UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Katedra Zoologie

DIPLOMOVÁ PRÁCE

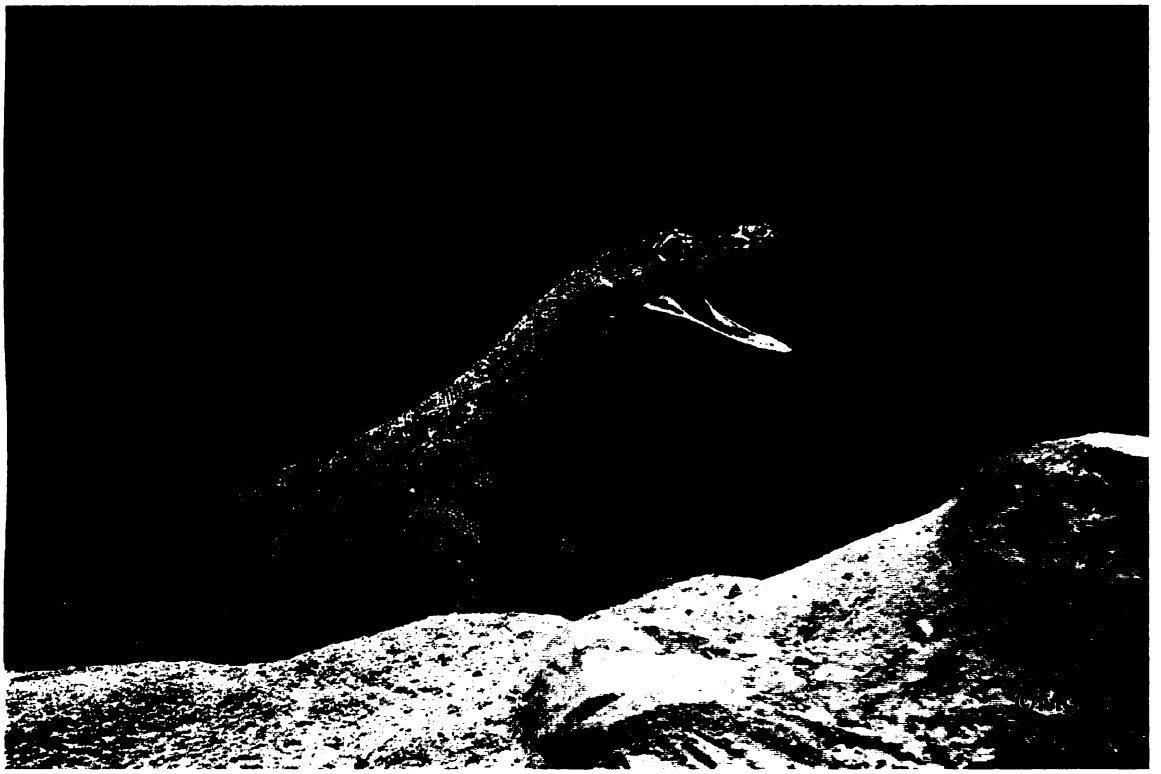
Vývoj dentice ve skupině Toxicofera (Lepidosauria, Squamata): dentice varana mangrovového

Dental development in Toxicofera (Lepidosauria, Squamata): *Varanus indicus*

Martina Gregorovičová

Školitel: Prof. RNDr. Ivan Horáček, CSc.

Praha 2008



„There are only two kinds of lizards, goannas and goanna food.“

Dennis R. King

Poděkování

Především bych chtěla poděkovat Prof. RNDr. Ivanu Horáčkovi, CSc. za neocenitelnou pomoc a trpělivost při vedení mé diplomové práce.

Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Oldřichu Zahradníčkovi za odbornou pomoc, tvorbu fotografií v Příloze 1 a věnování uhynulého vylíhlého mláděte varana nilského pro mou diplomovou práci, na níž se podílel jako konzultant.

Obrovský dík patří panu Petru Velenskému, kurátoru úseku plazů ZOO Praha, za podporu a poskytnutí snůšek varana mangrovového, bez nichž by tato práce vůbec nevznikla.

Nemenší dík dále patří Doc. RNDr. Danielu Fryntovi, Ph.D. a Bc. Petře Frýdlové za věnování uhynulého čerstvě vylíhlého mláděte varana mangrovového, dále pak Mgr. Robertu Černému, Ph.D. a Mgr. Martině Pokorné za užitečné rady a odbornou pomoc nejen při zpracovávání materiálu a také Prof. RNDr. Jaroslavu Smržovi, CSc. za zapůjčení mikrotomu Leica, na němž byl můj materiál zpracován.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat mému kamarádovi Tomáši Bergerovi za vydatnou grafickou podporu a pomoc při vytváření přílohové části diplomové práce.

Na závěr bych chtěla poděkovat mým rodičům Evě a Mirkovi, sestře Kláře a kamarádkám, jmenovitě Věře Opatové, Lucce Fuchsové, Petře Arnoštové a Vendy Pospíchalové, za podporu, kterou mi projevili.

Za největší podporu a trpělivost děkuji především mému drahému příteli Filipovi, jehož neuvěřitelná laskavost, trpělivost a rady mi během tvorby mé diplomové práce velice pomohly.

Tuto práci věnuji gekonu Hugovi von Staufenbergovi.

Prohlašuji, že jsem práci vypracovala samostatně za použití pouze uvedené literatury.

Martina Gregorovičová

Abstrakt

Práce shrnuje výsledky první ucelené studie dentální embryogeneze čeledi Varanidae, jedné z hlavních čeledí vývojově mimořádně významné skupiny Toxicofera. Technikami makromorfologické a histologické analýzy byla vyšetřena série 15 embryí varana mangrovového (*Varanus indicus* Daudin, 1802) pokrývající úsek od prvních počátků odontogeneze po časnou postnatální fázi. Detailně jsou zhodnoceny poměry diferenciace odontogenetického epitelu a zubní lišty, stadialita embryogeneze, specifika jednotlivých zubních generací včetně histologie příslušných zubních zárodků. Zvláštní pozornost je věnována rovněž embryogenezi vaječného zubu, postupu ankylózi a kontextuálním faktorům odontogeneze.

Ve srovnání s jinými modelovými druhy má varan mangrovový extrémně dlouhou inkubační dobu (6 měsíců) a odontogeneze probíhá v průběhu celého tohoto období, počínaje 24. dnem kdy bylo poprvé zaznamenáno plakodální zesílení odontogenetického epitelu. Z těchto struktur se diferencují zuby embryonální generace, založené malými buněčnými populacemi bezprostředně pod povrchem epiteliální výstelky úst. Funkční generace zubů vzniká až ve druhé třetině embryogeneze z velmi početných buněčných populací v terminálních výběžcích hluboce invaginované zubní lišty. Rozdíly mezi zárodky embryonální a funkční generace jsou mimořádně velké i v řadě dalších parametrů a výrazně převyšují rozdíly zaznamenané u jiných modelových skupin Lepidosauria (velikost zárodků, pozice zakládání zárodků, účast buněčných populací na zakládání zubních zárodků, dynamika amelogeneze atd.).

Zárodky zubů funkční generace vykazují některé znaky zubních primordií savců, které nebyly u Lepidosauria známy (hvězdicové retikulum, stratum intermedium aj.). Vaječný zub se zakládá jako zárodek funkční zubní generace a má atributy pravého zubu, ačkoliv se oproti zárodkům funkčních generací zakládá v mělce invaginovaném odontogenetickém epitelu. Je zpočátku tvořen dvěma zárodky, z nichž jeden degeneruje a druhý se posouvá do středu špičky rostra. U zárodků a zubů funkčních generací byla pozorována pleurodontní ankylóza od 63. dne vývoje na vnitřní straně kosti. Dlouhá embryogeneze a velké buněčně populace zubních zárodků vytvářejí značný potenciál k adaptivním úpravám dentice, dokumentovaným srovnáním poměrů u postnidálních mláďat studovaného druhu a varana nilského (*Varanus niloticus*), jejichž odlišnosti přesahují úroveň vnitrorodové proměnlivosti u savců.

Abstract

The present thesis provides the first study on dental embryogenesis of Varanidae, one of key taxa of the important group of lepidosaurian reptiles, Toxicofera. Macromorphological and histological analyses applied on a series of 15 embryos of *Varanus indicus* (from 10th to 160th embryonal day) enabled to map in detail beginning and essential stadiality of odontogenesis, including pathways of morphological development of dental lamina and teeth primordia of individual teeth generations, embryogenesis of egg tooth, dynamics of ankylosis and contextual factors of the odonotogenetic dynamics.

In comparison to other model reptiles, mangrove monitor exhibits extremely long period of embryonal development lasting for 6 months. The odontogenesis begun in 24 embryonal day with placodal thickenning of the odontogenetic epithelium which immediately produced teeth of the 1st embryonal generation characterized by quite a small founder cell populations and developing in a very shallow invagination only. Teeth of the functional generation originated much later, at the beginning of the second third of the embryonal period, from a very large cell populations along the apical extensions of the deeply invaginated bilaminar dental lamina. The differences between the teeth of the both generations were remarkably large, much larger than those observed in any other group of Lepidosauria.

Primordia of the functional generation teeth were extremely large and showed even certain structures hitherto not described in Lepidosauria but known from the mammalian teeth primordia (stellate reticulum, stratum intermedium, heterotopy of IDE histodifferentiation, extensively developed cervical loops etc.) except for the enamel knot. The egg tooth originated in form of a functional tooth but from a shallow invagination at the messial extension of dental lamina. First is shows a symetrical appearance of two primordia, of which the right one is subsequently reduced and disappeared. Since 63th embryonal day the pleurodontal ankylosis of the functional teeth to inner facies of jaw bones was observed, apparently initiated by conspicuous asymetry of cervical loops. The prolonged embryonal development and large cell populations characterising teeth of the functional generation dispose obviously the teeth to fine adaptive rearrangements. An extreme span of such rearrangements were illustrated by comparison of the postnatal dentition of the focused species and that in *Varanus niloticus* - the differences exceed the level of variation within any mamalian genus.

Obsah

1. Úvod **1**

1.1. Základní charakteristicky odontogeneze plazů 3
1.1.1. Zubní generace 6
1.1.2. Ankylóza 8
1.1.3. Vaječný zub 10

1.2. Stadialita u plazů 11

1.3. Shrnutí úvodu a hlavní cíle diplomové práce 13

2. Materiál a metodika **15**

2.1. Materiál 15

2.2. Metodika 16
2.2.1. Fotodokumentace stádií 16
2.2.2. Příprava vzorků pro histologické řezy 17
2.2.3. Pozorování, fotodokumentace a interpretace materiálu 22

3. Výsledky **23**

3.1. Postnatální dentice 23

3.2. Základní charakteristiky embryonální stadiality 23

3.3. Diferenciace odontogenetického epitelu 26

3.4. Zubní generace 27

3.5. Ankylóza 29

3.6. Vaječný zub 30

3.7. Závěrečné shrnutí 31

4. Diskuze **34**

5. Závěr **41**

6. Literatura **43**

7. Přílohy **51**

Použité zkratky pojmů

am	ameloblasts (ameloblasty)
an	ankylosis (ankylóza)
bl	basal lamina (bazální lamina)
cl	cervical loop (krčkový záhyb)
db	dentary bone (zubonosná kost)
de	dentine (dentin)
dl	dental lamina (zubní lišta)
do	dental organ (zubotvorný orgán)
dp	dental papilla (dentální papila)
en	enamel (sklovina)
ep	epthelial band (epiteliální zesílení)
ide	inner dental epithelium (vnitřní sklovinotvorný epitel)
mc	Meckel cartilage (Meckelova chrupavka)
me	mesenchyme (mezenchym)
nc	nasal cartilage (nasální chrupavka)
od	odontoblasts (odontoblasty)
ode	outer dental epithelium (vnější sklovinotvorný epitel)
oe	odontogenic developmental modules (buňky napomáhající odontogenetickému vývoji)
pd	predentine (predentin)
pr	periodotum
pream	preameloblasts (preameloblasty)
preod	preodontoblasts (preodontoblasty)
si	stratum intermedium
sr	stelate reticulum (hvězdicové retikulum)
tg	tooth germ (zubní zárodek)
th	tooth (zub)
VNO	vomeronasal organ (vomeronasální orgán)

1. Úvod

Zub (latinsky *dens*, řecky *odus*) je tvrdý útvar v dutině ústní většiny obratlovců. Soubor zubů tvoří dentici, která slouží zejména k uchopování, oddělování a rozmělňování potravy a také k obraně a útoku a je skutečným funkčním celkem. Zuby a dentice jsou základním znakem Craniata a charakteristikou každého taxonu (McCollum & Sharpe, 2001), vývojově však nemusí být primárně vázány na čelist (Smith, 2003). Zuby jsou produkty napětí mezi strukturou a funkcí. Jejich tvar a další specifika jsou výsledkem modifikací vývojových a regulačních mechanismů embryogeneze zubu a současně výsledkem selekce funkčního přizpůsobení zubu k aktuální potravní nabídce. Jejich vývoj je jednoznačně vymezen prostorovými možnostmi embryonálního vývoje a současně historickými omezeními. Novinky v uspořádání mechanismů zubní embryogeneze představují nejvýznamnější určující znaky vysokých taxonů.

Zubní základy vznikají na rozhraní ektodermu a mezenchymu v prostoru ústní dutiny, mohou však vznikat i v hltanu na rozhraní entodermu a mezenchymu (Osborn, 1971; Lemus et al., 1986; Lemus, 1995; Huysseune et al., 1998). V různém stádiu vývoje se zubní základy připojují ke kostem čelistí. U Amniota probíhá vývoj zubů a čelistí v prostorové koordinaci. U Anamnia mohou však zuby vznikat potenciálně na všech kostech ústní dutiny, na měkké výstelce úst včetně povrchu jazyka, a rovněž na skeletu žaberních oblouků (Huysseune et al., 1998; Van der heyden et al., 2000; Witsuba et al., 2002; Béal et al., 2007).

Pro Amniota je typická vazba zubů na dermální kosti čelistí či další kosti (pterygoid, vomer, palatine)(Mahler & Kearney, 2006). Jako odvozený stav se zde objevuje i sekundární ztráta zubů (želvy, ptáci). Vrcholný rozvoj zubů a dentice pak nacházíme u savců, pro které je charakteristická obrovská variabilita ve vývoji, morfologii i funkčnosti jednotlivých zubů i celé dentice (Kozawa et al., 1997; Jernvall & Han-Sung Jung, 2000; Peterkova et al., 2002, 2006 aj.).

Poznatky o embryogenezi zubů a dentice, včetně detailních analýz zúčastněných regulačních kaskád, představují dnes neobyčejně členitý a komplexní informační aparát zohledňovaný průběžně takřka ve všech kompendiích moderní embryologie a evoluční vývojové genetiky ("evo-devo"). Podstatná část těchto poznatků byla však získána pouze na několika modelových druzích - především na laboratorní myši a rybce *Danio rerio*. Znalosti o specifikách jiných skupin a cestách adaptivních přestaveb zúčastněných mechanismů jsou dosud spíše jen ojedinělé. V plném rozsahu to platí o plazech. Ačkoliv jsou plazi velice početnou a heterogenní skupinou, naše znalosti ohledně vývoje zubů, dentice či genové exprese ovlivňující vývoj a vznik zubu jsou v zásadě velice omezené, a to

přesto, že znalosti o vývoji plazí dentice a zubů by mohly napomoci k dalšímu pochopení odontogeneze i rozluštění případných evolučních otázek v oblasti vzniku a vývoje savčí dentice (Osborn & Crompton, 1973; Osborn, 1975; Osborn, 1984; Smith, 2003). Jako potenciální modelová skupina k řešení těchto otázek jsou plazi vhodní nejen pro morfologicky přehlednou, uniformně organizovanou a polyfyodontní dentici, ale i proto, že manipulace s embryologickým materiálem je mnohem jednodušší jak ve srovnání s živorodými savci, tak s rybami či obojživelníky. Vývoj embrya zde, obecně shrnuto, probíhá v externím vejci, které samice vyklade a s vejcem pak může být jednoduše zacházeno (Lubkin, 1997).

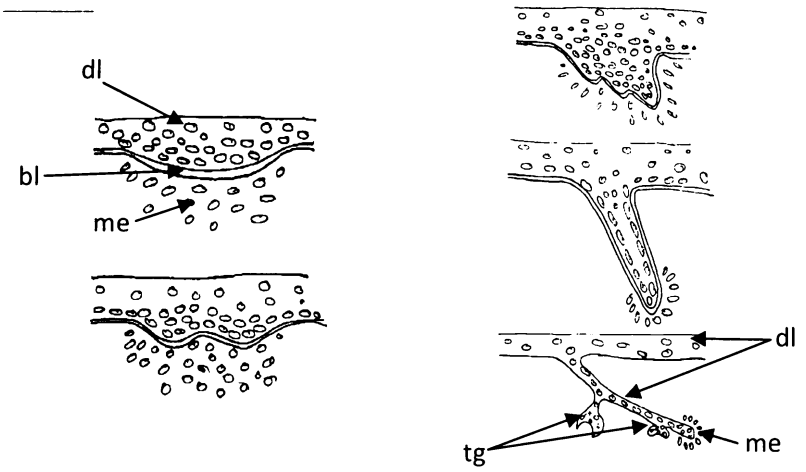
Přestože celkový objem poznatků o odontogenezi plazů je velmi malý ve srovnání s poznatky o savcích či rybách, existují i zde velmi podrobné studie, které ilustrují poměrně podrobně poměry přinejmenším u několika taxonů. Skupiny, ktreré z tohoto důvodu mohou být pokládány za modelové skupiny plazů, jsou zejména následující: krokodýlovití (Miller & Radnor, 1970; Ferguson, 1981; Westergaard & Ferguson, 1986, 1987, 1990; Beal & Webb, 1989; Kieser et al., 1993; Osborn, 1998; McIntosh et al., 2002), scinkové (Greer, 1991; Townsend et al., 1999; Mohammed et al., 2002; Delgado et al., 2004) a hadi (Tomes, 1874; Jackson, 2002, 2003, 2007; Buchtova et al., 2007; Vonk et al., 2008; Zahradnicek et al., IN PRESS) a to zřejmě díky snadné dostupnosti a poměrně jednoduchému množení v zajetí. Dalšími relativně podrobně zpracovanými skupinami jsou anolisové (Lemus et al., 1980; Piesco et al., 1985), gekoni (Westergaard, 1986; Sumida & Murphy, 1987), slepýši (Tomes, 1875; Cooper, 1966; Rocek, 1980; Westergaard, 1986, 1988) a ještěrky rodu *Lacerta* (Tomes, 1875; Osborn, 1971; Westergaard, 1986, 1988). U dalších skupin plazů, jako jsou třeba varani (Varanidae) či korovci (Helodermatidae), však podobné informace takřka úplně chybí - zjevně vzhledem k obtížnému získávání potřebného embryonálního materiálu.

Všeobecně můžeme plazí zuby charakterizovat jako jednoduché, kónické, špičaté a nejčastěji s pleurodontním přichycením zubu ke kosti (Romer, 1956; Peyer, 1968; Edmund, 1969). Nicméně novější studie než výše zmíněné ukazují na výrazně větší heterogenitu plazích zubů a dentice, než se předpokládalo. Mnoho těchto modifikací vzniká jako variace rozměru a proporcí kónického zubu. Tvar zubů je nejvíce ovlivněn typem přijímané potravy (Pregill, 1984; Estes & Williams, 1984; Sumida & Murphy, 1987; Mateo & Lopez-Jurado, 1997). U gekonů, varana nilského (*Varanus niloticus*), tilikvi (*Tiliqua scincoides*), dvouplaza (*Amphisbaena ridleyi*) či dracény (*Draceana guianensis*) byly pozorovány zuby vícehrbolkaté v souvislosti s příjmem hmyzožravé stravy (gekoni) či velmi tvrdé, tzv. durofágní, potravy jako jsou kraby, měkkýši apod. (varan nilský, *Amphisbaena*, dracéna, tilikva)(Pregill, 1984; Estes & Williams, 1984; Sumida & Murphy, 1987).

1.1. Základní charakteristiky odontogeneze plazů

Zuby jsou základní synapomorfií všech Craniata a totéž platí i o postupu jejich embyogeneze. V tomto směru neudivuje, že všechny shora zmíněné studie, zabývající se stadialitou vývoje plazích zubů, potvrzují, že jednotlivá stádia zubního vývoje, podrobně definovaná klasickými studiemi o savčí odontogenezi (Tomes, 1850; Schour, 1929; Osborn, 1984; Kozawa et al., 1997; Jernvall & Han-Sung Jung, 2000; Peterkova et al., 2006) vyznačují i postup odontogeneze u plazů.

Nejranější známkou zubního vývoje je lokální zesílení epitelové výstelky ústní dutiny vytvářející posléze souvislý pruh předpokládaných zubních oblouků. Tento útvar, resp. jeho další vývojová stadia, je označován termínem zubní lišta (*lamina dentalis*). Zubní lišta (obr. 1.) invaginuje do mezenchymu na místech budoucích zubů a postupně se vyvíjí v pupen (*bud*), pohárek (*cap*) a zvon (*bell*) (Smith & Coates, 2000).



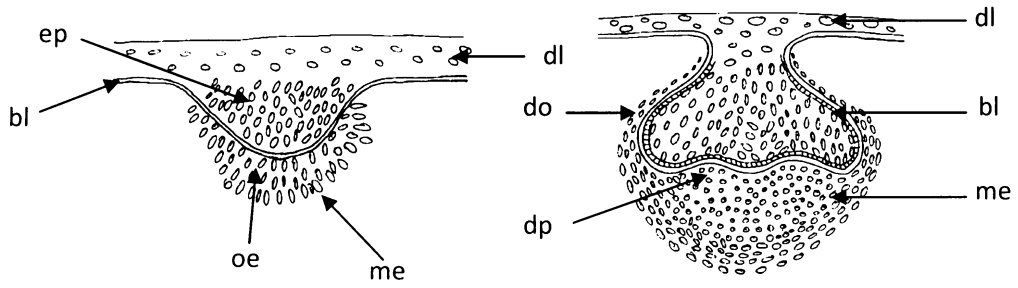
Obr. 1. Vývoj zubní lišty, podle (Smith & Coates, 2000).

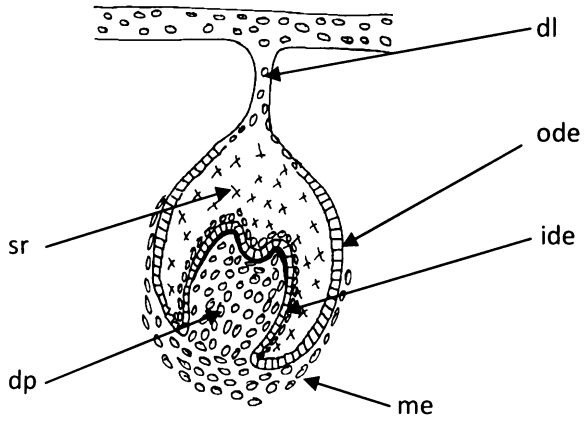
Tato morfodiferenciace je kontrolována epitelio-mezenchymálními interakcemi (Huysseune et al., 1998; Van der heyden et al., 2000). Zubní lišta podle Reifa (1982) určuje strukturní kontrolu tvaru, pozice a časování vývoje jednotlivých zubů. Formování zubní lišty je často chápano jako prerekvizita pro zubní iniciaci. Nejen u různých Anamnia, ale i u plazů mohou však být nejranější zuby iniciovány z orálního povrchu epitelu předtím, než je zubní lišta vytvořena. Westergaard (1986, 1988) konstatuje tuto skutečnost u hatérie novozélandské (*Sphenodon punctatus*), aligátora severoamerického (*Alligator mississippiensis*) a gekona (*Cnemaspis kandiana*) u nichž se rané zuby inicialní generace diferencují přímo z

povrchové vrstvy odontogenetického epitelu. U ještěrky obecné (*Lacerta agilis*) a slepýše křehkého (*Anguis fragilis*) byl však tento vývoj omezen jen na několik zubů a na velice krátký úsek časné embryogeneze (Westergaard, 1986, 1988). Navíc u gekona, ještěrky i slepýše byly zuby vždy spojeny v nějakém stadiu vývoje se zubní lištou. Tím se lišily od zubů hatérie a aligátora. Nicméně všechny funkční zuby se již ze zubní lišty vyvíjejí (Westergaard, 1986; Westergaard & Ferguson, 1986; Sire at al., 2002). Podle Westergaarda & Fergusona (1986) se u aligátora může dokonce zubní lišta vyvíjet nezávisle na zubech a má dvě úspěšná po sobě jdoucí stádia vývoje. První je vývoj na začátku čelisti přerůstáním operkula a uzavíráním dentálního žlábku, což pokračuje posteriorním vytvořením zubní „prolaminy" (nedentální ztluštění orálního epitelu do mezenchymu). Tato „prolamina" se později prodlužuje do čelisti jako typická dvouvrstevná zubní lišta. Přeměna jednoho typu vytváření zubní lišty do druhého je pozvolné. U Squamata je zubní lišta charakterizována jako dvouvrstevná struktura, která se zanořuje z bukálního epitelu hluboko do čelistního mezenchymu (Sire et al., 2002). Na apikální bázi odškrcuje pak zubní lišta primordia jednotlivých zubů funkční generace, které se diferencují v zubotvorné orgány a prodělávají standardní embryogenezi odpovídající stadialitě zubního vývoje savčího modelu (Westergaard, 1986; Westergaard & Ferguson, 1986; Sire et al., 2002).

Zubní zárodek prodělává velice složitý vývoj, na jehož konci se zárodek stává funkčním zubem nebo je zpětně resorbován, aniž by se kdy funkčním zubem stal (Poole, 1957; Piesco & Kallenbach, 1985; Westergaard & Ferguson, 1986; Lemus et al., 1986; Westergaard, 1988; Lemus, 1995; Sire et al., 2002; Kearney & Rieppel, 2006). Morfologická a fyziologická diferenciace zubního zárodku je velice složitá, faktory, které je ovlivňují, nejsou u plazů prostudovány (Kearney & Rieppel, 2006).

Morfologickou diferenciaci charakterizují typická stadia zubního vývoje: vznik zubního zárodku je iniciován ze stádia plakody (*placode stage*) (Westergaard & Ferguson, 1986). Tato plakoda je ztluštěninou orálního epitelu, kdy je mezenchym hustě kondenzován pod orálním epitelem. Je možné, že plakody dvou prvních zubních zárodků, se objevují bez jakékoli viditelné známky kondenzace epitelu (Westergaard, 1986). Později se z epiteliální plakody stává stádium pupenu (*bud*). Následuje stádium čepičky či pohárku (*cap*) a po něm stádium zvonu (*bell*) (obr. 2.).





Obr. 2. Ontogenetická stádia zubního zárodku, podle (Smith & Coates, 2000).

Tato stádia se v uvedeném sledu objevují i v zubním vývoji plazů a jsou standardně popisovány. Jejich specifika a odlišnosti od savčího modelu byly dosud prozkoumány jen velmi málo (Piesco & Kallenbach, 1985). Fyziologická diferenciace, resp. histodiferenciace, jednotlivých prvků zubního primordia je stejně jako morfologická diferenciace do značné míry podobná savcům. Některé struktury zde však mohou chybět či mohou být vytvářeny jinak - např. u anolise (*Anolis caroliensis*) nebyly diferencovány sekreční výběžky ameloblastů, preameloblastové výběžky a spojení preameloblast-preodontoblast je zde ve srovnání se savci elementární (Piesco & Kallenbach, 1985). Rané mechanizmy indukce a epitelio-mezenchymální interakce jsou stejné jako u savců (Piesco & Kallenbach, 1985; Peterkova, 2006).

Zubní zárodek je organizován do tří částí: sklovinotvorný orgán (*enamel organ*), dentální papila (*dental papilla*) a zubní váček (*dental follicle*)(Smith & Coates, 2000). Sklovinotvorný orgán produkuje sklovinu a skládá se z několika dalších vrstev. Jsou jimi ODE (vnější dentální epitel), IDE (vnitřní dentální epitel), hvězdicové (*stelátní*) retikulum a případně ještě stratum intermedium, které je přítomno pouze u savců (Ogawa, 1977; Westergaard & Ferguson, 1986; Sire et al., 2002). Tyto čtyři vrstvy sklovinotvorného orgánu jsou dobře oddělené. Povrch zubu je pokryt IDE a skládá se z buněk, které jsou diferencované do polarizovaných ameloblastů, které produkují sklovinu (Piesco & Kallenbach, 1985; Lemus et al., 1986; Sire et al., 2002).

V plně kalcifikovaném plazím zubu je sklovina nanášena v přírůstkových vrstvách a udává tvar zubní korunky (Poole, 1957). U mladých zárodků, které se nestanou funkčními, je sklovinotvorný orgán pouze na špičce zubu (Poole, 1957; Piesco & Kallenbach, 1985). Stratum intermedium pokrývá IDE a sestává z několika vrstev nediferencovaných plochých buněk (u *Crocodylia*) (Sire et al., 2002). Hvězdicovité retikulum je charakterizováno uvolněnou síťovinou epiteliálních buněk. Tenká vrstva ODE odděluje sklovinotvorný orgán od mezenchymu a přichycuje zubní zárodek k zubní liště (Sire et al., 2002). Místo, kde se stýká IDE a ODE, se nazývá krčkový záhyb (*cervical* loop)(Sire et al., 2002). Poslední vyvinuté zárodky ukončují depozici sklovinové matrix ve chvíli, kdy na ostatních zubech začíná sklovina již tzv. zrát (*maturace*)(Sire et al., 2002).

Oblast dentální papily je charakterizována především odontoblasty. Ty produkují dentin a predentin (Poole, 1957; Piesco & Kallenbach, 1985; Lemus et al., 1986; Westergaard, 1986; Sire et al., 2002). Dentin na bázi zubní drážky se mění na tkáň typickou pro Squamata a i pro Varanoidea. Tato tkáň se nazývá plicidentin (Schultze, 1969; Kearney & Rieppel, 2006). Plicidentin se ukazuje jako určitá synapomorfie skupiny Varanoidea, neboť u hadů ani mosasauridů nalezen nebyl (Scanlon & Lee, 2002; Kearney & Rieppel, 2006).

U nejmladších zubů začíná dentinová matrix mineralizovat, když je predentin uložen odontoblasty na vrcholu dentální papily. I odontoblasty se diferencují do polarizovaných buněk (Piesco & Kallenbach, 1985; Sire et al., 2002). U raných zubů všechny buňky degenerují a dentinová matrix se resorbuje do mezenchymu (Sire et al., 2002).

Zubní váček pak dává vzniknout třem důležitým elementům: cementoblastům, osteoblastům a fibroblastům (Poole, 1957; Piesco & Kallenbach, 1985; Sire et al., 2002). Všechny tyto elementy jsou velice důležité při přichycování zubu ke kosti a závěrečné zubní erupci (Poole, 1957; Piesco & Kallenbach, 1985; Westergaard, 1985; Westergaard & Ferguson, 1986; Sire at al., 2002).

1.1.1. Zubní generace

Jak už bylo řečeno, nejranější zubní generace jsou resorbovány, aniž by se některý zub stal kdy funkčním (Piesco & Kallenbach, 1985; Westergaard, 1986; Sire et al., 2002). Navíc ne vždy musí tyto zuby vznikat ze zubní lišty. Někdy vznikají naopak pouze přímo z orálního epitelu (Westergaard, 1986, 1988; Westergaard & Ferguson, 1986). Oproti tomu všechny funkční zuby jsou se zubní lištou vždy spojeny (Poole, 1957; Westergaard, 1986, 1988; Westergaard & Ferguson, 1986, 1990; Sire et al., 2002). Tzv. první funkční zubní generaci je možné obecně

charakterizovat jako první zuby dentice, které se vyvíjí v dané pozici a stávají se funkčními, tj. přisedají ke kosti, neresorbují a prořezávají se do okluzní zóny (Sire et al., 2002). U tzv. nesavčích vývojových linií je možné odlišovat dva základní typy prvních funkčních zubů (podle Sire et al., 2002):

- **Typ 1:** malá velikost, kónický tvar, tubulární dentin, malá dutina pulpy bez kapilár a cévního zásobení

Tento typ můžeme nalézt u Actinopterygii, Dipnoi, Urodela.

- **Typ 2:** má různé varianty, obecně však to jsou miniaturní verze adultních zubů – větší než typ 1, komplexnějšího tvaru, tubulární dentin, široká dutina pulpy s cévním zásobením

Tento typ je charakteristický pro tyto taxony: Chondroichtyes, Squamata, Crocodylia. Společným znakem těchto taxonů je relativně dlouhý embryonální vývoj.

Jinak řečeno přítomnost daného typu je dána délkou embryonálního vývoje, nikoliv příbuzností (Sire et al., 2002). Vzhledem k tomu, že se ukazuje, že plesiomorfní stav je charakterizován krátkým embryonálním vývojem, zuby Typu 1 představují zřejmě ancestrální stav čelistnatců. A to, že se tento typ udržel, je dáno tím, že je velice ekonomický.

Ukazuje se, že později zakládané funkční zuby jsou větší než ranější a vyvíjejí se zřejmě i blíže ke svým menším nejvíce zralým sousedům (Westergaard 1986). Funkční zuby jsou během života plaza několikrát nahrazovány. Problematikou výměnou zubů a jejím zubním vzorem, tzv. *tooth replacement pattern*, se zabývalo u plazů mnoho autorů (Edmund, 1960; Cooper 1966; Miller & Radnor 1970; Osborn & Crompton 1973; Osborn 1975; Kline & Cullum 1984; Westergaard & Ferguson 1986, 1987; Kieser et al. 1993; Lubkin 1997; Osborn 1998). Charakteristickým modelem zubní výměny plazů je "vlnová" výměna - s periodickým uspořádáním dentice do skupin zubů s postupně se zvyšující úrovní opotřebení funkční zubu, čili úrovně embryogeneze zubů následující zubní generace na příslušné zubní pozici (Edmund, 1960).

1.1.2. Ankylóza

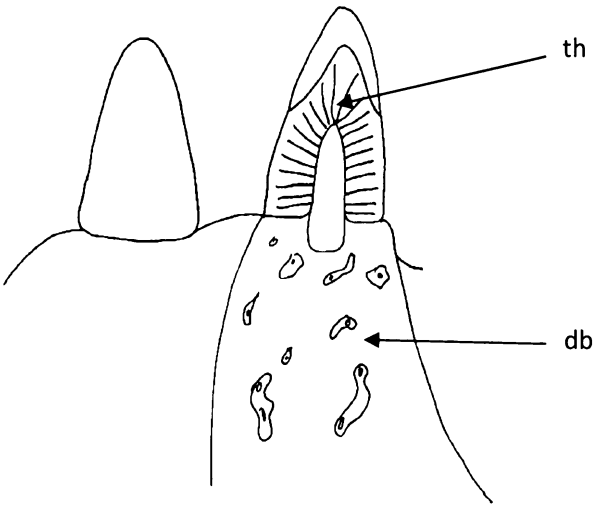
Během evoluce zubů se vyvinulo několik odlišných typů periodontního připojení zubů ke kosti. Typ zubního připojení je u nižších obratlovců zastoupen od volného fibrózního typu až k pevné ankylóze mezi zubem a pod ním ležící kostí (Peyer, 1968).

Plazi představují poměrně pestrou skupinu ohledně přichycení zubů. U hadů a hatérie se objevuje acrodontie, u většiny ještěrů je to pleurodontie a krokodýlovití jsou charakterističtí thecodontní gomphózou (Sumida & Murphy, 1987; McIntosh, 2002). Krokodýlí gomphóza je velice podobná savčí, ale liší se kořeny zubů. U krokodýlovitých zůstávají otevřené dokonce, i když jsou již zralé, zatímco savčí zuby se během vývoje kořene zavírají a utvářejí tzv. *foramen apicale* (Butschli, 1924). Savčí periodontium je navíc nejkomplexnější ze všech typů připojení (Osborn, 1984; Berkovitz et al., 1995). I u něj jsou v rámci savců velké rozdíly mezi hlodavčí, karnivorní, herbivorní či omnivorní denticí (Gaengler, 2000).

Vývoj komplexnějšího zubního připojení souvisí s variacemi především ve tvaru a funkčnosti zubů, výměnného zubního vzoru, vzorů erupce či rychlostí růstu zubů. V tomto ohledu tradiční klasifikace tří základních typů (acrodontie, pleurodontie, thecodontie) málo odráží biologickou variabilitu zubního připojení (Gaengler, 2000; Pough et al., 2005). Osborn (1984) vytvořil termíny pro různé typy zubního připojení ke kosti vycházející z acrodontie, přes protothekodontii, pleurodontii až ke gomphóze. Jednotlivé typy se mohou pozvolně překrývat. Navíc podle Osborna (1984, 1993) jsou zde předvídatelné homologie mezi připojovacími tkáněmi mezi plazy a savci (protocement – cement, připojovaná kost – alveolární kost). U savcotvárných plazů byla gomphóza také objevena (Osborn, 1984).

Charakteristika základní typů (Gaengler, 2000; Pough et al., 2005):

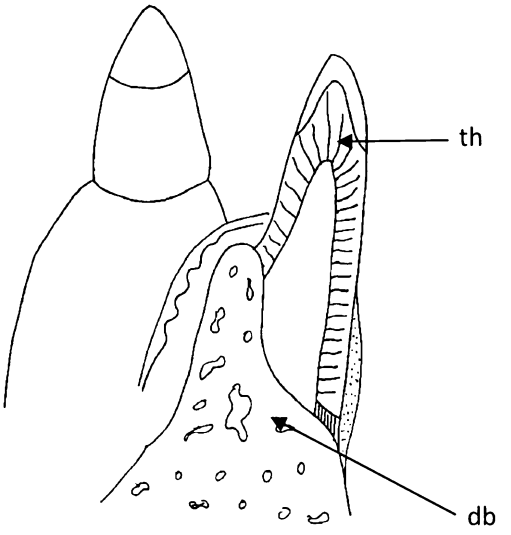
- Protoacrodontie – odontody připojeny acelulární nebo celulární kostí jako součást dermální výzbroje a podle Reifa (1982) dává vzniknout jak dermálním dentinům, tak i zubům včetně připojení ke kosti. Recentně se nevyskytuje.
- Acrodontie (obr. 3.) – charakterizována přímým kostním nebo fibrózním přisedáním zubů na hranu čelisti, nalezeno u kostnatých ryb a některých plazů (hadi, *Sphenodon* sp.)(vývin nezávislý).



Obr. 3. Acrodontie, podle (Gaengler, 2000).

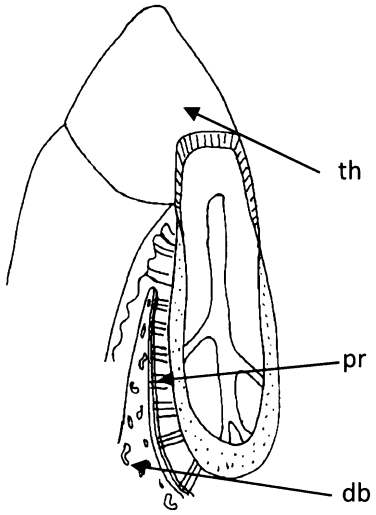
- Acro-protothecodontie – vykazuje zřejmě největší biologickou variabilitu ze všech typů připojení, lze ji charakterizovat jako fibrózní aparát přichycující zub na hřeben čelisti s/bez stopky (*pedicel*). Ta se vyvíjí jako prodloužení zubu.

- Pleurodontie (obr. 4.) – zuby přichycovány na vnitřní okraj kosti čelisti pomocí kostní nebo fibrózní tkáně, nalezeno u kostnatých ryb, moderních obojživelníků a ještěrů (Lepidosauria).



Obr. 4. Pleurodontie, podle (Gaengler, 2000).

- Thecodontie (obr. 5.) – zuby umístěny v lůžkách a drženy na místě pomocí peridontalních ligamnetů, nalezeno u archosaurů (recentně krokodýli) a savců (vývin nezávislý).
- thecodontní ankylóza má kořeny zubů zapuštěné v kosti
- thecodontní gomphóza má zuby umístěné v lůžkách



Obr. 5. Thecodontie, podle (Gaengler, 2000).

1.1.3. Vaječný zub

Vaječný zub má v životě plazů velice důležité postavení, neboť napomáhá líhnoucímu se mláděti dostat se z vaječných obalů. Jeho funkce je prořiznout tyto obaly a po vylíhnutí mláděte brzy odpadá. A ačkoliv má tuto důležitou funkci, ví se o něm relativně málo.

U plazů (Reptilia) můžeme nelézt dva odlišné typy s odlišnou morfologií a vývojem. První typ se nachází u šupinatých plazů (Squamata) a je charakterizován jako skutečný zub (Bandali et al., 2007), který se vyvíjí uvnitř ústní dutiny na špičce horní čelisti. Zatímco u želv a krokodýlů zaujímá funkci vaječného zubu epidermální hrbolek (de Beer, 1949).

Plesiomorfní stav vaječného zubu jsou párové vaječné zuby, které se nacházejí u primitivních šupinatých, jako jsou gekoni (Smith et al., 1953; Bandali et al., 2007). U odvozenějších šupinatých včetně hadů nalézáme jeden vaječný zub uložený uprostřed horní čelisti (Smith et al., 1953; Bandali et al., 2007). Pravý

zubní zárodek se pak plně vyvine jako definitivní vaječný zub. U krajty písmenkové (*Python sebae*) a u užovky červené (*Elaphe guttata*) jsou během raných stádií embryonálního vývoje přítomny dva zárodky, které srůstají během vývoje (Bandali e tel., 2007) Tato možnost byla navržena již Smithem et al. (1953). To je v kontrastu s pokročilými ještěry, u kterých se 2 zárodky iniciují, ale jeden degeneruje a druhý se posouvá do středu (Smith et al., 1953; Bandali et al., 2007).

Vaječný zub je zdaleka největším zubem dentice a oproti ostatním funkčním zubům se vyvíjí blízko povrchu.

1.2. Stadialita u plazů

Embrya různých druhů obratlovců zřejmě nevykazují obecnou organizaci a zřejmě nemají obecné identické (tzv. *conserved*) stádium, tak jak se dříve předpokládalo (Richardson et al., 1997). Problematika stadiality a určení věku embrya u plazů spočívá především ve fázi vývoje právě kladených vajec. Ta jsou kladena v různém stupni embryogenetického vývoje u různých druhů. Proto je lepší určovat stadialitu nikoli podle dne, ale podle morfologických kritérií (Lubkin, 1997). Nejvýraznějšími společnými kritérii jsou úroveň segmentace (počet somitů) a její patrnost (úroveň rozlišitelnosti somitické diferenciace), přítomnost končetinových pupenů a postupný vývoj končetin (prsty, drápy atd.), uzavírání tělní stěny, vývoj hlavy – zejména oka, nozder, čelistí, prominace mozku apod.

Mezi nejběžnější modelová zvířata, která nepatří mezi plazy, patří kuře (Hamburger & Hamilton, 1952), myš (Peterka et al., 2002 aj.) nebo netopýr (*Carollia perspicillata*)(Cretekos et al., 2005).

U plazů byla stadialita zkoumána především na kajmance dravé (*Chelydra serpentina*) (Yntema, 1968), krokodýlovi mořském (*Crocodylus porosus*) (Magnusson & Taylor, 1980), ještěrech rodu *Anolis* (Sanger et al., 2008), ještěrce zelené (*Lacerta viridis*) (Dufaure & Hubert, 1961), ještěrech rodu *Liolaemus* (Lemus et al., 1981) a hadům – krajtě písmenkové (*Python sebae*) (Boughner et al., 2007; Buchtova et al., 2007), kobře monoklové (*Naja kaouthia*)(Jackson, 2002) a užovce proužkované (Thamnophis sirtalis sirtalis) (Zehr, 1962).

Ačkoliv je embryo u různých druhů kladeno v různém vývojovém stupni (Lubkin, 1997) a i mezi jednotlivými liniemi (skupinami, druhy) plazů existují rozdíly (krokodýl-želva-had-ještěr), obecný model vývoje u plazů lze popsat, podle Sangera et al. (2008), takto:

(1) Rané stádium, které nemá přítomné končetiny, má ustálený počet somitů (20 – 24), formuje se mu oko a má viditelné branchiální oblouky. **(2)** Následujícímu stádiu se již začínají formovat končetinové pupeny (nejčastěji předních končetin), počet somitů je mírně zvýšen, ocasní pupen stejně jako u předchozího není segmentován. Pokračuje formování oka. **(3)** Další stádium už má přítomny všechny končetinové pupeny. I u embryí hadů se ze začátku vyvíjejí končetinové pupeny, ale postupně degenerují a po 33. dni vývoje mizí úplně (Boughner et al., 2007). Jen u hroznýšovitých a krajtovitých hadů lze pozorovat u dospělých jedinců v oblasti kloaky a zadních končetin drápky, které jsou pozůstatkem končetin a napomáhají rozmnožování. Toto stádium má také poprvé viditelné maxilární výběžky a uzavřenou a stále viditelnou choroidní fisuru.

(4) V následujícím stádiu se končetiny zvětšují, somity jsou stále počitatelné, oko je větší než u předchozího, začíná diferencovat čočka. Stádium, které následuje, se od předchozího liší **(5)** téměř celkovou segmentací ocasu, který je mnohokrát zatočen, fúzí druhého a třetího oblouku, daleko větším okem, ve kterém začíná pigmentace retiny. **(6)** Od následujícího stádia se končetiny začínají tvarovat. Nyní mají lopatkovitý tvar. Branchiální oblouky jsou vidět již jen vzácně. V oku začíná raná diferenciace duhovky. Nejsou zatím patrna žádná víčka. V dalším stádiu je již patrná **(7)** střední kondenzace prstů. Začínají se také formovat oční víčka. Kondenzace prstů dále v následujícím stádium pokračuje a začíná se ztenčovat i meziprstová blána. Bývá patrná i kondenzace dlouhých kostí. Maxilární výběžky začínají fúzovat. V oku se zvyšuje pigmentace retiny i duhovky. **(8)** Pokračování ztenčování meziprstové blány je patrné i v dalším stádiu, kdy jsou špičky prstů již mimo blánu. Mandibula již není na úrovni s nasálním výběžkem.

(9) Následující stádium má již blánu sahající pouze do půlky prstů, dolní čelist je rovna délce horní čelisti. Oční víčka pokrývají již čtvrtinu oka. **(10)** V pokročilejším stádiu je již blána mezi prsty kompletně redukována (mohou existovat případné zbytky mezi druhým a třetím prstem) a začínají se formovat drápy. Oční víčka pokrývají již polovinu oka. **(11)** U předposledního stádia dochází k prodlužování prstů, tvorbě drápů, které jsou však stále proti světlu průhledné. Víčka kryjí již většinu oka. **(12)** V posledním stádiu dochází k pokročilejšímu vývoji prstů a drápů, oční víčka kryjí celé oko až na duhovku a čočku. A začínají vznikat šupiny na končetinách z epidermální papily. Navíc je přítomen vaječný zub. **(13)** Od této chvíle již nejsou stádia potřeba ani jejich kritéria, neboť je organogeneze kompletní a následuje formace šupin, pigmentu a barevného vzoru.

1.3. Shrnutí úvodu a hlavní cíle diplomové práce

Shora shrnuté poznatky ukazují, že poměrně spolehlivé informace jsou k disposici o charakteru odontogeneze u krokodýlů a některých linií Lepidosauria. Právě u Lepidosauria byly však konstatovány poměrně četné odlišnosti od standardních modelů zubní embryogeneze, jak v rovině morfodiferenciace tak v rovině histodiferenciační dynamiky zubních zárodků. Velmi pravděpodobně však právě tyto odlišnosti přispívají ke značné variabilitě funkční diferenciace dentice u šupinatých plazů, způsobů fixace zubů k čelistním kostem a zubní výměny. Nicméně, právě vzhledem k šíři variability těchto znaků, je třeba konstatovat, že úroveň taxonomického pokrytí celé skupiny je ve srovnání se savci či jinými skupinami velmi nedostatečná. Týká se v plné míře i skupiny Toxicofera (sensu stricto Vidal & Hedges, 2005; Fry et al., 2005), u níž dosahuje dentální specializace a úroveň dentální diferenciace jednoho ze svých vrcholů nejen v rámci Lepidosauria, ale i u obratlovců vůbec (srv. jedový zub hadů - Jackson, 2002, 2003, 2007; Vonk et al., 2008; Zahradnicek et al., IN PRESS). Vývojové pozadí a vývojové předpoklady specializační dynamiky zde nejsou známy a bez poznání poměrů u bazálních skupin zmíněného taxonového komplexu je bude jen sotva možno objasnit. Skupina Toxicofera zahrnuje vedle hadů i následující skupiny: Iguania, Anguimorpha (Varanidae, Helodermatidae, Anguidae)(Lee, 1997; Vidal & Hedges, 2005; Fry et al., 2005). Poznatky o zubním vývoji této skupiny jsou však dosud velmi kusé. K dispozici je sice série deskriptivních prací o dentici hadů (Tomes, 1876; Bogert, 1943; Shayer-Wollberg & Kochva, 1967; Kardong, 1982; Jackson, 2002, 2003, 2007; Boughner et al., 2007; Buchtova et al., 2007) a případně slepýšů (práce však zaměřeny především na zubní výměnu)(Tomes, 1875; Cooper, 1966; Rocek, 1980; Westergaard, 1988). Nicméně poměry u ostatních linií jsou však takřka neznámé. V plné míře to platí o čeledi Varanidae, která může být pro pochopení specifik zmíněného dentálního vývoje zvláště významná a to díky jednoznačné specializaci na karnivorní makrofágii.

Čeleď Varanidae tvoří monotypický rod *Varanus* s celkem 53 druhy (Pianka & King, 2004). Všichni zástupci tohoto rodu jsou rozšířeni v Africe, Asii, JV Asii a Austrálii. Severní Amerika nemá recentního zástupce rodu *Varanus*, pouze fosilní nálezy a sesterskou skupinu varanů Helodermatidae (Pianka & King, 2004). Největší adaptivní radiace tohoto rodu nalézáme v Austrálii, kde je 24 endemických druhů a některé další druhy čekají teprve na popsání. Některé asijské druhy, mezi nimi i druh *Varanus indicus*, se v Austrálii také vyskytují. Aktuálně je dnes uznáváno 9 podrodů rodu *Varanus* (*Empagusia, Eupreprіosaurus, Odatria, Papusaurus, Philippinosaurus, Polydaedalus, Psammosaurus, Sotesaurus a Varanus*)(Ziegler & Bohme, 1997; Bohme, 2003). Varani obývají velice různorodá prostředí od mangrovových porostů přes hustý les až k savanám a pouštím. Tělní plán varanů je velice evolučně úspěšný již od Křídy (před 80 milióny lety), jak je

evidováno fosilními nálezy mongolského varanoidního rodu *Estesia*. A ačkoliv je tento tělní plán morfologicky konzervativní, variabilita v tělních velikostech předurčuje tento rod jako ideální pro srovnávací studie evoluce tělní velikosti (Thompson & Pianka, 2001). Většina varanů jsou aktivní vrcholový predátoři, živící se především pohyblivou kořistí. Zásluhu na tom má také dentice, protože zuby většiny varanů mají pilovité okraje, což jim umožňuje lépe trhat kůži a maso kořisti při prudkém škubnutí skusu směrem dozadu (Pianka & King, 2004). Nicméně, jak je řečeno již výše, o odontogenezi jako takové se u varanů neví v podstatě nic. Což je dáno mimo jiné i tím, že výzkum této skupiny je tradičně komplikován skutečností, že jde o typické K-strategy, s malou produkcí vajec, obtížně chovatelné a obecně vzácné. Získání embryonálního materiálu je zde tedy jedním z limitujících faktorů.

Vzhledem k mimořádným chovatelským úspěchům terarijních odchovů pražské ZOO u varana mangrovového (*Varanus indicus* Daudin, 1802) bylo možné získat unikátní reprezentativní embryonální soubor a první možnost detailního výzkumu embryogeneze dentice u této, evolučně mimořádně významné skupiny.

S ohledem na tyto možnosti a shora zmíněné problémové souvislosti byly cíle práce vymezeny následujícím způsobem:

Cíle diplomové práce

(1) Porovnat vývojovou řadu varana mangrovového (*Varanus indicus*) s vývojovými řadami dalších typů plazů (želva, krokodýl, ještěr, had).

(2) Zjistit, jak se zakládá zubní lišta, jaké jsou její charakteristiky a vývojová dynamika.

(3) Charakterizovat jednotlivá vývojová stádia zubů první embryonální zubní generace a generací následných (rozdíly).

(4) Popsat charakter vaječného zubu a jeho embryogeneze: jak se zakládá (v porovnání s ostatními zubními zárodky) a má-li atributy pravého zubu.

(5) Vysledovat v jakém stádiu dochází k ankylóze a jaký je její charakter (pleurodontie vs. acrodontie a thecodontie).

2. Materiál a metodika

2.1. Materiál

Jako materiál jsem použila embrya, plody a mláďata[1] varana mangrovového (*Varanus indicus* Daudin, 1802) ze ZOO Praha a mládě varana nilského (ze soukromého odchovu) (*Varanus niloticus* Linnaues, 1766). Celkem se mi podařilo získat dvě snůšky vajec varana mangrovového.

První snůška byla nakladena 29. 3. 2007 a obsahovala 10 vajec. Druhá snůška byla nakladena 7. 6. 2007 a rovněž obsahovala deset vajec. Během začátku inkubace první snůšky vajec došlo ke krátké dehydrataci, což mělo za následek zpomalení embryonálního vývoje a zhoršenou kvalitu embryí. Z druhé snůšky jsem získala osm zárodků, neboť z původních deseti vajec se dvě již od počátku inkubace nevyvíjely. A proto na začátku inkubační doby byly odebrány z líhně. Inkubace vajec varana mangrovového probíhala v zázemí a líhních ZOO Praha zhruba 180 dní při teplotě 28° C a 70 % vlhkosti.

Vejce jsem odebírala postupně. První odběr jsem uskutečnila 29. 4. 2007, poslední pak 14. 11. 2007. Nejkratší časový interval odběru mezi jednotlivými vejci byl pět dní, nejdelší pak osmdesát sedm dní. Získala jsme celkem sedmnáct embryí v časové rozmezí od druhého dne od nakladení snůšky až do stošedesátého prvního dne vývoje (tab. 1.).

Tab. 1. Odběr vajec.

SNŮŠKA I.	SNŮŠKA II.
30. DEN	2. DEN
43. DEN	10. DEN
48. DEN	17. DEN
56. DEN	24. DEN
63. DEN	32. DEN
73. DEN	113. DEN
81. DEN	130. DEN
88. DEN	161. DEN
95. DEN	
103. DEN	

[1] zákon na ochranu zvířat proti týrání (č.246/1992 Sb.) se na embryologický materiál nevztahuje

Embrya jsem označovala pomocí kódu složeného z daného dne vývoje a písmeny V. I., což je zkratka z latinského názvu varana mangrovového (*Varanus indicus*). U zvířete 30. V. I. bylo doplněno ještě označení R- (retard), neboť toto zvíře bylo nejvíce ovlivněno vysušením v začátku inkubace snůšky a tudíž poznamenáno zpožděným vývojem. V porovnání s embryem podobného stáří, tj. embryo 32. V. I., se jevilo jako ranější stadium. U ostatních vajec téže snůšky byl vývoj opětovně nastartován obnovením správné vlhkosti substrátu. Vejce se dále vyvíjela, nicméně otázkou však zůstává, jestli daný počet dní odpovídá skutečné stadialitě embrya či plodu.

Embryo 17. V. I. bylo ve vejci již mrtvé. To se později projevilo jako zásadní problém při přípravě histologických řezů, konkrétně při krájení vzorku.

Embrya byla usmrcována pomocí anestetika MS 222, které bylo rozpuštěno v malém množství vody. Plody jsem se rozhodla usmrcovat chladem kvůli špatné prostupnosti MS 222 pokožkou. Vejce jsem před vlastním vyjmutím plodu dávala do ledničky na minimální dobu 6 hodin. V těchto případech jsem již dále MS 222 nepoužívala, neboť při vyjímání z vejce byl plod v zásadě mrtvý podchlazením. Toto se osvědčilo u plodů od 56. dne vývoje. Podchlazení vajec jsem začala používat poté, co u embrya 48. V. I. přípravek MS 222 nezabral. Mládě 161. V. I. bylo podchlazován 24 hodin, neboť tento plod byl již plně vyvinutým mládětem varana mangrovového připraveným k líhnutí. Bylo tedy nutné prodloužit dobu podchlazení na jeden den, aby bylo jisté, že dané mládě bude již před vložením do fixačního roztoku mrtvé.

2.2. Metodika

2.2.1. Fotodokumentace stádií

Embrya byla po vyjmutí z vajec vyfotografována nejprve fotoaparátem Pentax istD s rozlišením 6 megapixelů. Biometrické hodnoty byly zjištěny pomocí pravítka, milimetrového papíru a provázku. Měřila jsem velikost hlavy (určena dolní čelistí), ocasu, předních i zadních končetin, velikost drápu a délku těla. Délku těla jsem měřila od temene po kloaku (t-k). Embryonální materiál byl posléze fotografován pomocí stereolupy Olympus SZX12 při 0,3 x zvětšení na pozadí černé sametové látky a milimetrového papíru.

Pod stereolupou jsem fotografovala embryo nejprve celkově a pak s detailním zaměřením na jednotlivé části těla jako jsou končetiny, drápy, pohlavní orgány, případné šupiny, cévy apod. Zejména podrobně byla fotografována hlava a to ze strany, shora i zespoda. Zaměřila jsem se na focení detailu vývinu oka (přítomnost

čočky, mžurky, srůst víček apod.), ušního bubínku, nozder, prominace mozku, čelistí, koutku, šupin a případně vaječného zubu. Termíny pro stadialitu jsem používala jako standardní deskriptivní termíny z literatury (viz. Úvod 1.2. Stadialita u plazů), aniž bych tím chtěla nějak diskutovat jejich adekvátnost.

2.2.2. Příprava vzorků pro histologické řezy

Základní technika histologického zpracování materiálu byla převzata z knihy Vacka (1954).

Fixace a dekalcifikace

Embrya a plody jsem po vyjmutí z vajec **(1)** fixovala v 4 % roztoku PFA vždy více než dva dny a uchovávala jsem je v ledničce. Pro další přípravu vzorků jsem použila již jen hlavu embrya. **(2)** Tu jsem proplachovala pod vodou, abych ji zbavila fixačního roztoku. Hlavu jsem umístila do otevřené skleněné lahvičky, do které jsem vložila gázu. Na gázu jsem umístila hlavu embrya a lahvičku uzavřela další gázou a přichytila gumičkou. Takto připravenou nádobku se vzorkem jsem vložila pod mírný proud studené vody a nechala proplachovat čtyři až pět hodin dle velikosti vzorku.

Gázu jsem dávala na dno každé lázně (vyjma paraplastových lázních) včetně dekalcifikačního roztoku, neboť umožňovala lepší prosycení vzorku potřebnou chemikálií. Gáza mechanicky zabraňovala vzniku rozdílů v koncentracích chemikálie mezi dnem lázně a hladinou tím, že embryo leželo ve středu lázně. Byla tak zajištěna správná koncentrace dané chemikálie. V případě proplachování vzorku na gáze nedocházelo k jeho poničení proudem vody.

Poté jsem vzorek vyňala a vložila ho do **(3)** dekalcifikačního roztoku. Dekalcifikační roztok jsem vytvořila pomocí roztoku citronanu sodného v destilované vodě a roztoku kyseliny mravenčí v destilované vodě. Těmito dvěma roztoky byl pak vzorek zalit v poměru 1:1. Poté jsem vzorek v dekalcifikačním roztoku umístila do ledničky a pravidelně měnila, neboť docházelo k nasycení roztoku vápenatými ionty. Proto byla pravidelná výměna nutná, aby vůbec k dekalcifikaci docházelo. Doba vzorku v dekalcifikačním roztoku se lišila podle stáří embrya a jeho kalcifikace. Nejranější vzorky jsem umisťovala do roztoku na tři dny, nejstarší vzorek byl v roztoku sedm měsíců. Ačkoliv dekalcifikace v kyselině mravenčí zmenšuje pozorované objekty, nevytváří však biass (Witter et al, 2000). Díky tomu jsou výsledky věrohodné. Průběh dekalcifikace jsem pravidelně kontrolovala pomocí laboratorní jehly. **(4)** Poté, co vzorek dostatečně změkl, jsem ho opět nechala propláchnout proudem studené vody stejně jako

v případě vymývání fixačního roztoku. Vymývání dekalcifikačního roztoku však trvalo déle, zhruba pět až sedm hodin, opět podle velikosti vzorku.

(5) Vzorek jsem dále nechala odvodňovat v alkoholové lázni. Začínala jsem 50 % EtOH, kde byl vzorek podle velikosti od jedné hodiny až do tří hodin. Pak jsem vzorek přesunula do 70 % EtOH, kde byl vzorek přes noc. Ve zbylých lázní 80 % a 96 % EtOH jsem vzorek nechávala od jedné do dvou hodin podle velikosti vzorku. Následovala poslední odvodňovací lázeň v acetonu, do kterého jsem vzorek vkládala na maximálně hodinu, neboť při delší době v acetonu tkáň začínala rychle tvrdnout.

(6) Vzorky 73. V. I., 81. V. I., 88. V. I. a 95. V.I. byly vloženy do tří lázní metylbenzoátu. V první lázni metylbenzoátu byl vzorek do té doby, dokud neklesl nad dno, což znamenalo kompletní prosycení vzorku chemikálií. V druhé a třetí lázni byl po čtyřech hodinách. Po metylbenzoátu jsem vzorek umístila do tří lázní benzenu, každou po deseti minutách. Benzen se nakonec ukázal jako velmi problematickou lázní, neboť vzorkům výrazně křivil rostrum a tkáň v něm značně tvrdla. Nejvíce patrné to bylo u vzorku 95. V. I., kdy následkem benzenových lázní byla spodní čelist zkroucena a zkřivena do podoby háku přesahující horní čelist, přičemž horní čelist byla pokroucena taktéž. U tohoto vzorku bylo poničení nejmarkantnější. Následkem toho jsem se rozhodla vypustit metylbenzoátovou i benzenovou lázeň a nahradit ji chemikálií histochoice, což je netoxická směs, která se vyrábí z citrusových kůr a obsahuje éterické citrusové oleje. Je biologicky snadno odbouratelná a rozpustná s většinou dalších chemikálií jako je etanol, butanol apod. Lze ji použít jako náhražku za problematické chemikálie jako je xylén, toluen, metylbenzoát a benzen při přípravě histologických řezů, protože je rozpustná v polárních i nepolárních látkách. Tím umožňuje přechod mezi polárním alkoholem a nepolárním paraplastem.

Po použití histochoice jsem již žádné deformace vzorků ani tvrdnutí tkáně nezaznamenala. Místo metylbenzoátu a benzenu jsem zařadila tři hodinové lázně histochoice a **(7)** po té jsem vzorky umístila přímo do první paraplastové lázně. Paraplast jsem rozehřívala v termostatu v 58° C ve třech lázních. Jedna lázeň trvala vždy minimálně tři hodiny, přičemž alespoň v jedné ze tří lázní (většinou druhá) jsem vzorek nechávala přes noc. **(8)** Po paraplastových lázních jsem vzorek zalila do papírové krabičky a nechala zatuhnout.

Krájení

Po zatuhnutí byl vzorek z krabičky vyňat a připevněn na dřevěný bloček o velikosti 2 x 2 cm. Poté jsem vzorek nechala v ledničce čtyři minuty zatuhnout.

Řezy jsem krájela mikrotomu Leica RM 2155. Vzorky od 10. V. I. až do 95. V. I. byly krájeny na tloušťku řezu 0,7 µm. U posledních třech stádií 103., 130. a 161. V. I. byly krájeny na tloušťku řezu 10 µm. Všechny tyto tři vzorky byly již příliš velké a menší tloušťkou řezu bych zbytečně riskovala poničení řezané tkáně. Řezy jsem pokládala na podložní skla, na kterých byla rozetřena filtrovaná směs bílku, glycerinu a tymolu. Řezy byly napínány podlitím destilované vody a pokládáním skel na plotýnku vyhřátou na 40° C. Teplota s destilovanou vodou umožňovala lepší vypnutí a správné natažení jednotlivých řezů. Směs bílku a glycerinu jsem využívala jako lepidlo, tymol se přidával pro jeho dezinfekční schopnosti. Výhodu směsi jsem spatřovala především v jednoduché přípravě a velmi dobrému efektu přilepení řezů na podložní skla a v neposlední řadě i dostupnosti. Nevýhoda směsi byla v případně nadbytečném nanesení obarvování eosinem. Přebytek směsi jsem proto před barvením stírala pomocí vatové tyčinky namočené do 96 % EtOH. Vzorek 17. V. I. se při krájení rozpadal na prach, což přičítám skutečnosti, že embryo bylo již při vyjímání z vejce mrtvé. U vzorku 161. V. I. dekalcifikace neproběhla téměř vůbec, zřejmě následkem vysoké míře kalcifikace mláděte. A to i přesto, že byl vzorek v dekalcifikační lázni sedm měsíců. Proto se při krájení příliš trhal. Drobné problémy při krájení jsem pozorovala také u 10. V. I. a u vzorků, které prošly benzenovými lázněmi. V případě 10. V. I. se přikláníme k názoru, že fixáž byla provedena správně. Nicméně je možné, že v případě těchto raných stádií je výše uvedená fixáž velice agresivní metodou, která může vzorek v zásadě i poničit. U vzorků, které prošly metylbenzoátovými a benzenovými lázněmi (viz. Fixace), se domnívám, že jejich potrhání v průběhu krájení a případné křivení rostra bylo způsobeno právě těmito dvěma nešetrnými chemikáliemi, obzvláště pak benzenem.

Barvení

Skla s histologickými řezy jsem umístila do speciálního plastového držáčku a barvila jsme je v kyvetách po dvaceti. Používala jsem klasické histologické trichromatické barvení pomocí alciánové modři, Mayerova hematoxylinu, eosinu a NaHCO3 (Vacek, 1954).

Alciánovou modř jsem připravovala jako 1 % roztok alciánové modři v 3 % kyselině octové. Obarvuje zejména mukopolysacharidy, glykosaminglykany a proto obarvuje chrupavčité struktury a některé žlázy.

Mayerův hematoxylin byl připravován jako roztok hematoxylinu, jodidu sodného, kamence draselného, kyseliny citrónové a chloralhydrátu v destilované vodě. Je vhodný zejména na barvení kostí, obecně bazofilních struktur.

Eosin jsem připravovala jako 0,5 % roztok eosinu v destilované vodě. Eosin se používá především v kombinaci s hematoxylinem a barví eozinofilní struktury jako např. mozek.

NaHCO3 jsem připravila jako 2 % roztok NaHCO3 v destilované vodě a použila jsem ho na obarvování jader. Tento roztok nemusel být filtrován, na rozdíl od předchozích barvících roztoků. Ty se naopak filtrovat museli.

Po přípravě barvících roztoků jsem přistoupila k vlastnímu barvení řezů, které zahajovaly dvě xylénové lázně. Xylénové lázně sloužily k rozpuštění přebytečného paraplastu a odmaštění. Po nich jsem řezy umístila do dvou 96 % EtOH lázní. Ve všech čtyřech lázních byly vzorky po deseti minutách. Poté jsem vzorky musela od etanolu propláchnout pod tekoucí vodou tak dlouho, dokud byla voda znečištěná. Promývání řezů pod tekoucí vodou jsem prováděla nanejvýš opatrně, aby se řezy neuvolnily a neuplavaly. Řezy jsem dále umístila do první barvící lázně a to do alciánové modři na 13 minut. Následovalo opět proplachování a hematoxylinová barvící lázeň na 3 minuty. Po hematoxylinové lázni jsem musela řezy opět promýt pod vodou a přendala jsem je do roztoku NaHCO3 na 30 vteřin. I po NaHCO3 následovalo promytí vodou a poté jsem řezy umístila do poslední barvící lázně eosinu opět na 3 minuty. Následovalo poslední velice důkladné proplachování a také dvě lázně 96 % EtOH, které přebytek eosinu pomohly vyplavit z řezů pryč. První po zhruba 30 vteřinách, druhá po 10 vteřinách. Poslední částí barvícího procesu byla série složená z karboxylénové lázně a tří xylénových lázní. Karboxylénovou lázeň jsem použila na vyplavení přebytečné alciánové modři. Poslední xylénové lázně sloužily jako ustalovací lázně obarvených řezů. Ve všech byly vzorky po 5 minutách.

Po celé barvící proceduře (tab. 2.) jsem na podložní sklo se vzorky přidala DPX a krycí sklo a nechala přes noc vyschnout v termostatu nastaveném na 55° C. Poté jsem skla očistila od přebytečného DPX, založila do krabic a nechala doschnout.

Tab. 2. Barvící proces.

LÁZEŇ	ČAS
Xylén 1.	10 min
Xylén 2.	10 min
EtOH 96 % 1.	10 min
EtOH 96 % 2.	10 min
Proplach tekoucí vodou	Dokud znečištěna voda
Alciánová modř	13 min
Proplach tekoucí vodou	Dokud znečištěna voda
Haematoxylin	3 min
Proplach tekoucí vodou	Dokud znečištěna voda
$NaHCO_3$	30 s
Proplach tekoucí vodou	Dokud znečištěna voda
Eosin	3 min
Proplach tekoucí vodou	Dokud znečištěna voda
EtOH 96 % 3.	30 s
EtOH 96 % 4.	10 s
Karboxylén	5 min
Xylén A.	5 min
Xylén B.	5 min
Xylén C.	5 min
DPX a krycí sklo	

Pracovala jsem s chemikáliemi od různých výrobců.

***Fluka*:** eosin, DPX, paraplast, chloralhydrát, metylbenzoát, H_2NaO_4P x $2H_2O$, histochoice.

***Sigma*:** alciánová modř, hematoxylin, jodid sodný, MS 222.

***Lach-ner (Lachema)*:** glycerin, tymol, xylén, benzen, aceton, kys. octová, kys. mravenčí, kamenec draselný, $NaHCO_3$, citronan sodný.

***Chemický sklad PřF UK*:** 96 % EtOH.

2.2.3. Pozorování, fotodokumentace a interpretace materiálu

Morfologický popis stadiality jsem prováděla u všech stádií, až na embryo 17. dne vývoje (viz. 2.1. Materiál). Jako základní kritéria byly použity vývojové aspekty končetin, hlavy a těla jako celku. Stádia vývoje končetin byla určena jako pupen, vějířek, rýsující se prsty, prsty, prsty s drápy, prsty s drápy pigmentované a dále jednotlivé přechody mezi danými stádii. U těla jako celku jsem posuzovala zejména segmentaci, přítomnost cév, šupin a pigmentu. U hlavy, jako nejdůležitějšího kritéria, jsem pozorovala vývoj oka (přítomnost čočky, mžurky a víček), vývoj nozdry (přítomnost, hloubka prolomení), přítomnost šupin (horní čelist, dolní čelist), přítomnost bubínku, pozice koutku vůči oku, pozice dolní čelisti vůči oku a prominace mozku a její pozice (výraznost, nad okem, za okem). Stadialita byla popisována výhradně na základě vnější morfologie. Orientačně jsou jednotlivá stadia zařazena rovněž do standardních kategorií vymezených Dufaurem & Hubertem (1961) pro ještěrku živorodou, resp. Sangerem et al. (2008) pro rod *Anolis*.

Analýza stadiality odontogenetické situace ústního prostoru byla založena na celém souboru řezů z jednotlivých embryí. Pro přehledné srovnání úrovně diferenciace v jednotlivých vývojových stadiích (srv. Příloha 2) jsou používány standardní referenční histologické řezy z pěti sektorů hlavy. První sektor je definován krycím epitelem a polovinou nozdry, druhý sektor je určen polovinou nozdry a oblastí ležící těsně před okem, třetí sektor je v anteriorní části oka před čočkou, čtvrtý sektor je situován v úrovni čočky, pátý sektor v prostoru za čočkou resp. v oblasti koutku. U mláděte v 161. dni vývoje byly určeny sektory pouze dva – oblast vaječného zubu a oblast za vaječným zubem (viz. Dekalcifikace).

Každé studované embryo jsem dokumentovala sekvencí přehledných fotografií, jejichž výběr je v Příloze 2. Problematika odontogeneze je dokumentována v Přílohách 3 až 7. Označení používaná u zpracování vzorků (viz. výše) jsem ve výsledcích ani v přílohových tabulích již nepoužívala.

Identitu studujících struktur jsem ověřovala fokální analýzou celé série. Detailní 3D rekonstrukce nebyla prováděna. Odpovídající informace jsem získala opakovanou optickou analýzou následných řezů příslušné série.

Řezy jsem pozorovala a snímala pod stereolupou Olympus SZX12 a pod mikroskopem Olympus BX51 pod různým zvětšením. Fotografie dentice čerstvě vylíhlého mláděte druhu *Varanus indicus* a měsíc starého mláděte druhu *Varanus niloticus* (Příloha 1) byly pořízeny na rastrovacím elektronovém mikroskopu SEM JEOL 6380 LV v Laboratoři elektronové mikroskopie PřF UK.

3. Výsledky

3.1. Postnatální dentice

Úpravu funkční dentice a čelistí u vylíhlých mláďat ilustrují SEM fotografie v Příloze 1. Vedle nápadné mohutnosti jednotlivých zubů, odlišující poměry postnatální dentice u studovaného rodu od jiných modelových druhů Lepidosauria, dokládají zmíněné fotografie i nečekaně výrazné odlišnosti poměrů u druhu *Varanus indicus* (jenž je hlavním objektem této práce) a *Varanus niloticus*. Zmíněné rozdíly se týkají nejen velikosti a počtu zubů v horní i dolní čelisti celkově, ale v první řadě i tvarových specifik jednotlivých zubů v premaxilární části dentice i ve vlastním čelistním oblouku. U mláděte druhu *Varanus indicus* lze pozorovat velice ostré, dlouhé, kónické a ostře špičaté zuby, které mají jemně pilovitý okraj. Tyto zuby nápadně připomínají zuby hadů resp. predátorů pohyblivé vertebrátní kořisti (srv. potrava složená z ryb, malých savců, ptáků a různých druhů hmyzu). Zuby mláděte *Varanus niloticus* vykazují nápadnou heterodontii v rámci jediné dentice. Zvláště charakteristická je zde tricuspidita jednotlivých zubů, jejich zmenšený počet kombinovaný s robustností a zvýšenými šířkovými rozměry. Tyto tricuspidní zuby mají jeden hlavní robustní velký hrbolek uprostřed, zbylé dva jsou menší a po stranách tohoto hlavního hrbolku. Všechny tři hrbolky mají kónický tvar. Zcela specifické jsou zde zuby premaxilární s tupými kulovitě zakončenými hrbolky stejné velikosti připomínající homocuspidní zuby savčích incisivů.

3.2. Základní charakteristiky embryonální stadiality

Detailní přehled stavu a úrovně vývojové diferenciace jednotlivých morfologických struktur sledovaných v souvislosti s analýzou stadiality embryonálního vývoje poskytuje Příloha 2.

Výrazné a makroskopicky dobře zachytitelné předěly ve stavu jednotlivých struktur, resp. embryogenetických znaků, popisuje tabulka 3. S využitím literatury (Dufaure & Hubert, 1961; Sanger et al., 2008) byla stádia vymezena v tabulce 4.

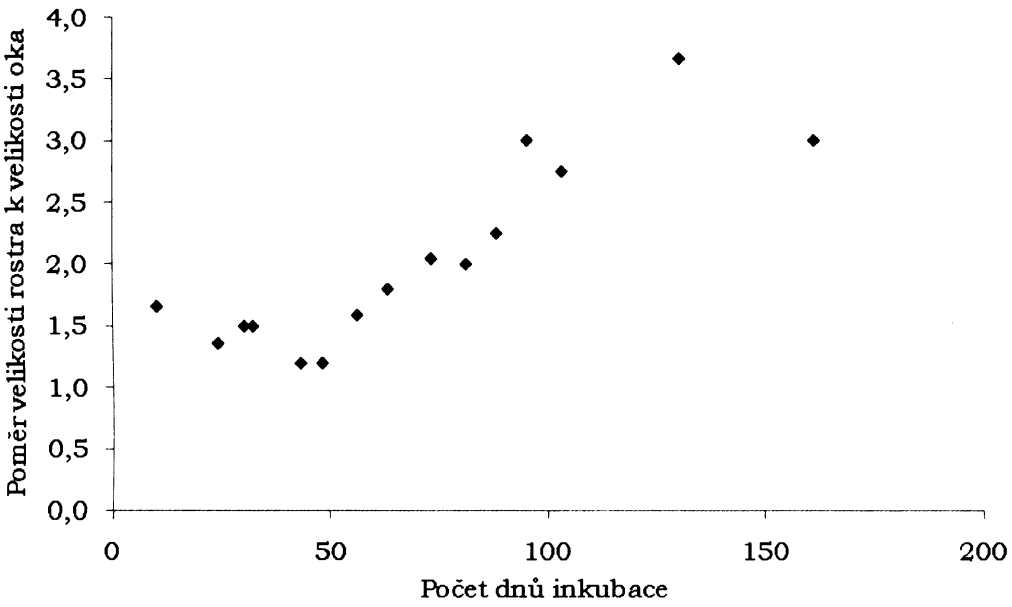
Tab. 3. Základní charakteristiky embryonální stadiality. KV – kompletně vyvinuté, Z – začátek, P – pupen, V – vějířek, RP – rýsující se prsty, PR – prsty, PD – prsty s drápy, DP – drápy s pigmentem, šup – šupiny, pigm – pigment, bub – bubínek, limb – končetiny.

Znak	**Limb**	**Tělo**				**Hlava**					
Den výv.	**P/V/ RP/ PR/ PD/ DP**	**cévy**	**šup**	**pigm**	**vzor**	**čočka**	**mžurka**	**víčka**	**nozdra**	**bub**	**šup**
10	P	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
24	V	ne	ne	ne	ne	ano	ne	ne	ne	ne	ne
30	P/V	ne	ne	ne	ne	ano	ne	ne	ne	ne	ne
32	V/R	Z	ne	ne	ne	ano	ne	Z	ne	ne	ne
43	RP	ano	ne	ne	ne	ano	ne	Z	ano	ano	ne
48	RP+	ano	ne	ne	ne	ano	ne	horní ano	ano	ano	ne
56	PR	ano	ne	ne	ne	ano	ne	Z dolní	ano	ano	ne
63	PR+	ano	ano	ne	ne	ano	ne	ano	ano	ano	ne
73	PD	ano	ano	ne	ne	ano	ne	ano	ano	ano	ano
81	PD	ano	ano	ne	ne	ano	ne	ano	ano	ano	ano
88	PD+	ano mizí	ano	ne	ne	ano	Z	ano	ano	ano	ano
95	DP-	ano mizí	ano	ne	ne	ano	Z	ano	ano	ano	ano
103	DP	ano mizí	ano	ne	ne	ano	ano	ano	ano	ano	ano
130	DP+	ne	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano
161	KV	KV	KV	KV	KV	KV	KV	KV	KV	KV	KV

Tab. 4. Vymezení stádií. DV – den vývoje, ST – stádium, H – hatchling (mládě připravené k líhnutí).

DV	10	24	30	32	43	48	56	63	73	81	88	95	103	130	161
ST	¾	6	5	8	8/ 9/ 10	9/ 10/ 11	10/ 12/ 13	12/ 13	14/ 15	16/ 17	17	17	17/ 18	19	H

Velmi charakteristickým momentem embryogeneze hlavy je anizometrický růst oka a mozku v první třetině vývoje (zhruba do 50. dne) a výrazná akcelerace relativního longitudinálního růstu rostra od 60. do 130. dne, s následnou stabilizací proporcí a proporčním růstem hlavy (obr. 6.). Souběžně s tím se mění i relativní délka čelistí a pozice ústního koutu (blíže viz. Příloha 2).



PDI	10	24	30	32	43	48	56	63	73	81	88	95	103	130	161
Ratio	1,7	1,4	1,5	1,5	1,2	1,2	1,6	1,8	2,0	2,0	2,3	3,0	2,8	3,7	3,0

Obr. 6. Poměr velikosti rostra k velikosti oka v závislosti na počtu dnů inkubace u varana mangrovového (*Varanus indicus*). PDI – počet dnů inkubace, Ratio – poměr velikosti rostra k velikosti oka.

Detailní charakteristiky odontogenetické dynamiky a zevrubný přehled situace v jednotlivých stadiích jsou k dispozici v Příloze 2 (včetně referenčních histologických řezů - srv. kapitola 2.2.3., str. 22). Souborně lze odontogenetickou dynamiku charakterizovat následujícími skutečnostmi: **(1)** v 10. dni vývoje nebyly nalezeny žádné známky odontogeneze. Zřejmá je však masivní invaze mezenchymu v distální části ústního prostoru, vytvářející morfologicky výrazné pruhy maxilárních výběžků. **(2)** Ve 24. dne vývoje je patrná již histodiferenciace odontogenetického epitelu, lokální zesílení a počáteční invaginace zejména v prostoru maxilárních výběžků, jejichž objem je proti předchozímu stadiu, výrazně zvětšen. V tomto kontextu se zde objevují i první zubní zárodky ve stádiu pupenu

(*bud*) a pohárku (*cap*). Takřka shodný stav byl konstatován rovněž ve stádiu 32. dne vývoje. **(3)** V této fázi se vývoje se diferencuje výlučně embryonální zubní generace, charakterizovaná malými vstupními buněčnými populacemi a mělkou podpovrchovou invaginací. **(4)** V dalších stadiích (s úrovní zubního zvonu v 43. dnu, resp. s počínající mineralizací v 48. dnu) je patrná diferenciace a zmnožování zubů embryonální generace. **(5)** V 56. dnu se vedle embryonální zubní generace objevují první zubní zárodky generace funkční, s hlubokým zahloubením zubní lišty. V tomto stadiu počíná histodiferenciace blastémů dermálních čelistí okolo Meckelovy chrupavky (včetně patrné kalcifikace) a na špičce rostra se objevuje zubní zárodek vaječného zubu. **(6)** Od 63. dne je možné pozorovat embryonální generaci i funkční generaci zároveň. Ve funkční generaci přibývá stádium zvonu. Zubní zárodky se přibližují zubonosným kostem. Objevují se kosti mandibuly. **(7)** V 73. dnu vývoje nebyly již nalezeny žádné zuby embryonální generace s výjimkou nekompletně mineralizovaných reziduí. Přítomna je již jen funkční zubní generace a je patrná její postupující mineralizace zubů a přisedání zubních zárodků k zubonosným kostem. V tomto stadiu jsou již jasně definovány a morfologicky dobře odlišeny blastémy dermálních kostí rostra a orbity. **(8)** Od 73. dne až do 103. dne vývoje je odontogeneze charakterizována především výrazným růstem rostra, velkými zubními zárodky funkční generace a postupným přisedáním zubních zárodků ke kostem. **(9)** Pro 130. a 161. den vývoje je typické pleurodontní přisednutí ke kostem, diferenciace ankylózy a prořezávání funkčních zubů. **(10)** Vývoj vaječného zubu probíhá od 56. dne až do 130. dne vývoje. Vaječný zub je na horní čelisti ve 161. dni vývoje dobře viditelný, připraven na fázi líhnutí mláděte z vejce.

3. 3. Diferenciace odontogenetického epitelu

V nejmladším zkoumaném stadiu (10. den vývoje) jsem na žádném místě ústního prostoru nezaznamenala zřetelnější lokální diferenciaci celkově homogenního dlaždicového epitelu, pokrývajícího povrch mezenchymálních struktur orofaciálního prostoru.

Lokální diferenciaci charakterizovanou ztluštěním epitelu, resp. vytvořením vícevrstevného útvaru s dobře odlišenou bazální laminou, jsem poprvé pozorovala ve stádiu 24. dne vývoje. V tomto stadiu byla rovněž patrná již lokální diferenciace podpovrchových zubních primordií a mělké zahloubení celé ztluštělé epiteliální zóny. Dalším zahlubováním do mezenchymu (patrným přinejmenším od 32. dne vývoje) se lišta stává vícevrstevnou a formuje invaginující bilaminární strukturu, která v místech příštích zubních pozic vytváří charakteristický třívrcholový útvar. První z jeho vrcholů je nejhlouběji vnořen do mezenchymu a je také největší. Další

dva jsou na úpatí tohoto prvního, jsou zhruba stejně velké a na stejné straně mediálně směrem k patru (Příloha 3).

Dalším a hlubším zanořováním zubní lišty (počínaje 43. dnem vývoje) vzniká dvou až třívrstevná delaminace epitelu se středovou vrstvou plochých buněk a vnějšími vrstvami buněk s výraznou axiální polarizací a spíše cylindrického tvaru. Apikální výběžek lišty prominující do mezenchymu je obklopen nápadnou kondenzací mezenchymatické buněčné populace a polarizací mezenchymatických buněk směrem k zubní liště.

V tomto kontextu zubní lišta odštěpuje primordia jednotlivých zubů, resp. diferencuje jejich primární stadia, do podoby časných pohárků. I přes další masivní diferenciaci příslušného zubu až po perierupční stadium mineralizace nedochází k úplnému odškrcení zubního zárodku od bilaminární zubní lišty (k tomu dochází teprve ve stadiu ankylózy a erupce). Zubní lišta, která dává vzniknout zubům následných generací, se diferencuje na apikální bázi zubního zvonu a pučí jako laterální bilaminární struktura kolmo na primární zubní lištu. Zubní lišta je pak schopna vytvořit řetěz zubních zárodků v různém stádiu jejich vývoje.

Dalším charakteristickým momentem diferenciace odontogenetického epitelu u varana mangrovového bylo zahlubování a zesilování na mediální bázi maxilárních výběžků, resp. v liniích paralelních s vlastní zubní lištou, na horní čelisti v oblasti patra. Tato ztluštění se nikdy dále progresivněji nevyvíjela ani nikdy nedala vzniknout jakýmkoli zubním zárodkům. Nejmasivněji se takto zesílená zubní lišta projevovala od stádia 32. až do 56. dne vývoje. Od pozdějších stádií, od 73. dne vývoje varana mangrovového, dokonce tato patrová zesílení spíše mizela. Od tohoto stadia byla jako převažující diferenciační tendence odontogenetického epitelu dokumentována masivním zahlubováním vlastní zubní lišty, především v oblasti maxilárních výběžků. Tam také vznikaly zubní zárodky s nejvyšší intenzitou vývoje.

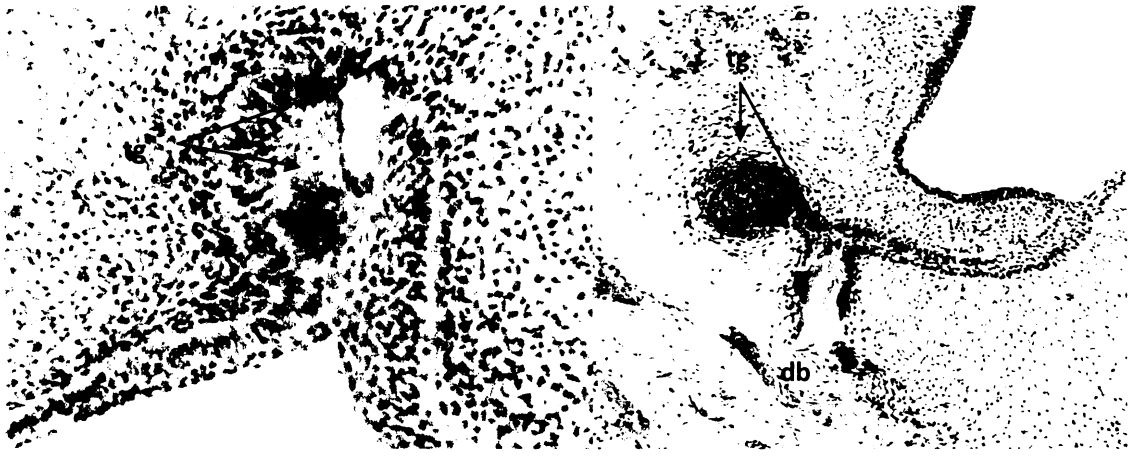
3. 4. Zubní generace

Podle úrovně diferenciace odontogenetického epitelu, resp. zubní lišty, z níž počíná vznik zubních zárodků, a souběžně také podle velikosti vstupních buněčných populací odontogeneze lze dobře rozlišit dva základní typy zubních generací: embryonální a funkční.

Embryonální generace je charakterizovaná velmi časným vznikem bezprostředně navazujícím na plakodální ztluštění odontogenetického epitelu,

zubní zárodky vznikají souběžně s mělkou podpovrchovou invaginací této struktury a jsou založeny jen malým počtem buněčných populací epiteliálních i mezenchymatických.

Embryonální zubní generace se začíná objevovat již v 32. dni vývoje a její vývoj je pozastavován mezi 63. a 73. dnem vývoje. Zubní zárodky embryonálních generací můžeme popsat jako malé zuby, vznikající blízko povrchu z vícevrstevné zubní lišty a diferencované z velmi malých buněčných populací. U žádného zubu embryonální generace nedošlo k vytvoření skloviny, v závěrečných stadiích jejich vývoje (56. – 63. den) lze pozorovat překotnou mineralizaci v oblasti pulpy s homogenní strukturou mineralizované tkáně. V tomto směru odpovídá tedy vzniklý mineralizovaný produkt predentinu (obr. 7.a). Ve stádiích od 56. dne vývoje jsem pozorovala náznak přisedání embryonální generace (např. 73. den vývoje; obr. 7.b). Nikdy však nebyla pozorována kompletní ankylóza ke kosti u zubních zárodků z těchto generací. V těchto stadiích není však již vetšina ze zubů embryonální generace, patrných v předchozích stadiích, přítomna (zřejmě v důsledku resorbce).



Obr. 7. a) 73. den vývoje - predentinový zub; **7. b)** 73. den vývoje - ankylóza zubního zárodku embryonální generace

Funkční generace se objevuje oproti embryonální později až v 56. dni vývoje. Zubní zárodky funkčních generací lze obecně charakterizovat jako zárodky velké, vznikající hluboko v mezenchymu blíže kostem z dvou/třívrstevné zubní lišty (viz. výše) a jsou pokryté sklovinou. Vznikají z mohutných buněčných populací a diferenciace buněk je v daleko větším rozsahu. Jednotlivé vrstvy i stádia zubního zárodku jsou od sebe snadno rozeznatelné. Mezi 56. až 73. dnem vývoje se funkční zubní generace potkává s embryonální generací nejen časově ale i prostorově v rámci jedné zubní lišty. Často jsem pozorovala, že jsou zubní zárodky embryonální generace ve stádiu mineralizace (nejčastěji) kolmo umístěny v zárodku generace funkční. Ten je nejčastěji ve stádiu zvonu a začíná přisedat ke

kosti (např. 73 den vývoje; viz obr. 7.b). Kompletní ankylóza zubního zárodku byla pozorována pouze u funkčních generací (viz 3.5. Ankylóza). Od stádia 81. dne vývoje jsem pozorovala již jen zárodky funkčních generací.

Pozice zakládání obou typů generací byla na horní čelisti v oblasti maxilárních výběžků. Nikdy nebyly pozorovány zubní zárodky jakékoli generace v oblasti patra (viz. 3.3. Diferenciace odontogenetického epitelu). Na dolní čelisti bylo zakládání vždy v oblasti mandibulárních výběžků.

V obou generacích, přes nemalé odlišnosti vstupních parametrů (viz. výše), probíhala odonotogeneze postupem odpovídajícím standardní stadialitě vertebrátní odonotogeneze (pupen-pohárek-zvon atd.). U zubů funkční generace s velkými vstupními buněčnými populacemi odpovídá v základních rysech zubní zárodek poměrům u savců se všemi strukturami u ne-savčích amniot spíše ojedinělým: např. hvězdicové retikulum, jasně definovaný krčkový záhyb s dobře patrným stratum intermedium, několikavrstevné ODE, prostorově škálovaná histodiferenciace IDE atd. (viz obrázek 8.).

Obr. 8. Zub funkční generace (103. den) - stadium pozdního zvonu s probíhající mineralizací korunkového hrotu.

3.5. Ankylóza

Přisedání zubních zárodků k zubonosným kostem jsem pozorovala jen u zubních zárodků typu funkční generace a ačkoliv náznak přisedání embryonálních zubních

zárodků byl pozorován ve stádiích od 56. až do 73. dne vývoje (viz. 3.4. Zubní generace), ankylóza jako taková však u těchto zárodků pozorována nebyla.
Přibližování zubních zárodků funkční generace (viz. Příloha 6) se začíná objevovat ve stádiu 63. dnu vývoje varana mangrovového. První stádium zubního zárodku, které začíná vykazovat viditelné přibližování k zubonosným kostem, je stádium pozdního zvonu. Mezi ním a kostí začíná být patrný polarizovaný kondenzovaný mezenchym. U následujícího stádia 73. dne je patrná menší vzdálenost mezi kostmi a zubními zárodky nejčastěji ve stádiu mineralizace. Je patrné začínající přibližování na vnitřní stranu kosti, přičemž výrazná asymetrie krčkových záhybů (cervical loops) výrazně napomáhá pleurodontní ankylóze. Ten záhyb, který je blíže kosti, je vždy výše položený. U stádia 95. dne je asymetrie těchto záhybů ještě výraznější a nastává přichycování zubního zárodku ve stádiu mineralizace ke kosti. Horní krčkový záhyb přisedá na špičku kosti, přičemž dolní krčkový záhyb přisedá do boku kosti – tzv. pleurodontie.

Byly nalezeny i zubní zárodky ve stádiu pozdního zvonu (stádium 103. dne vývoje), které se začínají přibližovat ke kosti na její vnitřní stranu ze shora a pak se postupně posouvají ve směru typické pozice pro pleurodontii.

Ve stádiu 130. dne vývoje lze pozorovat kromě, silně mineralizovaných pleurodontně přisedlých zubů, i zuby prořezané či v přisedání ke straně kosti v její vnitřní části podobně jako je tomu u 103. dne vývoje.

Ve stádiu 161. dne vývoje jsou všechny zuby kompletně přisedlé a připravené na prořezání nebo jsou již prořezané a mají extrémně silnou vrstvu skloviny.

3.6. Vaječný zub

Vaječný zub je podrobně dokumentován v Příloze 7. První známka náznaku vzniku vaječného zubu se objevuje ve 48. dni vývoje. Ovšem první zubní zárodek ve stádiu pohárku (*cap*) se objevuje o stádium později, tj. v 56. dni vývoje. Tento zárodek je spojen se zubní lištou, je jen jeden, ale za to nesmírně robustní. Ve stádiu 63. dne vývoje byla část zubního zárodku nejblíže povrchu jeho bazální částí. Špička tohoto zubního zárodku byla nejdistálněji a hluboko v mezenchymu. Distální část zárodku je situována v mohutně rozšířené zubní liště, která se dále výrazně diferencencuje symetricky na pravé i levé straně - vlastní vaječný zub je lokalizován v levé části, v pravé části mu odpovídá primordium dalšího zubu včetně pupenů v distální části lišty (srv. Příl. 7, obr. 7-11). Podobnou situaci - přítomnost menšího zubu symetrického v pravém sektoru velkému vaječnému zubu, lze pozorovat ještě ve stadiu plně probíhající mineralizace (103. den: srv. Příl 7, obr. 7-15). Ve stadiích 73. a 88. dne, stejně jako ve 130. dni, nebyl však

pravostraný ekvivalent vaječného zubu zaznamenán (srv. reziduum ve 161. dni – viz. níže). Tyto skutečnosti naznačují, že přítomnost pravostraného vaječného zubu může být znakem individuálně proměnlivým a ve všech případech je zjevně pouze dočasná.
Mineralizace vaječného zubu je patrna již od stádia 73. dne vývoje. Pokročilá mineralizace s plným rozvojem souvisejících struktur (hvězdicové retikulum, diferencované ameloblasty a odontoblasty) byla pozorována ve stádiu 88. dne, ve stádiu 103. dne je dobře patrná i sklovina. Ve stádiu 130. dne je zubní zárodek jediný, obrovský a otočen špičkou s mohutnou vrstvou skloviny ven z orální dutiny. U stadia 161. dne vývoje bylo na hlavě mláděte patrný velký a výrazný průhledný vaječný zub ve středu rostra horní čelisti. Na jeho boku lze pozorovat druhý vaječný zub. Ten není ve středu, je malý a lehce zahnutý (viz. Příloha 2). Vaječný zub je největší ze všech zubních zárodků i funkčních zubů celé čelisti v embryonálním období i období těsně po vylíhnutí. Je tvořen obrovskými buněčnými populacemi a je vždy spojen se zubní lištou. Jeho vývoj začíná zhruba až po první třetině embryonálního vývoje. A již čtrnáct dní před koncem inkubační doby je již připraven ke své funkci ve fázi líhnutí.

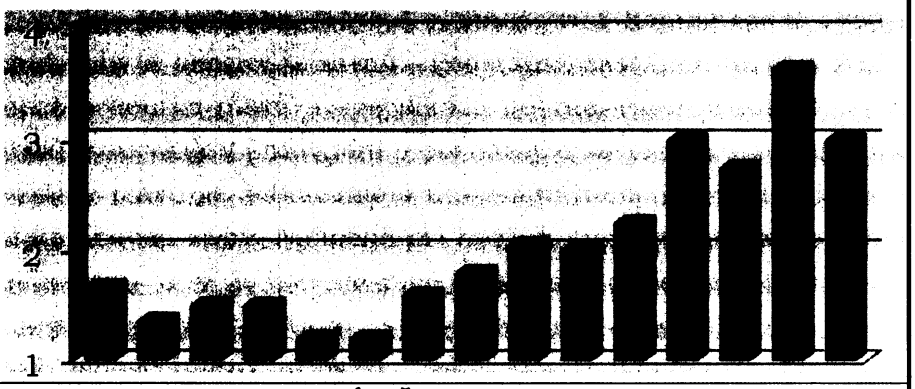
3.7. Závěrečné shrnutí

Nezanedbatelným faktorem odontogeneze je dynamika růstu hlavy, zvětšování orofaciálního prostoru a diferenciace souvisejících struktur. V této práci nejsou tyto skutečnosti zohledňovány detailně, nicméně připomínám je alespoň na tomto místě jako pozaďovou kontextuální informaci odontogenetické problematiky. Jak je shrnuto výše, ve sledovaném úseku embryogeneze lze rozlišit dva úseky s jasně odlišnou dynamikou růstu - úsek relativní stagnace růstu orofaciálního prostoru vůči mozku a oku a úsek s výrazně akcelerovaným růstem orofaciální oblasti a rostra (srv. obr. 6). Bod zlomu se nachází mezi 40. a 55. dnem vývoje. Před tímto bodem nedochází k výrazné prolongaci rostra. Odontogenetickou dynamiku před tímto zlomovým bodem lze charakterizovat především výraznou diferenciací odontogenetického epitelu (zubní lišta) a formací zubních zárodků embryonálních generací. Po tomto bodu zlomu, období mezi 60. až 95. dnem vývoje, však nastává prudký vzestup v růstu rostra. V této době dochází také k výraznému růstu dolní i horní čelisti. Odontogenetická dynamika začátku tohoto období je charakterizována především souběžným vývojem obou typů zubních generací, přičemž od 80. dne vývoje se pak vyskytují již jen zubní zárodky generací funkčních. Objevuje se také a vyvíjí se vaječný zub. Typickým rysem tohoto období je též počínající ankylóza. Celkově se tento vzestup dá popsat jako masivní růst obou čelistí spojený s prudkým nástupem funkční zubní generace. Druhý bod zlomu pak nastává ke konci embryonálního vývoje, tedy od 100. dne až k 160. dni, kdy ustává jak prolongace rostra, tak celkový růst a vývoj mláděte (organogeneze

kompletní, pigmentace i vzor) a růstová dynamika nabývá charakteru proporcionálního růstu. Převažujícími rysy odontogenetické dynamiky v tomto stadiu jsou zmnožování zubů funkční generace (diferenciací aditivních výběžků zubní lišty z vyvíjejících se zubních zárodků) a zejména pak ankylóza první generace funkčních zubů a jejich erupce. Oba tyto prvky jsou patrné především u posledních dvou stádií (130. a 161.).

Souborné srovnání časového uspořádání jednotlivých fází růstové a odontogenetické dynamiky (tab. 5) naznačuje: **(1)** nápadnou kontextuální heterochronii charakterisovanou akcelerovaným růstem rostra a zvětšováním ústního prostoru počínající 53. dnem vývoje, **(2)** masivní nárůst odontogenetické dynamiky patrný právě v období mezi 56. až 95. dnem vývoje, přičemž jde o nárůst nejen v kvantitativním smyslu (počet zárodků, délka zubní lišty), ale i v kvalitativním. **(3)** Mezi 63. a 81. dnem se objevuje souběžně několik odontogenetických jevů najednou (embryonální generace, funkční generace, vaječný zub, ankylóza). **(4)** Ve stejném úseku, tj. v první čtvrtině akcelerační fáze růstu, mizí embryonální generace a plně se rozvíjí embryogeneze zubů funkční generace charakterizovaná hlubokou invaginací zubní lišty a velkou početností vstupních buněčných populací. **(5)** Souběžně s ní se jako nejmohutnější element prenatální dentice rozvíjí vaječný zub, jehož prolongace a zvětšování je vázáno na rostrální diferenciaci zubní lišty, zjevně synchronní s prodlužováním rostra a diferenciací dermálního skeletu nariální oblasti (viz. výše).

Tab. 5. Shrnující přehled odontogenetické dynamiky vývoje varana mangrovového (*Varanus indicus*).

DNY	10	24	30	32	43	48	56	63	73	81	88	95	103	130	161
Růstová dynamika (relativní délka rostra)															
															
ZUBNÍ LIŠTA															
Plakoda		◆	◆	◆	◆	◆									
Invaginace		◆		◆	◆	◆									
Vícevrstevná		◆		◆	◆	◆	◆	◆							
Dvoj/Třívrstevná							◆	◆							
Nesoucí zuby							◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	
ZUBNÍ GENERACE															
(1) Embryonální															
Pupen		◆		◆	◆	◆	◆	◆							
Pohárek		◆		◆	◆	◆	◆	◆							
Zvon					◆	◆	◆	◆							
Mineralizace						◆	◆	◆	◆						
(2) Funkční															
Pupen							◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	
Pohárek							◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	
Zvon								◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	
Mineralizace									◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
Ankylóza									◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
Prořezávání														◆	◆
VAJEČNÝ ZUB															
Přítomnost							◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
Pohárek							◆								
Zvon								◆	◆						
Mineralizace									◆	◆	◆	◆	◆		
Funkční pozice														◆	◆

4. Diskuze

Úpravy dentice a zubů představují jeden z klíčových faktorů vymezujících adaptivní potenciál jednotlivých skupin obratlovců (Kardong, 1995). Vývojové mechanismy, které tyto struktury produkují, a dynamika odontogeneze se stávají po právu centrálním objektem moderního srovnávacího studia obratlovců (Stock, 2001; Smith, 2003). Vrcholného rozvoje s množstvím komplexních adaptivních variant dosahují zuby a dentice u savců. Podstatná část literatury se týká právě savců. Informace o dentici plazů a specifikách odontogeneze jednotlivých skupin těchto obratlovců jsou však v porovnání s poznatky o savcích zcela fragmentární a ojedinělé. U většiny plazů se setkáváme s uniformní homodontní denticí tvořenou jednoduchými kónickými zuby. Nicméně při bližším pohledu se i zde setkáváme s četnými modifikacemi a v jedné skupině dosahuje dokonce dentální evoluce jednoho ze svých vrcholů. Touto skupinou jsou hadi s evolucí vysoce specializovaných jedových zubů (Bogert, 1943; Shayer-Wollberg & Kochva, 1967; Kardong, 1982; Jacskon, 2002; Zahradnicek et al., IN PRESS). Vývojové mechanismy odpovědné za tyto dentální specializace se dostávají do centra pozornosti teprve nyní (Vonk et al., 2008; Zahradnicek et al., IN PRESS). Jejich vývojová interpretace předpokládá ovšem srovnávací informace o poměrech u sesterských skupin. Jednou z takovýchto skupin jsou varani. Robustní výsledky molekulární fylogenetiky (Vidal & Hedges, 2005) stabilizují pozici této skupiny v monofylu Toxicofera tvořeném monofyly Serpentes, Helodermatidae, Anguidae, Varanidae a Iguanidae.

Varani jsou hadům blízcí i specializací na makrofaunivorii. Kupodivu informace o dentici této skupiny jsou překvapivě kusé a o embryonálním vývoji dentice a zubů u této skupiny nebylo dosud publikováno takřka nic. Výsledky, shrnuté v předložené práci, poskytují tedy první ucelenou informaci o této problematice. Prvním krokem diskuze musí být zhodnocení faktické reprezentativnosti dosažených výsledků. Jsem přesvědčena, že v tomto směru odpovídá rozvrh uskutečněného výzkumu v plném rozsahu standardu podobných prací u jiných skupiny plazů (Osborn, 1971; Lemus et al., 1980; Piesco & Kallenbach, 1985; Mohammed et al., 2002; Delgado et al., 2004). Série 15 embryí pokrývá celkem rovnoměrně celý úsek prenatální embryogeneze. Podařilo se zachytit a dokumentovat první počáteční stadium diferenciace odontogenetické zóny a demonstrovat jak v makroskopickém aspektu, tak v detailech morfogenetických a histogenetických procesů, všechny zásadní fáze odontogeneze až po stadium první posterupční generace. Souběžná analýza morfogeneze embrya a čelistního prostoru umožnila zachytit jednotlivé odontogenetické události do kontextu celkové vývojové dynamiky a paralelizovat se standardní stadiální kategorizací u jiných forem Lepidosauria (Dufaure & Hubert, 1961; Lemus et al., 1981; Sanger et al., 2008).

Z dílčích výsledků, shrnutých v předchozích odstavcích, zasluhují zvláštní pozornosti zejména následující skutečnosti:

(1) Extrémní rozdíly v charakteru jednotlivých zubů i celé postnatální dentice dvou druhů rodu *Varanus* jsou velice překvapivé. Charakter příslušných odlišností je v relativně dobré shodě s rozdíly obou druhů v potravní strategii a způsobu života těchto dvou druhů (*V.indicus* - stromový, predace pohyblivé kořisti, *V.niloticus* - pozemní, širokospektrý konzument s výrazným zastoupením durofágní potravy jako jsou třeba měkkýši a korýši, zejména krabi -Pregill, 1984; Dryden & Ziegler, 2004; Lenz, 2004). Robustnost jednotlivých tubů, tricuspidita a heterodontie celé dentice u druhu *V.niloticus* představuje bezpochyby adaptivní odvozený stav selektovaný poměry durofagie, resp. mechanickými vlastnostmi potravy, představující v určitých fázích roku klíčový potravní zdroj (krabi) (Lenz, 2004). Stejně tak lze ovšem zřetelné specializační charakteristiky konstatovat v postnatální dentici druhu *V.indicus* - zejména nápadné je zde výrazné prodloužení jednotlivých zubů, ostrost hran a obligatorní přítomnost 3 plně diferencovaných zubních generací na každé zubní pozici disponující k rychlé a operativní zubní výměně. Všechny tyto skutečnosti lze chápat jako adaptivní stav odpovídající poměrům intenzivní predace pohyblivé kořisti nevyžadující však další mechanické zpracování. Taková to heterodontie byla pozorována i u chameleona (Röse, 1893), gekonů, kde byla pozorována dokonce i tetracuspidita u druhu *Eublepharis kuroiwae* (Sumida & Murphy, 1987). Pro gekony je však typická bicuspidita (Sumida & Murphy, 1987). I u scinků byly pozorovány bicuspidní zuby (Townsend et al., 1999; Delgado et al., 2002). Kieser et al. (1993) popisuje pravou heterodontii i u krokodýla nilského (Crocodylus niloticus). Nakolik je však na místě tento stav u varanů chápat jako odvozený resp. nakolik jej lze pokládat spíše za původní uspořádání, přinejmenším vůči jasně odvozenému stavu u druhu *V.niloticus*, bude možné rozhodnou pouze na základě výsledků dalších srovnávacích šetření, zahrnující i jiné druhy zájmového okruhu. V této fázi výzkumu ponechám tedy zmíněnou otázku otevřenou a soustředím se pouze na jiný moment, který provedené srovnání ilustruje.

(2) Nečekaně velký rozsah dentálních odlišností obou druhů dokládá totiž mimořádně velký potenciál dentálních přestaveb a diferenciací u zkoumaného rodu, přesahující poměry vnitrorodové proměnlivosti u většiny ostatních plazů a mnohých savců (srv. rozdíly v úpravě premaxilárních zubů). Současně je však zřejmé, že k takto rozšířenému morfodiferenciačnímu potenciálu musí být k dispozici i patřičným způsobem modifikovaná vývojová dynamika. V daném případě je třeba připomenou jeden z výsledků mého šetření - skutečnost, že na vývoji zubů funkčních generací se podílí buněčné populace mimořádně početné, v porovnání s poměry u jiných plazů. Takto velké buněčné populace nebyly pozorovány u žádných Lepidosauria (Osborn, 1971; Lemus et al., 1980; Piesco &

Kallenbach, 1985; Westergaard, 1986; Mohammed et al., 2002; Delgado et al., 2004). Pouze u Crocodylia je možné pozorovat podobně velké buněčné populace (Westergaard & Ferguson, 1986, 1990). Je otázkou, zda je to však způsobeno extrémní predací, která je pro obě skupiny typická. Pokud ano, bylo by pak zřejmé, že velké zubní zárodky, které jsou tvořeny těmito velkými buněčnými populacemi, jsou charakteristické pro vrcholové predátory, jakými varani i krokodýlové bezpochyby jsou.

(3) Důležitým poznatkem, plynoucím z provedených šetření, jsou mimořádně velké odlišnosti mezi první embryonální generací zubů a zuby funkční generace. Embryonální generace se zakládá v časné fázi odontogeneze z poměrně velmi malých buněčných populací. A to souběžně s počátkem invaginace plakodálně zesílené odontogenetické epiteliální výstelky. Vývoj těchto zubů probíhá poměrně rychle, těsně pod povrchem orálního epitelu. Histogeneze ameloblastů není však patrná a k produkci skloviny zde nedochází. Mineralizace končí produkcí homogenně mineralizovaného predentinu, přinejmenším je však část z primordií embryonální generace současně resorbována. Naproti tomu, zuby funkční generace se zakládají výrazně později, jejich iniciace je vázána na hlubokou invaginaci souvislé a plně diferencované zubní lišty a jejich vývoj počíná z velmi početných buněčných populací (jak epitaliálních, diferencovaných z mohutné bilaminární lišty, tak mezenchymatických, tvořících na počátku odontogeneze nápadné kulovité kondenzace, které obklopují apikální výběžky invaginující lišty). Následný vývoj těchto zárodků probíhá v prostředí excesivně se prodlužujícího rostra a čelistí a vede k utváření mimořádně vysokých mohutných kónických zubů, plně odpovídajících funkčním nárokům efektivní predace. Zásadním faktorem tohoto vývoje je rovněž mohutný rozvoj masivních maxilárních a mandibulárních výběžků charakterizující počáteční stadia vývoje této zubní generace. Proti embryonální generaci je tedy vznik a vývoj funkčních zubů zpomalen. Mineralizace probíhá u zubů funkční generace po většinu embryonálního vývoje, je však důsledně polarizována s charakteristickou heterotopií amelogeneze: s plně diferencovanou a sekrečně aktivní apikální částí IDE na jedné straně a zcela nediferencovanou buněčnou populací s aktivním cyklem v oblasti krčkového záhybu. V těchto ohledech odpovídají poměry embryogeneze funkční generace poměrům odontogeneze savčích zubů. U naprosté většiny modelových druhů plazů (s výjimkou krokodýlů a hadů) se vývoj funkčních generací zásadně neliší od poměrů embryonální generace. Shora diskutovaná specifika funkční generace dentice varana pokládám tedy za stav jednoznačně apomorfní. Nakolik jsou jeho specifika homologické poměrům u hadů, bude třeba objasnit dalším studiem. Na rozdíl od hadů s akrodontním uspořádáním chrupu je ankylóza u varana mangrovového v pravém slova smyslu pleurodontní, jako je tomu u většiny ještěrů (viz. 1.1.2. Ankylóza).

(4) Zubní zárodky funkční dentice připomínají poměry u savců i v jiných směrech. Nápadná je tu např. (a) takřka kompletní izolace dokonale uzavřeného zubního váčku s mohutnou vícevrstevnou stěnou ODE, (b) prostorná dutina mezi ODE a IDE zvětšená v apikální oblasti a vyplněné hvězdicovým retikulem, histologicky zcela identickým s hvězdicovým retikulem savčích zubů, (c) aktivní krčkový záhyb s nadprodukcí buněk přecházejících do prostoru retikula a odpovídajících poměrům charakterizujícím stratum intermedium, nepočítáme-li (d) obecně velký rozsah IDE a mezenchymatické pulpy s odpovídajícími heterotopiemi v buněčné diferenciaci (srv. odontoblasty s dlouhými Tomesovými výběžky apod.). Nicméně, izolované shluky nediferencovaných buněk v apikálním prostoru hvězdicového retikula, odpovídající sklovinnovému uzlu (*enamel knot*) savčích zubů, jsem v žádném ze zaznamenaných zubních primordií nezaznamenala. Pokud se týče stratum intermedium, strukturu popisovanou jako čtvrtá vrstva zubotvorného orgánu u savců (Ogawa, 1977), její přítomnost byla konstatována rovněž u krokodýlů (Westergaard & Ferguson, 1986, 1990; Sire et al., 2002), tj. archosaurních plazů, jejichž zubní zárodky, dosahují podobně jako u varana, značné velikosti. U jiných Lepidosauria, s drobnými zuby, nebyla tato struktura pozorována (Sire et al., 2002; Delgado et al., 2004).

(5) Podstatným faktorem souvisejícím jak s velkou početností vstupních buněčných populací funkční dentice, tak s dlouhou dobou vývoje a diferenciace těchto zubů je skutečnost, že oproti jiným Lepidosauria má varan mangrovový neuvěřitelně dlouhý embryonální vývoj, který trvá zhruba půl roku (okolo 180 dnů). Oproti jiným ještěrům, je rozdíl patrný právě v takto dlouhé době inkubace, oproti hadům je rozdíl nejen v době inkubace, ale také, a to především, ve vývoji končetin. Zhruba srovnatelná délka vývoje je u želvy kajmanky dravé (*Chelydra serpentina*), která činí zhruba pět měsíců (Yntema, 1968). Je evidentně dlouhá právě proto, že zvíře jako je želva má daleko komplikovanější tělní plán (krunýř), než např. had. U podobných studií, které byly prováděny na hadech (viz. 1.2. Stadialita u plazů), byla délka vývoje u kobry 65 dnů (Jackson, 2002), u krajty asi 80 dní (Boughner et al., 2007), což je cca polovina doby vývoje varana mangrovového. U krokodýla mořského (*Crocodylus porosus*) byla délka srovnatelná s krajtou a to bylo zhruba přes 90 dnů. Pokud se neuvažuje časová délka embryonálního vývoje, odpovídá varan relativně dobře stádiím rodu *Anolis* určených Sangerem et al. (2008) a tomu podobným pracím.

(6) Jevem, který, pokud mi je známo nebyl dosud popsán, je prostorová kompetice zubů embryonální a funkční generace. Zárodky embryonální generace s masivní mineralizací predentinu (viz výše) mohou totiž přicházet do bezprostředního kontaktu se zárodky funkční generace a vnikat do jejich zubních váčků (srv. obr. 7.a). Tento jev se poměrně často vyskytoval od 56. až do 73. dne vývoje (především), tj. v období, kdy se oba typy zubních generací vyskytovaly současně

(viz. 3. Výsledky). Ve stejném vývojovém období (56. den – 73. den vývoje) byla také často pozorována počínající ankylóza zubního zárodku embryonální generace (viz. obr. 7.b). Ani s tímto jevem jsem se v literatuře nesetkala. Zřejmě to opět souvisí s prostorovou kompeticí obou typů zubních generací, jak tomu bylo i u předchozího problému.

(7) Zda vznikaly rané zubní zárodky embryonální generace nezávisle na zubní liště přímo z orálního epitelu, jak je tomu například u krokodýlů, hatérie, gekona, slepýše či ještěrky zelené (Westergaard, 1986, 1988; Westergaard & Ferguson, 1986, 1990; Sire et al., 2002), se nedalo prokázat vzhledem k malému množství raných embryí a také díky značně porušenému stávajícímu materiálu raných embryí (10., 24. a 30. den vývoje). Evidentně však funkční generace ze zubní lišty již vznikala, tak jak je tomu i ostatních plazů. Zajímavé bylo ztluštění odontogenetického epitelu v oblasti patra (viz. Příloha 3, kap. 3.3. Diferenciace odontogenetického epitelu), které sice nikdy nevedlo k výraznější diferenciaci či dokonce tvorbě jakéhokoli typu zubních zárodků, nicméně bylo přítomno v zásadě v každém stádiu. Nejvíce však bylo patrné v období mezi 32. až 56. dnem vývoje.

Toto zesílení si lze vysvětlovat tak, že produkuje materiál pro zubní zárodky, které vznikají ze zubní lišty v oblasti maxilárních výběžků. Což ovšem opět souvisí s mimořádně velkými buněčnými populacemi (viz. výše). Velký zubní zárodek vzniká z velkých buněčných populací a ty ke svému vzniku potřebují značné množství materiálu, který muže být produkován vedlejšími ztluštěními odontogenetického epitelu („zásobárna"), aniž by z nich vznikaly zárodky samostatně. Od 73. dne jsem však pozorovala značný útlum těchto patrových ztluštění, pravděpodobně proto, že vznikal důraz na vyvíjející se a přisedající se zárodky již v daných pozicích (maxila).

(8) Ačkoliv je v literatuře zmínka o vícenásobném ztluštění odontogenetického epitelu (Buchtova et al., 2007), je toto ztluštění také spojeno s tvorbou vlastních zubních zárodku, ať již funkčních nebo ne. To evidentně souvisí s tzv. patrovými zuby, které se vyskytují běžně mezi Lepidosauria. Nicméně varani jako jedna z mála skupin (kompletně) nemají vůbec žádné patrové zuby, ani na pterygoidu, vomeru a ani na palatine (Mahler & Kearney, 2006). Naopak, u hadů, korovců a varanovců, jakožto nejbližšími příbuznými varanů (Lee, 1997; Vidal & Hedges, 2005; Fry et al., 2005), se patrové zuby obecně vyskytují (Mahler & Kearney, 2006). Jejich odontogeneze je však výrazně méně známa, než odontogeneze zubů hlavních (Mahler & Kearney, 2006). Podle Buchtové et al. (2007) u krajty písmenkové (*Python sebae*) zmíněná patrová ztluštění produkují již po 11. dni vývoje patrnou vnitřní zubní řadu. Tato patrová ztluštění tedy produkovala zubní zárodky. U krajtovitých hadů byly pozorovány funkční zuby na pterygoidu i palatine (Mahler & Kearney, 2006). U varanovce (*Lanthanotus borneensis*) jsou

také přítomny patrové zuby na pterygoidu i palatine, zatímco u korovců (*Heloderma horridum*, *Heloderma suspectum*) byly přítomny na pterygoidu vždy u korovce mexického (*Heloderma horridum*) a u korovce jedovatého (*Heloderma suspectum*) tomu bylo variabilně (Mahler & Kearney, 2006).

(9) Je otázkou, zda nepřítomnost patrových zubů je u varanů sekundární, tj. zda odontogenetický potenciál palatálního záhybu nebyl druhotně využit jako zdroj posílení epiteliální populace hluboce invaginující zubní lišty a tedy ontogentický faktor mohutnosti a kvality zubních zárodků v hlavních pozicích (maxila). Selekční tlak by mohl podobnou adaptaci pro potravní specializaci studované skupiny (predace a lov pohyblivé kořisti) bezpochyby vyvolat. Zatím bohužel nelze rozhodnout, zda odpovídající embryonální struktury u zmíněných sesterských taxonů jsou homologní a nakolik se jejich vývojové osudy skutečně odlišují - k takovému závěru by bylo potřeba srovnat embryologický materiál korovců i varanovce a především dalších druhů varanů. Bohužel, jak je zdůrazněno již v úvodní kapitole, jedná se o zvířata obecně vzácná a potenciální embryologický materiál je tak v podstatě nedostupný.

(10) Vaječný zub se začal objevovat v 56. dni vývoje (podrobněji 3.6. Vaječný zub). Výsledky ukázaly, že vývoj vaječného zubu probíhá spíše tak, jak popisuje de Beer (1949)(viz. 1.1.3. Vaječný zub). I u varana mangrovového byly v začátku vývoje pozorovány dva zárodky. Jeden (pravý) byl daleko větší a v pokročilejším stádiu vývoje. Druhý (levý) byl výrazně menší. Ani jeden ze zárodků nebyl pozorován ve středu, dokud byly přítomny oba. Byly také spojeny zubní lištou. V zásadě již od 73. dne vývoje byl pozorován jen jeden hlavní zárodek. Ten se už také nacházel ve středu špičky rostra. Přikláním se názoru, že druhý zárodek degeneroval. To by byl výrazný rozdíl oproti hadům, u kterých zubní zárodky fúzují dohromady (Smith et al., 1953; Bandali et al., 2007). Ačkoliv u mláděte 161. dne vývoje jsou na horní čelisti přítomné vaječné zuby dva (Příloha 7), je patrné, že centrálně umístěn je jen jeden. Je výrazně větší, kónického tvaru a dobře vyvinutý. Druhý menší má pozici spíše bokem a je výrazně redukovaný. Zajímavý byl směr růstu vaječného zubu (Příloha 7; 63. den vývoje). Je patrné jasné otočení vaječného zubu špičkou směrem dovnitř mezenchymu. K vyklápění špičkou zubu směrem ven nastává později v embryonálním vývoji. Kompletně vyklopen je zub v stádiu 130. dne vývoje. Vaječný zub, ačkoliv se zakládá velice mělce v mezenchymu, má atributy pravého funkčního zubu (velký, zakládán mohutnými buněčnými populacemi, sklovina), což souhlasí i s literaturou (deBeer, 1949; Bandali et al., 2007). U varana představuje vaječný zub největší zub v rámci celé embryonální dentice - nelze vyloučit, že na této skutečnosti se uplatňuje i specifická diferenciace zubní lišty v mesiální oblasti a transport mezenchymatického materiálu související s akcelerovaným prodlužováním rostra v této fázi vývoje (viz. výše).

Celkové srovnání vybraných rysů odontogeneze varana mangrovového s poměry u jiných analogickým způsobem prozkoumaných plazů shrnuje tabulka 6. Je zřejmé, že poměry doložené u tohoto druhu se v mnohých směrech odlišují od jiných skupin Lepidosauria. Fylogenetický a vývojový význam těchto odlišností bude však možno plně zhodnotit teprve po podstatném rozšíření znalostí o další modelové skupiny.

Tab. 6. Srovnání vybraných rysů odontogeneze varana mangrovového s jinými prozkoumanými plazy. DEV – délka embryonálního vývoje, ZO – začátek odontogeneze, EG – embryonální generace, FG – funkční generace, VZZ – velikost zubního zárodku, OEP – odontogenetický epitel v oblasti patra, DKZ – diferenciace krčkového záhybu, SI – stratum intermedium, ET – vaječný zub (egg tooth), UZZ – uzavřený zubní zárodek, A – ankylóza, TL – transientní lišta, VHZ – vícehrbolkatý zub, ZL – zubní lišta, I – invaginace, P – buněčné populace. (1) – Delgado et al., (2004). (2) – nepublikováno. (3) – Tomes, (1874); Buchtova et al., (2007). (4) – Westergaard, (1986, 1988).

	Varanus	***Chalcides*** *(1)*	***Paroedura*** *(2)*	***Ophidia*** *(3)*	***Crocodylia*** *(4)*
DEV	180 dní	70 dní	60 dní	80 dní (krajta)	90 dní
ZO	24. den	?	23. den	1. – 3. den (krajta)	15 – 16. den
EG	malé P, mělká I, ?	malé P, mělká I, mimo ZL	malé P, mělká I, mimo ZL	?	malé P, mělká I, mimo ZL
FG	velké P, hluboká I, ZL	o něco větší P, hluboká I, ZL	cca stejné P, mělká I, ZL	větší P, hluboká I, ZL	velké P, hluboká I, ZL
VZZ	velký (typ savec)	malý (typ plaz)	malý (typ plaz)	větší (typ plaz)	velký (typ savec)
OEP	ano, bez vzniku ZZ	?	?	ano, vznik ZZ	ne
DKZ	ano	malá	malá	slabší než u varana	ano
SI	ano	ne	ne	ne	ano
ET	jeden ZZ funkční	?	dva ZZ funkční	fúze dvou ZZ	epidermální hrbolek
UZZ	ano	ne	ne	ne	ano
A	pleurodontie	pleurodontie	pleurodontie	acrodontie	thecodontie
TL	ano	ne	ne	ne	ne
VHZ	ne	ano	ano	ne	ne
ZL	hluboká I	hluboká I	mělká I	hluboká I	hluboká I

5. Závěr

(1) Embryonální vývoj varana mangrovového se liší především extrémně dlouhou inkubační dobou v porovnání s jinými modelovými druhy (krokodýl, kobra, krajta, užovka, anolis), která trvá přibližně 6 měsíců. I přes toto dlouhé časové období vykazuje embryonální vývoj varana typické znaky klasického embryonálního vývoje u ještěrů (anolis).

(2) Vzhledem k nedostatečnému množství raných embryí se nepodařilo prokázat, zda vznikaly rané zubní zárodky nezávisle na zubní liště nebo ne. Funkční generace však ze zubní lišty vznikala. Ta byla invaginována velice hluboko do mezenchymu a měla charakter dvou až třívrstevné struktury. Dále byla pozorována zesílení odontogenetického epitelu i v oblasti patra. Nikdy se však tato ztluštění dále nediferencovala ani nevytvářela zubní zárodky jakéhokoli typu.

(3) Ontogenetická stádia vývoje zubu byla u embryonální i funkční zubní generace srovnatelná s dosavadními výsledky popsanými v literatuře (pupen – pohárek – zvon). Rozdíly byly nalezeny mezi typem zubních generací. Embryonální zubní generace je charakterizována již velmi časným vznikem. Její zubní zárodky jsou malé, tvořené malými buněčnými populacemi a jsou zakládány mělkou podpovrchovou invaginací a nejsou kryté sklovinou. Zubní zárodky funkční zubní generace lze popsat jako velké, tvořené obrovskými buněčnými populacemi, vznikající hluboko v mezenchymu blízko kostem z dvou/třívrstevné zubní lišty a jsou kryté sklovinou.

(4) Vaječný zub se zakládá a vyvíjí jako zub funkční generace a má atributy pravého zubu. Je tvořen mohutnými buněčnými populacemi, je velký a je pokryt sklovinou. Ve srovnání se zubními zárodky funkční generace se však zakládá v mělce invaginovaném odontogenetickém epitelu. V určité fázi embryonálního vývoje se vyvíjel špičkou směrem dovnitř mezenchymu. Před koncem embryonálního vývoje se vyklopil již špičkou ven. Zakládán byl dvěma zárodky, z nichž menší během vývoje degeneroval a větší se posunul do středu špičky rostra.

(5) První patrná známka přisedání zubního zárodku ke kosti se objevila v 63. dni vývoje. Přisedají zuby funkčních generací od stádia pozdního zvonu. Typem ankylózy je typická pleurodontie na vnitřní straně kosti. Při přisedání zde byla patrná extrémně velká polohová asymetrie krčkových záhybů.

(6) Zásadním faktorem mohutného rozvoje zubů funkční dentice je vedle vysoké početnosti vstupních buněčných populací i velmi dlouhá doba vývoje a akcelerované rozšiřování čelistního prostoru v druhé polovině embryogeneze, tj. v době, kdy probíhá vývoj funkčního chrupu.

(7) Mohutné zárodky zubů funkční generace vykazují některé charakteristiky typické pro savčí zuby (hvězdicové retikulum, stratum intermedium atd.), sklovinový uzel nebyl však zaznamenán.

6. Literatura

citace označené * jsou sekundární

Bandali H, Buchtova M, Richman JM, Tucker AS. 2007. Egg tooth development in the snake. In: TMD 9th International Congress on Tooth Morphogenesis and Differentiation, Programme and Abstracts. Zurich 4-8.9.2007.

Beal M, Webb GJW. 1989. Efect of incubation temeprature on tooth eruption in embryo sof *Crocodylus johnstoni*. Copeia: 325 – 331.

Berkovitz BKB, Moxham BJ, Newmann HN. 1995. The periodontal ligament in health and disease. Second edition. Mosby year book, St. Louis. *

Bogert CHM. 1943. Dentitional phenomena in cobras and other elapids with notes on adaptive modifications of fangs. Bull Am Mus Nat His 81: 285 – 360.

Böhme W. 2003. Checklist of the living monitor lizards of the Word (family Varanidae). Zool Verhand 341: 3 – 43.

Boughner JC, Buchtova M, Fu K, Diewert V, Hallgrimsson B, Richman JM. 2007. Embryonic development of *Python sebae* I: Staging kriteria and macroscopic skeletal morphogenesis of the head and limbs. Zoology: doi10.1016/j.zool.2007.01.005.

Buchtova M, Boughner JC, Fu K, Diewert VM, Richman JM. 2007. Embryonic development of *Python sebae* – II.: Craniofacial microscopic anatomy, cell proliferation and apoptosis. Zoology: doi10.1016/j.zool.2007.01.006.

Bütschli O. 1924. Zähne der Sauropsiden. In: Blochmann F, Hamburger C, editors. Vorlesungen über vergleichende Anatomie, 4. Lieferung – Ernährungsorpane. Berlin: Julius Springer. *

Cooper JS. 1966. Tooth replacement in the slow worm (*Anguis fragilis*). J Zool Lond 150: 235 – 248.

Cretekos CHJ, Weatherbee SD, Chih-Hsin Chen, Badwaik NK, Niswande L, Behringer RR, Rasweiler JJ. 2005. Embryonic paging systém for the short –tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*, a model organism for he mammalian order Chiroptera, based upon tild pregnancies in captive-bred animals. Dev Dyn 233: 721 – 738.

Davit-Beal T, Allizard F, Sire J-Y. 2007. Enameloid/enamel transitiv through successive tooth replacements in *Pleurodeles waltl* (Lissamphibia, Caudata). Cell Tissue Res 328: 167 – 183.

de Beer GR. 1949. Caruncles and egg-teeth: some aspects of the concept of homology. Proc Linn Soc Lond 161: 218 – 224. *

Delgado S, Davit- Beal T, Allizard F, Sire J-Y. 2005. Tooth development in a scincid lizard, *Chalcides viridanus* (Squamat), with particular attention to enamel formation. Cell Tissue Res 319: 71 – 89.

Dryden G, Ziegler T. 2004. Varanus indicus. pp. 184 – 188. In: Pianka ER, King DR, King RA (eds.): Varanoid lizards of the world. 2004. Indiana University Press, Bloomington.

Dufaure J, Hubert J. 1961. Table de developpement du lezard viviparie: *Lacerta (Zootoca) vivipara* Jacquin. Arch Anat Micr Morph Exp 50: 309 – 328. *

Edmund AG. 1960. Tooth replacement phenomena in the lower vertebrates. pp. 52. Life Science Contribution ROM 52: 1 - 180.

Edmund AG. 1969. Dentition. pp. 117 – 200. In: Gans C, d´A Bellairs A, Parsons TS (eds.): Biology of the reptilia. I. Morphology. Academic Press, New York and London. *

Estes R, Williams EE. 1984. Ontogenetic variation in the molariform teeth of lizards. J Vert Pal 4: 96 – 107.

Ferguson MWJ. 1981. Review: the value of the american alligator (Alligator mississippiensis) as a model for research in craniofacial development. J Cran Gen & Dev Biol 1: 123 – 144.

Fry BG, Vidal N, Norman JA, Vonk FJ, Scheib H, Ramjan SFR, Kuruppu S, Fung K, Hedges SB, Richardson MK, Hodgson WC, Ignjatovic V, Summerhayes R, Kochva E. 2005. Early evolution of the venom systém in lizards and snakes. Nature: doi.10.1038/nature04328.

Gaengler P. 2000. Evolution of tooth attachment in lower vertebrates to tetrapods. pp. 173 – 185. In: Teaford MF, Smith MM, Ferguson MWJ (eds.): Development, function and evolution of teeth. 2000. Cambridge University Press, Cambridge.

Greer AE. 1991. Tooth number in the scincid lizard genus *Ctenopus*. J Herp 25: 473 – 477.

Hamburger V, Hamilton H. 1951. A series of normal stages in the development of the chick embryo. J Morph 88: 49 – 92.

Huysseune A, Van der heyden CH, Sire J-Y. 1998. Early development of the zebrafish (*Danio rerio*) pharyngeal dentition (Teleostei, Cyprinidae). Anat Embryol 198: 289 – 305.

Jackson K. 2002. How tubular venom-conducting fangs are formed. J Morph 252: 291 – 297.

Jackson K. 2002. Post-oviposital development of the monocled cobra *Naja kaouthia* (Serpentes: Elapidae). Zoology 105: 203 -214.

Jackson K. 2003. The evolution of venom delivery systems in snakes. Zool J Linn Soc 137: 337 – 354.

Jackson K. 2007. The evolution of venom – conducting fangs: insights from developmental biology. Toxicon 49: 975 – 981.

Jernvall J, Han-Sung Jung. 2000. Genotype, phenotype and developmental biology of molar tooth characters. Yearbook of Phys Anthropol 43: 171 – 190.

Kardong KV. 1982. The evolution of the venom apparatus in snakes from colubrids to viperids and elapids. Mem Inst Butantan 46: 105 – 118.

Kardong KV. 1995. Vertebrates: Comparative anatomy, function, evolution. pp. 777. Iowa.*

Kearney M, Rieppel O. 2006. An investigation into the occurence of plicidentine in the teeth of squamate reptiles. Copeia: 337 – 350.

Kieser JA, Klaspidis C, Law L, Marion M. 1993. Heterodonty and patterns of tooth replacement in *Crocodylus niloticus*. J of Morph 218: 195 – 201.

Kline LW, Cullum D. 1984. A long term study 6. of the tooth replacement phenomena in the young green iuguana, *Iguana iguana*. J Herp 18: 176 – 185.

Kozawa Y, Iwasa Y, Mishima H. 1997. The function and structure of the marsupial enamel. Conn Tiss Res 39: 215 – 217.

Lee MSY. 1997. The phylogeny of varanoid lizards and the affinites of snakes. Phil Trans Roy Soc Lond 352: 53 – 91.

Lemus D, Paz de la Vega Y, Fuenzalida M, Illanes J. 1980. In vitro differentiation of tooth buds from embryo and adult lizards (*L. gravenhorsti*): an ultrastructural comparison. J Morph 165: 225 – 236.

Lemus D, Illanes J, Fuenzalida M, Paz de la Vega Y, Garcia M. 1981. Comparative analysis of the development of the lizard *Liolaemus tenuis tenuis*. II. A series of normal postlaying stages in embryonic development. J Morph 169: 337 – 349.

Lemus D, Coloma L, Fuenzalida M, Illanes J, Paz de la Vega Y, Ondarza A, Blanquez MJ. 1986. Odontogenesis and amelogenesis in interacting lizard – mail tissue combinations. J Morph 189: 121 – 129.

Lemus D. 1995. Contributions of heterospecific tissue recombinations to odontogenesis. Int J Dev Biol 39: 291 – 287.

Lenz S. 2004. *Varanus niloticus*. pp. 133 – 138. In: Pianka ER, King DR, King RA (eds.): Varanoid lizards of the world. 2004. Indiana University Press, Bloomington.

Lubkin SR. 1997. On pattern formation in reptilian dentition. J theor Biol 186: 145 – 157.

Magnusson WA, Taylor JA. 1980. A description of the developmental stages in *Crocodylus porosus*, for use in aging eggs in the field. Austr Wild Res 7: 479 – 485.

Mahler D, Kearney M. 2006. The palatal dentition in squamate reptiles: Morphology, development, attachment, and replacement. Fieldiana Zoology 108: 1 – 61.

Mateo JA, López-Fernando LF. 1997. Dental ontogeny in *Lacerta lepida* (Sauria, Lacertidae) and its relationship to diet. Copeia: 461 – 463.

McCollum M, Sharpe PT. 2001. Evolution and development of teeth. J Anat 199: 153 – 159.

McIntosh JE, Anderton X, Flores – de – jacoby L, Carlson DS, Shuler CHF, Diekwish TGH. 2002. Caiman periodontum as an intermediate between basal vertebrate ankylosis – type attachment and mammalian „true" periodontum. Micr Res & Tech 59: 449 – 459.

Miller WA, Radnor CJP. 1970. Tooth replacement patterns in young *Caiman sclerops*. J Morph 130: 501 – 510.

Mohammed BH, Darwish ST, Abd El-Hady SI. 2002. Embryonic tooth development in scincid lizard *Mabuya aurata*. Vert Anat & Embryo 39B: 41 – 54.

Ogawa T. 1977. A histological study of the gekko tooth. Shigaku Odontol 64: 1377 – 1388. *

Osborn JW. 1971. The ontogeny of tooth succession in *Lacerta vivipara* Jacquin (1787). Proc Roy Soc Lond 179: 261 – 289.

Osborn JW, Crompton AW. 1973. The evolution of mammalian dentition from reptilian dentitions. Breviora 399: 2 – 18.

Osborn JW. 1975. Tooth replacement: efficiency, patterns and evolution. Evolution 29: 180 – 186.

Osborn JW. 1984. From reptile to mammal: evolutionary considerations of the dentition with emphasis on tooth attachment. Symp Zool Soc Lond 52: 549 – 574. *

Osborn JW. 1998. Realationship between growth and the pattern of tooth initiation in alligator embryos. J Dent Res 77: 1730 – 1738.

Peterka M, Lesot H, Peterkova R. 2002. Body weight in mouse embryos specifies staging of tooth development. Conn Tiss Res 43: 186 – 190.

Peterkova R, Peterka M, Viriot L, Lesot H. 2002. Developmental of the vestigial tooth primordia as part of mouse odontogenesis. Conn Tiss Res 43: 120 – 128.

Peterkova R, Lesot H, Peterka M. 2006. Phylogenetic memory of developing mammalian dentition. J Exp Zool (Mol Dev Evol): doi.10.1002/jez.b.21093.

Peyer B. 1968. Comparative odotnology. pp. 89 – 99. University of Chicapo Press, Chicago.*

Pianka ER, King DR. 2004. Introduction. pp. 3 – 9. 133 – 138. In: Pianka ER, King DR, King RA (eds.): Varanoid lizards of the world. 2004. Indiana University Press, Bloomington.

Piesco NP, Kallenbach E. 1985. The fine structure of early tooth formation in an iguanid lizard, *Anolis carolinensis*. J Morph 183: 165 – 176.

Poole DFG. 1957. The formation and properties of the organic matrix of reptilian tooth enamel. J Micr Science 98: 349 – 367.

Pough FH, Janis CHM, Heiser JB. 2005. Vertebrate life. pp. 60. Seventh edition. Pearcon Education, New Jersey.

Pregill G. 1984. Durophagous feeding adaptations in an Amphisbaenid. J Herp 18: 186 – 191.

Reif WE. 1982. Evolution of dermal skeleton and dentition in veretbrates: the odontode-regulation theory. Evol Biol 15: 287 – 368. *

Richardson MK, Hanken J, Gooneratne ML, Pieau C, Raynaud A, Selwood L, Wright GM. 1997. There is no highly conserved embryonic stage in the vertebrates: implications for current theories of evolution an developmet. Anat Embryol 196: 91 – 106.

Rocek Z. 1980. The dentition of the european glass lizard *Ophisaurus apodus* (Pallas, 1775)(Reptilia, Sauria: Anguidae), with notes on the pattern of tooth replacement. Amphibia – Reptilia 1: 19 – 27.

Romer AS. 1956. Osteology of the reptiles. University of Chicago Press, Chicago and London. *

Röse C. 1893. Ueber die Zahnentwickelung vom Chamaeleon. Anat Anz 8: 566 – 577.

Sanger TJ, Losos JB, Gibson-Brown JJ. 2008. A developmental staging series for the lizard genus *Anolis*: a new systém for the integration of evolution, development, and ecology. J Morph 269: 127 – 137.

Scanlon JD, Lee MSY. 2002. Varanoid-like dentition in primitive snakes (Madtsoiidae). J Herp 36: 100 – 106.

Shayer-Wollberg M, Kochva E. 1967. Embryonic development of the venom apparatus in *Causus rhombeatus* (Viperidae, Ophidia). Herpetologica 23: 249 -259.

Schour I. 1929. Early human tooth development , with special references to the relationship between the dental lamina and the lip-furrow band. J Dent Res 9: 699 -717.

Schultze HP. 1969. Die Faltenzähne der rhipidistiiden Crossopterygier, der Tetrapoden un der Actinopterygier-Gattung Lepisosteus, nebst einer Beschreibung der Zahnstruktur von Onychodus (struniiformer Crossopterygier). Palaeontographica Italiana 65: 63 – 136. *

Sire J-Y, Davit-Beal T, Delgado S, Van der heyden CH, Huysseune A. 2002. Firts – generation teeth in nonmammalian lineages: Evidence for a conserved ancestral character? Mic Res & Tech 59: 408 – 434.

Smith MA, d´A Bellairs A, Miles AE. 1953. Observation on teh premaxillary dentition of snakes with special reference to the egg tooth. J Lin Soc Lond 42: 260 – 268.

Smith MM, Coates MI. 2000. Evolutionary origins of teeth and jaws: developmental models and phylogenetic patterns. pp. 133 – 151. In: Teaford MF, Smith MM, Ferguson MWJ (eds.): Development, function and evolution of teeth. 2000. Cambridge University Press, Cambridge.

Smith MM. 2003. Vertebrate dentitions at the origin of jaws: when and how pattern evolved. Evo & Devo 5 (4): 394 – 413.

Stock DW. 2001. The genetic basis of modularity in the development and evolution of the vertebrate dentition. Phil Trans Roy Soc Lond 356: 1633 – 1653. *

Sumida SS, Murphy RW. 1987. Form and fiction of the tooth crown structure in gekkonid lizards (Reptilia, Squamata, Gekkonidae). Can J Zool 65: 2886 – 2892.

Thompson GG, Pianca ER. 2001. Allometry of clutch and neonate sizes in monitor lizards (Varanidae: *Varanus*). Copeia: 443 – 458.

Tomes CHS. 1874. On the structure and development of the teeth of ophidia. Phil Trans Roy Soc Lond: 297 – 302.

Tomes CHS. 1875. On the development of the teeth of the Newt, Frog, Slowworm, and Green Lizard. Phil Tran Royal Soc Lond 165: 285 – 296.

Tomes CHS. 1876. On the development and succession of the poison – fangs of snakes. Phil Trans Roy Soc Lond 166: 377 – 385.

Tomes J. 1850. On the structure of dental tissues of the order Rodentia. Phil Trans Roy Soc Lond 140: 529 – 567.

Townsend Jr. VR, Akin JA, Felgenhauer BE, Dauphine J, Kidder SA. 1999. Dentition of the grand skink, *Scincella lateralis* (Sauria, Scincidae). Copeia: 783 – 788.

Vacek Z. 1954. Histologie a histologická technika. Státní Zdravotnické Nakladatelství, Praha.

Van der heyden CH, Huysseune A, Sire J-Y. 2000. Development and fine structure of pharyngeal replacement teeth in juvenilie zebrafish (*Danio rerio*) (Teleostei, Cyprinidae). Cell Tissue Res 302: 205 – 219.

Vidal N, Hedges SB. 2005. The phylogeny of reptiles (lizards, snakes, and amphisbaenians) inferred from nine nuclear protein-coding genes. C R Bioloies 328: 1000 – 1008.

Vonk FJ, Admiraal JF, Jackson K, Reshef R, de Bakker MAG, Vanderchoot K, vane der Berge I, van Atten M, Burgerhout E, Beck A, Mirtschin PJ, Kochva E, Witte F, Fry BG, Woods AE, Richardson MK. 2008. Evolutionary origin and development of snake fangs. Nature 454: doi. 10.1038/nature07178.

Westergaard B. 1986. The pattern of embryonic tooth initiation in reptiles. pp. 55 – 63. In: Teeth revisited: Proceedings of the VIIth International Symposium on dental morfology, Paris.

Westergaard B, Ferguson MWJ. 1986. Development of the dentition in *Alligator mississippiensis*. Early embryonic development in the lower jaw. J Zool Lond 210: 575 – 597.

Westergaard B, Ferguson MWJ. 1987. Development of the dentition in *Alligator mississippiensis*. Later development in the lower jaw sof embryos, hatchlings and young juveniles. J Zool Lond 212: 191 – 222.

Westergaard B. 1988. Early dentition development in the lower jaws of *Anguis fragilis* and *Lacerta agilis*. Memoranda Soc Fauna Flora Fennica 64: 148 – 151.

Westergaard B, Ferguson MWJ. 1990. Development of the dentition in *Alligator mississippiensis*: upper jaw dental and craniofacial development in embryos, hatchlings, and young juveniles, with a comparison to lower jaw development. Am J Anat 187: 393 – 421.

Witsuba J, Greven H, Clemen G. 2002. Development of larval and trnasformed teeth in Ambystoma mexicanum (Urodela, Amphibia): an ultrastructural study. Tissue & Cell 34: 14 – 27.

Witter K, Matulova P, Misek I. 2000. The effects of two different decalcification procedures on size and structure of embryonic epithelial tissue in objels prepared for light microscopy. Anat Histol Embryol 29: 351 – 355.

Yntema CL. 1968. A series of stages in the embryonic development of *Chelydra serpentina*. J Morph 125: 219 – 251.

Zahradnicek O, Horacek I, Tucker AS. IN PRESS. Viperous fang: development and evolution of the venom canal. Mech Dev: doi.10.1016/j.mod.2008.06.008.

Zehr DR. 1962. Stages in the normal development of the common garter snake, *Thamnophis sirtalis sirtalis*. Copeia: 322 – 329.

Ziegler T, Böhme W. 1997. Genitalstrukturen und Paarungsbiologie bei squamaten Reptilien, speziell der Platynota, mit Bemerkungen zur Systematik. Mertensiella 8: 3 – 207. *

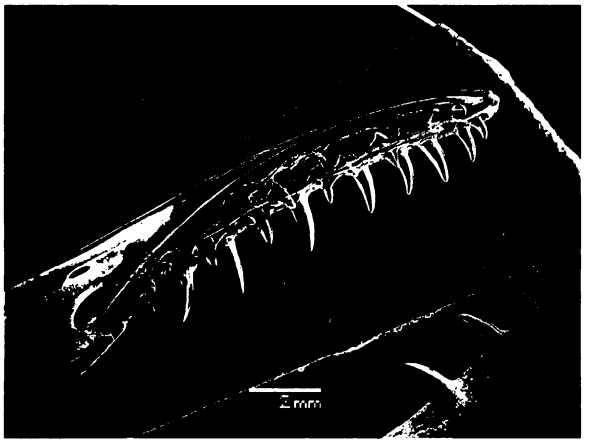
Příloha 1

Fotografie dentice a čelistí pomocí Scanovacího Elektronového Mikroskopu (SEM)

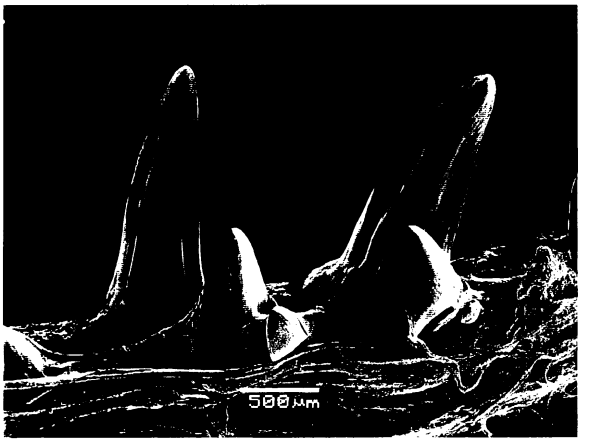
1.1. *Varanus indicus*

1.2. *Varanus niloticus*

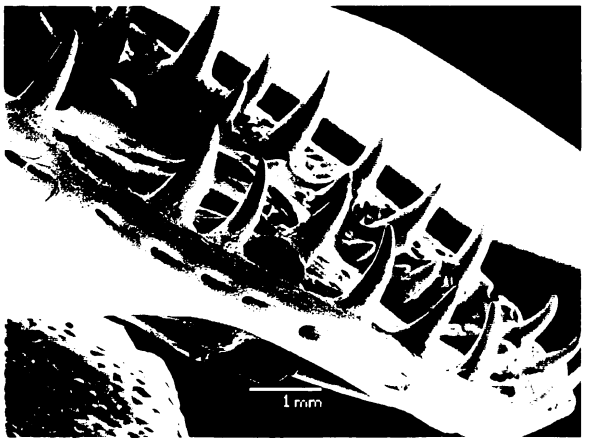
1. 1. *Varanus indicus* - SEM



Obr. 1

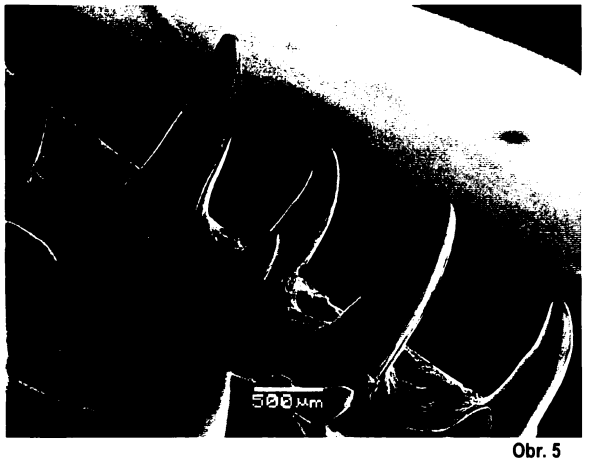


Obr. 2



Obr. 3

Obr. 4



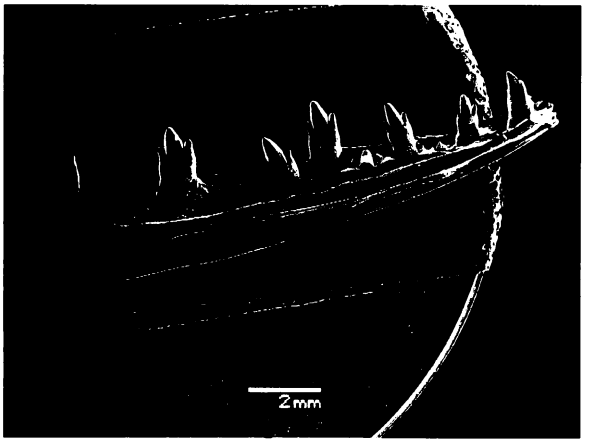
Obr. 5

Obr.6

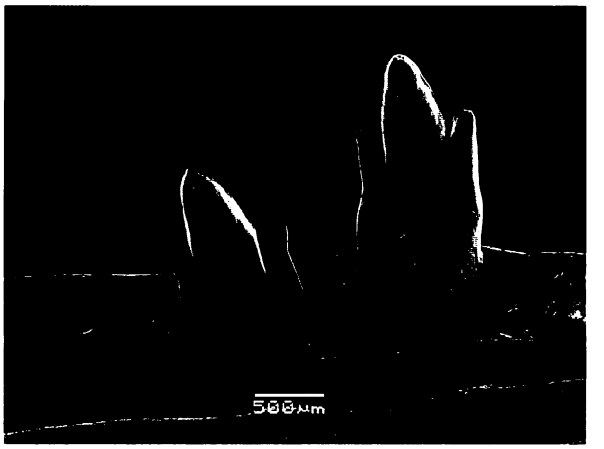
***varanus indicus*: novorozené mládě (týden po líhnutí)**

obr. 1: celkový pohled na pravou dolní čelist
obr. 2: distální zuby dolní čelisti
obr. 3: celkový pohled na horní čelist
obr. 4: premaxilární zuby
obr. 5: zuby ve střední části pravé horní čelisti
obr. 6: celkový poziční pohled na řadu zubů pravé horní čelisti

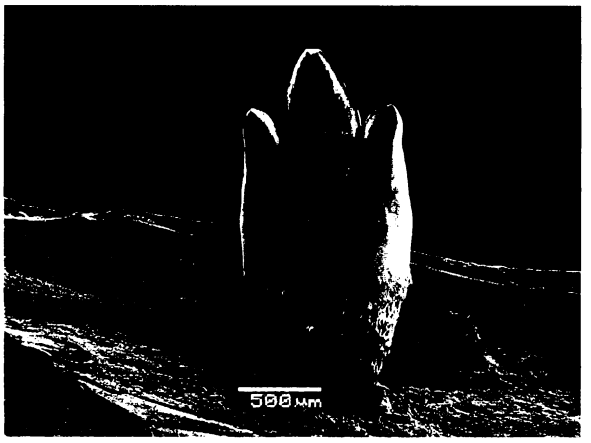
1.2. *Varanus niloticus* - SEM



Obr. 1

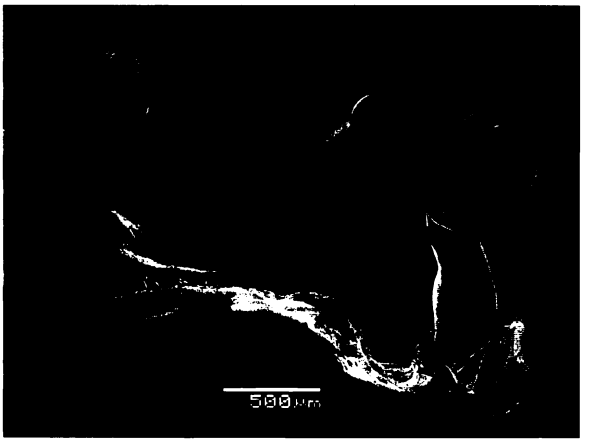


Obr. 2



Obr. 3

Obr. 4



Obr. 5

Obr.6

***varanus niloticus*: přibližně měsíc staré mládě**

obr. 1: celkový pohled na levou dolní čelist
obr. 2: distální zuby na levé dolní čelisti
obr. 3: detail distálního zubu na levé dolní čelisti
obr. 4: celkový pohled na levou horní čelist
obr. 5: premaxilární zuby
obr. 6: detail zubu na levé horní čelisti

Příloha 2

Stadialita embryí varana mangrovového (*Varanus indicus*)

2.1. 10. den – *Varanus indicus*

2.2. 24. den – *Varanus indicus*

2.3. 30. den – *Varanus indicus*

2.4. 32. den – *Varanus indicus*

2.5. 43. den – *Varanus indicus*

2.6. 48. den – *Varanus indicus*

2.7. 56. den – *Varanus indicus*

2.8. 63. den – *Varanus indicus*

2.9. 73. den – *Varanus indicus*

2.10. 81. den – *Varanus indicus*

2.11. 88. den – *Varanus indicus*

2.12. 95. den – *Varanus indicus*

2.13. 103. den – *Varanus indicus*

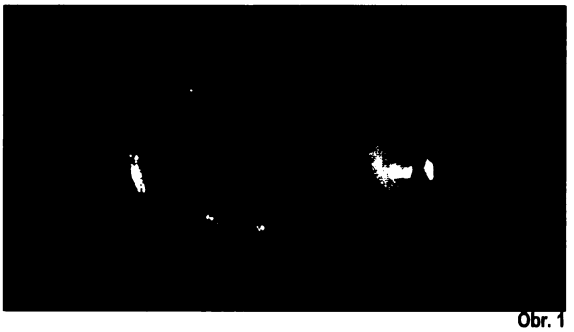
2.14. 130. den – *Varanus indicus*

2.15. 161. den – *Varanus indicus*

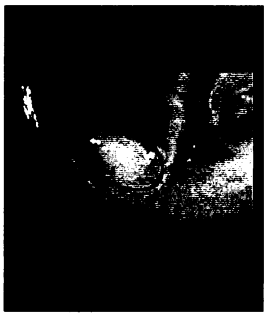
2.1.

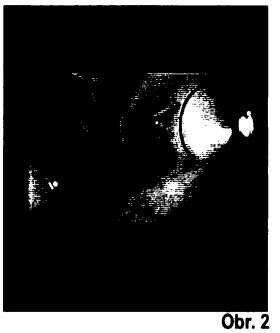
10. den – *Varanus indicus*

A

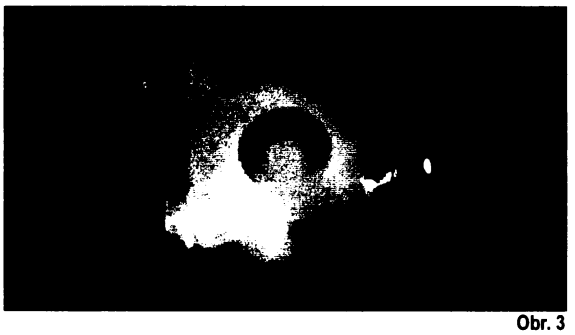


Obr. 1

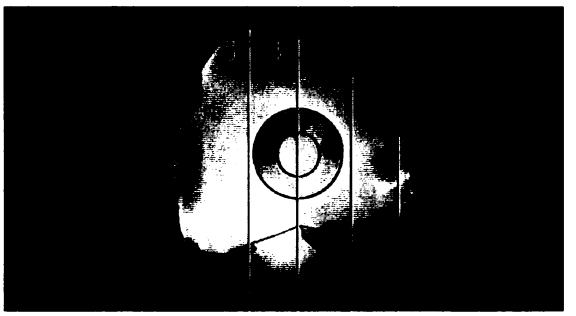




Obr. 2

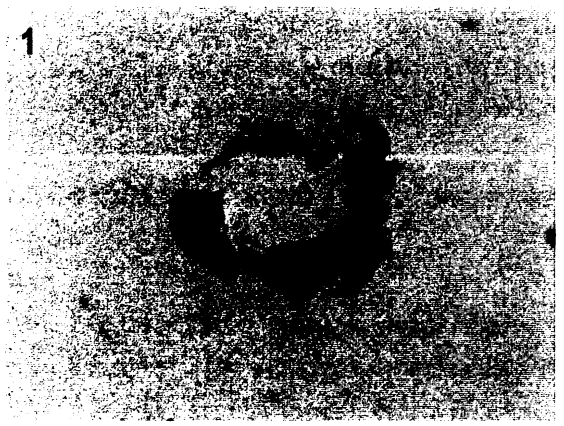


Obr. 3



Obr. 4

B



Obr. 1

Obr. 2

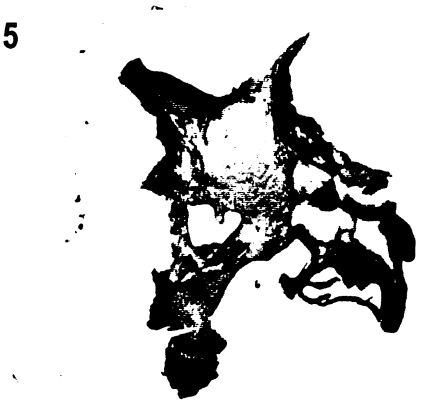
Obr. 3

Obr. 4

4

Obr. 5

5



Obr. 6

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje embrya u varana mangrovového v 10. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: pupeny
Tělo: viditelnost segmentace dobrá; cévy ne; šupiny ne; pigment ne
Hlava: oko ano: čočka ne; mžurka ne; víčka ne
nozdra vnější: ne
šupiny na čelistech: ne
bubínek: ne
pozice koutku: vůči oku zhruba na konci oka
prominace mozku: výrazná a nad okem
dolní čelist: oproti horní malá, začíná za polovinou oka

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy embrya (viz kapitola Materiál a metodika):

B

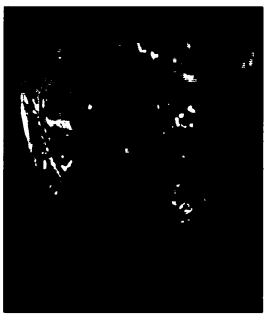
obr. 1 (sektor 1): mozek, horní čelist
obr. 2 (sektor 2): mozek, horní čelist, oko
obr. 3 (sektor 2): mozek, horní čelist se formuje do podoby maxilárních výběžků, obě oči
obr. 4 (sektor 3): mozek, maxilární výběžky, oči, formování dolní čelisti
obr. 5 (sektor 4): konec mozku, konec očí, maxilární výběžky, dolní čelist
obr. 6 (sektor 5): oblast za koutkem bez čelistí, konec mozku

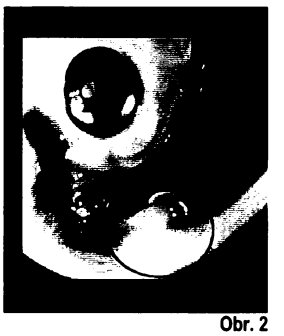
2.2.

24. den – *Varanus indicus*

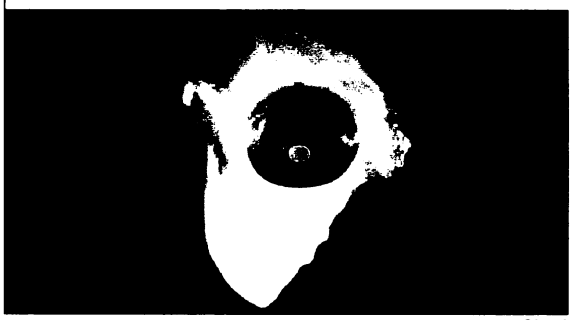
A

Obr. 1

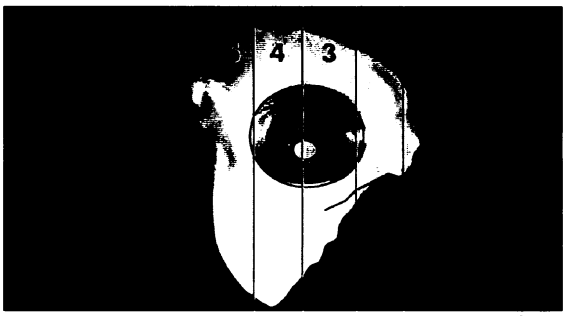




Obr. 2



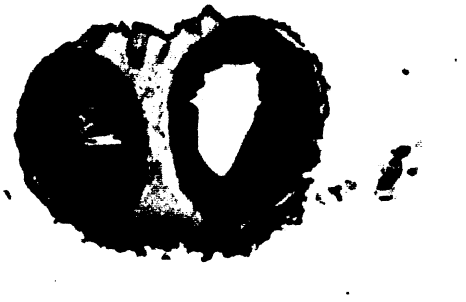
Obr. 3



Obr. 4

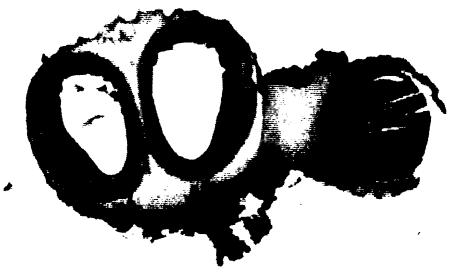
A

1



Obr. 1

2



Obr. 2

3

Obr. 3

3

Obr. 4

Obr. 5

Obr. 6

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje embrya u varana mangrovového v 24. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: vějířky
Tělo: viditelnost segmentace dobrá; cévy ne; šupiny ne; pigment ne
Hlava: oko ano: čočka ano; mžurka ne; víčka ne
nozdra vnější: ne
šupiny na čelistech: ne
bubínek: ne
pozice koutku: vůči oku zhruba za půlkou oka
prominace mozku: výrazná a za okem
dolní čelist: malá a začíná zhruba v polovině oka

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy embrya (viz kapitola Materiál a metodika):

B

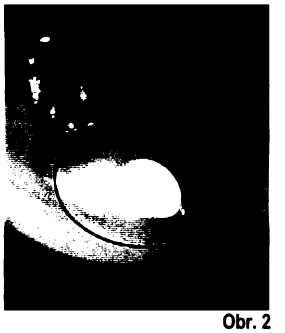
obr. 1 (sektor 1): mozek
obr. 2 (sektor 2): mozek, oko
obr. 3 (sektor 3): mozek, obě oči, formování výběžků horní čelisti
obr. 4 (sektor 3): mozek, obě oči, patro horní čelisti s chrupavkou, formování dolní čelisti
obr. 5 (sektor 4): mozek, obě oči, patro horní čelisti s chrupavkami, dolní čelist s Meckelovou chrupavkou, formování jazyka
obr. 6 (sektor 5): mozek, konec očí, oblast srůstu čelistí

2.3.

30. den – *Varanus indicus*

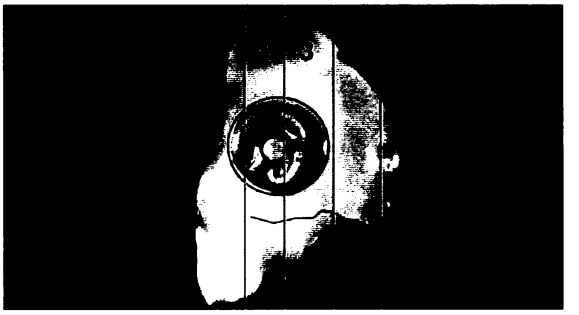
A

Obr. 1



Obr. 2

Obr. 3

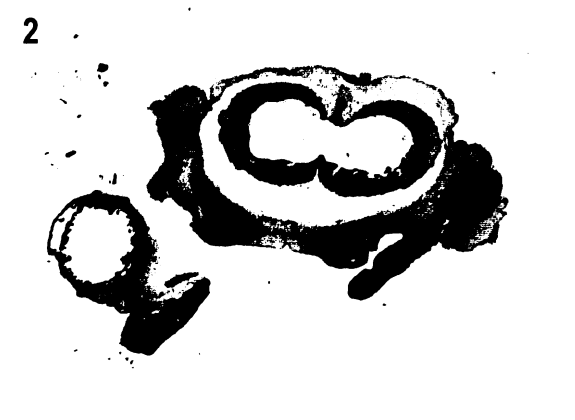


Obr. 4

B

Obr. 1

Obr. 2



Obr. 3

Obr. 4

Obr. 5

Obr. 6

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje embrya u varana mangrovového v 30. dni po nakladení snůšky (retard; viz. Materiál a metodika):

Končetiny: přechod od pupenů k vějířkům
Tělo: viditelnost segmentace dobrá; cévy ne; šupiny ne; pigment ne
Hlava: oko ano: čočka ano; mžurka ne; víčka ne
nozdra vnější: ne
šupiny na čelistech: ne
bubínek: ne
pozice koutku: za okem
prominace mozku: výrazná a nad okem
dolní čelist: začíná mírně za polovinou oka

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy embrya (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): epitel hlavy, formování výběžků horní čelisti
obr. 2 (sektor 2): mozek, formování výběžků horní čelisti a VNO
obr. 3 (sektor 2): mozek, počátek oka, výběžky maxily
obr. 4 (sektor 3): mozek, obě oči, chrupavky v horní čelisti
obr. 5 (sektor 4): mozek, obě oči, chrupavky v horní čelisti, formování dolní čelisti
obr. 6 (sektor 5): mozek, obě oči, chrupavky v oblasti očí, formování dolní čelisti, formování Meckelovy chrupavky a jazyka

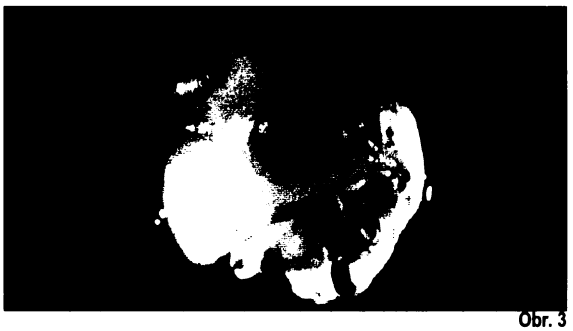
2.4.

32. den – Varanus indicus

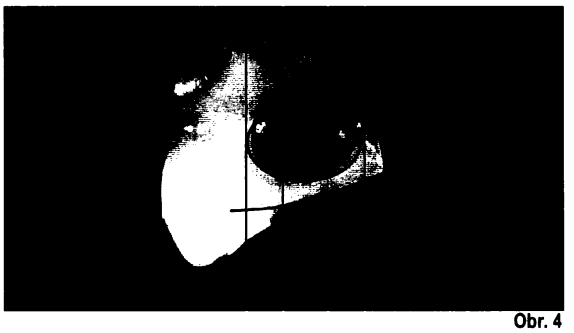
A

Obr. 1

Obr. 2



Obr. 3

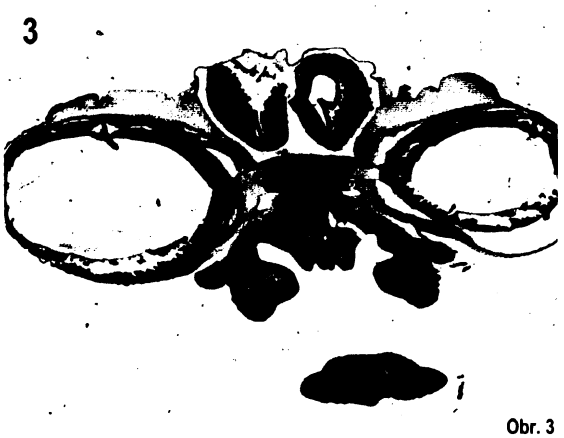


Obr. 4

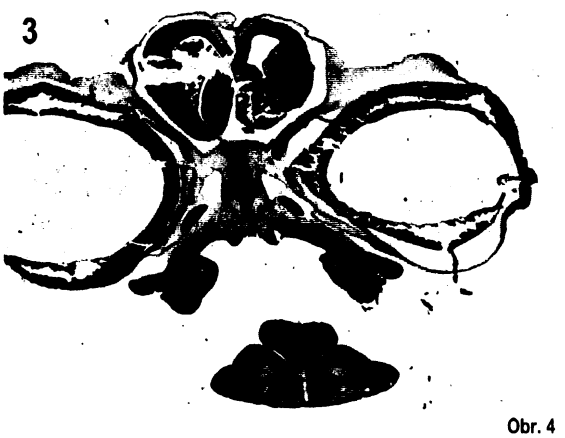
B

Obr. 1

Obr. 2



Obr. 3



Obr. 4

Obr. 5

Obr. 6

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje embrya u varana mangrovového v 32. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: přechod od vějířků k rýsujícím se prstům ve vějířcích

Tělo: viditelnost segmentace dobrá; cévy ano okolo oka a na zádech – začátek; šupiny ne; pigment ne

Hlava: oko: čočka ano; mžurka ne; víčka ano ale jen horní – začátek
nozdra vnější: ne
šupiny na čelistech: ne
bubínek: ne
pozice koutku: za okem
prominace mozku: výrazná a za okem
dolní čelist: začíná již před okem, ale kratší než horní čelist

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy embrya (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): začátek mozku, oka i nozder

obr. 2 (sektor 2): mozek, oči, nozdry a VNO, nasální septum, formování výběžků horní čelisti

obr. 3 (sektor 3): mozek, obě oči, formování výběžků horní čelisti (patro, maxila) a viditelné zubní zárodky, dolní čelist s Meckelovou chrupavkou a viditelnými zubními zárodky

obr. 4 (sektor 3): mozek, obě oči, nasální septum, formace kostí v oblasti očí, výběžky horní čelisti se zubními zárodky, dolní čelist se zubními zárodky a Meckelovou chrupavkou a formování jazyka

obr. 5 (sektor 4): mozek, obě oči, formování kostí patra a okolo očí, nasální septum, dolní čelist viz předchozí, jazyk

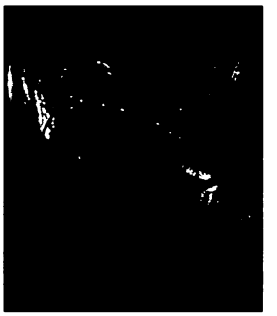
obr. 6 (sektor 5): mozek, oči, formování kostí, nasální septum, výběžky horní čelisti nesrostlé s hlavou, dolní čelist viz předchozí

2.5.

Den 43 – *Varanus indicus*

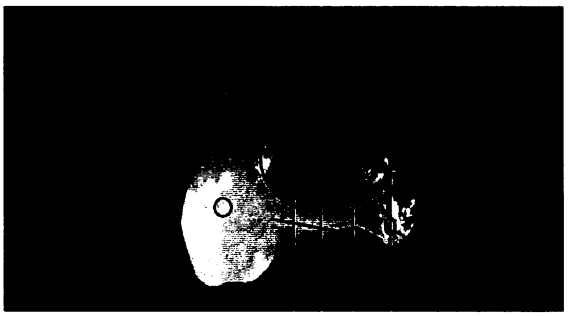
A

Obr. 1



Obr. 2

Obr. 3



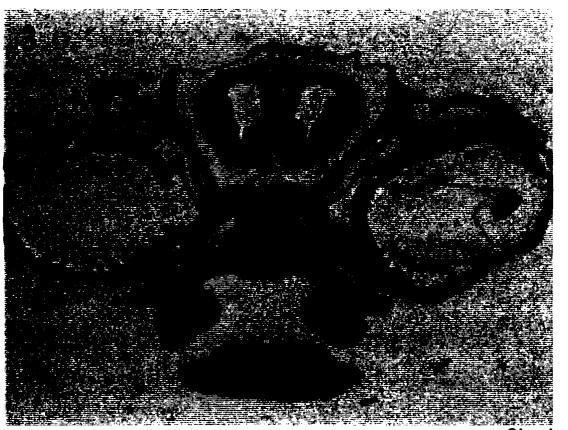
Obr. 4

B

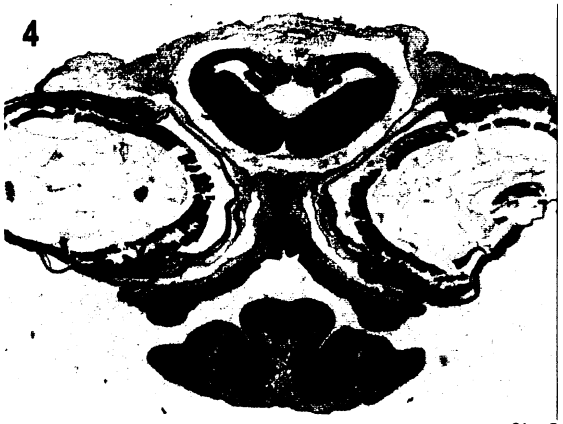
Obr. 1

Obr. 2

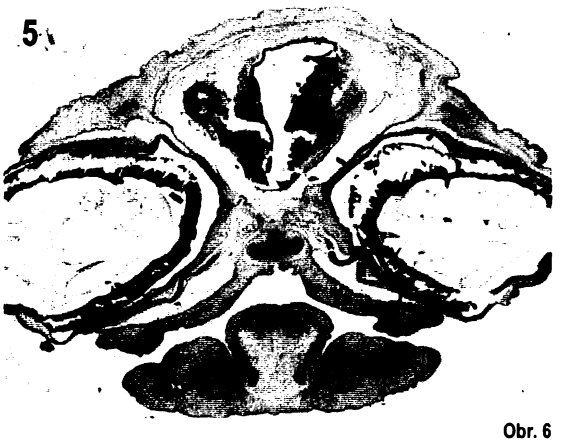
Obr. 3



Obr. 4



Obr. 5



Obr. 6

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje embrya u varana mangrovového v 43. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: rýsující se prsty ve vějířku

Tělo: viditelnost segmentace slabší než u předchozího; cévy ano – oblast břicha a ocasu; šupiny ne; pigment ne

Hlava: oko: čočka ano; mžurka ne; víčka ano – začátek horního víčka
nozdra vnější: ano – začíná
šupiny na čelistech: ne
bubínek: ano – začíná
pozice koutku: za okem
prominace mozku: výrazná a za okem
dolní čelist: začíná před okem, ale stále značně kratší než horní

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy embrya (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): začátek nozder

obr. 2 (sektor 2): mozek, počátek očí, nozdry a VNO, maxilární výběžky se zubními zárodky

obr. 3 (sektor 3): mozek, obě oči, nasální septum, maxilární výběžky se zubními zárodky, dolní čelist se zubními zárodky

obr. 4 (sektor 3): mozek, obě oči, nasální septum, maxilární výběžky nesou zbytky zubních zárodků, formace kostí, dolní čelist se zubními zárodky a Meckelovou chrupavkou

obr. 5 (sektor 4): mozek, obě oči, formování kostí okolo očí, maxilární výběžky nenesou zubní zárodky, dolní čelist viz předchozí, jazyk

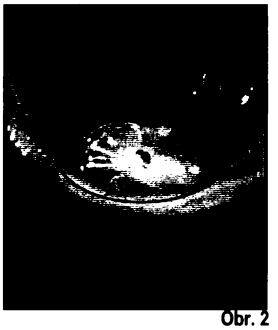
obr. 6 (sektor 5): mozek, obě očí, formace kostí pod očima, dolní čelist nenese zubní zárodky, Meckelova chrupavka, jazyk a formování žláz

2.6.

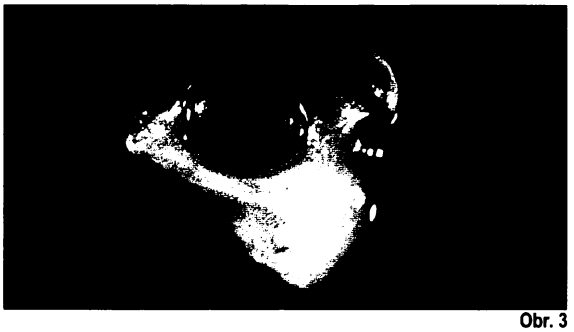
48. den – *Varanus indicus*

A

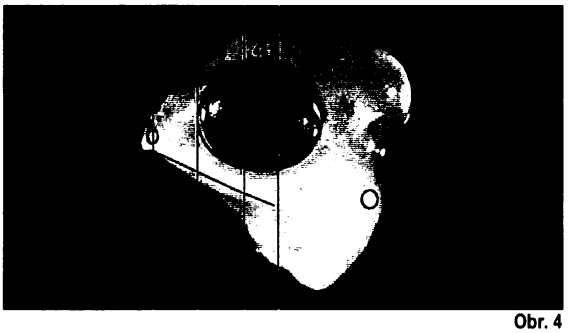
Obr. 1



Obr. 2

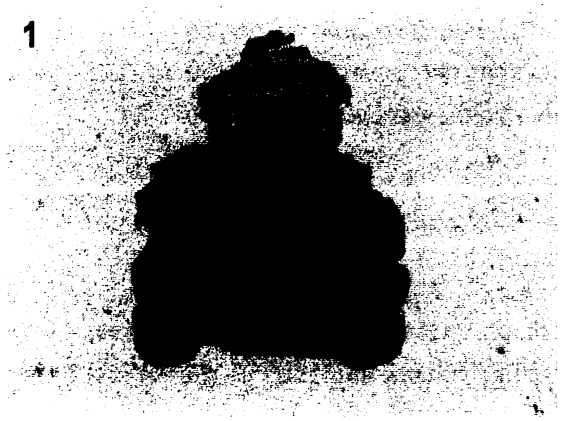


Obr. 3



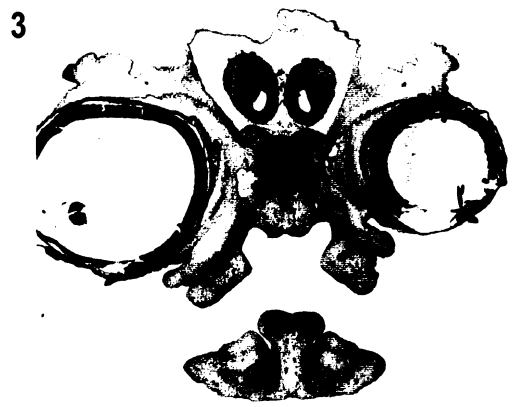
Obr. 4

B

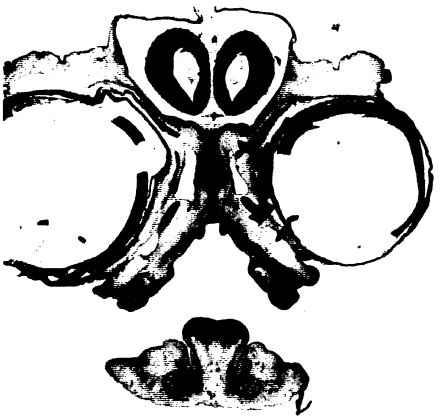


Obr. 1

Obr. 2



Obr. 3



Obr. 4

Obr. 5

Obr. 6

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje embrya u varana mangrovového v 48. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: výrazněji se rýsující prsty stále ve vějířku
Tělo: viditelnost segmentace slabší; cévy ano – výraznější; šupiny ne; pigment ne
Hlava: oko: čočka ano; mžurka ne; víčka ano – horní
nozdra vnější: ano – náznak prolamování
šupiny na čelistech: ne
bubínek: ano
pozice koutku: na úrovni konce oka
prominace mozku: vyrovnávající a za okem
dolní čelist: začíná v oblasti vnější nozdry, ale stále kratší než horní čelist

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy embrya (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): nasální septum, počátek nozder, cévy, zubní lišta
obr. 2 (sektor 2): počátek mozku, počátek oka, nozdry a VNO, nasální septum, maxilární výběžky nesou zubní zárodky, dolní čelist s cévami a Meckelovou chrupavkou se zubními zárodky
obr. 3 (sektor 3): mozek, obě oči a okolo nich chrupavky, nasální septum a okolo formace kostí, maxilární výběžky nesou zubní zárodky, dolní čelist viz předchozí, jazyk
obr. 4 (sektor 3): mozek, okolo obou očí kosti, nasální septum, kosti na patru horní čelisti, maxilární výběžky nesou zbytky zubních zárodků, dolní čelist viz předchozí a formování kostí, jazyk
obr. 5 (sektor 4): mozek, obě oči, nasální septum, dolní čelist nese zbytky zubních zárodků, jazyk, Meckelova chrupavka
obr. 6 (sektor 5): mozek, obě oči, kosti v oblasti očí, dolní čelist s Meckelovou chrupavkou a okolo ní formování kostí, jazyk

2.7.

56. den – *Varanus indicus*

A

Obr. 1

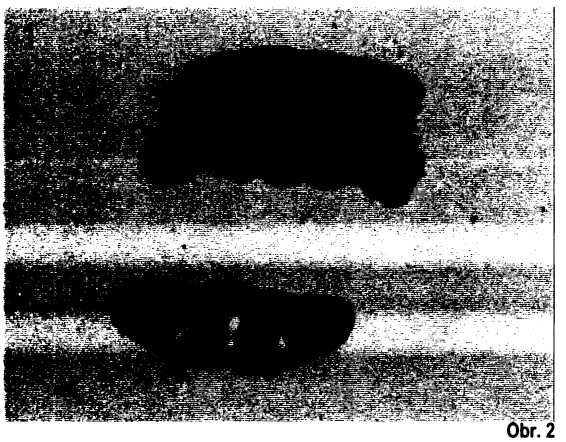
Obr. 2

Obr. 3

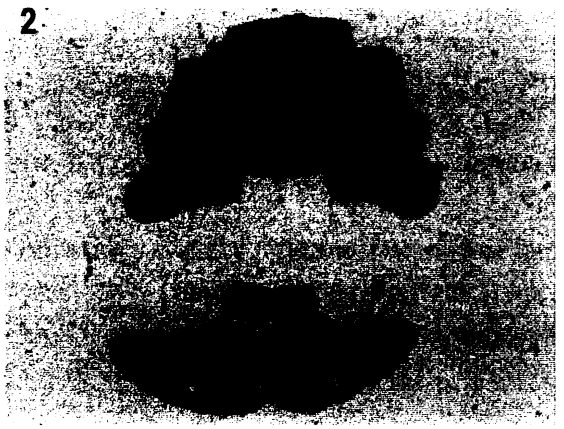
Obr. 4

B

Obr. 1

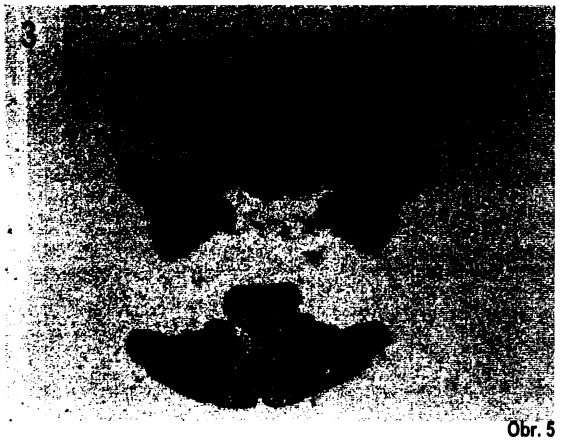


Obr. 2



Obr. 3

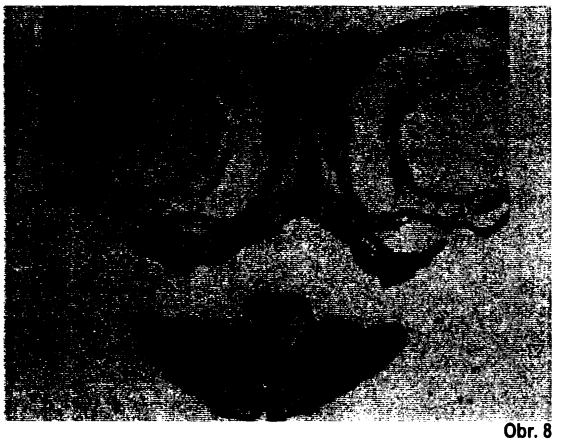
Obr. 4



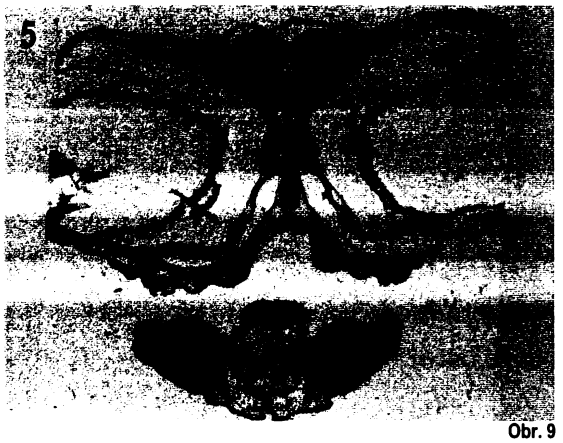
Obr. 5

Obr. 6

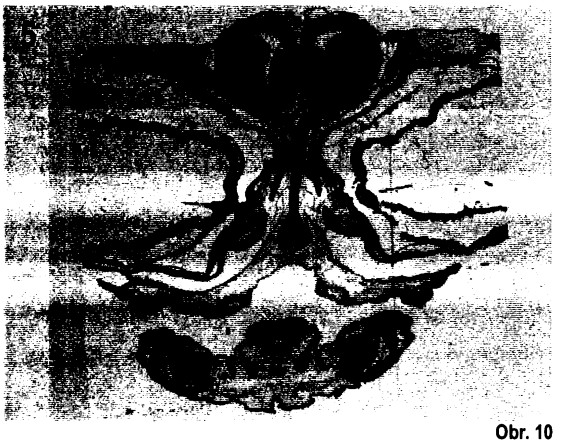
Obr. 7



Obr. 8



Obr. 9



Obr. 10

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje plodu u varana mangrovového v 56. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: prsty již jednotlivě, na každém zbytek blány

Tělo: viditelnost segmentace velmi slabá; cévy ano – mozek, ocas a začínají v končetinách; šupiny ne; pigment ne

Hlava: oko: čočka ano; mžurka ne; víčka ano – obě začínají
nozdra vnější: ano a výraznější
šupiny na čelistech: ne
bubínek: ano
pozice koutku: na úrovni konce oka
prominace mozku: vyrovnávající ale viditelná
dolní čelist: začíná před oblastí vnější nozdry a v podstatě stejně dlouhá jako horní čelist

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy plodu (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): nasální septum, vaječný zubní zárodek, dolní čelist s Meckelovou chrupavkou a kostmi

obr. 2 (sektor 1): počátek chrupavek nozder, VNO, nasální septum, maxilární výběžky nesou zubní zárodky, dolní čelist viz předchozí a nesou zubní zárodky

obr. 3 (sektor 2): počátek nozder, VNO, maxilární výběžky nesrostlé a nesou zubní zárodky, dolní čelist viz předchozí, jazyk

obr. 4 (sektor 2): před očima, nozdry, maxilární výběžky nesou zubní zárodky, dolní čelist viz předchozí, jazyk

obr. 5 (sektor 3): počátek očí a sklerotikálního prstence, počátek mozku, mnoho chrupavek v okolí nozder, myxilární výběžky nesou zubní zárodky, dolní čelist viz předchozí, jazyk s mohutnými žlázami

obr. 6 (sektor 3): mozek, obě oči, sklerotikální prstenec, nasální septum, maxilární výběžky se zubními zárodky a chrupavkami, dolní čelist viz předchozí, hodně žláz

obr. 7 (sektor 4): obě očí, okolo kosti, mozek, maxilární výběžky se zbytky zubních zárodků a chrupavek, dolní čelist viz předchozí, jazyk

obr. 8 (sektor 4): obě oči, mozek, kosti v oblasti sklerotikálního prstence, maxilární výběžky nesou zbytky zubních zárodků, dolní čelist se zubními zárodky, Meckelovou chrupavkou a kostmi, jazyk

obr. 9 (sektor 5): mozek, nasální septum, obě oči, na maxilárních výběžcích již žádné zubní zárodky, dolní čelist viz předchozí, ale nenese zubní zárodky, jazyk

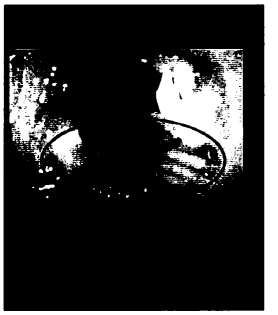
obr. 10 (sektor 5): mozek, nasální septum, kosti okolo sklerotikálního prstence, dolní čelist viz předchozí, jazyk ustupuje

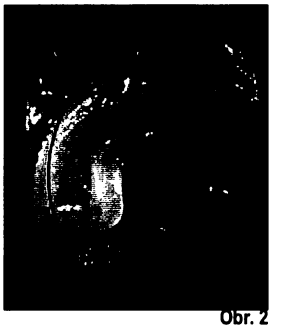
2.8.

63. den – *Varanus indicus*

A

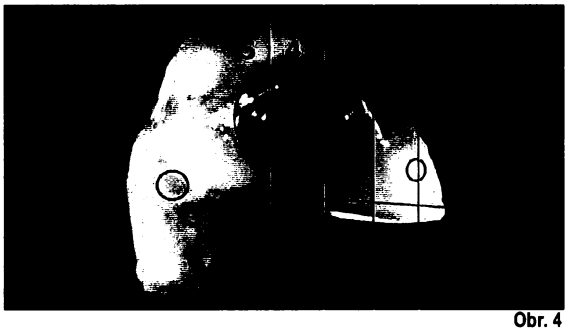
Obr. 1





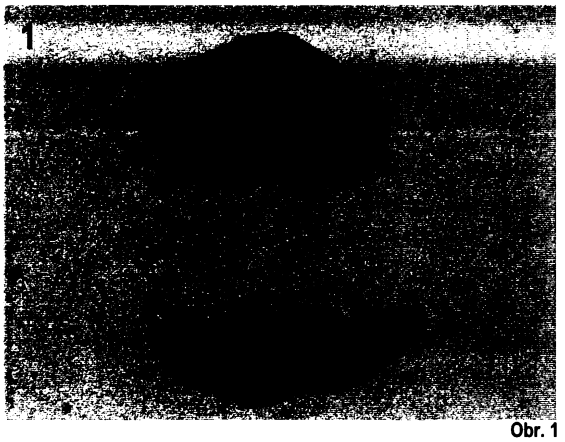
Obr. 2

Obr. 3

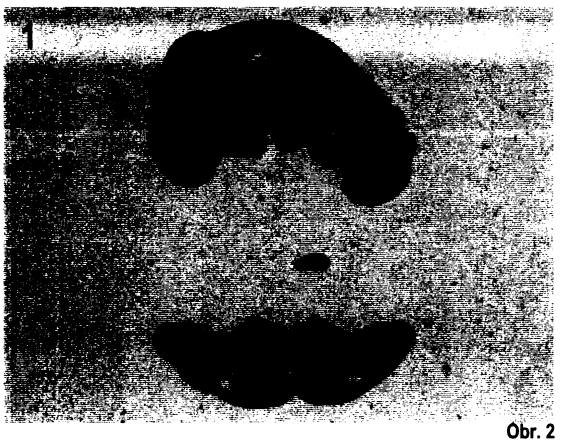


Obr. 4

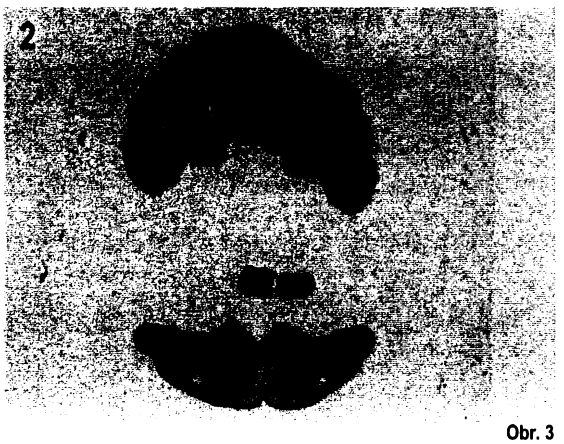
B



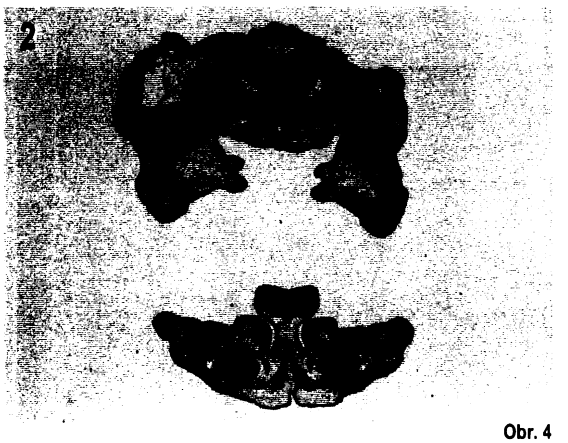
Obr. 1



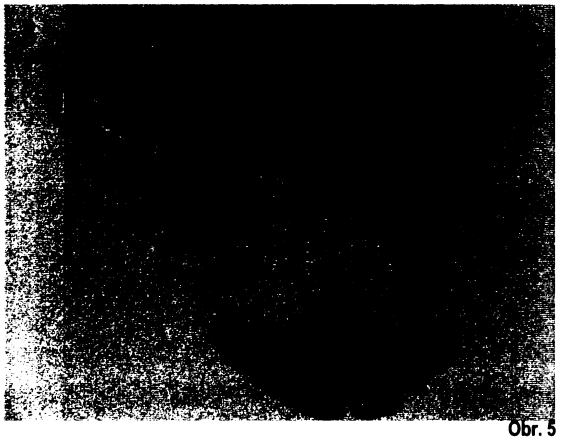
Obr. 2



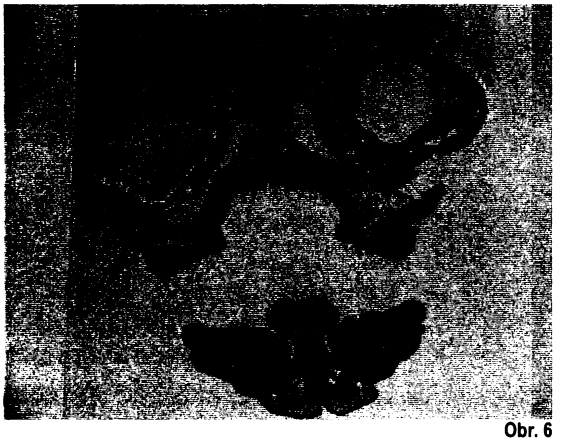
Obr. 3



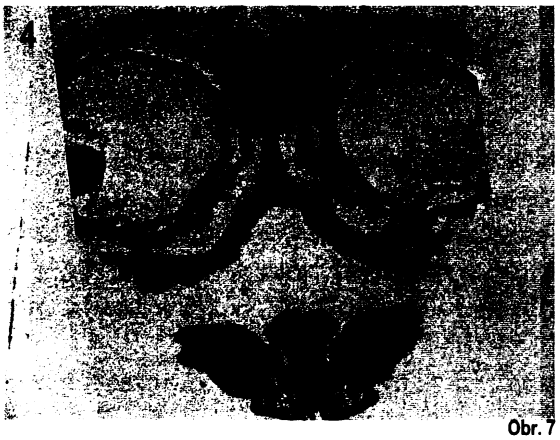
Obr. 4



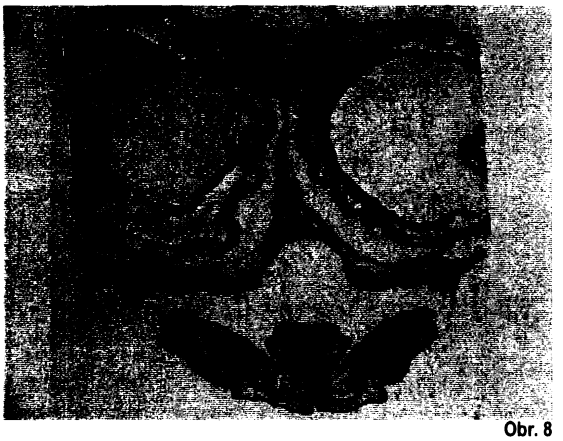
Obr. 5



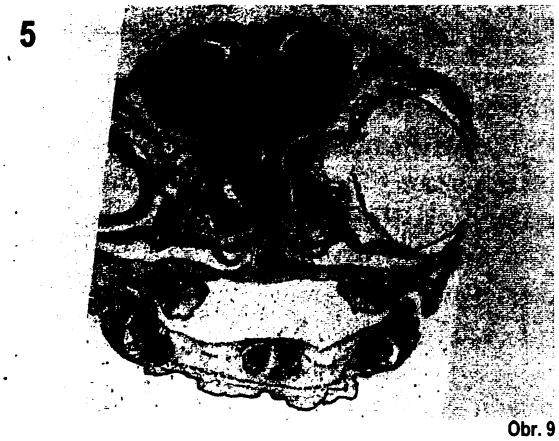
Obr. 6



Obr. 7



Obr. 8



Obr. 9

Obr. 10

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje plodu u varana mangrovového v 63. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: jednotlivé dobře vyvinuté prsty
Tělo: viditelnost segmentace nepatrná; cévy ano – výraznější zvlášť na hlavě; šupiny ano – začátek v oblasti zad; pigment ne

Hlava: oko: čočka ano; mžurka ne; víčka ano – obě výraznější
nozdra vnější: ano i více prolomena
šupiny na čelistech: ne
bubínek: ano
pozice koutku: výrazněji za okem směrem k bubínku
prominace mozku: vyrovnávající slabá
dolní čelist: začíná před nozdrou a neznatelně delší než čelist horní

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy plodu (viz kapitola Materiál a metodika):

B

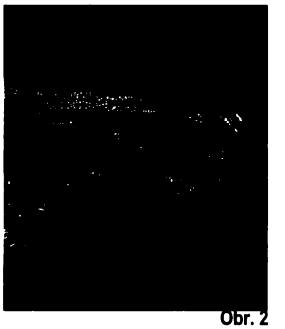
obr. 1 (sektor 1): nasální septum, vaječný zubní zárodek, VNO, dolní čelist s Meckelovou chrupavkou, kostmi mandibuly a zubními zárodky
obr. 2 (sektor 1): nasální septum, oblast nozder, VNO, maxilární výběžky se zubními zárodky, kosti, jazyk, dolní čelist viz předchozí
obr. 3 (sektor 2): nasální septum, nozdry, VNO, maxilární výběžky nesou zubní zárodky, jazyk, dolní čelist viz předchozí
obr. 4 (sektor 2): před okem, konec nozder s množstvím chrupavek v okolí, zubní zárodky na maxilárních výběžcích, dolní čelist viz předchozí s přibližujícím se zubním zárodkem ke kosti, jazyk
obr. 5 (sektor 3): počátek očí se sklerotikálním prstencem, počátek mozku, na maxilárních výběžcích chrupavky a počátek kostí a se zbytky zubních zárodků, dolní čelist viz předchozí, ale bez přibližování ke kosti, jazyk s množstvím žláz
obr. 6 (sektor 3): obě oči, mozek, nasální septum, kosti na patře, žádné zubní zárodky na maxilárních výběžcích, dolní čelist viz předchozí se zbytky zubních zárodků, jazyk
obr. 7 (sektor 4): mozek, obě oči, nasální septum, sklerotikální prstenec, maxilární výběžky mají kosti, dolní čelist s mohutnými kostmi a Meckelovou chrupavkou
obr. 8 (sektor 4): mozek, obě oči, nasální septum, maxilární výběžky viz předchozí, dolní čelist viz předchozí
obr. 9 (sektor 5): konec očí, mozek, srůst čelistí
obr. 10 (sektor 5): oblast za koutkem

2.9.

73. den – *Varanus indicus*

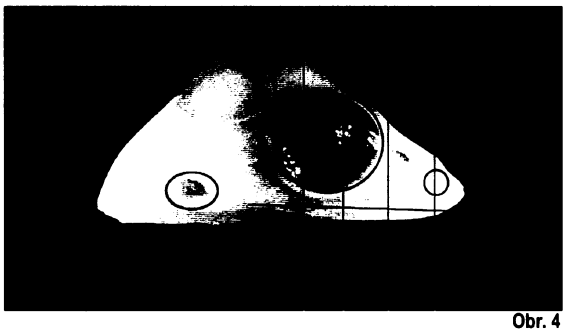
A

Obr. 1



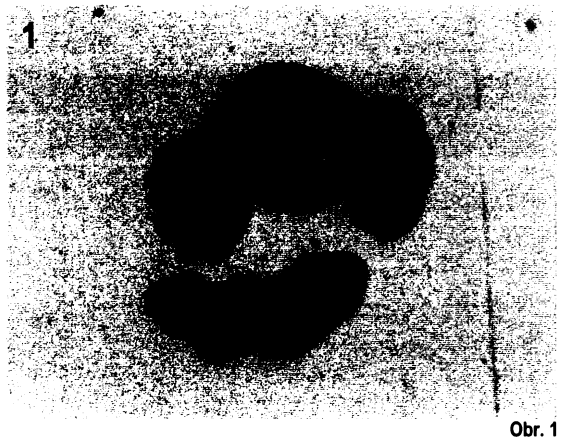
Obr. 2

Obr. 3



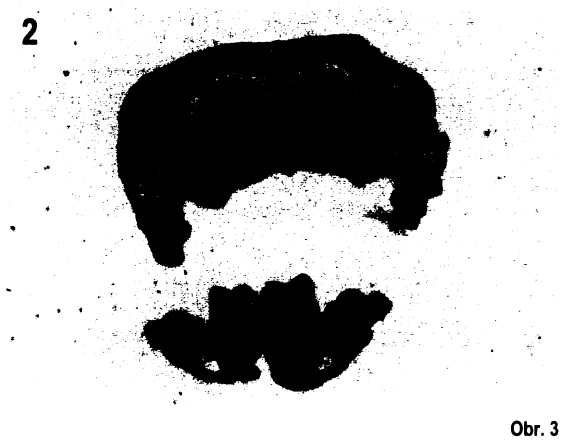
Obr. 4

B



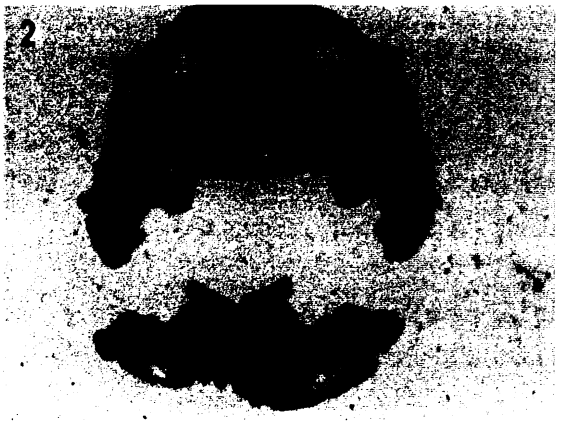
Obr. 1

Obr. 2



Obr. 3

Obr. 4



Obr. 5

Obr. 6

Obr. 7

Obr. 8

Obr. 9

Obr. 10

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje plodu u varana mangrovového v 73. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: prsty s počínajícími drápy

Tělo: viditelnost segmentace žádná; cévy ano – mohutněji v ocase, končetinách a na zádech; šupiny ano – po celém těle; pigment ne

Hlava: oko: čočka ano; mžurka ne; víčka výraznější
nozdra vnější: ano – hlouběji prolomená a větší
šupiny na čelistech: ano – na spodní straně dolní čelisti
bubínek: ano – větší a hlouběji
pozice koutku: zhruba v polovině vzdálenosti mezi okem a bubínkem
prominace mozku: vyrovnávající slabá až nepatrná
dolní čelist: začíná před nozdrou a o neznatelně kratší než horní čelist

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy plodu (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): nasální septum, oblast za vaječným zubním zárodkem, maxilární výběžky nesou zubní zárodky, dolní čelist s kostmi mandibuly a Meckelovou chrupavkou a zubními zárodky, které se přibližují ke kosti

obr. 2 (sektor 1): oblast před nozdrami, viz předchozí, kosti mnoho chrupavek, dolní čelist viz předchozí, žlázy

obr. 3 (sektor 2): nozdry, VNO, okolí nozder hodně kostěné, kosti horní čelisti, výběžky srostlé a nesou zubní zárodky, dolní čelist viz předchozí, žlázy

obr. 4 (sektor 2): nozdry, VNO, vše srostlé, kosti horní čelisti, zubní zárodky, dolní čelist viz předchozí, žlázy

obr. 5 (sektor 2): konec nozder, chrupavky ustupují, nasální septum, hodně cév, zubní zárodky v horní čelisti, dolní čelist viz předchozí (zubní zárodky, přibližování a přisedání ke kosti, mandibula, Meckelova chrupavka)

obr. 6 (sektor 3): před očima, konec nozder, mohutné kosti patra, přisedání zubních zárodků na maxilu, dolní čelist viz předchozí

obr. 7 (sektor 3): před očima, zuby na horní čelisti, jazyk, dolní čelist viz předchozí

obr. 8 (sektor 3): počátek očí, mozek, žádné nozdry, chrupavky na maxilárních výběžcích a v okolí kosti se zubními zárodky, dolní čelist viz předchozí, jazyk

obr. 9 (sektor 4): obě oči, mozek, mnoho kostí, žádné zubní zárodky na horní čelisti, na dolní čelisti ustupují zubní zárodky, jazyk

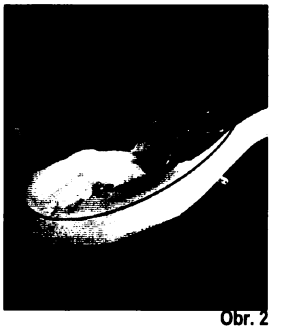
obr. 10 (sektor 5): konec očí, mozek, nikde zubní zárodky, jazyk

2.10.

81. den – *Varanus indicus*

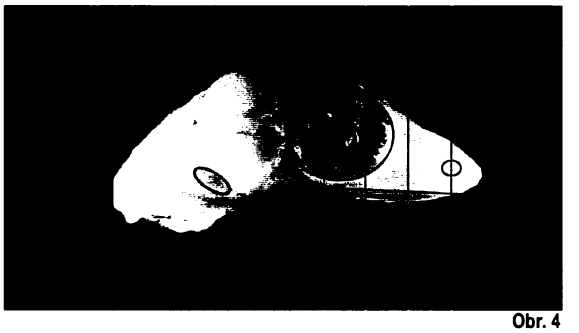
A

Obr. 1



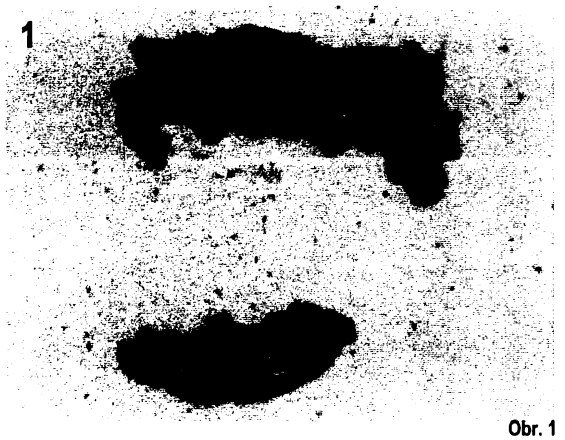
Obr. 2

Obr. 3

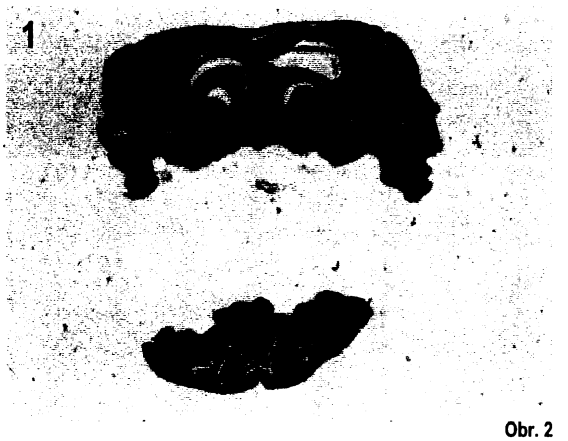


Obr. 4

B

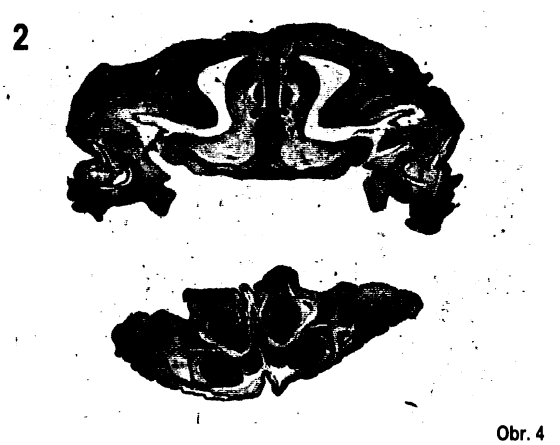


Obr. 1

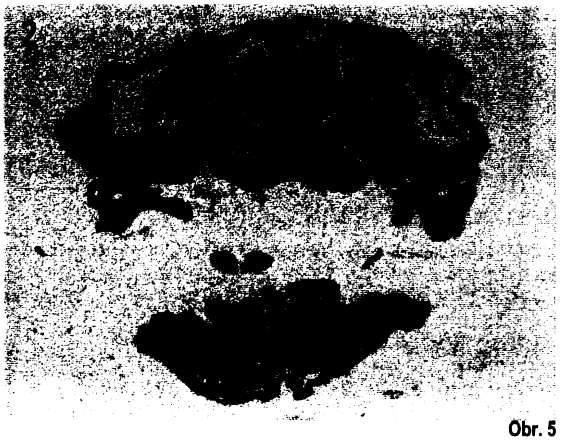


Obr. 2

Obr. 3



Obr. 4



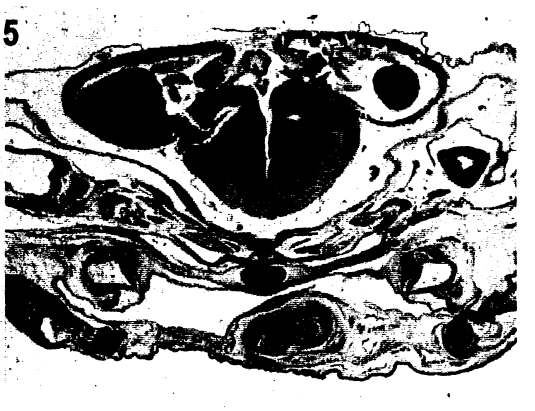
Obr. 5

Obr. 6

Obr. 7

Obr. 8

Obr. 9



Obr. 10

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje plodu u varana mangrovového v 81. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: prsty s vyvinutými drápy

Tělo: viditelnost segmentace žádná; cévy ano - po celém zvířeti, i v prstech a bubínku; šupiny ano – po celém těle a výrazněji; pigment ne

Hlava: oko: čočka ano; mžurka ne; víčka ano
nozdra vnější: hlouběji prolomená než u předchozího embrya
šupiny na čelistech: ano – dolní čelist i ze strany; horní čelist ne
bubínek: ano – hlubší a viditelná céva
pozice koutku: zhruba v polovině mezi okem a bubínkem
prominace mozku: vyrovnávající nepatrná
dolní čelist: stejně dlouhá jako horní čelist + prolongace celého rostra

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy plodu (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): zubní zárodky na horní čelist, nasální septum, kosti, dolní čelist s Meckelovou chrupavkou, kostmi a zubními zárodky

obr. 2 (sektor 1): začátek nozder, VNO, maxilární kosti se zubními zárodky, dolní čelist viz předchozí

obr. 3 (sektor 2): hodně chrupavek okolo nozder, kosti, zubní zárodky na horní čelisti, dolní čelist viz předchozí, cévy

obr. 4 (sektor 2): hodně podobné předchozímu, cévy, patrový výběžek oddělen, dolní čelist viz předchozí, hodně žláz

obr. 5 (sektor 2): před očima, počátek mozku, mnoho chrupavek, maxilární výběžky nesou zubní zárodky, dolní čelist viz předchozích, jazyk

obr. 6 (sektor 3): počátek očí, mozek, horní čelist nese ustupující zubní zárodky, množství chrupavek a kostí, dolní čelist viz předchozí, jazyk

obr. 7 (sektor 3): obě oči, sklerotikální prstenec, mozek, mohutné patrové kosti, dolní čelist viz předchozí, jazyk, množství žláz

obr. 8 (sektor 3): viz předchozí

obr. 9 (sektor 4): viz předchozí, na dolní čelisti ustupují zubní zárodky

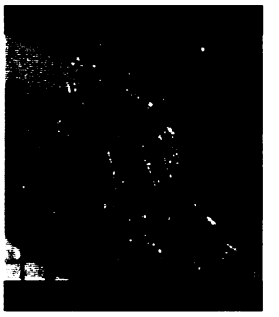
obr. 10 (sektor 5): konec očí, třetina mozku, oblast koutku

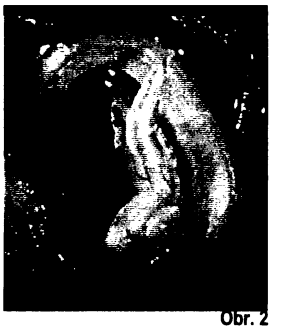
2.11.

88. den – *Varanus indicus*

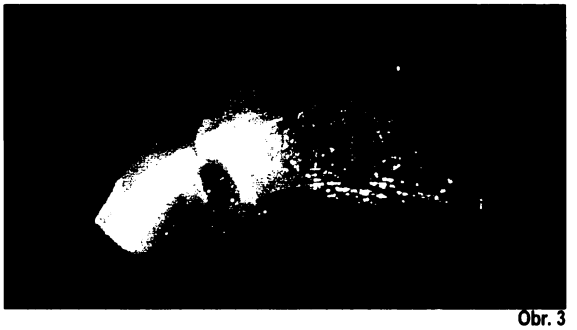
A

Obr. 1

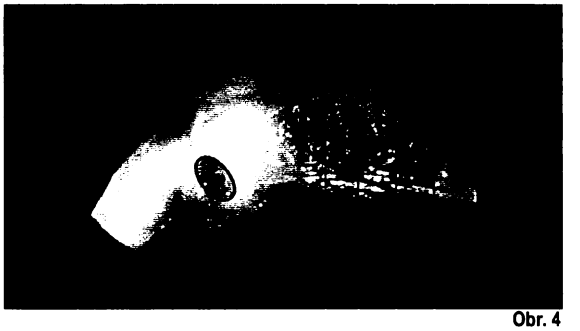




Obr. 2



Obr. 3



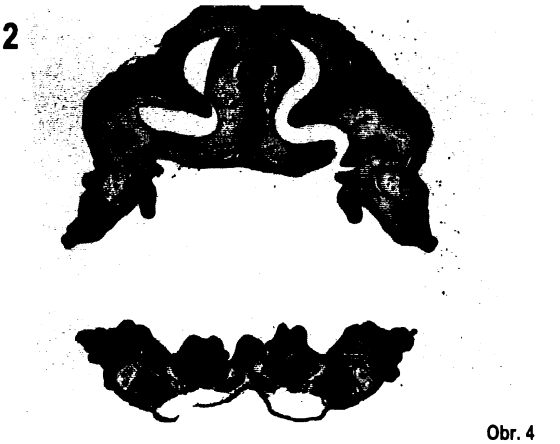
Obr. 4

B

Obr. 1

Obr. 2

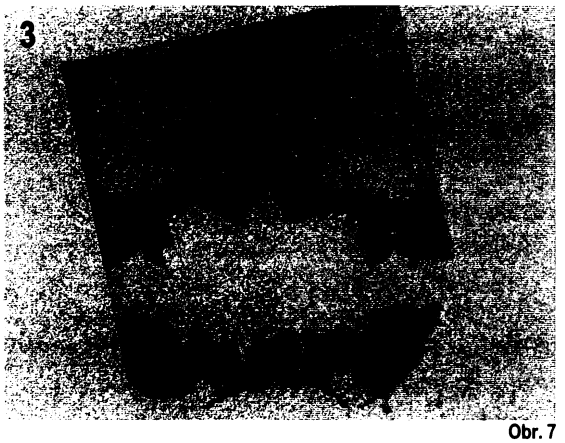
Obr. 3



Obr. 4

Obr. 5

Obr. 6



Obr. 7

Obr. 8

Obr. 9

Obr. 10

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje plodu u varana mangrovového v 88. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: pokrývají již šupiny + prsty s vyvinutými drápy

Tělo: viditelnost segmentace žádná; cévy ano – začínají mizet; šupiny již všude a dobře viditelné; pigment ne

Hlava: oko: čočka ano; mžurka ano – začíná se vyvíjet; víčka vyvinuta
nozdra vnější: výrazná a na začátku rostra
šupiny na čelistech: ano na obou – na dolní čelisti výraznější
bubínek: velmi výrazný – bez cévy
pozice koutku: v polovině mezi bubínkem a okem
prominace mozku: nepatrná
dolní čelist: stejně dlouhá jako horní čelist a růst rostra

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy plodu (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): nasální septum, zubní zárodky na obou čelistech, dolní čelist s Meckelovou chrupavkou a kostmi

obr. 2 (sektor 1): počátek nozder, VNO, mnoho chrupavek a kosti, na obou čelistech zubní zárodky

obr. 3 (sektor 2): nozdry, patrové kosti, cévy, přisedávající zuby k maxile, dolní čelist se zuby

obr. 4 (sektor 2): polovina nozder, patrový výběžek částečně srostlý, dolní čelist viz předchozí, cévy

obr. 5 (sektor 2): konec nozder, počátek mozku, patrový výběžek volný, zuby na maxile, na dolní čelisti zuby přisedlé ke kosti, cévy

obr. 6 (sektor 3): začátek očí, mozek, nasální septum mizí, maxilární výběžky se zuby, dolní čelist viz předchozí

obr. 7 (sektor 3): třetina očí, mozek, nasální septum mizí, zuby na horní čelisti ustupují, dolní čelist viz předchozí

obr. 8 (sektor 3): polovina očí, mozek, žádné zuby na horní čelisti, dolní čelist viz předchozí, jazyk

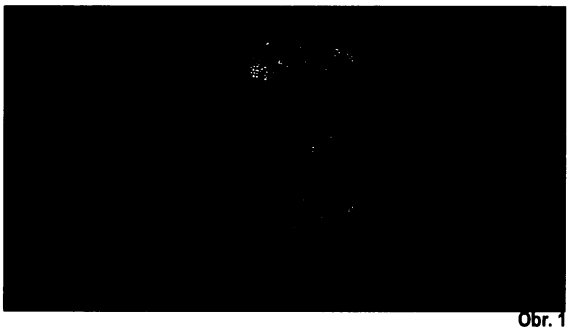
obr. 9 (sektor 4): za polovinou očí, mozek, na dolní čelisti mizí zuby, jazyk

obr. 10 (sektor 5): za polovinou očí, nikde zuby, jazyk

2.12.

95. den – *Varanus indicus*

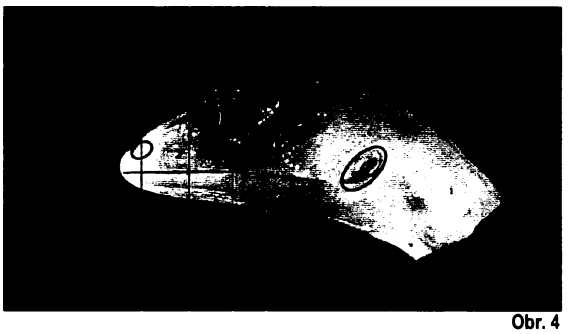
A



Obr. 1

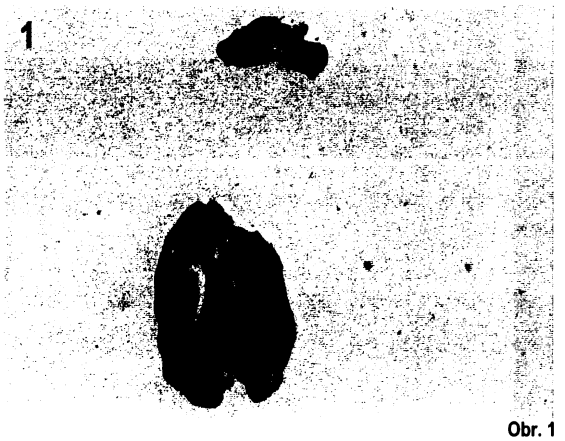
Obr. 2

Obr. 3

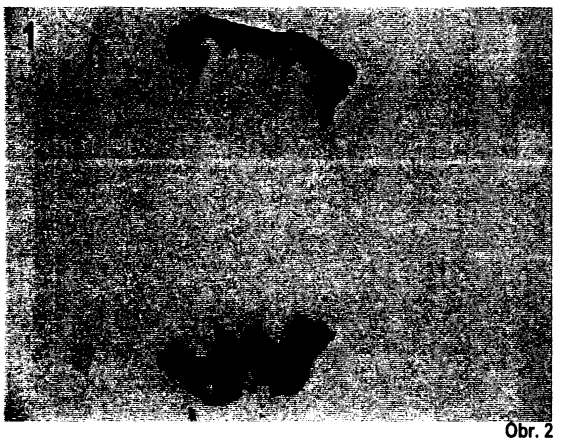


Obr. 4

B

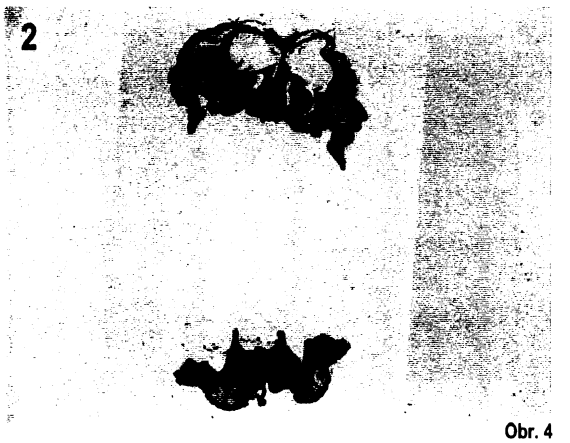


Obr. 1



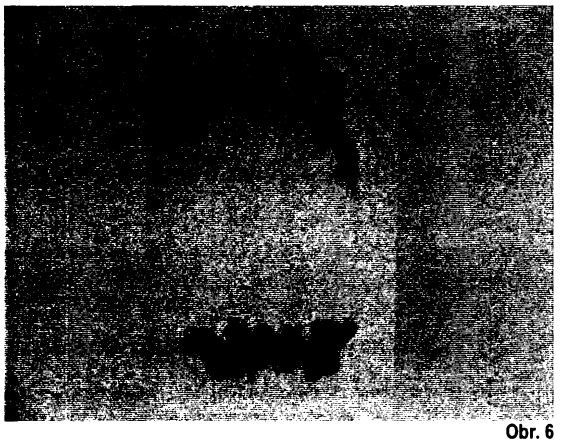
Obr. 2

Obr. 3

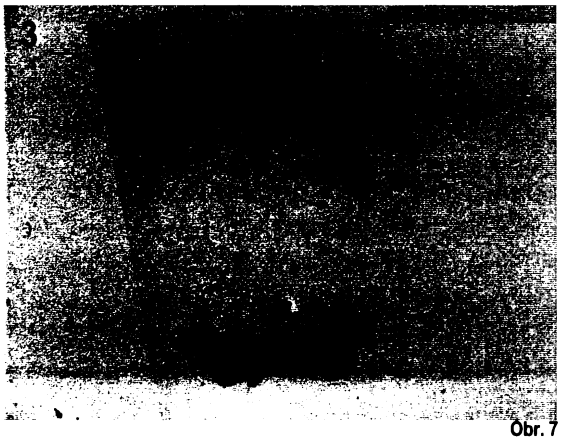


Obr. 4

Obr. 5



Obr. 6



Obr. 7

Obr. 8

Obr. 9

Obr. 10

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje plodu u varana mangrovového v 95. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: prsty s náznakem pigmentu na velkých drápech

Tělo: viditelnost segmentace žádná; cévy ano – mizí; šupiny výrazné – kulovitého tvaru; pigment ne

Hlava: oko: čočka ano; mžurka ano – začátek; víčka ano
nozdra vnější: na špičce rostra výrazně prolomená a dobře patrná
šupiny na čelistech: na obou čelistech, ale na horní stále hůře viditelné
bubínek: výrazný a velmi dobře patrný
pozice koutku: výrazněji blíže bubínku
prominace mozku: téměř neznatelná
dolní čelist: stejně dlouhá s horní a mohutné prodlužování rostra

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy plodu (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): špička rostra, dolní čelist ohnuta – horizontální řez, Meckelova chrupavka, mandibula, zuby

obr. 2 (sektor 1): na horní čelisti oblast za vaječným zubem, před nozdrami, zuby na horní čelisti, dolní čelist přisedání zubů k mandibule, Meckelova chrupavka menší než v předchozích stádiích

obr. 3 (sektor 2): počátek nozder, VNO, zuby na obou čelistech

obr. 4 (sektor 2): nozdry, VNO, vše srostlé, nasální septum, kosti, zuby na obou čelistech

obr. 5 (sektor 2): nozdry, nasální septum, zuby na obou čelistech, na dolní čelisti mnoho žláz

obr. 6 (sektor 3): viz předchozí, prořezávání zubu na dolní čelisti

obr. 7 (sektor 3): končící nozdry, volné patro, jazyk, zuby na obou čelistech

obr. 8 (sektor 3): viz předchozí, zuby na horní čelisti ustupují, jazyk

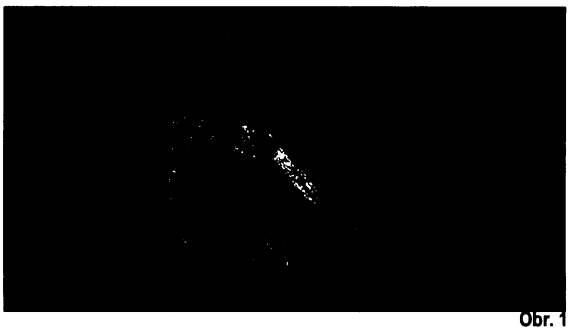
obr. 9 (sektor 4): oči, mozek, zuby mizí i na dolní čelisti, jazyk

obr. 10 (sektor 5): polovina očí, zuby již nikde, jazyk

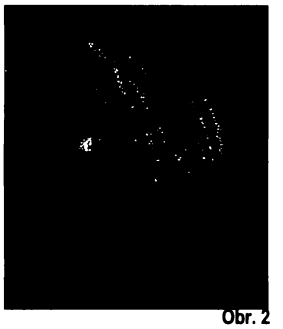
2.13.

103. den – Varanus indicus

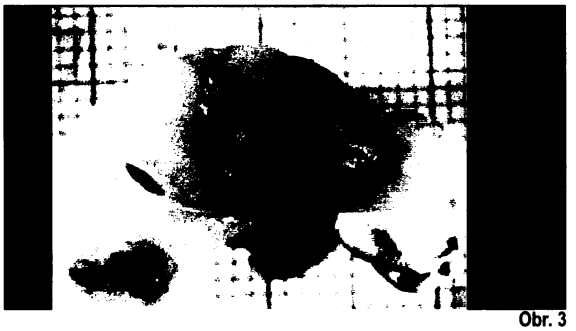
A



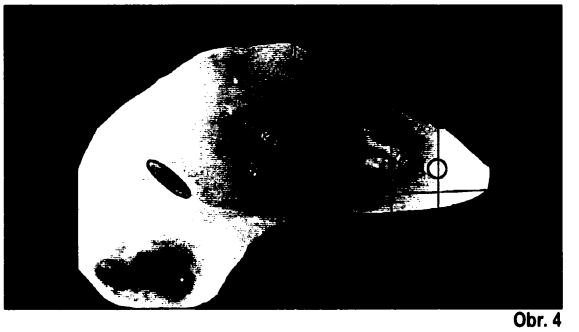
Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3



Obr. 4

B

1

Obr. 1

1

Obr. 2

2

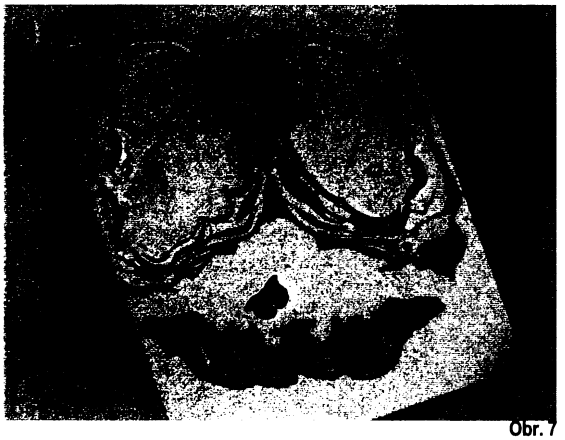
Obr. 3

2

Obr. 4

Obr. 5

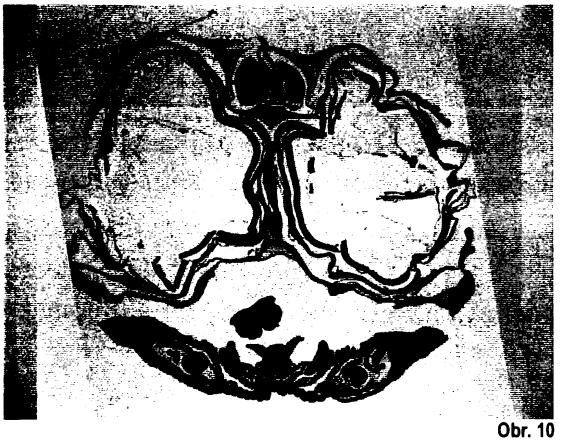
Obr. 6



Obr. 7

Obr. 8

Obr. 9



Obr. 10

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje plodu u varana mangrovového v 103.dni po nakladení snůšky:

Končetiny: mohutné pigmentované drápy

Tělo: viditelnost segmentace žádná; cévy ustupují; šupiny dobře vyvinuté šestibokého tvaru; pigment ne – jen na drápech

Hlava: oko: téměř komplet – mžurka se ještě vyvíjí
nozdra vnější: výrazná a velmi dobře patrná
šupiny na čelistech: výrazné a na obou čelistech stejně
bubínek: výrazný a velmi dobře patrný s viditelným zvukovodem
pozice koutku: velmi blízko bubínku
prominace mozku: neznatelná až žádná
dolní čelist: stejně dlouhá jako horní čelist a růst rostra výrazný – nozdra již není na špičce

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy plodu (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 1): nasální septum, zuby na obou čelistech, kosti, dolní čelist s mandibulou i Meckelovou chrupavkou

obr. 2 (sektor 1): před nozdrami, kosti maxily kompletní, zuby přisedají na horní i dolní čelisti

obr. 3 (sektor 2): polovina nozder, vše srostlé, zuby na obou čelistech, žlázy

obr. 4 (sektor 2): konec nozder, volné patro, zuby na obou čelistech, jazyk

obr. 5 (sektor 2): počátek oka, zuby na horní čelisti postupně mizí, počátek mozku, jazyk, přisedlý zub na dolní čelisti

obr. 6 (sektor 3): třetina očí, mohutný sklerotikální prstenec, kosti na patře, zuby na horní čelisti mizí, mozek, dolní čelist viz předchozí

obr. 7 (sektor 3): mozek, před polovinou očí, žádné zuby na horní čelisti, na dolní čelisti zuby mizí, jazyk

obr. 8 (sektor 3): mozek, polovina očí, ani na jedné čelisti zuby, jazyk

obr. 9 (sektor 4): mozek, za polovinou očí, zuby nikde

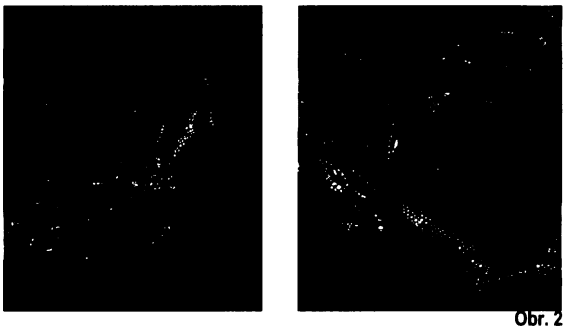
obr. 10 (sektor 5): velmi podobné obr. 9

2.14.

130. den – *Varanus indicus*

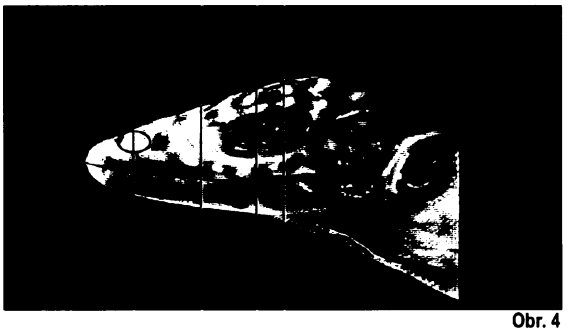
A

Obr. 1



Obr. 2

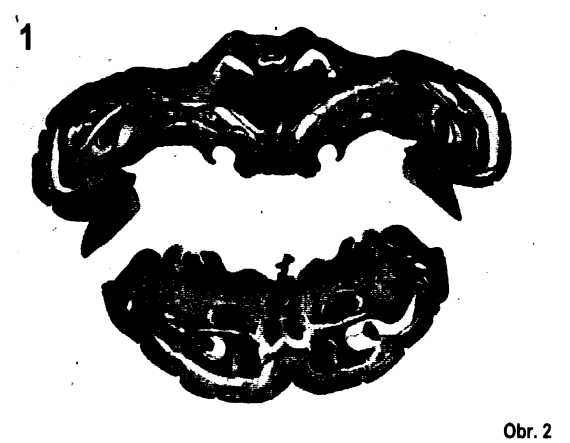
Obr. 3



Obr. 4

B

Obr. 1



Obr. 2

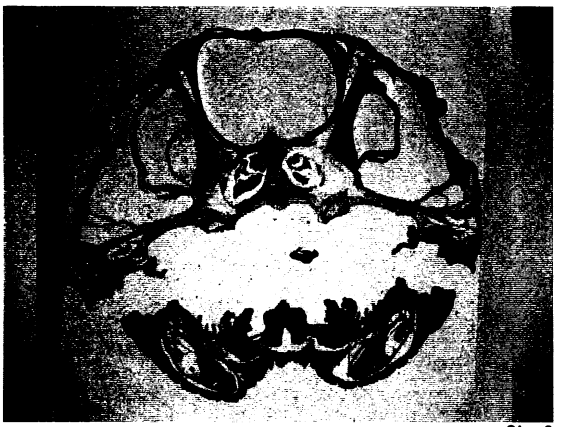
Obr. 3

Obr. 4

Obr. 5

Obr. 6

Obr. 7



Obr. 8

Obr. 9

Obr. 10

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje plodu u varana mangrovového ve 130. dni po nakladení snůšky:

Končetiny: plně vyvinuté s pigmentací a téměř kompletním pigmentačním vzorem
Tělo: cévy ne; šupiny plně vyvinuté; pigment ano – vzor téměř kompletní
Hlava: oko: kompletní
nozdra vnější: téměř kompletně vyvinutá
šupiny na čelistech: kompletní + pigmentovaný vzor na čelistech
bubínek: kompletní, výrazný a velký
pozice koutku: blízko bubínku
prominace mozku: žádná
dolní čelist: stejná jako horní, rostrum stále prolonguje

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy plodu (viz kapitola Materiál a metodika):

B

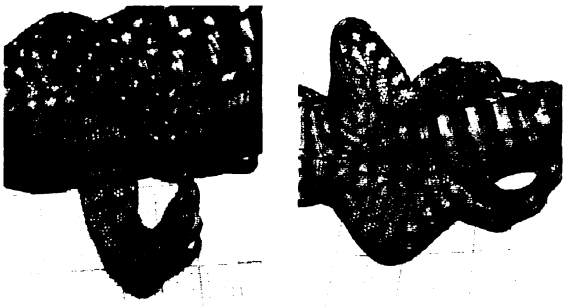
obr. 1 (sektor 1): vaječný zub, premaxilární zuby, kosti hlavy kompletní, dolní čelist kompletní mandibula
obr. 2 (sektor 1): nasální septum, přisedající zuby k maxile i mandibule
obr. 3 (sektor 2): počátek nozder, přisedající zuby na obou čelistech, jazyk
obr. 4 (sektor 2): nozdry, zbytek viz předchozí
obr. 5 (sektor 2): polovina nozder, pleurodontní přisednutí zubů ke kostem v obou čelistech, množství žláz, vše srostlé
obr. 6 (sektor 3): konec nozder, patro volné, zuby na horní čelisti mizí, počátek mozku, dolní čelist viz předchozí
obr. 7 (sektor 3): mozek, počátek očí, nasální septum, zuby na horní čelisti již nejsou, na dolní čelisti mizí
obr. 8 (sektor 3): mozek, počátek očí, viz předchozí
obr. 9 (sektor 4): mozek, třetina očí, viz předchozí
obr. 10 (sektor 5): mozek, za třetinou očí, zuby již nikde

2.15.

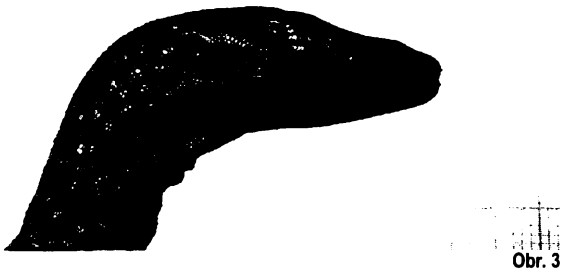
161. den – Varanus indicus

A

Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3

Obr. 4

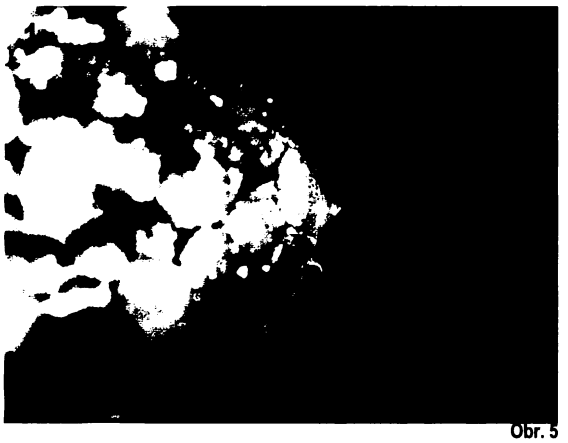
B

Obr. 1

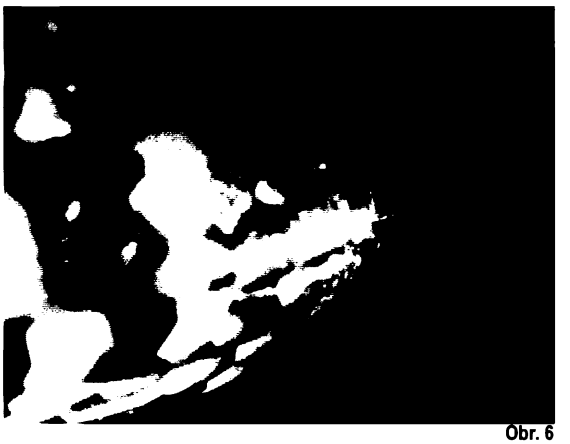
Obr. 2

Obr. 3

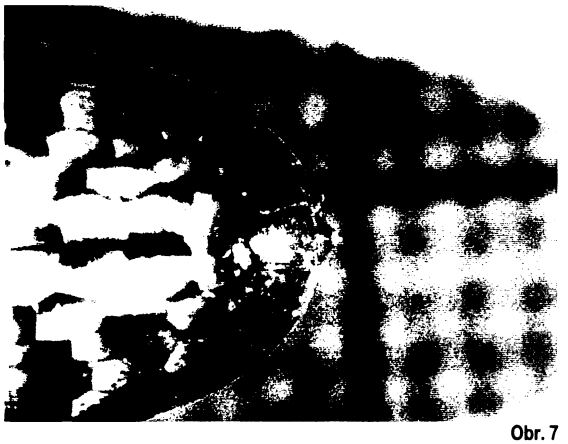
Obr. 4



Obr. 5



Obr. 6



Obr. 7

A

Obr. 1-3 popis stádia vývoje mláděte u varana mangrovového v 161.dni po nakladení snůšky (mládě 14 dní před líhnutím):

Končetiny:	plně vyvinuté s kompletním vzorem a masivními drápy
Tělo:	plně vyvinuté s kompletním barevným černožlutým vzorem: - hřbet: podkladová barva černá se žlutými tečkami - břicho: podkladová barva žlutá s černými pruhy na břiše, ocase a vnitřní straně stehen; černé tečky na žlutém hrdle a předních končetinách
Hlava:	oko: plně vyvinuté a zavřené nozdra vnější: kompletně připravena k otevření po vylíhnutí šupiny na čelistech: stejné i vzorově jako tělo bubínek: kompletní, pigmentovaný a viditelný zvukovod pozice koutku: blízko bubínku prominace mozku: žádná dolní čelist: s horní čelistí stejné, rostrum ještě více prodloužené a na horní čelisti přítomen vaječný zub

Obr. 4 vymezení sektorů v rámci hlavy mláděte (viz kapitola Materiál a metodika):

B

obr. 1 (sektor 2): dolní čelist na začátku rostra

obr. 2 (sektor 2): dolní čelist s pleurodontně přisedlými prořezanými zuby, mohutné žlázy

obr. 3 (sektor 2): horní čelist s premaxilovými zuby s přisedáním

obr. 4 (sektor 2): horní čelist s nasálním septem, dolní čelist s pleurodontně přisedlými zuby

obr. 5 (sektor 1): vaječný zub pohled shora

obr. 6 (sektor 1): vaječný zub pohled z boku

obr. 7 (sektor 1): vaječný zub pohled zespodu

Příloha 3

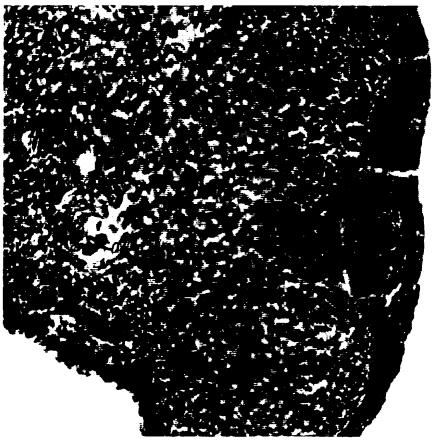
Diferenciace odontogenetického epitelu

3. Diferenciace odontogenetického epitelu

Obr. 1

Obr. 2

Obr. 3

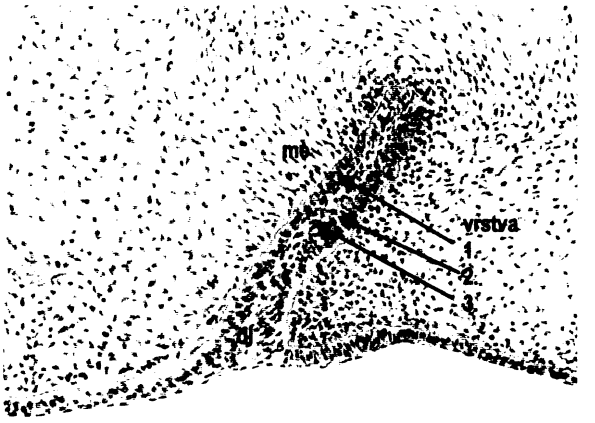


Obr. 4

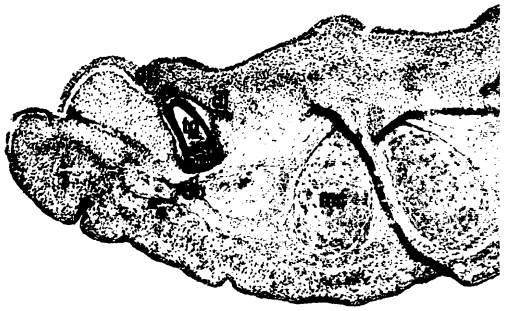
Obr. 5

Obr. 6

Obr. 7



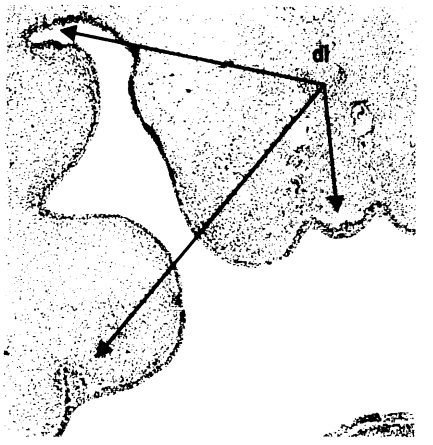
Obr. 8



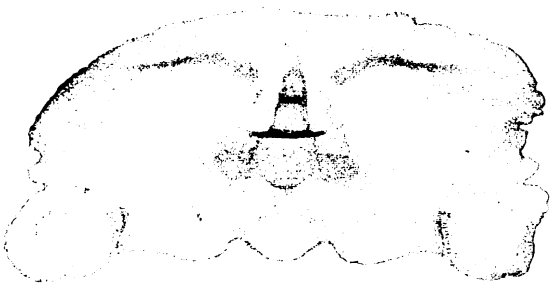
Obr. 9

Obr. 10

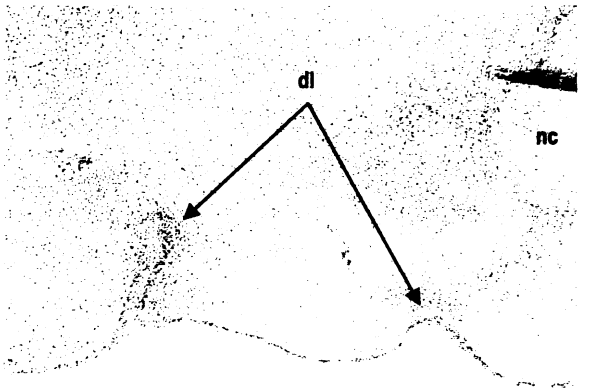
Obr. 11



Obr. 12

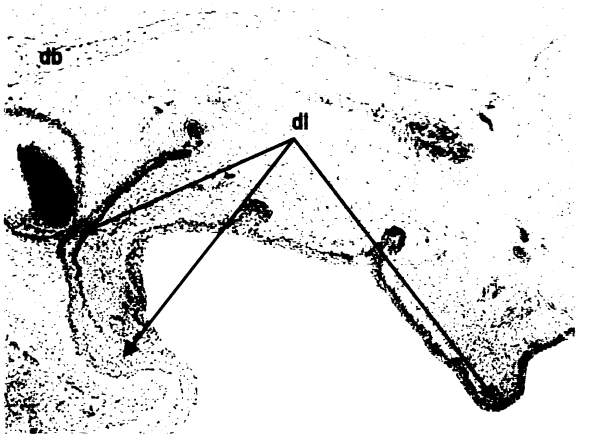


Obr. 13



Obr. 14

Obr. 15



Obr. 16

obr. 1 (10x zvětšeno) a **obr. 2** (20x zvětšeno) **24. den**; horní čelist: zubní lišta ve stádiu plakody
obr. 3 (10x zvětšeno) a **obr. 4** (20x zvětšeno) **24. den**; horní čelist: zubní lišta ve stádiu invaginace
obr. 5 (10x zvětšeno) a **obr. 6** (20x zvětšeno) **48. den**; horní čelist: stádium vícevrstevné zubní lišty
obr. 7 (10x zvětšeno) a **obr. 8** (20x zvětšeno) **56. den**; horní čelist: stádium dvou až třívrstevné zubní lišty
obr. 9 (10x zvětšeno) **81. den**; dolní čelist: zubní lišta tvořící zub a odškrcující se dále distálněji
obr. 10 (4x zvětšeno) **130. den**; horní čelist: zubní lišta tvořící řadu premaxilárních zubů
obr. 11 (4x zvětšeno) a **obr. 12** (10x zvětšeno) **43. den**; horní čelist: zubní lišta zbytněná i v oblasti patra, zubní zárodky však nezakládá
obr. 13 (4x zvětšeno) a **obr. 14** (10x zvětšeno) **56. den**; horní čelist: zubní lišta zbytněná i v oblasti patra, zubní zárodky však nezakládá
obr. 15 (4x zvětšeno) a **obr. 16** (10x zvětšeno) **103. den**; horní čelist: zubní lišta stále zbytněná, ale oproti předchozím stádiím již ne tak patrné, zubní zárodky však nezakládá

Příloha 4

Embryonální zubní generace

4. Embryonální zubní generace

Obr. 1

Obr. 2

Obr. 3

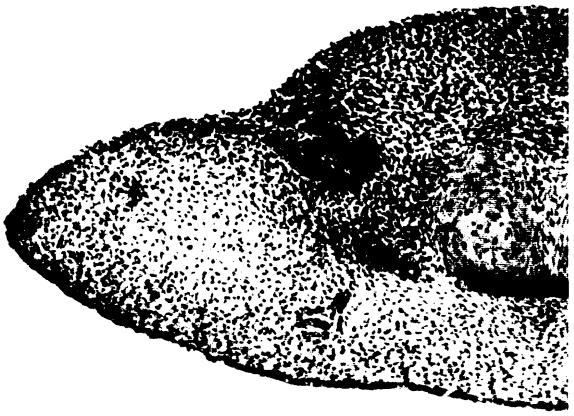
Obr. 4

Obr. 5

Obr. 6

Obr. 7

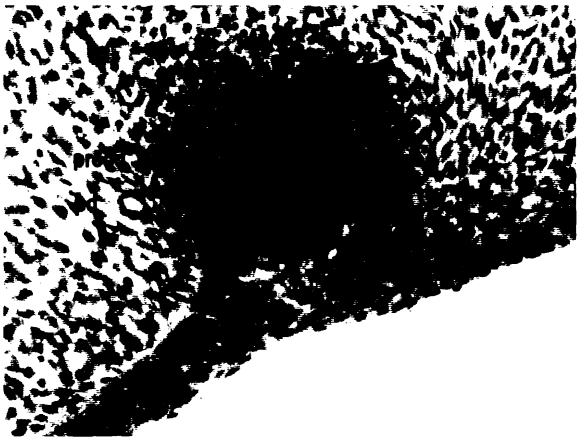
Obr. 8



Obr. 9

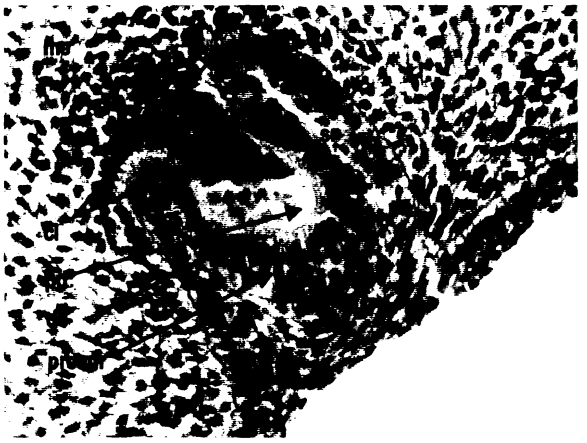
Obr. 10

Obr. 11

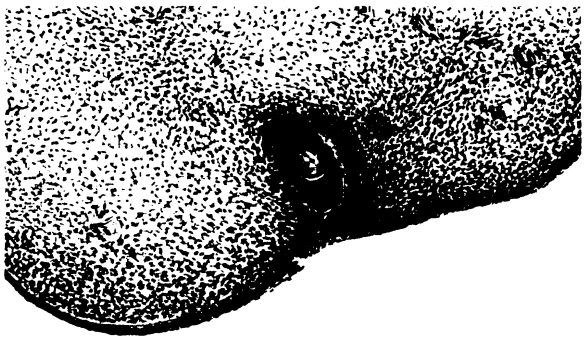


Obr. 12

Obr. 13

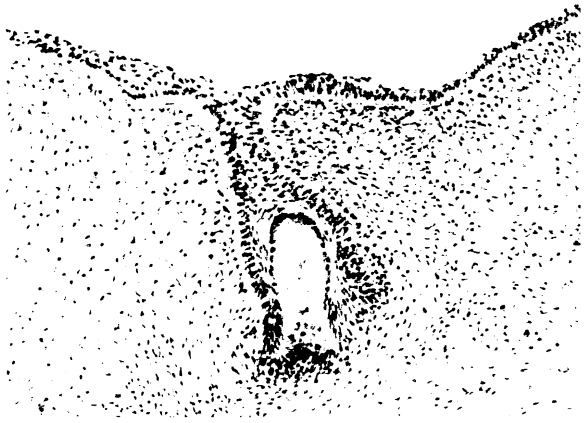


Obr. 14

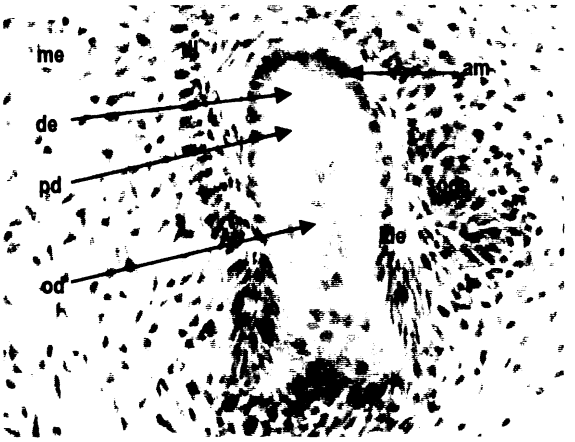


Obr. 15

Obr. 16



Obr. 17



Obr. 18

obr. 1 (20x zvětšeno) a **obr. 2** (40x zvětšeno) **24. den**; horní čelist: zubní zárodek ve stádiu pupenu (*bud*)
obr. 3 (20x zvětšeno) a **obr. 4** (40x zvětšeno) **24. den**; dolní čelist: zubní zárodek v přechodu mezi pupenem (*bud*) a pohárkem (*cap*)
obr. 5 (20x zvětšeno) a **obr. 6** (40x zvětšeno) **32. den**; horní čelist: zubní zárodek ve stádiu pohárku (*cap*)
obr. 7 (20x zvětšeno) a **obr. 8** (40x zvětšeno) **32. den**; dolní čelist: zubní zárodek v brzké fázi přechodu pozdního pohárku (*late cap*) a raného zvonu (*early bell*)
obr. 9 (20x zvětšeno) a **obr. 10** (40x zvětšeno) **63. den**; dolní čelist: zubní zárodek ve stádiu raného zvonu (*early bell*)
obr. 11 (20x zvětšeno) a **obr. 12** (40x zvětšeno) **48. den**; horní čelist: zubní zárodek ve stádiu pozdního zvonu (*late bell*)
obr. 13 (20x zvětšeno) a **obr. 14** (40x zvětšeno) **43. den**; horní čelist: zubní zárodek ve stádiu pozdního zvonu (*late bell*) s patrnou sekrecí predentinu
obr. 15 (20x zvětšeno) a **obr. 16** (40x zvětšeno) **48. den**; horní čelist: zubní zárodek ve stádiu mineralizace
obr. 17 (20x zvětšeno) a **obr. 18** (40x zvětšeno) **56. den**; dolní čelist: zub embryonální generace kompletní, bez skloviny, obklopen vícevrstevnou zubní lištou

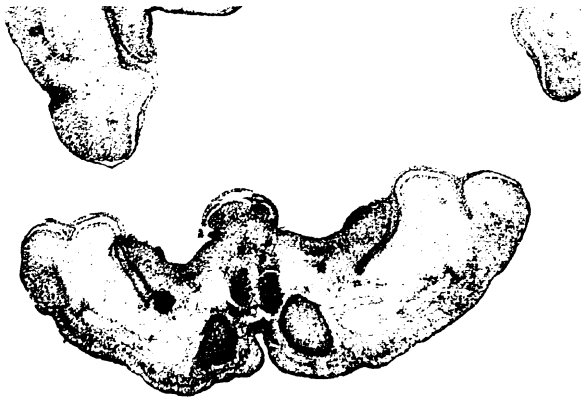
Příloha 5

Funkční zubní generace

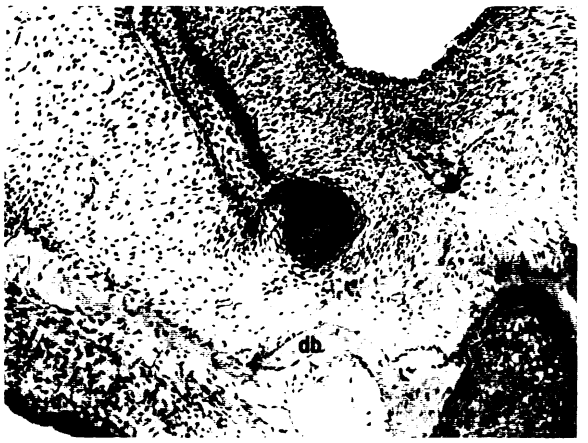
5. Funkční zubní generace

Obr. 1

Obr. 2

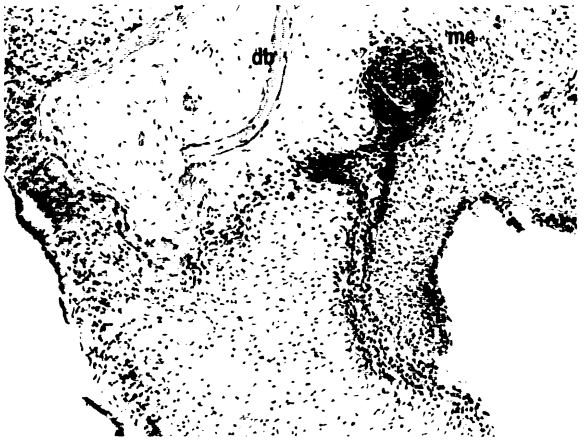


Obr. 3



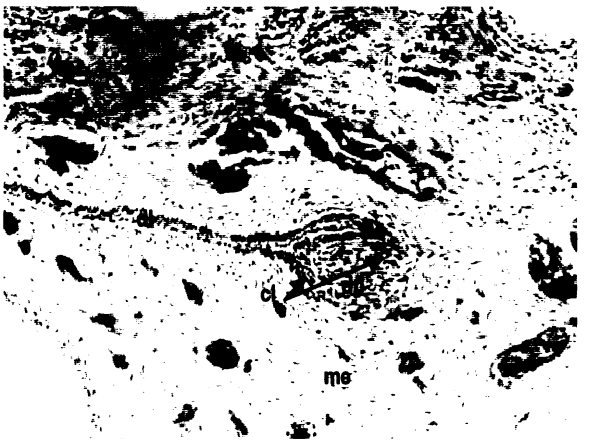
Obr. 4

Obr. 5

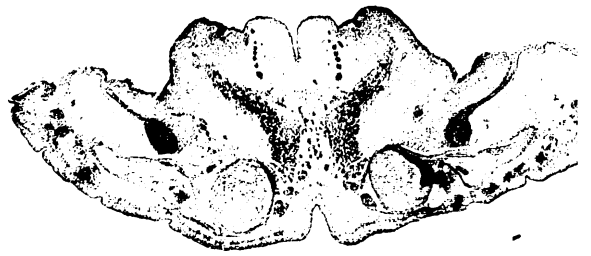


Obr. 6

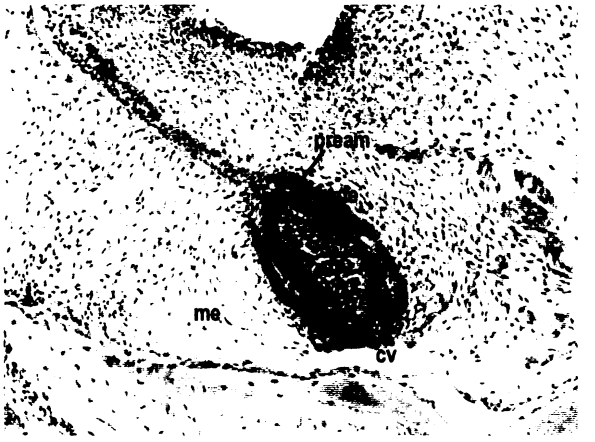
Obr. 7



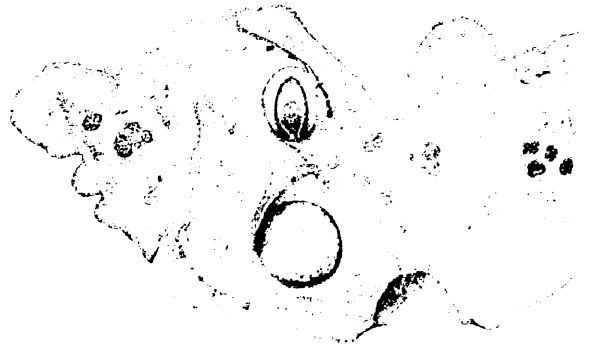
Obr. 8



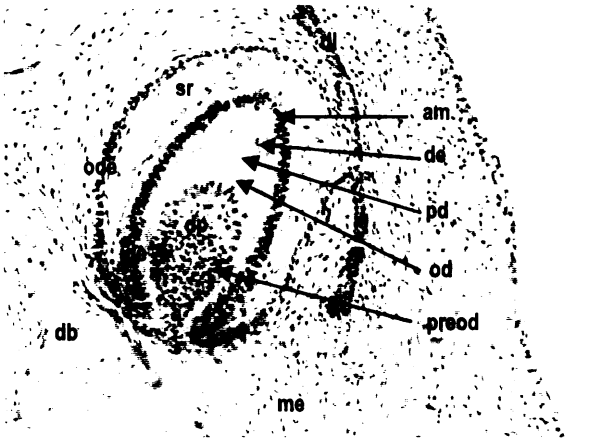
Obr. 9



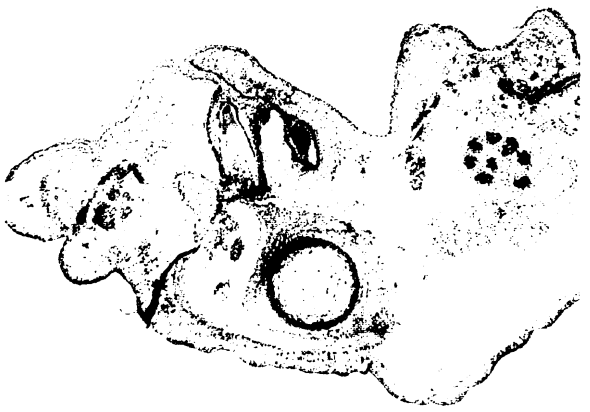
Obr. 10



Obr. 11

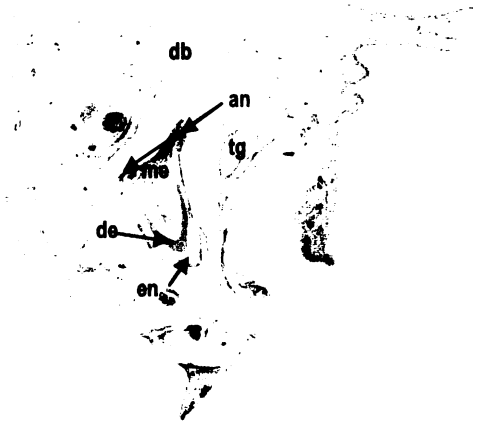


Obr. 12

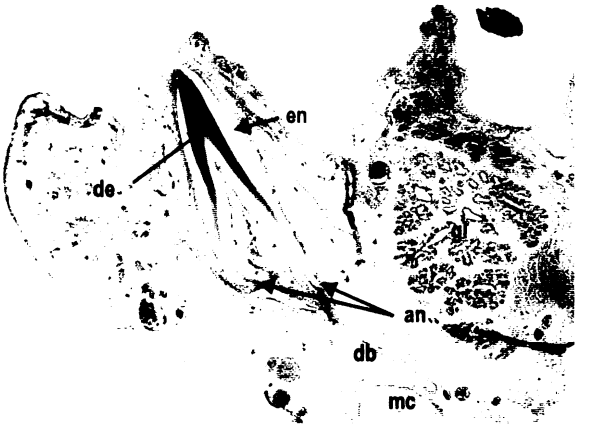


Obr. 13

Obr. 14



Obr. 15



Obr. 16

---

obr. 1 (4x zvětšeno) a **obr. 2** (10x zvětšeno) **103. den**; horní čelist: zubní zárodek ve stadiu pupenu (*bud*)

obr. 3 (4x zvětšeno) a **obr. 4** (10x zvětšeno) **73. den**; dolní čelist: zubní zárodek ve stádiu pohárku (*cap*)

obr. 5 (4x zvětšeno) a **obr. 6** (10x zvětšeno) **73. den**; horní čelist: zubní zárodek ve stádiu pozdního pohárku (*late cap*)

obr. 7 (4x zvětšeno) a **obr. 8** (10x zvětšeno) **130. den**; dolní čelist: zubní zárodek v přechodu mezi stádii pohárku (*cap*) a zvonu (*bell*)

obr. 9 (4x zvětšeno) a **obr. 10** (10x zvětšeno) **81. den**; dolní čelist: zubní zárodek ve stádiu raného zvonu (*early bell*)

obr. 11 (4x zvětšeno) a **obr. 12** (10x zvětšeno) **88. den**; dolní čelist: zubní zárodek ve stádiu pozdního zvonu (*late bell*)

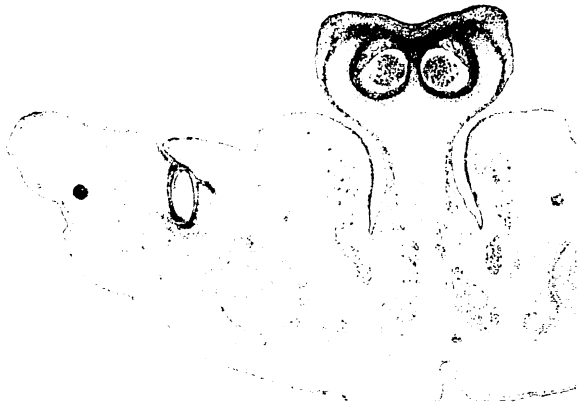
obr. 13 (4x zvětšeno) a **obr. 14** (10x zvětšeno) **88. den**; dolní čelist: zubní zárodek ve stádiu pozdní mineralizace

obr. 15 (2x zvětšeno) horní čelist a **obr. 16** (4x zvětšeno) dolní čelist **130. den**: kompletní zuby pleurodontně přisedlé a připravené k prořezání

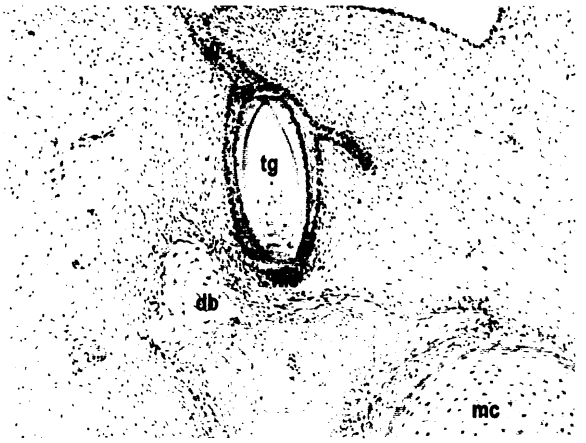
Příloha 6

Přisedání ke kosti a pleurodontní ankylóza

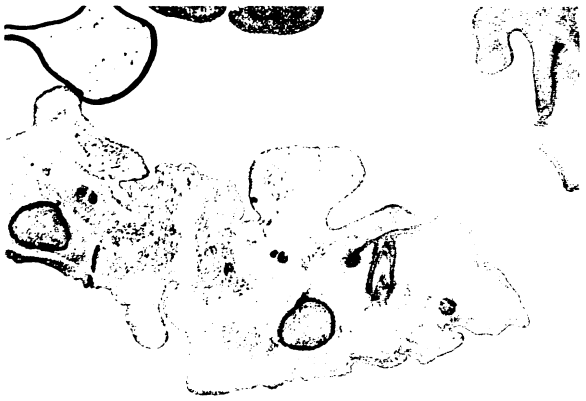
6. Přisedání ke kosti a pleurodontní ankylóza



Obr. 1

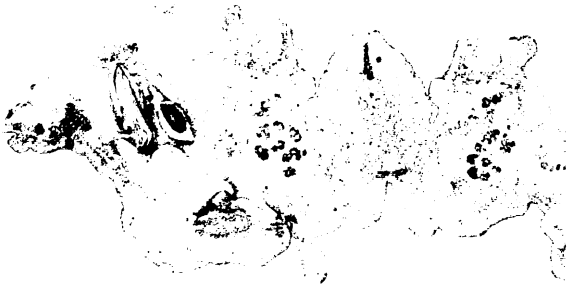


Obr. 2

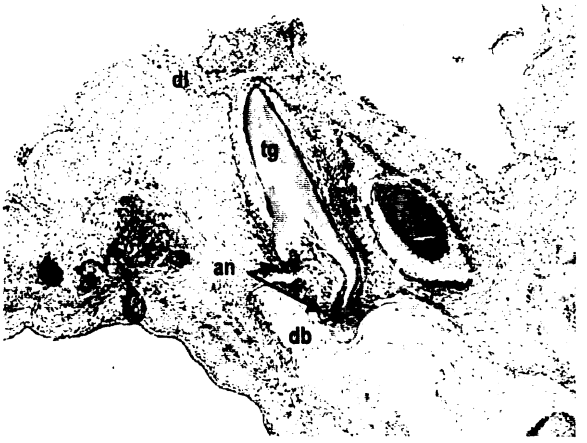


Obr. 3

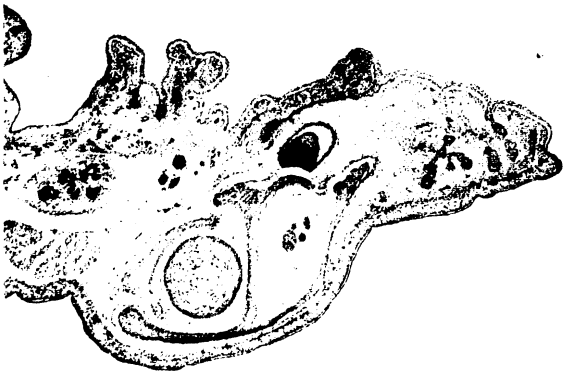
Obr. 4



Obr. 5



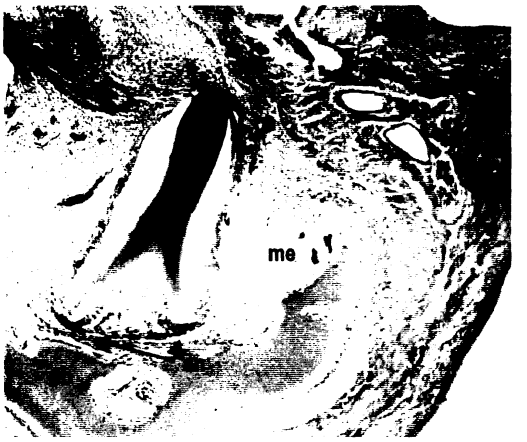
Obr. 6



Obr. 7

Obr. 8

Obr. 9



Obr. 10

Obr. 11

Obr. 12

obr. 1 (4x zvětšeno) a **obr. 2** (10x zvětšeno) **63. den**; dolní čelist: první viditelné přibližování ke kosti

obr. 3 (4x zvětšeno) a **obr. 4** (10x zvětšeno) **73. den**; dolní čelist: menší vzdálenost mezi zubním zárodkem a kostí než u předchozího

obr. 5 (4x zvětšeno) a **obr. 6** (10x zvětšeno) **95. den**; dolní čelist: zubní zárodek se připravuje na přichycení ke kosti, asymetrické krčkové záhyby (*loops*) a patrný počátek pleurodontie

obr. 7 (4x zvětšeno) a **obr. 8** (10x zvětšeno) **103. den**; dolní čelist: zubní zárodek ve stádiu pozdního zvonu (*late bell*) se přibližuje na vnitřní stranu kosti

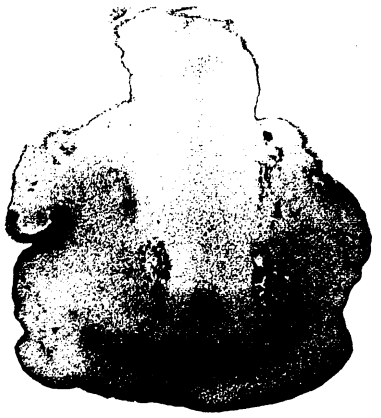
obr. 9 (4x zvětšeno) a **obr. 10** (10x zvětšeno) **130. den**; dolní čelist: zub s mohutnou vrstvou skloviny přisedávající směrem ke straně kosti

obr. 11 (4x zvětšeno) a **obr. 12** (10x zvětšeno) **161. den**; dolní čelist: pleurodontně přisedlé zuby připravené k prořínutí

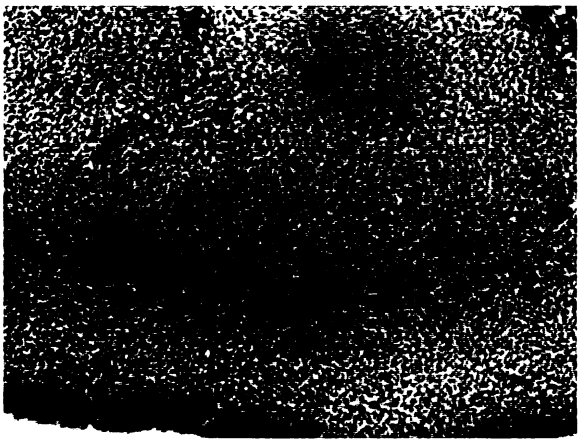
Příloha 7

Vaječný zub

7. Vaječný zub

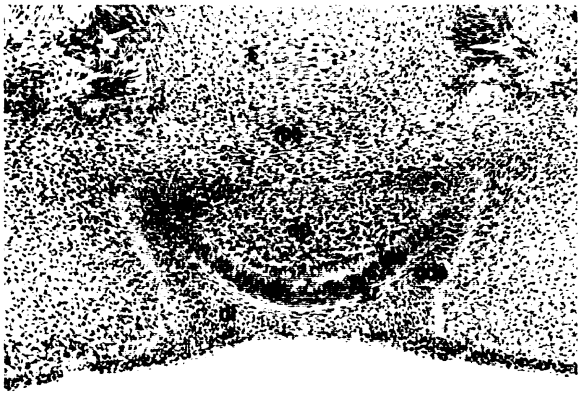


Obr. 1



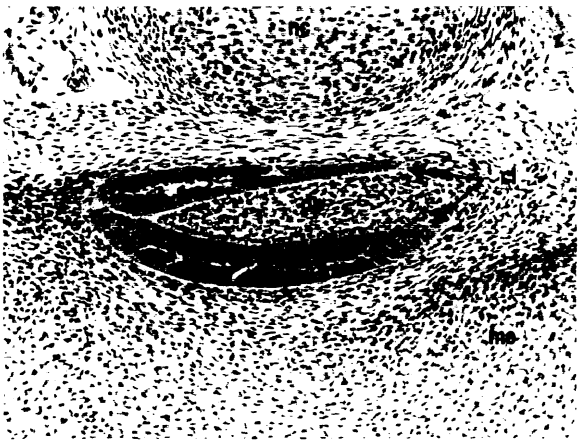
Obr. 2

Obr. 3

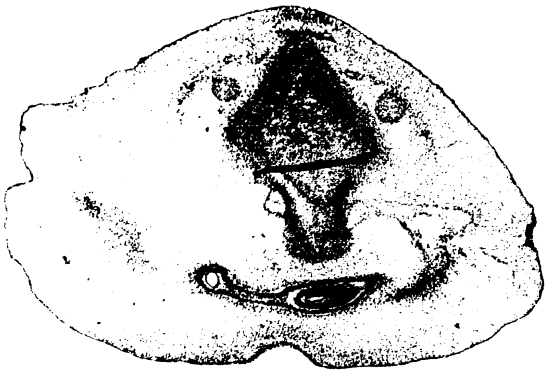


Obr. 4

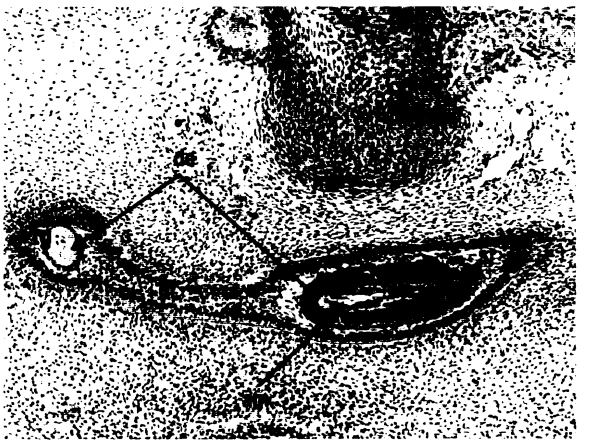
Obr. 5



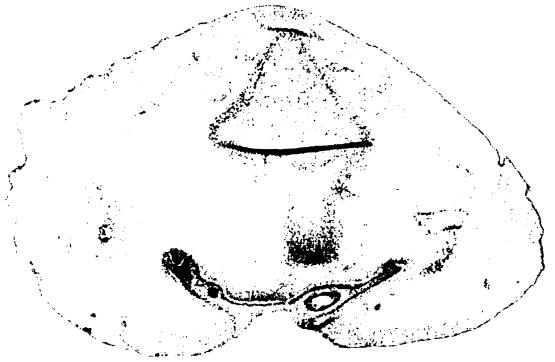
Obr.6



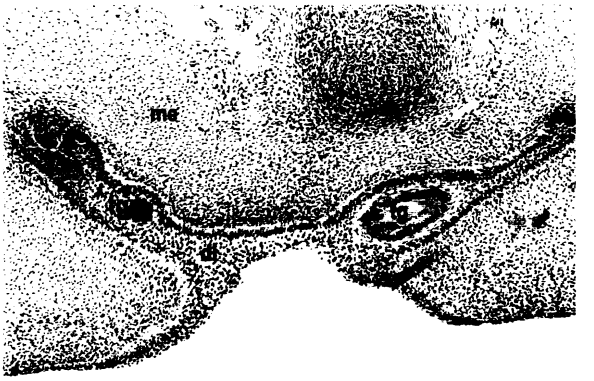
Obr. 7



Obr. 8

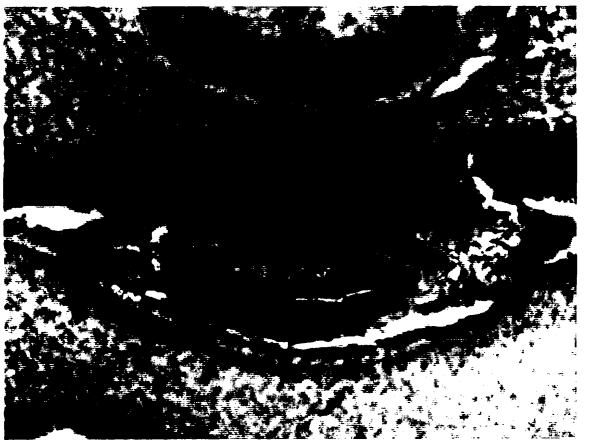


Obr. 9



Obr. 10

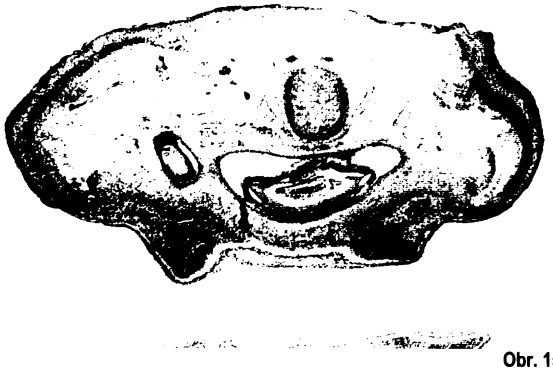
Obr. 11



Obr. 12

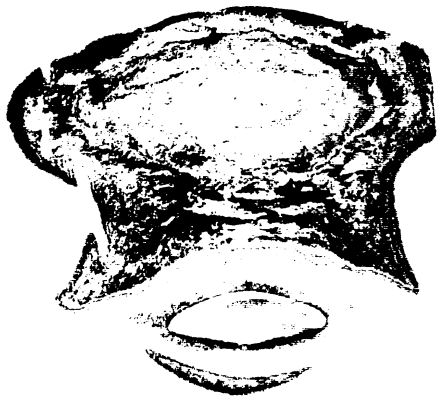
Obr. 13

Obr. 14

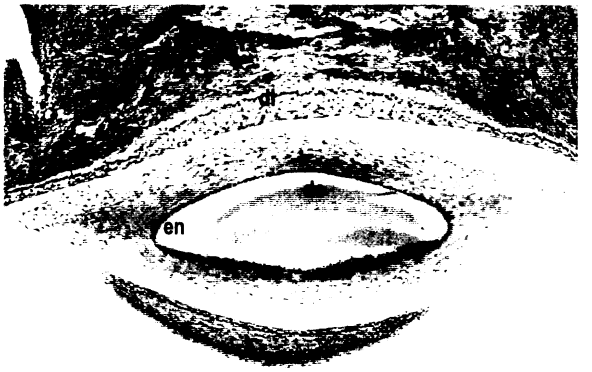


Obr. 15

Obr. 16



Obr. 17



Obr. 18

obr. 1 (4x zvětšeno) a **obr. 2** (10x zvětšeno) **48. den**; horní čelist: kondenzace v mezenchymu, vaječný zub není přítomen

obr. 3 (4x zvětšeno) a **obr. 4** (10x zvětšeno) **56. den**; horní čelist: vaječný zub ve stádiu pohárku (*cap*) spojen se zubní lištou

obr. 5 (4x zvětšeno) a **obr. 6** (10x zvětšeno) **63. den**; horní čelist: bazální část vaječného zubu nejblíže povrchu

obr. 7 (4x zvětšeno) a **obr. 8** (10x zvětšeno) **63. den**; horní čelist: střední část vaječného zubu následující po předchozím (2 zárodky)

obr. 9 (4x zvětšeno) a **obr. 10** (10x zvětšeno) **63. den**; horní čelist: špička vaječného zubu nejdistálněji uložená (2 zárodky)

obr. 11 (4x zvětšeno) a **obr. 12** (10x zvětšeno) **73. den**; horní čelist: vaječný zub ve stádiu mineralizace (2 zárodky)

obr. 13 (4x zvětšeno) a **obr. 14** (10x zvětšeno) **88. den**; horní čelist: vaječný zub ve stádiu pozdní mineralizace

obr. 15 (4x zvětšeno) a **obr. 16** (10x zvětšeno) **103. den**; horní čelist: vaječný zub mohutné velikosti a větší než u předchozích dvou stádií, pozdní mineralizace

obr. 17 (4x zvětšeno) a **obr. 18** (10x zvětšeno) **130. den**; horní čelist: vaječný zub otočen již špičkou ven