

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra zoologie



**Raná morfogeneze hlavy bichira:
srovnávací a evoluční analýza**

BAKALÁRSKA PRÁCA

Martin Král'ovič

Vedúci práce: Mgr. Robert Černý, Ph.D.

Praha 2007

Prehlásenie

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracoval samostatne pod vedením Mgr. Roberta Černého, Ph.D. a s použitím citovanej literatúry.

V Prahe dňa 23.8.2007

.....

Pod'akovanie

Na tom mieste by som chcel vyjadriť pod'akovanie môjmu školiteľovi Mgr. Robertovi Černému, Ph.D. za venovaný čas a poskytnutie užitočných rád a pripomienok tykajúcich sa nielen bakalárskej práce. Taktiež ďakujem kolegom a známym za ich pomoc a spríjemnenie štúdia. Moja veľká vďaka patrí rodičom, ktorí ma podporovali počas môjho štúdia.

Obsah

Obsah	1
Abstrakt	2
1. Úvod	3
2. Fylogenetická pozícia bichira	4
3. Raná ontogenéza hlavy	11
3.1. Štádiovanie, vývinové tabuľky	11
3.2. Oplodnenie, gastrulácia a neurulácia	11
3.3. Raný vývin hltanovej oblasti	14
3.4. Ontogenéza zmyslových orgánov	18
4. Vývin dentálnych a skeletálnych elementov orofaryngeálnej dutiny	20
4.1. Splanchnokránium	20
4.2. Dermatokránium	22
4.3. Dentica	23
5. Záver	27
6. Zoznam literatúry	29
6.1. Priame citácie	29
6.2. Nepriame citácie	33

Abstrakt

Záhľadné africké sladkovodné stavovce, bichiry (Polypteriformes alebo Cladistia), boli často predmetom diskusií o ich fylogenetických vzťahoch k hlavným skupinám stavovcov. Súčasne sú bichiry považované za najbazálnejšie žijúce lúčoplutvé ryby (Actinopterygii). Bichiry teda predstavujú dôležitú skupinu pre štúdie evolučných zmien v dvoch recentných líniiach, Actinopterygii (moderné kostnaté ryby) a Sarcopterygii (latimérie, bahníky a tetrapódy). Pre tento účel sú dôležité znaky pochádzajúce z raného vývinu hlavových štruktúr ako objektu zásadných evolučných inovácií. Avšak, u bichirov sú poznatky o ontogenézy hlavy malé. Vývin embrií a lariev bichirov v mnohom pripomína vývin bahníkov (Dipnoi) a mlokov (Urodela). Staršie embryologické štúdie taktiež ukazujú, že ontogenéza bichirov sa vyznačuje množstvom jedinečných, adaptívnych znakov.

Táto bakalárska práca bola vypracovaná ako literárny prehľad raného vývinu hlavy bichira a bude poznatky budú využité v prebiehajúcom projekte štúdia ranej faryngogenézy a kraniofaciálneho vývinu bichira senegalského (*Polypterus senegalus*).

Abstract

Enigmatic African freshwater vertebrates, bichirs (Polypteriformes or Cladistia), have been frequently discussed for their phylogenetic affinities to major groups of vertebrates. Currently, they are considered to be the most basal living members of ray-finned fishes (Actinopterygii). Bichirs, thus, represent an important group for comparative and evolutionary studies within two recent clades, Actinopterygii (ray-finned fishes) and Sarcopterygii (coelacanth, lungfishes and tetrapods). For purpose of such analyses, developmental features are rather crucial. However, for this group, there is rather limited developmental evidence dealing with morphogenesis of head structures, that often comprise key evolutionary adaptations. In many respects, development of bichir embryos and larvae bears close resemblances to lungfishes (Dipnoi) and salamanders (Urodela). Earlier embryological studies, however, revealed that ontogeny of bichirs contains many unique, adaptive features as well.

This bachelor thesis was intended as a literature review of early development of head of bichir and will be used for our running project regarding early pharyngogenesis and craniofacial development in Senegal bichir (*Polypterus senegalus*).

Kľúčové slová:

bichir, *Polypterus* sp., kraniofaciálny vývin, faryngogenéza, morfogenéza, zuby.

1. Úvod

Bichiry (Polypteriformes, syn. Cladistia) sú malou skupinou afrických sladkovodných rybovitých stavovcov. Táto skupina zahŕňa jediná recentnú čelad' (Polypteridae) s približne pätnástimi druhmi rodu *Polypterus* a jedným druhom rodu *Erpetoichthys*.

Už od svojho objavenia na začiatku deväťnásteho storočia bichiry priťahovali početnú pozornosť zoológov. Vďaka prítomnosti niektorých znakov považovaných za evolučne primitívne sa z nich stal atraktívny objekt pre štúdie systematikov, anatómov a v neposlednom rade aj embryológov. Veľmi chudobný fosílny záznam a nejasné fylogenetické vzťahy k ostatným stavovcom z nich urobili v určitom zmysle záhadnú skupinu stavovcov. Aj napriek veľkému záujmu o biológiu tohto podivného tvora, sa vie o jeho ranom vývine veľmi málo. Bichiry totiž žijú v tropických sladkovodných biotopoch a množia sa počas období záplav, kedy je k nim ťažký terénny prístup. V zajatí je ich úspešné rozmnoženie veľmi zriedkavé.

Hlavnou úlohou mojej bakalárskej práce je na základe dostupných poznatkov popísať raný vývoj hlavy bichira. V práci sa nachádzajú dva väčšie tématické celky. V prvej časti sa zaoberám evolúciou a fylogenetickou pozíciou bichirov v zoológickom systéme. Uvádžam v nej nielen stručný historický prehľad názorov na systematické postavenie bichirov ale aj súčasný pohľad na problematiku vrátane fylogenetických molekulárne biologických prác. Môže sa zdať, že táto časť leží mimo vymedzený rámec práce, ale je nevyhnutným predpokladom pre druhú časť venovanej raným ontogenetickým procesom. Zaoberám sa tu vznikom epidermálnych plakód a neskoršími procesmi chondrifikácie a osifikácie elementov orofaryngeálnej dutiny a taktiež vývinom zubov. Nemalý priestor som vymedzil bunkám kraniálnej neurálnej lišty pre ich zásadný vplyv na morfogézu hlavy stavovcov.

2. Fylogenetická pozícia bichira

Jednou zo zaujímavých otázok v zoológii stavovcov je postavenie bichirov (Polypteriformes) v zoologickom systéme. Názorová nejednotnosť spočíva v jedinečnej kombinácii morfológických znakov prítomných u tejto skupiny a ich následná interpretácia v kontexte evolúcie línie Teleostomi. V nasledujúcej časti zahrňujem stručný historický prehľad názorov o príbuzenstve bichirov.

V roku 1802 Étienne Geoffroy Saint-Hilaire opísal rod *Polypterus* na typovom druhu *Polypterus bichir* a písal o ňom ako o najpodivnejšom zvierati aké kedy videl (Geoffroy Saint-Hilaire, 1802; podľa Daget et. al., 2001). Rod *Polypterus* bol zaradený medzi kostnaté ryby, Osteichthyes. Druhý žijúci rod čelade Polypteridae *Erpetoichthys*, Smith bol opísaný neskôr, v roku 1865.

V prvej polovici 19. storočia Agassiz vytvoril rad Ganoidei, okrem rodu *Polypterus* umiestnil recentné jesetery (Acipenseridae), veslonosy (Polyodontidae), šľukovce (Lepisosteidae), bahníky a mnoho fosílnych rodov (Agassiz, 1833–44; podľa Patterson, 1982).

Onedlho Muller prišiel s poznatkom, že rad Ganoidei je ťažké vymedziť. Preto ho rozdelil na dve skupiny Chondrostei a Holostei. Do prvej zaradil napríklad jesetera a veslonosa a do druhej skupiny vedľa šľukovca a amie aj rod *Polypterus* (Muller, 1846; podľa Patterson 1982).

V roku 1861 prišiel Huxley s novou klasifikáciou Agassizovho radu Ganoidei. Vytvoril skupinu Crossopterygii, kam zahrnul rod *Polypterus* a fosílné formy bahníkov a násadoplutvých rýb. (Huxley 1861, podľa Patterson 1982). Druhy rodu *Polypterus* zahrnul do tribu Polypterini. Vznikla tak myšlienka o blízkej príbuznosti bichirov a Tetrapoda. Skupina Polypterini bola považovaná za akýsi spojovací článok medzi rybami a obojživelníkmi, čo iniciovalo veľký záujem bližšie poznať tieto podivuhodné živočíchy. Na prelome 19. a 20. storočia sa uskutočnilo niekoľko výprav do Afriky s cieľom nazbierať materiál pre embryologické štúdie. V tom čase panovala domienka, podľa ktorej by porovnanie ranej ontogenézy bichira, bahníkov a obojživelníkov mohlo pomôcť objasniť evolučné procesy vedúce ku vzniku štvornožcov (Hall, 2001).

Cope pozmenil názov skupiny Polypterini obsahujúcej rody *Polypterus* a *Erpetoichthys* na názov Cladistia, ale pozícia tejto skupiny zostala nezmenená v Huxleyovom podrade Crossopterygii (Cope, 1872; podľa Patterson 1982).

Ku zmene pozícii tejto skupiny v triede Osteichthyes došlo až na začiatku 20. storočia. Pri charakterizácii diagnostických znakov vymedzujúce skupinu lúčoplutvých rýb (Actinopterygii) si Goodrich (1928) všimol, že rody *Polypterus* a *Erpetoichthys* majú niektoré základné vlastnosti lúčoplutvých rýb, ale v iných sa od nich nápadne líšia. Navrhol nové umiestnenie skupiny Polypterini. Odstránil ju z Huxleyovho taxonu Crossopterygii (a teda i z bližšieho príbuzenstva s tetrapódmi) a umiestnil ju do skupiny Actinopterygii. Poukázal pritom na podonostblízku príbuznosť s fosílnymi rybami Palaeonisciformes. Jeho hypotéza o fylogenetickom postavení bichirov v rámci Actinopterygii zahrňovala myšlienku, že sú najbazálnejšími lúčoplutvými rybami.

Moy-Thomas (1933) po preskúmaní raného vývoja chondrokránie podporil Goodrichovu hypotézu. Taktiež Romer (1946) vo svojom rewiev o ranej evolúcie rýb súhlasil s Goodrichom a vyjadril sa o rode *Polypterus* ako o pozmenenom prežívajúcom paleoniskovi. V svojom diele diskutuje prítomnosť párových ventrálnych výchlipiek z prednej časti tráviacej rúry a prítomnosť prsných plutiev so svalnatými násadcami. Výskyt pľúc a vonkajších žiaber u larválnych štádií vysvetľuje ako primitívny znak kostnatých rýb, ktorý podľa neho vznikol ako adaptácia na údajné sezónne suchá počas devonu. V odpovedi na otázku prítomnosti prsných plutiev so svalnatými násadcami u bichiroch, teda lúčoplutvých rýb sa odvolal na prítomnosť daného znaku u niektorých paleoniskov.

K podobnému záveru dospel aj Pehrson (1947 a 1958). Na základe porovnávania vývinu lebky a zmyslových línií na hlave s inými recentnými Osteichthyes a fosílnymi paleoniskami homologizoval študované štruktúry. Na rozdiel od Goodricha a Romera vzhľadom na unikátne vlastnosti vo vývine a anatómii hlavy bichira tvrdí, že ho nemožno zaraďovať medzi Palaeonisciformes *sensu stricto*.

Jarvik (1964) porovnal morfológické znaky bichirov, recentných lúčoplutvých rýb a fosílnych paleoniskov. Tvrdil, že všetky súčasné lúčoplutvé ryby odvodené od paleoniskov. Podľa jeho štúdií paleoniskovci nemôžu byť predkami bichirov, a teda bichiry nemožno zaradiť medzi lúčoplutvé ryby (Actinopterygii), ale do samostatnej skupiny Brachiopterygii, ktorá sa nachádza vo vnútri skupiny Osteichthyes. Jollie (1984) a Bjerring (1985) na základe rozsiahlych komparatívnych morfológických štúdií bichira, recentných a fosílnych zástupcov Osteichthyes podporujú toto tvrdenie.

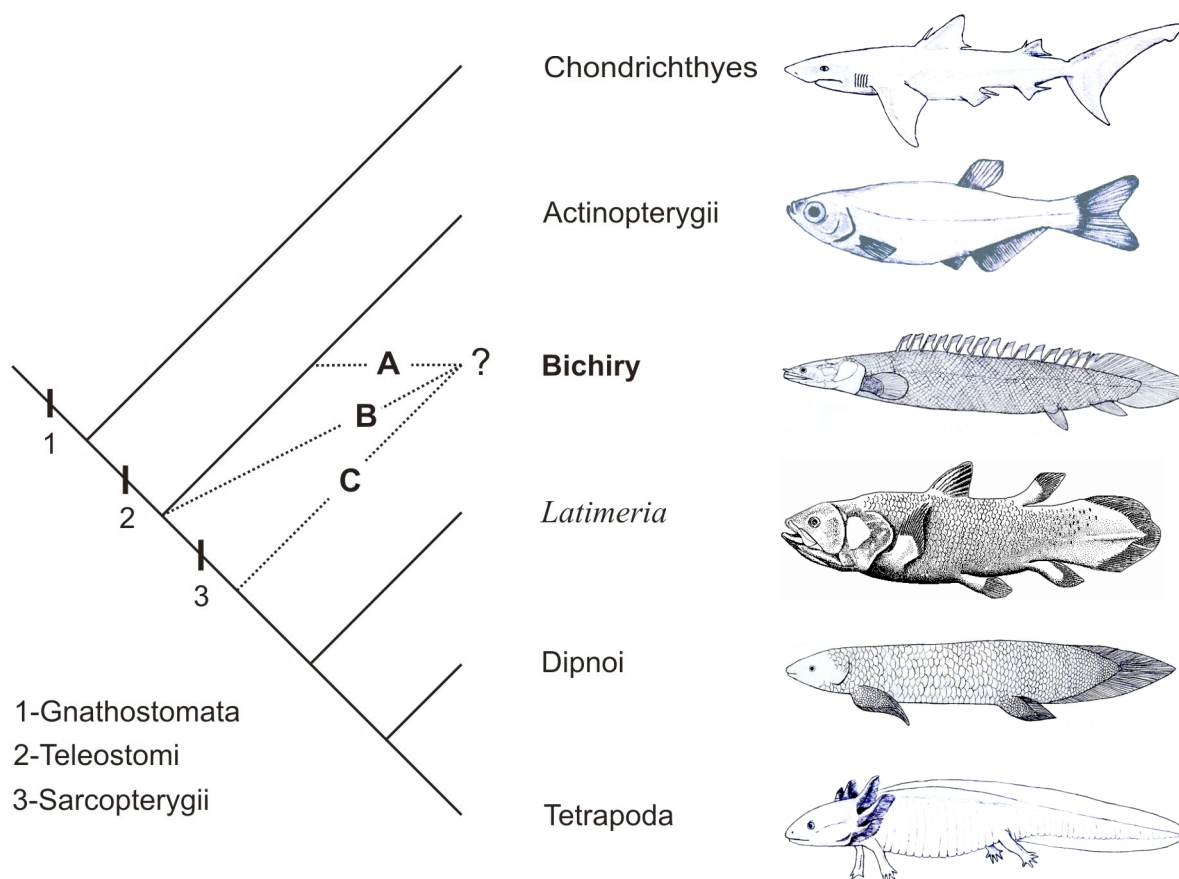
Opačný názor zastáva Patterson (1982). Tvrdí, že Cladistia sú sesterskou skupinou všetkých recentných Actinopterygii označovaných aj ako Actinopteri.

Z uvedeného stručného historického prehľadu možno otázku fylogenetickej príbuznosti bichiro ku ostatným skupinám stavovcov vyjadriť v nasledujúcich troch alternatívnych fylogenetických hypotézach (obr. 1.):

A: Bichiry patria do skupiny Actinopterygii (*in sensu* Goodrich, 1928).

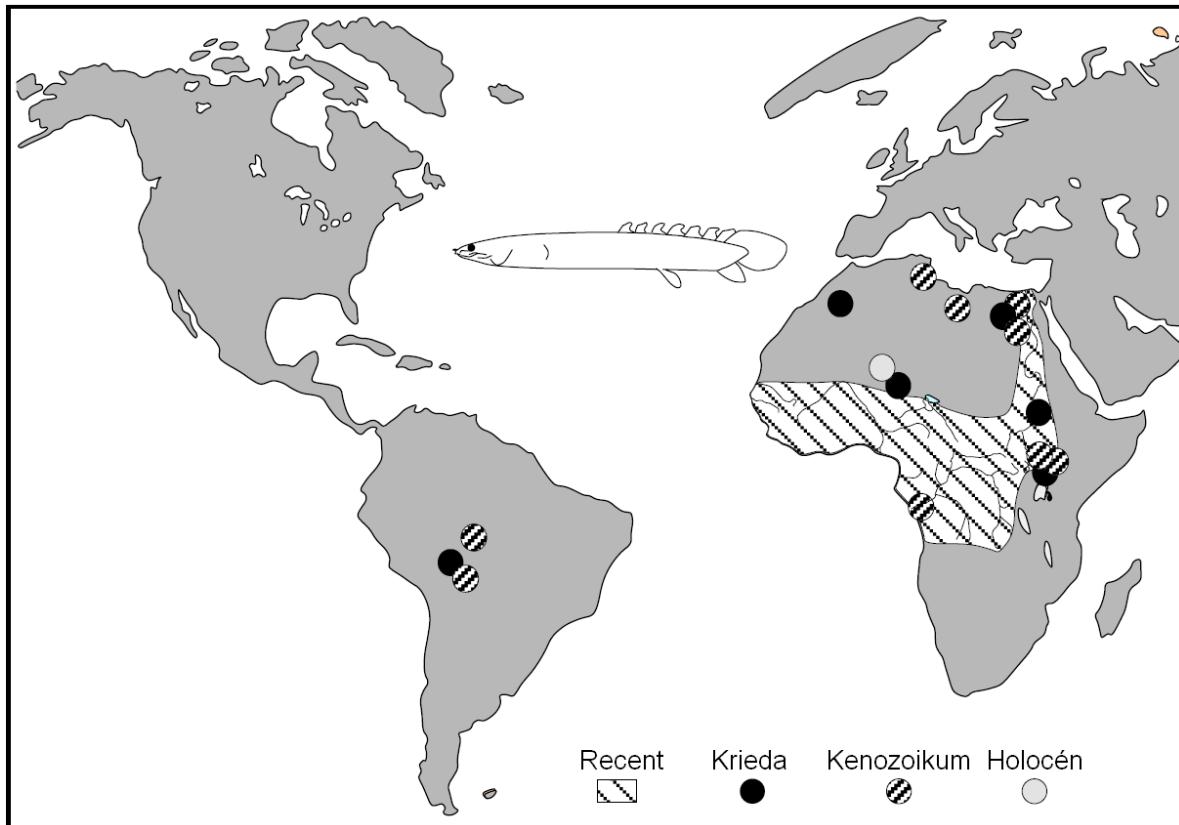
B: Bichiry (Brachiopterygii) sú sesterskou skupinou ku skupinám Actinopterygii a Sarcopterygii vo vnútri skupiny Teleostomi (*in sensu* Jarvik, 1964).

C: Bichiry patria do skupiny Sarcopterygii (*in sensu* Huxley, 1861).



Obr. 1. Fylogénéza čelustnatých stavovcov (Gnathostomata) možné príbuzenské vzťahy bichirov ku recentným skupinám stavovcov A, B, C (bližší popis sa nachádza v texte). Orig. M. Kráľovič.

Polypteriformes (Gaget & Meunier, 1992; podľa Daget et al., 2001). Najstaršie nálezy pochádzajú z vrchnej kriedy Afriky a časovo spadajú do cenomanu (96-91 mil. rokov) (Dutheil, 1999). Z vrchnej kriedy pochádzajú aj fosílie priradené k Polypteriformes nájdené v Južnej Amerike (Gaget & Meunier 1991, 1994; podľa Daget et al., 2001). Geochemická analýza potvrdila, že juhoamerickí zástupcovia boli sladkovodní (Dromart et al., 1999, podľa Daget et al., 2001). Bichiry sú teda gondwadskou skupinou (obr. 2). Daget et al. (2001) ďalej

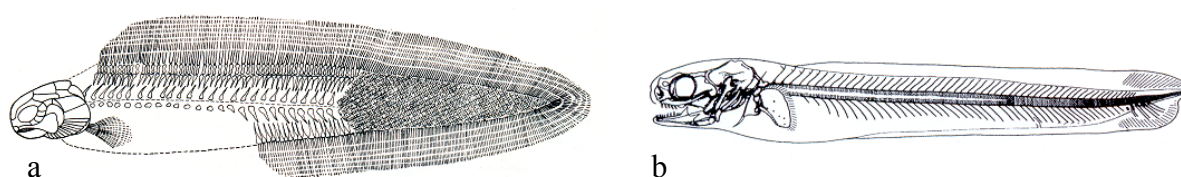


Obr. 2. Geografické rozšírenie fosilných a žijúcich zástupcov Polypteriformes. Upravené podľa Daget et al. (2001).

uvádzajú, že neboli dovtedy známe fosilne zvyšky bichirov z ostatných častí bývalej Gondwany. Z tohto poznatku vyvodzujú, že táto skupina musela vzniknúť medzi oddelením Indie od Afriky, t. j. 148 mil. rokov a rozdelením Afriky a Južnej Ameriky, t. j. 110 mil. rokov. Tento približný časový údaj však nezapadá ani do jednej z uvedených troch fylogenetických hypotéz. Podľa nich by museli vzniknúť v prípade hypotézy A v strednom devóne. V prípade ostatných dvoch by k tomu muselo dôjsť ešte skôr. Tento rozpor vysvetľujú buď tým, že uvedené hypotézy sú chybné, alebo, že fosilný záznam je príliš fragmentárny. Myslím si, že druhá možnosť je pravdepodobnejšia, ale ako poznamenal Roček (2002), ide o stavovce žijúce v prostredí s priaznivými podmienkami pre fosilizáciu. O starobylosti evolučnej línie istú dobu nasvedčoval nález dvoch fosilných rodov *Guildayichthys* a *Discoserra* zo spodného karbónu. Kladistická analýza najprv ukázala, že rad je sesterskou skupinou ku Polypteriformes a že oba patria do nadradu Cladistia (Lund, 2000), čo naznačovalo, že k oddeleniu oboch línií muselo prísť ešte skôr. Najnovšie kladistické analýzy však ukázali, že táto interpretácia fylogenetickej príbuznosti Guildayichthyiformes je zrejme chybná. Rod *Discoserra* (a teda i rad Guildayichthyiformes) je totiž členom tzv.

kmeňovej skupiny Neopterygii (evolučne pokročilej skupiny lúčoplutvých rýb) (Hurley et al., 2007).

Ako už napovedá druhový názov *Tarrasius problematicus* zo spodného karbónu, okolo systematického zaradenia tohoto rybovitého stavovca sa vyskytli ťažkosti. Na základe prítomnosti znakov ako súvislý plutvový lem, dificerkná chvostová časť chrbtice a svalnaté nasadce na prsných plutvách, vyjadril Moy-Thomas hypotézu o možnej fylogenetickej príbuznosti s bichrom (Moy Thomas, 1934; podľa Moy-Thomas & Miles, 1971). Na obr. 3. uvádzam pre porovnanie druh *Tarrasius problematicus* s larvou bichira, u ktorej je táto podobnosť ešte výraznejšia.



Obr. 3. Porovnanie *Tarrasius problematicus* (a) s larvou bichira *Polypterus senegalus* vo fáze apterolarvy (b). Pomer veľkostí nie je zachovaný. Upravené podľa Moy-Thomas & Miles (1971) a Bartsch et al. (1997).

V cenomane skupina bichirov zahŕňala niekoľko rodov a bola podstatne diverzifikovanejšia ako v súčasnosti. V terciére vyhynuli juhoamerickí zástupcovia a zjavne sa znížila diverzita a početnosť Polypteriformes na africkom kontinente. Zaujímavé je spomenúť, že fosílni zástupcovia sa takmer morfológicky nelíšia od dnešných (Daget et al., 2001) a preto nám neposkytujú informácie o ancestrálnych vzťahoch Polypteriformes. V tejto súvislosti sa hovorí o bichiroch ako žijúcich fosíliách. Uvedené fakty možno vysvetliť pomocou teórie zamrzlej plasticity (Flegr, 1998), podľa ktorej je schopnosť druhu anagenetických zmien časovo obmedzená na obdobie speciácie. Všeobecne taxon, ktorý menej speciuje sa mení menej než taxon vytvárajúci viacej druhov za časovú jednotku čo by mohlo fungovať v prípade bichirov. Aj tu sa však možno odvolať na neúplný treťohorný fosílny záznam. Iná možnosť vysvetlenia je tvrdenie, že sa jedná o tropickú skupinu stavovcov žijúcich v relatívne stabilnom prostredí, na ktoré sú úzko adaptované.

Využitie molekulárnych znakov vo fylogenetike prinieslo niekoľko zaujímavých výsledkov týkajúcich sa systematického postavenie skupiny Polypteriformes. Prvé molekulárne fylogenetické práce na bichiroch vypracované s použitím mitochondriálnych a ribozomálnych génov naznačili, že bichiry sú bazálnymi lúčoplutvými rybami (Nomark et al., 1991; Lè et al., 1993). Neskôr bol osekvenovaný mitochondriálny genóm druhu *Polypterus ornatipinnis* (Noack et al., 1993). Sekvencie pre mitochondriálne proteíny a rRNA

geny vykazovali podľa tejto štúdie väčšiu podobnosť ku lúčoplutvým rybám ako ku bahníkovi či mihule. Inoue et al. (2003) použili mitochondriálne genomické dáta a fylogenetická analýza ukázala, že bichiry predstavujú sesterskú skupinu ku všetkým ostatným recentným lúčoplutvým rybám. Metóda štúdia spliceosomálnych intróov sa zakladá na predpokladanej jedinečnosti vzniku či zániku intrónu v určitom géne. Potom prítomnosť či absencia určitého intrónu môže definovať evolučnú líniu. Kladogram zostrojený fylogenetickou analýzou vychádzajúcej z týchto dát ukazuje, že bichiry sú najbazálnejšou žijúcou skupinou lúčoplutvých rýb (Venkatesh et al., 1999). Veľmi podobný výsledok priniesla fylogenetická štúdia čelustnatých stavovcov s použitím sekvencií jaderných génov (Kikugawa et al., 2004) a zároveň nepodporila hypotézu, že bichiry tvoria monofylum spolu s jesetermi a veslonosmi. Chui et al. (2004) osekvenovaním a analýzou HoxA komplexu druhu *Polypterus senegalus* zistili prítomnosť jedného *HoxA* komplexu. U recentných Actinopterygii sú prítomné dva HoxA komplexy, takže ku duplikácii muselo prísť až po odštiepení línie bichirov od línie vedúcej ku dnešným Actinopterygii. Nekódujúce sekvencie v HoxA komplexe bichira sú veľmi podobné sekvenciám u ostatných Actinopterygii čo poukazuje na zdielanie výlučného spoločného predka.

V minulosti bola pozícia bichira v zoologickom systéme často predmetom diskusií. V súčasnosti sa najčastejšie zastáva názor, že bichiry sú skupinou lúčoplutvých rýb (Actinopterygii). Tento názor je v súlade s výsledkami väčšiny molekulárnych fylogenetických prác, ktoré zhodne umiestňujú bichirov do vnútra skupiny lúčoplutvých rýb a naznačujú, že sa zrejme jedná o jej najbazálnejších žijúcich zástupcov. Taktiež niektoré morfológické kladistické analýzy (napr. Gardiner et al., 2005) dospeli k tomuto poznatku. Okolo ich paleontologického záznamu a taktiež príbuzenským vst'ahom ku fosílnym skupinám stavovcov zostáva naďalej dosť nejasností. Každopádne bichir predstavuje pre nás zaujímavého stavovca, ktorý sa zrejme nachádza relatívne blízko vetvenia skupiny Teleostomi na evolučnej línii Actinopterygii a Sarcopterygii. Z tohoto tvrdenia však plynie istá opatrnosť v evolučnom vážení a polarizácii znakov. Počas relatívne dlhého obdobia po oddelení taxónu od spoločnej evolučnej línie nemusia evolučné mechanizmy konzervovať väčšinu ancestrálnych znakov, a práve naopak, toto obdobie poskytuje dostatok času ku kumulácii unikátnych anagenetických zmien. Dokonca zástupcovia danej „primitívnej“ línie sa môžu anageneticky vzdialiť od predpokladaného ancestrálneho stavu znaku viac než zástupcovia materskej línie. Preto nemožno hovoriť o súčasných organizmoch (a teda i bichiroch) ako o tzv. primitívnych zástupcoch určitých taxónov. Primitívnym v zmysle ancestrálnym možno označiť iba stav znaku a to na základe interpretácie fylogenetickej

hypotézy. Bichiry teda nie sú „primitívnymi rybami“ ako uvádza literatúra. Môžu však vlastniť znaky dôležité pre pochopenie určitých evolučných procesov v línii Teleostomi. Jedným zo zdrojov znakov pre komparatívne a evolučné analýzy sú rané ontogenetické procesy, ktorými sa budem zaoberať na nasledujúcich stranách.

3. Raná ontogenéza hlavy

3.1. Štádiovanie, vývinové tabuľky

Ontogenéza stavovcov predstavuje kontinuálny proces. Progres vo vývine mnohokrát okrem času závisí aj na iných faktoroch, a preto je nevyhodné používať časový rozmer. Ontogenézu možno popísať pomocou na seba navazujúcich jednotiek, štádií. Pod termínom štádium rozumieme skupinu jedincov jedného druhu spĺňajúce zadané morfológické či iné kritériá. Treba si však uvedomiť, že vzhľadom ku spomenutej kontinuite ontogenetických procesov ide o rozdelenie na umelé skupiny.

Kerr (1907) sa pokúsil zo vzoriek nazbierných jeho kolegom J.S. Budgettom počas expedícií v Afrike vytvoriť štádiá vo vývine druhu *Polypterus senegalus*. Rozlíšil 36 štádií od oplodnenia po 12 dňovú larvu dlhú 9,3 mm. Mnohé zo vzoriek boli poškodené a niektoré štádiá boli popísané na základe kresieb Budgetta.

Mnohí autori popisovali vývin bichira pomocou dĺžkového rozmeru (Moy-Thomas, 1933; Pehrson, 1947 a 1958; Jollie, 1984). Podľa Bartsch et al. (1997) je tento spôsob popisu vývinu bichira nevhodný najmä v larválnych štádiách, kedy sú medzi jedincami aj niekoľkonásobné veľkostné rozdiely.

Bartsch et al. (1997) na základe piatich úspešných odchovov druhu *P. senegalus* rozdelili ontogenézu na štyri periódy: embryonálnu, larválnu, juvenilnú a adultnú. Periódy sa ďalej delia na fázy a kroky. Rozdelenie na hierarchické jednotky urobili na základe vonkajších znakov (štruktúra epidermálneho povrchu, spôsob zafarbenia, vývin plutiev a šupín), spôsobu pijámania potravy a lokomócie. Uvedené štádiovanie je praktické ale zároveň mu chýba väčšia podrobnosť. Pri nasledujúcich popisoch vývinu budem používať, pokiaľ to bude možné, štádiovanie podľa Bartsch et al. (1997).

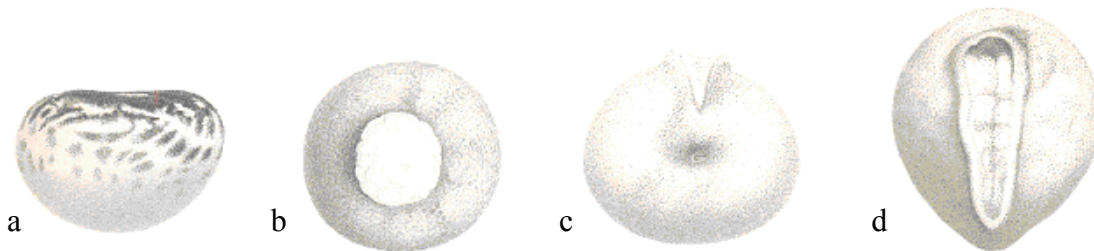
3.2. Oplodnenie, gastrulácia a neurulácia

Oplodnenie vajíčok u bichira je vonkajšie. Vajíčka sú tmavo pigmentované na animálnom póle. Vegetatívny pól je zreteľne bledší a obsahuje žltok (obr. 4a). Viteliná membrána pokrýva vajíčko a umožňuje mu adhéziu k povrchu vodných rastlín. Oplodnené vajíčko sa

delí holoblasticky. Prvé dve ryhy prebiehajú meridionálne, nasledná tretia ryha je longitudinálna (Kerr, 1907, Arnoult, 1964; podľa Bartsch et al., 1997).

Ryhovaním zygoty vzniká blastula. Vegetatívna hemisféra blastuly pozostáva z väčších buniek, ktoré obsahujú žltok. Bunky apikálnej hemisféry su menšie a obsahujú tmavý pigment. Vo vnútri blastuly je dutina nazývaná blastocél oddeľujúca bunky oboch hemisfér (Kerr, 1907).

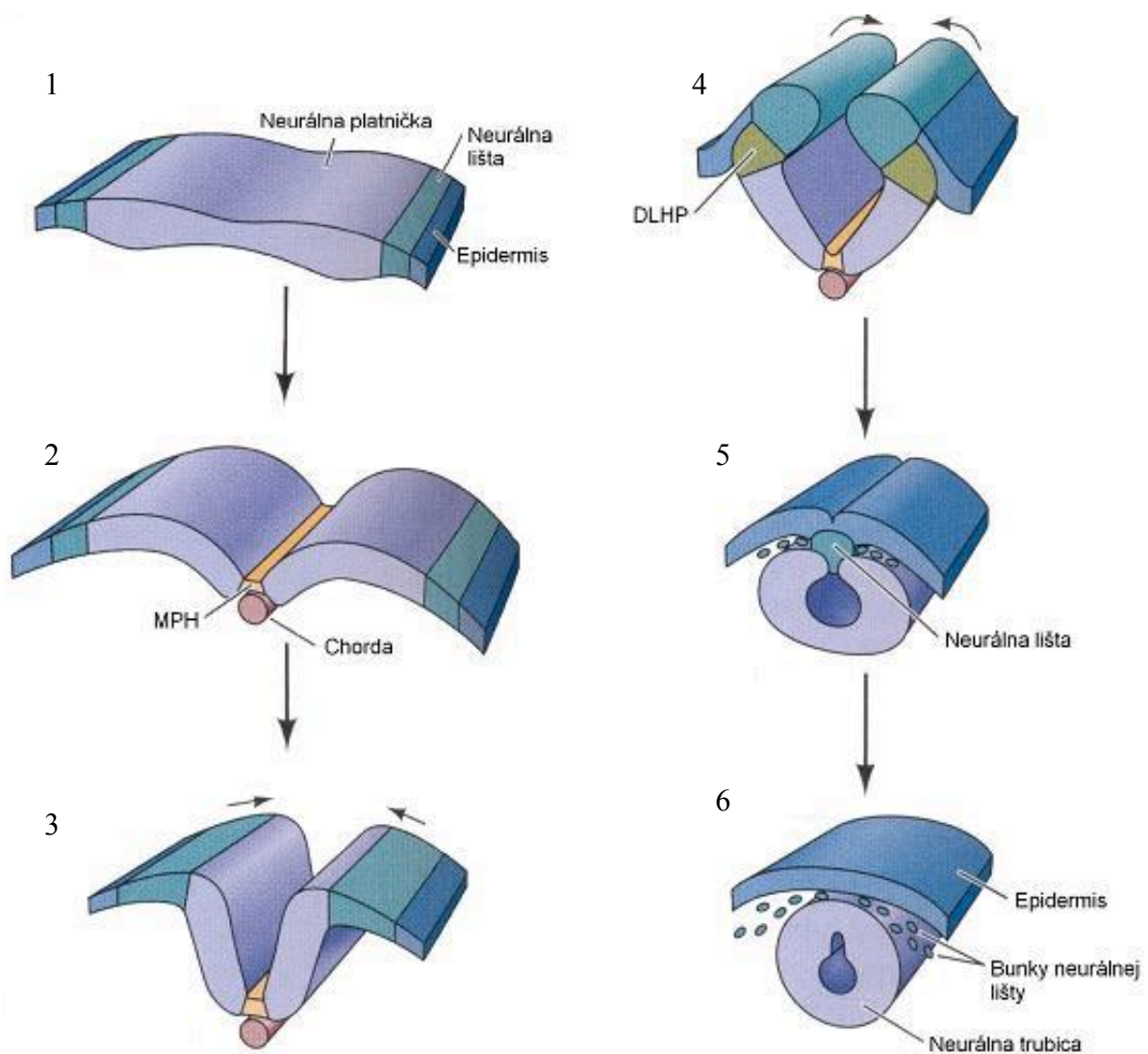
Ďalej nasleduje zložitý proces gastrulácie. Na povrchu blastuly sa časť buniek invaginuje a vytvorí sa blastoporus, cez ktorý sa transportujú bunky vegetatívnej hemisféry do vnútra vznikajúcej gastruly. Zvyšok vegetatívnych buniek prominuje nad povrch gastruly a označuje sa ako žltková zátka (Kerr, 1907) (obr. 4b). Gastrulácia zahŕňa hromadné koordinované presúvanie buniek do nových vzájomných pozícií čo vedie k diferenciacii troch zárodočných vrstiev: ektodermu, endodermu a mezodermu.



Obr 4. Rané štádiá vyvinu bichira: vajíčko (a), gastrula (b), neurula z posteriorného (c) a dorzálneho pohľadu (d). Prevzené z Kerr (1907).

Na dorzálnej strane embrya bichira prebehne neurulácia. Ektodermálne bunky v tejto oblasti embrya sa predĺžia, čím dorzálny ektoderm viditeľne zhrubne a v tomto štádiu sa označuje ako neurálna platnička. Okraje neurálnej platničky sa vyzdvihnú a vytvoria neurálne valy (obr. 4c,d). Neurálna platnička invaginuje centrálnne do vnútra embrya. Na dorzálnej strane je rozoznatelná neurálna ryha prebiehajúca mediálne. Neurálne valy sa navzájom približujú až splynú a vytvoria neurálnu trubicu. Približovanie a fúzia neurálnych valov postupuje v posteroanteriornom smere. Splynutie neurálnych valov však neprebehne kompletne, anteriórny koniec sa uzatvára oneskorene. Neurálna trubica je základom pre vývin mozgu u miechy ale aj optického vaku a pineálneho orgánu. Po uzavretí anteriorného a posteriorného konca neurálnej ryhy vznikajú na týchto miestach zaoblené výbežky, ktoré predstavujú základ pre hlavovú a chvostovú oblasť bichira (Kerr, 1907).

S neuruláciou súvisí vznik neurálnej lišty, ktorý však u bichira nebol doposiaľ študovaný. Neurálna lišta bola identifikovaná u všetkých študovaných stavovcov a je považovaná za ich synapomorfium. Vylučná prítomnosť neurálnej lišty u stavovcov bola spochybnená prítomnosťou buniek pripomínajúcich bunky neurálnej lišty (migratory neural crest-like cells)



Obr.5. Schéma neurulácie u kuraťa. Diferenciácia neurálnej platničky (1). Elevácia neurálnych valov (2, 3) a ich zblížovanie ku strednej línii (3, 4) vedú k uzavretiu neuralnej platničky a ku vzniku neuralnej lišty (5). Bunky neuralnej lišty sa uvoľňujú z epitelu a migrujú do rôznych oblastí embrya (5,6). DLHP, MPH oblasti neuroektodermu, kde dochádza k najväčším ohybom. Upravené podľa Gilberta (2006).

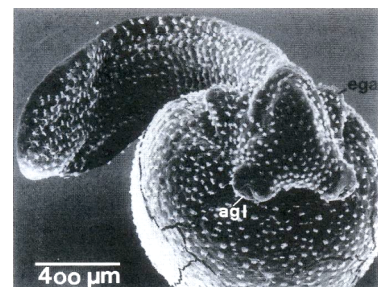
u Tunicata (Jeffery et al., 2004). Neurálna lišta je odvodená od ektodermu, ktorý sa nachádza medzi neurálnymi valmi a budúcou epidermis (obr. 5). V okolí miest splynutia neurálnych valov bunky exprimujú gény pre transkripčné faktory ako napríklad *Slug* a *RhoB* (Nieto, 1994; Liu & Jessell, 1998), ktoré zásadne menia ich vlastnosti. Procesom zvaným „epithelial to mesenchymal transition“ vzniknú z pôvodne epiteliálnych buniek bunky mezenchymálne, ktoré opustia epiteliálnu vrstvu a vytvárajú pruh nad neurálnou trubicom (Nieto, 1994). Populácia týchto buniek sa nazýva neurálna lišta. Je to dočasná embryonálna štruktúra. Bunky neuralnej lišty opúšťajú priestor medzi ektodermom a neurálnou trubicom, migrujú a dávajú vznik množstvu tkanív v tele stavovcov. Preto niektorí autori (napríklad Hall, 2000) označujú

neurálnu lištu ako štvrtú zárodočnú vrstvu. Neurálnu lištu možno rozdeliť na trupovú a kraniálnu. Bunky trupovej lišty migrujú dvoma trasami. Z buniek migrujúcich ventrálne vznikajú bunky drene nadobličiek, sympatetické a parasympatetické ganglia. Druhá vlna buniek migruje pod epidermis a dáva vznik melanocytom. Časť neurálnej lišty medzi hlavou a trupom prispieva ku tvorbe cievneho systému. Kraniálna neurálna lišta sa podieľa na vzniku podobných tkanív ako trupová, ale jej hlavnými derivátmi sú spojivové a oporné tkanivá v hlave (Gilbert, 2006). Dá sa povedať že väčšina tkaní v hlave stavovcov vzniká práve vzniká práve z buniek kraniálnej neurálnej lišty (Santagati & Rijli, 2003).

Z dostupných informácií o ranom vývine embrya bichira vyplýva určitá podobnosť s vývinom mlokov Urodela, dvojdyšných Dipnoi (Bartsch et al., 1997), čo však nemusí byť ovplyvnené fylogenetickou príbuznosťou, ale aj vývinovými obmedzeniami tzv. „developmental constrains“, napríklad podobnými rozmnožovacími stratégiami (množstvo zásobných látok vo vajíčku).

3.3. Raný vývin hltanovej oblasti

Krátko po ukončení neurulácie u bichira sa predná časť endodermálnej trubice odpovedajúcej hltanu evaginuje v podobe párovitých výchlipkov k epidermis. Miesta kontaktu sa javia na povrchu embrya ako hrboľovité štruktúry (obr. 6). Predstavujú základy cementových orgánov. Endodermálne evaginácie sa oddelia od zvyšku endodermu hltanu. Ďalej príde ku perforácii epidermis v mieste vzájomného kontaktu a z endodermu vznikne sekretný epitel. Vyvinuté cementové orgány majú cylindrický tvar a smerujú anteroventrálne (Kerr, 1907). Počas voľnej emryonálnej fáze dochádza k ich redukcii (Bartsch et al., 1997). Otázny je spôsob vzniku orálnej dutiny. Ústny otvor vzniká na ventrálnej strane hlavy medzi cementovými orgánmi a žltkovým vačkom (Kerr, 1907; Bartsch et al., 1997). Nie je však známe či vzniká invagináciou povrchového ektodermu v podobe stomodea ako u väčšiny stavovcov (napr. Waterman & Schoenwolf, 1980; Watanabe et al., 1984), alebo ako v prípade niektorých Urodela a Dipnoi cez ektodermálny límec (Kerr,



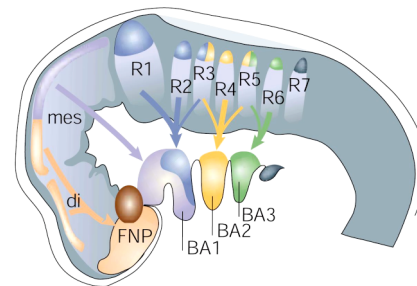
Obr. 6. SEM snímka embrya bichira po odstránení vitelinnej membrány. *agl* základy cementových orgánov, *ega* základy vonkajších žiaber. Prevzaté z Bartsch et al. (1997).

1902). Orálna dutina sa zakladá v stiesnených podmienkach - z dorzálnej strany ju obmedzuje expandujúci predný mozog a z ventálnej srdce v perikardiálnej dutine (Kerr, 1907).

Raná ontogenéza hltanovej oblasti embrya stavovcov zahrňa komplex procesov vedúce k vytvoreniu aparátu zabezpečujúceho transport potravy a dýchanie. Z laterálnych stien anteriórneho endodermu sa evaginuje séria výchlipkov. Oproti nim vzniká séria invaginácií povrchového ektodermu. Výchlipky prechádzajú celistvým mezodermom, čím narušia jeho kontinuitu a rozčlenia ho na úseky. Kontakty medzi ektodermálnymi a endodermálnymi výchlipkami sa rozšíria vertikálne. Vzniknú tak trubicovité útvary uzavierajúce časti mezodermu. Na ekto-endodermovom rozhraní dôjde k faryngotrémii: prepážky medzi trubicami sa pretrhnú a vzniknú žiabrové štrbiny. Faryngeálna štrbina je zloženého ekto-endodermálneho pôvodu (Kardong, 1995).

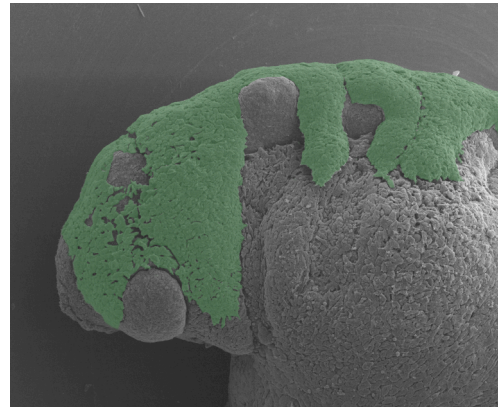
Premena epitelu v mezenchým umožňuje bunkám kraniálnej neurálnej lišty migrovať. Vznik a spôsob migrácie buniek kraniálnej neurálnej lišty je u všetkých študovaných stavovcov konzervatívny (Kuratani et al., 1997). Bunky vytvárajú tri prúdy: mandibulárny (nazývaný aj trigeminálny), hyoidný a spoločný branchiálny. U dánia (Schilling & Kimmel, 1994) a axolotla (Cerny et al., 2004a) predstavujú otická kapsula mechanickú prekážku pre migrujúce bunky a mandibulárny a hyoidný prúd buniek neurálnej lišty sa označujú ako preotické a spoločný branchiálny ako postotický prúd buniek neurálnej lišty. Segregáciu buniek do prúdov ovplyvňuje ich lokus pozdĺž anteroposteriornej osi a teda i expresia Hox génov v embryu (Trainor & Krumlauf, 2001). Okrem pozičnej informácie nemalú úlohu zohráva interakcie tkanív (Cerny et al., 2004a) a prítomnosť signálnych molekúl na povrchu mezodermu (Smith et al., 1997). Embryonálny zadný mozog (rhombencephalon) je segmentovaný v antero-posteriornom smere na 7 až 8 periodicky usporiadaných kompartmentov, rhombomér. Bunky vytvárajúce mandibulárny oblúk pochádzajú z neurálnej lišty, ktorá pozíciou odpovedá zadnej časti stredného mozgu (mesencephalon), z rhomboméry 1 a 2 a časti rhomboméry 3. Hyoidný oblúk formujú rhomboméry 3 až 5 a branchiálny je odvodený od posteriorných rhombomér (Santagati & Rijli, 2003) (obr.7).

Jedna z najpodrobnejších štúdií zaoberajúca sa spôsobom migrácie buniek kraniálnej neurálnej lišty bola vypracovaná na axolotlovi *Ambystoma mexicanum* (Cerny et al., 2004b).



Obr. 7. Schéma vzniku prúdov buniek kraniálnej neurálnej lišty v embryu amniota. BA1-BA3 faryngeálne obúky, di diencephalon, FNP frontonazálny výbežok, mes mesencephalon, R1-R7 rhomboméry 1-7. Prevzaté z Santagati & Rijli (2003).

Bunky kraniálnej neurálnej lišty u tohoto obojživelníka migrujú subepidermálne po neurálnej trubici a hlavovom mezoderme a vstupujú do trubíc vytvorených ektodermálnymi a endodermálnymi výchlípkami. Kontakty medzi ekto- a endodermom síce priestorovo vymedzujú priebech migrácie buniek, ale k separácii jednotlivých prúdov migrujúcich buniek dochádza už pred vstupom do faryngeálnych oblúkov. (Cerny et al., 2004a) (obr. 8). Bunky kraniálnej neurálnej lišty vstupujú do faryngeálnych oblúkov subepidermálne pozdĺž laterálnej strany

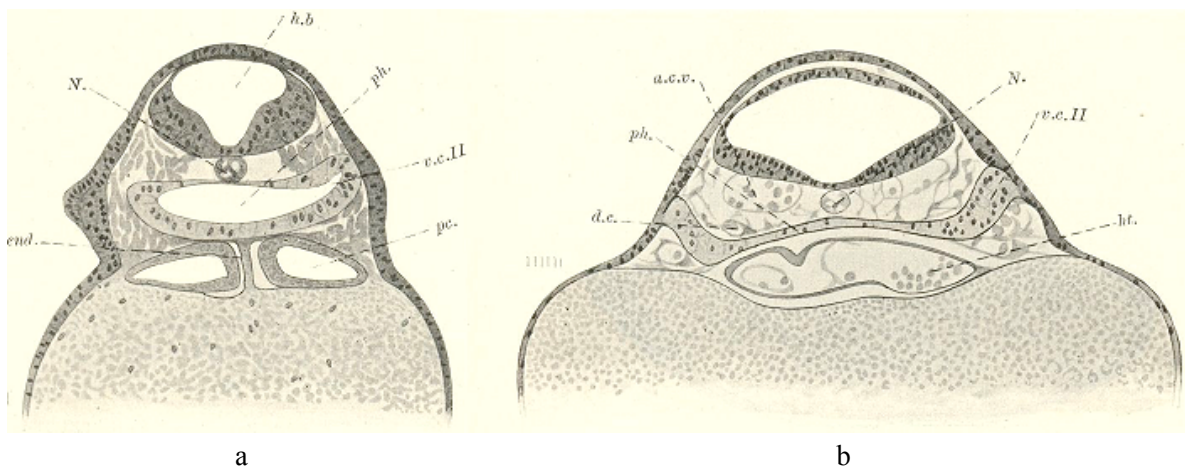


Obr. 8. Pohľad na na hlavovú oblasť embrya axolotla. Na SEM snímke sú zelenou farbou označené prúdy buniek kraniálnej neurálnej lišty. Prevzaté z Cerny et al. (2004a).

faryngeálneho mezodermu. Následne bunky podniknú tzv. „outside-in movement“ tj. obkružia centrálny mezoderm a dostanú sa k endodermu. Bunky neurálnej lišty, ktoré sa nachádzajú medzi mezodermom a endodermom, sa diferencujú na chrupavky faryngeálnych oblúkov. Populácie buniek ektomezenchýmu a mezodermu vo farynxu u axolotla sa vzájomne nemiešajú (Cerny et al., 2004a), u iných študovaných stavovcoch však ku vzájomnému miešaniu buniek oboch populácií dochádza (Le Douarin, 2004).

Formácia faryngeálnych oblúkov predstavuje proces vzájomnej interakcie buniek rôzneho embryonálneho pôvodu. Každý oblúk je zvonku pokrytý ektodermom, zvnútra endodermom, medzi nimi sa nachádzajú bunky neurálnej lišty obklopujúce mezoderm. Z ektodermu vznikne epidermis, sensorické neuróny a na branchiálnych oblúkoch u čeľustnateľov vnútorné žiabre. Endoderm je zodpovedný za vznik epitelu hltanu, chuťových pohárikov, štítnej žľazy, prištítnych teliesok a thýmusu. Z faryngeálneho mezodermu vzniknú aortálne oblúky a svaly pohybujúce opornými elementami faryngeálnych oblúkov. Bunky kraniálnej neurálnej lišty sa podieľajú na stavbe oporných štruktúr kráňa, nervových ganglií. Mandibulárny oblúk dáva vznik trabekulám (Cerny et al., 2004b). a oporným tkanivám čelustí a taktiež dentínu v zuboch. Z druhého oblúku vznikne hyoidný skelet a zo spoločného brachiálneho prúdu buniek sa diferencujú niekoľko žiabrových oblúkov, u dánia päť (Schilling & Kimmel, 1994). Bunky kraniálnej neurálnej lišty sa podieľajú aj na správnom napájaní svalov viscerálnych oblúkov ku skeletálnym elementom (Ericsson et al., 2004).

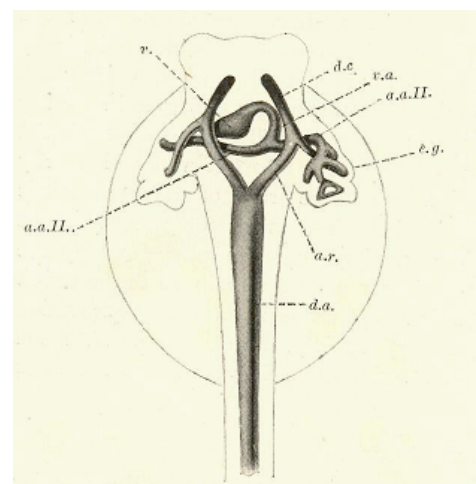
Vývin hltanovej oblasti embrya bichira, ktorý stručne popísal Kerr (1907), sa odlišuje od generalizovanej schémy vyvinu tejto oblasti u čeľustnatých stavovcov. Spočiatku má farynx tvar dorzoventrálne stlačenej trubice, dorzálna stena farynxu je v tesnej blízkosti



Obr. 9. Priečný rez embryom bichira v štádiu 25 (a) a v štádiu 27-29 (b). *a.c.v.* a *d.c.* cievy, *end.* základ endokardu, *h.b.* zadný mozog, *ht.* srdce, *N.* chorda, *pc.* perikard, *ph.* farynx., *v.c. II* základ spirákula. Prevzaté z Kerr (1907).

chordy a ventrálne vznikajúceho srdca. Z laterálnych stien farynxu sa v dorzálnom smere evaginujú párové výchlipky. Tie dajú neskôr vznik spirákulu-faryngeálnej štrbiny medzi mandibulárnym a hyoidným oblúkom. Evaginácie sa tesne spoja s epidermis, ale ku perforácii nedôjde (obr.9a). Spirákulum sa stane priechodným až u lariev prijímajúcich potravu. Pravdepodobne vplyvom zväčšujúcej sa perikardiálnej dutiny sa lumen farynxu a evaginácií znižuje až napokon zanikne (obr.9b). V laterálnych častiach farynxu sa sekundárne vytvoria dutiny, ktoré prechádzajú do operkulárnej dutiny a končia v operkulárných štrbinách. Vývin ďalších faryngeálnych štrbín je posunutý do neskorších štádií ontogenézy.

Na povrchu hlavy raného embrya bichira sa súčasne s cementovými žľazami zakladá pár vonkajších žiaber. Objavujú sa v blízkosti žltkového vaku. Pôvodne ploché útvary sa predĺžia v dorzolaterálnom smere a vyvinú sa v perovite zloženú štruktúru (Kerr, 1907). Je zaujímavé, že u raného embrya (Kerovo štádium 27 až 29 tj. ešte pred opustením vaječných obalov) je vyvinutý iba jeden pár aortálnych oblúkov odstupujúcich z ventrálnej aorty. Je to hyoidný aortálny oblúk, ktorý vedie krv zo srdca práve do



Obr. 10. Dorzálny pohľad na cievny systém embrya bichira v štádiu 27-29. *a.a.II.* hyoidný aortálny oblúk, *a.r.* korene dorzálnej aorty, *d.a.* dorzálna aorta, *d.c.* arteria carotis interna, *e.g.* vonkajšie žiabre, *v.* srdcová komora, *v.a.* ventrálne aorta. Prevzaté z Kerr (1907).

vonkajších žiaber (obr. 10). Ostatné branchiálne aortálne oblúky sa vyvinú zrejme po vytvorení žiabrových štrbín a diferenciacií branchiálneho skeletu (Kerr, 1907). U rybovitých stavovcov smeruje ventrálne aorta z komory srdca anteriórne. (Kardong, 1995). U embrya bichira v štádiu 27-29 je to však naopak - ventrálne aorta smeruje posteriórne, rozvetví sa na dve hyoidné artérie, ktoré dorzálne vstupujú do páru vonkajších žiaber. Arteriae afferens vystupujú zo žiaber anteroventrálne a vedú okysličenú krv do koreňov dorzálnej aorty a arteriae carotis internae (Kerr, 1907).

Na základe doposiaľ získaných poznatkov predovšetkým zo starších embryologických prác o ranom vývine hlavy bichira (Budgett, 1902; Kerr, 1907) môžem predpokladať, že počas veľmi raného vývoja faryngeálnej oblasti hlavy bichira prebieha tzv. heterochronický posun. Evidentne sa mandibulárny a hyoidný oblúk diferencujú skôr ako branchiálne oblúky. Otázne je však či heterochronický posun prebieha len na úrovni diferencie populácií buniek vo faryngeálnych oblúkoch, alebo či existuje heterochronia v migrácii buniek kraniaľnej neurálnej lišty a vývine farynxu. Zaujímavé by bolo porovnať migráciu buniek kraniaľnej neurálnej lišty u bichira s migráciou týchto buniek u lúčoplutvých rýb (dánio) na jednej strane, a u mlokov (axolotl) a bahníka na strane druhej.

3.4. Ontogenéza zmyslových orgánov

V štádiu neskorej neuruly sú na povrchu embrya bichira prítomné epidermálne bunky so zhlukmi cílií. Najprv sa objavujú po bokoch neurálnych valov, a čoskoro sa rozšíria takmer po celom povrchu embrya vrátane vonkajších žiaber (Bartsch et al., 1997).

V oblasti hlavy embrya bichira je kontinuálne rozšírenie buniek so zhlukmi cílií narušené vznikom epidermálnych plakód. Všeobecne u stavovcov vznikajú z ektodermy, ktorý je vymedzený rozsahom expresie génov *Six* a *Eya* kódujúcich transkripčné faktory (Schlosser, 2005). Z epidermálnych plakód, podobne ako z buniek kraniaľnej neurálnej lišty, vzniká množstvo rôznych tkanív v hlave stavovcov. Z adenohipofyzeálnej plakódy vznikne predná časť hypofýzy (Couly & Le Douarin 1985). Pár šošovkových plakód invaginuje, oddelí sa od ektodermy a vyvinie sa v šošovky v očiach (Grindley et al., 1995). Profundálne a trigeminálne plakódy spolu s bunkami kraniaľnej neurálnej lišty sa podieľajú na tvorbe senzorických ganglií nervov *nervus profundus* a *n. trigeminalis* u Anamniota (Raible & Kruse, 2000). Podľa Piotrowski & Northcutt (1996) je *n. profundus* u *Polypterus senegalus* izolovaný od *n. trigeminalis*, čo odpovedá stavu znaku u bazálnych čelustnatých stavovcov (Northcutt &

Bemis, 1993). Olfaktorické a otické plakódy dávajú vznik čuchovým resp. polohorovnovážnym senzoričným orgánom (Couly & Le Douarin, 1985). Dorzokaudálne ku faryngeálnym štrbinám vznikajú epibranchiálne plakódy, ktorých deriváty predstavujú gangliá nervov *n. facialis*, *n. glossopharyngeus* a *n. vagus* (Northcutt & Brändle, 2004). Z plakód nachádzajúcich sa anteriórne a posteriórne ku otickej plakóde vzniká u vodných anamnií systém bočnej čiary. U buniek týchto plakód prebehne proces „epithelial to mesenchymal transition“, bunky opustia ektoderm a migrujú anteriórnym a posteriórnym smerom. V spolupráci s bunkami kraniálnej neurálnej lišty vytvoria nervové gangliá a senzoričné orgány bočnej čiary (Winklbauer, 1989; Raible & Kruse, 2000).

U bichira sa objavujú zaklady orgánov odvodených z plakód veľmi skoro. Invaginácia adenohipofyzárnej plakódy prebieha počas štádia, v ktorom je na dorzálnom povrchu embrya prítomná neurálna ryha. V rovnakom štádiu sú prítomné výchlipky embryonálneho mozgu indukujúce vznik šošovky. Olfaktorická plakoda sa objavuje neskôr ako zhrubnutie vnútornej vrstvy z ektodermálnej dvojvrstvy. Dutina v olfaktorickom vačku vzniká sekundárne (Kerr, 1907)

Šesť párov nervov bočnej čiary prítomných u bichira naznačuje prítomnosť šiestich plakód teda - predpokladaného ancestrálneho stavu znaku u najranejších čeľustnatcov (Piotrowski & Northcutt, 1996). Na hlave vodných anamniot vytvára bočná čiara vetvy. Všeobecne sa predpokladá, že priebeh bočnej čiary na hlave a spôsob vetvenia je konzervatívny. V okolí kanálikoch bočnej čiary sa zakladajú osifikačné centrá pre dermálne kosti lebky. Z tohoto dôvodu sa často používa ako kritérium ku homologizácii dermálnych kostí u rôznych taxónov (napr. de Beer, 1937; Pehrson, 1947, 1958; Jollie, 1984). Na hlave bichira sa bočná čiara vetví na supraorbitálny, infraorbitálny, mandibulárny a preoperkulárny kanálik. Kanáliky predstavujú tubulárne útvary, ktoré vo vnútri obsahujú receptory a komunikujú s vonkajším prostredím cez póry v dermálnych kostiach lebky (obr. 13 na strane 23). Charakteristickým znakom kanálikov u bichira je ich pravidelné usporiadanie: medzi dvoma receptormi sa nachádza vždy jeden pór (Allis, 1922).

4. Vývin skeletálnych a dentálnych elementov orofaryngeálnej dutiny

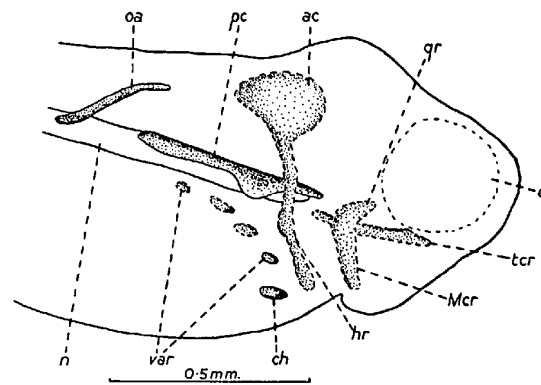
Podľa fylogenetického a embryonálneho pôvodu možno lebku stavovcov rozdeliť na tri podjednotky: splachnokránium (syn. viscerokránium), neurokránium a dermatokránium. Splachnokránium zrejme vzniklo ako podpora žiabrových štrbín a neskôr u čelustnatých stavovcov sa z jedného páru žiabrových oblukov vyvinuli čeluste a z nasledujúceho oblúku podpora čelustí. Pravdepodobne ostatné žiabrové oblúky si zachovali svoju funkciu alebo zanikli. Zdá sa, že skelet žiabrových oblukov má výlučný embryonálny pôvod v kraniálnej neurálnej lište. Neurokránium v zmysle mozgovňa (braincase) je definované ako časť kraniálneho skeletu, v ktorom je uložený mozog. V širšom zmysle neurokránium zahŕňa aj pridružené nazálne, optické a otické kapsule (Kardong, 1995). Predpokladá sa, že predná časť splachnokránia (trabekuly) splynula s neurokrániom ako podpora hornej čeluste a prednej časti mozgu (Kuratani et al., 1997). Embryonálny pôvod neurokránia je taktiež zložený: prechordálna časť je z kraniálnej neurálnej lišty, zadná časť je z hlavového a paraxiálneho mezodermu (báza neurokránia, parachordáliá a okcipitálny stavec). Ku komplikovanosti neurokránia prispieva aj skutočnosť, že u niektorých skupín stavovcov sa termín neurokránia prekrýva s termínom dermatokránium, ktoré predstavuje časť kránia vznikajúceho v dermis. Dermatokránium sa vo všeobecnosti spája s dermálnym skeletom, ktorý tvoril pancier u raných stavovcov.

4.1. Splachnokránium

Ektomezenchymálne bunky v určitých oblastiach agregujú a menia sa na chondroblasty, ktoré produkujú zložky extracelulárnej matrix. Chondroblasty obklopené extracelulárnou matrix znížia svoju exkretčnú činnosť a menia sa na chondrocyty. Z mezenchymálnej kondenzácie buniek sa stáva chrupavka. Jej povrch pokrýva mezenchymálne bunky tvoriace väzivovú vrstvu, perichondrium.

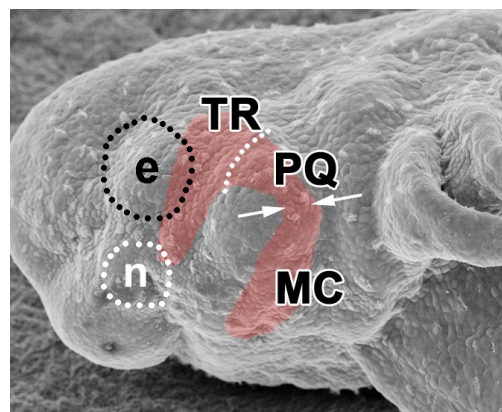
Osifikácia elementov splachnokránia u bichira prebieha perichondriálne. Mezenchymálne bunky hlbšej vrstve perichondria sa menia na osteoblasty generujúce kostný golier okolo chrupavky. Jednotky splachnokránia u bichira osifikujú neúplne, čo pomáha udržovať istú mieru mechanickej pružnosti (Clemen et al., 1998).

Vývin splanchnokránia a neurokránia popísal Moy-Thomas (1933) na základe štyroch štádií, na ktorých ale nemožno detailne sledovať kontinuitu vývinových zmien. Najranejšie štádium je 6,75 mm dlhé a podľa štádiovania Bartsch et al. (1997) zrejme vo voľnej embryonálnej fáze. Embryo nachádzajúce sa v uvedenom štádiu má ešte prítomné cementové orgány a relatívne veľký žltkový vačok. Nasledujúce popisované štádiá (8 a 9,3 mm) sú už v larválnej perióde (Bartsch et al., 1997) a v porovnaní s predchádzajúcim predstavujú veľký vývojový progres. Larva dlhá 30 mm bola pred Moy-Thomasom popisovaná Budgettom (Budgett, 1902).



Obr. 11. Rekonštrukcia kráňa 6,75 mm dlhého embrya bichira v laterálnom pohľade. *ac* otická kapsula, *ch* ceratohyále, *e* oko, *hr* základ hyosympletika, *Mcr* základ Meckelovej chrupavky, *n* chorda, *oa* oblúk okcipitálneho stavca, *pc* parachordále, *gr* základ palatokvadráta, *tcr* základ trabekuly, *vár* základy žiabrových oblúkov. Prevzaté z Moy-Thomas (1933).

Mandibulárny oblúk u dospelého bichira tvoria dva elementy: palatokvadrátum (horná čelusť) a Meckelova chrupavka (dolná čelusť). U 6,75 mm embrya sú oba elementy v podobe prechrupavkovej kondenzácie v tvare obráteného písmena L (obr. 11), podobne ako je popísané u axolotla (Cerny et al., 2004b) (obr. 12). Trabekuly sú navzájom oddelené paličkovité kondenzácie mezenchýmu. U 8 a 9,3 mm larvy anteriórne konce trabekúl sú spojené s etmoidálnymi kapsulami a posteriórne s rozšírenými parachordáliami (Moy-Thomas, 1933). Spoločné primordium pre palatokvadrátum a Meckelovu chrupavku sa rozdelí na dva elementy, ktoré sa rostrálne predlžujú. Palatokvadrátum sa v menšej miere predlžuje aj v kaudálnom smere ako otický výbežok. Perichondrálne osifikácie vzniknuté na palatokvadráte, kvadrátum a na Meckelovej chrupavke, artikulárne tvoria primárny čelustný kĺb (Pehrson, 1947). Anteriórne konce raných Meckelových chrupaviek sú najprv od seba oddelené, neskôr splyvajú v symfýzu a osifikujú perichondrálne v mentomandibuláre. Laterálne



Obr. 12. SEM snímke embrya axolotla z laterálneho pohľadu. *e* oko, *PQ* palatokvadrátum, *MC* Meckelova chrupavka, *n* nozdra, *TR* trabekula. Prevzaté z Cerny et al. (2004b).

od Meckelovej chrupavky sa vytvára labiálna chrupavka (Moy-Thomas, 1933), ktorá však podľa Jollieho (1984) funkčne a ani morfológicky nezodpovedá labiálnej chrupavke Chondrichthyes.

V ranom štádiu vývinu hyoidného oblúku dokumentovom Moy-Thomasom (1933) je prítomné mezenchymálne primordium, hyosymplektikum a malá chrupavka, ceratohyále. V nasledujúcom vývine sa diferencujú ďalšie elementy a u plne vyvinutého hyoidného skeletu sú prítomné epihyále, ceratohyále a hypohyále.

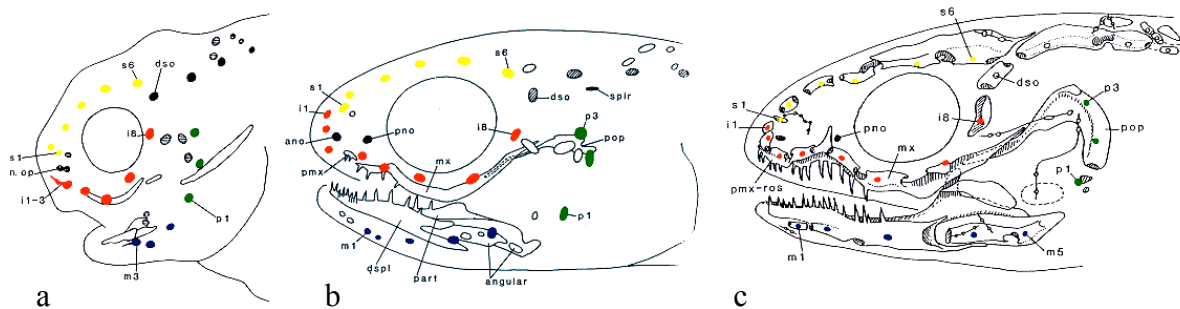
U bichira sú prítomné iba štyri žiabrové oblúky na rozdiel od väčšiny lúčoplutvých rýb. Posledný pár žiabrových oblúkov je podľa Britz & Johnson (2003) homologický ku štvrtému páru žiabrových oblúkov u Actinopterygii a piaty chýba. Branchiálne oblúky sa zakladajú ako ektomezenchymálne kondenzácie buniek, následne sa dorzálne a ventrálne predlžujú a artikulujú na jednotlivé chondrifikujúce elementy (Moy-Thomas, 1933). U ranej apterolarvy branchiálny skelet pozostáva z chrupavkovitého bazibranchiále a štyroch párov žiabrových oblúkov. Iba prvý oblúk je diferencovaný na hypo-, cerato-, a epifaryngobranchiále. Druhý a tretí oblúk sú tvorené hypo- a ceratobranchiálami. Ceratobranchiália sú perichondrálne osifikované v rôznej miere. Štvrtý oblúk nie je pripojený k basibranchiále a tvorí ho jeden element (Moy-Thomas, 1933; Wacker et al., 2001).

4.2. Dermatokránium

Dermatokránium vzniká desmogénnou osifikáciou. Mezenchymálne bunky sa zhlukujú pod epitelom do kondenzácií. Časť buniek kondenzácií dáva vznik osteoblastom, ktoré sekretujú osteoidnú matrix. Proteoglykány obsiahnuté v extracelulárnej matrix viažu vapaté katióny. Kalcifikovaná extracelulárna matrix obklopi osteobasty, ktoré výrazne znížia svoju činnosť a menia sa na osteocyty. Povrch kostnej hmoty pokrýva vrstva väziva nazývaného periost.

V okolí kanálikov bočnej čiary na hlave bichira vznikajú osifikácie. Charakteristickým znakom u bichira je podľa Pehrsona (1947) spôsob zakladania primordií kostí obsahujúcich kanáliky. V okolí budúceho mechanoreceptoru vznikne jedno kostné primordium. Neskôr jednotlivé primordiá príslušného kanálu splyvajú. Vznikne tak tubulárny kostný útvar obsahujúci kanál s mechanoreceptormi. V raných štádiách steny kostných tubulov sú nekompletné s nepravidelnými perforáciami. Tubulárne kosti sa menia postupne na ploché procesom rozširovania a neskôr hrubnutia laterálnych stien tubulov.

Maxila, dentále a s určitým oneskorením aj premaxila sa zakladajú nezávisle na kanálikoch bočnej čiary. Zuby vznikajúce v ústnom epitele sa pripojujú ku kostným primordiám. Neskôr tieto kosti splyvajú s kanálovými kosťami a vytvárajú komplexy kostí čo je znak unikátny u lúčoplutvých rýb. Jollie (1984) preto interpretuje vytváranie komplexov kostí ako autapomorfium bichirov. Premaxila a maxila splyvajú s osifikáciami rostrálnej časti infraorbitálneho kanáliku, dentále splyva s osifikáciami rostrálnej časti mandibulárneho kanáliku. Ku splyvaniu dochádza v kaudo-rostrálnom smere (obr. 13).



Obr. 13. Dermálny skelet a senzoričné línie na hlave bichira u 8 mm (a), 9,6 mm (b) a 24 mm (c) jedinca. Senzoričné orgány hlavných senzoričných línií sú farebne označené: supraorbitálne (*s1-s6*, žlté), infraorbitálne (*il-i8*, červené), mandibulárne (*m1-m6*, modré) a preoperkulárne (*p1-p3*, zelené). *angular* angulárne, *ano* predná nozdra, *dspl* dentospleniálne, *dso* dermosfenotický senzoričný orgán, *mx* maxila, *n.op* nozdra, *part* preartikulárne, *pmx* premaxila, *pmx-ros* komplex kostí premaxila a rostrálne, *pop* preoperkulárne, *pno* zadná nozdra, *spir* spirákulum. Upravené podľa Jollie (1984).

4.3. Dentica

U dospelých jedincov bichira sa zuby vyskytujú na väčšine kostí orofarynxu. V orálnej dutine sa nachádzajú na všetkých kostiach s výnimkou anguláre na spodnej čelusti. Premaxila, maxila a dentále tvoria masívne kosti a zuby sú na nich usporiadané v jednej línie. Náhradné zuby sa nachádzajú linguálne v medzerách medzi zubami. Ostatné kosti čelustí a ústneho podnebia sú skôr ľahšie stavané a zuby na nich vytvárajú niekoľko radov. V ústnej dutine sú vytvorené dva paralelne prebiehajúce oblúky väčších zubov. Vonkajší oblúk tvoria marginálne zuby na premaxile, maxile a dentále. Zuby vnútorného oblúku sú menšie v porovnaní s vonkajším oblúkom a nachádzajú sa na vomere, demopalatíne, ektopterygoide, koronoide a preartikuláre. Zuby sa nenachádzajú na skelete hyoidného oblúku (Allis, 1922). Na elementoch branchiálneho aparátu sa nachádzajú tzv. „dental plates“. Predstavujú dermálne kosti nesúce zuby a sú syndesmoticky pripevnené ku spojivovým tkanivám branchiálneho aparátu (Clemen et al., 1998).

Stavbou zubu sa *Polypterus* výrazne nelíši od stavby zubu u Actinopterygii. Dreňovú dutinu obklopuje dentínový kužeľ a na jeho vrchole sa nachádza enameloid tvoriaci tzv. „enameloid cap“ (Kerr, 1959). Enameloid je tkanivo podobné enamelu, ale vzniká iným spôsobom. Na tvorbe väčšiny organickej matrix enameloidu sa podieľajú odontoblasty. Enamel je však produkt ameloblastov. Na zuboch bichira nebola zistená prítomnosť tzv. „ectodermal collar enamel“ ako u šľukovca (*Lepisosteus* sp.) (Sasagawa et al., 2004). Podľa Kerra (Kerr, 1959) sa u *Polypterus* na rozdiel od iných Actinopterygii nie je vytvorené spojivo, tzv. „attachement bone“ teda kostné tkanivo pripevňujúca zub ku tzv. zubonosnej kosti (napríklad premaxile, maxile, dentále atď). Podľa Finka (1981) u bichira je vytvorená pripevňovacia kosť ale sa od zubonosnej kosti histologicky či chemicky nelíši. Preto je u bichira ťažké definovať hranicu medzi pripevňovacou a zubonosnou kosťou. Tento názor potvrdili aj neskoršie štúdie (Clemen et al., 1998; Wacker et al., 2001; Sire et al., 2002)

Všetky zuby sú monokuspidné, kužeľovité, v priereze okrúhle alebo oválne bez reznej plochy a preto možno označiť denticu bichira za homodontnú. Clemen et al. (1998) však klasifikovali zuby podľa tvaru, veľkosti a rozsahu enameloid cap do nasledujúcich troch typov.

Typ 1 predstavujú masívne zuby so širokou bázou a enameloid cap zaberá približne 25% z celkovej dĺžky zubu. Nachádzajú sa na premaxile, maxile, dentále a preartikuláre.

Typ 2 zahŕňa štíhlejšie, silne zahnuté zuby, predĺžený, postupne sa zužujúci enameloid cap zaberá 35% celkovej dĺžky zubu. Na dermopalatíne, vomeri a koronoidoch zuby tohoto typu sa stupňujú vo veľkosti. Sú tiež prítomné na tooth plates cerato- a faryngobranchiálií a na faryngobranchiálnom ligamente.

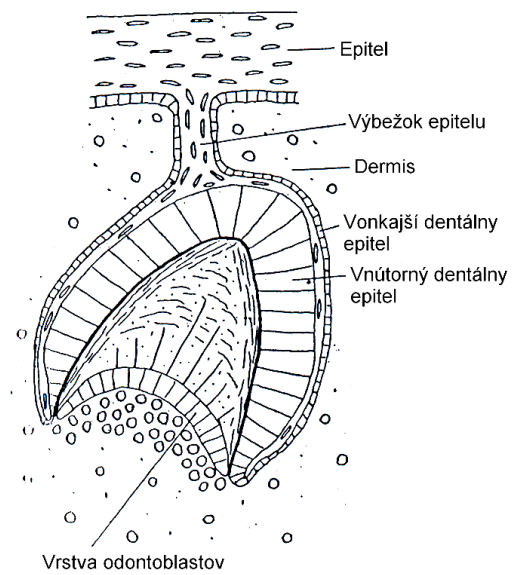
Typ 3 reprezentujú štíhlejšie zuby s ostrým kónickým vrcholom. Slabo zahnutý enameloid cap predstavuje takmer polovicu celkovej dĺžky zubu. Zuby tohoto typu možno nájsť na endopterygoide, dermometapterygoide a parasphenoide. Tento typ zubov obsahujú tooth plates hypo- a bazibranchiálií.

Vznik a vývin zubov je najpodrobnejšie preštudovaný na modeli myši, ktorá však vlastní veľmi odvodený typ dentice s redukovaným počtom zubných generácií. Mezenchymálne bunky pôvodom z kraniálnej neurálnej lišty indukujú pod orálnym epitelom. Bunky epitelu nad ektomezenchýmom sa predĺžia čím epitel zhrubne a pripomína epidermálne plakody. Zhrubnutý epitel následne invaginuje a vytvára tzv. dentálnu papilu. Čoskoro sa zhlukujú mezenchymálne bunky v okolí invagovaného epitelu do menších kondenzácií. V tomto období sa zub nachádza v štádiu zvonu. Tkanivá začnú mineralizovať, z epitelu sa stáva

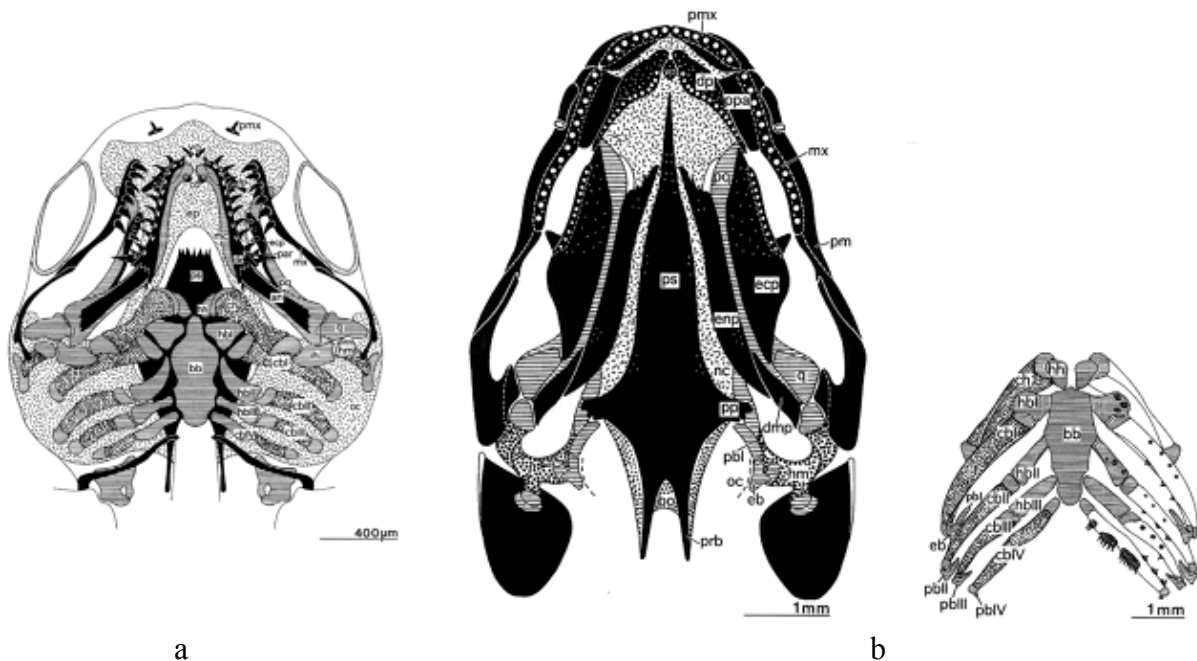
enamel a z mezenchýmu dentín. Zo zárodku sa stane funkčný zub po erupcii (prerezaním orálneho epitelu).

U bichira sa zuby kontinuálne nahrádzajú počas života jedinca a takýto typ dentice sa označuje ako polyfyodontný. Prvé zuby sa objavujú súčasne počas fázy voľného embryonálneho vývinu (Wacker et al., 2001). Sire et al. (2002) študovali tzv. „zuby prvej generácie“ (first-generation teeth), ktoré zadefinovali ako prvé funkčné zuby dentice vyvíjajúce sa v danej pozícii na čeľusti. U bichira sa tento typ zubov formuje vo voľnom mezenchýme vzdialene od

primordií zubonostných kostí. Orálny epitel sa invaginuje a vytvorí dentálny orgán, ktorý sa skladá z vonkajšieho a vnútorného dentálneho epitelu. Invaginujúci epitel obklopí mezenchým (odvodený je od kraniálnej neurálnej lišty), ktorý sformuje dentálnu papilu.



Obr. 14. Schématické zobrazenie vyvíjajúceho sa zubu u lúčoplutvých rýb. Upravené podľa Kerr (1958).



Obr. 15. Kráanium bichira s denticou vo fáze apterolarvy (a) a pterolarvy (b) z ventrálnej strany. *an* anguláre, *bb* bazibranchiáliá, *cb* ceratobranchiáliá, *ch* ceratohyále, *clt* cleitrum, *co* koronoid, *de* dentále, *dmp*-dermometapterygoid, *dp* dermopalatine, *ecp* ektopterygoid, *ep* etmoidálna doštička, *hb* hypobranchiáliá, *hh* hypohyále, *hm* hyomandibula, *ih* interhyále, *mc* Meckelova chrupavka, *mx* maxila, *oc* otická kapsula, *par* preartikuláre, *pm* posteriorný výbežok maxily, *pmx* premaxila, *pp* výbežok parasfenoidu, *pro* preoperkuláre, *pq* palatokvadrátum, *ps* parasfenoid, *q* pars quadrata polatoquadrati, *vo* vomer. Prevzaté z Wacker et al (2001).

Pozdĺž rozhrania vnútorný dentálny epitel a ektomezenchým sa z mezenchýmu diferencujú odontoblasty. Dentínu podobná matrix sa začína ukladať odontoblastami na vrchole zubu a pokračuje až ku báze zubu (obr. 14). Zuby prvej generácie u bichira sú kónického tvaru a relatívne malé (100 μm na výšku a 20 μm v priemere).

Prvé zuby sa u bichira objavujú v oblastiach, kde sa formuje maxila, dentále, dermopalatinum, preartikuláre a anteriórny koronoid. Na primárnych zuboch nie je jasne rozlíšiť enameloid cap. Prvé náhradné zuby sa objavujú počas neskorej fáze apterolarvy v spojení so zubmi na maxile a dentále. Zuby na kostiach sú usporiadané v jednom rade so širokými medzerami medzi sebou. Počas predlžovania čelustí vznikajú nové zuby v týchto medzerách (obr. 15a). V ranej fáze pterolarvy sa objavujú zuby na kostiach aj mimo vytvorené línie zubov (obr. 15b). Zuby v tomto štádiu sa začínajú líšiť medzi sebou veľkosťou a tvarom, na ich vrchole už možno rozlíšiť enameloid cap. Zuby na branchiálnom skelete sa objavujú v porovnaní so zubami orálnej dutiny oveľa neskôr, vo fáze neskorej apterolarvy. Na mediálnej strane ceratobranchiále I až III a na laterálnej strane všetkých štyroch ceratobranchiálií sa nachádzajú malé „dental plates“ a každé je asociované s jedným zubom. Na štvrtom ceratobranchiále sa nachádzajú tri väčšie „dental plates“ s niekoľkými zubmi. Na posteriornom okraji sú vyvinuté väčšie zuby. Pripomína to stav u dospelých jedincov. Hypobranchiále I a II obsahujú zubné pláty s rôznym počtom zubov (Wacker et al., 2001).

5. Záver

Výsledky molekulárnych fylogenetických štúdií takmer zhodne označujú bichirov ako najbazálnejších žijúcich zástupcov lúčoplutvých rýb (Actinopterygii). Na základe fosílného záznamu si však nedokážeme urobiť detailnú predstavu o ich ancestrálnych vzťahoch ku fosílnym skupinám a tak ich vznik a evolúcia zostáva čiastočne zahalená tajomstvom. Každopádne bichiry predstavujú dôležitú skupinu stavovcov v pochopení vývojových zmien, ktoré nastali nielen v evolúcii Actinopterygii ale taktiež v ranej evolúcii Sarcopterygii a teda i Tetrapoda. Porovnanie a prehodnotenie ontogenetických znakov spomínaných skupín môže výrazne pomôcť k pochopeniu evolučných procesov v línii Teleostomi. Túto možnosť však komplikuje aj málo známy raný vývin bichira a to i napriek vyše dvestoročnej histórii taxónu. S výnimkou stručných deskriptívnych embryologických prác na začiatku dvadsiateho storočia (Budgett, 1902; Kerr, 1907) sa vie o veľmi ranom vývine hlavy bichira iba minimum. Vznik, migrácia a diferenciácia populácií buniek kraniálnej neurálnej lišty u tohto stavovca nebola doposiaľ študovaná. Oveľa lepšie je známa deskripcia chondrifikácie a osifikácie kráňa (Pehrson, 1947, 1958; Jollie 1984). Zo skromných poznatkov je možné predpokladať, že počas ranej faryngogenézy prebieha heterochrónický posun medzi diferenciáciou prvých dvoch a branchiálnych oblúkov. Otázna je však aj konkrétna ontogenetická uroveň na akej heterochrónia prebieha. Popis raného vývinu embrya bichira pripomína raný vývin mlokov a bahníkov (Bartsch et al., 1997) ale môže sa jednať o podobnosť spôsobenú vývinovými obmedzeniami tzv. „developmental constrains“, čo by bolo zaujímavé zistiť. Prítomnosť spomenutých javov počas ranej ontogenézy bichira možno totiž v súčasnosti iba hypotetizovať.

Jedným z hlavných dôvodov nedostatočne známeho raného vývinu hlavy bichira je veľmi zriedkavý odchov v zajatí. V tomto ohľade mám veľkú výhodu. Počas bakalárskeho štúdia sa mi podarilo zafixovať dostatok embryí, lariev a juvenilov druhu *Polypterus senegalus*. V nasledujúcom štúdiu sa chcem venovať ranému vývinu faryngeálnej oblasti bichira. Chcem sa zamerať predovšetkým na migráciu buniek kraniálnej neurálnej lišty a diferenciáciu bunkových populácií vo faryngeálnych oblúkoch. K tomuto projektu bude treba najprv materiál detailnejšie rozdeliť na štádia. Zároveň by bolo vhodné použiť molekulárne markery, ako napríklad HNK-1 či *Snail* pre vizualizáciu buniek kraniálnej neurálnej lišty bichira. Zaujímavé výsledky môže priniesť použitie skenovacieho elektrónového mikroskopu

pri embryách s odpreparovaným ektodermom v štádiu vzniku a migrácie buniek kraniálnej neurálnej lišty.

Na záver by som chcel vyzdvihnúť prínos bakalárskej práce pre mňa. Vypracovaním tohoto literárneho prehľadu som si osvojil prácu s literatúrou a vedomosti, ktoré chcem využiť počas nasledujúceho štúdia pri vypracovaní diplomovej práce.

6. Zoznam použitej literatúry

6.1. Priame citácie

- Allis EP** (1922) The cranial anatomy of *Polypterus* with special reference to *Polypterus bichir*. *Journal of Anatomy*. 56, 189-294.
- Bartsch P, Gemballa S, Piotrowski T** (1997) The embryonic and larval development of *Polypterus senegalus* Cuvier 1829: Its staging with reference to external and skeletal features, behaviour and locomotory habits. *Acta Zoologica*. 78, 309-328.
- Bjerring HC** (1985) Facts and thoughts on piscine evolution. In: *Evolutionary Biology of Primitive Fishes* (eds. R. E. Foreman, A. Gorbman, J. M. Dodd and R. Olsson), pp. 31-57. New York: Plenum Press.
- Britz R & Johnson GD** (2003) On the homology of the posteriormost gill arch in polypterids (Cladistia, Actinopterygii). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 138, 495-503.
- Budgett JS** (1902) On the structure of the larval *Polypterus*. In: *The Work of John Samuel Budgett, Balfour Student of the University of Cambridge: Being a Collection of His Zoological Papers, together with a Biographical Sketch by A. E. Shipley, F.R.S., and Contributions by Richard Assheton, Edward J. Bless, Edward T. Browne, J. Herbert Budgett and J. Graham Kerr* (ed. Kerr JG), pp. 154-185. Cambridge: Cambridge University Press
- Cerny R, Meulemans D, Berger J, Wilsch-Bräuninger M, Kurth T, Bronner-Fraser M. & Epperlein H-H** (2004a) Cranial neural crest migration and pharyngeal arch morphogenesis in axolotl. *Developmental Biology*. 266, 252-269.
- Cerny R, Lwigale P, Ericsson R, Meulemans D, Epperlein H-H & Bronner-Fraser M** (2004b) Developmental origins and evolution of jaws: new interpretation of “maxillary” and “mandibular”. *Developmental Biology*. 276, 225-236.
- Chui C, Dewar K, Wagner GP, Takahashi K, Ruddle F, Ledje C, Bartsch P, Scemama J-L, Stellwag E, Fried C, Prohaska SJ, Stadler PF, Amemiya CT** (2004) Bichir HoxA cluster sequence reveals surprising trends in ray-finned fish genomic evolution. *Genome Research*. 14, 11-17.
- Clemen G, Bartsch P, Wacker K** (1998) Dentition and dentigerous bones in juveniles and adults of *Polypterus senegalus* (Cladistia, Actinopterygii). *Annals of Anatomy*. 180, 193-288.
- Couly GF, Le Douarin NM** (1985) Mapping the early neural primordium in quail-chick chimeras. I. Developmental relationship between placodes, facial ectoderm, and prosencephalon. *Developmental Biology*. 110, 422-439.
- Daget J, Gayet M, Meunier FJ & Sire JV** (2001) Major discoveries on the dermal skeleton of fossil and Recent polypteriforms : a review. *Fish and Fisheries*, 2, 113-124.

- de Beer GR** (1937) The development of the vertebrate skull. pp.552. Oxford: Clarendon Press.
- Dutheil DB** (1999) The first articulated cladistian: *Serenoichthys kemkemensis*, gen. et sp. nov., (Actinopterygii: Cladistia) from the Cretaceous of Morocco. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 19, 243-246.
- Ericsson R, Cerny R, Falck P & Olsson L.** (2004) The role of cranial neural crest cells in visceral arch muscle positioning and patterning in the Mexican axolotl, *Ambystoma mexicanum*. *Developmental Dynamics*. 231, 237-247
- Flegl J** (1998) On the „origin“ of natural selection by means of speciation. *Rivista di Biologia-Biology Forum*. 91, 291-304.
- Gardiner BG, Schaeffer B & Masserie JA** (2005) A review of the lower actinopterygian phylogeny. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 144, 511-525.
- Gilbert SF** (2006) Chapter 13: Neural crest cells and axonal specificity. In: *Developmental biology, 8th Edition* (ed. Gilbert SF), pp. 407-441 Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Goodrich ES** (1928) *Polypterus* a palaeoniscid? *Palaeobiologica*. 1, 87-92.
- Greenwood PH** (1974) A review of the Cenozoic freshwater fish faunas in Africa. *Annals of the Geological Survey of Egypt*. 4, 211-232.
- Grindley JC, Davidson RC & Hill RE** (1995) The role of Pax-6 in eye and nasal development. *Development*. 121, 1433-1442
- Hall BK** (2000) The neural crest as a fourth germ layer and vertebrates as quadrolastic not triploblastic. *Evolution & Development*. 2, 3-5.
- Hall BK** (2001) John Samuel Budgett (1872-1904) : In pursuit of *Polypterus*. *BioScience* 51, 399-407.
- Hurley IA, Mueller RL, Dunn KA, Schmidt EJ, Friedman M, Ho RK, Prince VE, Yang Z, Thomas MG & Coates MI** (2007) A new time-scale for ray-finned fish evolution. *Proceedings of The Royal Society*. 274, 489-498.
- Inoue JG, Miya M., Tsukamoto K, & Nishida M.** (2003) Basal actinopterygian relationships: a mitogenomic perspective on the phylogeny of the ancient fish. *Molecular Phylogenetic and Evolution*. 26, 110-120.
- Jarvik E** (1964) Specializations in early vertebrates. *Annales de la Societe Royale Zoologique de Belgique*. 94, 11-95.
- Jeffery R, Stricker AG & Yamamoto Y** (2004) Migratory neural crest-like cells body pigmentation in a urochordate embryo. *Nature*. 431, 696-699.
- Johnston JB** (1910) The limit between ectoderm and endoderm in the mouth, and origin of taste buds in amphibians. *The American Journal of Anatomy*. 10, 41-67.

- Jollie M** (1984) Development of the head and pectoral skeleton of *Polypterus* with a note on scales (Pisces : Actinopterygii). *Journal of Zoology, London*. 204, 469-507.
- Kardong KV** (1995) *Vertebrates. Comparative Anatomy, Function, Evolution*. Dubuque: Wm. C. Brown Publishers.
- Kerr JG** (1902) The development of *Lepidosiren paradoxa*. Part III.-Development of the skin and its derivatives. *Quarterly Journal of Microscopical Science*. 45, 417-463.
- Kerr JG** (1907) The development of *Polypterus sevegalus* Cuv. In: *The Work of John Samuel Budgett, Balfour Student of the University of Cambridge: Being a Collection of His Zoological Papers, together with a Biographical Sketch by A. E. Shipley, F.R.S., and Contributions by Richard Assheton, Edward J. Bless, Edward T. Browne, J. Herbert Budgett and J. Graham Kerr* (ed. Kerr JG), pp. 195-290. Cambridge: Cambridge University Press.
- Kerr T** (1959) Development and structure of some actinopterygian and urodele teeth. *Proceedings of the Zoological Society of London*. 133, 401-422.
- Kikugawa K, Katoh K, Kuraku S, Sakurai H, Ishida O, Iwabe N, Miyata T**, (2004) Basal jawed vertebrate phylogeny inferred from multiple nuclear DNA-coded genes. *BMC Biology*. 2, 3.
- Kuratani S, Ueki T, Aizawa S. & Hirano S** (1997) Peripheral development of cranial nerves in a cyclostome, *Lampetra japonica*: morphological distribution of nerve branches and vertebrate body plan. *The Journal of Comparative Neurology*. 384, 483-500.
- Le Douarin NM** (2004) The avian embryo as a model to study the development of the neural crest: A long and ongoing study. *Mechanisms of Development*. 121, 1089-1102.
- Lê HI, Lecointre G., Perasso R.** (1993) A 28s rRNA-based phylogeny of the gnathostomes: first step in analysis of conflict and congruence with morphologically based cladograms *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2, 31-51.
- Liu JP & Jessell TM** (1998) A role for rhoB in the delamination of neural crest cells from the dorsal neural tube. *Development*. 125, 5055-5067.
- Lund P** (2000) The new Actinopterygian order Guildayichthyiformes from the Lower Carboniferous of Montana (USA). *Geodiversitas*. 22 (2), 171-206.
- Moy-Thomas JA** (1933) Notes on the development of the chondrocranium of *Polypterus senegalus*. *Quarterly Journal of Microscopical Science*. 76, 209-229.
- Moy-Thomas JA & Miles RS** (1971) *Paleozoic Fishes*. London: Chapman and Hall Ltd..
- Nieto MA, Sargent MG, Wilkinson DG & Cooke J** (1994) Control of cell behavior during vertebrate development by Slug, a zinc finger gene. *Science*. 264, 835-839.
- Noack K, Zardoya R, & Meyer A**, (1996) The complete mitochondrial DNA sequence of the bichir (*Polypterus ornatipinnis*), a basal ray-finned fish: ancient establishment of consensus vertebrate gene order. *Genetics*. 144, 1165-1180.

- Nomark BB, McCune AR, Harrison RG** (1991) Phylogenetic relationship of neopterygian fishes, inferred from mitochondrial sequences. *Molecular Biology and Evolution*. 8, 819-834.
- Northcutt RG & Bemis WE** (1993) Cranial nerves of the coelacanth, *Latimeria chalumnae* (Osteichthyes: Sarcopterygii: Actinistia), and comparison with other craniata. *Brain Behaviour and Evolution*. 42, 1-76.
- Northcutt RG & Brändle K** (2004) Development of branchiomic and lateral line nerves in the axolotl. *The Journal of Comparative Neurology*. 355, 427-454.
- Otero O, Likius A, Vignaud P, Brunet M.** (2006) A new polypterid fish : *Polypterus faraou* sp. nov. (Cladista: Polypteridae) from Late Miocene Toros-Menalla, Chad. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 146, 227-237.
- Patterson C** (1982) Morphology and interrelationships of primitive actinopterygian fishes. *American Zoologist*. 22, 241-259.
- Pehrson T** (1947) Some new interpretations of skull in *Polypterus*. *Acta Zoologica*. 28, 399-455.
- Pehrson T** (1958) The early ontogeny of the sensory lines and the dermal skull in *Polypterus*. *Acta Zoologica*. 39, 241-258.
- Piotrowski T & Northcutt RG** (1996) The cranial nerves of the Senegal bichir, *Polypterus senegalus* (Osteichthyes: Actinopterygia: Cladistia). *Brain Behaviour and Evolution*. 47, 55-102.
- Raible DW & Kruse DJ** (2000) Organization of the lateral line system in embryonic zebrafish. *Journal of Comparative Neurobiology*. 421, 189-198.
- Roček Z** (2002) Historie obratlovcu evoluce, fylogeneze, systém. Praha: Academia.
- Romer AS** (1946) The early evolution of fishes. *Quarterly Review of Biology*. 21, 33-69.
- Santagati F & Rijli FM** (2003) Cranial neural crest and the building of the vertebrate head. *Nature Reviews, Neuroscience*. 4, 806-818.
- Sasagawa I & Ishiyama M** (2004) Fine structural and cytochemical observations on the dental epithelial cell during cap enameloid formation stages in *Polypterus senegalus*, a bony fish (Actinopterygii). *Connective Tissue Researches*. 46, 24-43.
- Schilling TF & Kimmel CB** (1994) Segment and cell type lineage restriction during pharyngeal arch development in the zebrafish embryo. *Development*. 120, 483-494.
- Schlosser G** (2005) Evolutionary origins of vertebrate: insight from developmental studies and from comparisons from developmental studies and from comparisons with other deuterostomes. *Journal of Experimental Zoology (Molecular and Developmental Evolution)*. 304B, 347-399.

- Smith A, Robinson V, Patel K & Wilkinson D G** (1997) The EphA4 and EphB1 receptor tyrosine kinases and ephrin-B2 ligand regulate targeted migration of branchial neural crest cells. *Current Biology*. 7, 561–570.
- Trainor PA & Krumlauf R** (2001) Hox genes, neural crest and branchial arch patterning. *Current Opinion in Cell Biology*. 13, 698-705.
- Venkatesh B, Ning Y & Brenner S** (1999) Late changes in spliceosomal introns define clades in vertebrate evolution *Proceedings of National Academy of Sciences of The United States of America*. 96, 10267-10271.
- Wacker K, Bartsch P, Clemen G** (2001) The development of the toothed pattern and dentigerous bones in *Polypterus senegalus* (Cladistia, Actinopterygii). *Annals of Anatomy*. 183, 37-52.
- Watanabe K, Sasaki F & Takahama H** (1984) The ultrastructure of oral (buccopharyngeal) membrane formation and rupture in the anuran embryo. *The Anatomical Record*. 210, 513-524.
- Waterman RE & Schoenwolf GC** (1980) The ultrastructure of oral (buccopharyngeal) membrane formation and rupture in the chick embryo. *The Anatomical Record*. 197, 441-470.
- Winklbauer R** (1989) Development of the lateral line system in *Xenopus*. *Progress in Neurobiology*. 31, 181-206.

6.2. Nepriame citácie

- Agassiz JLR** (1833-44) *Recherches sur les poissons fossiles*. Neuchâtel et Soleure: Petitpierre. Citované podľa Patterson (1982).
- Arnoult J.** (1964) Comportement et reproduction en captivité de *Polypterus senegalus* C. *Acta zoologica*. 45, 191-199. Citované podľa Bartsch et al. (1997).
- Cope ED** (1872) Observations on the systematic relations of the fishes. *Proceedings of the American Association for the Advancement of Science*, 20, 317-343. Citované podľa Patterson (1984).
- Dromart G, Lécuyer C, Gayet M, Granjean P, Méon H & Otero O** (1999) Reconstructing aquatic environments and climate in the Maastrichtian-Danian of Bolivia by combining sedimentology, palynology and $\delta^{18}\text{O}$ of vertebrates. In 6th Symposium of the European Union of Geoscience (March 28-April 1, Strasbourg, France). *Journal of inference abstract*. 4, 210. Citované podľa Daget et al. (2001).
- Gayet M & Meunier EJ** (1992) Polypérimorphes du Maastrichtien et du Paléocène de Bolivie. *Geobios, Mémoire spécial*. 14, 159-168. Citované podľa Daget et al. (2001).
- Huxley TH** (1861) Preliminary essay upon the systematic arrangement of the fishes of the Devonian epoch. *Memoirs of the geological survey of the United Kingdom* 421-460. Citované podľa Patterson (1984).

Moy- Thomas JA (1934) The structure and affinities of *Tarrasius problematicus*, Traquair. Proceedings of The Zoological Society London. (1934), 367-376. Citované podľa Moy-Thomas & Miles (1971).

Müller J (1846) On the structure and characters of the Ganoidei, and on the natural classification of the fish. *Scientific Memoirs*. Citované podľa Patterson (1984).

Saint-Hilaire EG (1802) Histoire naturelle et description anatomique d'un nouveau genre de poisson du Nil, nommé Polyptère. *Annales du Muséum d'Histoire Naturelle* 1, 57-68. Citované podľa Daget et al. (2001).