

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Štěpánka Novotná

Modulace faryngeální dentice v evoluci obratlovců

Modulation of the pharyngeal dentition during the vertebrate evolution

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Vladimír Soukup, Ph.D.

Praha 2018

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně a pouze s použitím citované literatury. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 16.8.2018

Abstrakt

Zuby jsou klíčovou evoluční novinkou obratlovců. Dentice naprosté většiny dnešních obratlovců se nachází v orální dutině na čelistech a na patře, a/nebo ve faryngeální dutině na posledním faryngeálním oblouku. Za ancestrální znak dentice obratlovců je ale považována přítomnost zubů v celé orofaryngeální dutině. Tento znak se ovšem zachoval pouze u pár rybovitých obratlovců skupiny Osteichthyes (např. bichir a latimérie). U ostatních obratlovců došlo k postupnému vymizení faryngeální dentice. Bazální linie Actinopterygii podmínku zachování ancestrálních znaků splňují a jsou tak velmi důležitými pro pochopení výchozího stavu v evoluci dentice obratlovců. U některých odvozenějších linií Actinopterygii však nalezneme i zástupce s nejvíce specializovanými faryngeálními denticemi. Tato bakalářská práce se zabývá popisem faryngeálních dentic napříč obratlovci se zaměřením na zástupce bazálních linií skupiny Actinopterygii (bichir, jeseter, kostlín), kteří jsou klíčovými, avšak, z hlediska evoluce zubů, opomíjenými skupinami a se kterými se bude pracovat v rámci diplomového projektu.

Klíčová slova: zuby, dentice, evoluce, obratlovci, farynx

Abstract

Teeth represent a key evolutionary novelty of vertebrates. The dentition of the majority of extant vertebrates is present in the oral cavity associated with jaws and palate and/or in the pharyngeal cavity associated with the last pharyngeal arch. The ancestral state of the vertebrate dentition is considered to be presence of teeth through the whole oropharyngeal cavity. This state is however preserved only in few members of extant osteichthyans (for example bichir and latimeria). The other vertebrates gradually lost the pharyngeal dentition. The basal groups of actinopterygians meet the conditions of preservation of the ancestral states and are thus relevant for understanding the initial state in the evolution of vertebrate dentitions. On the other hand, some derived actinopterygian lineages contain members with the most specialized pharyngeal dentitions. This bachelor thesis concentrates on the description of pharyngeal dentitions across vertebrates and focuses on members of basal actinopterygian lineages (bichir, sturgeon and gar), which from the point of view of dental evolution represent crucial, although neglected animals. Detailed description of pharyngeal dentitions of these animals will form a basis for the upcoming Diploma project.

Key words: teeth, dentition, evolution, vertebrates, pharynx

Obsah

1. Úvod	1
2. Dentice	2
2.1. Základní charakteristika.....	2
2.2. Faryngeální dentice	5
3. Patternování dentice	11
4. Faryngeální dentice u bazálních linií Actinopterygii.....	16
4.1. Bichiři (Polypteriformes)	16
4.2. Jeseteři (Acipenseriformes).....	22
4.3. Kostlíni (Lepisosteiformes)	24
5. Závěr	26
6. Poděkování	28
7. Seznam použitých zkratk	29
8. Seznam použité literatury	30

1. Úvod

Ačkoli se vývoji zubů obratlovců věnuje hodně pozornosti, o faryngeální dentici toho zatím mnoho nevíme. Novodobé práce zaměřující se na dentici, se zabývají převážně molekulární regulací vývoje zubů u myši (*Mus musculus*) a dále také denticí u zástupce z čeledi kaprovitých ryb (Cyprinidae) dania pruhovaného (*Danio rerio*). Myš má pouze jednu generaci zubů v orální dutině a oproti tomu danio má zuby pouze na posledním žaberním oblouku. Později se pozornost začala věnovat i dalším druhům jako např. medaka japonská (*Oryzias latipes*) nebo africké cichlidy.

Všichni zmínění zástupci ovšem vykazují vysoce specializovanou a modifikovanou dentici. Všeobecně se předpokládá, že dentice obratlovců prošla v evoluci redukcí počtu zubů a zubních polí a uspořádáním dentice jen do určitých míst a že výchozím stavem je přítomnost zubů v celé orofaryngeální dutině (Stock 2001, Smith 2003). Z tohoto důvodu jsou vhodnými organismy pro zkoumání ancestrálního stavu dentice obratlovců zástupci bazálních linií, u kterých je právě přítomnost zubů v celé orofaryngeální dutině zachována.

Faryngeální dentice se vyskytuje u obou linií Osteichthyes, jak u Sarcopterygii tak i u Actinopterygii, a to vždy v asociaci s faryngeálními oblouky. Zatímco se v rámci Actinopterygii vyskytuje obrovská diverzita faryngeálních dentic – od bazálních linií se starobylými znaky až po velmi specializované a rozmanité faryngeální čelisti u Teleostei, u Sarcopterygii faryngeální zuby vymizely s přechodem obratlovců na souš. Přesto se, díky početnosti zástupců skupiny Actinopterygii, faryngeální dentice vyskytuje téměř u poloviny všech dnešních obratlovců.

Cílem této bakalářské práce je shrnout dosavadní poznatky o faryngeálních denticích obratlovců, s hlavním zaměřením na jejich patternování, evoluční přestavby a ztráty. Druhá část práce se detailněji zabývá faryngeální denticí u zástupců bazálních linií Actinopterygii, tj. bichira, jesetera a kostlína, kteří do určité míry vykazují ancestrální stav dentic dnešních obratlovců a se kterými plánuji v budoucnu pracovat v rámci diplomového projektu.

2. Dentice

2.1. Základní charakteristika

Abychom porozuměli problematice faryngeální dentice, je důležité se nejprve seznámit se základními pojmy a souvislostmi, které se k tomuto tématu vztahují. Zuby jsou považovány za klíčovou inovaci obratlovců a spolu s čelistmi vedly k obrovskému úspěchu skupiny čelistnatců (Gnathostomata) a adaptivní radiaci jejich nositelů. Stáří zubů se odhaduje přibližně na 450 miliónů let (Rücklin, 2012). Naprostá většina dnešních obratlovců má zuby umístěné v orální dutině na čelistech a na patře a/nebo ve faryngeální oblasti (Sire et Huysseune, 2003).

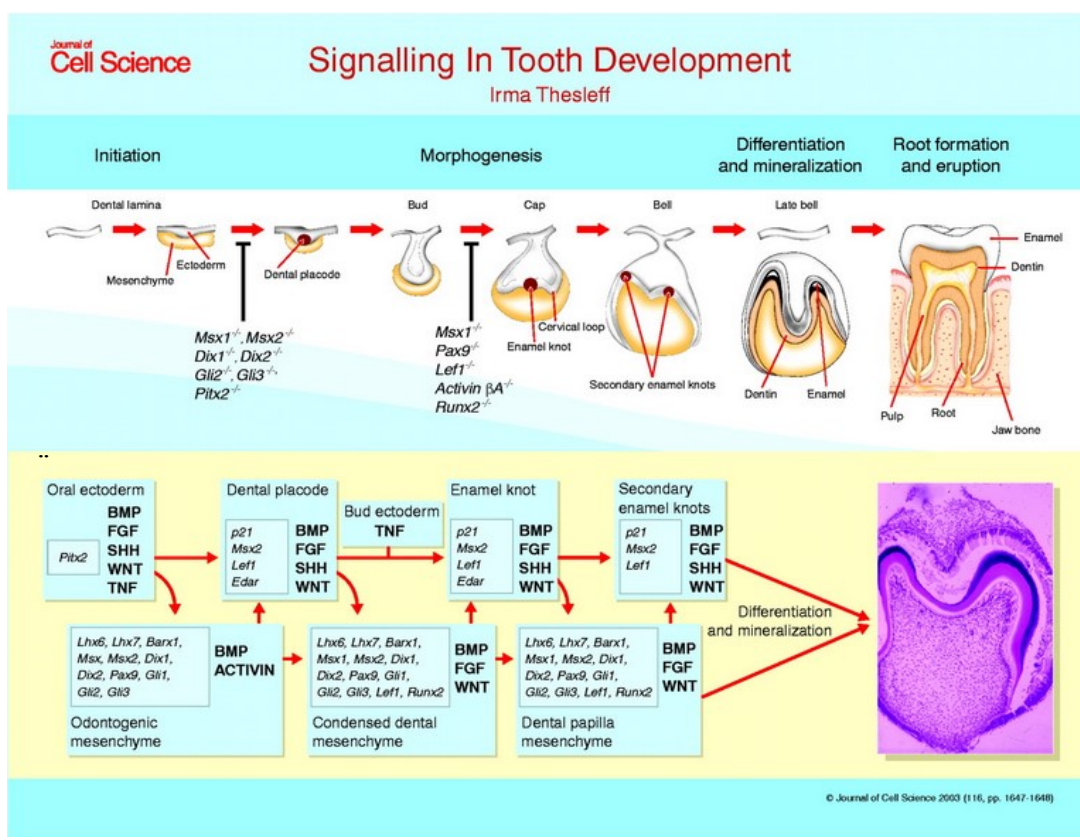
Zub je komplexní struktura, která se formuje na pomezí epitelu a mesenchymu – tyto dvě vrstvy dohromady utvářejí zubní zárodek. Stejně jako například vlasy nebo peří, se zuby vyvíjejí pomocí vzájemných reciprokých epitelu-mesenchymálních interakcí (Pispa et Thesleff, 2003). Zuby obratlovců jsou charakteristické společným složením ze zubní pulpy (dřeně) a dentinu, který je obvykle krytý hypermineralizovanou vrstvou skloviny (enamelu) nebo enameloidu. Zatímco sklovina se zakládá z ektodermu, enameloid vzniká kombinací dentálních a epiteliálních buněk (Sasagawa et al., 2013). Zubní pulpa i dentin jsou oba deriváty dentální papily (ektomesenchymální část zubního zárodku). Zatímco dentin produkuje odontoblasty na okraji dentální papily, zubní pulpa je odvozena ze střední části papily (Berkovitz et Shellis, 2017).

Epiteliální část orálních zubů je většinou ektodermálního původu, ale u obojživelníků mohou být posteriorní orální zuby zcela nebo částečně odvozeny z entodermu (Soukup et al., 2008). U faryngeální dentice dosud nebyl původ zubů jednoznačně prokázán, ale předpokládá se původ entodermální (Wise et Stock, 2010). Mesenchymální část se skládá z buněk neurální lišty, které z oblasti presumptivního zadního mozku a středního mozku migrují do oblasti faryngeálních oblouků v průběhu embryogeneze (Chai et al., 2000, Kunderát et al., 2008, Kague et al., 2012).

U většiny obratlovců (vyjma savců) dochází k výměně zubů po celý život (polyfyodontní chrup). Oproti tomu savci mají obvykle jedny náhradní zuby (difyodontní chrup) nebo např. mnozí hlodavci a kytovci mají pouze jedny zuby celý život (monofyodontní

chrup). Funkce výměny zubů jsou především adaptace na změnu potravy v průběhu životního cyklu, růst anebo kompenzace opotřebením (Berkovitz et Shellis, 2017).

Obecný model popisující vývoj zubu (viz obr. č.1) se dělí na čtyři hlavní úseky: stádium iniciace, morfogeneze, diferenciaci a erupce zubu. Nejprve vzniká epiteliální ztlustění, jejíž okraje poté invaginují a obklopí kondenzovaný mesenchym. Takto se tvoří čepička, která později maturuje a dává vznik struktuře podobné zvonu. Ta je tvořena především z vnějšího a vnitřního dentálního epitelu a dentální papily. Dále dochází k mineralizaci zubu, jeho přichycení ke kosti a případně iniciaci vývoje náhradního zubu (Thesleff, 2003).



Obr. č.1. Znázornění signalizace během vývoje zubu. První část obrázku ukazuje obecné schéma vývoje zubu. Druhá část obrázku uvádí geny, které jsou pro vývoj jednotlivých stádií nezbytné. Upraveno podle Thesleff (2003).

Prvotním signálem pro odontogenezi je epitel (Lumsden, 1988, Mina et Kollar, 1987). V epitelu dochází k expresi genů *Shh* a *Pitx2*. Výzkum provedený na různých obratlovcích ukázal, že exprese těchto genů v místě iniciace vývoje zubu je evolučně konzervovaná (Keränen et al., 1999, Fraser et al., 2004, Smith et al., 2008, Smith et al., 2015). Tento epitel pomocí genetického signálu dodává buňkám odontogenní a patternovací schopnosti. K přidání

nových zubů dochází většinou linguálním směrem, kde se epitel, z kterého se zub tvoří, ztlušťuje a invaginuje do mesenchymu. U většiny čelistnatých obratlovců se takto vytváří dentální lamina, tj. orgán, který produkuje zuby a zásobuje dentici zuby novými (Smith et al., 2009, Huysseune et Thesleff, 2004). Dentální lamina je poměrně dobře prostudovaná, co se týče čelistní dentice, ale nikoli u faryngeální dentice.

Místo iniciace formování zubních zárodků se mezi obratlovci liší. Příčnoústí (Elasmobranchii) mají unikátní zubní systém, který funguje jako „dopravní pás“, který tvoří kontinuálně nové zuby ještě předtím, než vypadnou zuby staré. Tyto nové zuby postupují dentální laminou linguálním směrem, dokud nedojde k jejich maturaci, erupci a nestanou se funkčními (Tucker et Fraser, 2014).

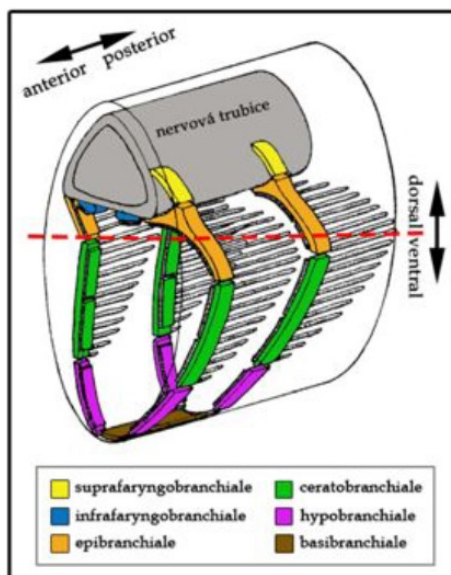
Na rozdíl od Elasmobranchii dochází u Osteichthyes většinou pouze k výměně jednoho zubu za jeden zub (systém jeden za jeden), tento cyklus probíhá celý jejich život (Fraser et al., 2006, Fraser et al., 2013). Výměna zubů může probíhat dvěma způsoby. První z nich je způsob označovaný jako extramedulární (extraosseous), kdy se zubní zárodek připojí ke kosti na povrchu. Druhým způsob se nazývá intramedulární (intraosseous), kdy dlouhý výběžek epitelu penetruje do kosti k dřevové dutině, poté se začne proximálně ztlušťovat a dochází k rozvoji náhradního zubu (Trapani, 2001). Jsou ale známy i případy, kdy se zuby nevytváří z klasické dentální laminy. Takovým příkladem je bichir (*Polypterus senegalus*), u kterého se náhradní zuby vytváří krátkými vychlípeninami z vnějšího dentálního epitelu předchozího zubu (ten se formuje znovu s každým dalším zubním zárodkem), nedochází tedy k žádné hluboké invaginaci (Vandenplas et al., 2014). Stejným způsobem dochází k výměně zubů i u lososa obecného (*Salmo salar*) (Huysseune et Witten, 2008).

Faryngeální dentici se mnohdy nevěnuje tolik pozornosti, jedná se ale o velmi důležitou součást těla obratlovců. Za prvé, na faryngeální dentici je založena jedna z teorií o evolučním původu zubů tzv. inside-out hypotéza (Smith et Coates, 2000, Smith et Coates, 2001, Smith, 2003), která předpokládá, že zuby všech obratlovců vznikly z faryngeálního entodermu, a staví se tak proti klasické teorii o původu zubů z povrchového ektodermu, tzv. outside-in hypotéze (Reif, 1982). Za druhé, faryngeální dentice je přítomna u téměř poloviny všech obratlovců, je velmi diverzifikovaná a nepochybně se stala zdrojem adaptivní radiace skupiny Actinopterygii.

2.2. Faryngeální dentice

Recentní Chondrichthyes mají dentikuly tj. zubům podobné struktury (Reif, 1982) na povrchu těla (plakoidní šupiny) i zuby na čelistech. Mnozí recentní žraloci mají ale početné dentikuly i v orofaryngeální dutině, které jsou většinou volně rozmístěné a nejsou asociované s elementy faryngu. V uspořádání a tvaru těchto dentikul existuje velká variabilita, předpokládaným ancestrálním stavem je však přítomnost dentikul na povrchu celého orofaryngu (Nelson, 1970). U některých žraloků se ale také na faryngeálních obloucích vyskytují specializované struktury označované jako faryngeální destičky (pharyngeal pads). Na těchto strukturách se nacházejí ostrůvky dentikul, které mohou být u některých druhů (např. *Carcharhinus milberti*) uspořádány do řad. Faryngeální destičky jsou podle Nelsona (1970) analogické k horním a spodním faryngeálním čelistem u Osteichthyes a u obou skupin se podílejí na transportu potravy do hltanu.

U Osteichthyes můžeme zuby najít na mnohých kostěných elementech orofaryngeální dutiny. Nejčastěji se nacházejí na kostech lebky na maxile, premaxile, preartikulare, dentale, ektopterygoidu, dermopalatinu, parasphenoidu, vomeru, koronoidu, palatopterygoidu, v rámci hyoidního oblouku na hypohyale, ceratohyale, basihyale a v rámci faryngeálních oblouků na faryngobranchiálních, epibranchiálních, ceratobranchiálních, hypobranchiálních a basibranchiálních (viz obr. č.2).



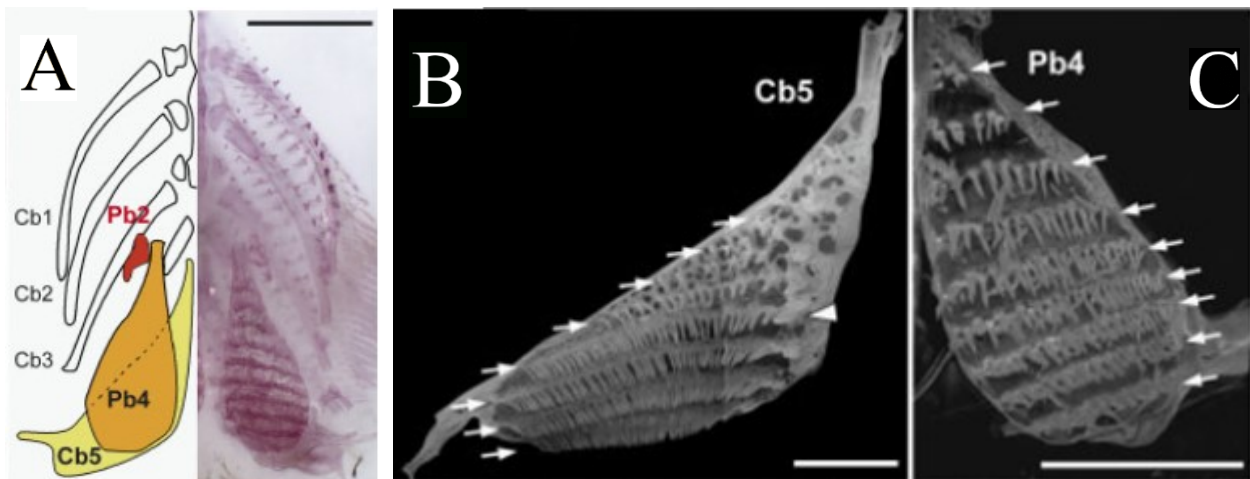
Obr. č.2. Znárodnění elementů faryngeálních oblouků. Červená čára označuje vedení řezu, který rozděljuje faryngeální oblast na dorzální a ventrální. Upraveno podle Roček (2002) z Pospíšilová (2015).

U zástupců skupiny Osteichthyes se ve faryngu vyskytují pravé zuby, a to pouze v asociaci s faryngeálními oblouky (Nelson, 1969). Faryngeální zuby jsou u bazálních linií mnohdy připevněny k zubním deskám, které zajišťují jejich druhotné upevnění k oporným elementům faryngeálních oblouků. Zuby ve faryngu se vyskytují u obou linií Osteichthyes, jak u Sarcopterygii, tak u Actinopterygii. V rámci Sarcopterygii jsou skupinou bez faryngeální dentice dvojdyšní (Dipnoi), u kterých se vyvinuly čelisti se zubními deskami přizpůsobenými k drcení schránek bezobratlých živočichů (Reisz et Smith, 2001). Oproti tomu u zástupce lalokoploutvých (Coelacanthimorphes) *Latimeria chalumnae* nacházíme velice početné ozubené desky na faryngeálních obloucích (Nelson, 1969). Počet zubů i zubních desek se v průběhu evoluce začal snižovat, při přechodu na souš u obratlovců faryngeální zuby vymizely, tzn. dnešní Tetrapoda žádné faryngeální zuby nemají. Z fosilních nálezů některých obojživelníků se ojediněle zachovaly zuby na zubních deskách (Schoch, 2001, Huysseune et al., 2009).

Oproti Sarcopterygii se u skupiny Actinopterygii vyskytuje u faryngeálních zubů velká diverzita. Její bazální zástupci mají faryngeální zuby většinou rozmístěné po celém faryngeálním aparátu (např. Polypteriformes, Amiiiformes) (Clemen et al., 1998, Grande et Bemis, 1998, Stock, 2001) a tento stav bychom našli i u bazálních Teleostei (př. Elopomorpha) (Vandewalle et al., 2000). Avšak u ostatních skupin Teleostei se zuby vyskytují již jen na určitých místech v rámci faryngu (Nelson, 1969). U mnoha Teleostei došlo ve faryngu ke vzniku faryngeálních čelistí (pharyngeal jaws) s faryngeálními zuby. Faryngeální čelisti na rozdíl od orálních čelistí vznikly několikrát nezávisle na sobě u různých skupin ryb (Vandewalle et al., 2000). Největší diverzity dosáhly faryngeální zuby u skupiny Teleostei. Například u čeledi Cichlidae a Labridae mohlo vylepšení faryngeálních čelistí poskytnout morfologický potenciál k jejich obrovské radiaci (Mabuchi, 2007). Podle Liem et Osse (1975) stojí za velkou diverzitou těchto skupin rozdělení funkcí orálních a faryngeálních čelistí, které umožnilo oběma čelistem adaptivní transformaci a specializaci. Faryngeální čelisti tak mohou být považovány za klíčovou inovaci a přispívat k diverzifikaci obratlovců.

Dalším příkladem, kde došlo k funkční specializaci orálních i faryngeálních čelistí jsou murény (Muraenidae). *Muraena retifera* nejprve zachytí kořist orálními čelistmi, potom vychlípí faryngeální čelisti, pomocí kterých kořist zafixuje, a poté ji vtahuje a posouvá do hltanu. (Mehta et Wainwright, 2007).

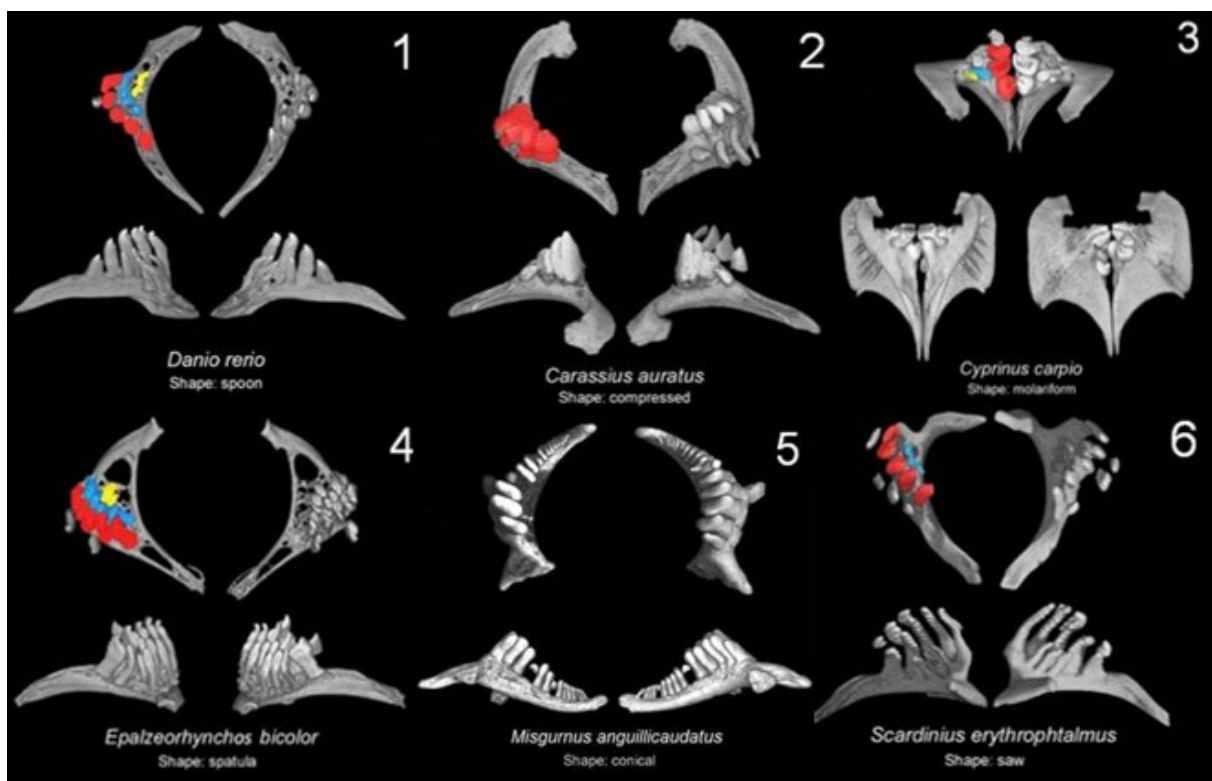
Medaka japonská (*Oryzias latipes*) z řádu Beloniformes je významným modelovým organismem vývojové biologie. Medaka má jak orální, tak faryngeální dentici. Faryngeální dentice je složena z bilaterálních dorsálních a ventrálních zubonosných desek, které obklopují posteriorní část faryngeální dutiny a nalézá se na nich téměř tisíc funkčních zubů. Mezi funkčními zuby jsou pod povrchem epitelu nové náhradní zuby (Abduweli et al., 2014). Ventrálně umístěné zuby jsou připojeny k pátému ceratobranchiále (cb5). Dorsálně umístěné zuby jsou připojeny ke čtvrtému faryngobranchiále (Pb4) (viz obr. č.3 A), což je kostěný element nasedající na třetí a čtvrté epibranchiále. Dále se na dorsální straně nachází druhé faryngobranchiále (Pb2) (viz obr. 3 A) (Langille et Hall, 1987). Na druhém faryngobranchiále se nalézají čtyři spojené zuby, které formují řadu (Debiais-Thibaud et al., 2007).



Obr. č. 3. (A) Levá půlka obrázku znázorňuje schématické zobrazení branchiálního aparátu, druhá půlka pravou část faryngeálního aparátu dospělé medaky (dorsální pohled). Barevně označeny jsou elementy nesoucí faryngeální zuby. (B) Detail na levé cb5 (dorsální pohled). (C)Detail na levé Pb4 (ventrální pohled). Měřítko: 500 μ m. Upraveno z Debiais-Thibaud et al. (2007).

U řádu ostnoploutvých (Perciformes) se vyvinuly faryngeální čelisti, které mají spodní čelist vytvořenou z pátých ceratobranchiálií a horní čelist tvořenou srůstem druhých třetích a čtvrtých infrafaryngobranchiálií (Vandewalle, 2000). K největšímu zdokonalení faryngeálních čelistí v rámci podřádu Labroidei došlo nezávisle na sobě u čeledí Cichlidae a Labridae (Mabuchi, 2007). Toto zdokonalení spočívá v: existenci jedné spodní faryngeální čelisti, která vznikla spojením levého a pravého pátého ceratobranchiále, svalovém závěsu přímo napojujícím spodní stranu neurokránie se spodní faryngeální čelistí a pohyblivé dvojité kloubní spojení horní faryngeální čelisti s neurokrániem (Liem, 1973, Mabuchi, 2007, Wainwright, 2012).

Máloostní (Cypriniformes) sice ztratili všechny zuby v orálních čelistech, ale zato mají faryngeální čelisti se zuby vzniklé z pátého ceratobranchiálního elementu. Kvůli nepřítomnosti orálních zubů, se musí při zpracovávání potravy plně spoléhat na faryngeální dentici. Sáním je potrava vpravena do ústní dutiny a pomocí peristaltických pohybů branchiálního koše je přemístěna k faryngeálním zubům, kde je rozdrčena. Faryngeální zuby jsou umístěny na spodní faryngeální čelisti, horní faryngeální čelist u této skupiny neexistuje. Místo ní jsou spodní faryngeální zuby umístěny proti postero-ventrální neurokraniální desce. (Vandewalle et al., 2000). U máloostných existuje velká morfologická diverzita faryngeálních čelistí a zubů, která se využívá v systematice tohoto řádu. Rozlišuje se šest tvarů zubů: lžicovitý (1, spoon shaped), stlačený (2, compressed), stoličkový (3, molariform), špachtlovitý (4, spatula), kónický (5, conical), pilovitý (6, saw shape) (Pasco-viel et al, 2010). Zuby se ovšem neliší pouze tvarem, ale i počtem zubních řad, počtem zubů a rozmístěním jednotlivých zubů (viz obr. č.4).



Obr. č.4. Tvary faryngeální dentice zobrazené pomocí Micro-CT. Upraveno podle Pasco-viel et al. (2010).

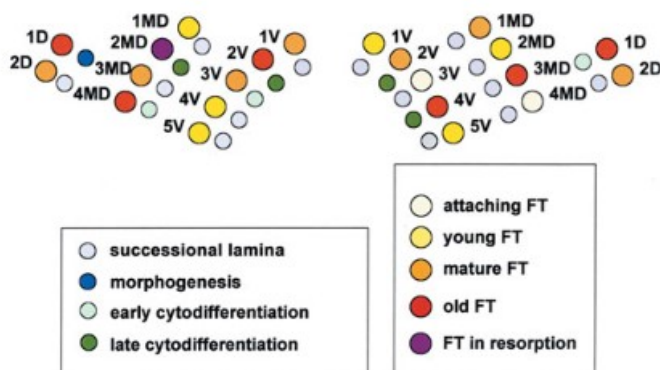
V rámci kaprovitých je nejvíce prostudovaným organismem s faryngeální denticí danio pruhované (*Danio rerio*). Jedná se o významný a široce využívaný modelový organismus, jehož výhody jsou hlavně: snadný chov, krátká generační doba, reprodukce

v průběhu celého roku, vysoký počet embryí, malá velikost, rychlý vývoj, plně sekvenovaný genom nebo např. množství transgenních linií.

První zuby dania pruhovaného se objevují na pátém faryngeálním oblouku (ceratobranchiále) na ventrální straně a to 48 hodin po oplodnění. Přibližně ve čtvrtém týdnu po vylíhnutí se na každém cb5 vyskytuje obvykle celkem 22 zubů a zubních základů, v dospělosti tento počet klesá na 11 (Van der Heyden et Huysseune, 2000, Huysseune et al., 1998).

Nové zuby přibývají v příčných liniích, a to posteriorně k řadám již vytvořeným, kromě jedné řady, která vzniká ventrálně. V těchto řadách je směr vzniku zubů lateromediální. Zuby, které vznikají nejvíce laterálně, jsou označeny číslicí 1 (Huysseune et al., 1998). Dospělec má dentici složenou ze tří řad rozlišených podle umístění na cb5: D (dorsální), MD (mediodorsální) a V (ventrální). Dorsálně jsou uloženy 2 zuby, mediodorsálně 4 zuby a ventrálně 5 zubů. Nejdříve se tvoří zuby na ventrální straně (2 až 16 dní po oplození), posléze se vyvíjejí zuby v mediodorsální rovině (14 až 24 dní po oplození), a nakonec vznikají zuby uložené na dorsální straně (24 až 28 dní po oplození). Prvním vznikajícím zubem je zub v pozici 4V (obr. č.5) (Van der Heyden et Huysseune, 2000).

Detailní popis vývoje dentice dania je výhodný pro studium vlivu faktorů a signálních drah zodpovědných za regulaci patternování dentice (Kague et al., 2018, Gibert et al., 2015, Wise and Stock, 2010, Jackman et al., 2004, Jackman et al., 2010). Díky tomu se danio stalo důležitým modelem pro odontogenezi.



Obr. č.5 (*Danio rerio* TL 11 mm) Schéma faryngeální dentice, převzato a upraveno z Huysseune, (2006).

U Actinopterygii jsou faryngeální zuby velmi různorodé, podle Nelsona (1969, 1970) by mohlo rozmístění jednotlivých zubních polí nést určitou fylogenetickou informaci a znaky, které se vyskytují u jednotlivých liniích by nám tak mohly napovídat o jejich evoluci. Z uvedených příkladů faryngeální dentice je zřejmé, že se nejedná o rigidní, ale o plastický znak, který v průběhu evoluce nabývá různých podob. Klíčovým pro evoluci faryngeální dentice je však výchozí stav, který se nachází u bazálních linií skupiny Actinopterygii, a který doposud není dostatečně dobře prozkoumán.

3. Patternování dentice





Dentice je komplexní struktura, která se skládá z jednotlivých zubů. Patterning určuje celkové schéma dentice, na jakém místě se konkrétní zub vytvoří a v jakém pořadí se zuby budou tvořit/vypadávat. Funkční dentice se zakládá erupcí prvních zubů ve specifickém vzorci, potom se začínají utvářet dodatečné zuby (additional). Dentice se dále vyvíjí výměnou prvních zubů (pokud nejde o monofyodontní dentici). Patternování a pořadí výměny zubů hraje u polyfyodontní dentice důležitou roli. Když jsou zuby kontinuálně nahrazovány, tak obvykle mezi funkčními zuby vznikají mezery, kde ještě nedošlo k erupci zubů náhradních. Přesné patternování výměny zubů zabraňuje vypadnutí příliš mnoha zubů najednou, a tak udržuje dentici funkční. Společný trend výměny zubů mnoha obratlovců spočívá v tom, že se nevyměňují najednou zuby sousedící, ale zuby alternativní, což zajišťuje, že více jak 50% zubů je stále funkčních. (Berkovitz et Shellis, 2017)

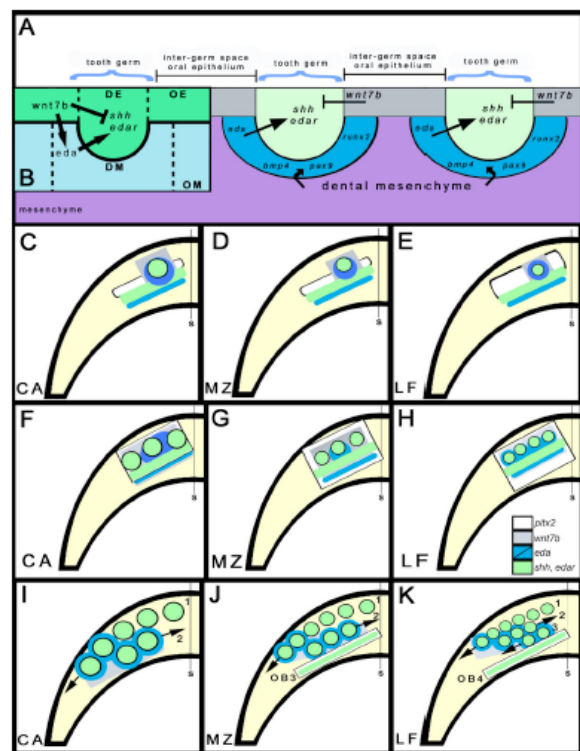
Patterning dentice tedy zahrnuje dva klíčové děje, které se odehrávají při vývoji dentice: adice nových zubních elementů a nahrazování vypadnuvších zubů (replacement). Nahrazování zubů zajišťuje dentální lamina.

Z dat, která byla zjištěna na modelu myši, byl navrhnout soubor genů, které ovlivňují vývoj zubů v průběhu zakládání dentice. Nejprve dojde ke specifikaci tzv. zóny s odontogenním potenciálem (odontogenní zóna), která určuje umístění budoucí dentice. Ta se postupně kompartmentalizuje na menší části, což vede k jejímu rozdělení na zárodky jednotlivých zubů (Jernvall et Thesleff, 2000). Tento model byl posléze testován na denticích cichlid. Fraser et. al. (2008) na základě exprese odontogenních genů (*pitx2*, *eda*, *wnt7b* a jejich vzájemné působení se *shh* a *edar*) navrhli tzv. periodický generátor patternu dentice (viz obr. č.6). Porovnávali tři druhy malawijských cichlid s odlišným zubním fenotypem. *Cynotilapia afra* má na čelistech dvě řady velkých zubů s jednou špičkou, mezi kterými jsou široké mezery. Další druh *Metriaclima zebra* má zuby uspořádané do pěti až šesti řad. První zubní řada je tvořena zuby se dvěma špičkami, následující zubní řady tvoří zuby se třemi špičkami. Zuby jsou menší ve srovnání se zuby předchozího druhu. Poslední druh je *Labeotropheus fuelleborni*, který má na čelistech deset nebo více zubních řad. Zuby mají tři špičky a jsou o poznání menší a blíže u sebe než zuby předchozích druhů (Fraser et al., 2008).

Periodický generátor patternu popisuje dva aspekty zubního patterningu: jak se utvářejí zubní řady na čelistech a jak se tvoří zuby v zubních řadách. Odontogenní zóna je

místo, kde se mohou tvořit zuby (mimo tuto zónu zuby nevzniknou). Ta je rozdělena na menší části, kde se exprimují geny, které předznamenávají pozice jednotlivých zubních zárodků. To, jak dentice bude vypadat, je závislé na velikosti odontogenní zóny (definované expresí *pitx2*), na velikosti každé složky tvořící zub (určená expresí *shh* a *edar*) a na oblasti, která tyto složky přímo obklopuje (exprese *wnt7b* a *eda*) (Fraser et al., 2008). Jednotlivé zubní zárodky tedy ovlivňuje několik vzájemných interakcí. Kombinace epiteliální exprese *pitx2* a *shh* určuje schopnost iniciace zubních zárodků i budoucích zubních řad. Nedostatečná koexprese *pitx2* a *shh* může vést k redukci počtu zubních řad, u dania by se takto dala částečně vysvětlit i ztráta zubů v ústní dutině (Stock et al., 2006). Navíc inhibice *Hh* signalizace u dania vede ke ztrátě faryngeálních zubů (Jackman et al., 2010).

-  *pitx2* – značí zónu s odontogenním potenciálem
-  *shh* a *edar* – značí zubní zárodek a odontogenní pruh
-  *wnt7b/shh* – značí pozice individuálních zubních zárodků (epitel)
-  *eda/edar* – značí pozice individuálních zubních zárodků (mesenchym)



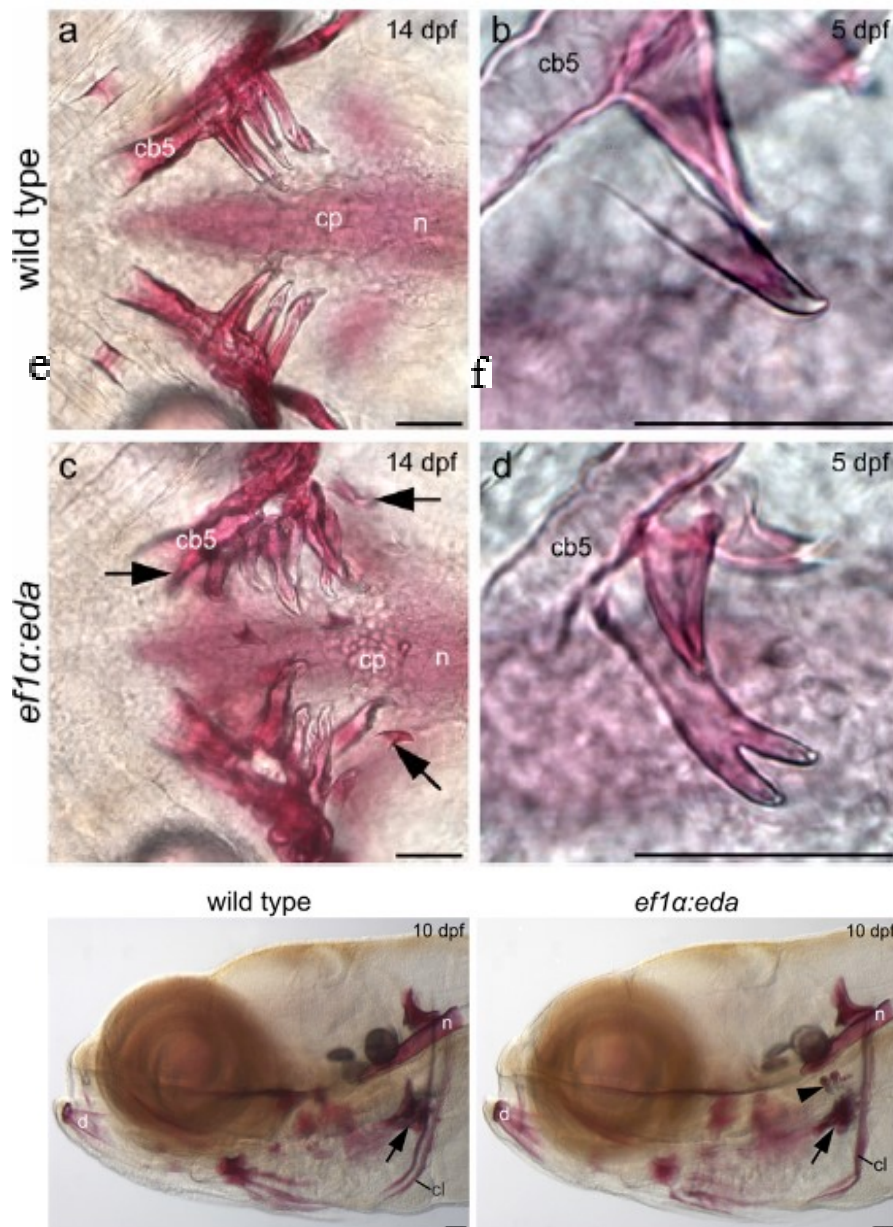
Obr. č.6. Periodický generátor diversity patternu u cichlid z jezera Malawi. Upraveno z Fraser et. al. (2008).

Velikost a rozmístění zubních zárodků je poté řízena signály z okolních tkání. Např. *wnt7b* exprimovaný v epitelu kolem zubních zárodků inhibuje expresi *shh* v epitelu zubních zárodků. Navíc *eda* exprimovaný v okolním mesenchymu pozitivně reguluje expresi svého receptoru *edar* v zubních zárodcích (Fraser et al., 2008).

Model periodického generátoru patternu ukázal, že stejné faktory, které hrají roli při vývoji zuby jsou u každého druhu cichlidy exprimovány trochu odlišně. U druhu s největším

počtem zubních řad a malých zubů je vidět, že má největší zónu odontogenního potenciálu, zatímco druh s pouze dvěma řadami a velkými zuby má tuto odontogenní zónu užší. Jednotlivé interakce různých faktorů u odlišných druhů tak vytvářejí rozdílné patterny dentice (ovlivňují pozice zubních zárodků, jejich velikost a vzájemnou vzdálenost). Respektive morfologická diverzita dentic cichlid se dá vysvětlit relativně jednoduchým modelem molekulárních interakcí, jejichž modifikace mohou vést k diverzifikaci dentálních fenotypů (Fraser et al., 2008).

Příkladem experimentálního ověření platnosti periodického generátoru patternu a ukazujícím možné evoluční změny v patterningu zubů je ovlivnění signalizační dráhy *eda/edar* u Cypriniformes (Aigler et al., 2014). Jak již bylo zmíněno, kaprovití sice ztratili zuby v celé orální dutině, jejich faryngeální dentice však vykazuje poměrně velkou diverzitu (Pasco-viel et al., 2010). Kandidátním genem, který by mohl stát za modulací zubů je ligand z TNF rodiny ectodysplasin (*eda*) (Mikkola, 2008). U homozygotního dania s mutací *nkt* v tomto genu se v dospělosti nevyskytují zuby žádné (Harris et al., 2008). Zajímavé je, že při ovlivnění dráhy *eda/edar* nemusí docházet pouze ke ztrátě zubů, ale při nadměrné aktivitě této dráhy může docházet i k vytvoření nadpočetných zubů. Aigler et al. (2014) vytvořili transgenní linii dania, kde exprese genu *eda* byla pod kontrolou promotoru elongačního faktoru *efl1α* z *Xenopus laevis*, který pohání všudypřítomnou a kontinuální expresi během celé doby vývoje (Johnson et Krieg, 1994). Jedinci z této *efl1α:eda* linie vykazovali nadpočetné zuby na horním faryngu a změnu morfologie zubu na cb5 ze zubu s jednou špičkou na zub se dvěma špičkami (viz obr. č.7) (Aigler et al., 2014).



Obr. č.7. (*Danio rerio*) (a) Ventrální pohled na normální fenotyp faryngeální dentice na cb5. (b) Detail tvaru zubu s jedním vrcholkem. (c) Nadpočetné zuby v transgenní linii *ef1α:eda*. (d) Detail tvaru zubu v transgenní linii *ef1α:eda* se dvěma vrcholky. (e) Normální fenotyp, laterální pohled, černá šipka ukazuje na faryngeální zuby na spodní faryngeální čelisti. (f) Transgenní *ef1α:eda* jedinec, druhá šipka ukazuje na nadpočetné zuby vzniklé na horním faryngeálním epitelu. Měřítko 50 μ m. Upraveno podle Aigler et al. (2014).

Jiným příkladem, jak lze experimentálně ovlivnit výsledný pattern dentice, je pozměnění signalizace retinové kyseliny (RA). RA je morfogenní molekula s pleiotropickou rolí v průběhu embryonálního vývoje obratlovců (Rhinn, 2012). Dráha RA má velký vliv na

faryngeální dentici u *Danio rerio*, ale není tomu tak u zubů ostatních Teleostei. Bylo navrženo že, u Cypriniformes mohlo dojít k závislosti vývoje dentice na RA, zatímco u ostatních obratlovců zůstal vývoj zubů na RA nezávislý. Tato závislost mohla vést ke ztrátě orálních zubů u Cypriniformes (Gibert et al., 2010). Změna hladiny RA má vliv na počet zubů v zubní řadě. U heterozygotních mutantních linií pro *cyp26b1*, genu, který kóduje enzym schopný degradovat RA, dochází k vytvoření nadpočetného (šestého) zubu ve ventrální řadě (Gibert et al., 2015). Přestože většina druhů řádu Cypriniformes má v zubní řadě zubů pět, existují nejméně čtyři známé nezávislé případy, kdy je v zubní řadě zubů šest. Příkladem je podčeleď Leuciscinae, kde *Rutilus* a *Chondrostoma* reprezentují dvě nezávislé linie se šesti zuby (Perea, 2010), *Rutilus* navíc vykazuje asymetrii, kdy na levém ceratobranchiále má šest zubů a na pravém pouze pět. Tyto výsledky naznačují, že modulace v signalizaci RA u různých druhů řádu Cypriniformes vede k různým zubním fenotypům a RA je důležitým faktorem pro evoluci faryngeální dentice (Gibert et al., 2015).

Důležitost prací zaměřující se na patterning zubů tkví především v tom, že nyní máme k dispozici sadu molekulárních markerů (geny pro odontogenní potenciál, geny exprimované v zubech, do určité míry známe interakce mezi nimi), které lze použít pro popis adice zubů a které lze v budoucnu testovat i na modelu faryngeální dentice vykazující ancestrální stav, tj. zuby přítomné v celé orofaryngeální dutině.

4. Faryngeální dentice u bazálních linií Actinopterygii

Ačkoli se v poslední době objevilo několik prací zabývajících se molekulárním patterningem zubů, dané práce se zaměřily na skupiny se specializovanými denticemi (plazi, žraloci, cichlidy). Ancestrálním stavem dentic obratlovců je však považována přítomnost zubů v celé orofaryngeální dutině (Nelson, 1969, Fraser et al., 2009). Tento stav se zachoval pouze u pár dnešních starobylých rybovitých obratlovců, divergujících především z dichotomie Actinopterygii a Sarcopterygii, mezi které patří např. bichir či latimérie. U ostatních linií docházelo během evoluce k postupné redukci zubů, k alokaci zubů do určitých míst, nebo došlo k úplné ztrátě zubů (např. ptáci, želvy). Zástupci bazálních linií Actinopterygii jsou proto klíčoví pro porozumění původu dentice obratlovců.

4.1. Bichiři (Polypteriformes)

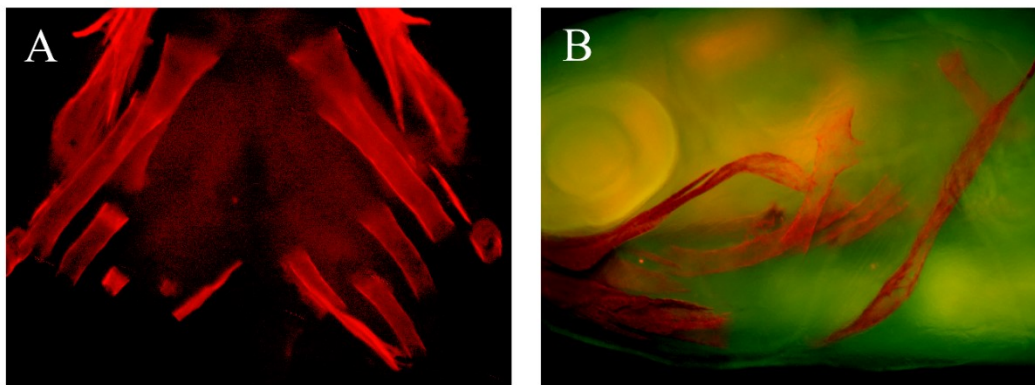
Bichiři jsou zvláštní malou skupinou kostnatých sladkovodních ryb pocházejících z Afriky. Dnes tuto skupinu tvoří jediná čeleď (Polypteridae), která obsahuje asi 15 druhů rodu *Polypterus* a jeden druh rodu *Erpetoichthys*. Bichiři jsou významní svým fylogenetickým postavením. V minulosti byly jejich fylogenetické vztahy k ostatním skupinám obratlovců často předmětem debat, v současnosti jsou řazeni jako sesterská linie všech ostatních paprskoploutvých ryb (Actinopterygii), tj. jedná se o nejbazálnější linii této skupiny (Inoue, 2003). Přestože bichir přitahoval pozornost již při objevení právě díky kombinaci unikátních znaků, informace o jeho dentici zdaleka nejsou úplné, a to hlavně kvůli náročnému chovu a téměř nedostupnému embryonálnímu materiálu. Několik úspěšných odchovů na naší fakultě však umožnilo vznik diplomových prací Martina Král'oviče (2009), Simony Macháčové (2014) a Anny Pospíšilové (2015), které se mimo jiné zabývají dentálními tkáněmi bichira druhu *Polypterus senegalus*.

U bichira lze rozlišit 3 typy zubů. Klasifikace podle Clemen et al. (1998) zohledňuje vnější znaky zubu: tvar, velikost a rozsah enameloidové čepičky (enameloid cap). Prvním typem jsou mohutné zuby se širokou bází, enameloidová čepička zaujímá okolo jedné čtvrtiny délky zubu. Tyto zuby se mohou lišit ve velikosti. Nalezneme je na premaxile, maxile, dentale, ectopterygoidu a preartikulare. Do druhého typu patří zuby úzké, silně zakřivené, enameloidová čepička zabírá přibližně 35% délky zubu. Tento typ zubů se hojně vyskytuje na dermopalatinu, coronoidech a vomeru. V oblasti branchiálního aparátu je najdeme na zubních

deskách na ceratobranchiálních, faryngobranchiálních a na faryngobranchiálním ligamentu. Do třetího typu jsou řazeny zuby malé, užší, charakteristické ostrým kuželovitým vrcholem a jen nepatrně zahnutou enameloidovou čepičkou, která zaujímá asi polovinu celkové zubní délky. Vyskytují se v zubních polích entopterygoïdu, dermometapterygoïdu a parasphenoidu, dále na zubních deskách hypobranchiálních a basibranchiálních (Clemen et al., 1998).

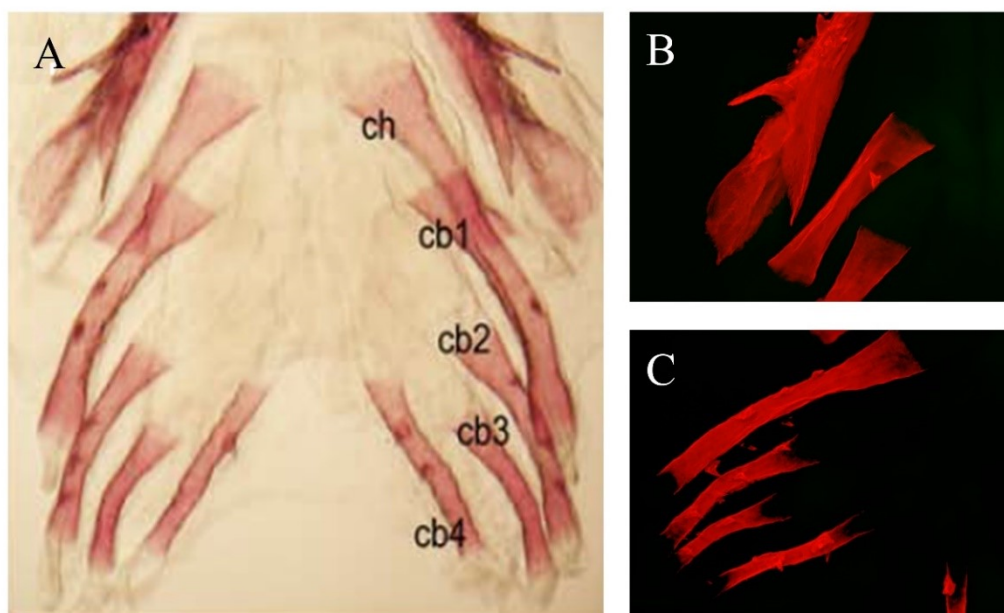
Z toho vyplývá, že jak orální, tak faryngeální zuby bichira mají stejnou vnější morfologii. Pouze zuby 1. typu se vyskytují jen v orální dutině, zatímco zuby 2. a 3. typu najdeme v celé orofaryngeální dutině. I základní stavba orálních a faryngeálních zubů je shodná – dentinový kužel s dřevnou (pulpální) dutinou a apex krytý hypermineralizovanou vrstvou (enameloid). Na bázích orálních i faryngeálních zubů vzniká kost, která jednotlivé zuby spojuje do tvorby tenké kostěné desky. Deska dále splývá u orálních zubů s kostmi lebky a představuje připojovací kost. Nejprve se předpokládalo, že připojovací kost není u bichira vyvinutá (Kerr, 1959), ale Fink (1981) navrhl hypotézu, že tato kost u bichira vyvinutá je, pouze není svým složením odlišitelná od zubonosné kosti. Tato kost by tedy mohla tvořit na branchiálních obloucích desky, které nesou zuby. Tuto teorii podporuje i předpoklad, že kost, která tvoří zubní desky na branchiálních obloucích je homologická připojovací kosti na bázích zubů většiny obratlovců (Kráľovič, 2009).

Popisování jedinci byli analyzováni pomocí metody barvení vápenatých struktur – Alizarin Red v diplomové práci Martina Kráľoviče (2009). První faryngeální zuby se objevují v larválním stádiu u jedince ve stádiu o celkové délce 11 mm, a to na ceratobranchiále prvního až čtvrtého branchiálního oblouku (bichir má pouze čtyři ceratobranchiále, viz Britz et Johnson 2003). Oproti tomu první zuby v orální oblasti vznikají dříve již u jedince 7 mm dlouhého. Na obrázku č. 8 vidíme, že tyto první zuby jsou jednoduchého kónického tvaru, mírně zahnuté. Ve srovnání se zuby v orální dutině jsou menší, užší a nacházejí se relativně daleko od sebe a pravděpodobně je jejich vznik na sobě nezávislý (Kráľovič, 2009).



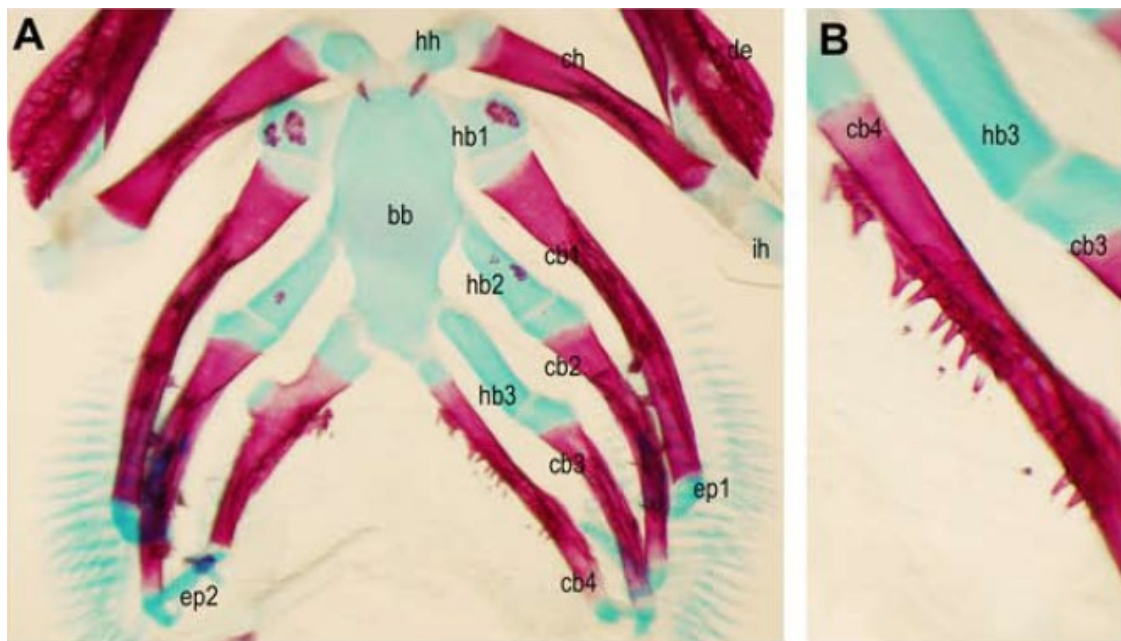
Obr. č.8. (*Polypterus senegalus* TL 11 mm) (A) Dorzální pohled na branchiální aparát. (B) Laterální pohled na branchiální aparát. Upraveno podle Rizzato et al. in prep.

U dalšího analyzovaného stádia měřícího 18,5 mm přibývají zubní pole na cb1 se dvěma hroty (Pospíšilová, 2015). U starší larvy měřící 21 mm zubů na branchiálních obloucích značně přibývá. Zuby jsou již přítomné nejen na cb1-4, ale i na obou hb1. Na cb1-3 zuby tvoří podélné řady a jsou rozmístěné v přibližně stejné vzdálenosti od sebe. Na mediální straně prvního branchiálního oblouku vznikají dvě řady zubů – jedna na anteriorní, druhá na posteriorní hraně oblouku. Na cb4 jsou kromě zubů s rozšířenou bází v jedné linii i zuby nepřipojené. Vzdálenosti u zubů na cb4 jsou menší než u osamocených zubů na cb1-3 (Kráľovič, 2009).

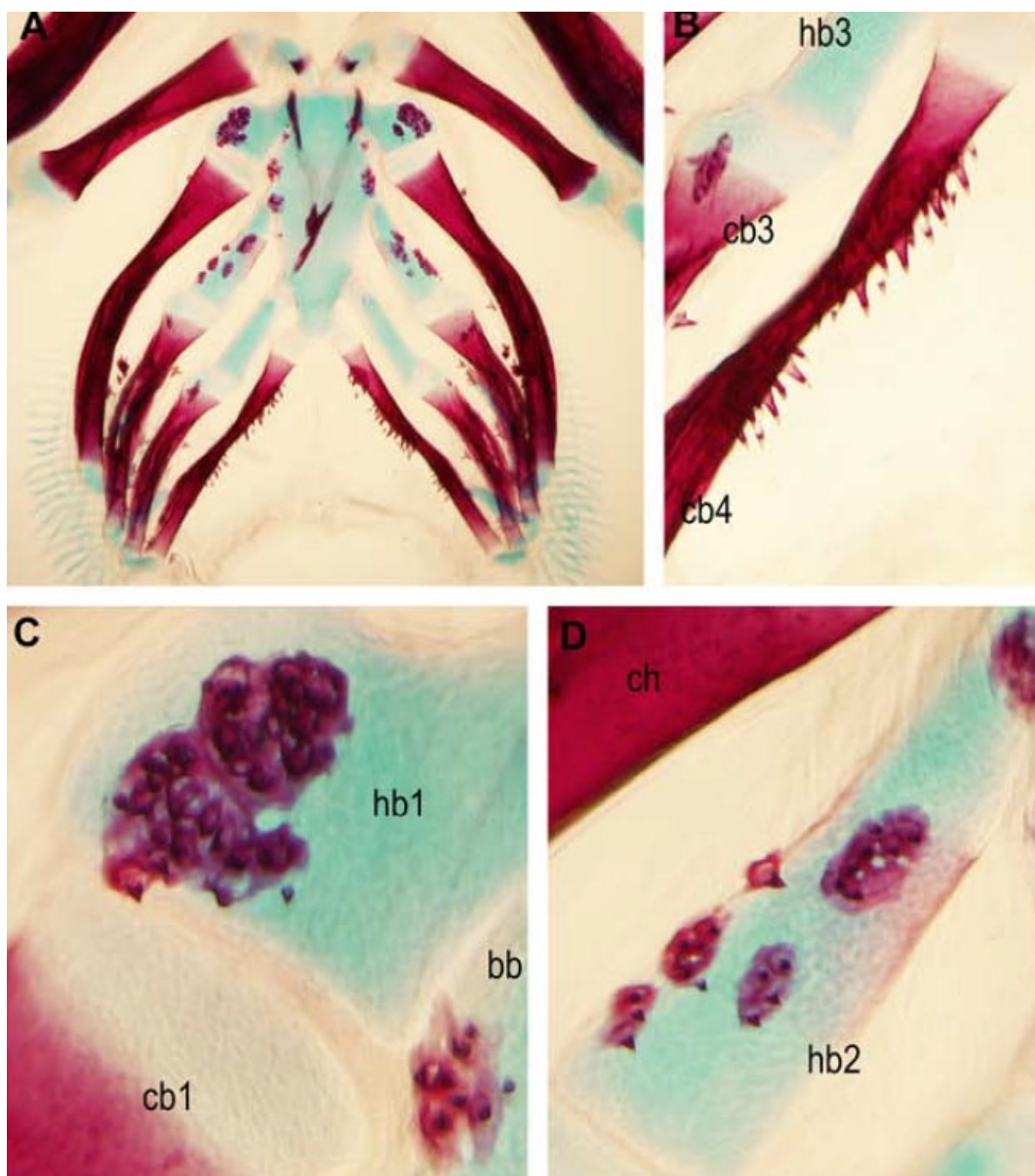


Obr. č.9. (*Polypterus senegalus* TL 21 mm) (A) Dorzální pohled na branchiální aparát. (B) Detail zubů hb1 (dorzální pohled). (C) Detail zubů na levých cb1-4. (A) upraveno podle Kráľovič (2009), (B – C) originál Anna Pospíšilová.

Na rozdíl od předchozích stádií se u larvy o velikosti 32 mm objevují na branchiálních obloucích kromě samostatných zubů i zubní desky s více zuby (viz obr. č. 10). Tyto zuby jsou spojené svými bázemi s kostí, která vznikla splynutím bází zubů. V tomto stádiu se zuby nacházejí na hb1-2 a cb1-4. Na cb1 si můžeme povšimnout zubních polí se třemi hroty (Pospíšilová, 2015). Na vnitřním povrchu cb4 bychom našli 3 zubní desky, na kterých jsou všechny zuby (připojené i nepřipojené) uspořádány v jedné linii (monostychnní uspořádání). Také si můžeme všimnout pravolevé asymetrie v utváření zubních desek a množství zubů na hb1 (viz obr.č.10). U dalšího jedince dlouhého 39 mm přibývají na zubních deskách další zuby. Tyto zuby se tvoří mimo předchozí vzniklou linii (polystychnní uspořádání) a jsou znatelně menší. Mimo již zmíněné tři velké ozubené desky se na cb4 objevují další menší zubní desky, které jsou srovnatelné s ostatními zubními deskami na ceratobranchiáliích. U larválního stádia velkého 58 mm se počet zubů nadále zvyšuje, zubní desky jsou utvořené i na okraji bb. Zubní desky na hb a bb se liší od zubních desek nacházejících se na cb – jsou více ploché, více tenké a zuby jsou kratší s relativně silnějšími bázemi (Obr. č.11). (Kráľovič, 2009)

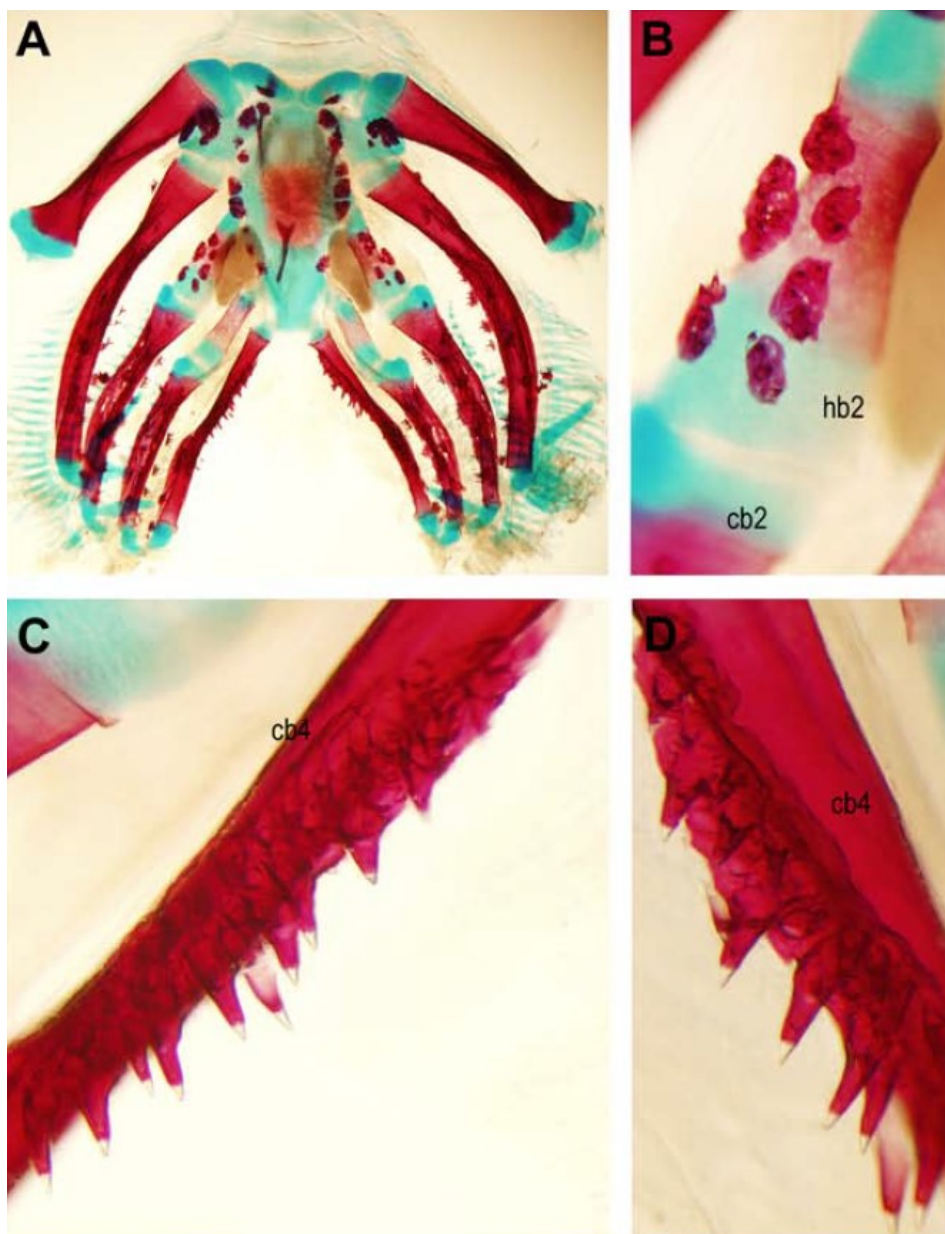


Obr. č.10. (*Polypterus senegalus* TL 32 mm) (A) Dorzální pohled na branchiální aparát. (B) Detail zubů na první cb4. Převzato z Kráľovič (2009).



Obr. č.11. (*Polypterus senegalus* TL 58 mm) (A) Dorsální pohled na branchiální aparát. (B) Detail faryngeálních zubů na levém cb4. (C) Detail zubní desky na hb1. (D) Detail faryngeálních zubů na hb2. Upraveno podle Král'ovič (2009).

Juvenil o celkové délce 70 mm má zuby na většině oporných elementech branchiálních oblouků: bb, hb1 a 2, cb1-4 (Obr. č.12). Největší velikost mají zubní desky, které nacházíme na hb1. Žádné zuby ani zubní desky se nevyskytují na hyoidním oblouku. Na velkých zubních deskách na cb4 je na rozdíl od ostatních zubních desek zřetelná okrajová řada větších zubů a menší zuby, které jsou uspořádané méně pravidelně. (Král'ovič, 2009)



Obr. č.12. (*Polypterus senegalus* TL 70 mm) (A) Dorsální pohled na branchiální aparát. (B) Detail zubů na levém hb2. (C) Detail na zubů na levém cb4. (D) Detail zubů na pravém cb4. Upraveno podle Král'ovič (2009).

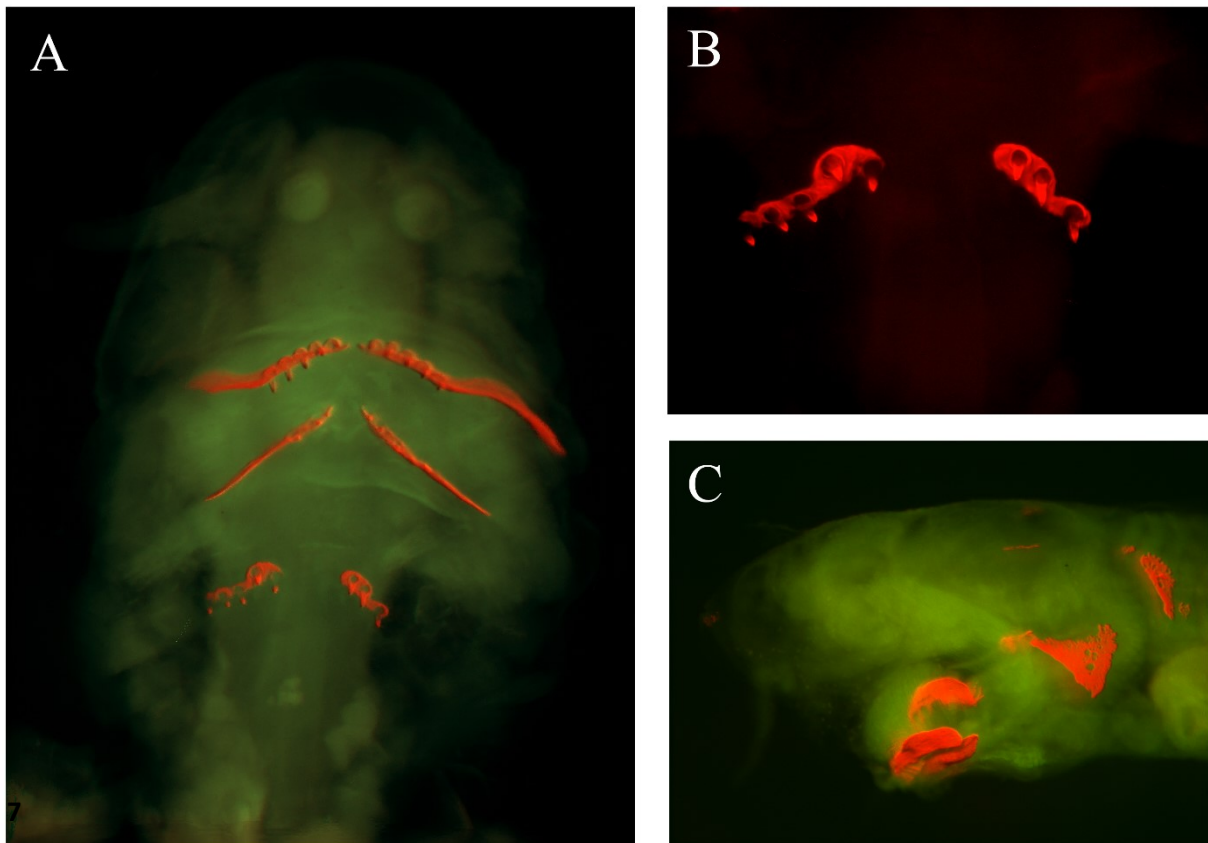
4.2. Jeseteři (Acipenseriformes)

Další skupinou, která zastává důležité postavení v rámci evoluční historie kostnatých ryb, jsou jeseteři. Jeseteři patří mezi nejstarší obratlovce, kteří na naší planetě přežili dodnes, počátek jejich evoluce se předpokládá nejméně před 200 miliony lety v období spodní jury (Bemis et al, 1997). Jeseteři patří k nejranějším liniím, a dnes se považují za sesterskou skupinu Neopterygii, do které patří kostlíni (Lepisosteiformes), kaprouni (Amiiformes) a kostnaté ryby (Teleostei) (Patterson, 1982). V současnosti jsou jediným řádem chrupavčitých ryb (Chondrostei). Rozdělujeme je do dvou čeledí: jeseterovití (Acipenseridae) zahrnující 25 druhů a veslonosovití (Polyodontidae) zahrnující 2 druhy (Nelson, 2006). Přirozeným výskytem jeseterů je výhradně severní polokoule (Findeis, 1997).

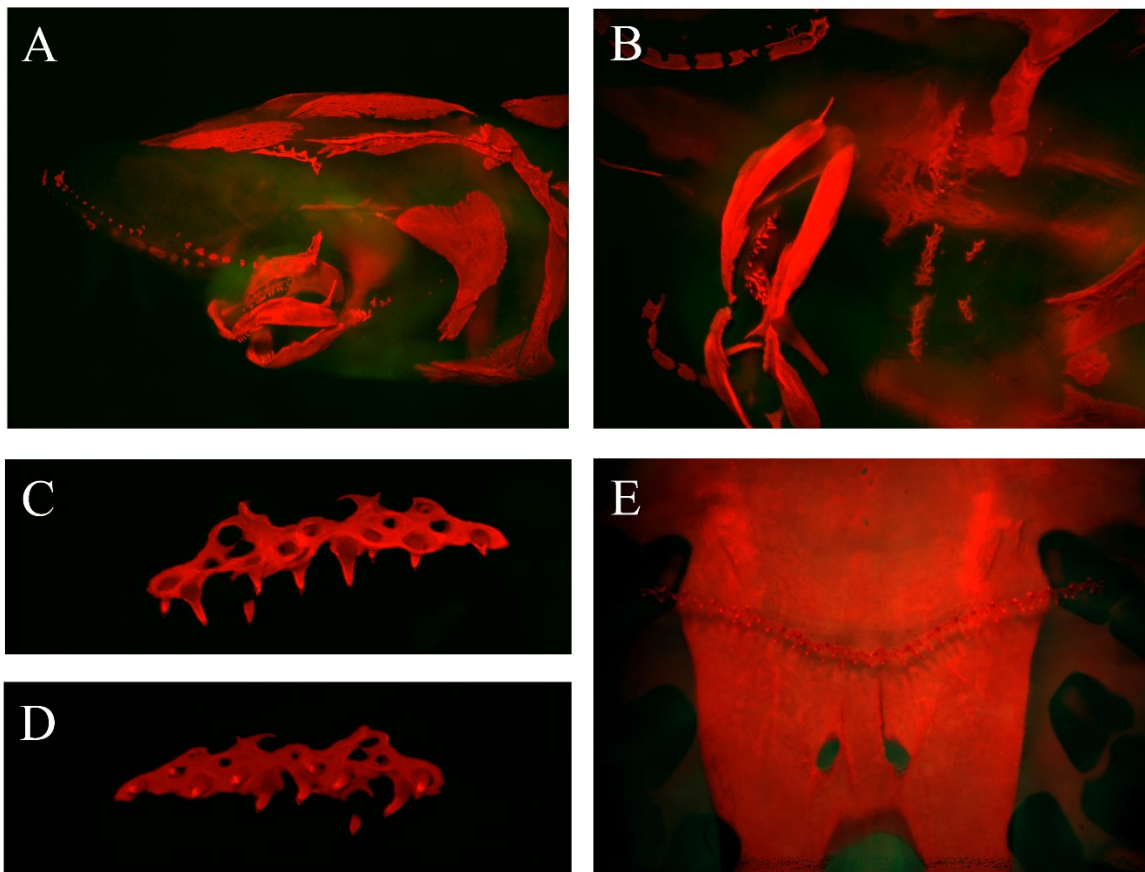
Dentice u jeseterů je redukována a vyskytuje se pouze u larválních stádií a juvenilních forem, u dospělců není pozorována, zuby patrně v průběhu růstu vypadávají (Bemis et al., 1997). Dvě zubní desky bychom našli na horní čelisti (dermopalatinum a palatopterygoid) a jednu zubní desku na dolní čelisti (dentale). Co se týká faryngeální dentice, najdeme zubní pole u jesetera na ventrální straně faryngu na hypohyale, na anteriorní části ceratohyale a hypobranchiále, a dále na ventrální straně parasphenoidu (Hilton et al, 2011). Zubní pole na parasphenoidu identifikovali Hilton et al. (2011) u druhu jesetera krátkorypého (*Acipenser brevirostrum*) jako izolované elementy náležející k parasphenoidu. Avšak v diplomové práci Anny Pospíšilové (2015) je u zkoumaného druhu jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) po provedení odříznutí dolní čelisti a ventrální části faryngeální oblasti ukázáno, že tyto zubní desky jsou přiřazeny k parasphenoidu, ventrální části prvního infra-faryngobranchiále a epibranchiále faryngeální oblasti. Obdobné zubní pole bylo popsáno i u veslonosa amerického (*Polyodon spathula*) nejprve na předním okraji druhého infra-faryngobranchiále. (Grande and Bemis, 1991, Bemis et al, 1997). U pozdější studie se ovšem ukázalo, že se jedná o zuby na prvním oblouku infra-faryngobranchiále. Zajímavé je, že i když je veslonos americký filtrátorem, stále vytváří hodně zubů jak na čelistech, tak na prvním a druhém hypobranchiále, druhém epibranchiále, hyoidním oblouku, hypohyále, infra-faryngobranchiále a na rozdíl od jesetera mu zuby nevypadají (Smith et al, 2015).

První známky faryngeální dentice u jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) se objevují ve stádiu o celkové velikosti 15 mm, a to na ventrální části faryngeálního aparátu, kde vidíme zubní desku na hypobranchiále. Na dorsální straně faryngeálního aparátu je zubní deska zcela zřetelná až u jedince o délce 16 mm, zatím bez viditelné připojovací kostěné struktury. U

dalších jedinců o celkové velikosti 23 mm a 29 mm si můžeme povšimnout asociace této zubní desky s parasphenoidem. Dále se u jedince o délce 23 mm objevuje další řada zubů na ventrální straně faryngeální oblasti. U stádia dlouhého 25 mm začíná docházet k vypadávání zubů na čelistech, jedinec o velikosti 77 mm má stále zuby na palatopterygoidu, zcela bezzubý jedinec v této práci nebyl analyzován. (Pospíšilová, 2015).



Obr. č.13. (*Acipenser ruthenus*) (A) Ventrální pohled na čelistní a faryngeální aparát (TL 15 mm). (B) Detail zubních desek na parasfenoidu (15 mm). (C) Laterální pohled hlavy směřující doleva se zubními deskami na dorsální straně faryngeální oblasti (TL 16 mm). Upraveno podle Pospíšilová et al. in prep.



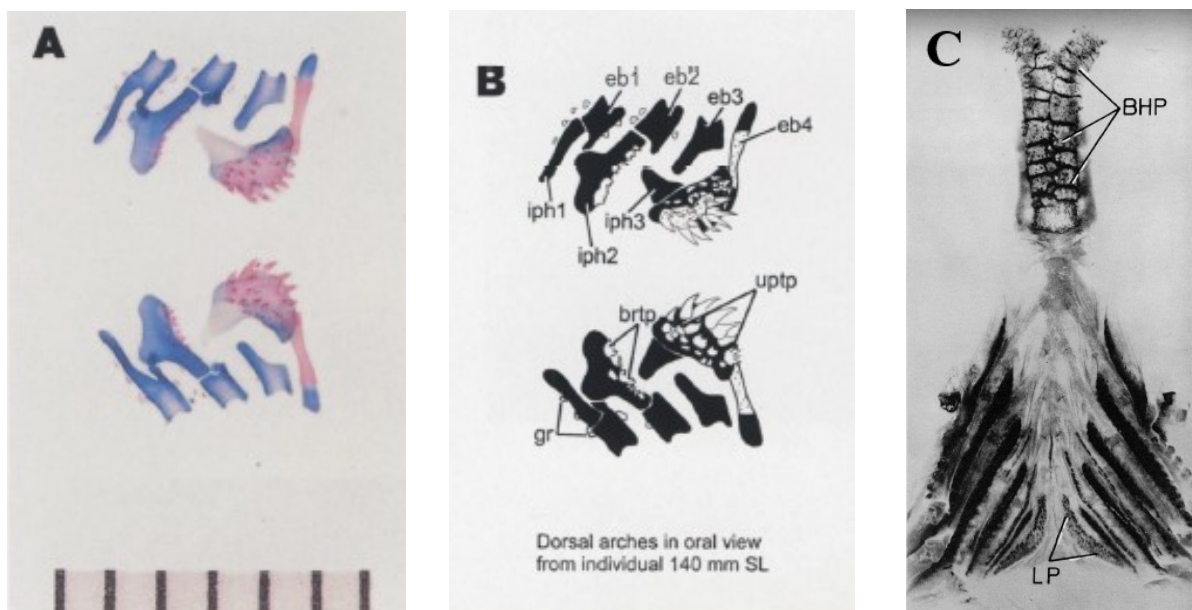
Obr. č.14. (*Acipenser ruthenus*) (A) Laterální pohled hlavy směřující doleva ukazující druhou řadu zubů na ventrální straně faryngeální oblasti (TL 23 mm). (B) Ventrolaterální pohled na orofaryngeální aparát se zubní deskou v oblasti parasphenoidu (TL 29 mm). (C) Dorsální pohled na zubní desku parasphenoidu (TL 29 mm). (D) Ventrální pohled na zubní desku parasphenoidu (TL 29 mm). (E) Detail zubních desek na parasphenoidu, s viditelným přesahem zubů na infra-faryngobranchiální a epibranchiální element (TL 77 mm). (A–D) podle Pospíšilová (2015), (E) upraveno podle Pospíšilová et al. in prep.

4.3. Kostlíni (Lepisosteiformes)

Řád kostlínů zahrnuje jednu čeleď kostlínovití (Lepisosteidae) se sedmi druhy, kteří žijí v Severní a Střední Americe.

Kostlíni mají dlouhé orální čelisti adaptované k rychlému zavření a zaútočení, což trvá v průměru 20-35 ms (Porter and Motta, 2004). Zajímavé fenotypy orální dentice bychom našli např. u kostlína *Lepisosteus osseus* také označovaného jako „dlouhonosý kostlín“, který má na protáhlých čelistech stovky malých, úzkých a špičatých zubů, mezi kterými jsou umístěny zuby podstatně větší. Dalším příkladem je *Atractosteus spatula*, který má na každé straně horní čelisti dvě řady zubů (Berkovitz et Shellis, 2017).

U kostlínů najdeme dobře vyvinutou faryngeální dentici na velmi pohyblivých horních faryngeálních kostech nebo jejich funkčních ekvivalentech, a to v podobě význačných párových zubních desek, které nejsou přímo přiřaditelné k elementům jednoho nebo více oblouků, ale mohlo by se jednat o třetí, čtvrtý a možná i pátý oblouk. Tyto zubní desky se skládají z menších zubních polí, které podporují hlavně třetí faryngobranchiále. Svým uspořádáním a umístěním se jedná o velmi unikátní struktury, kromě kostlínů je najdeme snad jen u kaprounů (Amiiformes) (Nelson, 1969). Dále najdeme linii zubních desek na druhém faryngeále a epibranchiále. Další malé zubní pole se nacházejí na dorsální faryngeální desce a spolu s pátým ceratobranchiále a posteriorním krajem přiléhajícího čtvrtého hypobranchiále a ceratobranchiále (Jollie, 1984). Na basihyale bychom našli velmi dlouhou zubní desku (viz obr. č. 15 C). Na ventrálním povrchu parasphenoidu se nachází protáhlý zubní patch s extrémně malými zuby. Dvě dlouhá zubní pole (jedno posteriorně a jedno anteriorně) s řídko rozloženými zuby se vyskytují na každém vomeru. Zuby se také nacházejí na dermopalatinech, ektopterygoidech a endopterygoidu (Grande, 2010). Dalším zajímavým znakem kostlínů je, že dermální část podlouhlého jazyka nesoucího zuby, je složena z párových řad zubních desek (Nelson, 1969).



Obr. č.15. (*Lepisosteus osseus* SL 140 mm) (A-B) Elementy branchiálního aparátu. Převzato z Grande (2010). (C) Branchiální oblouky u kostlína druhu *Lepisosteus polyrhincus*, dorsální pohled. Upraveno podle Nelson (1969).

5. Závěr

V této bakalářské práci jsem se zabývala faryngeální denticí napříč obratlovci. Faryngeální zuby se vyskytují pouze u recentních Osteichthyes. Zatímco u Sarcopterygii mají faryngeální dentici lalokoploutví, ale nikoli dvojdyšní a čtyřnožci, u Actinopterygii nacházíme velkou diverzitu, která by mohla konkurovat i diverzitě orálních dentic. Počet faryngeálních zubů se v evoluci snižoval a postupně docházelo k jejich alokaci na poslední žaberní oblouk do podoby faryngeálních čelistí. Největší rozmanitost faryngeálních dentic bychom tak našli u skupiny Teleostei. U mnoha z nich by mohly evoluční inovace spojené s faryngeálními čelistmi dosahovat makroevolučního významu a mohly by být důležitým faktorem stojícím za vysokou diverzitou této skupiny.

V poslední době se objevilo několik prací studujících patterning zubů, které se na molekulární úrovni snažily navrhnout, jakým způsobem jsou v rámci dentice přidávány jednotlivé zubní zárodky. Hypotéza od Fraser et al. (2008), tzv. periodický generátor diverzity patternu, navrhuje přítomnost několika genů, jejichž vzájemné interakce a změny v nich zodpovídají za různé fenotypy orálních dentic v rámci blízce příbuzných druhů ryb. Tímto modelem bylo docela jednoduše ukázáno, jak může obecně docházet k diverzifikaci fenotypů dentic. Bylo by zajímavé tento model v budoucnu aplikovat i na faryngeální dentici, konkrétně u bazálních linií skupiny Actinopterygii, a sledovat, jakým způsobem bude probíhat patterning dentic, u kterých se předpokládá ancestrální charakter dentic obratlovců.

Druhá část mé práce se věnovala detailnímu popisu faryngeální dentice u tří vybraných zástupců bazálních linií Actinopterygii. Bichir, jako nejbazálnější zástupce, má nejvíce zachované ancestrální uspořádání dentice ze všech tří popisovaných druhů. Již v juvenilním stádiu se u něj vyskytují faryngeální zuby na většině oporných elementech branchiálních oblouků, a to na basibranchiále, prvním i druhém hypobranchiále a prvním až čtvrtém ceratobranchiále. U jesetera na rozdíl od bichira můžeme pozorovat redukci dentice pouze na určitá místa faryngeálního aparátu, navíc se u něj zuby vyskytují pouze v larválních a juvenilních stádiích, zuby mu v průběhu vývoje vypadávají a dospělí jedinci jsou již zcela bezzubí. I když všechny zuby nakonec vypadají, faryngeální zuby se tvoří na hypohyale, ceratohyale, hypobranchiále, parasphenoidu, prvním infrafaryngobranchiále a epibranchiále. Nejméně prostudovaným zástupcem je kostlín. Ten má podle dostupné literatury zubní desky

a zubní pole přítomné na faryngobranchiálních, basihyale, parasphenoidu, vomeru, dermopalatinech, ektopterygoidech a endopterygoidech.

V rámci svého diplomového projektu bych se chtěla zaměřit na vývoj faryngeálních dentic tří výše zmíněných zástupců bazálních Actinopterygii s využitím klasických zobrazovacích a molekulárně biologických metod. Objasnění patterningu těchto klíčových zástupců nám může napovědět to, jak vypadal výchozí stav a jakými směry se ubírala evoluce dentice obratlovců.

6. Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli Mgr. Vladimíru Soukupovi Ph.D. za všechny cenné rady, připomínky a čas, který mi věnoval. Dále děkuji Mgr. Anně Pospíšilové za ochotu a za krásné obrázky, které mi poskytla do této bakalářské práce. V neposlední řadě patří mé poděkování rodičům, sestře a kamarádům za veškerou podporu a pomoc při studiu.

7. Seznam použitých zkratek

bb bazibranchiále

cb1-4 ceratobranchiále prvního až čtvrtého branchiálního oblouku

ch ceratohyale

de dentale

dpf – days post fertilization

ep epibranchiále

hb1-3 hypobranchiále prvního až třetího branchiálního oblouku

hh hypohyale

iph infrafaryngobranchiale

par – prearticulare

pas – parasphenoid

pb1-4 pharyngobranchiale

RA – retinová kyselina

sph suprafaryngobranchiale

ST – standard length

TL total length

8. Seznam použité literatury

- Abduweli D, Baba O, Tabata MJ, Higuchi K, Mitani H, & Takano Y (2014) Tooth replacement and putative odontogenic stem cell niches in pharyngeal dentition of medaka (*Oryzias latipes*). *Microscopy*, 63(2), 141–153.
- Aigler SR, Jandzik D, Hatta K, Uesugi K, Stock DW (2014) Selection and constraint underlie irreversibility of tooth loss in cypriniform fishes. *PNAS*. 111(21), 7707-7712.
- Bemis WE, Findeis EK & Grande L (1997) An overview of Acipenseriformes. *Environmental Biology of Fishes*. 48, 25-71.
- Berkovitz B & Shellis P (2017) *The Teeth of Non-Mammalian Vertebrates*. Academic Press.
- Britz R & Johnson GD (2003) On the homology of the posteriormost gill arch in polypterids (Cladistia, Actinopterygii). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 138, 495-503.
- Chai Y, Jiang, X, Ito Y, Bringas, P, Han J, Rowitch, DH, Soriano P, McMahon AP, Sucov, HM (2000) Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. *Development*. 127, 1671-1679.
- Clemen G, Bartsch P, Wacker K (1998) Dentition and dentigerous bones in juveniles and adults of *Polypterus senegalus* (Cladistia, Actinopterygii). *Annals of Anatomy*. 180, 193-288.
- Debiais-Thibaud M, Borday-Birraux V, Germon I, Bourrat F, Metcalfe CJ, Casane D and Laurenti P (2007) Development of oral and pharyngeal teeth in the medaka (*Oryzias latipes*): comparison of morphology and expression of *eve1* gene. *Journal of Experimental Zoology B (Mol. Dev. Evol.)*. 308, 693-708.
- Findeis EK (1997) Osteology and phylogenetic interrelationship of sturgeons (Acipenseridae). *Environmental Biology of Fishes*. 48, 73-126.
- Fink WL (1981) Ontogeny and phylogeny of tooth attachment modes in Actinopterygian Fishes. *Journal of Morphology*. 167, 167-184.
- Fraser GJ, Graham A, Smith MM (2004) Conserved deployment of genes during odontogenesis across osteichthyans. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*. 271, 2311-2317.
- Fraser GJ, Berkovitz BK, Graham A, Smith MM (2006) Gene deployment for tooth replacement in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a developmental model for evolution of the osteichthyan dentition. *Evolution & Development*. 8, 446-457.

- Fraser GJ, Bloomquist RF and Streelman JT (2008) A periodic pattern generator for dental diversity. *BMC Biology*. 6:32.
- Fraser GJ, Hulseley CD, Bloomquist RF, Uyesugi K, Manley NR and Streelman JT (2009) An ancient gene network is co-opted for teeth on old and new jaw. *PLoS Biology*. 7 (2).
- Fraser GJ, Bloomquist RF and Streelman JT (2013) Common developmental pathways link tooth shape to regeneration. *Developmental Biology*, 377(2), 399–414.
- Gibert Y, Bernard L, Debais-Thibaud M, Bourrat F, Joly JS, Pottin K, Meyer A, Retaux S, Stock DW, Jackman WR, Serittrakul P, Begemann G, Laudet V (2010) Formation of oral and pharyngeal dentition in teleosts depends on differential recruitment of retinoic acid signaling. *FASEB Journal*. 24, 3298-3309.
- Gibert Y, Samarut E, Pasco-viel E, Bernard L, Borday-Birraux V, Sadier A, Labbé C, Viriot L, Laudet V (2015) Altered retinoic acid signalling underpins dentition evolution. *Proc. R. Soc. B* 282: 20142764.
- Grande L & Bemis WE (1991) Osteology and phylogenetic relationships of fossil and recent paddlefishes (Polyodontidae) with comments on the interrelationships of Acipenseriformes. *Journal of Vertebrate Paleontology*, Special Memoir Number 1 (supplement to Volume 11), 1-121.
- Grande L & Bemis WE (1998) A comprehensive phylogenetic study of amiid fishes (Amiidae) based on comparative skeletal anatomy. An empirical search for interconnected patterns of natural history. *Society for Vertebrate Paleontology Memoir* 4. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 18(suppl.):1–690.
- Grande L (2010) An empirical synthetic pattern study of gars (Lepisosteiformes) and closely related species, based mostly on skeletal anatomy. *The resurrection of Holostei*.
- Harris MP, Rohner N, Schwarz H, Perathoner S, Konstantinidis & Nüsslein-Volhard C (2008) Zebrafish *eda* and *edar* Mutants Reveal Conserved and Ancestral Roles of Ectodysplasin Signaling in Vertebrates. *PLoS Genet*. 4(10)
- Hilton EJ, Grande L. & Bemis WE (2011) Skeletal Anatomy of the Shortnose Sturgeon, *Acipenser brevirostrum* Lesueur, 1818, and the Systematics of Sturgeons (Acipenseriformes, Acipenseridae). *Fieldiana Life and Earth Sciences*. 3, 1-168.
- Huysseune A & Sire J-Y (1998) Evolution of patterns and processes in teeth and tooth-related tissues in non-mammalian vertebrates. *European Journal of Oral Science*. 106(suppl 1),437–481.
- Huysseune A & Thesleff I (2004) Continuous tooth replacement: the possible involvement of epithelial stem cells. *BioEssays*. 26, 665-657.

- Huysseune A (2006) Formation of a successional dental lamina in the zebrafish (*Danio rerio*): support for a local control of replacement tooth initiation. *International Journal of Developmental Biology*. 50(7): 637-643.
- Huysseune A, Witten PE (2008) An evolutionary view on tooth development and replacement in wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Evolution & Development*. 10(1), 6–14.
- Huysseune A, Sire J-Y, Witten EP (2009) Evolutionary and developmental origins of the vertebrate dentition. *Journal of Anatomy*. 214(4), 465-476.
- Inoue JG, Miya M., Tsukamoto K, & Nishida M. (2003) Basal actinopterygian relationships: a mitogenomic perspective on the phylogeny of the ancient fish. *Molecular Phylogenetic and Evolution*. 26, 110-120.
- Jackman WR, Draper BW and Stock DW (2004) Fgf signaling is required for zebrafish tooth development. *Developmental Biology*. 274, 139-157.
- Jackman WR, Yoo JJ, Stock DW (2010) Hedgehog signaling is required at multiple stages of zebrafish tooth development. *Developmental Biology*. 10:119.
- Jernvall J, Thesleff I (2000) Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mechanisms of Development*. 92, 19±29.
- Johnson AD, Krieg PA (1994) pXeX, a vector for efficient expression of cloned sequences in *Xenopus* embryos. *Gene* 147(2): 223–226.
- Jollie M (1984) Development of the head and pectoral skeleton of *Polypterus* with a note on scales (Pisces: Actinopterygii). *Journal of Zoology, London*. 204, 469-507.
- Kague E, Gallagher M, Burke S, Parsons M, Franz-Odenaal T, Fisher S (2012) Skeletogenic Fate of Zebrafish Cranial and Trunk Neural Crest. *PLoS ONE* 7(11): e47394.
- Kague E, Wittenc PE, Soenensc M, Camposb CL, Lubianab T, Fisherd S, Hammonda C, Robson Browne K, Passos-Buenob MR, Huysseunec A (2018) Zebrafish sp7 mutants show tooth cycling independent of attachment, eruption and poor differentiation of teeth. *Developmental Biology*. 435, 176-184.
- Keränen SVE, Kettunen P, Åberg T, Thesleff I, Jernvall J. (1999) Gene expression patterns associated with suppression of odontogenesis in mouse and vole diastema regions. *Development genes and evolution*. 209, 495-506.
- Kerr T (1959) Development and structure of some actinopterygian and urodele teeth. *Proceedings of the Zoological Society of London*. 133, 401-422.
- Kraľovic M (2009) Raná morfogenéza hlavových a dentálních tkanív bichira *P. senegalus*. Diplomová práce. Katedra zoologie, PřF UK v Praze.

Kundrát M, Cruickshank ARI, Manning TW, Nudds J (2008) Embryos of therizinosauroid theropods from the Upper Cretaceous of China: diagnosis and analysis of ossification patterns. *Acta Zoologica*. 89, 231-235.

Langille RM & Hall BK (1987) Development of the Head Skeleton of the Japanese Medaka, *Oryzias latipes* (Teleostei) *Journal of Morphology* 193: 135-158.

Liem KF (1973) Evolutionary Strategies and Morphological Innovations: Cichlid Pharyngeal Jaws. *Systematic biology*. 22, 425-441.

Liem KF & Osse JWM (1975) Biological Versatility, Evolution, and Food Resource Exploitation in African Cichlid Fishes. *Integrative and Comparative Biology*. 15(2), 427–454.

Lumsden AGS (1988) Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ. *Development* 103 Supplement, 155-169.

Mabuchi K, Miya M, Azuma Y, Nishida M (2007) Independent evolution of the specialized pharyngeal jaw apparatus in cichlid and labrid fishes. *BMC Evolutionary Biology*. 7:10.

Mehta RS & Wainwright PC (2007) Raptorial jaws in the throat help moray eels swallow large prey. *Nature* volume 449, 79–82.

Mikkola ML (2008) TNF superfamily in skin appendage development. *Cytokine Growth Factor Rev*. 19(3–4): 219–230.

Mina M & Kollar EJ (1987) The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium. *Archs oral Biol*. 32(2): 123-127.

Nelson GJ (1969) Gill arches and phylogeny of fishes. with notes on the classification of vertebrates. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 141, 479-552.

Nelson GJ (1970) Pharyngeal denticles (placoid scales) of sharks, with notes on the dermal skeleton of vertebrates. *American Museum Novitates*. 2415, 1–26.

Pasco-Viel E, Charles C, Chevret P, Semon M, Tafforeau P, Viriot L, Laudet V (2010) Evolutionary Trends of the Pharyngeal Dentition in Cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysi). *PLoS ONE*. 5(6): 11293.

Patterson C (1982) Morphology and Interrelationships of Primitive Actinopterygian Fishes. *Amer. Zool*. 22, 241-259.

Perea S, Bohme M, Zupancic P, Freyhof J, Sanda R, Ozulug M, Abdoli A, Doadrio I. (2010) Phylogenetic relationships and biogeographical patterns in Circum-Mediterranean subfamily Leuciscinae (Teleostei, Cyprinidae) inferred from both mitochondrial and nuclear data. *BMC Evol. Biol*. 10, 265.

- Pispa J & Thesleff I (2003) Mechanisms of ectodermal organogenesis. Developmental Biology 262(2): 195-205.
- Porter HT & Motta PJ (2004) A comparison of strike and prey capture kinematics of three species of piscivorous fishes: Florida gar (*Lepisosteus platyrhincus*), redfin needlefish (*Strongylura notata*), and great barracuda (*Sphyraena barracuda*). *Marine Biology*. 145: 989.
- Pospíšilová A (2015) Srovnání kraniální skeletogeneze a odontogeneze u vybraných skupin paprskoploutvých ryb. Diplomová práce. Katedra zoologie, PřF UK v Praze.
- Pospíšilová A, Štundl J, Černý R, Soukup V (in prep.) Development of dentition in the sturgeon (*Acipenser ruthenus*)
- Reif WE (1982) Evolution of Dermal Skeleton and Dentition in Vertebrates. *Evolutionary Biology*. 287-368.
- Reisz RR & Smith MM (2001) Developmental biology: Lungfish dental pattern conserved for 360 Myr. *Nature*. 411,548.
- Rhinn M, Dolle P. 2012 Retinoic acid signalling during development. *Development* 139, 843–858.
- Rizzato, Pospíšilová A (in prep) Development of dentition in the bichir (*Polypterus senegalus*)
- Rücklin M, Donoghue PCJ, Johanson Z, Trinajstić K, Marone F & Stampanoni M (2012) Development of teeth and jaws in the earliest jawed vertebrates. Nature. 491: 748.
- Sasagawa I, Ishiyama M, Yokosuka H, Mikami M (2013) Teeth and ganoid scales in *Polypterus* and *Lepisosteus*, the basic actinopterygian fish: An approach to understand the origin of the tooth enamel. *Journal of Oral Biosciences*. 55, 76-84.
- Schoch RR (2001) Can metamorphosis be recognised in Palaeozoic amphibians? *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie. Abhandlungen*. 220, 335–367.
- Smith MM (2003) Vertebrate dentition and the origin of jaws: when and how pattern evolved. *Evolution & Development*. 5, 394-413.
- Smith MM & Coates MI (2000) Evolutionary origins of teeth and jaws: developmental models and phylogenetic patterns. In: *Development, Function and Evolution of Teeth* (eds. Teaford MF, Smith MM, Ferguson MWJ). pp. 133-151. Cambridge University Press, Cambridge.
- Smith MM & Coates MI (2001) The evolution of vertebrate dentitions: phylogenetic pattern and developmental models. In: *Major Events in Early Vertebrate Evolution*

(Paleontology, Phylogeny, Genetics and Development) (ed. Ahlberg PE). pp. 223-240. Taylor and Francis, London and New York.

Smith MM, Fraser GJ and Mitsiadis TA (2009) Dental lamina as source of odontogenic stem cells: evolutionary origins and developmental control of tooth generation in gnathostomes. *Journal of Experimental Zoology B (MOL DEV EVOL)*. 312B, (Epub ahead of print).

Smith MM, Okabe M, Joss J. (2008) Spatial and temporal pattern for the dentition in the Australian lungfish revealed with sonic hedgehog expression profile. *Proceeding of The Royal Society London B*. 276, 1-9.

Smith MM, Johanson Z, Butts T, Ericsson R, Modrell M, Tulenko FJ, Davis M, Fraser GJ (2015) Making teeth to order: conserved genes reveal an ancient molecular pattern in paddlefish (Actinopterygii). *Proc. R. Soc. B*. 282, 20142700.

Sire JY & Huysseune A (2003) Formation of dermal skeletal and dental tissues in fish: a comparative and evolutionary approach. *Biol. Rev.* 78. 219-249.

Stock DW (2001) The genetic basis of modularity in the development and evolution of the vertebrate dentition. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* 356, 1633-1653.

Stock DW Jackman WR Trapani J (2006) Developmental genetic mechanisms of evolutionary tooth loss in cypriniform fishes. *Development*. 133, 3127–3137.

Soukup V, Epperlen H-H, Horáček I and Cerny R (2008) Dual epithelial origin of vertebrate oral teeth. *Nature*. 455, 795-798.

Thesleff I (2003) Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. *Journal of Cell Science* 116, 1647-1648.

Trapani J (2001) Position of Developing Replacement Teeth in Teleosts.

Tucker AS Fraser GJ (2014) Evolution and developmental diversity of tooth regeneration. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 25–26. 71–80.

Vandenplas S, De Clerq A & Huysseune A (2014) Tooth replacement without a dental lamina: The search for epithelial stem cells in *Polypterus senegalus*. *J. exp. Zool. (Mol. Dev. Evo.)*. 322B. 281-293.

Van der heyden C & Huysseune A. (2000). Dynamics of tooth formation and replacement in the zebrafish (*Danio rerio*) (Teleostei, Cyprinidae). *Developmental Dynamics*. 219, 486–496.

Vandewalle P, Parmentier É, & Chardon M (2000) The branchial skelet in teleost feeding. *Cybium*. 24(4), 319-342.

Wainwright PC, Smith WL, Price SA, Tang KL, Sparks JS, Ferry LA, Kuhn KL, Eytan RI, Near TJ (2012) The Evolution of Pharyngognathy: A Phylogenetic and Functional Appraisal of the Pharyngeal Jaw Key Innovation in Labroid Fishes and Beyond. *Systematic Biology*. 61, 1001-1027.

Wise SB & Stock DW (2010) *bmp2b* and *bmp4* Are Dispensable for Zebrafish Tooth Development. *Developmental Dynamics*. 239: 2534–2546.

Nepřímé citace

Roček Z (2002) *Historie obratlovců. Evoluce, fylogeneze, systém*. Academia, Praha. Citováno podle Pospíšilová (2015).