Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Teoretická a evoluční biologie

Bc. Lenka Čtrnáctová

Postnatální ontogeneze lebky želvy nádherné *(Trachemys scripta)*
Postnatal Ontogenesis of the Skull of the Pond Slider Turtle *(Trachemys scripta)*

Typ závěrečné práce: Diplomová práce

Vedoucí práce: Mgr. Jindřich Brejcha

Praha, 2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne

Podpis:

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat především svému školiteli Mgr. Jindřichu Brejchovi za jeho neutuchající podporu a odborný vhled do problematiky, doc. Karlu Kleisnerovi za odbornou konzultaci práce, panu Karlu Kadeřábkovi za odborné vedení preparace želvích lebek a všem zaměstnancům Zoologického oddělení Národního Muzea, kteří mi umožnili pracovat v depozitářích. Velké poděkování patří také všem, kteří se účastnili projektu LIFE-Trachemys (LIFE09 NAT/ES000529), díky kterému jsem měla dostatek materiálu pro tuto práci. Nakonec bych chtěla poděkovat své rodině a blízkým, jejichž podpora a důvěra mě dovedly až sem. Tuto práci bych chtěla věnovat *in memoriam* svému otci, RNDr. Pavlu Čtrnáctovi.

Abstrakt

Tato práce se zaměřuje na deskriptivní analýzu morfologie lebky želvy nádherné *(Trachemys scripta elegans)*. Základem je preparace lebek a standardizovaná fotografická dokumentace většího souboru vzorků. Takto připravená data následně prošla geometricko-morfometrickými analýzami. Vstupní hypotézy práce byly: 1) lebka *T. s. elegans* je pohlavně dimorfní; 2) lebka *T. s. elegans.* je tvořena několika samostatnými moduly. Cílem této práce tedy bylo zhodnotit postnatální ontogenezi lebky modelového taxonu a určit vývojové směry diferenciace jeho lebečních struktur. Výsledky ukázaly, že lebka *T. s. elegans* vykazuje pohlavní dimorfismus ve tvaru. Pohlavní rozdíly jsou výsledkem rozdílů v alometriích růstu lebky a pravděpodobně odrážejí rozdíly v potravních nárocích. Lebka *T. s. elegans* sestává ze čtyř modulů, kterými jsou: modul obličejové části, modul centrální a modul basikraniální, s možným dalším modulem v zygomaticko-pterygoidní oblasti.

Summary

This thesis focuses on the descriptive analysis of skull morphology of the pond slider turtle *(Trachemys scripta elegans).* The general approach was an osteological preparation of the skulls and photographic documentation (following standardised procedures) of a larger sample of specimens. The collected data was used as a background for subsequent GMM analyses. Main hypotheses of this project were: 1) the skull of *T. s. elegans* is sexually dimorphic; 2) the skull of *T. s. elegans* constitutes of several independent modules. The objective of this thesis was therefore to describe the postnatal ontogenesis of the model taxon and to determine the developmental trends of its cranial structures. It was shown that the skull of *T. s. elegans* is sexually dimorphic in shape mainly due to differences in allometric growth. These differences probably reflect different nutritional requirements. The skull of *T. s. elegans* is formed out of four modules. These are: facial, central, basicranial, and possibly also zygomatic-pterygoideal modules.

Klíčová slova

lebka, želvy, Testudines, morfologie, morfometrika, ontogeneze

Key words

skull, turtles, Testudines, morphology, morphometrics, ontogenesis

Obsah

1. Úvod 1

Želva nádherná – Trachemys scripta elegans 2

Lebka 4

Pohlavní dimorfismus a změny morfologie s růstem 8

Modularita a integrace 11

2. Hypotézy a cíle 13

Pohlavní dimorfismus lebky Trachemys scripta elegans 13

Modularita lebky Trachemys scripta elegans 13

3. Metodika 13

Původ a preparace materiálu 13

Fotografické zpracování 16

Geometrická morfometrika 17

Digitalizace morfologických struktur 17

Preanalytické metody 25

Pohlavní dimorfismus 25

Modularita 26

4. Výsledky 28

Preparace materiálu 28

Pohlavní dimorfismus 28

Modularita a integrace 36

5. Diskuse 50

6. Závěr 56

7. Citovaná literatura 57

1. Úvod

Tato diplomová práce se zaměřila na morfologii lebky želvy nádherné *(Trachemys scripta elegans,* Wied, 1838*)* s důrazem na pohlavní dimorfismus a modularitu, tedy na rozdíly mezi pohlavími a případnou vývojovou sjednocenost nebo naopak oddělenost určitých částí lebky.

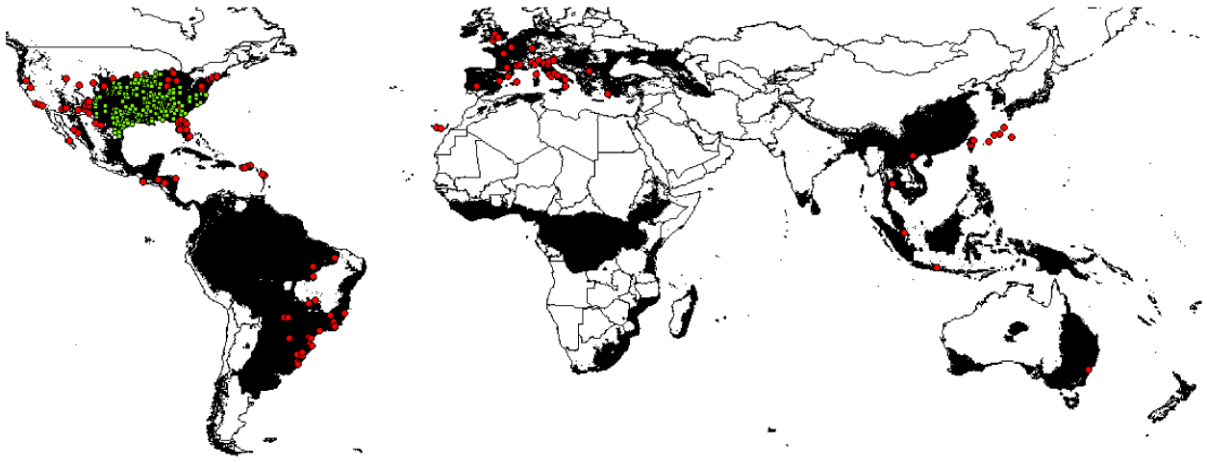
Lebka *T. s. elegans* nebyla dosud tímto způsobem popsána a analyzována, podobně se ovšem želvími lebkami zabýval například Bever (2009a, 2009b), který prováděl výzkum na řádově desítkách jedinců jednoho druhu, zatímco v této práci bylo k dispozici přes dvě stě jedinců. O postnatální ontogenezi lebky želv a plazů obecně zatím mnoho publikováno nebylo, ačkoliv právě dospělci se používají pro fylogenetické analýzy a jsou nejčastěji nacházeni ve fosilním záznamu (Bever, 2009a). Bez základních dat tedy nemůžeme vědět, zda například nalezený fosilní jedinec zastupuje průměrnou morfologii daného druhu nebo se v něčem výrazně odlišuje, a zároveň nám studium modularity umožňuje poodhalit proces evolučního vzniku nových morfologických struktur. Sběr morfologických dat o lebce této želvy je důležitý i pro srovnávací studie mezi amnioty obecně a mezi plazy zvláště. Lebka *T. s. elegans* je pro tyto studie obzvláště vhodná, protože želví lebky jsou v celém řádu značně konzervativní, co se týče počtu a umístění jednotlivých kostí (Claude et al., 2004). Již publikované práce týkající se modularity se problematikou plazů také zabývají jen okrajově, i když studium lebky obecně naopak patří k nejčastějším (Esteve-Altava, 2016).

Lebka jako anatomická struktura je pro obratlovce značně důležitá. Vajíčka obratlovců jsou kulatá s radiální symetrií, ale jejich dospělá těla jsou symetrická bilaterálně se třemi osami souměrnosti – dorsoventrální, anterioposteriorní a pravo-levou (Elinson & Kao, 1993). Už v počátcích embryonálního vývoje je hlavním elementem určujícím rozrušení radiální symetrie embrya na tyto tři osy právě lebka, neboť reprezentuje nejpřednější konec anterioposteriorní osy a zároveň nejdorsálnější konec dorsoventrální osy (Elinson & Kao, 1993). Tvar lebky je do značné míry řízen jejími funkcemi – mechanický tah a tlak působený žvýkacími svaly ovlivňuje obě čelisti a místa úponů těchto svalů (Herring, 1993) a velikost mozku, očí a ušních a nosních otvorů určuje tvar obličejové části lebky a mozkovny (Thorogood, 1988; Herring, 1993; Cheverud, 1996). Již z této jednoduché logiky je patrná možnost, že se různé části lebky vyvíjejí různě a nezávisle na sobě, což vedlo Olsona a Millera na konci 50. let minulého století k napsání stěžejního díla *Morphological Integration* (1958), od kterého se odvíjel další výzkum této problematiky. Zároveň je lebka důležitým sémantickým

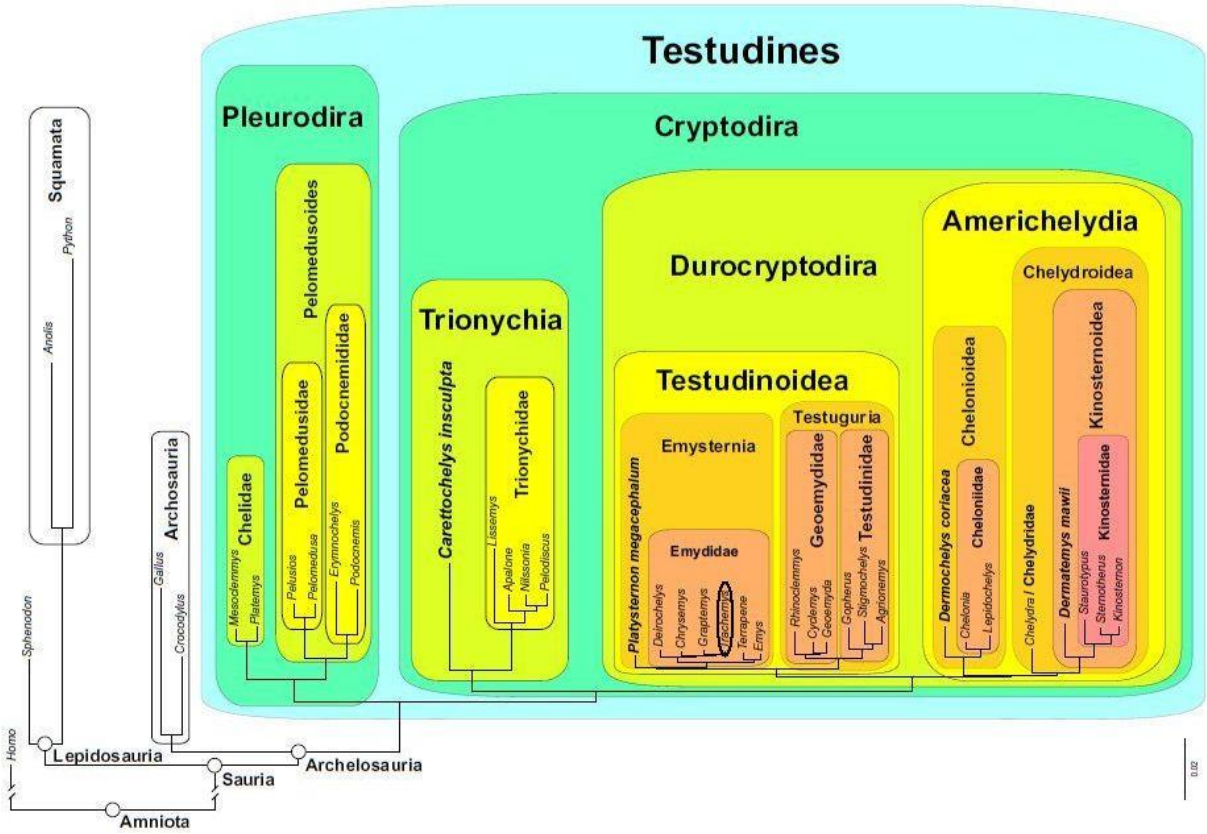
orgánem, který na sobě často nese pohlavně dimorfní znaky, jako jsou například struktury sloužící k boji nebo okrase (rohy, hřebeny, kly apod. [Schilling & Thorogood, 2000]). Tyto struktury jsou viditelné na první pohled, ale u zvířat, která je nemají, se mohou na lebce objevit i subtilnější rozdíly, jejichž nalezení bylo jedním z cílů této práce.

Želva nádherná – *Trachemys scripta elegans*

Trachemys scripta elegans je sladkovodní želva původem ze Severní Ameriky z oblasti od Mexického zálivu až po Velká jezera na hranici mezi USA a Kanadou, ale jako populární domácí zvíře se však rozšířila na všechny světové kontinenty kromě Antarktidy (mapa současného i původního rozšíření viz Obr. 1). Taxonomicky patří do řádu Testudines (používá se také název Chelonia), podřádu Cryptodira, nadčeledi Testudinoidea a čeledi Emydidae (Stephens & Wiens, 2003; Krenz et al., 2005; Crawford et al. 2015; grafické znázornění viz Obr. 2). Řád Testudines je sesterským taxonem nadřádu Archosauria (Crawford et al., 2012; Fong et al., 2012; Field et al., 2014; Wang et al., 2014), od kterého se oddělil zhruba před 257 miliony let (Wang et al., 2014) a se kterým tvoří dohromady taxon Archelosauria (Craford et al., 2015). Želvy se tak řadí mezi Diapsida, tedy živočichy se dvěma spánkovými jámami, i když se u nich v průběhu evoluce obě tyto jámy druhotně uzavřely (Fong et al., 2012; Field et al., 2014; Wang et al., 2014). Čas oddělení Archosauria a želv odpovídá velkému permskému vymírání, při kterém vyhynuly hlavně mořské druhy, a které možná umožnilo rozmach vodních plazů (Wang et al., 2014).



Obr. 1: Současné rozšíření *Trachemys scripta elegans.* Zelená kolečka představují původní areál, červená pak místa, kde se invazní *T. s. elegans* úspěšně množí. Černá pole reprezentují oblasti, které jsou pro tento druh vhodné k životu **(Rödder et al. 2009)**.



Obr. 2: Fylogenetický strom řádu Testudines. Pozice rodu *Trachemys* je zvýrazněna černým oválem **(Crawford et al. 2015).**

Nadčeleď Testudinoidea se objevila už ve spodním eocénu před zhruba 55 miliony lety (první želvy jsou ve fosilním záznamu kolem doby před 215 miliony lety) a zahrnuje více než polovinu v současnosti žijících druhů želv (Claude et al., 2004). Čeleď Emydidae zahrnuje téměř 50 druhů v 10 rodech, přičemž rod *Trachemys* má 16 druhů (Rhodin et al., 2010).

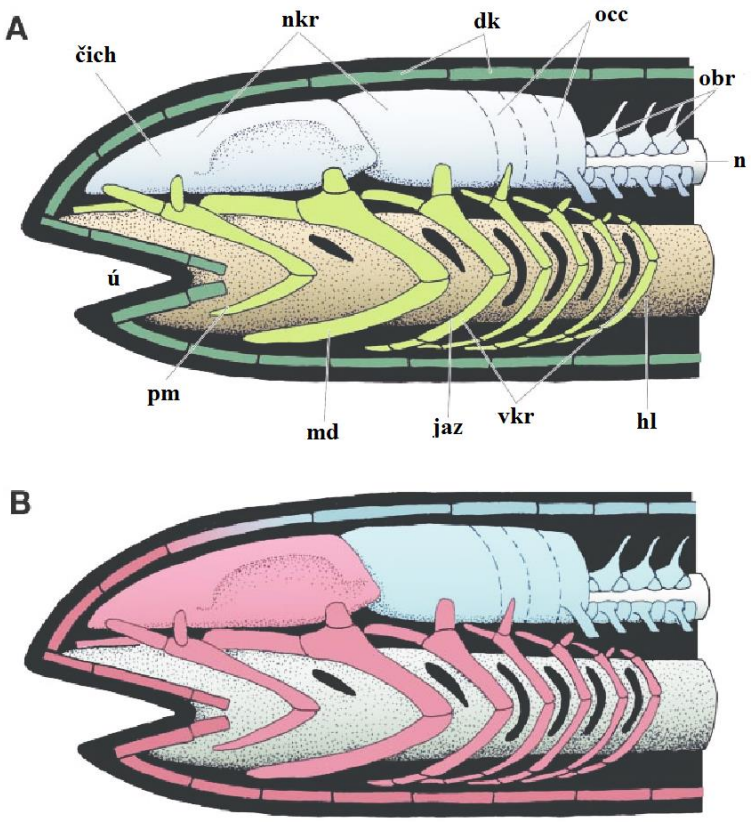
T. s. elegans je oportunistický sladkovodní všežravec a složení její potravy se mění se stářím a velikostí jedince – mláďata se živí převážně drobnými bezobratlými a dospělci přecházejí na rostlinnou stravu, pokud nenajdou snadno dostupné maso, například v podobě uhynulých ryb (Clark & Gibbons, 1969; Parmenter, 1980; Hart, 1983; Dreslik, 1999); to je možná částečně odpovědné za velikostní pohlavní dimorfismus (viz níže). Ve složení potravy samic nalezneme více měkkýšů a mechovců, kteří pravděpodobně pokrývají jejich větší nároky na vápník pro vytváření skořápek vajíček (Dreslik, 1999). Starší a větší želvy si na rozdíl od mláďat troufnou i do hlubších vod, ale všichni jedinci vylézají alespoň jednou denně z vody, aby se slunili (Cagle, 1950; Hart, 1983).

Tato želva je schopna aktivního pohybu při teplotách zhruba 10 až 37 °C (ve svém původním habitatu je tedy aktivní od dubna do října) a při krátkodobém exponování vyšším nebo nižším teplotám (i po částečném zamrznutí) se rychle zotaví (Cagle, 1946). Jakmile teplota vody klesne pod 10 °C, želvy přestanou být aktivní a zůstávají buď ve vodě, nebo na břehu poblíž hladiny (například v ondatřích norách nebo dutých pařezech, Cagle, 1950).

Samice kladou kolem sedmi až jedenácti vajíček (Cagle, 1950; Perez-Santigosa et al., 2008) zhruba stejného průměru nezávisle na jejich tělesné velikosti nebo průměru pánevního otvoru (Congdon & Gibbons, 1987), a to od dubna do července (Cagle, 1946; Cagle, 1950; Perez-Santigosa et al., 2008). Pohlaví mláďat, která se líhnou od konce srpna do začátku září (Cagle, 1946), je určeno teplotně – do zhruba 27 °C inkubační teploty se rodí samci, při vyšších teplotách pak samice (Ewert & Nelson, 1991). Mláďata zpravidla opouštějí hnízdo až další rok na jaře (Cagle, 1946).

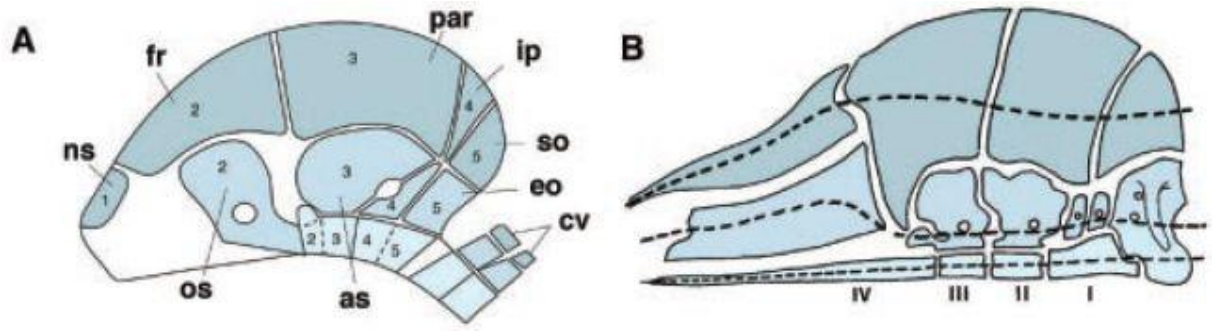
Lebka

To, čemu říkáme lebka, je ve skutečnosti soubor několika oblastí, které mají různé funkce od ochrany mozku a smyslových orgánů přes příjem potravy (ulovení, požití a rozžvýkání) až po dýchání a které jsou také podkladem pro tvar obličeje a další sociálně významné struktury, jako jsou například parohy u jelenů (Schilling & Thorogood, 2000). Lebka obratlovců se dělí na neurokranium, které tvoří bázi lebky a obaluje smyslové orgány, viscerokranium (nebo také splanchnokranium), které podporuje hltan a tvoří i obličejovou část a čelisti, a dermatokranium neboli kapsuli obalující mozek (Schilling & Thorogood, 2000; Kuratani, 2005), přičemž neurokranium a viscerokranium jsou částmi endoskeletu, které jsou kryté vnějším dermatokraniem (Hirasawa & Kuratani, 2015), viz také Obr. 3. Vyvíjející se mozek a chondrokranium (chrupavčité vnitřní elementy lebky [Depew & Simpson, 2006]) v embryonálním stadiu určují budoucí tvar lebky (Thorogood, 1988). Pokud mezi těmito částmi dojde k nějakým patologickým vývojovým změnám, které způsobí jejich rozdělení, následuje často zásadní dopad na morfologii celé lebky (Cheverud, 1996).



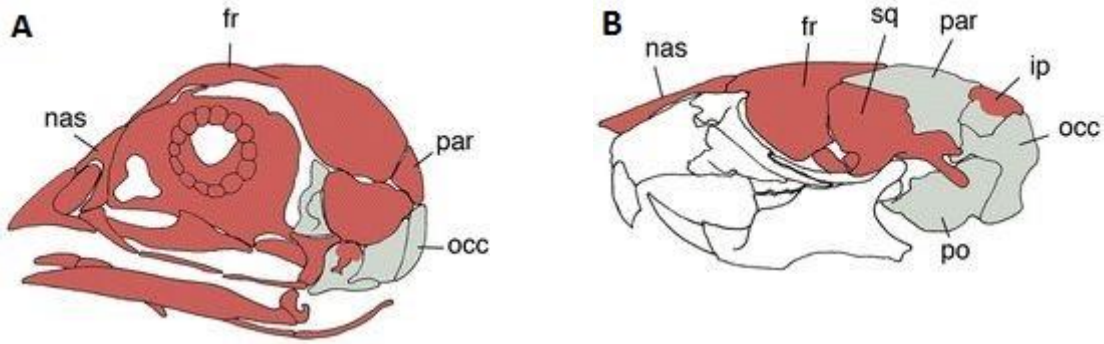
Obr. 3: Schéma ontogenetického původu různých částí lebky obratlovců. A) Světle modrá – chrupavčité neurokranium, světle zelená – viscerokranium, tmavě zelená – dermatokranium. B) Červená – části lebky odvozené od buněk neurální lišty, modrá – části lebky odvozené od mesodermálních buněk. Legenda: dk, dermatokranium; čich, čichová oblast neurokrania; hl, hltan; jaz, jazylkový oblouk; md, mandibulární oblouk; n, notochord; nkr, neurokranium; obr, obratle; occ, *os occipitale*; pma, premandibulární oblouk; ú, ústa; vkr, viscerokranium **(podle Kuratani, 2005).**

Již na počátku 19. století postulovali Oken (1807 in Kuratani 2005) a Goethe (1820 in Kuratani 2005) tzv. obratlovou hypotézu vzniku lebky, tedy že je lebka tvořena z několika transformovaných obratlů, viz Obr. 4, a od té doby teorie o segmentaci ostatních částí lebky vznikaly a vznikají už přes 200 let, přičemž segmentace je zřejmá pouze u viscerokrania, které vzniká ze žaberních oblouků (Kuratani, 2005). Koncem 20. století bylo toto téma znovu vyzdviženo při objevu tzv. somitomer, což byly dvouvrstvé kruhové útvary z koncentricky uspořádaných mesodermálních buněk, které vznikaly v primitivním proužku zárodku poblíž Hensenova uzlu (Meier & Packard, 1984). Během dalšího embryologického výzkumu se ale ukázalo, že hlavový mesoderm není kompletně segmentován (Couly et al., 1993; Kuratani et al., 1999; Kuratani, 2005), a představa somitomer se tak stala kontroverzní.



Obr. 4: „Obratlové“ hypotézy segmentace lebky. A) Teorie podle Goetheho, ve které je lebka složená z pěti obratlů. B) Teorie podle Okena, ve které se lebka skládá ze čtyř segmentů. Legenda: as, *os alisphenoidale;* cv, krční obratle; eo, *os exoccipitale;* fr, *os frontale;* ip, *os interparietale;* ns, *os nasale;* os, *os orbitosphenoidale;* par, *os parietale;* so, *os supraoccipitale* **(Kuratani, 2005).**

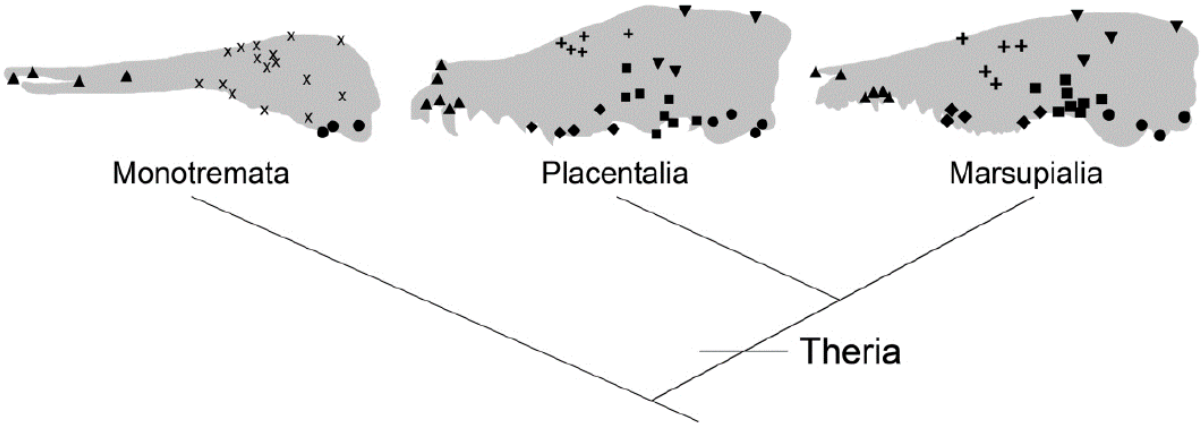
Embryonálním původem jednotlivých kostí lebky se pomocí experimentů na chimérách křepelek a kuřat zabýval Couly se svým kolektivem (1993) a zjistil, že okcipitální část lebky a část sluchové komory jsou somitického původu (tedy jedná se o přeměněné obratle zformované z prvních čtyř a přední části pátého somitu), obličejová část a lebeční klenba mají své kořeny u buněk neurální lišty a zbytek lebky, tedy *os supraoccipitale, os sphenoidale* a druhá část sluchové komory, pocházejí z hlavových mesodermálních buněk (Couly et al., 1993; viz také Couly et al. 2002 a Obr. 5), přičemž somity jsou párové oblasti mesodermu, které se formují podél předozadní osy vyvíjejícího se embrya u segmentovaných živočichů (Larsen, 2001). Tento trojí původ různých částí lebky napovídá možnému rozdělení lebky na minimálně tři vývojové moduly.



Obr. 5: Embryonální původ lebeční klenby. A) kuřecí lebka; B) myší lebka. Červená reprezentuje kosti odvozené od buněk neurální lišty, šedá kosti neodvozené od buněk neurální lišty. Kosti označené bíle nemají zatím přiřazený původ. Legenda: fr, *os frontale;* ip, *os interparietale;* nas, *os nasale;* occ, *os occipitale;* par, *os parietale;* po, *os perioticum;* sq, *os squamosum* **(podle Hirasawa & Kuratani, 2015).**

Části lebky, které se vyvíjejí zároveň a mají podobnou funkci a evoluční minulost, jsou úzce integrovány, a proto můžeme na lebce *T. s. elegans* nalézt moduly právě z těchto částí (Klingenberg, 2013). Lebka je stejně jako ostatní časti těla značně ovlivňována epigeneticky – pohybem, skusem, tahy a tlaky, hormony, růstovými faktory, teplotou a gravitací, které na ni působí (Herring, 1993; Cheverud, 1996). Všechny části lebky se navzájem ovlivňují, což dokládá například fakt, že lidské kultury praktikující bandážování lebky fyzicky upravují pouze tvar lebeční klenby, ale ve výsledku má jiný tvar i obličej a spodina lebeční (Cheverud, 1996).

Goswami na lebce živorodých savců (Theria), kteří jsou nejzkoumanějším subjektem pro studium modularity (Esteve-Altava, 2016), identifikovala šest základních modulů: přední orálně-nasální a molární modul dávají dohromady primární žvýkací aparát lebky, na zygomaticko-pterygoidní modul se upíná čelistní svalovina a je pod největší zátěží, v orbitě se nacházejí oči, lebeční klenba chrání mozek a spodina lební (basikranium) spojuje osovou kostru s lebkou a zároveň podpírá mozkovnu (Goswami, 2006). Z toho přední orálně-nasální, molární a basikraniální moduly jsou zároveň funkčními i vývojovými moduly (mají podobný průběh osifikace) a jsou spolu nejvíce prokorelované (Goswami, 2006). Výsledky Goswamiiny práce jsou na Obr. 6. Cheverud dělí lebku na neurokranium a obličejovou část a u těch dále uvádí tři moduly odpovídající neurokraniálním osifikačním centrům, a to frontální, parietální a okcipitální, a čtyři moduly v obličejové části: orbitální, nasální, orální a žvýkací (Cheverud, 1982). Bever při studiu lebky rozděluje její kosti podle vývoje (viz výše) a podle topologie/funkce na dermální zastřešení (dermal roofing), horní patro, palatoquadratum, mozkovnu a spodní čelist (Bever, 2009a). V této práci byly využity všechny výše uvedené hypotézy modularity (tedy podle Cheveruda, Bevera i Goswami) upravené pro lebku *T. s. elegans*, viz Hypotézy a cíle, a zabývá se také postnatálními ontogenetickými změnami na lebce *T. s. elegans*, které jsou dále popsány ve Výsledcích.



Obr. 6: Moduly na lebkách savců. Obrys lebky ptakořitného živočicha, *Ornithorhynchus anatinus* (ptakopyska podivného), placentála, *Vulpes vulpes* (lišky obecné) a vačnatce, *Isoodon obesulus* (bandikuta krátkonosého). Symboly reprezentují landmarky a jejich spojení s moduly: trojúhelníky, přední orálně-nasální; kosočtverce, molární; plus, orbitální; čtverce, zygomaticko-pterygoidní; obrácené trojúhelníky, klenbový; kolečka, basikraniální; a křížky, žádný **(Goswami, 2006)**. Je zde vidět značný evoluční posun v lebečních modulech mezi ptakořitnými a živorodými savci.

Pohlavní dimorfismus a změny morfologie s růstem

Pohlavní dimorfismus je jev, při kterém se liší průměrná morfologie samců a samic (Mitteroecker et al., 2015). Vznik a udržení pohlavního dimorfismu se tradičně vysvětluje pomocí pohlavního výběru, který jako termín ustanovil už Charles Darwin ve svém Původu druhů (Darwin, 2003, pův. 1859), ale dnešní představa se od té Darwinovy (tedy, že pohlavní výběr probíhá čistě na základě estetického vnímání živočichů) poněkud liší, a přiklání se spíše k Wallaceově pragmatičtějšímu konceptu „krásy“ jako indikátoru zdraví a vitality (Prum, 2012). Podle Slatkina (1984) je jisté, že pohlavní výběr dokáže vysvětlit původ a udržení pohlavního dimorfismu obecně a pro některé případy je to jediné vysvětlení, ale i ekologické interakce nám mohou leccos napovědět. V posledních letech se nejvíce diskutují tři hypotézy: k pohlavnímu dimorfismu mohou vést znaky, které dávají výhodu buď při soutěži o partnera, nebo při výběru partnera, může se také vyvinout z kompetice o potravu mezi pohlavími anebo z rozdílů mezi reprodukčními rolemi obou pohlaví s tím, že jeden faktor může být příčinou vzniku dimorfismu a jiný ho může v populaci udržovat (Hedrick & Temeles, 1989).

Samice želvy nádherné dorůstají větší tělesné velikosti než samci (v rámci jedné populace) – tomuto typu pohlavního dimorfismu se říká velikostní pohlavní dimorfismus (sexual size dimorphism – SSD; Gibbons & Lovich, 1990). Podle tzv. Renschova pravidla bývají větší samice u druhů dorůstajících celkově menších velikostí a u větších tomu bývá naopak (Rensch, 1950; 1960), přičemž u želv je větší velikost samic původním znakem, který později v každé polytypické linii alespoň jednou vymizel a například u čeledi Emydidae se opět vrátil zpět (Ceballos et al., 2012).

Existují dva odlišné názory na vznik SSD (Slatkin, 1984; Lovich & Gibbons, 1992): 1) SSD není přímo vztažené k prostředí a souvisí výhradně s pohlavním výběrem (interakcí mezi pohlavími), 2) SSD je výsledkem ekologických sil nebo přírodního výběru. Rozdíly v ekologii pohlaví by například mohly SSD udržovat, ale jeho vznik by mohl mít na svědomí pohlavní výběr (Slatkin, 1984). Slatkin (1984) ve své studii položil teoretické základy vzniku SSD z čistě ekologických příčin, kterých postuloval tři typy: 1) odlišné selekční tlaky na samce a samice, 2) dvě nebo více optim pro obě pohlaví a 3) kompetice o zdroje mezi pohlavími.

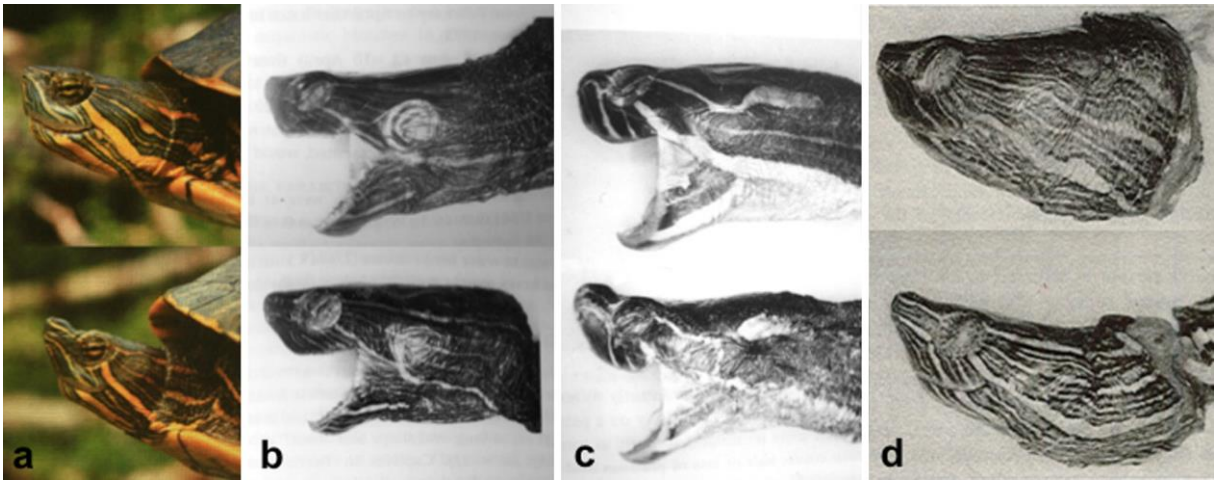
Podle Berryho a Shinea (1980) směr a síla SSD závisí na pářící strategii samce. U druhů se souboji samců nebo násilnou inseminací by měli být samci stejní nebo větší než samice; na druhou stranu u druhů, kde rozhoduje volba samic, by přírodní výběr preferoval menší (a tím pádem pohyblivější) samce (Berry & Shine, 1980). Míra SSD u želv čeledi Emydidae závisí také na frekvenci snášení vajec – čím více snůšek za rok, tím větší jsou samice v poměru k samcům (Forsman & Shine, 1995), a může odkazovat i na ekologické rozdíly mezi pohlavími (Slatkin, 1984; Lovich & Gibbons, 1992).

U *T. scripta* je pohlavně dimorfních ještě několik dalších znaků kromě velikosti, a to prekloakální oblast, která se u samců v dospělosti značně prodlužuje, stejně jako drápy na předních končetinách a čenich, přičemž dlouhé drápy samci využívají k námluvám a jsou charakteristické hlavně pro poddruhy žijící na východě Severní Ameriky (včetně *T. s. elegans),* zatímco tropické formy *T. scripta* mají spíše prodloužené čenichy (Gibbons & Lovich, 1990). Dalším dimorfním znakem je vyšší hmotnost některých částí mozku samců oproti srovnatelně velkým samicím a melanismus samců u některých populací (Gibbons & Lovich, 1990). *T. s. elegans* je pro zkoumání pohlavního dimorfismu ideální, protože dva jedinci mohou být teoreticky geneticky identičtí, a přesto mít různé pohlaví, protože to je určeno teplotně (viz výše), takže odlišnosti v tělesné velikosti i dalších znacích by měly být dány rozdíly ve fyziologii nebo prostředí (Gibbons & Lovich, 1990).

U želvy texaské *(Pseudemys texana*, Emydidae) dochází během ontogeneze k mnoha změnám, z nichž je pro celou čeleď důležitý například vznik zářezu a nasálního výběžku na premaxille, osifikace sekundárního patra a vývoj *crista supraoccipitalis* z oblé na lineární (Bever, 2009b). Co se týče celkového růstu, želva ozdobná *(Chrysemys picta bellii)* jako další zástupce čeledi Emydidae zvětšuje svou velikost o 73 % během druhého roku života, o 31 % během třetího a o 25 % během čtvrtého – poté už je růst zpomalen na pouhých 3-5 % za rok (Pearse, 1923). Další studie ukázaly, že růst želv v této čeledi obecně i u *T. s. elegans* zvláště značně závisí na konkrétní populaci a lokálních podmínkách, a i věk a velikost dosažení

dospělosti jsou ovlivňovány mnohými faktory (Cagle, 1946, Gibbons et al. 1981). Pokud je v dané situaci například výhodné pro samice *T. s. elegans* dosáhnout větší velikosti, aby mohly snášet více vajíček, můžeme očekávat odložení dospělosti; pro samce větší velikost při rozmnožování žádný smysl nemá, a proto dosahují v optimálních podmínkách dospělosti v mladším věku a energii, kterou by jinak vložili do růstu, investují například do aktivního hledání a dvoření se samicím (Gibbons et al., 1981).

Tato práce se zabývá mimo jiné pohlavním dimorfismem lebky, u které sice byly pozorovány v rámci čeledi Emydidae různé dimorfní znaky, ale studií na toto téma není mnoho (Moldowan et al., 2016a). Například u některých druhů rodu *Trachemys* žijících v tropech Nového světa je čenich samců často ostře řezaný a směřuje vzhůru, zatímco u samic je rovný, u některých zase lebky starých a velkých samců podstupují dramatickou změnu tvaru – zesílení prefrontálních kostí a zvětšení premaxil a maxil, které způsobí jakousi „bouli“ na čenichu, viz Obr. 7 (Moldowan et al., 2016a).



Obr. 7: Pohlavní dimorfismus hlavy u rodu *Trachemys*. Samice jsou vždy nahoře, samci dole. a) *T. scripta venusta*, b) *T. s. grayi*, c) *T. s. hiltoni*, d) *T. scripta* z Juan Mina, Panama **(převzato z Moldowan et al., 2016a).**

Již publikované studie na pohlavní dimorfismus želvích lebek obecně například ukázaly, že u želv druhu *Chrysemys picta marginata* (Emydidae) mají samci proporčně větší rozměry lebky, což je zvláštní, protože by to tak teoreticky měly mít samice, které jsou celkově větší a musí vytvářet vajíčka, a potřebují proto i více potravy (Moldowan et al., 2016a). Opačný případ nastává například u samic želvy *Graptemys geographica* (Emydidae), které mají hlavu proporčně větší a mají také větší alveolární povrch, kterým drtí potravu, protože se na rozdíl od samců více specializují na měkkýše (Bulté et al., 2008). Želvy rodu *Trachemys* mají do sebe

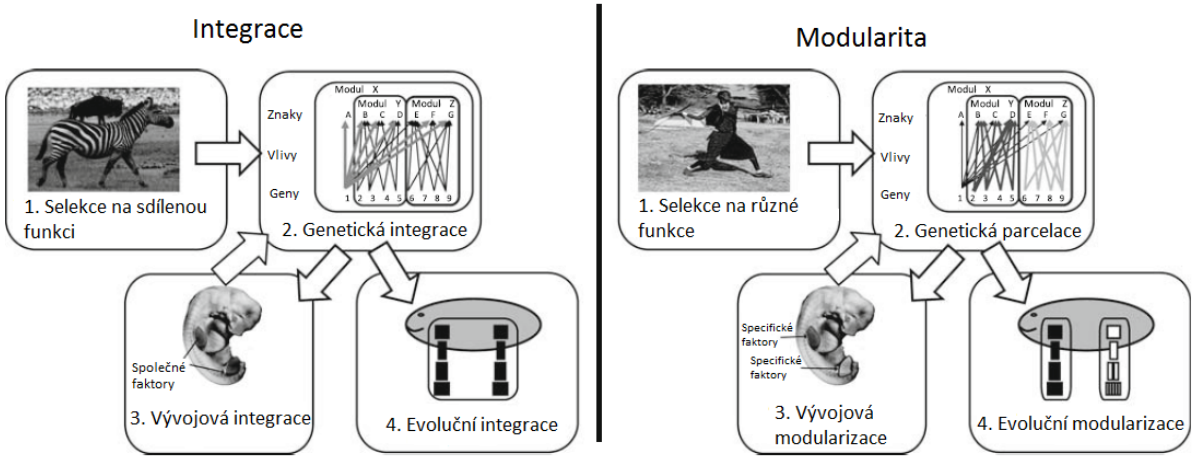
zapadající čelisti ve tvaru obráceného V a hloubka zářezu v premaxillách, do kterých zapadá mandibula, je ostřejší u samců (Moldowan et al., 2016b), což může být též způsobeno (kromě již zmíněných důvodů) například i různými zdroji potravy pro samce a samice. Rozdíly v rozměrech hlavy mohou ale také napomáhat k rozpoznání sexuálního partnera nebo případně může větší lebka a kousací plocha sloužit samcům jako donucovací prostředek k páření, protože při něm často samice koušou do hlavy a do krku (Moldowan et al., 2016a). Jedna studie zabývající se želvou stepní (*Testudo horsfieldi*, Testudinidae) také mimo jiné zjistila, že hlavy samců jsou delší a vyšší, ale hlavy samic jsou v poměru ke své délce širší (Bonnet et al., 2001).

Modularita a integrace

V inženýrství je modul definován jako funkční jednotka, která je schopná si udržet své vnitřní vlastnosti nezávisle na tom, k čemu je připojená (Sauro, 2008). Pro vývojovou biologii je základem představa, že vyvíjející se organismus se dá rozdělit na určité funkční nebo organizační jednotky, které jsou schopné samostatné funkce, jako jsou například somity či končetinové pupeny embrya (Bolker, 2000). Celkově se tedy dá říci, že modulem v biologii rozumíme biologickou entitu charakterizovanou větší propojeností uvnitř sebe než s vnějším okolím; tato entita může být vymezena odděleně od tohoto okolí, ale zároveň je s ním spojena, a její funkce nebo chování odráží tuto její vnitřní propojenost, a ne pouze sumu jejích částí (Bolker, 2000; Klingenberg, 2008). Míře nezávislosti modulů na jejich okolí říkáme „modularita“; může se projevovat funkčně, vývojově, geneticky, environmentálně i evolučně (Klingenberg, 2014). Opačný případ, tedy propojenost jedné části s ostatními, se nazývá integrace (Klingenberg, 2008) a má stejné typy projevů jako modularita. Toto moderní pojetí konceptu modularity a integrace se objevilo už v 50. letech minulého století (Olson & Miller, 1958), ale nejvíce pozornosti se na tuto problematiku zaměřuje v posledních dvaceti letech (Klingenberg, 2014).

Mezi jednotlivými moduly v organismu existuje jistý genetický přesah, v praxi má však každý modul jedinečnou sadu exprimovaných genů a jejich vzájemných i environmentálních interakcí (Callebaut & Rasskin-Guttman, 2005). Moduly se také opakují v rámci organismu i v rámci taxonu, protože je pravděpodobnější, že nové moduly vzniknou kombinací nebo rozdělením starých a zasazením do nového kontextu, než *de novo* (Callebaut & Rasskin-Guttman, 2005). Někteří autoři se domnívají, že moduly fungují i jako jednotky evoluce a například podle Rogera D. K. Thomase měly zásadní funkci při Kambrické explozi a formování nových tělních plánů živočichů (Callebaut & Rasskin-Guttman, 2005).

Podle Cheveruda (1996) funkční a vývojová integrace na individuální úrovni vede ke genetické integraci na úrovni populační, a tak ovlivňuje evoluci druhu. Schéma fungování evoluční integrace a modularity je na Obr. 8.



Obr. 8: Integrace a modularita. Schéma ukazuje evoluci integrace a modularity na příkladu sdílené a rozdílné funkce končetin **(upraveno podle Hallgrímsson et al. 2009)**.

Integrace je nejsilnější, pokud se veškerá variabilita ve zkoumaném znaku soustředí do jednoho směru a všechna měření spolu tím pádem dokonale korelují; naproti tomu integrace chybí, pokud je variabilita rovnoměrně rozprostřená do všech směrů (Klingenberg, 2008).

Velký význam má i alometrie, která určuje rozdíly v proporcích související se změnami v absolutní velikosti organismu nebo jeho částí (Gould, 1966), a protože vztah mezi velikostí a tvarem je často lineární, ovlivňuje alometrie celou zkoumanou strukturu zároveň, čímž zvyšuje její integraci (Klingenberg, 2013). Bez alometrie by mohly být například u lebky její funkce zásadně ohroženy, protože se během ontogeneze i evoluce její velikost značně mění, a kdyby se tím zároveň změnily proporce, mohlo by to mít katastrofální následky (Cardini & Polly, 2013). Zároveň má alometrie vliv i na pohlavní dimorfismus (viz výše), neboť některé změny ve tvaru mohou souviset čistě se změnami ve velikosti – například u lidí bývají muži vyšší a vyšší lidé mají zároveň i jiné tělesné a obličejové proporce, které ale již s pohlavím nesouvisí (Mitteroecker et al., 2015; viz též Výsledky).

Nulovým stavem je tzv. isometrie, tedy že s růstem těla v nějakém lineárním směru o n se povrch této oblasti zvětší o n^2 a objem (nebo hmotnost) o n^3, čímž se zachová tvar (Emerson & Bramble, 1993). K zachování tohoto poměru využívají organismy tři základní metody:

1) větvení nebo zavinutí, 2) ztenčení nebo zploštění a 3) včlenění neaktivní organické hmoty do vlastního objemu (Gould, 1966).

Nejčastěji se alometrie analyzuje pomocí multivariační regrese tvaru na velikosti (multivariate regression of shape on size), přičemž se jako velikost používá centroid size, tedy průměrná vzdálenost všech landmarků daného jedince (tvaru) od společného těžiště pro všechny zkoumané jedince (Klingenberg, 2013). Směr alometrie lze pak charakterizovat jako změnu tvaru při změně velikosti o jednotku (Klingenberg, 2013). Ke korekci efektu alometrie je možné vypočítat zbytkové hodnoty regrese tvaru na velikosti a použít je v dalších analýzách integrace a modularity (Klingenberg, 2013), jak je tomu i v této práci.

2. Hypotézy a cíle

Pohlavní dimorfismus lebky *Trachemys scripta elegans*

Cílem této práce bylo určit, zda a v jaké míře je přítomen tvarový pohlavní dimorfismus lebky *T. s. elegans*. Nulovou hypotézou (H_0) bylo, že se lebky samců a samic tvarově neliší. Hypotézou H_1 bylo, že lebka *T. s. elegans* je pohlavně dimorfní.

Modularita lebky Trachemys scripta elegans

Cílem této práce bylo také určit, zda a v jaké míře jsou na lebce *T. s. elegans* přítomny moduly. Nulovou hypotézou (H_0) bylo, že celá lebka tvoří jeden jediný modul, proti které stály testované hypotézy vyslovené na základě literatury (Cheverud, 1982; Goswami, 2006; Bever, 2009a) a vlastního uvážení dle znalostí o lebce této želvy.

3. Metodika

Původ a preparace materiálu

Pro tuto práci bylo k dispozici 326 jedinců *T. s. elegans* různého stáří, kteří byli nasbíráni v naturalizovaných *(sensu* Richardson et al., 2000) populacích mokřadů v okolí španělské Valencie, a to konkrétně v oblastech La Safor (39.018975, -0.193353), Nules (39.833448, - 0.107459), a Castellón (39.891345, -0.044966) (všechny souřadnice jsou uvedeny ve formátu WGS84). Želvy byly odloveny v červnu 2015 v rámci projektu LIFE-Trachemys č. LIFE09

NAT/ES000529 a pocházely z populací spadajících pod management nepůvodních druhů (Lacomba, 2009). Pohlaví bylo určeno na základě druhotných pohlavních znaků – samci *T. s. elegans* mají výrazně delší drápy na předních končetinách a vyústění kloaky vně krunýře, u samic je tomu naopak. Jedinci menší než 12 cm byli považováni za subadulty a pohlaví u nich nebylo určováno. Eutanázie želv proběhla v rámci managementových opatření předávkováním pentobarbitalem sodným (Eutanax, FATRO IBERICA, S. L.) a byla vykonána pověřenou osobou. Odebrané vzorky byly zakonzervovány v 70% roztoku lihu s indikátorem. Vzorky z dospělých jedinců tvořily hlava a přední končetiny (viz Obr. 9), mláďata byla fixována vcelku. Z dospělců bylo 153 samic a 92 samců, mláďat bylo 81. Samice dosahovaly délky karapaxu od 78 do 232 mm, samci pak od 89 do 205 mm. Vzorek pocházející z jedné populace může sice vykazovat vlastnosti specifické pouze pro ni, ale zároveň eliminuje vliv geografie a prostředí (Bever, 2009a). Tato studie zahrnuje jedince z jedné oblasti, avšak z více lokalit. V původních populacích *T. scripta* je obvykle v dospělosti více samců než samic. Samci dospívají v závislosti na velikosti těla (délka plastronu kolem 10 cm). Samice dospívají nezávisle na velikosti, ale dospělost nastává v určitém věku (kolem osmi let; Hays & McBee, 2010).

Obr. 9: Surový materiál pro analýzu tvaru lebek (vlastní fotografie).

Velikost vzorku je dostatečná, protože počet jedinců v každé zkoumané skupině (samci, samice a mláďata) výrazně přesahuje počet hlavních komponent, které tvoří 95 % variability (viz Výsledky; Klingenberg, 2013).

Z dospělců byla mechanicky odstraněna hlava, ze které byla stažena kůže. Odpreparovaná hlava se pak dva až tři dny macerovala v teplé vodě, aby se vyplavil líh. Poté byly hlavy umístěny na dalších tři až pět dní do nádoby s brouky kožojedy šedými *(Dermestes maculatus*, De Geer 1774), aby z ní odstranili vše kromě kostí. K dočištění lebek bylo použito mechanické čištění kartáčkem a mýdlovou vodou a krátká koupel v 3% roztoku H_2O_2. Vypreparované lebky (Obr. 10 a 11) budou přenechány do sbírek Národního Muzea v horních Počernicích a bude jim přiděleno sbírkové inventární číslo. Všechny vypreparované lebky dospělců byly ručně přeměřeny posuvným měřidlem, a to ve třech rozměrech: délce (od vršku čenichu po konec hřebene), šířce (v nejširším místě) a výšce (od temenní kosti po spodek sluchové komory).

Obr. 10: Příklady reálných zkoumaných lebek *T. s. elegans.* Pro pohledy svrchu, z levého boku a zpředu, samec č. 41. Pro stabilizaci polohy zboku a zepředu byla použita bílá lepící kancelářská hmota.

Obr. 11: Příklady reálných zkoumaných lebek *T. s. elegans.* Pro pohledy svrchu, z levého boku a zpředu, samice č. 50. Pro stabilizaci polohy zboku a zepředu byla použita bílá lepící kancelářská hmota.

Fotografické zpracování

Vypreparované lebky byly digitalizovány fotoaparátem Canon EOS 1100D s objektivem Canon EFS 18-55 mm s měřítkem a barevnou škálou při stejných světelných podmínkách ze stejné výšky (30,5 cm) ze tří stran (svrchu, zepředu a z levého boku) pokaždé minimálně dvakrát. Ohnisková vzdálenost byla 35 mm. Fotografie byly pomocí programu QuickPHOTO CAMERA 3.0 uloženy do formátu TIFF. Pro analýzu v této práci byly vybrány vždy co možná nejostřejší fotografie.

Geometrická morfometrika

Geometrická morfometrika je soubor metod analýzy tvaru dané morfologické struktury (Klingenberg, 2013b). Pro tuto analýzu se nejčastěji využívají anatomické body (landmarky), které je možné jednoznačně určit na každém jedinci ze zkoumaného vzorku. Pozice landmarků se dají vyjádřit pomocí souřadnic, které se pak dají dále statisticky analyzovat. Ke standardizaci tvaru morfologických struktur co do velikosti, orientace a pozice je tradičně aplikována prokrustovská superpozice (viz níže, Klingenberg, 2013b). Kromě landmarků jsou na studované struktuře umístěny také semilandmarky. Semilandmarky jsou body, které se nacházejí mezi dvěma landmarky. Semilandmarky tak nevyjadřují jednoznačné anatomické body, ale spíše popisují tvar morfologických křivek, které mohou být pro analýzu významné (Klingenberg, 2013b). Oproti tradiční morfometrice, která se zabývá pouze vzdálenostmi mezi body, a nikoliv celkovým tvarem, je metoda geometrické morfometriky relativně přesnější, umožňuje analýzu tvaru nezávisle na velikosti a její výsledky se dají snadno znázornit graficky.

Digitalizace morfologických struktur

Z fotografií lebek byl pomocí programu tpsUtil v. 1.68 (Rohlf, 2015) vytvořen soubor TPS představující soupis všech jedinců v souboru. Do tohoto souboru byly dále zapsány souřadnice landmarků a semilandmarků v programu tpsDig2 v. 2.25 (Rohlf, 2015). Fotografie poškozených lebek nebyly ve studii použity.

Lebka *T. scripta* byla analyzována ze tří pohledů. Pro pohled svrchu tvořilo výsledný soubor celkem 228 lebek, z toho 79 lebek samců a 142 lebek samic. Pro pohled z levého boku tvořilo výsledný soubor celkem 210 lebek, z toho 84 lebek samců a 126 lebek samic. Pro pohled zepředu tvořilo soubor celkem 233 lebek, z toho 89 lebek samců a 144 lebek samic.

Následující popis umístění landmarků je založen na anatomickém názvosloví želví lebky od E. Gaffneyho (1972). Morfologické názvy jsou uváděny pro přehlednost v latině; zkratka SLM označuje semilandmark. Pozice landmarků jsou pro všechny použité pohledy vyobrazeny na Obr. 12-16 ve srovnání s osteologickým popisem lebky. Landmarky byly voleny tak, aby označovaly homologické anatomické struktury, dostatečně reprezentovaly morfologii a zároveň ležely v jedné rovině (Zelditch et al., 2012).

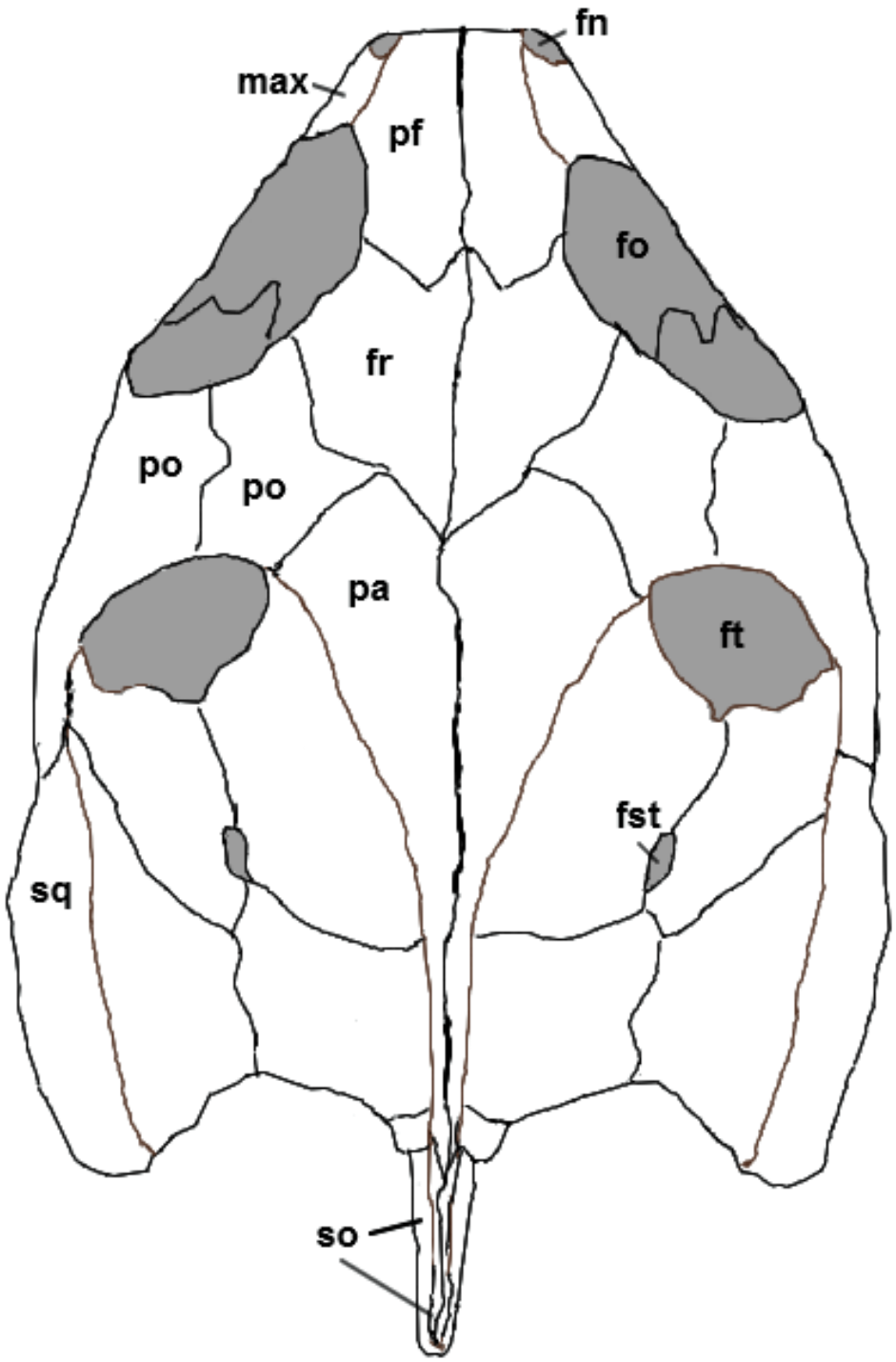
Při pohledu svrchu byly landmarky rozděleny takto: 1 a 2 anteriorní okraj švu mezi premaxillou a maxillou; 3 a 11 laterální okraj švu mezi maxillou a *os jugale* uvnitř orbity; 4 a 10 laterální okraj švu mezi maxillou a *os jugale*; 5 a 9 posteriorní vrchol *os squamosum*; 6 a 8 posteriorní vrchol hřebene *os squamosum*; 7 posteriorní vrchol *crista supraoccipitalis*; 12 a 14

anteriorní okraj švu mezi maxillou a *os prefrontale*; 13 anteriorní okraj středního švu *os prefrontale*; 15 a 18 laterální okraj švu mezi *os prefrontale* a *os frontale*; 16 a 17 anteriorní okraj švu mezi *os frontale* a *os postorbitale*; 19 a 21 mediální vrchol švu mezi *os frontale* a *os postorbitale*; 20 prostřední vrchol švu mezi *os frontale* a *os postorbitale*; 22 a 26 mediální okraj švu mezi *os postorbitale* a *os squamosum*; 23 a 27 posteriorní okraj švu mezi *os postorbitale* a *os parietale*; 24 a 28 mediální vrchol *fenestra subtemporalis*; 25 a 29 anteriorní okraj švu mezi *os postorbitale* a *os parietale*; 30 SLM mezi 3 a 68; 31 SLM mezi 3 a 4; 32 a 34 SLM mezi 5 a 33; 33 a 38 laterální okraj švu mezi *os postorbitale* a *os squamosum*; 35 a 37 SLM mezi 9 a 36; 38 SLM mezi 10 a 11; 39 SLM mezi 11 a 67; 40 a 42 posteriorní okraj švu mezi maxillou a *os prefrontale*; 41 SLM mezi 18 a 40; 43 SLM mezi 15 a 42; 44-46 SLM mezi 6 a 22; 47-49 SLM mezi 8 a 26; 50 a 52 laterální okraje švu mezi *os parietale* a *os supraoccipitale*; 51 anteriorní vrchol švu mezi *os parietale* a *os supraoccipitale*; 53-55 SLM mezi 24 a 51; 56-58 SLM mezi 28 a 51; 59 SLM mezi 7 a 52; 60 SLM mezi 7 a 50; 61 a 62 laterální okraje *fossa subtemporale*; 63 levý anteriorní vrchol švu mezi *os frontale* a *os parietale*; 64 styčný bod obou polovin *os frontale* a *os parietale*; 65 pravý anteriorní vrchol švu mezi *os frontale* a *os parietale*; 66 a 69 laterální posteriorní okraj orbity; 67 a 68 laterální anteriorní okraj orbity.

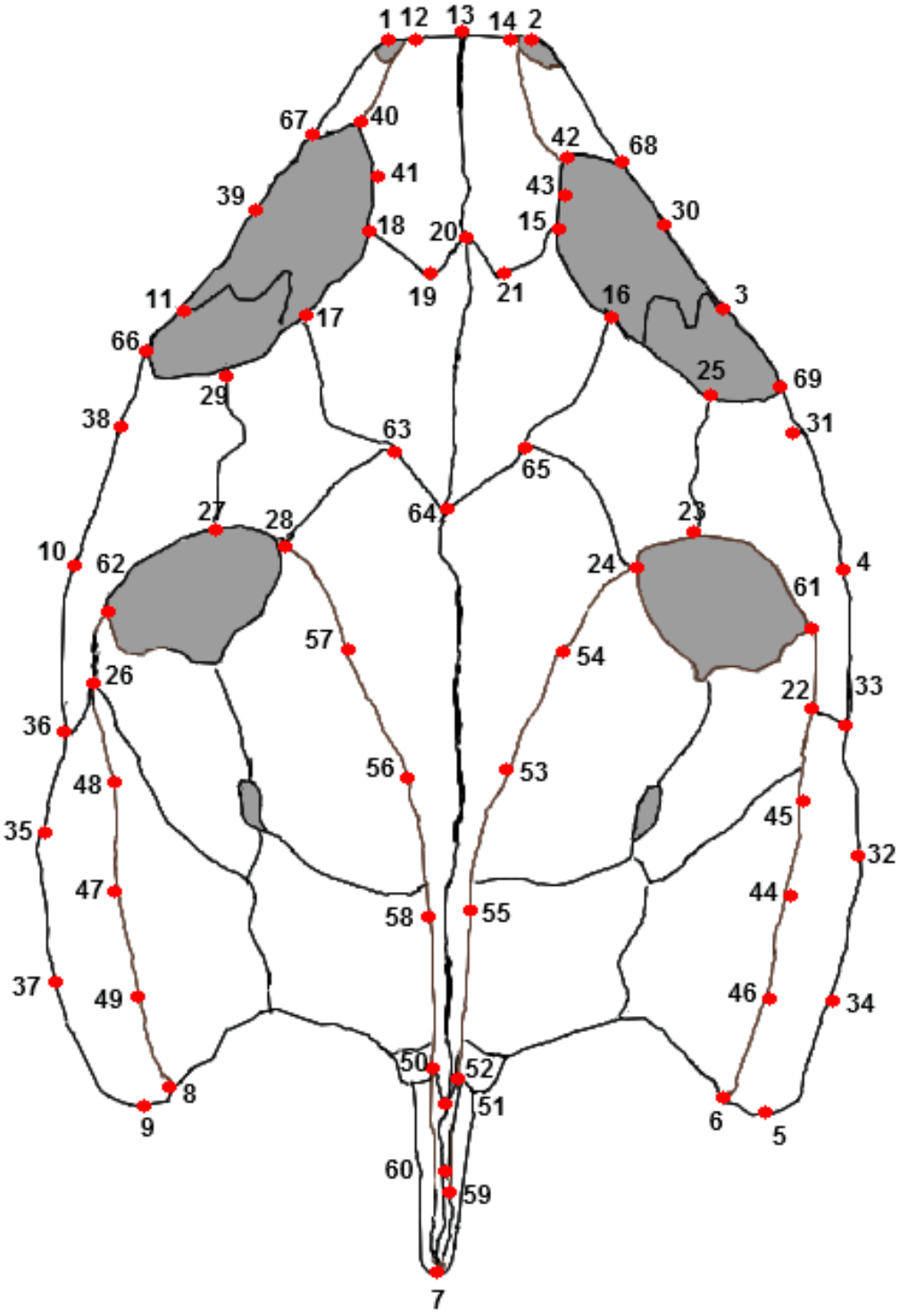
Při pohledu z levého boku byly landmarky rozděleny takto: 1 anteriorní vrchol *os prefrontale*; 2 optický styčný bod mezi *os prefrontale* a orbitou; 3 dorsální vrchol orbity; 4 anteriorní okraj švu mezi *os postorbitale* a *os parietale*; 5 dorsální okraj švu mezi *os supraoccipitale* a *crista supraoccipitalis*; 6 posteriorní vrchol *crista supraoccipitalis*; 7 posteriorní okraj švu mezi *crista supraoccipitalis* a *os exoccipitalis*; 8 styčný bod švů mezi *crista supraoccipitalis, os exoccipitalis* a *os opisthoticum*; 9 styčný bod švů mezi *crista supraoccipitalis, os opisthoticum* a *os parietale*; 10 dorsální okraj švu mezi *os squamosum* a *os postorbitale*; 11 posteriorní okraj švu mezi *os postorbitale* a *os parietale*; 12 SLM mezi 10 a 11; 13 anteriorní vrchol orbity; 14 anteriorní okraj švu mezi maxillou a *os jugale*; 15 anteriorní okraj švu mezi *os postorbitale* a orbitou; 16 anteriorní okraj švu mezi *os postorbitale* a *os jugale*; 17 ventrální vrchol orbity; 18 ventrální vrchol premaxilly; 19 anteriorní vrchol maxilly; 20 posteriorní vrchol maxilly; 21-23 SLM mezi 19 a 20; 24 ventrální okraj švu mezi maxillou a *os jugale*; 25 ventrální okraj švu mezi *os jugale* a *os quadratojugale*; 26 ventrální okraj švu mezi *os quadratojugale* a *os quadratum*; 27 *condylus mandibularis*; 28 posteriorní vrchol *os quadratum*; 29 ventrální vrchol *os prooticum*; 30 *condylus occipitalis*; 31 posteriorní okraj švu mezi *os prooticum* a *os opisthoticum*; 32 posteriorní vrchol *os squamosum*;

33 dorsální vrchol *os squamosum*; 34 dorsoposteriorní vrchol *cavum tympani*; 35 ventrální vrchol *cavum tympani*; 36-38 SLM mezi 34 a 35; 39 styčný bod švů mezi *os squamosum*, *os postorbitale* a *os quadratojugale*; 40 styčný bod švů mezi *os jugale*, *os postorbitale* a *os quadratojugale*; 41 dorsální okraj švu mezi maxillou a *os jugale*; 42 SLM mezi 17 a 41; 43 SLM mezi 13 a 17; 44 SLM mezi 15 a 16; 45 SLM mezi 16 a 40; 46 SLM mezi 40 a 39; 47-49 SLM mezi 4 a 5; 50 SLM mezi 5 a 6; 51 SLM mezi 6 a 7; 52 SLM mezi 31 a 32; 53 SLM mezi 25 a 26.

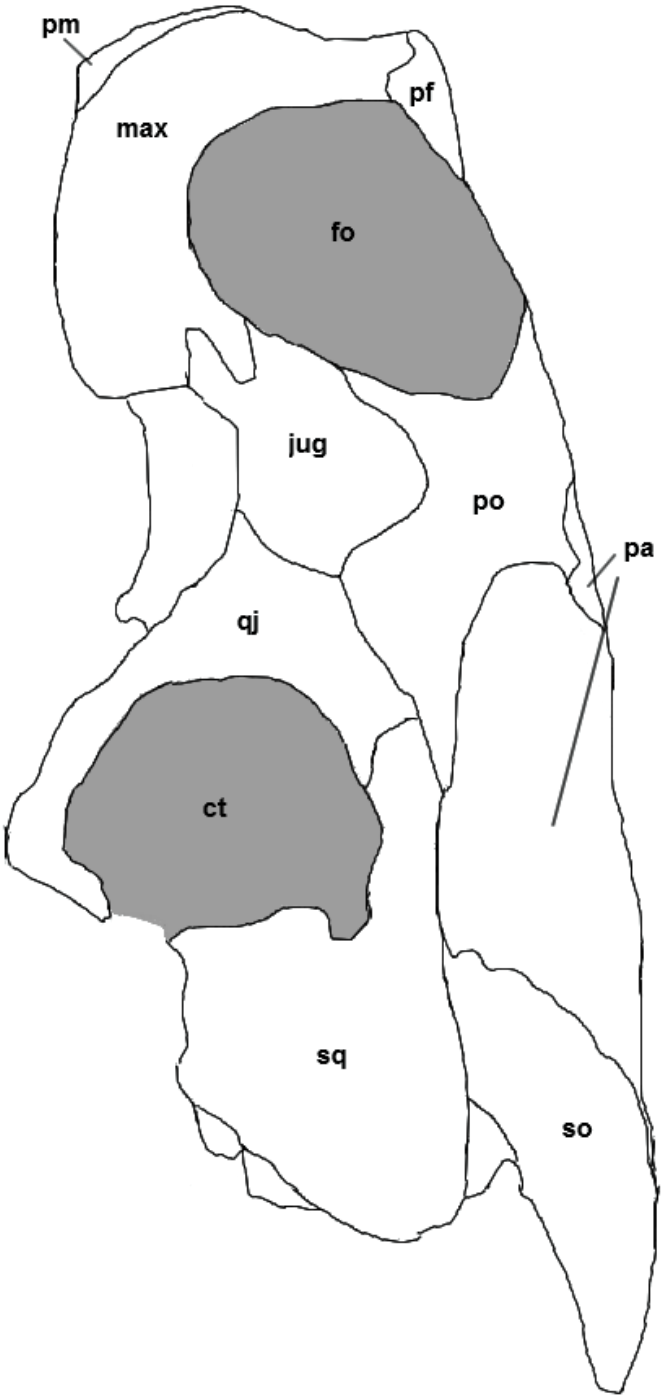
Při pohledu zpředu byly landmarky rozděleny takto: 1 ventrální okraj středního švu *os prefrontale*; 2 a 6 laterální vrcholy *apertura narium externa*; 3 a 5 anteriorní okraj švu mezi premaxillou a maxillou; 4 dorsální okraj středního švu maxilly; 7 a 21 dorsální okraj švu mezi maxillou a *os prefrontale*; 8 a 20 mediální vrchol orbity; 9 a 19 laterální okraj švu mezi *os prefrontale* a *os postorbitale*; 10 a 18 největší šířka lebky; 11 a 17 ventrální okraj švu mezi *os jugale* a *os quadratojugale*; 12 a 16 laterální vrcholy maxilly; 13 a 15 ventrální okraje švu mezi *os prefrontale* a premaxillou; 14 ventrální okraj středního švu premaxilly; 22 a 27 laterální vrchol orbity; 23 a 28 mediálně-ventrální vrchol orbity; 24 SLM mezi 7 a 23; 25 SLM mezi 9 a 22; 26 SLM mezi 22 a 23; 29 SLM mezi 21 a 28; 30 SLM mezi 19 a 27; 31 SLM mezi 27 a 28; 32 dorsální vrchol lebky; 33 SLM mezi 10 a 32; 34 SLM mezi 13 a 14; 35 SLM mezi 14 a 15; 36 SLM mezi 18 a 32.



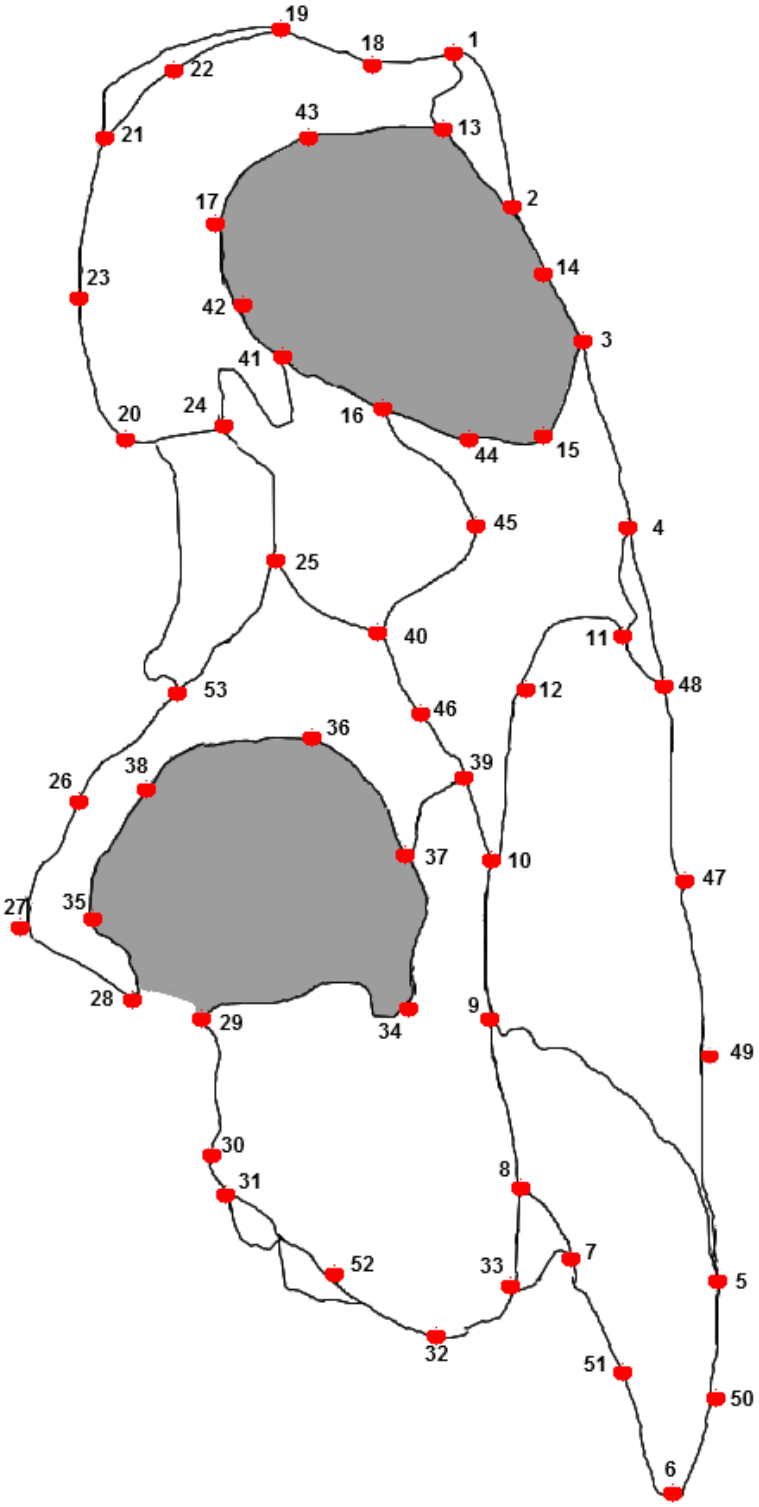
Obr. 12: Anatomický popis lebky *T. s. elegans* při pohledu svrchu (vlastní kresba). Legenda: fn, *fossa nasalis*; fo, *fossa orbitalis*; fr, *os frontale*; fst, *foramen stapedio-temporale*; ft, *fossa temporalis;* max, *maxilla*; pa, *os parietale*; pf, *os prefrontale*; po, *os postorbitale*; so, *os supraoccipitalis*; sq, *os squamosum*.



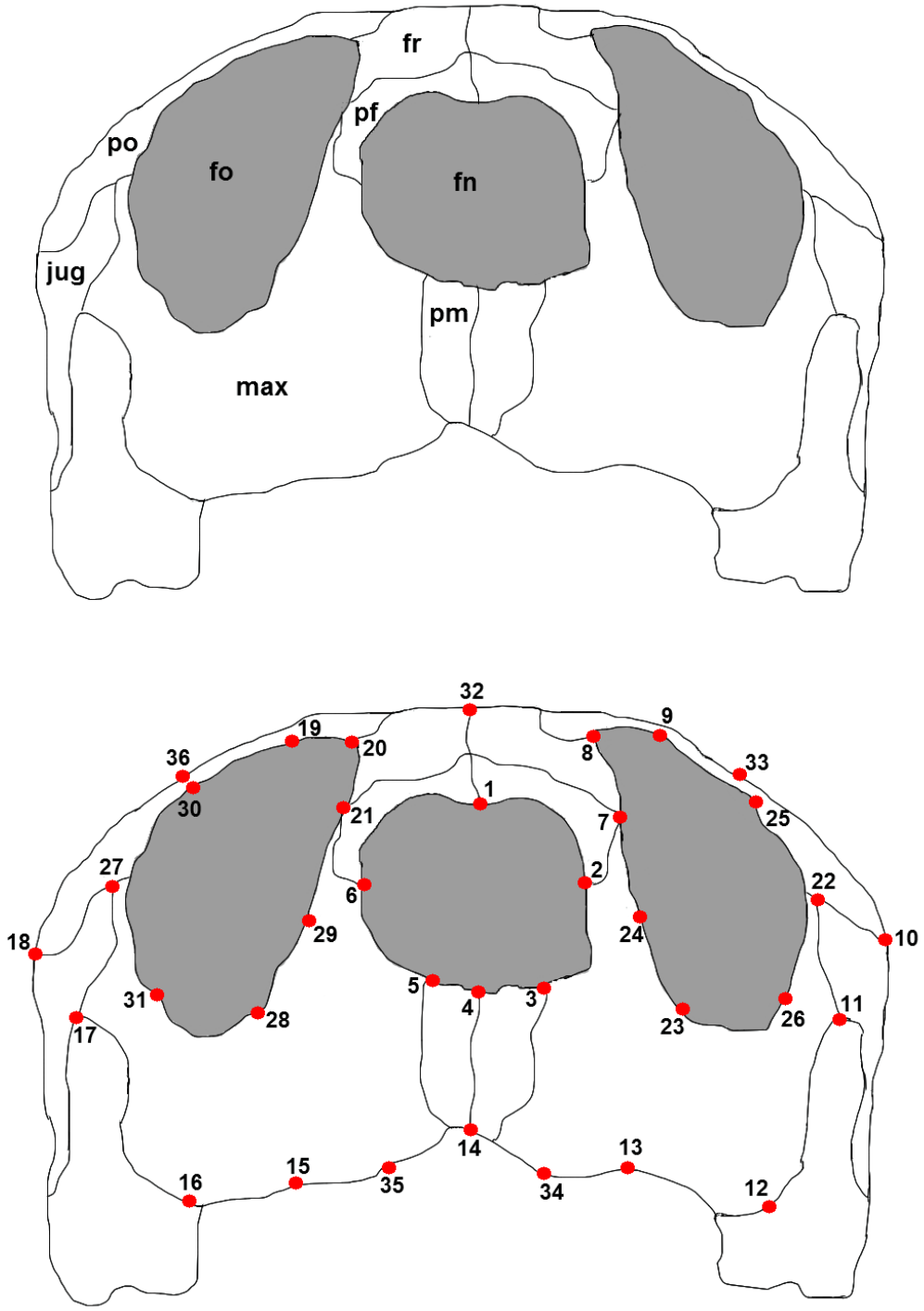
Obr. 13: Rozmístění landmarků na lebce *T. s. elegans* při pohledu svrchu (vlastní kresba).



Obr. 14: Anatomický popis lebky *T. s. elegans* při pohledu z levého boku (vlastní kresba). Legenda: ct, *cavum tympani*; fo, *fossa orbitalis*; jug, *os jugale*; max, *maxilla*; pa, *os parietale*; pf, *os prefrontale*; pm, *premaxilla*; po, *os postorbitale*; qj, *os quadratojugale*; so, *os supraoccipitalis*; sq, *os squamosum*.



Obr. 15: Rozmístění landmarků na lebce *T. s. elegans* a rozmístění landmarků. Při pohledu z levého boku (vlastní kresba).



Obr. 16: Anatomický popis lebky *T. s. elegans* a rozmístění landmarků při pohledu zpředu (vlastní kresba). Legenda: fn, *fossa nasalis*; fo, *fossa orbitalis*; fr, *os frontale*; jug, *os jugale*; max, *maxilla*; pf, *os prefrontale*; pm, *premaxilla*; po, *os postorbitale*.

Preanalytické metody

Proměnné nesouvisející s tvarem se ze souboru landmarků vyčleňují pomocí tzv. superimpozice, což je metoda, která přes sebe překrývá soubory landmarků a snaží se je upravit tak, aby se od společného parametru lišily co nejméně. V této práci byla použita generalizovaná prokrustovská analýza (GPA), která jako společný parametr využívá odhady nejmenších čtverců. Nejprve se vypočítá těžiště každého souboru landmarků, ty se následně všechny převedou na stejné relativní měřítko, a nakonec se natočí tak, aby se minimalizovala vzdálenost (umocněná na druhou) mezi korespondujícími landmarky (Adams et al., 2004). GPA se následně opakuje, aby se vypočítal průměrný tvar (viz Výsledky).

Data lze dále vizualizovat pomocí thin-plate spline mřížek. Průměrný tvar se zanese do mřížky a jeho odchylky v závislosti na dané proměnné jsou zobrazeny jako deformace této mřížky. V této práci byly deformace mřížek v závislosti na testovaných proměnných vizualizovány pomocí programu tpsRegr v. 1.45 (Rohlf, 2015). Kromě grafického znázornění jsou rozdíly ve tvaru v závislosti na proměnných kvantifikovatelné a statisticky je lze analyzovat obecně pomocí analýzy mnohorozměrných dat, například analýza hlavních komponent (PCA). PCA určí hlavní roviny rozložení dat, které lze vyjádřit pomocí souřadnic definovaných osami hlavních komponent (Klingenberg, 2013). Pokud se tyto tvarové změny koncentrují na jednom místě, může to naznačovat existenci modulu (Klingenberg, 2013). Mnohorozměrné analýzy dat probíhaly v programu R v. 3.4.1 (R Core Team, 2017).

Pohlavní dimorfismus

Variace morfologických struktur, které se v průměru liší mezi pohlavími, nazýváme pohlavně dimorfními, a jsou to sekundární pohlavní znaky. V této práci byl hlavním předmětem zájmu pohlavní dimorfismus ve tvaru (sexual shape dimorphism, SShD). SShD může být alometrický (tedy způsobený rozdíly ve velikosti) a nealometrický (Mitteroecker et al., 2014). Aby bylo možné určit podíl alometrické a nealometrické složky SShD, byla provedena Procrustes ANOVA s permutacemi pro daný soubor prokrustovských souřadnic pomocí funkce procD.allometry z R balíčku Geomorph 3.0.5. (Adams et al., 2017). Zároveň byl testován vliv interakce pohlaví a tělesné velikosti na rozdíly ve tvaru (Mitteroecker et al., 2015). Komponenty vzešlé z této analýzy (alometrie sdílená oběma pohlavími – CAC, *common allometry component*; residuální tvarová komponenta po odstranění vlivu velikosti – RSC, *residual shape component*) byly stejně jako centroid size korelovány jednotlivě zpět s tvarem pomocí

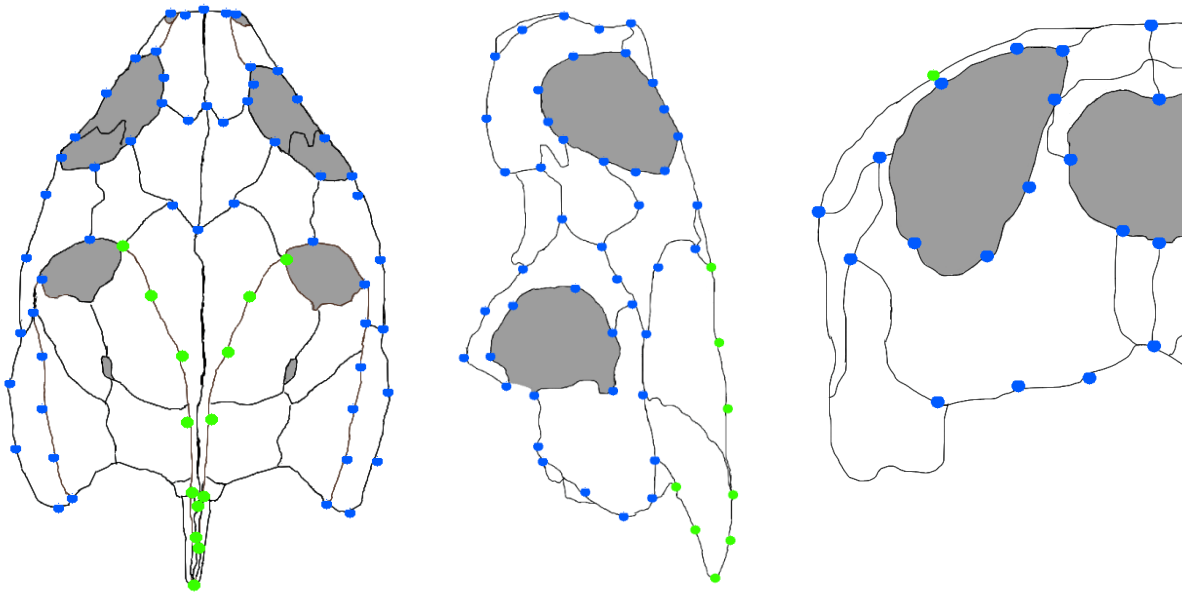
permutačního testu (9 999 permutací) a vizualizovány pomocí thin-plate spline v programu tpsRegr v. 1.45 (Rohlf, 2015).

Modularita

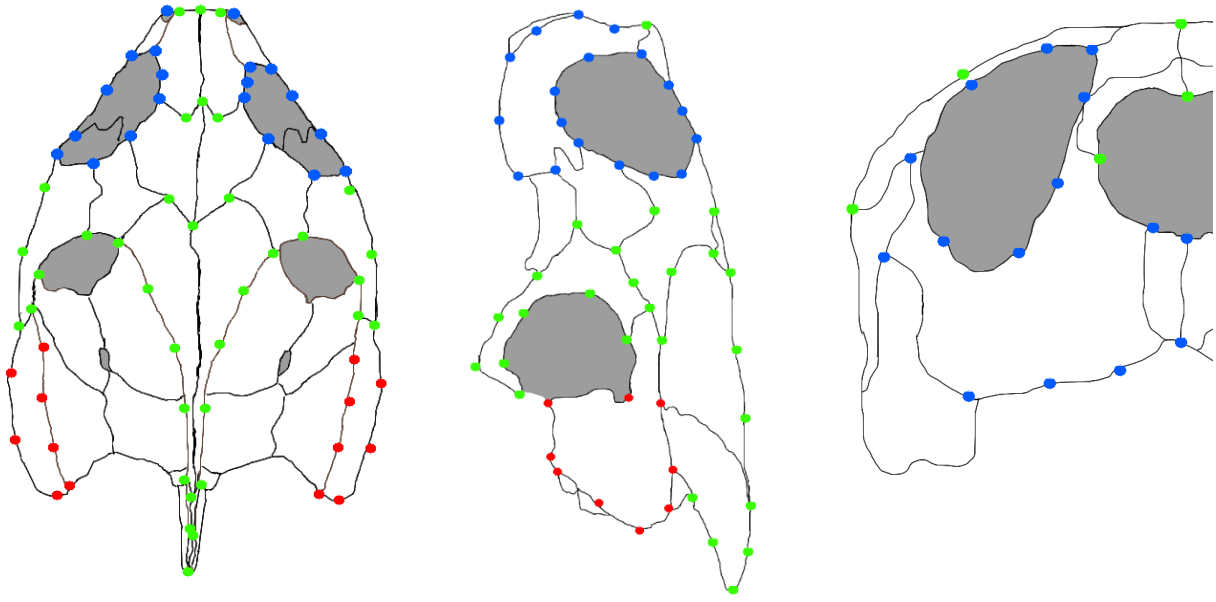
Jelikož explorační analýzy naznačovaly, že mezi samci a samicemi *T. s. elegans* existuje pohlavní dimorfismus lebky, byly výpočty modularity prováděny pro obě pohlaví zvlášť.

V této práci bylo testováno několik hypotéz modularity lebky *T. s. elegans.* Hypotézou H_C (podle Cheveruda [1982]) bylo, že se na lebce nacházejí dva moduly – orofaciální a neurokranium. Hypotézou H_B (podle Bevera [2009a]) bylo, že se na lebce nacházejí tři moduly – palatální, dermální zastřešení a mozkovna. Hypotézou H_G (podle Goswami [2006]) bylo, že lebka má pět modulů – přední orálně-nasální, orbitální, klenbový, zygomaticko-pterygoidní a basikraniální. Všechny tyto hypotézy jsou graficky shrnuty na Obr. 17-19. Po zhlédnutí výsledků byly zvoleny ještě dvě dodatečné hypotézy, H_1 a H_2, které odpovídaly hypotézám H_C a H_B s přidáním modulu navíc v podobě basikraniálního modulu převzatého z hypotézy H_G.

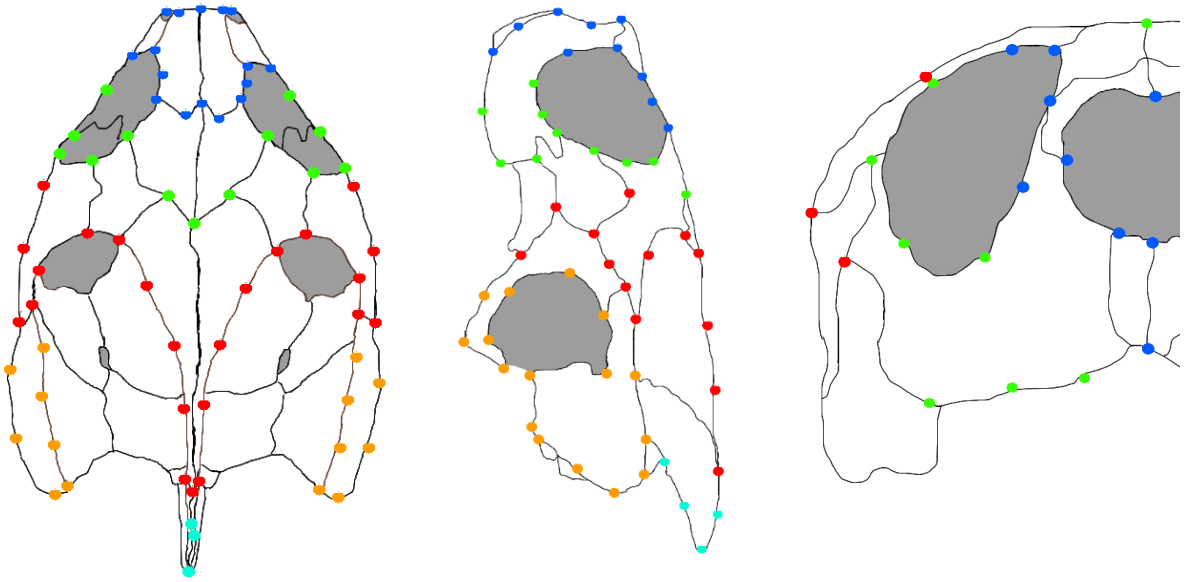
Modularita byla analyzována pomocí funkce modularity.test z balíčku Geomorph 3.0.5. (Adams et al., 2017), která zjišťuje, zda existují nějaká nenáhodná spojení mezi pohyby daných skupin landmarků (viz Hypotézy a cíle výše) nezávisle na směru pohybu jednotlivých landmarků (Klingenberg, 2008). Ke kvantifikování síly kovariance mezi moduly byl použit CR koeficient, který vyjadřuje poměr mezi celkovou kovariancí mezi moduly a celkovou kovariancí v rámci modulů (Adams, 2016). CR koeficient nabývá nezáporných hodnot, kde nízké hodnoty představují relativně menší kovarianci mezi moduly a vyšší hodnoty větší kovarianci; hodnota 1 pak odpovídá náhodnému rozdělení (Adams, 2016). Pokud se hodnota CR koeficientu pohybuje mezi 0 a 1, značí to modulární strukturu daného souboru landmarků (Adams, 2016).



Obr. 17: Hypotéza H_C. Moduly na lebce podle Cheveruda (1982): tmavě modrá = orofaciální, zelená = neurokraniální.



Obr. 18: Hypotéza H_B. Moduly na lebce podle Bevera (2009a): tmavě modrá = palatální, zelená = dermální zastřešení, červená = mozkovna.



Obr. 19: Hypotéza HG. Moduly na lebce podle Goswami (2006): tmavě modrá = přední orálně-nasální, zelená = orbitální, červená = klenbový, oranžová = zygomaticko-pterygoidní, světle modrá = basikraniální.

4. Výsledky

Preparace materiálu

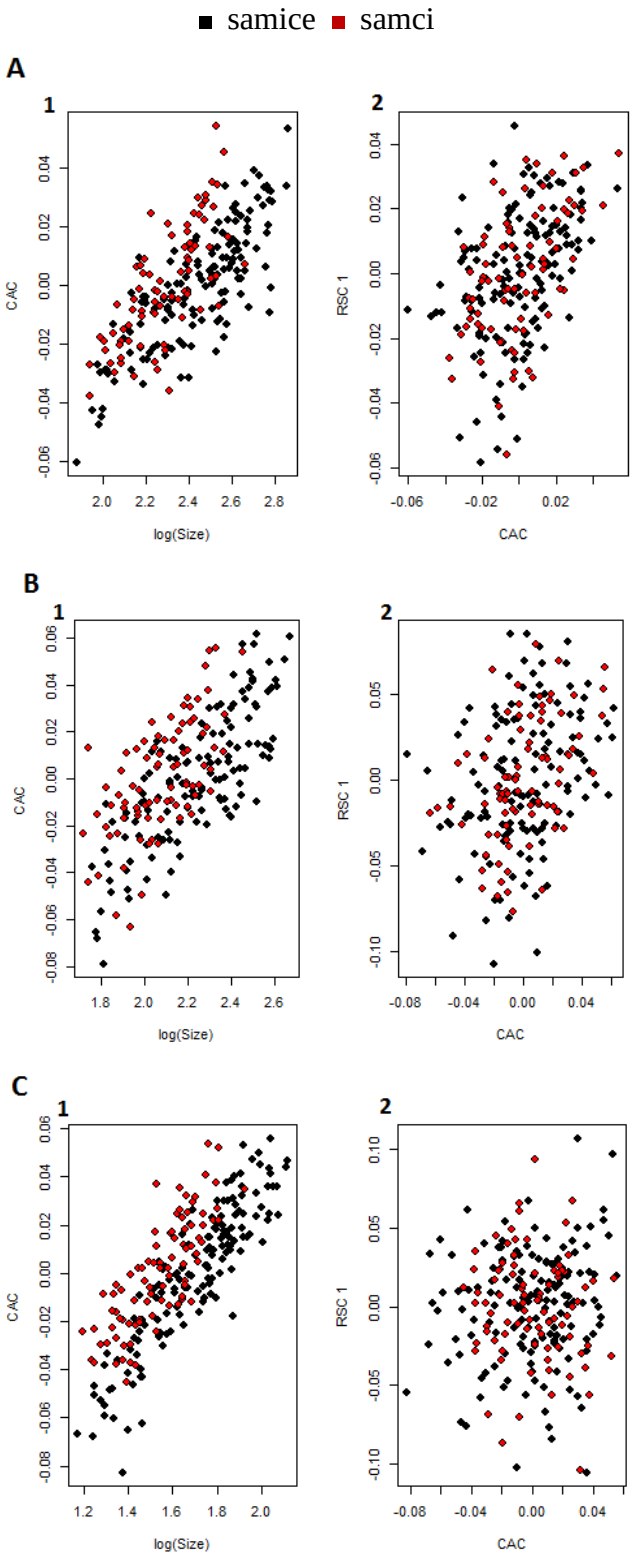
U samčích lebek č. 56 a 103 a u samičích č. 68, 114, 116, 110, 111, 244 došlo k poškození v důsledku nesprávné manipulace – lebky se zboku prolomily v oblasti spojení kostí *jugale*, *quadratojugale* a *postorbitale*, případně se ulomily kapsule z *os squamosum*.

Pohlavní dimorfismus

Prokrustovská regrese s permutacemi vyústila pro pohledy shora a zepředu ve dvě signifikantní tvarové komponenty - sdílenou alometrickou komponentu (CAC) a residuální tvarovou komponentu (RSC1). Pro pohled shora je pro CAC p = 0,001 a pro RSC1 p = 0,001; pro pohled zpředu je pro CAC p = 0,001 a pro RSC1 p = 0,001. Pro pohled zboku vyšla prokrustovská regrese nesignifikantně pro obě tvarově-velikostní komponenty, a to pro CAC s p = 0,642 a pro RSC1 s p = 0,891. Grafy závislosti CAC na logaritmu centroid size a RSC1 na CAC jsou uvedeny na Obr. 20.

Výsledky Procrustes ANOVA ukázaly, že pro pohled zboku jsou rozdíly ve tvaru lebek *T. s. elegans* mezi pohlavími závislé zejména na rozdílech ve velikosti mezi pohlavími (pro velikost se p = 0,001, pro pohlaví se p = 0,001) avšak změny tvaru s velikostí sledují stejný trend pro obě pohlaví (pro interakci velikost:pohlaví se p = 0,305). Pro pohledy svrchu a zepředu se ukázalo, že SShD vzniká jako důsledek rozdílných trajektorií změny tvaru lebky samic a samců při růstu (svrchu je pro velikost p = 0,001 a pro pohlaví p = 0,001; zboku je pro velikost p = 0,001 a pro pohlaví p = 0,001; u interakce velikost:pohlaví je pro pohled svrchu p = 0,044 a pro pohled zepředu p = 0,026). Výsledky jsou shrnuty v Tab. 1. Výsledek testu interakce velikost:pohlaví (test homogenity přímek) je patrný i graficky. Pro pohled z levého boku jsou přímky rovnoběžné (Obr. 21B), z ostatních pohledů ne. Při pohledu svrchu (Obr. 21A) se přímky postupně sbíhají a klesají, což značí negativní alometrii. U pohledu zepředu (Obr. 21C) je tomu naopak, což značí pozitivní alometrii (Klingenberg, 1998). Lebky samic dosahují větších velikostí než lebky samců, což značí také velikostní pohlavní dimorfismus.

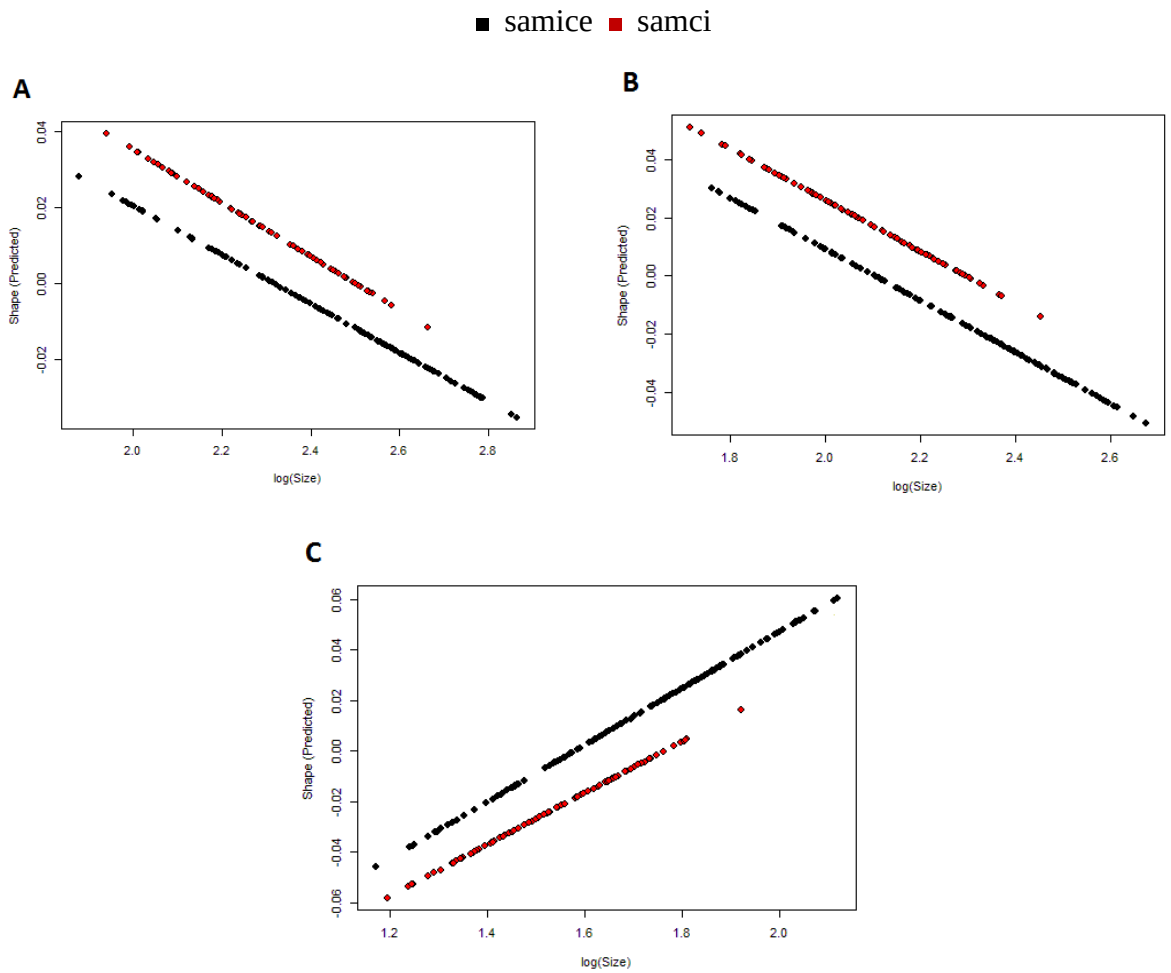
Protože se lebky samic a samců z pohledu svrchu a zepředu významně liší, byly průměrné tvary a vizualizace vlivu velikosti na tvar vypočteny pro každé pohlaví zvlášť. Malé lebky (odpovídající spíše samcům) mají na rozdíl od velkých (odpovídajících spíše samicím) kratší okcipitální hřeben, širší parietální kosti, delší prefrontální kosti a jsou celkově užší s užším postorbitálním obloukem, viz Obr. 22. Pro vizualizaci rozdílů ve velikostech lebky pro obě pohlaví zvlášť viz Obr. 23-25.



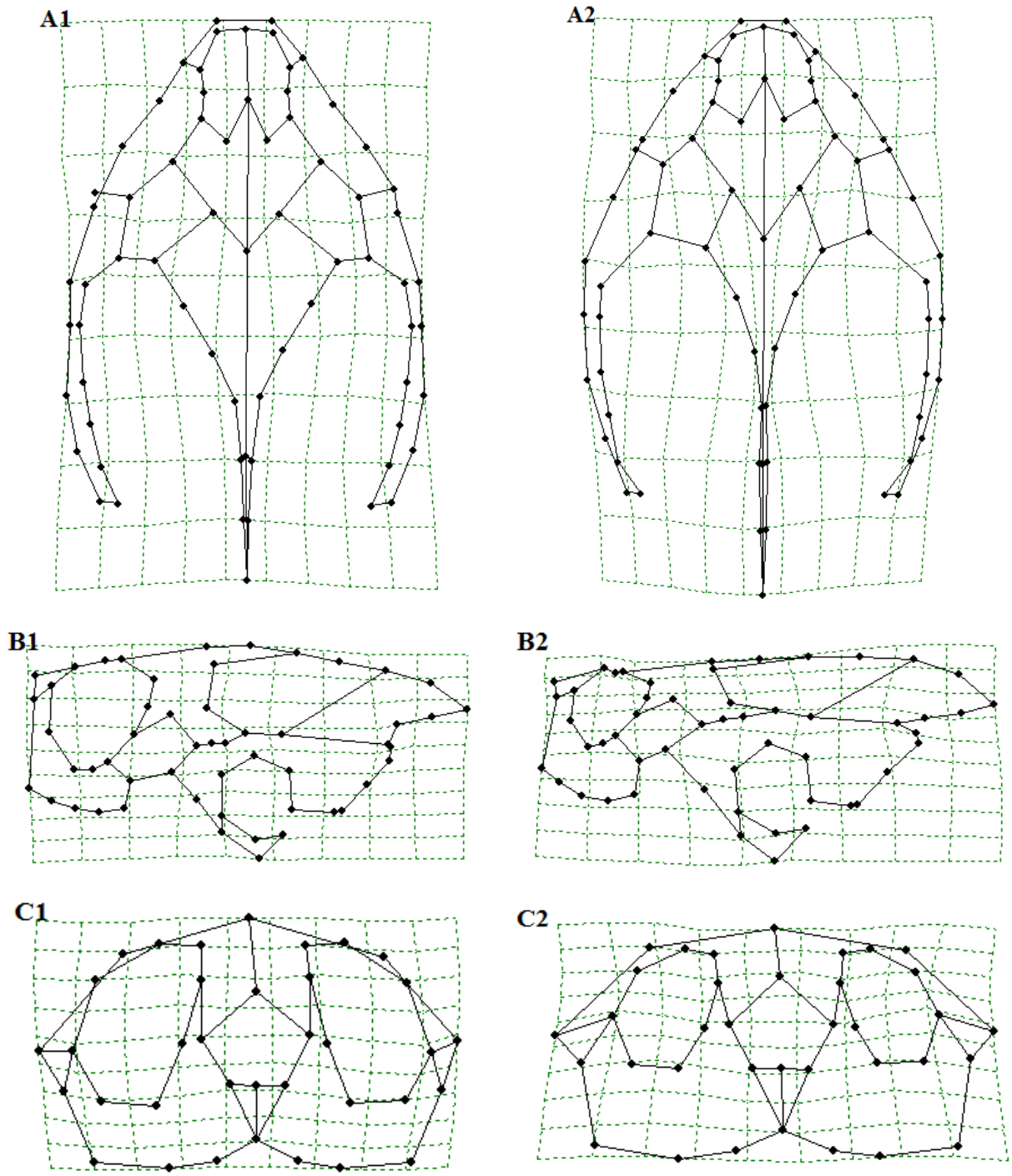
Obr. 20: Výsledky Procrustes ANOVA. A) Pro pohled svrchu; B) pro pohled z levého boku; C) pro pohled zepředu. 1) grafy závislosti společné alometrické tvarové komponenty (CAC) na velikosti; 2) grafy závislosti residuální tvarové komponenty (RSC1) na CAC. Černé čtverečky reprezentují samice, červené samce. 1) a 2) Čím větší velikost, tím vyšší CAC – samice a samci mají podobné trajektorie, pouze samice jsou celkově větší. Pro RSC1 v závislosti na CAC jsou pohlaví rovnoměrně promíchaná, což značí, že se od sebe kromě vlivu alometrie příliš neliší – pokud by rozdíly mezi pohlavími byly hlavně nealometrické, pohybovaly by se hodnoty jednoho pohlaví v kladných a druhého v záporných hodnotách.

pohled	proměnná	F	p
svrchu			
	velikost	26,7338	0,001
	pohlaví	15,8239	0,001
	velikost:pohlaví	1,4659	0,044
z levého boku			
	velikost	19,3137	0,001
	pohlaví	5,5762	0,001
	velikost:pohlaví	1,0085	**0,305 nesig.**
zepředu			
	velikost	37,5643	0,001
	pohlaví	11,3816	0,001
	velikost:pohlaví	1,9161	0,026

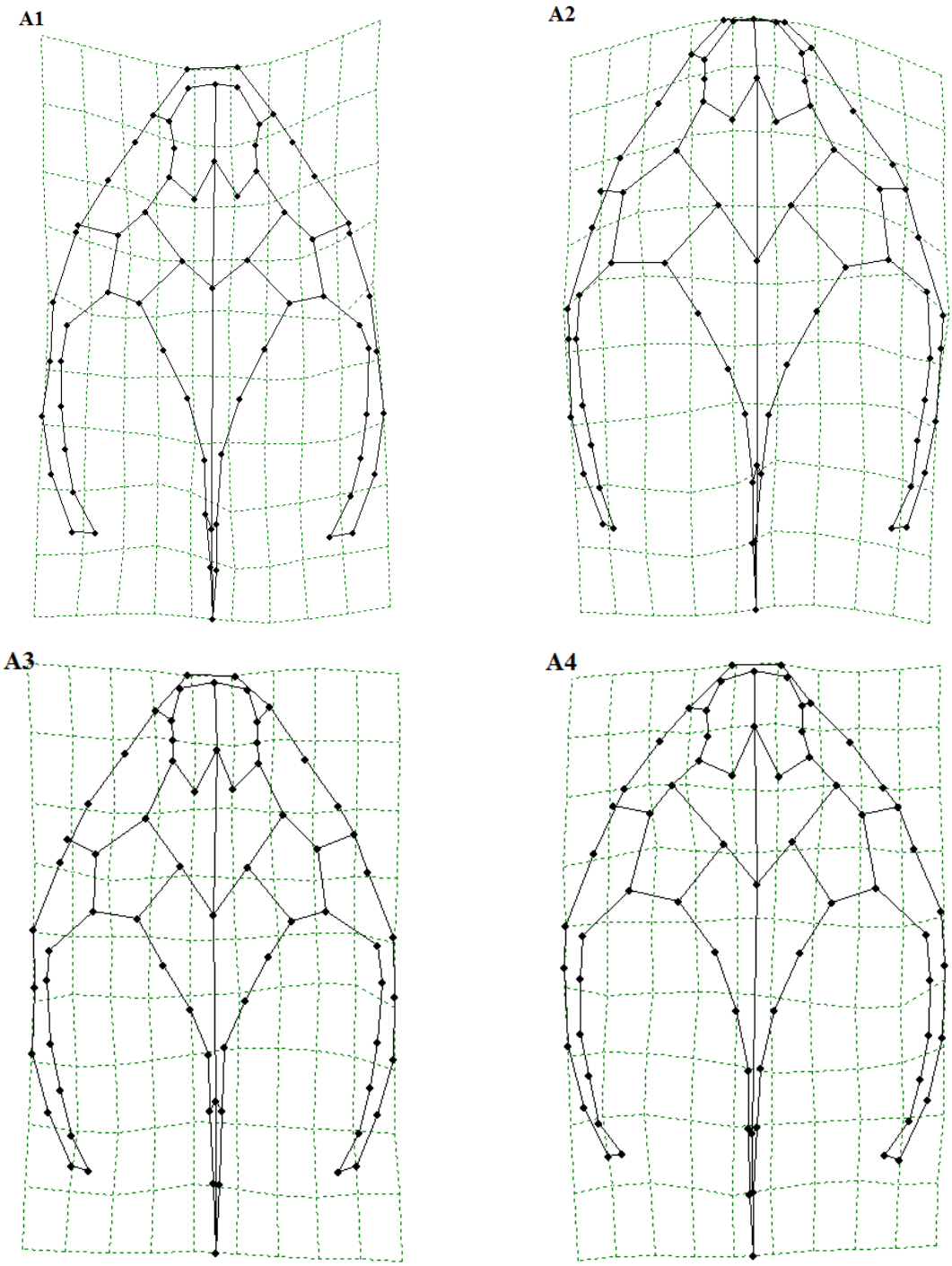
Tab. 1: Výsledky Procrustes ANOVA. V tabulce jsou uvedeny hodnoty F a p pro signifikanci velikosti, pohlaví a jejich interakci vzhledem ke tvaru lebky pro všechny zkoumané pohledy. Pokud je u interakce velikosti a pohlaví $p < 0,05$, je rozdíl ve tvarech lebky částečně způsoben nealometrickou složkou pohlavního dimorfismu.



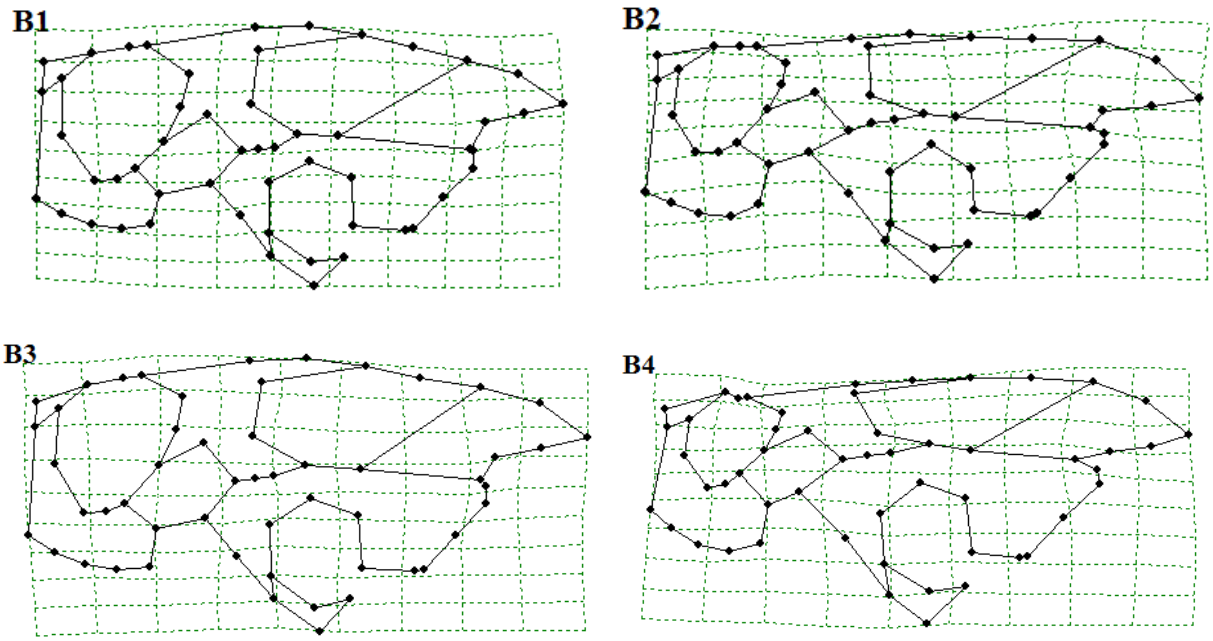
Obr. 21: Výsledek testu interakce velikost:pohlaví (test homogenity přímek). A) Pro pohled svrchu; B) pro pohled z levého boku; C) pro pohled zpředu. Černé čtverečky reprezentují samice, červené samce. Je vidět, že u A) a C) přímky nejsou rovnoběžné, což značí nealometrický vliv pohlaví na tvar lebky *T. s. elegans*. Z obrázku je také patrný velikostní pohlavní dimorfismus, a to konkrétně, že samice vždy dosahují větších velikostí, než samci.



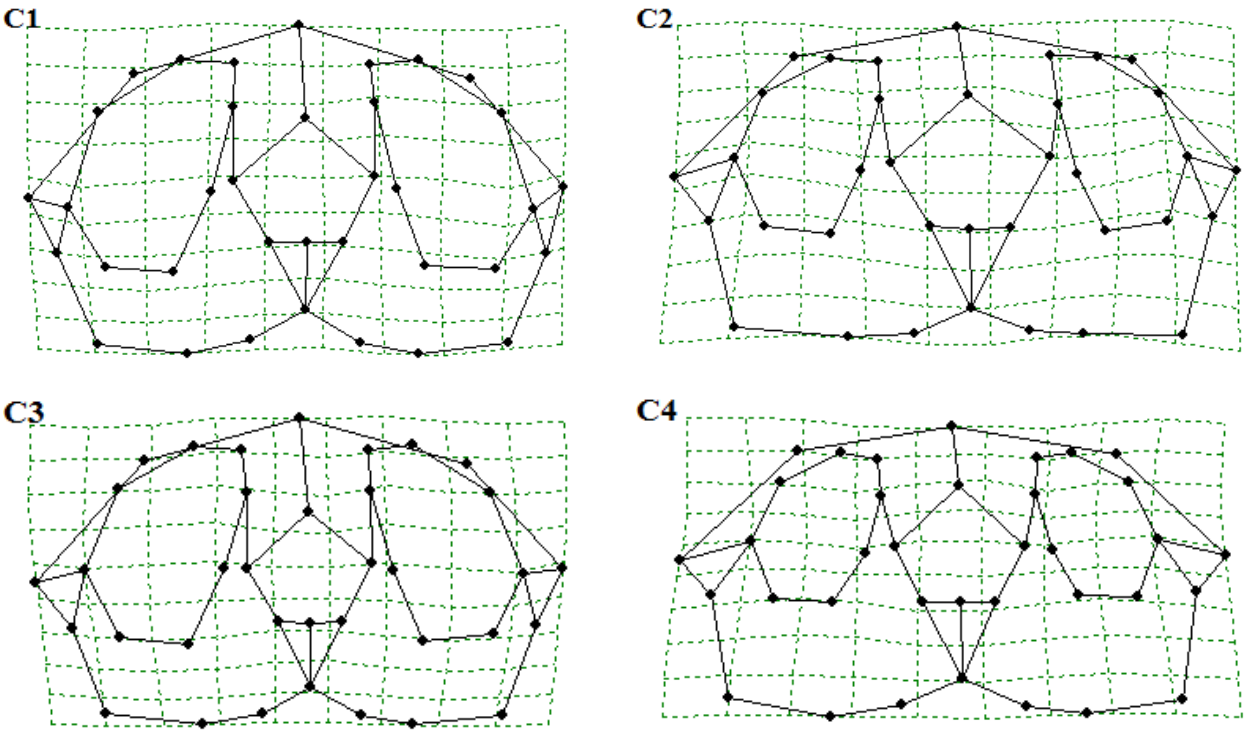
Obr. 22: Rozdíly ve tvaru lebky *T. s. elegans* mezi velkými a malými jedinci. A) svrchu; B) z levého zboku; C) zepředu. 1) malé lebky (~samci); 2) velké lebky (~samice).



Obr. 23: Srovnání tvaru malých a velkých lebek při pohledu svrchu. A1 a A3 jsou malé lebky, A2 a A4 velké; A1 a A2 jsou samci, A3 a A4 samice. Deformace tvaru jsou pro tento pohled 3x zvýrazněné.



Obr. 24: Srovnání tvaru malých a velkých lebek při pohledu z levého boku. B1 a B3 jsou malé lebky, B2 a B4 velké; B1 a B2 jsou samci, B3 a B4 samice.



Obr. 25: Srovnání tvaru malých a velkých lebek při pohledu zepředu. C1 a C3 jsou malé lebky, C2 a C4 velké; C1 a C2 jsou samci, C3 a C4 samice.

Modularita a integrace

Výsledky vlastních i převzatých modulových hypotéz jsou shrnuty v Tab. 2-8 níže. Z důvodu signifikantních rozdílů ve tvaru lebky mezi pohlavími pro pohledy svrchu a zpředu byly hypotézy modularity testovány pro každé pohlaví zvlášť (viz Tab. 2-4 a Tab. 6 a 7) i dohromady (viz Tab. 5 a 8).

Pro pohled svrchu vyšly signifikantní všechny převzaté modulové hypotézy, a to jak zvlášť pro samce a samice, tak i pro obě pohlaví dohromady (viz Tab. 2 a 5). Pro samice vyšly z tohoto pohledu vždy dva vrcholy histogramu (viz Obr. 26 a 29), což dle Sangera et al. (2012) může značit existenci dalšího modulu. Pro samce vyšly dva vrcholy histogramu pouze u hypotézy H_C (podle Cheveruda, 1982; viz Obr. 26 a 29), která obsahovala pouze dva moduly a byla tedy z testovaných hypotéz nejjednodušší.

Pro pohled z levého boku vyšly signifikantní, jak zvlášť pro samce a samice, tak pro obě pohlaví dohromady, převzaté modulové hypotézy H_B a H_G (viz Tab. 3 a 5). Převzatá modulová hypotéza H_C vyšla nesignifikantní pro obě pohlaví zvlášť i dohromady. U všech testů vyšel pouze jeden vrchol histogramu (viz Obr. 27 a 30).

Pro pohled zepředu vyšly signifikantní, jak zvlášť pro samce a samice, tak pro obě pohlaví dohromady, převzaté modulové hypotézy H_B a H_G (viz Tab. 4 a 5). Převzatá modulová hypotéza H_C vyšla nesignifikantní pro obě pohlaví zvlášť i dohromady. Pro samice vyšly z tohoto pohledu dva vrcholy histogramu pouze u hypotézy H_C (viz Obr. 28).

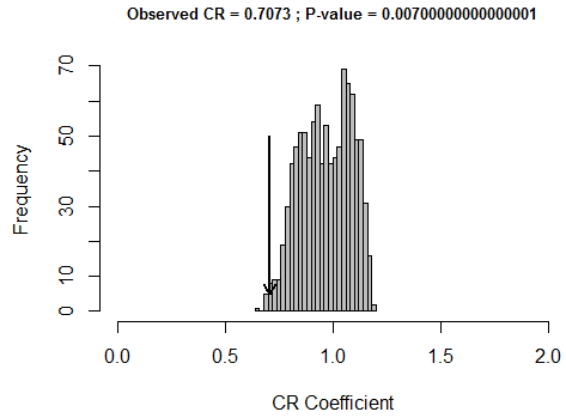
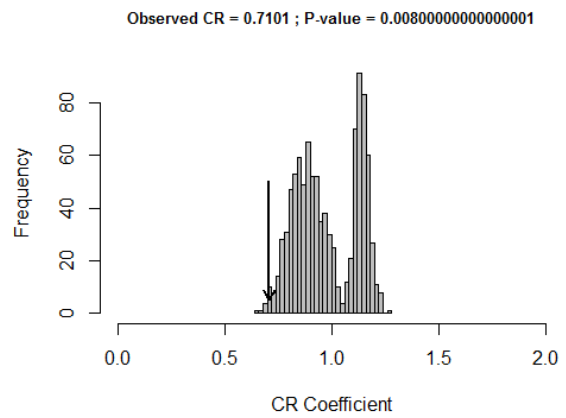
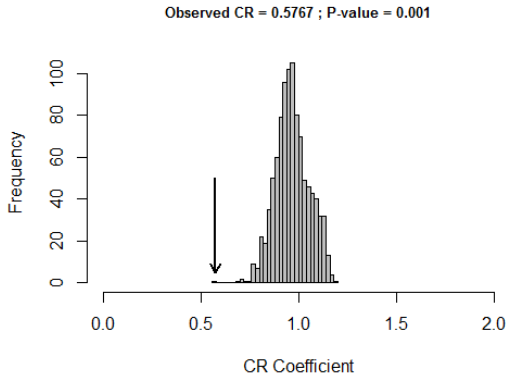
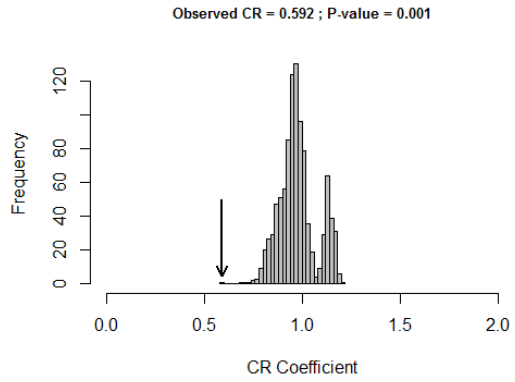
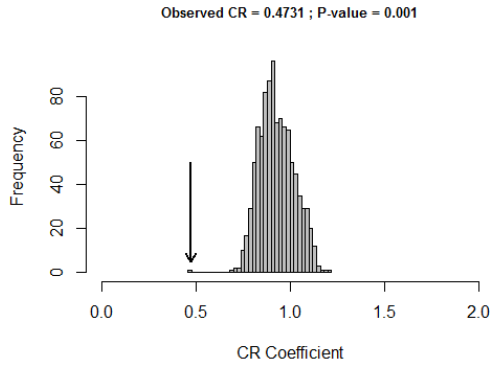
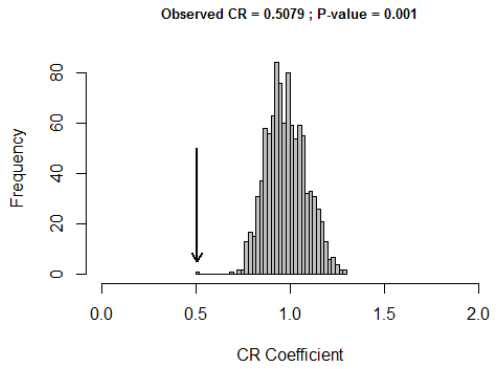
Dva vrcholy histogramu (viz Obr. 26, 28 a 29) značí možný chybějící modul v dané hypotéze (Sanger et al., 2012), a proto byl u hypotéz H_C a H_B dodán další modul převzatý z hypotézy H_G, která jich měla nejvíce, a to modul basikraniální (viz Obr. 19), protože ten představoval největší rozdíl mezi H_G a ostatními hypotézami. Z hypotézy H_C byla odvozena nová hypotéza H_1 a z hypotézy H_B hypotéza H_2, jejichž výsledky jsou uvedeny níže v Tab. 6-8 a na Obr. 32-34.

Pro pohled svrchu vyšly signifikantní obě odvozené modulové hypotézy, jak zvlášť pro samce a samice, tak pro obě pohlaví dohromady (viz Tab. 26 a 8). Pro samice vyšly z tohoto pohledu dva vrcholy histogramu pro obě hypotézy (viz Obr. 32), pro samce a obě pohlaví dohromady vyšel vždy jen jeden vrchol histogramu (viz Obr. 32 a 34).

Pro pohled z levého boku nevyšly signifikantní žádné převzaté modulové hypotézy, a to ani pro samce a samice zvlášť, ani pro obě pohlaví dohromady (viz Tab. 27 a 8). Pro všechny testované hypotézy vyšel pouze jeden vrchol histogramu (viz Obr. 33 a 34).

svrchu	samci	samice
H_C (2 moduly)	*p = 0,007	*p = 0,008
	CR = 0,7073	CR = 0,7101
	KI ~ 0,6419-0,8052	KI ~ 0,6627-0,7784
	dva vrcholy histogramu	dva vrcholy histogramu
H_B (3 moduly)	*p = 0,001	*p = 0,001
	CR = 0,5767	CR = 0,5920
	KI ~ 0,5710-0,7042	KI ~ 0,5786-0,6735
	jeden vrchol histogramu	dva vrcholy histogramu
H_G (5 modulů)	*p = 0,001	*p = 0,001
	CR = 0,4731	CR = 0,5079
	KI ~ 0,5010-0,6335	KI ~ 0,5145-0,5999
	jeden vrchol histogramu	dva vrcholy histogramu

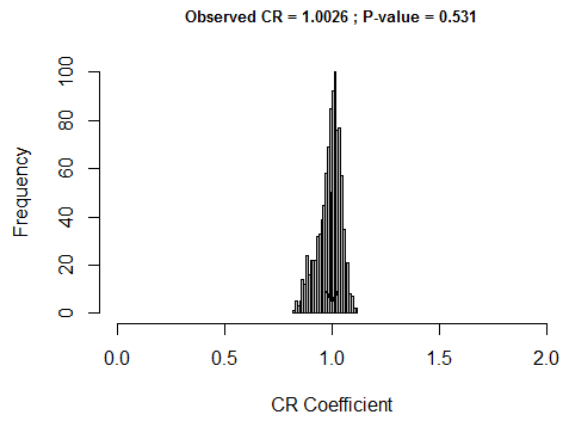
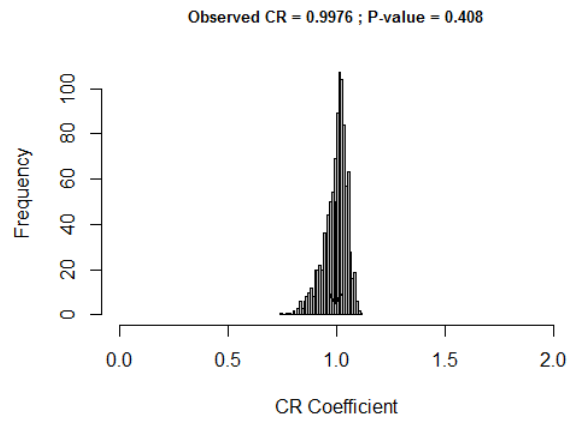
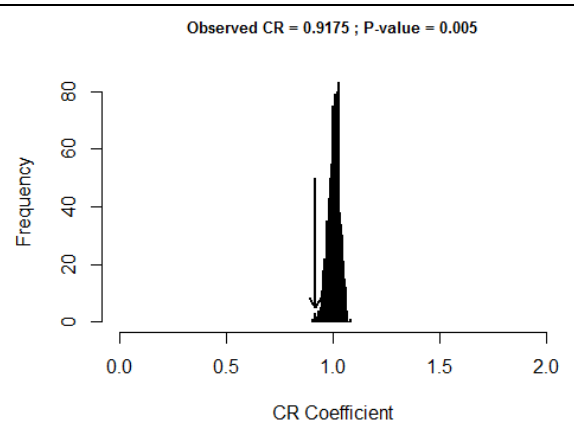
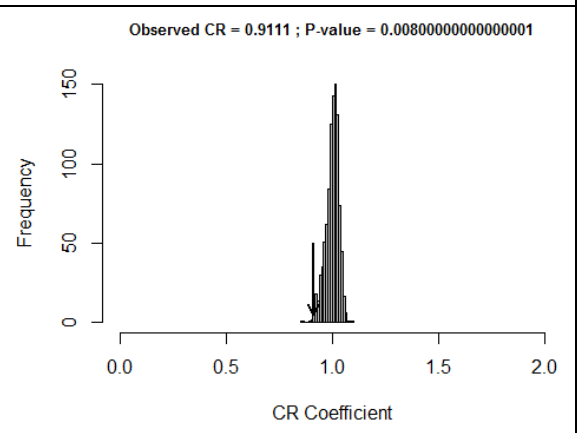
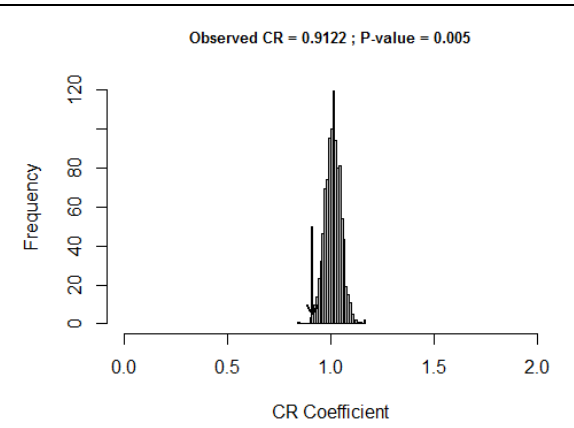
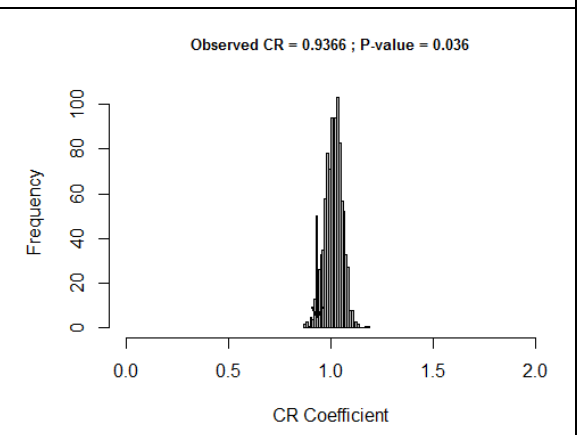
Tab. 2: Výsledky testování modularity pro samce a samice pro pohled svrchu. H_C je hypotéza podle Cheveruda (1982), viz Obr. 17; H_B je hypotéza podle Bevera (2009a), viz Obr. 18; H_G je hypotéza podle Goswami (2006), viz Obr. 19. Pro $p < 0,05$ je hypotéza signifikantní (viz hodnoty s *), CR je koeficient kovariance a KI je 95% konfidenční interval.

svrchu	samci	samice
H_C (2 m.)		
H_B (3 m.)		
H_G (5 m.)		

Obr. 26: Histogramy převzatých modulových hypotéz pro samce a samice pro pohled svrchu. Histogram představuje četnosti jednotlivých CR koeficientů pro 1000 náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů pro každou z testovaných hypotéz. Šipka ukazuje na pozorovanou hodnotu CR pro danou hypotézu, která je také napsána v horní části histogramu spolu s hodnotou p (viz Tab. 2).

z levého boku	samci	samice
H_C (2 moduly)	p = 0,531	p = 0,408
	CR = 1,0026	CR = 0,9976
	KI ~ 0,9666-1,0327	KI ~ 0,9601-1,0313
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu
H_B (3 moduly)	*p = 0,005	*p = 0,008
	CR = 0,9175	CR = 0,9111
	KI ~ 0,8617-0,9910	KI ~ 0,8643-0,9674
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu
H_G (5 modulů)	*p = 0,005	*p = 0,036
	CR = 0,9122	CR = 0,9366
	KI ~ 0,8783-0,9716	KI ~ 0,9083-0,9790
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu

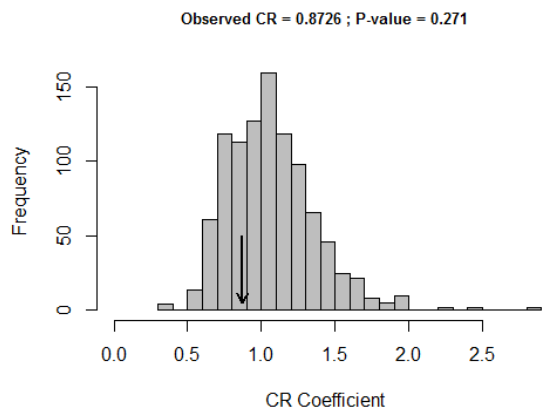
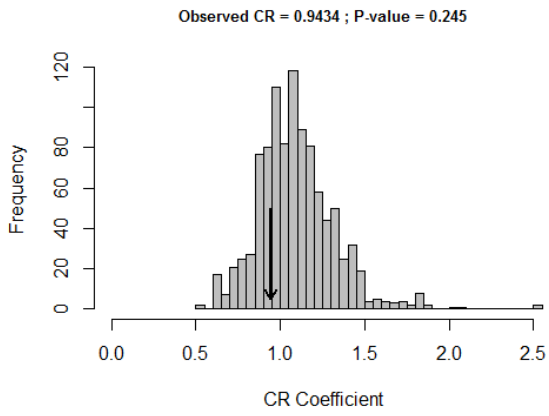
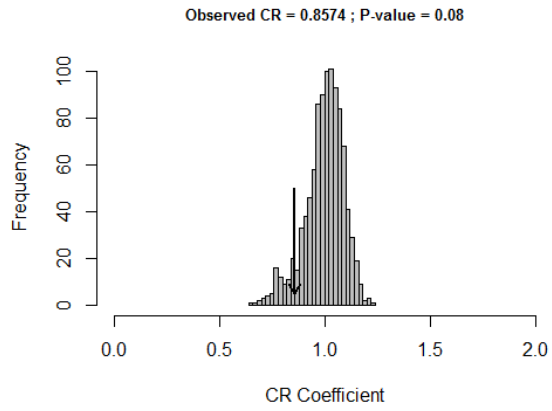
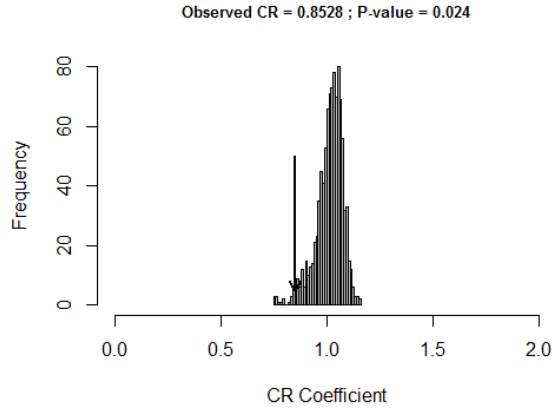
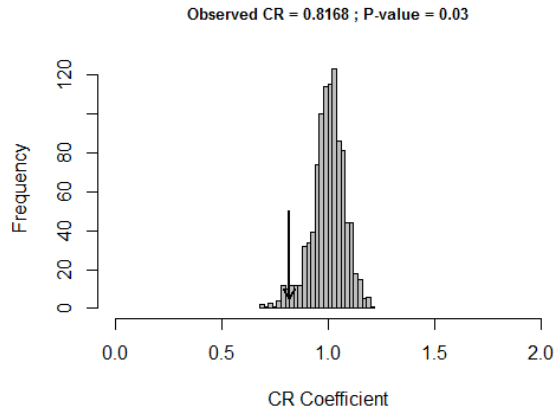
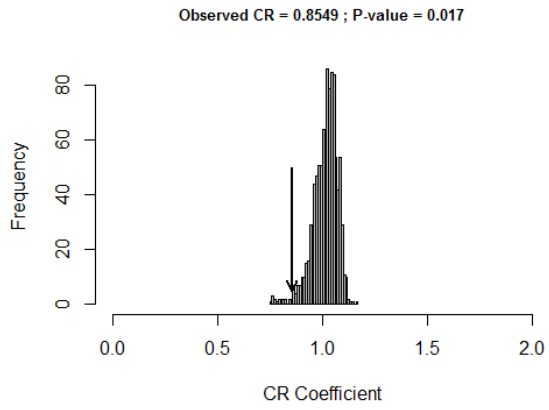
Tab. 3: Výsledky testování modularity pro samce a samice pro pohled z levého boku. H_C je hypotéza podle Cheveruda (1982), viz Obr. 17; H_B je hypotéza podle Bevera (2009a), viz Obr. 18; H_G je hypotéza podle Goswami (2006), viz Obr. 19. Pro $p < 0,05$ je hypotéza signifikantní (viz hodnoty s *), CR je koeficient kovariance a KI je 95% konfidenční interval.

z levého boku	samci	samice
H_C (2 m.)		
H_B (3 m.)		
H_G (5 m.)		

Obr. 27: Histogramy převzatých modulových hypotéz pro samce a samice pro pohled z levého boku. Histogram představuje četnosti jednotlivých CR koeficientů pro 1000 náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů pro každou z testovaných hypotéz. Šipka ukazuje na pozorovanou hodnotu CR pro danou hypotézu, která je také napsána v horní části histogramu spolu s hodnotou p (viz Tab. 3).

zepředu	samci	samice
H_C (2 moduly)	p = 0,271	p = 0,245
	CR = 0,8726	CR = 0,9976
	KI ~ 0,7460-0,9702	KI ~ 0,8656-1,0053
	jeden vrchol histogramu	dva vrcholy histogramu
H_B (3 moduly)	*p = 0,080	*p = 0,024
	CR = 0,8574	CR = 0,8528
	KI ~ 0,8040-0,9339	KI ~ 0,8003-0,9121
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu
H_G (5 modulů)	*p = 0,030	*p = 0,017
	CR = 0,8168	CR = 0,8549
	KI ~ 0,7620-0,9246	KI ~ 0,8171-0,9094
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu

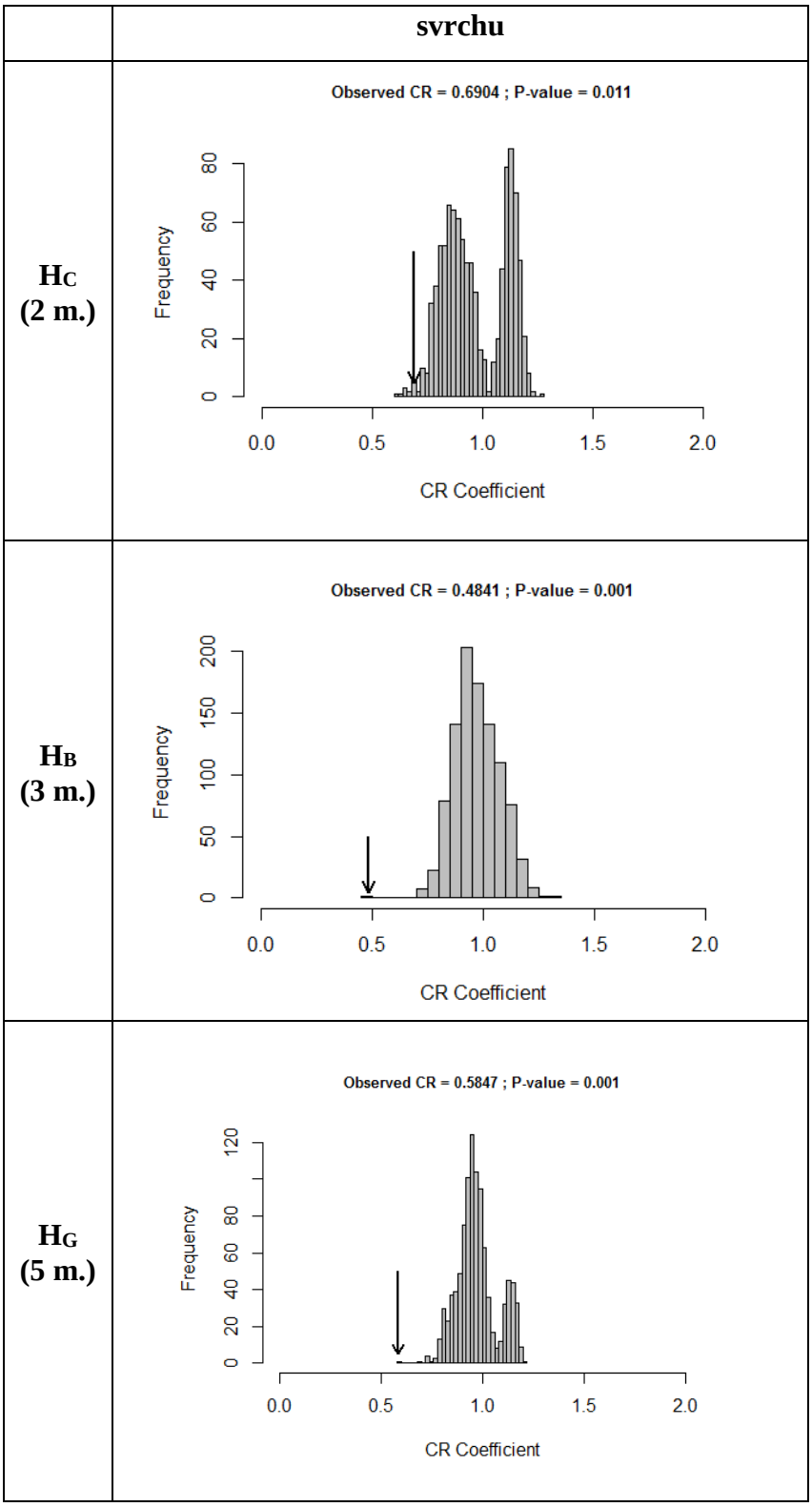
Tab. 4: Výsledky testování modularity pro samce a samice pro pohled zepředu. H_C je hypotéza podle Cheveruda (1982), viz Obr. 17; H_B je hypotéza podle Bevera (2009a), viz Obr. 18; H_G je hypotéza podle Goswami (2006), viz Obr. 19. Pro $p < 0,05$ je hypotéza signifikantní (viz hodnoty s *), CR je koeficient kovariance a KI je 95% konfidenční interval.

zepředu	samci	samice
H_C (2 m.)		
H_B (3 m.)		
H_G (5 m.)		

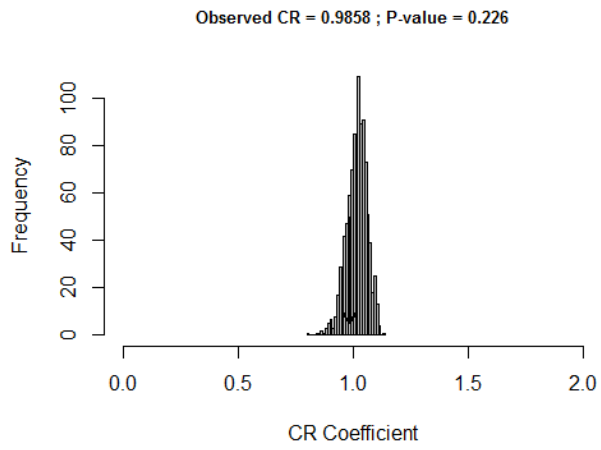
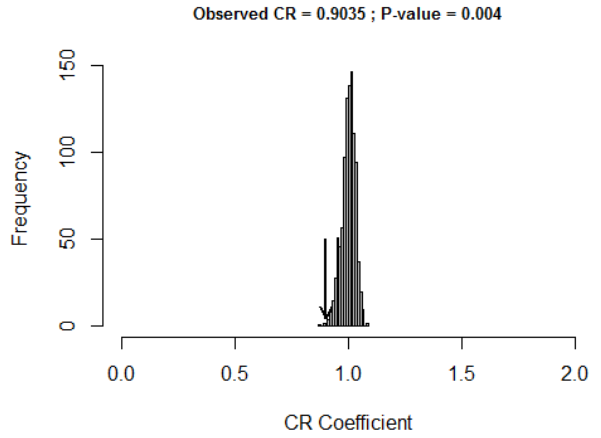
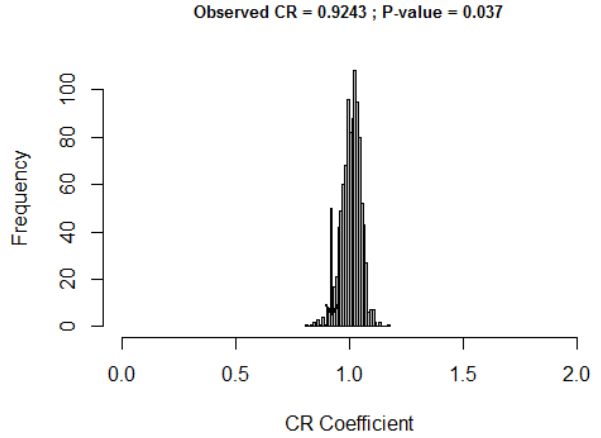
Obr. 28: Histogramy převzatých modulových hypotéz pro samce a samice pro pohled zepředu. Histogram představuje četnosti jednotlivých CR koeficientů pro 1000 náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů pro každou z testovaných hypotéz. Šipka ukazuje na pozorovanou hodnotu CR pro danou hypotézu, která je také napsána v horní části histogramu spolu s hodnotou p (viz Tab. 4).

hypotézy	svrchu	zboku	zepředu
H_C (2 moduly)	*p = 0,011	p = 0,226	p = 0,219
	CR = 0,6904	CR = 0,9858	CR = 0,8764
	KI ~ 0,6568-0,7403	KI ~ 0,9595-1,0104	KI ~ 0,8073-0,9365
	dva vrcholy histogramu	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu
H_B (3 moduly)	*p = 0,001	*p = 0,004	*p = 0,030
	CR = 0,5847	CR = 0,9035	CR = 0,8546
	KI ~ 0,5738-0,6423	KI ~ 0,8724-0,9456	KI ~ 0,8073-0,9365
	dva vrcholy histogramu	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu
H_G (5 modulů)	*p = 0,001	*p = 0,037	*p = 0,018
	CR = 0,4841	CR = 0,9243	CR = 0,8332
	KI ~ 0,4777-0,5593	KI ~ 0,8981-0,9553	KI ~ 0,8053-0,8765
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu

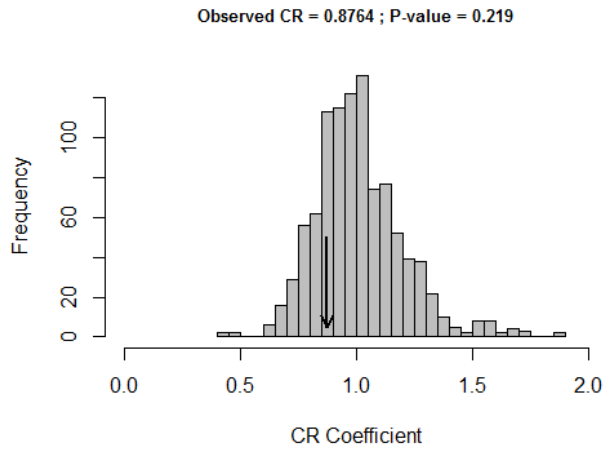
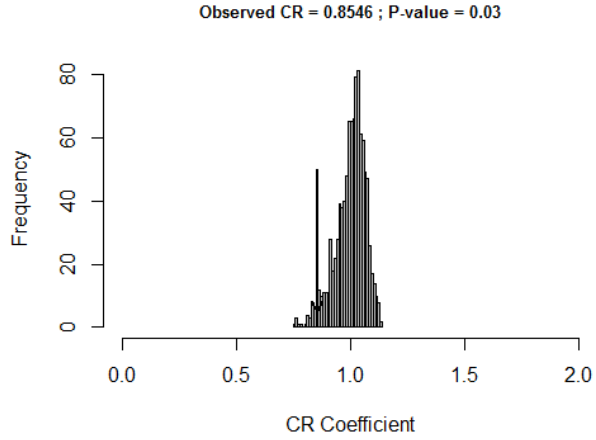
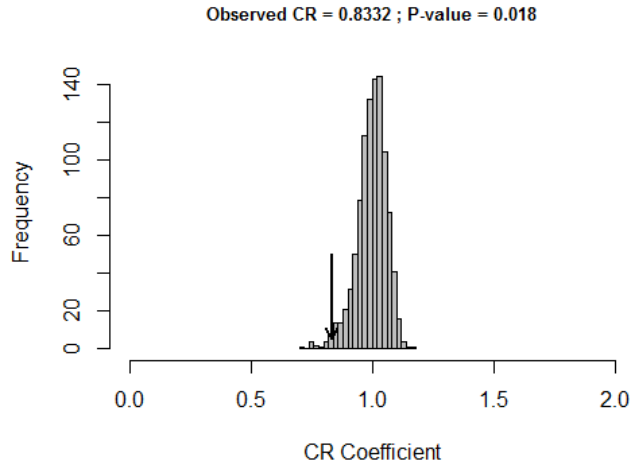
Tab. 5: Výsledky testování modularity pro obě pohlaví. H_C je hypotéza podle Cheveruda (1982), viz Obr. 17; H_B je hypotéza podle Bevera (2009a), viz Obr. 18; H_G je hypotéza podle Goswami (2006), viz Obr. 19. Pro $p < 0,05$ je hypotéza signifikantní (viz hodnoty s *), CR je koeficient kovariance a KI je 95% konfidenční interval.



Obr. 29: Histogramy převzatých modulových hypotéz pro obě pohlaví pro pohled svrchu. Histogram představuje četnosti jednotlivých CR koeficientů pro 1000 náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů pro každou z testovaných hypotéz. Šipka ukazuje na pozorovanou hodnotu CR pro danou hypotézu, která je také napsána v horní části histogramu spolu s hodnotou p (viz Tab. 5).

	z levého boku
H_C (2 m.)	
H_B (3 m.)	
H_G (5 m.)	

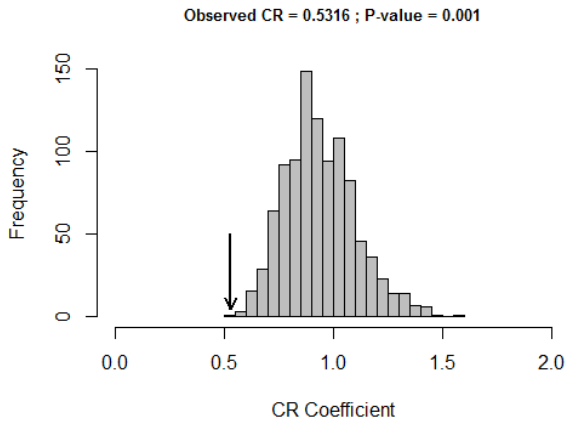
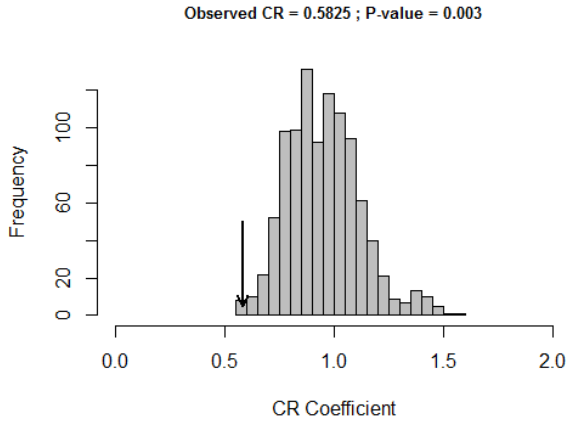
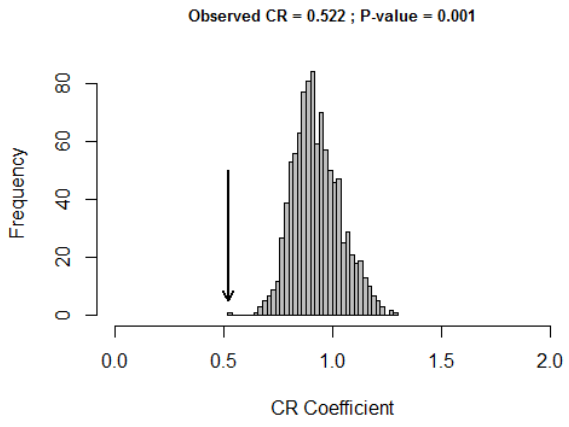
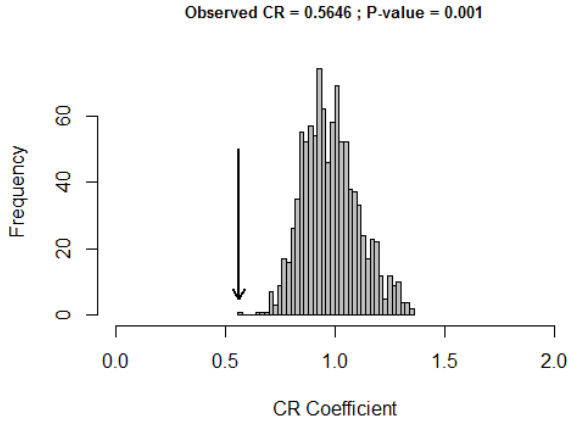
Obr. 30: Histogramy převzatých modulových hypotéz pro obě pohlaví pro pohled z levého boku. Histogram představuje četnosti jednotlivých CR koeficientů pro 1000 náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů pro každou z testovaných hypotéz. Šipka ukazuje na pozorovanou hodnotu CR pro danou hypotézu, která je také napsána v horní části histogramu spolu s hodnotou p (viz Tab. 5).

	zepředu
H_C (2 m.)	
H_B (3 m.)	
H_G (5 m.)	

Obr. 31: Histogramy převzatých modulových hypotéz pro obě pohlaví pro pohled zepředu. Histogram představuje četnosti jednotlivých CR koeficientů pro 1000 náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů pro každou z testovaných hypotéz. Šipka ukazuje na pozorovanou hodnotu CR pro danou hypotézu, která je také napsána v horní části histogramu spolu s hodnotou p (viz Tab. 5).

svrchu	samci	samice
H_1 (3 moduly)	*p = 0,001	*p = 0,003
	CR = 0,5316	CR = 0,5825
	KI ~ 0,5284-0,7087	KI ~ 0,5518-0,6911
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu
H_2 (4 moduly)	*p = 0,001	*p = 0,001
	CR = 0,5220	CR = 0,5646
	KI ~ 0,5440-0,6846	KI ~ 0,5492-0,6634
	jeden vrchol histogramu	dva vrcholy histogramu

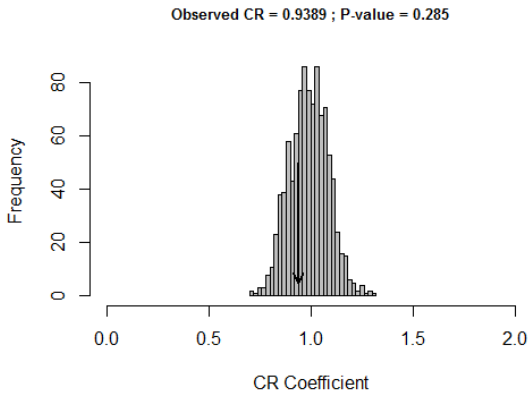
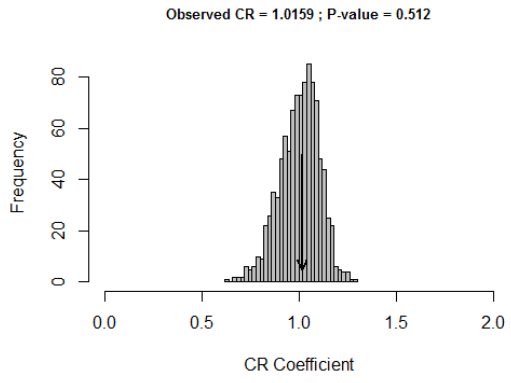
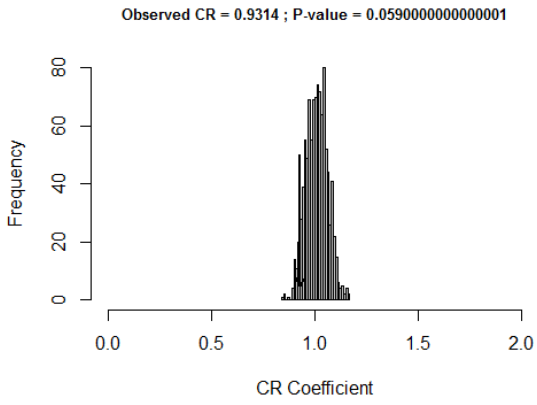
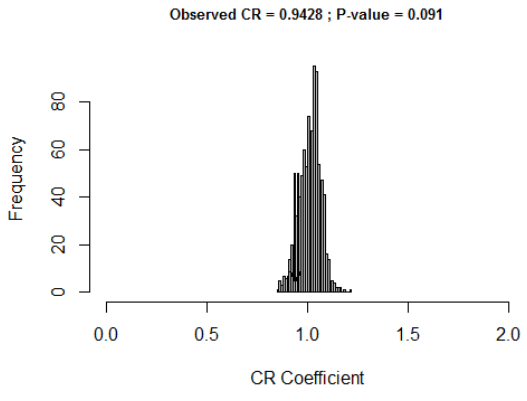
Tab. 6: Výsledky vlastních modulových hypotéz pro samce a samice pro pohled svrchu. Pro p < 0,05 je hypotéza signifikantní (viz hodnoty s *), CR je koeficient kovariance a KI je 95% konfidenční interval.

svrchu	samci	samice
H_1 (3 m.)		
H_2 (4 m.)		

Obr. 32: Histogramy vlastních modulových hypotéz pro samce a samice pro pohled svrchu. Histogram představuje četnosti jednotlivých CR koeficientů pro 1000 náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů. Šipka ukazuje na pozorovanou hodnotu CR pro danou hypotézu, která je také napsána v horní části histogramu spolu s hodnotou p (viz Tab. **6**).

z levého boku	samci	samice
H_1 (3 moduly)	p = 0,285	p = 0,512
	CR = 0,9389	CR = 1,0159
	KI ~ 0,8742-1,0031	KI ~ 0,9673-1,0652
	dva vrcholy histogramu	jeden vrchol histogramu
H_2 (4 moduly)	p = 0,059	p = 0,091
	CR = 0,9314	CR = 0,9428
	KI ~ 0,8768-0,9970	KI ~ 0,9032-0,9915
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu

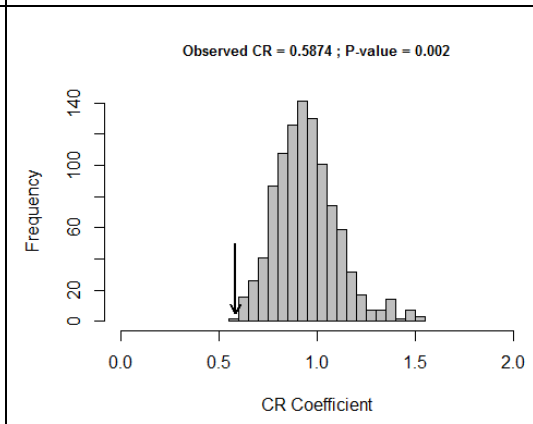
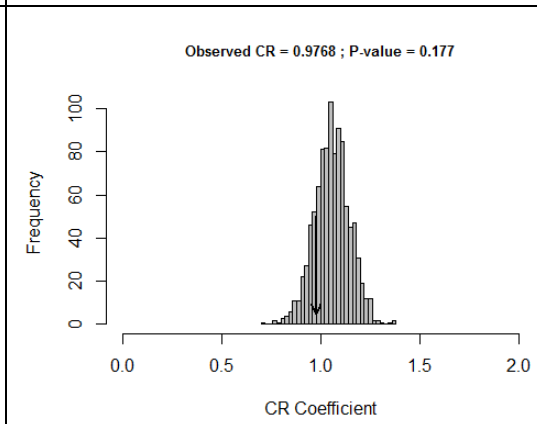
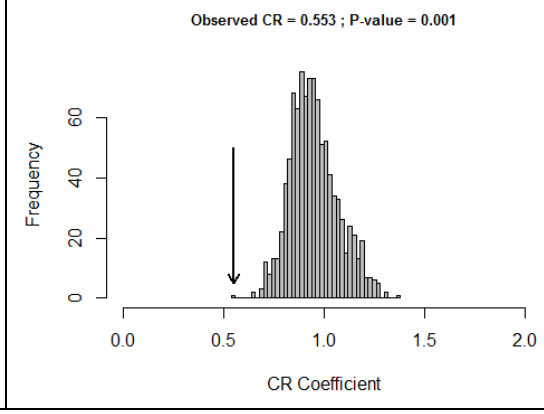
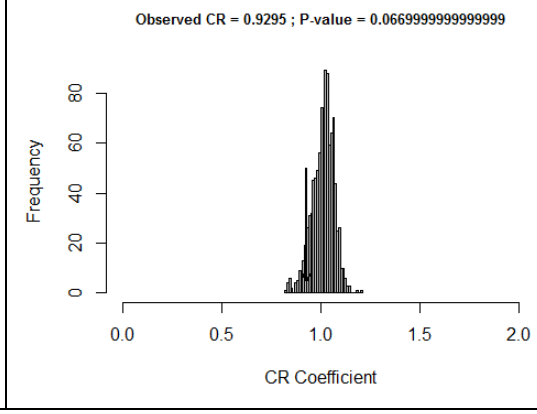
Tab. 7: Výsledky vlastních modulových hypotéz pro samce a samice pro pohled z levého boku. Pro $p < 0,05$ je hypotéza signifikantní (viz hodnoty s *), CR je koeficient kovariance a KI je 95% konfidenční interval.

z levého boku	samci	samice
H_1 (3 m.)		
H_2 (4 m.)		

Obr. 33: Histogramy vlastních modulových hypotéz pro samce a samice pro pohled z levého boku. Histogram představuje četnosti jednotlivých CR koeficientů pro 1000 náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů. Šipka ukazuje na pozorovanou hodnotu CR pro danou hypotézu, která je také napsána v horní části histogramu spolu s hodnotou p (viz Tab. 7).

hypotézy	svrchu	zboku
H_1 (3 moduly)	*p = 0,002	p = 0,177
	CR = 0,5874	CR = 0,9768
	KI ~ 0,5443-0,6783	KI ~ 0,9368-1,0140
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu
H_2 (4 moduly)	*p = 0,001	p = 0,067
	CR = 0,5530	CR = 0,9295
	KI ~ 0,5284-0,6272	KI ~ 0,8980-0,9647
	jeden vrchol histogramu	jeden vrchol histogramu

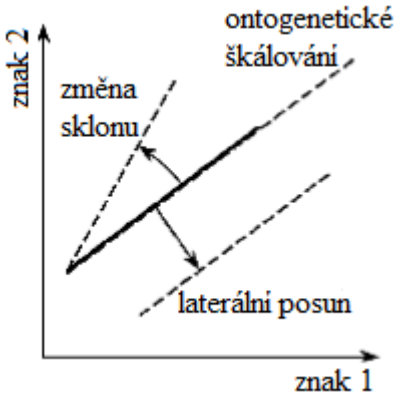
Tab. 8: Výsledky vlastních modulových hypotéz pro obě pohlaví. Hypotézy H_1 a H_2 se pro pohled zepředu využít nedaly, protože při něm není vidět zadní část hřebene želvy. Pro $p < 0,05$ je hypotéza signifikantní (viz hodnoty s *), CR je koeficient kovariance a KI je 95% konfidenční interval.

	svrchu	zboku
H_1 (3 m.)		
H_2 (4 m.)		

Obr. 34: Histogramy vlastních modulových hypotéz pro obě pohlaví. Histogram představuje četnosti jednotlivých CR koeficientů pro 1000 náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů. Šipka ukazuje na pozorovanou hodnotu CR pro danou hypotézu, která je také napsána v horní části histogramu spolu s hodnotou p (viz Tab. 8).

5. Diskuse

Lebka želvy *Trachemys scripta elegans* je co do tvaru pohlavně dimorfní. Hlavním mechanismem vzniku pozorovaného dimorfismu je posun v alometrických trajektoriích postnatální ontogeneze (viz Tab. 1, Obr. 21 a Obr. 35). Výsledky naznačují také přítomnost nealometrické složky pohlavního dimorfismu (viz Tab. 1 a Obr. 21), tj. změn tvaru lebky želv v postnatální ontogenezi, které nesledují společnou vývojovou trajektorii.



Obr. 35: Různé typy změn v alometrických růstových trajektoriích. V této práci je na Obr. 21 vidět jasný laterální posun mezi trajektoriemi samců a samic **(podle Klingenberg, 1998).**

Pro pohledy svrchu a zpředu je vidět (Obr. 21), že přímky vývojových trajektorií (modely predikované regresní přímky závislosti tvaru lebky na velikosti jedince) pro jednotlivá pohlaví nejsou zcela rovnoběžné. Lebky obou pohlaví *T. s. elegans* se tedy tvarově liší nejen pouze proto, že samice obecně dosahují větších velikostí než samci, ale i díky pohlavním rozdílům nezávislým na velikosti jedince. Přímky závislosti tvaru na velikosti jsou pro pohled zboku pro obě pohlaví rovnoběžné (Obr. 21).

Přímky ontogenetických trajektorií tvaru lebky pro pohled svrchu se s přibývající velikostí (stářím) jedince čím dál více přibližují k sobě. Samci a samice jsou si tedy z tohoto pohledu časem čím dál více tvarově podobní. Pro pohled zepředu je tomu naopak. U pohledu z levého boku jsou rozdíly mezi lebkami stejně velké u velkých i malých lebek. Na Obr. 22 je vidět, že největší rozdíly mezi velkými a malými lebkami *T. s. elegans* při pohledu svrchu jsou v celkovém protažení a zúžení parietálních kostí oproti zkrácení a rozšíření prefrontálních kostí se vzrůstající velikostí. Velikost očí je u větších lebek poměrově menší. Při pohledu z levého boku je se vzrůstající velikostí zjevné opět poměrové zmenšení očí, a naopak zmohutnění zygomatického oblouku a celkové protažení a zúžení lebečního hřebene a s ním i celé lebky.

U pohledu zepředu je se vzrůstající velikostí vidět celkové zploštění a rozšíření lebky a poměrové zmenšení očí.

Zmenšování očí v poměru k hlavě je ontogenetickým trendem u mnoha zvířat – mláďata mají tendenci mít velké oči a kulatou hlavu, které působí „roztomile“, zatímco dospělci mívají hlavu spíše protaženou (např. Kringelbach et al., 2016). Již Konrad Lorenz v roce 1943 popsal *Kindchenschema* neboli schéma dítěte, podle kterého jsou dětskými znaky napříč živočišnými druhy hlavně vysoké vypouklé čelo, velké oči, kulaté tváře a malý nos a ústa (Lorenz, 1943 in Brosch et al., 2007; také např. Lorenz, 1943 in Glocker et al., 2009). Novější studie přidávají ještě kulaté oči, úzkou bradu a čelist a vysoko položené obočí (Berry & McArthur, 1985).

Rozdíly mezi pohlavími pro pohled svrchu (Obr. 23) ukazují, že malé lebky obou pohlaví jsou si skutečně podobnější než velké lebky (srovnej s Obr. 21) – je zde pouze zřetelný posun ve tvaru švu mezi parietálními a frontálními kostmi. U samců je úhel tohoto švu spíše tupý a s věkem se zostřuje, u samic je ostrý od začátku a zůstává víceméně stejný. Frontální kosti se u samců značně prodlužují spolu s postorbitálními kostmi a zatlačují kosti ostatní. U samic se frontální kosti rozšiřují spíše do strany. Na Obr. 23 jsou tyto rozdíly 3x zvýrazněny, aby byly více patrné, ale ve skutečnosti nejsou příliš velké. Mnohem výraznější jsou rozdíly mezi malými a velkými lebkami obecně bez ohledu na pohlaví. Značné zúžení parietálních kostí u velkých lebek vyúsťuje v prodloužení okcipitálního hřebene, na který se upínají žvýkací svaly, stejně jako na zygomatický oblouk, což poukazuje na větší sílu skusu u velkých (dospělých) jedinců. Využití této větší síly nejspíše souvisí s ontogenetickým posunem ve složení potravy u této želvy, viz níže.

Při pohledu z levého boku (viz Obr. 24) je vidět, že samičí lebky mají celkově mohutnější zygomatický oblouk, a tedy i mohutnější úpony žvýkacích svalů. S věkem se distální konec *os postorbitale* u obou pohlaví protahuje nad *os squamosum*. Velké samice mají poměrově mnohem menší oči než velcí samci a mají také protáhlejší a plošší hřeben. U pohledu zpředu (viz Obr. 25) jsou větší rozdíly mezi pohlavími u malých lebek (viz Obr. 22), a to hlavně ve vysazenějších lícních kostech u samic. S věkem se ale tento rozdíl vyrovnává, a to nejspíše proto, že s přibývající velikostí se obě pohlaví více orientují na rostlinnou stravu a úpony žvýkacích svalů na lícních kostech a s nimi spojené změny na lebce jsou z tohoto pohledu nejvíce patrné.

Mohutnější žvýkací svalstvo dospělých jedinců *T. s. elegans* například může umožňovat lépe drtit schránky měkkýšů a získávat tak vápník pro tvorbu skořápek (viz výše; Dreslik, 1999). Jiní autoři zase tvrdili, že více vápníku potřebují právě mláďata, aby jim po vylíhnutí ztvrdl

krunýř (Clark & Gibbons, 1969), ale v pozdější studii tento větší přísun oproti rostlinné stravě prokázán nebyl (Bouchard & Bjorndal, 2005). U tohoto druhu želvy byl prokázán ontogenetický posun ve složení potravy, kdy se mladší jedinci živí převážně živočišnou a starší převážně rostlinnou stravou (Clark & Gibbons, 1969; Parmenter, 1980; Hart, 1983; Dreslik, 1999; Bouchard & Bjorndal, 2005). Tato změna může také způsobovat větší mohutnost zygomatického oblouku a okcipitálního hřebene u starších jedinců, protože k drcení rostlinné stravy je nutná větší síla v čelistech. Mláďata nejspíše preferují masitou potravu proto, že mají vyšší nároky na růst a z rostlin by nezískali dostatek potřebných živin – subadultní jedinci, kteří se živili korýši, rostli 3,2krát rychleji, než jedinci krmení okřehkem (Bouchard & Bjorndal, 2005). Mláďata potřebují rychle vyrůst, aby co nejdříve prošla nebezpečnou fází života a nejsou schopna tolik využívat energii z rostlinné potravy (Bouchard & Bjorndal, 2005). Samci navíc pohlavně dospívají s velikostí, takže je pro ně výhodně vyrůst co nejrychleji, a samice s věkem (viz výše, Gibbons et al., 1981), ale větší velikost je pro ně také výhodná, protože čím jsou větší, tím jsou ve větším bezpečí před predátory (McCauley & Bjorndal, 1999; Bouchard & Bjorndal, 2005). Pro dospělce je pak pravděpodobně výhodnější přejít na rostlinnou potravu (i když jsou stále oportunističtí omnivoři), protože pronásledování kořisti je pro ně příliš energeticky náročné, nejsou schopní dostatečně rychle manévrovat, a navíc je rostlin všude dostatek (Hart, 1983; McCauley & Bjorndal, 1999; Bouchard & Bjorndal, 2005).

Celkově mají lebky *T. s. elegans* během ontogeneze tendenci k protažení a zmohutnění. *Fossa temporalis* se zplošťuje a rozšiřuje a dává tak větší plochu zygomatickému oblouku i prostoru mezi okcipitálním hřebenem a sluchovou kapsulí, který je zcela vyplněn *Musculus adductor mandibulae externus* (Schumacher, 1973). Na zygomatický oblouk se zvnějšku upíná *M. depressor mandibulae* společně s *M. zygomatico mandibularis* a z vnitřní strany pak *M. pseudotemporalis, M. adductor mandibulae posterior* a *M. intramandibularis* (Schumacher, 1973), a tyto hlavní svaly společně ovládají celý žvýkací aparát želvy. Je zjevné, že čím větší prostor tyto svaly mají, tím silnější má želva skus, což nepochybně souvisí s ontogenetickým posunem složení potravy (viz výše).

Protože se změny tvaru v postnatální ontogenezi jednotlivých pohlaví liší, byly analýzy modularity prováděny pro obě pohlaví zvlášť (Obr. 26-28 a Tab. 2-4). Modularita lebky *T. s. elegans* byla prokázána pro všechny hypotézy při pohledu svrchu, dvě z pěti hypotéz při pohledu zboku a dvě ze tří hypotéz při pohledu zepředu.

Pohled svrchu byl pro analýzu modulů nejdetailnější (měl nejvíce landmarků) a byly při něm vidět všechny zkoumané moduly, ale pro hypotézu H_C a H_B u něj vycházely dva vrcholy histogramu četností CR koeficientů pro nulové rozložení modulů, což dle podobných výsledků u práce Sangera et al. (2012) zřejmě poukazovalo na přítomnost modulu, který v původní hypotéze nebyl zahrnut. Po přezkoumání H_C s přidaným basikraniálním modulem (neboli H_1) vyšla pravděpodobnostní hodnota existence takovéhoto modulového rozdělení lebky 5,5krát menší (a tedy pravděpodobnější) a výsledný histogram měl pouze jeden vrchol (viz Obr. 29). U stejně upravené hypotézy H_B (neboli H_2) vyšla pravděpodobnostní hodnota stejná, ale výsledný histogram měl také pouze jeden vrchol. Z tohoto výsledku se dá odhadnout, že basikraniální modul se nejspíše na lebce *T. s. elegans* skutečně nachází (viz Obr. 36), což je logické, protože okcipitální hřeben a s ním spojené lebeční struktury *(os supraoccipitale* a *os exoccipitale)* a úpony svalů mají stejný ontogenetický původ (vznikají z okcipitálních somitů, viz výše; Couly et al. 1993 a 2002; Chai & Maxson, 2006) a jsou významným znakem rozlišujícím různé druhy želv od sebe.

Při pohledu zboku byly ze tří převzatých modulových hypotéz signifikantní dvě, H_B a H_G. Hypotéza H_C nebyla signifikantní ani pro pohled zpředu a pro pohled svrchu měla nejvyšší (tedy nejméně pravděpodobnou) p hodnotu, zdá se tedy, že je pro želví lebku příliš jednoduchá, a tím pádem se na ní nachází více modulů než dva, viz též výše (trojí ontogenetický původ lebky; Couly et al. 1993 a 2002). Hypotézy H_1 a H_2 pro pohled zboku signifikantní nebyly, a to nejspíše kvůli Pinocchio efektu (Chapman, 1990). Tento efekt je způsobený GPA analýzou a rozděluje chyby v umístění landmarků rovnoměrně mezi všechny landmarky tak, že snižuje variabilitu kolem nepřesných landmarků, a naopak ji zvyšuje kolem těch přesných (von Cramon-Taubadel et al., 2007). Pinocchio efekt je silnější při analýzách protáhlých struktur (výrazně se lišících od kruhového tvaru), jako je například právě pohled z levého boku v této práci, protože v GPA analýze se využívá vzdálenost landmarků od společného těžiště, jehož pozice se u takovýchto tvarů mění mnohem více než u tvarů podobných kruhu (von Cramon-Taubadel et al., 2007). Výsledkem pro tuto práci může být falešně pozitivní signifikance *os supraoccipitale* jako samostatného modulu. Celkově vyšly nejnižší pravděpodobnostní hodnoty i nejnižší CR koeficienty (tedy nejvyšší signifikance i modularita) pro pohled svrchu,

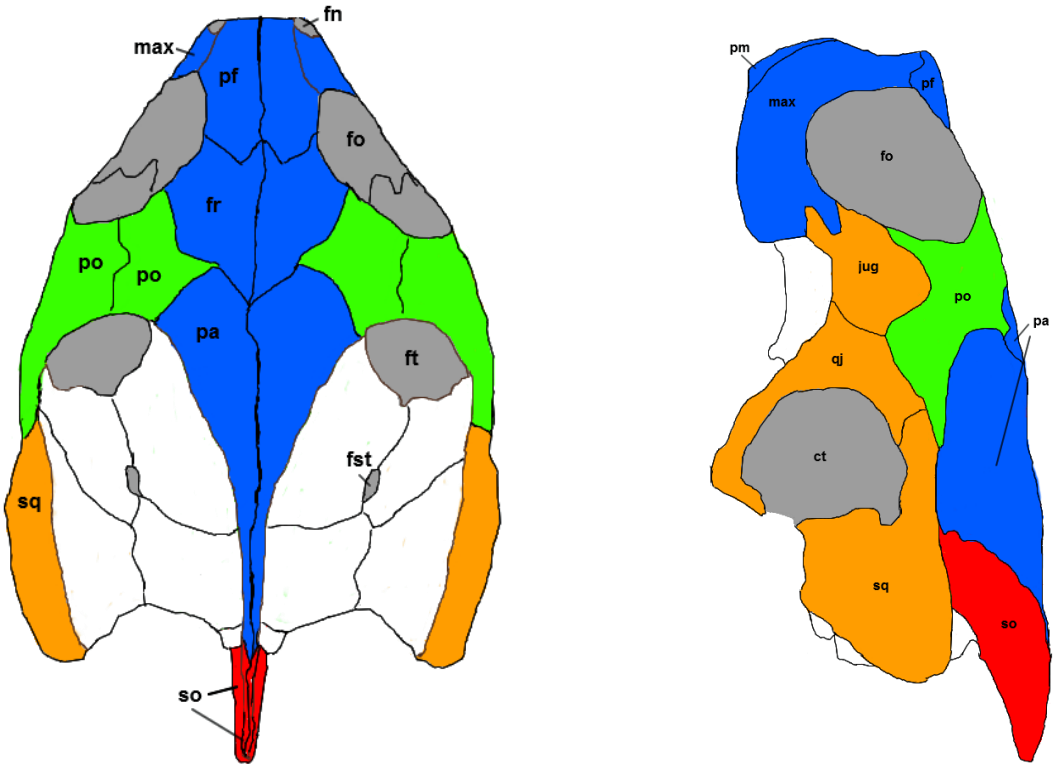
který se tvarově nejvíce blíží kruhu. U pohledu z levého boku vyšly hodnoty p i CR vždy nejvyšší, hodnoty pro pohled zpředu byly někde uprostřed, viz Tab. 2-8.

Výsledky modularity jsou podle pravděpodobnostních hodnot i CR koeficientů nejvíce v souladu s hypotézou H_G podle Goswami (2006) a celkově je patrné, že želví lebka je modulární a skládá se minimálně ze samostatné obličejové, centrální a basikraniální části, s možným dalším modulem v zygomaticko-pterygoidní oblasti, viz Obr. 36. V tomto případě se nejspíše jedná o moduly se stejným ontogenetickým původem a stejnou funkcí (smyslové orgány nacházející se v obličejové části, krycí dermální kosti v centrální části, okcipitální hřeben s úpony žvýkacích svalů v basikraniální části) viz výše (Couly et al., 1993 a 2002).

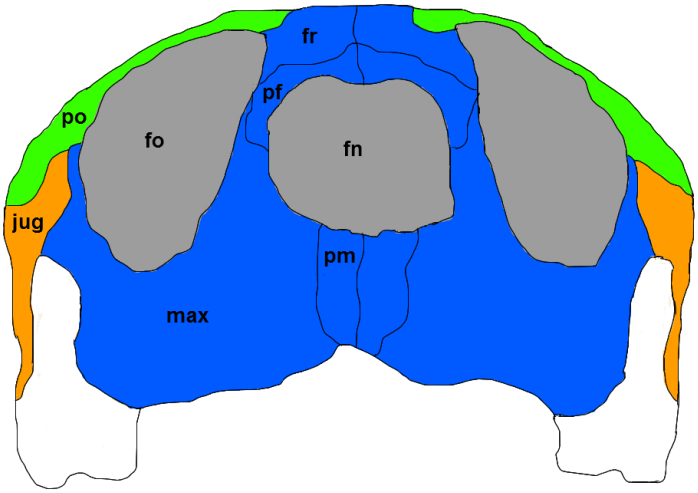
Výsledky této práce můžeme srovnat s obdobnou analýzou prováděnou na ještěrech rodu *Anolis* (Sanger et al., 2012). Sanger et al. (2012) tyto ještěry analyzovali pro pohled svrchu a použili několik modulových hypotéz pro různé druhy, přičemž tři hypotézy dělily lebku z tohoto pohledu na dva moduly (rozdělení bylo vždy na různé varianty neurokrania a viscerokrania) a jedna na tři moduly (s přidaným centrálním modulem), přičemž dvě z hypotéz dělící lebku na dva moduly byly převzaté ze stejné práce, jako zde hypotéza H_G (tedy podle Goswami, 2006), a všechny se snažily reflektovat ontogenetický původ jednotlivých částí lebky, stejně jako v této práci. Poslední hypotéza rozdělující lebku na tři části odrážela funkční rozdělení lebky těchto ještěrů (Sanger et al., 2012). Žádná z hypotéz nevyhovovala všem druhům zároveň, ale ukázalo se, že na lebky druhů s podobným tvarem hlavy sedí stejné modulové hypotézy, ať už jsou tyto druhy blízce příbuzné nebo ne, přičemž hypotéza se třemi moduly nejvíce odpovídala druhům s protáhlými hlavami, což poukazuje na vznik nového modulu při výrazné změně morfologie lebky v průběhu evoluce (Sanger et al., 2012). U druhu *Anolis cybotes* vycházely pro hypotézy se dvěma moduly dva vrcholy histogramu četnosti jednotlivých RV koeficientů pro soubor náhodných korelací mezi landmarky pro daný počet modulů (v této práci tomu odpovídají histogramy s CR koeficienty na Obr. 26-34), což je dle autorů způsobeno silnou korelací mezi landmarky umístěnými na neurokraniu a místem úponu přitahovačů spodní čelisti (Sanger et al., 2012). Hypotetické moduly obsahující tyto landmarky společně byly integrovanější než ty, ve kterých byly tyto landmarky zvlášť, což naznačuje, že pokud se v histogramech objeví více vrcholů, může existovat další modul, který se skládá právě z těchto velmi integrovaných landmarků (Sanger et al., 2012), což byl důvod pro vznik testovaných modulů H_1 a H_2 v této práci.

svrchu CR = 0,5530

z levého boku CR = 0,9295



zepředu CR = 0,8332



Obr. 36: Výsledné moduly dle hypotézy H_2 na lebce *T. s. elegans*. Při pohledu svrchu, zboku a zepředu (vlastní kresba). Legenda: Modrá – obličejový, zelená – centrální, červená – basikraniální, oranžová – zygomaticko-pterygoidní. Popisky jednotlivých kostí viz Obr. 12, 14 a 16. V horní části obrázku jsou hodnoty CR koeficientu pro tuto hypotézu (H_2) pro pohled svrchu a z levého boku, zepředu basikraniální modul není vidět, a proto pro tento pohled hypotéza H_2 nebyla testována – místo toho je u tohoto pohledu uvedena CR hodnota hypotézy H_G.

6. Závěr

Tato práce se zabývala zjištěním přítomnosti pohlavního dimorfismu a modularity na lebce želvy nádherné, *Trachemys scripta elegans,* pomocí metod geometrické morfometriky.

Analýzou 245 dospělých jedinců této želvy se zde podařilo prokázat, že hlavním mechanismem vzniku pohlavního dimorfismu ve tvaru lebky je sdílená alometrie. Z výsledků je navíc patrné, že během raného vývoje lebky dochází k laterálnímu posunu růstových trajektorií tvaru lebky samců a samic. Dále se ukázalo, že pro některé části lebky hraje roli ve tvarovém pohlavním dimorfismu i další, v současné chvíli neznámý faktor. Tímto faktorem mohou být například hormony nebo odlišná ekologie pohlaví. Různá mohutnost zygomatického oblouku by ukazovala spíše na ekologickou potravní diferenciaci pohlaví. V tomto ohledu by jistě byly přínosné další práce sledující pouze tuto oblast, případně i mohutnost spodní čelisti.

Dále se podařilo ukázat, že přestože je lebka želv velmi kompaktní struktura, je tvořena několika moduly, z nichž nejvýraznější je „hřeben“ na lebce, který se projevil, pokud v analýzách nebyl zahrnut jako zvláštní modul. Další moduly jsou obličejový, centrální a zygomaticko-pterygoidní, které zřejmě reflektují vývojové procesy v ontogenezi struktury lebky *T. s. elegans.* Modularita by se dala dále prozkoumat i z dalších pohledů – například zespodu případně též na spodní čelisti, kde by jistě byly vidět další znaky a možné modulární struktury.

7. Citovaná literatura

Adams DC (2016) Evaluating modularity in morphometric data: challenges with the RV coefficient and a new test measure. *Methods in ecology and evolution*, 7(5): 565-572.

Adams DC, Rohlf FJ, Slice DJ (2004) Geometric morphometrics: Ten years of progress following the 'Revolution'. *Italian Journal of Zoology*, 71(1): 5-16.

Adams DC, Collyer M, Kaliontzopoulou A, Sherratt E (2017) Geomorph: software for geometric morphometric analyses, R package version 3.0. 5.

Berry DS, McArthur LZ (1985) Some components and consequences of a babyface. *Journal of Personality and Social Psychology*, 48(2), 312-323.

Berry JF, Shine R (1980) Sexual size dimorphism and sexual selection in turtles (order Testudines). *Oecologia*, 44(2): 185-191.

Bever GS (2009a) Postnatal ontogeny of the skull in the extant North American turtle *Sternotherus odoratus* (Cryptodira: Kinosternidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 330: 1-97.

— (2009b) The Postnatal skull of the extant north american turtle *Pseudemys texana* (Cryptodira: Emydidae), with comments on the study of discrete intraspecific variation. *Journal of Morphology*, 270(1): 97-128.

Bolker JA (2000) Modularity in development and why it matters to Evo-Devo. *American Zoologist*, 40(5): 770-776.

Bonnet X, Lagarde F, Henen BT, Corbin J, Nagy KA, Naulleau G, Balhoul K, Chastel O, Legrand A, Cambag R (2001) Sexual dimorphism in steppe tortoises *(Testudo horsfieldii)*: influence of the environment and sexual selection on body shape and mobility. *Biological Journal of the Linnean Society*, 72(3): 357-372.

Bouchard SS, Bjorndal KA (2005) Ontogenetic diet shifts and digestive constraints in the omnivorous freshwater turtle *Trachemys scripta. Physiological and Biochemical Zoology*, 79(1): 150-158.

Brosch T, Sander D, Scherer KR (2007) That baby caught my eye... Attention capture by infant faces. *Emotion*, 7(3), 685-689.

Bulté G, Irschick DJ, Blouin-Demers G (2008) The reproductive role hypothesis explains trophic morphology dimorphism in the northern map turtle. *Functional Ecology*, 22(5): 824-830.

Cagle FR (1946) The Growth of the slider turtle, *Pseudemys scripta elegans*. *American Midland Naturalist*, 36(3) 685-729.

— (1950) The Life history of the slider turtle, *Pseudemys scripta troostii* (Holbrook). *Ecological Monographs*, 20(1): 31-54.

Callebaut W, Rasskin-Guttman D (2005) *Modularity: Understanding the development and evolution of natural complex systems.* Cambridge, MA: The MIT Press.

Cardini A, Polly PD (2013) Larger mammals have longer faces because of size-related constraints on skull form. *Nature Communications,* doi: 10.1038/ncomms3458.

Ceballos CP, Adams DC, Iverson JB, Valenzuela N (2012) Phylogenetic patterns of sexual size dimorphism in turtles and their implications for Rensch's rule. *Evolutionary biology,* 40(2): 194-208.

Clark B, Gibbons JW (1969) Dietary shift in the turtle *Pseudemys scripta* (Schoepff) from youth to maturity. *Copeia,* 1969(4): 704-706.

Claude J, Pritchard PCH, Tong H, Paradis E, Auffray J-C (2004) Ecological correlates and evolutionary divergence in the skull of turtles: A Geometric morphometric assessment. *Systematic Biology,* 53(6): 933-948.

Congdon JD, Gibbons JW (1987) Morphological constraint on egg size: A Challenge to optimal egg size theory? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 84(12): 4145-4147.

Couly GF, Coltey PM, Le Douarin NM (1993) The triple origin of skull in higher vertebrates: a study in quail-chick chimeras. *Development,* 1993(117): 409-429.

Couly G, Creuzet S, Bennaceur S, Vincent C, Le Douarin NM (2002) Interactions between Hox-negative cephalic neural crest cells and the foregut endoderm in patterning the facial skeleton in the vertebrate head. *Development,* 2002(129): 1061-1073.

Crawford NG, Faircloth BC, McCormack JE, Brumfield RT, Winker K, Glenn TC (2012) More than 1000 ultraconserved elements provide evidence that turtles are the sister group of archosaurs. *Biology Letters,* 8(5): 783-786.

Crawford NG, Parham JF, Sellas AB, Faircloth BC, Glenn TC, Papenfuss TJ, Henderson JB, Hansen MH, Simison WB (2015) A phylogenomic analysis of turtles. *Molecular Phylogenetics and Evolution,* 83(2015): 250-257.

Darwin C (2003) *The Origin of Species.* New York: Signet Classics.

Depew MJ, Simpson CA (2006) 21st Century neontology and the comparative development of the vertebrate skull. *Developmental dynamics,* 235(5): 1256-1291.

Dreslik M (1999) Dietary notes on the red-eared slider *(Trachemys scripta)* and river cooter *(Pseudemys concinna)* from Southern Illinois. *Transactions of the Illinois State Academy of Science,* 92(3, 4): 233-241.

Elinson RP, Kao KR (1993) Axis specification and head induction in vertebrate embryos, *in* Hanken J, Hall BK (ed) *The Skull Volume 1.* Chicago a Londýn: The University of Chicago Press, s. 1-41.

Emerson SB, Bramble DM (1993) Scaling, allometry and skull design, *in* Hanken J, Hall BK (ed) *The Skull, Volume 3.* Chicago a Londýn: The University of Chicago press, s. 384-421.

Esteve-Altava B (2017) In search of morphological modules: a systematic review. *Biological Reviews,* 92(3): 1332-1347.

Ewert MA, Nelson CE (1991) Sex determination in turtles: Diverse patterns and some possible adaptive values. *Copeia*, 1991(1): 50-69.

Field DJ, Gauthier JA, King BL, Pisani D, Lyson TR, Peterson KJ (2014) Toward consilience in reptile phylogeny: miRNAs support an archosaur, not lepidosaur, affinity for turtles. *Evolution & Development*, 16(4): 189-196.

Fong JJ, Brown JM, Fujita MK, Boussau B (2012) A phylogenomic approach to the vertebrate phylogeny supports a turtle-archosaur affinity and a possible paraphyletic Lissamphibia. *PLoS ONE,* doi: 10.1371/journal.pone.0048990.

Forsman A, Shine R (1995) Sexual size dimorphism in relation to frequency of reproduction in turtles (Testudines: Emydidae). *Copeia*, 1995(3): 727-729.

Gaffney ES (1972) An Illustrated glossary of turtle skull nomenclature. *American Museum Novitates,* 2486: 1-32.

Gibbons JW, Semlitsch RD, Greene JL, Schubauer JP (1981) Variation in age and size at maturity of the slider turtle *(Pseudemys scripta)*. *American naturalist,* 117: 841-845.

Gibbons JW, Lovich JE (1990) Sexual dimorphism in turtles with emphasis on the slider turtle *(Trachemys scripta)*. *Herpetological Monographs*, 1990(4): 1-29.

Glocker ML, Langleben DD, Ruparel K, Loughead JW, Gur RC, Sachser N (2009) Baby schema in infant faces induces cuteness perception and motivation for caretaking in adults. *Ethology,* 115: 257–263.

Goethe JW (1820) *Zur Naturwissenschaft überhaupt, besonders zur Morphologie. I.* Cotta, Stuttgart & Tübingen.

Goswami A (2006) Cranial modularity shifts during mammalian evolution. *The American Naturalist*, 168(2): 270-280.

Gould SJ (1966) Allometry and size in ontogeny and phylogeny. *Biological Reviews,* 41(4): 587-638.

Hallgrímsson B, Jamniczky H, Young NM, Rolian C, Parsons TE, Boughner JC, Marcucio RS (2009) Deciphering the palimpsest: Studying the relationship between morphological integration and phenotypic covariation. *Evolutionary Biology*, 36(4): 355-376.

Hart DR (1983) Dietary and habitat shift with size of red-eared slider turtles *(Pseudemys scripta)* in a Southern Louisiana population. *Herpetologica,* 39(3): 285-290.

Hays KA, McBee K (2010) Population demographics of red-eared slider turtles *(Trachemys scripta)* from Tar Creek Superfund site. *Journal of Herpetology*, 44(3): 441-446.

Hedrick AV, Temeles EJ (1989) The Evolution of sexual dimorphism in animals: Hypotheses and tests. *Trends in Ecology and Evolution*, 4(5): 136-138.

Herring SW (1993) Formation of the vertebrate face: Epigenetic and functional influences. *American Zoologist*, 33(4): 472-483.

Hirasawa T, Kuratani S (2015) Evolution of the vertebrate skeleton: morphology, embryology, and development. *Zoological Letters*, 1(2).

Chai Y, Maxson RE (2006) Recent advances in craniofacial morphogenesis. *Developmental dynamics*, 235(9): 2353-2375.

Chapman R (1990) Conventional Procrustes approaches *in* Rohlf FJ, Bookstein FL (ed) *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop (Special publication No. 2).* Ann Arbor: University of Michigan Museum of Zoology, s. 251–267.

Cheverud JM (1982) Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution*, 36(3): 499-516.

— (1996) Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *American Zoologist*, 36(1): 44-50.

Klingenberg CP (**1998)** Heterochrony and allometry: the analysis of evolutionary change in ontogeny. *Biological Reviews*, 73(1): 79-123.

— (2008) Morphological integration and developmental modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 39: 115-132.

— (**2013)** Cranial integration and modularity: insights into evolution and development from morphometric data. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24(1): 43-58.

— (2014) Studying morphological integration and modularity at multiple levels: concepts and analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 369: 20130249.

—, Spence JR (1993) Heterochrony and allometry: Lessons from the water strider genus *Limnoporus*. *Evolution*, 47(6): 1834-1853.

Krenz JG, Naylor GJP, Shaffer JB, Janzen FJ (2005) Molecular phylogenetics and evolution of turtles. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(1): 178-191.

Kringelbach ML, Stark EA, Alexander C, Bornstein MH, Stein A (2016) On Cuteness: Unlocking the parental brain and beyond. *Trends in Cognitive Sciences*, 20(7): 545-558.

Kuratani S (2005) Craniofacial development and the evolution of the vertebrates: The Old problem on a new background. *Zoological Science*, 22(1): 1-19.

Kuratani S, Horigome N, Hirano S (1999) Developmental morphology of the head mesoderm and reevaluation of segmental theories of the vertebrate head: Evidence from embryos of an agnathan vertebrate, *Lampetra japonica*. *Developmental biology*, 210(2): 381-400.

Lacomba JI (2009) LIFE TRACHEMYS – Demonstration strategy and techniques for the eradication of invasive freshwater turtles; LIFE09 NAT/ES/000529.

Larsen WJ (2001) *Human embryology (3. ed.).* Philadelphia, Pa.: Churchill Livingstone.

Lorenz K (1943) Die angeborenen Formen möglicher Erfahrung [The innate forms of potential experience]. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 5, 233–519.

Lovich JE, Gibbons JW (1992) A Review of techniques for quantifying sexual size dimorphism. *Growth, Development & Aging*, 1992(56): 269-281.

McCauley SJ, Bjorndal KA (1999) Response to dietary dilution in an omnivorous freshwater turtle: Implications for ontogenetic dietary shifts. *Physiological and Biochemical Zoology*, 72(1): 101-108.

Meier S, Packard DS Jr. (1984) Morphogenesis of the cranial segments and distribution of neural crest in the embryos of the snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *Developmental biology*, 102(2): 309-323.

Mitteroecker P, Gunz P, Bernhard M, Schaefer K, Bookstein FL (2004) Comparison of cranial ontogenetic trajectories among great apes and humans. *Journal of Human Evolution*, 46(6), 679-698.

Mitteroecker P, Windhager S, Müller GB, Schaefer K (2015) The morphometrics of „masculinity“ in human faces. *PLoS ONE*, doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118374.

Moldowan PD, Brooks RJ, Litzgus JD (2016a) Quantification of cranial and tomiodont dimorphism in Testudines using the Midland Painted Turtle, *Chrysemys picta marginata*. *Zoomorphology*, 135(4): 499-510.

— (2016b) Turtles with „teeth“: beak morphology of Testudines with a focus on the tomiodonts of Painted Turtles *(Chrysemys* spp.). *Zoomorphology*, 135(1): 121-135.

Oken L (1807) *Über die Bedeutung der Schädelknochen*. Göbhardt, Bamberg.

Olson EC, Miller RL (1958) *Morphological integration*. Chicago, IL: University of Chicago Press.

Parmenter RR (1980) Effects of food availability and water temperature on the feeding ecology of pond sliders *(Chrysemys s. scripta)*. *Copeia*, 1980(3): 503-514.

Pearse AS (1923) The Growth of the painted turtle. *Biological bulletins*, 45(3): 145-148.

Perez-Santigosa N, Díaz-Paniagua C, Hidalgo-Vila J (2008) The reproductive ecology of exotic *Trachemys scripta elegans* in an invaded area of southern Europe. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 18(7): 1302-1310.

Prum RO (2012) Aesthetic evolution by mate choice: Darwin's really dangerous idea. *Philosofical transactions of the Royal Society B*, 2012(347): 2253-2265.

R Core Team (2017) R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.* URL https://www.R-project.org/.

Rensch B (1950) *Die abhangigkeit der relativen Sexualdifferenz von der Korpergrosse.* Bonner Zoologische Beitraege.

Rensch B (1960) *Evolution above the species level.* New York: Columbia University Press.

Rhodin AGJ, van Dijk PP, Iverson JB, Shaffer HB (2010) Turtles of the World, 2010 Update: Annotated Checklist of Taxonomy, Synonymy, Distribution, and Conservation Status, *in Chelonian Research Monographs No. 5,* s. 000-85.

Richardson DM, Pyšek P, Rejmánek M, Barbour MG, Panetta FD, West CJ (2000) Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and distributions,* 6(2): 93-107.

Rödder D, Schmidtlein S, Veith M, Lötters S (2009) Alien invasive slider turtle in unpredicted habitat: A Matter of niche shift or of predictors studied? *PLoS ONE,* doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007843.

Rohlf FJ (2015) The tps series of software. *Hystrix,* doi: http://dx.doi.org/10.4404/hystrix-26.1-11264.

Sanger TJ, Mahler DL, Abzhanov A, Losos JB (2012) Roles for modularity and constraint in the evolution of cranial diversity among *Anolis* lizards. *Evolution,* 66(5): 1525-1542.

Sanger TJ, Sherratt E, McGlothlin JW, Brodie ED III, Losos JB, Abzhanov A (2013) Convergent evolution of sexual dimorphism in skull shape using distinct developmental strategies. *Evolution,* 67(8): 2180-2193.

Sauro HM (2008) Modularity defined. *Molecular Systems Biology,* doi: 10.1038/msb.2008.3.

Schilling TF, Thorogood PV (2000) Development and evolution of the vertebrate skull, *in* O'Higgins P, Cohn M (ed) *Development, growth and evolution.* Londýn, Academic Press, s. 57-83.

Schumacher G (1973) The head muscles and hyolaryngeal skeleton of turtles and crocodilians, *in* Gans C, Parsons TS (ed) *Biology of the Reptilia, Volume 4.* New York: Academic Press, s. 101-199.

Slatkin M (1984) Ecological causes of sexual dimorphism. *Evolution,* 38(3): 622-630.

Stephens PR, Wiens JJ (2003) Ecological diversification and phylogeny of emydid turtles. *Biological Journal of the Linnean Society,* 79(4): 577-610.

Thorogood P (1988) The developmental specification of the vertebrate skull. *Development,* 1988(103): 141-153.

von Cramon-Taubadel N, Frazier BC, Lahr MM (2007) The problem of assessing landmark error in geometric morphometrics: theory, methods, and modifications. *American journal of physical anthropology,* 134(1), 24-35.

Wang Z, et al. (2014) The draft genomes of soft-shell turtle and green sea turtle yield insights into the development and evolution of the turtle-specific body plan. *Nature Genetics,* 45: 701-706.

Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD (2012) *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer.* Academic Press.