumi Hayashi a Katsuhiko Hayashi z Ósacké univerzity. Úzce spolupracovali s týmem se Sebastianem Dieckeho z Platformy pluripotentních kmenových buněk při Max Delbrückově centru a s odborníky na

reprodukcí Thomasem Hildebrandtem z IZW Berlin a s Cesarem Gallim ze společnosti Avantea. Opakovaným zdokonalováním procesu získal tým primordiální zárodečné buňky ze severní samice Nabiré, která uhynula v Safari Parku Dvůr Králové v roce 2015. Vzhledem k tomu, že PGC jsou základem všech budoucích gamet, otevírá tento úspěch cestu k produkci funkčních gamet z indukovaných pluripotentních kmenových buněk severních bílých nosorožců, což přispěje k odvrácení jejich vyhynutí.

Odběry vajíček a vytváření životaschopných embryí v laboratorních podmínkách, jakož i přípravy směřující k prvnímu úspěšnému embryo transferu jsou součástí projektu BioRescue, který významně podporuje německé ministerstvo pro vědu a výzkum (BMBF) a Nadace ČEZ, a kromě Safari Parku Dvůr Králové, IZW Berlín, Avantey, Ol Pejeta, Kenya Wildlife Service a Wildlife Research and Training Institute se na něm podílí řada dalších subjektů, například Univerzita Ósaka či Platforma pluripotentních kmenových buněk při Max Delbrückově centru v Berlíně. Na etickou bezproblémovost celého projektu dohlíží odborníci z Univerzity v Padově.

## **Přesun nosorožců dvourohých do Rwandy**

Jan Stejskal

### **Základní informace o projektu:**

Díky úzké spolupráci zejména s Evropskou asociací zoologických zahrad a akvárií (EAZA), Vládní radou pro rozvoj Rwandy (Rwanda Development Board, RDB), jež má mimo jiné na starosti ochranu tamní přírody, a Veronikou Vařekovou, českou modelkou podporující ochranu přírody v Africe, bylo v roce 2019 přepraveno pět nosorožců černých východních (*Diceros bicornis michaeli*) ze Safari Parku Dvůr Králové do národního parku Akagera ve Rwandě.

Nosorožci dvouroží v Akageře dříve žili, v roce 2007 zde však byli vyhubeni. Od roku 2010 se situace v parku výrazně zlepšila, park začala spravovat nevládní organizace African Parks, úzce spolupracující se rwandskou vládou, a podařilo se jí pytláctví snížit na tak nízkou úroveň, že se populace zvířat v parku začaly spontánně obnovovat. Díky výraznému zlepšení bezpečnosti mohli být v roce 2017 do parku reintrodukováni nosorožci, kteří byli přivezeni z Jihoafrické republiky.

Kvůli omezené genetické diverzitě této skupiny však představitelé Akagery hledali i další zdroj nosorožců, kteří by mohli k obnovení populace přispět. Pro převoz z Evropy bylo koordinátorem chovu vybráno pět nosorožců. Po přesunu se všechna zvířata postupně aklimatizovala na místní podmínky. Bohužel, v roce