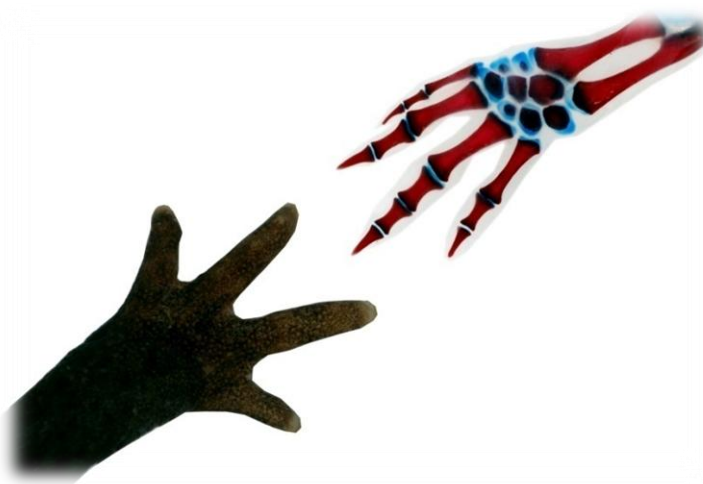


Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Přírodovědecká fakulta



# **Ontogenetický vývoj lopatkového pletence u vybraných druhů ocasatých obojživelníků**

Bakalářská práce



Sylvie Tíkalová

Vedoucí práce: RNDr. Pavla Robovská, PhD.

**České Budějovice 2012**

Tíkalová, S. (2012): Ontogenetický vývoj lopatkového pletence u vybraných druhů ocasatých obojživelníků [Ontogenetic development of the pectoral girdle in some species of salamanders. Bc. Thesis, in Czech.] – 64 pp., Department of Zoology, Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

**Anotace:**

This bachelor thesis consists of two main parts. First of them is the theoretical compilation of information and facts about pectoral girdle – its form, function and appearance in different groups of vertebrates. Further I focused on the development of forelimb, the origin of pectoral girdle, and on the way how this structure looks in fossil ancestors of tetrapods.

Second part is the practical one, I studied the ontogenetic development of the pectoral girdle of three species of Caudata: *Ambystoma mexicanum*, *Lissotriton vulgaris* and *Pleurodeles waltl*. The appearance of pectoral girdle was also explored in some adult species of salamanders. This study was based on observation and photographic documentary of double-stained specimens and creation of 3D models of pectoral girdles.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

**V Českých Budějovicích 27. 4. 2012**

**Sylvie Tíkalová**

## Obsah

<b>1. ÚVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Historie čtvernožců - od ploutví ke končetinám.....</b>	<b>2</b>
1.1.1. Rybí prapředci.....	2
1.1.2. První čtvernožci .....	4
<b>1.2. Moderní obojživelníci .....</b>	<b>10</b>
1.2.1 Vznik moderních obojživelníků - Lissamphibia.....	10
1.2.2. Fylogenetické vztahy .....	11
<b>1.3. Lopatkový pletenec .....</b>	<b>13</b>
1.3.1. Funkce a struktura lopatkového pletence.....	13
1.3.2. Původ lopatkového pletence .....	13
1.3.3. Lopatkový pletenec obratlovců .....	14
1.3.4. Lopatkový pletenec recentních obojživelníků (Amphibia)...	17
1.3.4.1. Lopatkový pletenec žab (Anura).....	18
1.3.4.2. Lopatkový pletenec ocasatých obojživelníků (Caudata)....	21
<b>2. CÍLE PRÁCE .....</b>	<b>24</b>
<b>3. MATERIÁL A METODY.....</b>	<b>25</b>
<b>4. VÝSLEDKY .....</b>	<b>31</b>
<b>5. DISKUSE .....</b>	<b>45</b>
<b>6. ZÁVĚR.....</b>	<b>54</b>
<b>7. PODĚKOVÁNÍ.....</b>	<b>55</b>
<b>8. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....</b>	<b>56</b>

## 1. ÚVOD

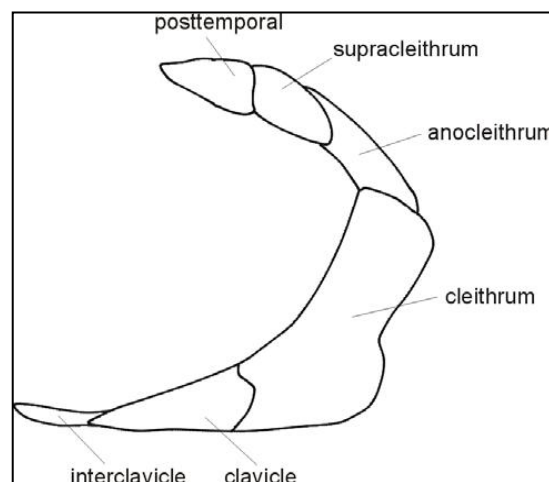
Obojživelníci jsou bezpochyby nejstarší suchozemští obratlovci. Podle fosilních dokladů se na naší planetě objevili první praobojživelníci v období prvohor, ve středním devonu asi před 350 miliony lety. Aby se tělo ryby proměnilo v obojživelníka, muselo se udát mnoho změn v jeho anatomické i morfologické struktuře. Expanze na pevninu a osídlení souše je jedním ze zásadních bodů evoluce, neboť takový radikální krok obnášel spoustu evolučních změn a adaptací. Nové prostředí si žádalo změny spojené s fyziologií, stavbou těla, funkcí smyslů a celkovou proměnu způsobu života. Anatomie těla terestrických obratlovců se ale nemusela měnit od úplných základů. Při studiu paleontologických nálezů byla pozorována anatomická stavba lalokoploutvých ryb a nejstarších obojživelníků a bylo zjištěno, že lalokoploutvé ryby jisté predispozice pro život na souši již měly. Na bázi čtvernožců stojí řada rybích zástupců, jejichž stavba těla reprezentuje jakousi přechodnou fázi mezi lalokoploutvými rybami a pravými tetrapody. Byli to aktivní predátoři, ještě zcela vázání na vodní prostředí, kteří však již byli vybaveni vnitřními nozdrami, plícemi a ploutvemi umístěnými na svalových násadcích vyztužených kostmi, jež byly základem kráčivých končetin. Přeměna ploutve ryby na končetinu suchozemského tetrapoda proběhla během asi 9 milionů let (Carroll, 1996).

Aby byla končetinám umožněna pohybová a podpurná funkce, tak musely být napojeny na osovou kostru. To se ovšem událo u obou končetin rozdílným způsobem. Připojení předních končetin, původně k zadní části rybí lebky, dalo vznik útvaru zvanému lopatkový pletenec. Tato struktura prošla během evoluce obratlovců značnými proměnami a studium jejího původu nám dává možnost porozumět a nahlédnout do složitého vývoje těl obratlovců.

## 1.1. Historie čtvernožců - od ploutví ke končetinám

### 1.1.1. Rybí prapředci

Dnešní obojživelníci, stejně jako všichni další tetrapodi, mají za své předky zástupce lalokoploutvých ryb. Příkladem devonských lalokoploutvých ryb ze skupiny *Osteolepiformes* je rod *Eusthenopteron*. Fosílie tvora nazvaného *Eusthenopteron foordi* byla nalezena v přírodním parku Miguasha v Quebecu a po dlouhou dobu byl tento zástupce neblížeším známým příbuzným všech tetrapodů. Jeho lopatkový pletenec byl tvořen velkým množstvím dermálně vznikajících elementů. Pásmo pletence začínalo na ventrální straně nepárovou kostí interklavikulou, na ní navazovali z obou stran lebky kosti klíční - klavikuly, dále elementy kleitrum, anokleitrum a suprakleitrum a celý útvar uzavírala na dorzální straně nepárová kost zvaná posttemporale (Obr. 1). Endochondrální osifikací vzniklý útvar skapulokorakoid přirůstal na vnitřní stranu kleitra. Elementy vzniklé dermální osifikací byly během evoluce suchozemských obratlovců postupně redukovány. Oproti tomu skapulokorakoid byl během evoluce rozlišen na dvě samostatné části – lopatku (scapula) a kost krkavčí (coracoid). Zbylá, dermálně osifikující, část lopatkového pletence recentních obojživelníků dodnes připomíná jeho evoluční historii.



Obr. 1: Lopatkový pletenec, *Eusthenopteron* (podle Jarvika, 1980).

Dalším devonským zvířetem, které doplňuje cestu evoluce od ryb k tetrapodům je *Panderichthys rhombolepis*. Toto asi metr dlouhé rybovitě stvoření, které zřejmě obývalo sladkovodní, mělké vodní plochy, bylo

nalezeno v Litvě ve vrstvách svrchního devonu. *Panderichthys* patří k jednomu z nejranějších zástupců počínající linie vedoucí k suchozemským čtvernožcům. Vzhledem připomínal stále rybu, která však postrádala hřbetní a řitní ploutev a ploutev ocasní se podobala spíše ocasu. Hlavu měl plochou, trojúhelníkovitého tvaru, s očnicemi na svrchní části, lebka nesla rysy připomínající lebku suchozemských tetrapodů; například pro lalokoploutvé ryby typický intrakraniální kloub *Panderichthys* ještě měl, ovšem redukovaný a z vnější části lebky nepozorovatelný (Boisvert, 2005). *Panderichthys* využíval při lezení především prsní ploutve, břišní byly primitivnější než prsní a více se podobaly ploutvím lalokoploutvých ryb. Na jeho kostře lze zachytit fázi postupného oddělování předních končetin od lebky (Boisvert, 2005).

Do svrchnědevonské rybí paleofauny byl zařazen i nález fosilního tvora rodu *Elpistostege*, který byl nalezen ve stejném kanadském přírodním parku jako *Eusthenopteron* a v roce 1938 popsán Westollem jako tetrapod. Měl plochou hlavu, malé kulaté očnice a výrazně protáhlý čenich. Tento živočich byl znovu zkoumán v 80. letech a následně zařazen do skupiny Tetrapodomorpha, jakožto zástupce blízký rodu *Panderichthys* (Schulze & Arsenault, 1985).

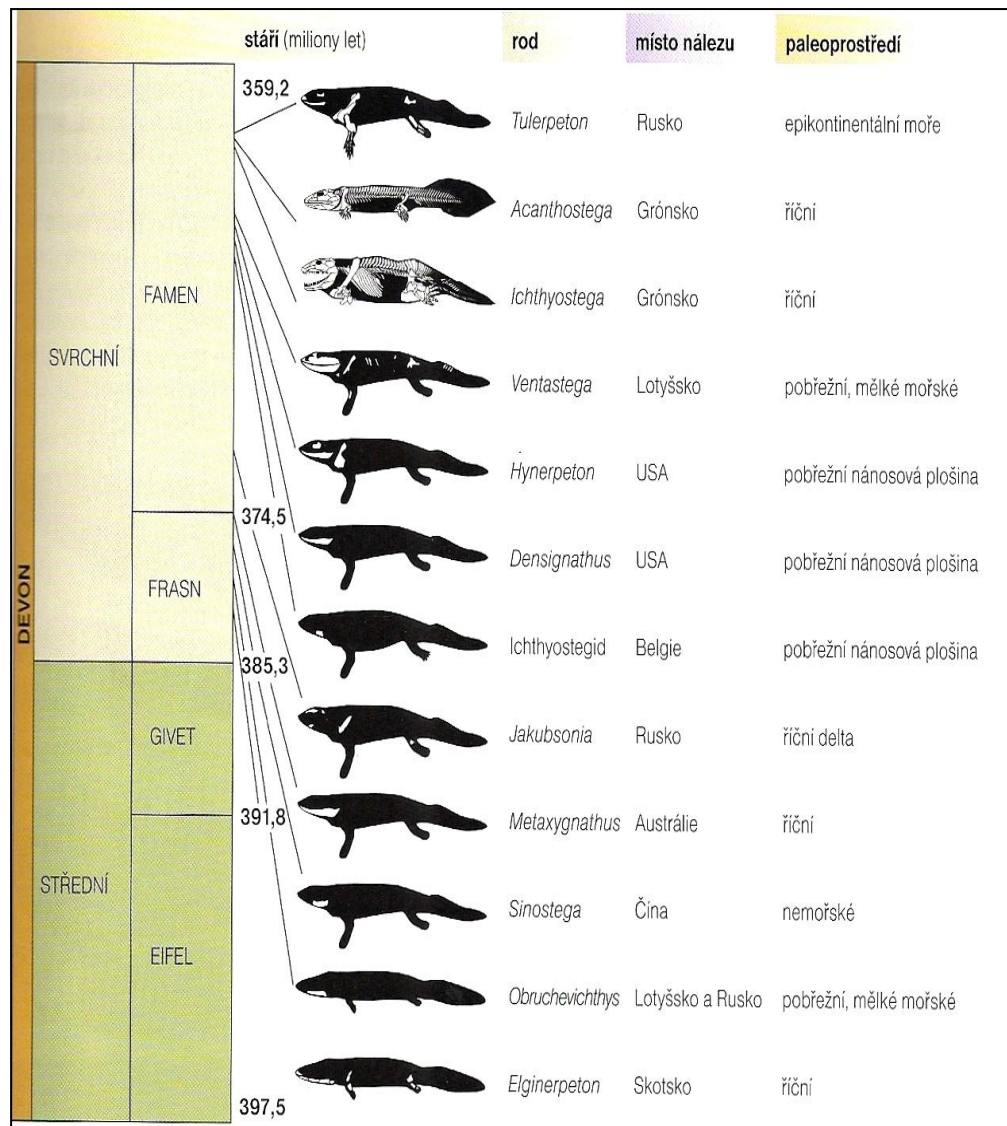
Další dílek do skládky doplnil fosilní nález tvora nazvaného *Tiktaalik roseae*, který byl objeven na ostrově Ellesmere v severní Kanadě (Daeschler et al., 2006). Časově byl zařazen do svrchního devonu a je považován za sesterský taxon všech tetrapodů. Vzhledem připomínal lalokoploutvou rybu s kostěnými rybími šupinami, primitivními ozubenými čelistmi a ploutvemi. Oproti lalokoploutvým rybám měl ale značně pokročilou stavbu kostry předních končetin. Byly již vytvořeny kosti paže, lokte a zápěstí s funkčním zápěstním kloubem, ale na zápěstí nenavazovaly prsty, ale stále ještě ploutevní paprsky. Další znaky jako pohyblivý krk, plochá hlava s očima na svrchní straně, mohutná žebra nebo zmenšený žaberní otvor, naznačují, že toto zvíře obývalo dna mělkých toků a dle robustnosti kostry končetin lze soudit, že bylo schopné nadlehčit své tělo i mimo vodní prostředí. *Tiktaalik* je zároveň první známý zástupce, u kterého byla přítomna krční oblast - měl od lebky oddělený lopatkový pletenec (Daeschler et al., 2006).

### 1.1.2. První čtvernožci

První tetrapodi se na naší planetě objevili během svrchního devonu a současně se stali i prvními představiteli skupiny Stegocephalia – krytolepci, což je parafyletická skupina fosilních, neamniotních tetrapodů.

Za nejstarší zástupce devonských tetrapodů byli považováni čtvernožci rodů *Acanthostega* a *Ichthyostega*. Tyto nálezy z východního Grónska byly popsány jako zástupci tetrapodů, neboť na rozdíl od rybích předků vlastnili tyto tvorové evoluční novinku – měly prsty. Přítomnost chiropterygií, společně s typem chrupu a velkou pávní spojenou s páteří, je považována za výlučný znak tetrapodů, který je odlišuje od rybovitých zástupců skupiny Tetrapodomorpha. V současnosti jsou za nejstarší známé čtvernožce považovány nálezy ze svrchního devonu z období středního frasnú (období před 380 miliony let). Soupis prvních tetrapodů společně s místem nálezu a typu prostředí, ve kterém byli nalezeni je zobrazen na obr. 2

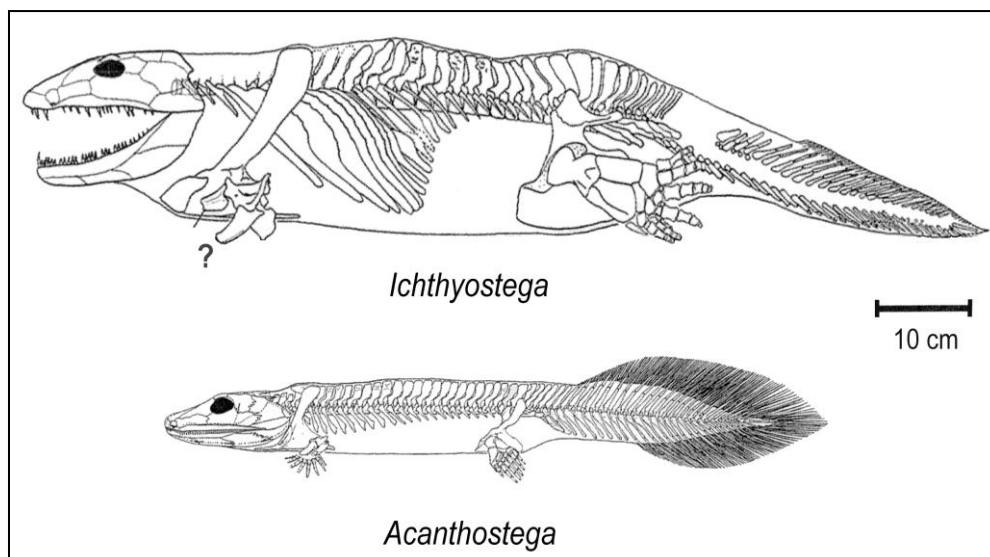
Tito svrchnědevonští tetrapodi, kteří byli současníky rybovitých zástupců ze skupiny Tetrapodomorpha, se však zachovali v dosti fragmentovaném stavu. Byli popsáni např. podle mandibul, částí končetin nebo právě podle lopatkových pletenců. Mezi nejznámější patří *Hynepeton* a *Densignathus* ze slavné lokality Red Hill v Pensylvánii, *Ventastega* z Lotyšska nebo zatím vůbec nejstarší nález - *Elginerpeton* nalezený ve Skotsku. *Acanthostega gunneri* popsána Jarvikem v roce 1952 byl tvor, který měl poměrně dlouhé končetiny opatřené prsty (8 na předních a 7 na zadních končetinách). Tyto končetiny však postrádaly struktury tvořící zápěstí a kotníky, takže neplnily podpůrnou funkci těla, ale byly živočichem stále využívány k plavání. To, že byla *acanthostega* zcela vodním živočichem dokazují i další znaky jako velká ocasní ploutev, slabá páteř, krátká tenká žebra (při pohybu na souši by dostatečně nechránila vnitřní orgány) nebo přítomnost vnitřních žaber (Clack, 2006).



Obr. 2: Soupis nalezených fosilií prvních tetrapodů (ze Steyera, 2011).

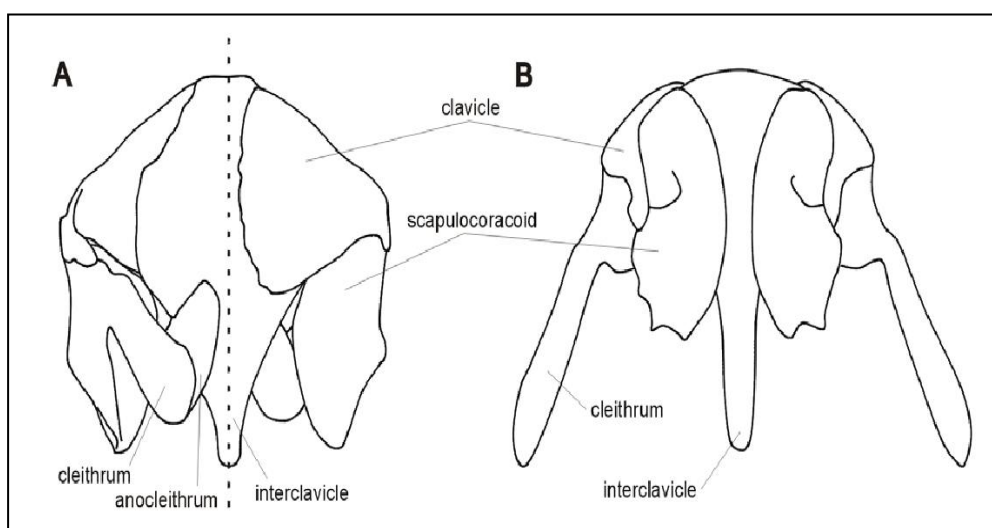
Na stejném místě i ze stejné doby pochází živočich, který získal jméno *Ichthyostega stensioei* (Säve-Söderbergh, 1932). Tento asi 1,5 m dlouhý tvor měl, ve srovnání s acantostegou, lebku více suchozemského než rybího typu. Počet prstů na zadních končetinách byl u ichtyostegy roven sedmi, na předních končetinách nebyly prsty dochované. Břišní část těla byla kryta plochými, překrývajícími se žebry (Jarvik, 1996). Porovnání rekonstruovaných koster je zobrazeno na obr. 3.





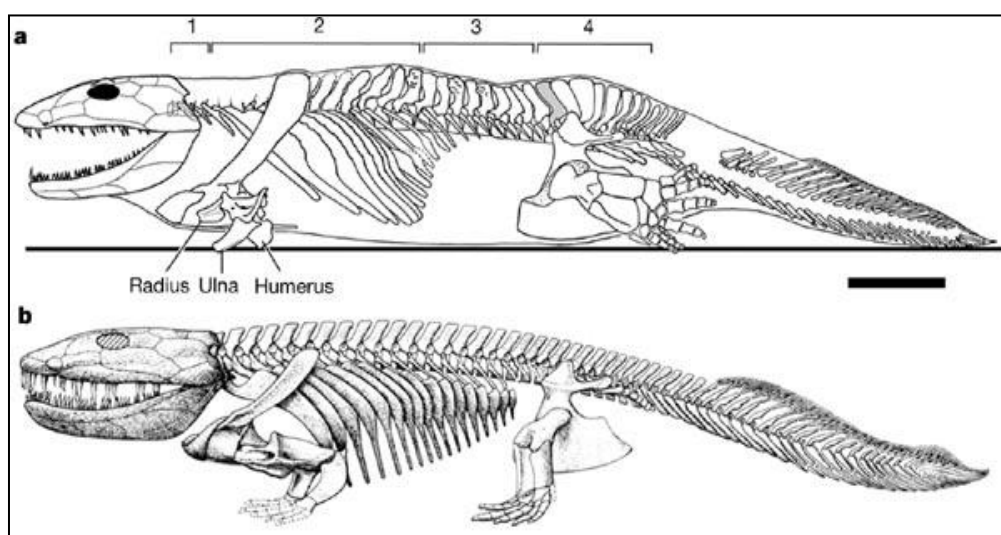
Obr. 3: Porovnání rekonstrukcí koster dvou devonských tetrapodů – *Ichthyostega* a *Acanthostega*<sup>www1</sup>.

I ve stavbě jejich lopatkových pletenců bychom našli jisté odlišnosti. Na rozdíl od rybích zástupců postrádají tyto živočichové jisté dermální elementy. Dermálně osifikovanou část lopatkového pletence acantostegy tvoří pouze anokleithrum, kleithrum, klavikula a nepárová interklavikula (Obr. 4A). U ichtyostegy již postrádáme i anokleithrum (Obr. 4B). Endochondrálně vznikající skapulokorakoid vytváří kloubní jamku pro připojení humeru a pletenec ichtyostegy je v porovnání s acantostegou celkově robustnější.



Obr. 4: Schémata lopatkových pletenců. A – *Acanthostega* – levá strana - dorzální pohled, pravá strana - ventrální pohled (podle Coates, 1996), B - *Ichthyostega* – ventrální pohled (podle Jarvik, 1996).

První kompletní rekonstrukce kostry ichtyostegy byla zveřejněna Jarvikem v roce 1955. Tato verze byla ještě během let v určitých detailech pozměněna (Jarvik, 1996). Rekonstruovat přesnou podobu tohoto tvora nebylo jednoduché, protože dosud neexistuje fosilní nález celého zvířete. Jarvikova rekonstrukce představovala ichtyostegu jako tvora podobného krokodýlovi, jež stál na čtyřech končetinách, měl široký hrudník a jednoduše stavěnou páteř z identických obratlů. Nový pohled přináší rekonstrukce, kterou uskutečnili vědci z Cambridžské a Uppsalské univerzity (Ahlberg et al., 2005). Ti zjistili, že obratle nejsou vůbec identické a liší se svým tvarem, v závislosti na jakém místě páteře se nachází. Odlišná stavba páteře se odráží i na způsobu pohybu. Tělesné proporce zvířeti znemožňovaly vlnivý pohyb páteří do stran a na rozdíl od ostatních, pohyboval páteří vertikálně. K chůzi využíval pouze předních končetin a zadní končetiny byly taženy za tělem - další odlišnost od původní rekonstrukce. Celkový pohyb po souši bychom mohli připodobnit současným tuleňům nebo lachtanům. Ichtystega se nepochybně mohla pohybovat po souši, nicméně většinu času trávila stále ještě ve vodě. Srovnání rekonstruovaných koster je zobrazeno na obr. 5.



Obr. 5: Porovnání rekonstrukcí koster ichtyostegy: a - nová rekonstrukce (podle Ahlberga et al, 2005), b – původní rekonstrukce (podle Jarvika, 1996).

K dalším fosilním čtvernožcům, časově opět zařazeným do svrchního devonu, patří *Tulerpeton curtum*, který byl nalezen v Rusku v oblasti Tula (Lebedev, 1984). Kompletní kostra nebyla dochována, ale nález obsahoval

téměř celý lopatkový pletenec, přední a zadní končetiny, fragmenty lebky a pánve a několik břišních šupin. Jednalo se o dalšího polydaktylního tetrapoda, neboť přední i zadní končetiny byly šestiprsté. Přední končetiny byly uzpůsobené k pohybu na souši, kdežto zadní spíše k pádlování ve vodě. A na rozdíl od acantostegy a ichtyostegy byl tento druh nalezen ve vrstvách, které dle sedimentů odpovídají přímořské oblasti. Pohybu na souši sloužil poměrně mohutný lopatkový pletenec, jenž si stále ještě ponechal část zvanou anokleित्रum, kterou například v lopatkovém pletenci ichtyostegy již nenalézáme (Lebedev & Coates, 1995).

Od konce karbonu až do období spodní křídly se vyskytovali na území většiny dnešních kontinentů zástupci skupiny tzv. temnospondylních obojživelníků, kteří obývali suchozemské i vodní ekosystémy téměř po dobu 250 milionů let. Charakteristickými znaky této skupiny je páteř složená z tzv. rhachitomních obratlů, ornamentace dermálních kostí lebky a lopatkového pletence, velké patrové tesáky nebo velká interpterygoidální okna v zadní části patra. Lopatkové pletence u temnospondylních obojživelníků jsou tvořeny kompaktním skapulokorakoidem a třemi dermálně osifikovanými elementy – párovými kleitry a klavikulami a nepárovou interklavikulou (Warren & Snell, 1991). Za jednoho z nejstarších temnospondylů byl označen *Balanerpeton woodi*, nalezený ve Skotku ve vrstvách spodnokarbonského stáří. Morfologickou zajímavostí jeho kostry je velký otický zářez sloužící k zachycení zvuku mimo vodní prostředí. Stavba jeho kostry a zejména končetin, jež vlastnily dobře osifikovaná zápěstí a kotníky, je dalším důkazem o jeho životě v suchozemském prostředí (Milner et al., 1994).

Podle fylogenetické analýzy provedené Rutenem v roce 2003 je temnospondylní skupina Dissorophoidea považována za sesterský taxon skupiny Lissamphibia – čili skupiny zahrnující všechny recentní obojživelníky. *Doleserpeton annectens* byl drobný zástupce skupiny Dissorophoidea ze spodního permu. Na fosílii tohoto živočicha byly pozorovány drobné pedicelární zoubky se dvěma hroty, jež se nápadně podobají zubům skupiny Lissamphibia (Bolt, 1969). Dalším druhem, který tuto hypotézu potvrzuje, je *Amphibamus grandiceps* - temnospondylní obojživelník ze svrchního karbonu (Cope, 1865). Rekonstrukce jeho skeletu

naznačuje přítomnost cylindrického pleurocentra obratlů, velkých očnic a také celkovou odlehčenost kostry, tj. znaky považované za blízké skupině Lissamphibia.

Fosilní nálezy tvorů, patřících do této vyhynulé skupiny obojživelníků, ukazují na širokou diverzitu a velkou rozmanitost forem. Je známo více než 12 čeledí zahrnující asi 90 rodů (Milner, 1993). Ve výčtu zástupců této skupiny ještě zmíním tvory, kteří byli nalezeni na území České republiky. Například na Broumovsku byl objeven *Cheliderpeton vranyi* ze spodního permu a v oblasti plzeňské pánve v okolí Nýřan byly nalezeny exempláře svrchnokarbonského stáří: *Cochleosaurus bohemicus*, *Amphibamus laticeps*, nebo *Mordex calliprepes*.

Vedle velmi diverzifikované a na druhy bohaté skupiny Temnospondyli se od konce prvohor vyvíjeli další, o něco méně nápadní, obojživelníci ze skupiny Lepospondyli. Fosílie těchto krytolebců menších rozměrů byly nalézány ve vrstvách, jež časově odpovídaly době od karbonu do permu. Za diagnostické znaky této skupiny jsou považovány kompaktní válec obratlového centra, nezvrásněný zubní dentin či nepřítomnost otického zářezu. Typické pro její zástupce je také trend v redukci končetin a prodlužování těla. Až na pár výjimek se vyskytovali tito živočichové v oblastech severní polokoule, nikoliv na území tehdejší Gondwany.

Mezi charismatické zástupce této skupiny patří živočichové rodů *Diplocaulus* a *Diploceraspis* (Beerbower, 1963). Tito permští fosilní obojživelníci prosluli zejména díky svému bizarnímu tvaru lebky, která byla velice plochého, trojúhelníkovitého tvaru a svým vzhledem připomínala bumerang. Nejvíce diverzifikovanou skupinu lepospondylních obojživelníků představuje taxon Microsauria. Ve srovnání s ostatními lepospondyli u nich nacházíme více redukované očnice a poměrně uzavřenou lebku bez velkých otvorů. Do této skupiny patří i druh *Microbrachis pelikani* ze svrchního karbonu objeven na fosilním nalezišti v Nýřanech, který měl zkrácené končetiny a dlouhé, úhořovité tělo s více než čtyřiceti obratli (Carroll & Gaskill, 1978). Autoři Laurin a Reisz (1997) ve své fylogenetické analýze situovali sesterskou skupinu moderních obojživelníků mezi Lepospondyli,

konkrétně do skupiny Lysorophia, jež zahrnovala dosti specializované, nejspíše vodní tvory s výraznou redukcí končetin a prodlouženým tělem.

Původ recentních druhů obojživelníků není dodnes zcela objasněn. Existují tedy tři hlavní hypotézy - první dvě předpokládají, že zástupci dnešních obojživelníků mají monofyletický původ a to v obojživelnících buď skupiny Temnospondyli (Ruta et al., 2003), či ve skupině Lemospondyli (Laurin & Reisz, 1997). Třetí, nejkontroverznější, teorie označuje skupinu Temnospondyli pouze za předky žab a ocasatých obojživelníků a za předky červorů považují skupinu Lemospondyli (Carroll, 2007).

## 1. 2. Moderní obojživelníci

### 1.2.1 Vznik moderních obojživelníků - Lissamphibia

Skupina Lissamphibia je označována jako taxon moderních obojživelníků avšak i mezi nimi nacházíme mnohé starobylé formy a fosilní zástupce. Za nejstaršího zástupce této skupiny je považován asi 250 milionů let starý nález žáby *Triadobatrachus massinoti* z Madagaskaru (Piveteau, 1936). Na nálezu lze pozorovat znaky vykazující podobnost se stavbou těla recentních druhů žab, jako jsou srůsty kostí na lebce, protáhlé kyčelní kosti nebo redukce žeber. Tato fosilní žába vlastnila několik volných ocasních obratlů, kosti předloktí a bérce nebyly srostlé a zadní končetiny byly krátké, neuzpůsobené ke skákání (Rage & Roček, 1989).

Za prvního dosud známého zástupce skupiny ocasatých obojživelníků je označována čínská fosilie stará asi 161 milionů let, která dostala název *Chunerpeton tianyiensis*. Tento druh byl zařazen do skupiny Cryptobranchidae, do které se řadí i recentní zástupci velemloků (rody *Andrias* a *Cryptobranchus*). Fosilie byly nalezeny v sedimentech vulkanického popela, zachovány ve výborném stavu a čítaly mnoho set jedinců. *Chunerpeton* stavbou těla připomínal mloka, měl dlouhý ocas, dva páry stejně dlouhých nohou a na jeho fosiliích lze pozorovat i elementy vnějších žáber, což svědčí o životu ve vodě (Gao & Shubin, 2003). Mezi další fosilní představitele ocasatých obojživelníků je řazen o něco mladší *Karaurus sharovi*, nalezený v Kazachstánu ve vrstvách svrchní jury (Ivachnenko, 1978).

Ze spodní křídy pochází nálezy ze Španělska reprezentující rod *Valdotriton*, ze svrchního oligocénu Německa pak neoteničtí obojživelníci z rodu *Chelotriton* nebo zástupce *Brachycormus noachicus*.

*Eocaecilia micropodia* je nejstarší známý představitel skupiny Gymnophiona. Jedná se o fosilii pocházející ze spodní jury objevenou v Arizoně, která měla plochou lebku bez lebečních oken, prodloužený trup a na rozdíl od recentních zástupců červorů vlastnila velmi redukované končetiny (Jenkins & Walsh 1993).

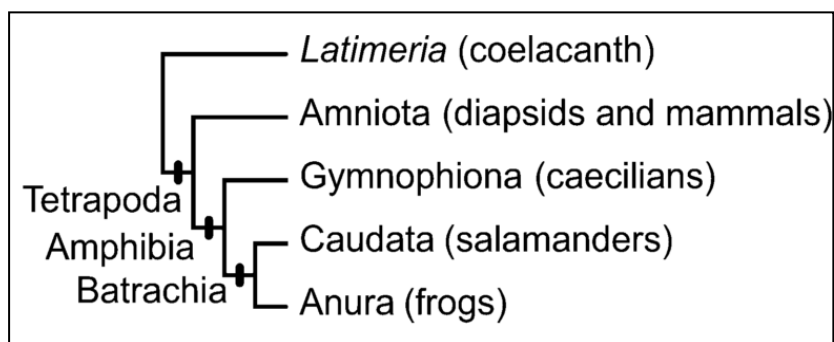
Na konci permu nastaly výrazné změny klimatu, kdy došlo ke značnému ochlazení, které doprovázelo celkové vysoušení povrchu Země. Tyto změny měly na svědomí zánik téměř 75% doposud existujících čeledí obojživelníků a dalších živočichů (Roček, 2002). Zhoršení klimatických podmínek vyvolalo u obojživelníků, jakožto ektotermních živočichů, změny spojené se zkracováním doby aktivity, vývojem larev a metamorfózou. Pokles teplot zapříčinil přezimování larválních stádií a tím značně oddálil dobu metamorfózy v dospělce. Někteří obojživelníci si proto zvolili evoluční strategii, kdy urychlili vývoj gonád a pohlavní dospělosti bylo dosaženo již ve stádiu larvy. Tento jev se nazývá neotenie, kterou můžeme pozorovat dodnes např. u skupin Amphiumidae, Cryptobranchidae, Proteidae či Sirenidae. Druhou variantou byla tzv. pedomorfóza, kdy je schopnost reprodukce posunuta do juvenilních stádií těsně po metamorfóze. A právě tyto mechanismy zřejmě daly za vznik recentním skupinám obojživelníků.

### **1.2.2. Fylogenetické vztahy**

Recentní obojživelníky rozdělujeme tradičně na ocasaté (Caudata), žáby (Anura) a červory (Gymnophiona). Stejně jako panují rozdílné názory na původ moderních obojživelníků, tak i otázka vnitřní klasifikace skupiny Lissamphibia není stále jasně zodpovězena. Monofyletičnost skupiny Lissamphibia jako celku byla poprvé navržena skupinou autorů (Gadow, 1909; Parsons & Williams, 1962, 1963; Bolt, 1969) a v pozdější době znovu podpořena řadou dalších prací (Milner 1988; Trueb & Cloutier 1991; Cannatella & Hillis, 1993; McGowan & Evans 1995; Gardner 2000;

Ruta et al., 2003; Frost et al., 2006; Pyron & Wiens, 2011). V opozici stojí řada jiných autorů, kteří Lissamphibia jako monofyletickou skupinu zpochybňují či zcela zavrhují (Carroll & Holmes 1980; Bolt & Lombard 1985; Carroll 1999; Carroll et al. 1999).

Fylogenetické studie založené na morfologii umisťují obvykle Caudata a Anura jako sesterské taxony (Duellman & Trueb, 1994; Milner 1988), zatímco některé molekulární analýzy podporují možnost bližšího fylogenetického vztahu mezi skupinami Caudata a Gymnophiona (Larson, 1991, Feller & Hedges, 1998). Výsledky práce Frosta et al. ukazují, že každá skupina Lissamphibia tvoří monofyletickou větev, přičemž červoři tvoří sesterskou skupinu větve, jenž spojuje dohromady žáby a ocasaté obojživelníky (Obr. 6). Dále vyvrací teorii, že skupiny recentních obojživelníků jsou parafyletické ve vztahu k Amniota (Carroll & Currie, 1975; Anderson, 2001).



Obr. 6: Jednoduché zobrazení fylogenetických vztahů v rámci skupiny Lissamphibia (Frost et al., 2006).

## 1.3. Lopatkový pletenec

### 1.3.1. Funkce a struktura lopatkového pletence

Lopatkový pletenec je útvar, který má za úkol propojení předních končetin s osovou kostrou a nacházíme ho v různě modifikovaných podobách u všech obratlovců, kde během evoluce došlo ke značným změnám v jeho struktuře i pozici vůči osové kostře (McGonnell, 2001). Pokud bychom chtěli nahlédnout do jeho historie, tak se musíme podívat na kostru lalokoploutvých ryb – pravděpodobných předků suchozemských obratlovců. Jejich přední končetiny byly napojeny přímo na lebku – na dermální kosti na jejím zadním okraji. Kloubní propojení se vytvářelo na kosti zvané kleitrum, ke které přirůstal z vnitřní strany endochondrálně osifikovaný útvar – skapulokorakoid. Na zadní straně skapulokorakoidu se tvořila kloubní jamka pro připojení humeru. Pro živočichy, kteří přešli k terestrickému způsobu života, by ale připojení končetin přímo k lebce přinášelo značné funkční omezení. V terestrickém prostředí bylo žádoucí maximalizovat pohybovou funkci končetin a zároveň zvýšit pohyblivost hlavy. Oba tyto aspekty vedly k oddělení pásma zadních okrajových dermálních kostí lebky, což bylo umožněno mimo jiné zánikem žaber a tedy i skřelí. Právě tento posun od hlavové části nám hezky mapuje původ částí lopatkového pletence, které vznikají nejen endochondrálně, jako kosti pánevního pletence, ale i endesmálně, prostřednictvím dermální osifikace.

Jak už bylo řečeno, lopatkový pletenec je tedy tvořen z elementů, které vznikají dvěma typy osifikací. Jednak je to osifikace endochondrální, kdy dochází k osifikaci chrupavky a dále pak endesmální nebo také dermální osifikace, kdy dochází k přímé osifikaci buněk vaziva ve škáře (Matsuoka et al, 2005). V průběhu evolučního vývoje obojživelníků docházelo k postupné redukci dermálních prvků. Naopak endochondrální části pletence během vývoje expandují, což má pravděpodobně souvislost se zvětšováním předních končetin a svalů, které se na tyto elementy napojují.

### 1.3.2. Původ lopatkového pletence

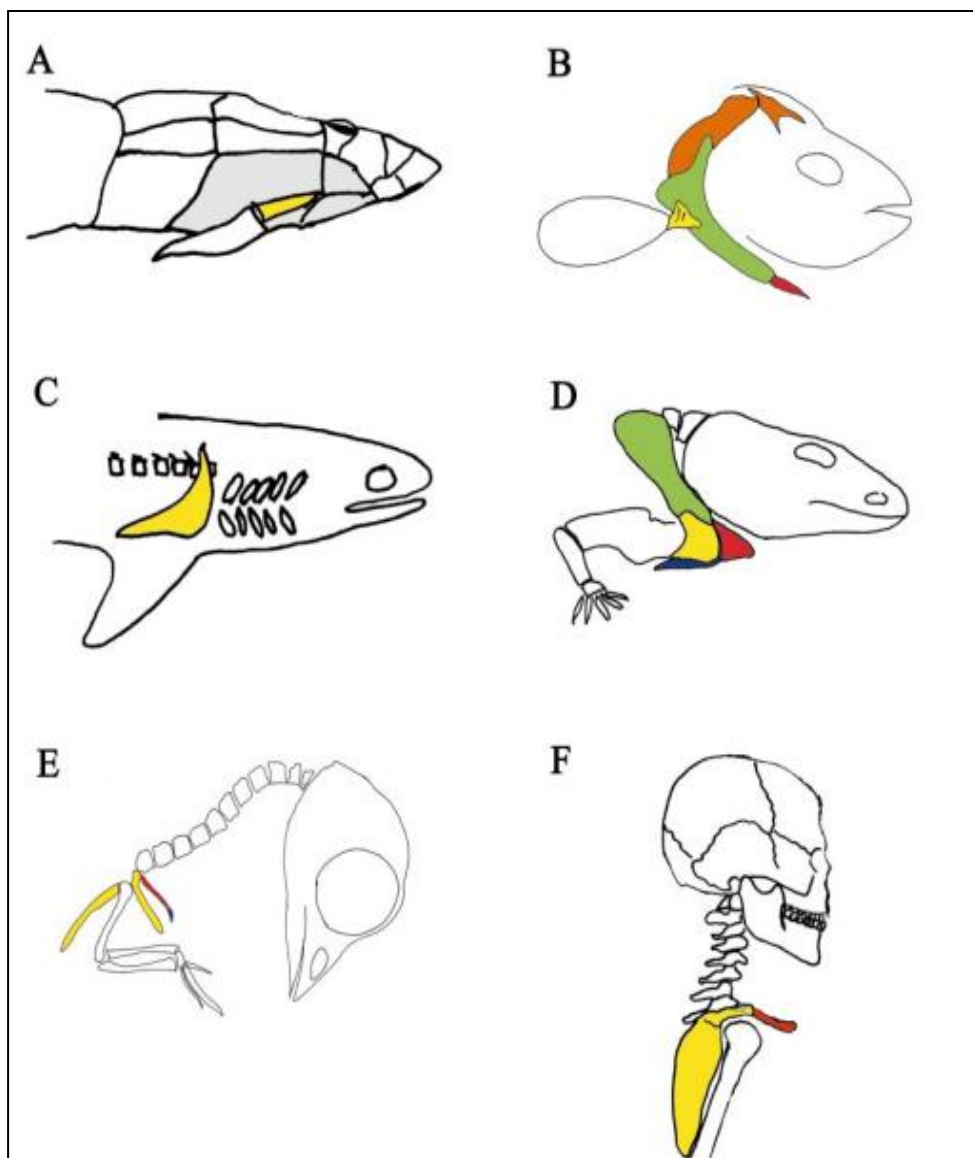
Párové ploutve a končetiny jsou jedním z unikátních znaků čelistnatců (Gnathostomata), což je monofyletická skupina všech obratlovců vyjma



sliznatek, mihulí a dalších, dnes již vyhynulých, bezčelistnatců. Nejprve se vyvinul jediný pár ploutví v přední části těla živočicha a až později vznikly dva páry na prsní a pánevní úrovni. První náznaky propojení párových končetin nacházíme u fosilních nálezů živočichů ze skupiny Anaspida, jedné z vyhynutých skupin bezčelistnatců (Coates, 1994). Z toho vyplývá, že párové končetiny, jakožto znak typický pro čelistnatce, se vyvinul až po oddělení linie předků dnešních sliznatek a mihulí (Janvier, 1996). Avšak vnitřní kostra těchto ploutví (pokud vůbec nějaká byla) není známa. Za nejstarší skupinu živočichů, kteří měli prsní ploutve s jednoduchou vnitřní kostrou, je považována skupina Osteostraci (Obr. 7A). U této vyhynulé skupiny pancéřnatých obratlovců s rybovitým tělem bylo pozorováno určité propojení mezi prsními ploutvemi a hlavovým štítkem, které pravděpodobně umožňovalo se štítkem pohybovat. Hlavový štít je struktura složená z dermálních destiček a předpokládá se, že právě v nich mají původ části budoucího lopatkového pletence. Teorii, že párové ploutve u čelistnatých ryb vznikly evolucí z kožních řas bezčelistnatých ryb tak, že kožní záhyby se rozdělily, specializovaly a vytvořily prsní a řitní ploutve, podporují i studie experimentální embryologie, které dokazují, že lopatkový pletenec se vytváří výhradně z mesodermu (Chevallier, 1977; Burke, 1991).

### **1.3.3. Lopatkový pletenec obratlovců**

Stejně jako jsou variabilní samotné skupiny obratlovců, nacházíme rozdílnosti i ve stavbě jednotlivých lopatkových pletenců či jejich poloze vůči axiálnímu skeletu. U ryb a paryb leží pletenec na zadním okraji lebky. Skládá se z malého, endochondrálně osifikovaného, útvaru zvaného skapulokorakoid, který obsahuje kloubní jamku pro připojení humeru a umožňuje pohyb ploutvemi. Skapulokorakoid je u ryb obklopen množstvím velkých dermálních kostí. Dorzálně jsou to posttemporale a postkleitrum, které připojují pletenec k lebce, ventrálně pak největší element – kleitrum (do něj je zapuštěn skapulokorakoid), ke kterému se připojuje klavikula a na ni je napojená interklavikula (Obr. 7B). Na kostře paryb došlo k celkové redukci osifikace, včetně lopatkového pletence, proto u této skupiny nacházíme pouze skapulokorakoid tvořený zvápenatělou chrupavkou (Kardong, 1998), (Obr. 7C).

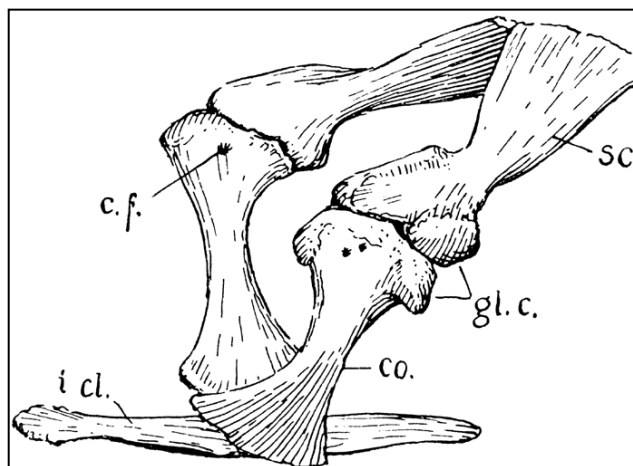


Obr. 7: Lopatkové pletence (z McGonnella, 2001): A-vyhynulá skupina Agnatha; B-Osteichthyes; C – Chondrichthyes; D- primitivní obojživelník; E- pták; F- člověk (savec). Legenda: posttemporale a postkleitrum (oranžově); kleitrum (zeleně); klavikula (červeně); skapulokorakoid nebo skapula a prokorakoid (žlutě); interklavikula (tm. modře); korakoid (sv. modře).

K první změně, ve vztahu mezi pletencem a lebkou, došlo právě u obojživelníků. Zánikem žaber a skřelí se v tomto místě se vytvořil prostor a následně proběhla modifikace obratlů trupu, jež vytvořily krční oblast, která umožnila těmto živočichům pohyb hlavou (Torrey, 1978), což je zjevná adaptace na život v suchozemském prostředí. Přejít na souš mimo jiné způsobil, že na končetiny bylo působeno mnohem větší vahou. Největší změnou ve struktuře lopatkového pletence obojživelníků je tedy ztráta kostí, které připojovaly pletenec k lebce (Obr. 7D).

V plazí linii došlo k další modifikaci obratlů do více typů a zároveň ke zmnožení počtu krčních obratlů. A právě délka oblasti krční páteře vytváří variabilitu v poloze pletence vůči osově kostře. Změny nastaly i u lopatkového pletence, kde se endochondrální elementy pletence zvětšily a staly se výraznějšími, než části vzniklé dermálně osifikací (McGonnell, 2001). Lopatkový pletenec plazů je tvořen dermálně osifikovanými elementy - párovým kleitrem a klavikulou, nepárovou interklavikulou a endochondrálně vznikajícím skapulokorakoidem (Clark & Carroll, 1973). Avšak u většiny plazů jsou skapula a prokorakoid již oddělené struktury (Torrey, 1978).

U všech recentně žijících Amniota nacházíme oddělenou skapulu a korakoid. Zatímco kleitrum v evoluci plazů brzy mizí, tak interklavikula u většiny plazů přetrvává. Například u krokodýlů nenacházíme klavikulu, ale v modifikované formě přetrvává interklavikula (Obr. 8).



Obr. 8: Lopatkový pletenec krokodýla (z Thomsona, 1916): sc. - skapula; glc.- kloubní jamka pro připojení humeru; co - korakoid; c.f. - foramen coracoideum; i.cl.- interklavikula.

Hadi mají všechny součásti lopatkového pletence, stejně jako končetiny samotné, redukovány (Starck, 1979). U želv jsou klavikuly a interklavikula součástí krunýře – jako párový epiplastron a endoplastron.

Ptačí skapula je dlouhá, úzká, šavlovitě zahnutá kost. Silný korakoid pevně spojuje pásmo se sternem a klavikulou. Klavikuly u většiny ptáků srůstají mediálními konci v charakteristický útvar zvaný furkula (Obr. 7E).

Její ventrální výběžek tzv. hypokleidium je podle některých prací (Romer, 1970; Jessop, 1994) považováno za homologické s interklavikulou. Tato struktura byla popsána i na nalezených fosíliích teropodních dinosaurů. Avšak zcela chybí u většiny běžců (Paleognathae), ptáků kivi (rod *Apteryx*) a turaků (řád Turaciformes) a někteří papoušci a sovy mají pouze malé, oddělené klavikuly (Sibley & Ahlquist, 1990).

U synapsidních plazů, čili linie vedoucí k savcům, nacházíme v drtivé většině fixní počet krčních obratlů a lopatkový pletenec leží na hranici mezi krčními a hrudními obratli. Dermální elementy pletence – klavikula a interklavikula - mají tendenci zmenšovat se. Nejprimitivnější savci, zástupci ptakořitných, mají pletenec podobný pletenci plazů (Young, 1981). Vačnatci ztratili interklavikulu, prokorakoid mizí a korakoid se výrazně zmenšil. Placentální savci ztratili interklavikulu a klavikula je značně menší (McGonnell, 2001). Savčí klavikula je zajímavá tím, že na jejím vytváření se podílejí oba typy osifikace. Její laterální část vzniká dermální osifikací a zbylá část kosti je endochondrálního původu (Hall, 2001). Některé savčí skupiny si během evoluce klavikuly zmenšily, či zcela redukovaly, což umožnilo větší pohyblivost samotného pletence v dorzoventrálním směru. Tyto změny nacházíme u skupin, jako jsou šelmy, sudokopytníci nebo lichokopytníci, jakožto nepostradatelnou adaptaci k běhu. Ztráty součástí pletence souvisí se změnami v postoji těla a polohou končetin. Zatímco obojživelníci a plazi mají končetiny postaveny laterálně a vyžadují proto vyztužení břišní strany těla, tak u savců jsou končetiny přímo pod tělem a dominantní skapuly slouží jako jeho laterální vyztužení (Young, 1981; Kardong 1998). U člověka je lopatkový pletenec tvořen pouze dvěma elementy – lopatkou a klíční kostí (Obr. 7F).

#### **1.3.4. Lopatkový pletenec recentních obojživelníků (Amphibia)**

Části lopatkového pletence obojživelníků, prvních tetrapodů, v sobě odráží jejich původ v devonských předcích, jako byli *Eusthenopteron* nebo *Ichthyostega*. Od té doby prodělal pletenec pochopitelně řadu změn. Na rozdíl od fosilních předků, nenacházíme u žádného z recentních obojživelníků

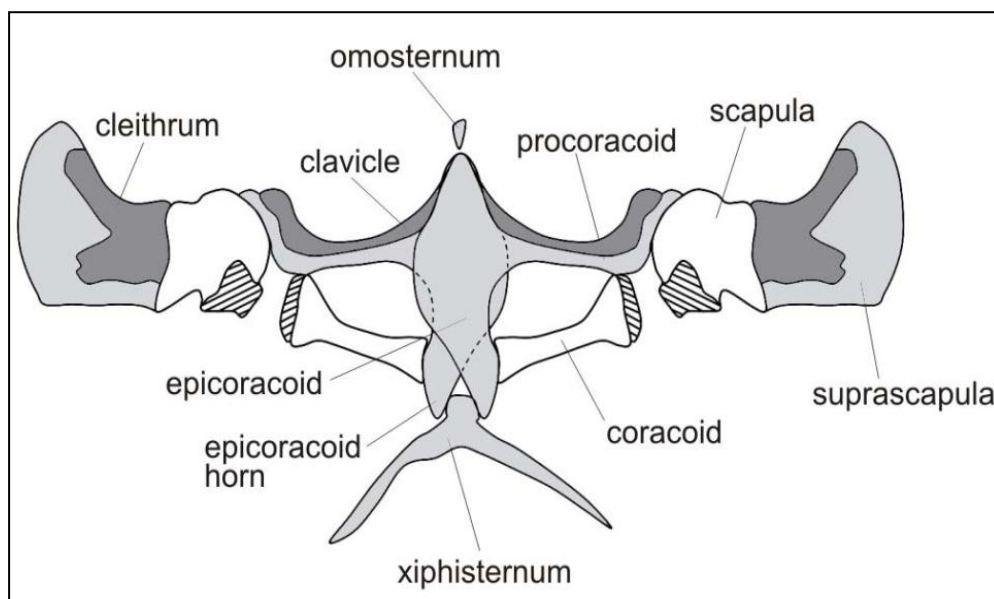
interklavikulu. Červoři (*Gymnophiona*), jakožto jeden z řádů obojživelníků, si během své evoluce zcela redukovali končetiny, včetně lopatkového pletence. V pletencích žab a ocasatých obojživelníků nacházíme jisté rozdíly.

#### 1.3.4.1. Lopatkový pletenec žab (Anura)

Lopatkový pletenec žab je složen z osifikovaných i chrupavčitých částí. Žáby jsou jedinou skupinou tetrapodů, která si ponechala ve svém pletenci kleitrum (Young, 1981). Nacházíme u nich oba typy osifikací, přičemž kleitrum a klavikula jsou kosti vzniklé dermální osifikací, skapula společně s korakoidem vznikají endochondrálně, prokorakoid zůstává chrupavčitý a na distální konec skapuly navazuje chrupavčitá supraskapula (Duellman & Trueb, 1994). Zadní část kloubní jamky je umístěna na proximálním konci skapuly, střední část je tvořena distálními konci korakoidů a pruhem chrupavky zvané *cartilago paraglenoidalis*, která odděluje korakoid od skapuly (Duellman & Trueb, 1994).

Obecně jsou pletence žab rozdělovány na dva základní typy - přičemž toto rozdělení je založeno na vzájemné poloze epikorakoidních chrupavek. První typ se nazývá arciferní, kdy jsou epikorakoidní chrupavky široké, navzájem se překrývají a posteriorně vytváří výběžky – epikorakoidní rohy. Oproti tomu u druhého typu lopatkového pletence – firmisternálního – nejsou epikorakoidní výběžky přítomny a epikorakoidy mají podobu tenkého pruhu chrupavky, který se svým protějškem mediálně srůstá. Toto rozdělení je dosti obecné, neboť mezi těmito dvěma typy existuje řada přechodných forem. Epikorakoidní chrupavky nejsou u těchto dvou typů homologickými útvary. Podél zadního okraje klavikuly se nachází chrupavčitý prokorakoid, který v arciferním typu pletence přechází v chrupavčitý epikorakoid, zatímco u firmisternálního typu jsou epikorakoidní chrupavky pouze součástí okrajů osifikovaných korakoidů a nikdy se vzájemně nepřekrývají (Havelková & Roček, 2006). Za evolučně původní typ pletence je označován arciferní, neboť vzájemný překryv epikorakoidů pozorujeme u primitivnějších druhů žab, stejně jako u skupiny Caudata. Odvozenější, firmisternální typ, vznikl pravděpodobně nezávisle u skupin Ranoidea a Dendrobatidae (Kaplan, 2004).

Všechny recentní druhy žab mají ve svém pletenci alespoň jeden sternální element, čímž se liší od svých fosilních příbuzných, kteří tyto struktury zcela postrádají. Avšak není vyloučeno, že se tyto části na fosiliích pouze nedochovaly. Celý pletenec pak lze rozdělit na tři oblasti: prezonální – omosternum, zonální – klavikuly, korakoid, skapula a suprascapula a postzonální – xiphisternum popř. sternum (Duellman & Trueb, 1994), (Obr. 9).



Obr. 9: Lopatkový pletenec žáby (*Discoglossus pictus*) – arciferní typ. Dermální osifikace – tmavě šedá, endochondrální osifikace – bílá, chrupavčité elementy – světle šedá, kloubní jamka pro připojení humeru – čárkovaně (z Robovská-Havelková, 2010).

Vzájemný překryv epikorakoidů, u arciferního typu pletence, byl zkoumán i z hlediska, jakým způsobem se chrupavky překrývají. Na základě toho byli rozlišováni v rámci skupiny Anura tzv. „praváci a leváci“. U adultních jedinců bylo počítáno zastoupení pletenců, u nichž pravý epikorakoid ventrálně překrýval levý a naopak. A bylo zjištěno, že existují druhy, u nichž se vyskytuje evidentní preference pro jeden či druhý typ překryvu nebo naopak druhy, u kterých se nachází oba typy překryvu a preference pro jednu ze stran není statisticky průkazná (viz. Tab. 1).

**Tab. 1:** Souhrn výsledků prací zabývajících se vzájemným překryvem epikorakoidů u arciferních typů lopatkových pletenců u vybraných druhů žab. (R-pravý epikorakoid na ventrální straně pletence, L-levý epikorakoid na ventrální straně pletence)

Druh	Čeleď	Absolutní počet jedinců		Citace studie
		R	L	
<b>Diskoglossus pestrý</b> ( <i>Discoglossus pictus</i> )	Discoglossidae	27	6	Havelková, 2006
<b>Kuňka obecná</b> ( <i>Bombina bombina</i> )	Discoglossidae	23	10	Havelková, 2006
		144	300	Borkhvardt & Malashichev, 1997
<b>Kuňka východní</b> ( <i>Bombina orientalis</i> )	Discoglossidae	17	61	Borkhvardt & Malashichev, 1997
<b>Kuňka žlutobřichá</b> ( <i>Bombina variegata</i> )	Discoglossidae	4	2	Havelková, 2006
		17	61	Borkhvardt & Malashichev, 1997
<b>Blatnice skvrnitá</b> ( <i>Pelobates fuctus</i> )	Pelobatidae	8	13	Havelková, 2006
		4	33	Borkhvardt & Ivashintsova, 1994
<b>Ropucha obecná</b> ( <i>Bufo bufo</i> )	Bufonidae	15	1	Havelková, 2006
		178	9	Malashichev, 2002
<b>Ropucha zelená</b> ( <i>Pseudepidalea viridis</i> )	Bufonidae	14	208	Borkhvardt & Ivashintsova, 1994
		2	65	Malashichev, 2002
<b>Ropucha obrovská</b> ( <i>Bufo marinus</i> )	Bufonidae	5	45	Greer & Mills, 1997
		5	19	Malashichev, 2002
<b>Rohatka ozdobná</b> ( <i>Ceratophrys ornata</i> )	Ceratophryidae	41	1	Malashichev, 2002
<b>Paropucha pruhovaná</b> <i>Limnodynastes peronii</i>	Limnodynastidae	42	8	Greer & Mills, 1997
<b>Rosnice zlatá</b> <i>Litoria aurea</i>	Hylidae	32	8	Greer & Mills, 1997
<b>Rosnice pruhovaná</b> <i>Litoria dentata</i>	Hylidae	43	6	Greer & Mills, 1997

Z tabulky je patrné, že u většiny druhů žab je statisticky průkazná preference pro jeden typ epikorakoidního překryvu.

Na základě toho byly prováděny i další studie testující laterální u obojživelníků (Malashichev & Nikitina, 2002; Malashichev, 2002; Borkhvardt & Ivashintsova, 1995; Bissaza et al., 1997). Studie byly založeny na představě, že na vzájemný překryv epikorakoidů má vliv to, která

z končetin u vyvíjejícího se pulce opustí jako první operkulární komoru a u adultních jedinců se následně projeví na preferenci jedné z končetin (Borkhvardt & Malashichev, 1997; Malashichev, 2002). Lateralita u obojživelníků byla zkoumána pomocí dvou testů. „Snout-wiping test“ (Bisazza et al., 1997) využívá metody, kdy se žábě umístí mokrá papírek na hlavu a sleduje se, kterou končetinu použije pro jeho odstranění jako první. Druhým testem je „righting response test“ (Robins et al., 1998), při kterém se žába položí na záda a pozoruje se, přes kterou stranu těla se zpět přetočí. Výsledky např. studie Malashicheva a Nikitiny (2002) ukazují, že ropucha zelená signifikantně preferuje levou končetinu, zatímco u kuňky obecné byla pozorována jednak skupina jedinců preferující pravou končetinu, tak i druhá skupina preferující levou končetinu. Zároveň bylo u tohoto druhu prokázáno, že jedinci, kteří měli pravý epikorakoid v dorzální poloze, preferovali pravou končetinu a naopak ti, co měli v dorzální poloze levý epikorakoid, při testování používali končetinu levou. Preference pravé končetiny byla dále například potvrzena u ropuchy obecné a ropuchy obrovské (Bisazza et. al, 1997). Výsledky práce Borkhvardta a Malashicheva (1997) dokonce vypovídají o signifikantním rozdílu v typu překryvu epikorakoidů mezi pohlavími u kuňky obecné.

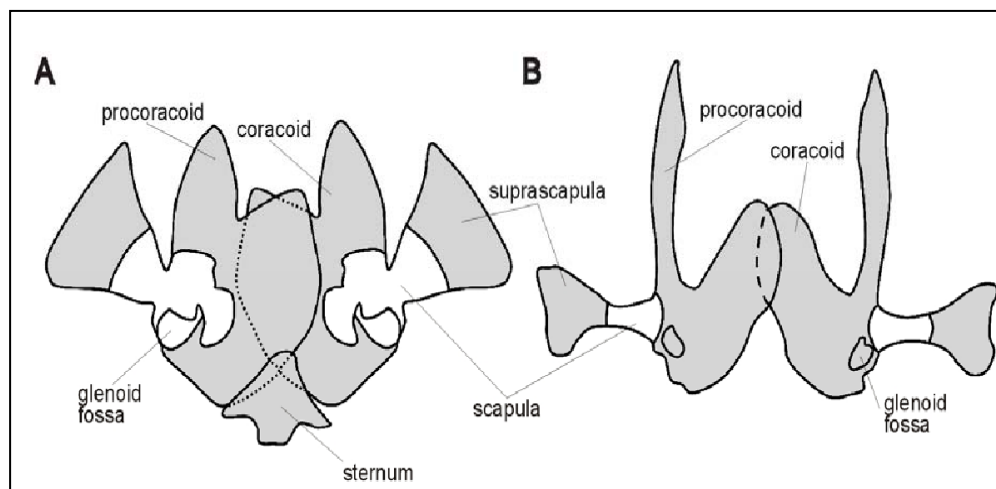
Předpokládá se, že epikorakoidy mají původně symetrické postavení, ale rozdílným působením svalů opačných končetin dojde ke vzniku asymetrie (Borkhvardt & Ivashintsova, 1994; Borkhvardt & Malashichev, 1997). Epikorakoidy potom mají jiné horizontální uspořádání a svaly, které se na ně pojí, poté i rozdílnou silou působí na končetiny, což by mohlo vysvětlovat vznik lateralitu u obojživelníků (Borkhvardt & Ivashintsova, 1994).

#### **1.3.4.2. Lopatkový pletenec ocasatých obojživelníků (Caudata)**

Lopatkový pletenec skupiny Caudata vykazuje ve srovnání s žábami o něco jednodušší stavbu. Jedním z rozdílů je nepřítomnost dermálních kostí. Pletenec obsahuje celistvý chrupavčitý skapulokorakoid, který je rozdělen na skapulu, supraskapulu, korakoid a prokorakoid (Duellman & Trueb, 1994), (Obr. 10). Dermální prvky pletence byly zřejmě redukovány v evoluci ocasatých obojživelníků již dříve, neboť tento znak není přítomen



ani u žádného ze zástupců fosilních skupin (Gao & Shubin, 2001, 2003; Evans et al., 2005; Wang & Evans, 2006).



Obr. 10: Lopatkové pletence zástupců Caudata - A: mlok skvrnitý (*Salamandra salamandra*) (podle Francise, 1934, převzato z Duellman & Trueb, 1994); B: žábřonoš skvrnitý (*Necturus maculosus*) (podle Hoffmana, 1936). Šedou barvou jsou znázorněny chrupavčité elementy, bílou barvou osifikované části.

Zatímco sternum je struktura, kterou nenacházíme, nebo se u fosilních předků skupiny Caudata nedochovala (Wang & Rose, 2005), tak u většiny recentních druhů ocasatých obojživelníků tvoří součást pletenců. Nepřítomnost sternu byla popsána například u druhů macarát jeskynní (*Proteus anguinus*), úhořík dvourstvý (*Amphiuma means*), (Parker, 1868) nebo žábřonoš skvrnitý (*Necturus maculosus*) (Hoffman, 1936). Existuje více teorií o tom, jaká je funkce sternu v pletenci a jedna z nich navrhuje, že je pouze funkční náhradou interklavikuly přítomné u fosilních předků (Emerson, 1983).

U jednotlivých taxonů skupiny Caudata byly popsány rozdílné počty osifikačních center (v počtu 1-3) lopatkového pletence. Pouze jedno osifikační centrum bylo pozorováno u skupin Cryptobranchidae, Proteidae (Parker, 1868), Ambystomatidae (Detwiler, 1918), většiny zástupců Salamandridae (Nauck, 1938) a čeledi Hynobiidae (Borkhvardt & Baleeva, 2002). Na pletencích zástupců ze skupin Sirenidae a Amphiumidae bychom měli najít dvě osifikační centra (Parker, 1868) a u rodů *Salamandra* a *Triturus*

(Salamandridae) dokonce tři centra osifikace skapulokorakoidu (Parker, 1868).

Charakteristickým znakem pletenců většiny ocasatých obojživelníků je vzájemné překrytí korakoidů, které je srovnatelné s arciferním typem pletence popsáným u žab. K překryvu korakoidů nedochází u rodů *Amphiuma* a *Proteus* (Parker, 1868). I v rámci skupiny Caudata lze pozorovat rozdílnost v překryvu korakoidů a tím tedy rozlišení na „praváky a leváky“. Například u pamloka sibiřského (*Salamandrella keyserlingii*) byla pozorována preference pro dorzální polohu levého korakoidu, zatímco u žádného z dalších vybraných zástupců čeledi Salamandridae nebyla preference pro jednu ze stran prokazatelná (Borkhvardt & Ivashintsova, 1994; Borkhvardt & Litvinchuk, 2000). Jedna z dalších studií (Borkhvardt & Ivashintsova, 1995), prováděných na čolkovi obecném (*Lissotriton vulgaris*), testovala, jakým způsobem dojde k překryvu korakoidů, pokud se larvě odstraní jeden z vyvíjejících se končetinových pupenů. A výsledky ukázaly, že na dorzální straně byl vždy umístěn korakoid té končetiny, která nebyla u jedince během pokusu zasažena. Souhrn výsledků jednotlivých studií je zobrazen v tabulce 2.

**Tab. 2:** Výsledky studií zaměřených na vzájemný překryv korakoidů u ocasatých obojživelníků. (R-pravý korakoid na ventrální straně pletence, L-levý korakoid na ventrální straně pletence)

Druh	Čeď	Absolutní počet jedinců		Citace studie
		R	L	
<b>Čolek obecný</b> ( <i>Lissotriton vulgaris</i> )	Salamandridae	72	53	Borkhvardt & Ivashintsova, 1994
		436	323	Borkhvardt & Litvinchuk, 2000
<b>Čolek velký</b> ( <i>Triturus cristatus</i> )	Salamandridae	14	16	Borkhvardt & Ivashintsova, 1994
		202	183	Borkhvardt & Litvinchuk, 2000
<b>Čolek dunajský</b> ( <i>Triturus dobrogicus</i> )	Salamandridae	52	41	Borkhvardt & Litvinchuk, 2000
<b>Čolek balkánský</b> ( <i>Triturus karelinii</i> )	Salamandridae	55	40	Borkhvardt & Litvinchuk, 2000
<b>Pamllok sibiřský</b> ( <i>Salamandrella keyserlingii</i> )	Hynobiidae	64	245	Borkhvardt & Ivashintsova, 1994

## 2. CÍLE PRÁCE

Za hlavní cíle této práce jsem si stanovila:

- Shromáždit a prostudovat literaturu zaměřenou na studium evoluce vzniku končetin a vývoje lopatkového pletence se zaměřením na skupinu Amphibia.
- Zpracovat z výše uvedených témat literární rešerši na danou problematiku.
- Naučit se techniky barvení používané ke studiu morfologie kostry obratlovců (diferenciální barvení kostí a chrupavky).
- Pomocí metod barvení vytvořit vývojovou řadu obarvených jedinců vybraných druhů ocasatých obojživelníků (larvální stádia, dospělci).
- Na základě obarvených vzorků popsat elementy lopatkového pletence napříč ontogenetickými stádii a u adultních forem jednotlivých zástupců.
- Naučit se techniku zpracování řezů a vytváření 3D-modelů v programu 3D Studio Max.
- Práce s řezy a tvorba 3D-modelů.

### 3. MATERIÁL A METODY

Tato kapitola shrnuje výčet materiálu, který jsem ke své práci použila a postup, jakým byl materiál zpracován.

#### 1. Materiál:

- a) Výchozí materiál pro diferenciální barvení.

**Tab. I: Soupis druhů adultních jedinců.**

Druh	Čeď	Počet jedinců
<b>Axolotl mexický</b> ( <i>Ambystoma mexicanum</i> )	Ambystomatidae	2
<b>Úhořík tříprstý</b> ( <i>Amphiuma tridactylum</i> )	Amphiumidae	1
<b>Mločík třípásý</b> ( <i>Eurycea guttolineata</i> )	Plethodontidae	1
<b>Pamllok henanský</b> ( <i>Pachyhynobius shangchengensis</i> )	Hynobiidae	1
<b>Žebrovník Waltův</b> ( <i>Pleurodeles waltl</i> )	Salamandridae	3
<b>Čolek velký</b> ( <i>Triturus cristatus</i> )	Salamandridae	1

**Tab. II: Soupis použitých stádií čolka obecného (*Lissotriton vulgaris*).**

Stádium W/R	7	8	13	14	21	22
Počet jedinců	2	2	2	1	3	4

**Tab. III. Soupis použitých stádií žebrovníka Waltlova (*Pleurodeles waltl*).**

Stádium W/R	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Počet jedinců	5	6	6	1	2	5	2	3	3	3	3	1	3	1	3

**Tab. IV. Soupis použitých stádií axolotla mexického (*Ambystoma mexicanum*).**

Stádium W/R	3	4-5	6-7	7-8	8
Počet jedinců	1	1	1	1	1

b) Histologické řezy – výchozí materiál pro tvorbu modelů.

**Tab. V: Soubor histologických řezů.**

Druh	larva (LS)/adult (AD)	stádium/ velikost	přítomnost pletence
Axolotl mexický ( <i>Ambystoma mexicanum</i> )	LS	W/R 2	NE
	LS	W/R 3	NE
	LS	W/R 4-5	ANO
Žebrovník Waltlův ( <i>Pleurodeles waltli</i> )	LS	W/R 1	NE
	LS	W/R 2	NE
	LS	W/R 3	NE
Čolek obecný ( <i>Lissotriton vulgaris</i> )	LS	W/R 4	ANO
	LS	W/R 1-3	NE
Čolek velký ( <i>Triturus cristatus</i> )	AD	36mm	ANO
	AD	53 mm	ANO
	AD	73 mm	ANO
Čolek horský ( <i>Ichthyosaura alpestris</i> )	AD	77 mm	ANO

c) Fotodokumentace exemplářů ze sbírek Národního muzea:

**Tab. VI: Soupis dokumentovaných exemplářů.**

Druh, čeleď	Evidenční číslo jedince	adult (AD)/juvenil (JUV)	Velikost (cm)
Surýn úhořovitý ( <i>Siren lacertina</i> ) Sirenidae	NMP6V 6194	AD	50
	NMP6V 5321	AD	48
	NMP6V 5312	AD	60
	NMP6V 5827	AD	30
Velemlok japonský ( <i>Andrias japonicus</i> ) Cryptobranchidae	NMP6V 5834	AD	50
	NMP6V 5837	AD	44
	NMP6V 6199	AD	80
	NMP6V 23588	AD	60
Velemlok americký ( <i>Cryptobranchus alleganiensis</i> ) Cryptobranchidae	NMP6V 5835	AD	50
	NMP6V 5836	AD	40
	NMP6V 5838	AD	35
	NMP6V 23587	JUV	25

## **2. Metody:**

### **a) Diferenciální barvení.**

Studium ontogenetického vývoje lopatkového pletence jsem prováděla u tří druhů ocasatých obojživelníků – čolka obecného, axolotla mexického a žebrovníka Waltlova.

### **1. Odchod larev**

Larvální stádia druhů žebrovník Waltlův a axolotl mexický pocházela z laboratorních odchovů. Vajíčka čolka obecného byla po úředním povolení v omezeném počtu odebrána z volné přírody a odchována v laboratoři do stádií různě starých larev. Celkově jsem měla k dispozici dosti omezený počet stádií i jedinců samotných, takže výsledky nelze považovat za statisticky významné.

### **2. Fixace vzorků**

Během ontogenetického vývoje byla postupně, v pravidelných intervalech, odebírána jednotlivá larvální stádia. Jedinci byli fixováni v roztoku 10% formaldehydu a uchovávaní samostatně v uzavíratelných lahvičkách.

### **3. Determinace stádií**

Jednotlivá larvální stádia byla určována na základě srovnávací tabulky. Vývojové stádium jedince bylo posuzováno dle vývoje předních končetin a prstů podle práce, která popisuje vývoj larev u *Ambystoma macrodactylum krausei* (Watson & Russell, 2000); (Proto budou stádia v textu označována pomocí zkratky W/R.)

### **4. Diferenciální barvení**

K obarvení vzorků jsem využila dva způsoby barvení (Wassersug, 1976; Taylor & Van Dyke, 1985). Oba typy využívají diferenciálního barvení kosti a chrupavky, kdy je využito afinity alizarinu k iontům vápníku obsaženého v kostech a schopnosti vazby alciánové modři na kolagen tvořící součást chrupavek. Obě tyto metody umožňují pozorovat obarvený skelet přes

prosvětlené tkáně, aniž by došlo k narušení topografické anatomie zkoumaných částí.

➤ **Barvení dle Wassersuga (1976) – postup s drobnými úpravami:**

Jedince jsem nechala alespoň dva týdny naložené v 10 % roztoku formaldehydu.

1. Dospělé jedince a větší larvy jsem stáhla z kůže, vyjmula vnitřní orgány a oční bulvy.
2. Následně jsem je promyla pod tekoucí vodou a ve vodě nechala po dobu 2 dní (vodu jsem 2x denně vyměnila).
3. Poté jsem provedla dehydrataci jedinců pomocí 95% etanolu, ve kterém jsem je ponechala 2 dny (etanol jsem 1x denně vyměnila).
4. Dále jsem provedla barvení pomocí roztoku alciánové modři (100 ml ledové kyseliny octové, 150 ml 95% etanolu, 30mg alciánové modři).
5. Vzorky jsem poté promyla pomocí roztoku glycerolu a 2,5-5% KOH (v závislosti na velikosti jedince).
6. Dále jsem provedla barvení pomocí nasyceného roztoku alizarinu v etanolu.
7. Nakonec jsem vzorky fixovala pomocí glycerinové řady:  
 $\frac{3}{4}$  2,5-5% KOH +  $\frac{1}{4}$  glycerol  
 $\frac{1}{2}$  2,5-5% KOH +  $\frac{1}{2}$  glycerol  
 $\frac{1}{4}$  2,5-5% KOH +  $\frac{3}{4}$  glycerol
8. Výsledné vzorky jsem uchovala ve 100 % glycerolu.

Barvení jsem prováděla nejen na larválních stádiích, ale i na dospělých jedincích druhů: axolotl mexický (*Ambystomatidae*), žebrovník Walthův (*Pleurodeles waltl*) (*Salamandridae*), úhořík tříprstý (*Amphiuma tridactylum*) (*Amphiumidae*), čolek velký (*Triturus cristatus*) (*Salamandridae*), mločik třípásý (*Eurycea guttolineata*) (*Plethodontidae*) a pamlok henanský (*Pachyhynobius shangchengensis*) (*Hynobiidae*). A právě u většiny dospělců jsem aplikovala druhou metodu diferenciálního barvení podle Tylora & Van Dyka (1985).

➤ **Barvení dle Taylor & Van Dyke (1985) – postup s drobnými úpravami:**

1. Jedinice určené k barvení jsem ponechala alespoň dva týdny v 10 % formaldehydu.
2. Následně jsem provedla dehydrataci pomocí roztoku etanolu, kdy jsem vzorek po dobu 1 dne nechala v 50 % roztoku a další 1 den ve 100 % roztoku etanolu.
3. Dále jsem provedla barvení pomocí roztoku alciánové modři (40 ml ledové kyseliny octové, 60 ml 95% etanolu, 30 mg alciánové modři).
4. Vzorky jsem neutralizovala pomocí nasyceného roztoku tetraboritanu sodného ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ).
5. Dále jsem použila roztok, který jsem vytvořila smícháním 300 ml nasyceného roztoku tetraboritanu sodného, 700 ml destilované vody a trochou trypsinu (na špičku špachtle – cca 0,5 g).
6. Následovalo barvení pomocí roztoku alizarinu v 0,5% KOH.
7. Poté jsem vzorky znovu převedla do roztoku popsaného v bodě 5. (Tento krok slouží k odbarvování, opakovala jsem ho do té doby, až svalové tkáně a kůže zcela zprůhledněly).
8. Jako další krok postupu jsem provedla odstranění vnitřností.
9. Po dobu dvou dní jsem vzorek ponořila do roztoku 2,5 % KOH.
10. Nakonec jsem jedince fixovala pomocí glycerinové řady:  
40% glycerinu + 60% 0.5% KOH (12h)  
70% glycerinu + 30% 0.5% KOH (12h)
11. Výsledné vzorky jsem uchovala ve 100% glycerinu.

U jednotlivých kroků postupu není uvedena délka jejich trvání, neboť byla zcela individuální a závisela na velikosti vzorku. Stejně tak i koncentrace použitých roztoků se u jednotlivých vzorků lišila.

## **5. Dokumentace**

Výsledky barvení byly zaznamenány pomocí binokulárního mikroskopu Nikon SMZ 1500 připojeného k digitální kameře Nikon DXM 1200. Obarvené pletence dospělců byly fotografovány digitálním fotoaparátem Nikon D80 (objektiv NIKKOR AF-S VR MICRO 105/2,8 G IF-ED).



**b) Histologické řezy.**

Z daných histologických řezů, uvedených v tabulce V. jsem pomocí programu 3D Studio Max vytvořila modely lopatkových pletenců. Z jednotlivých řezů byly vybrány části patřící pletenci a výběrové křivky byly opatřeny příslušnými barvami (modře – chrupavčité části, červeně – osifikované části, zeleně – sternum). Po jejich vyznačení byly řezy na sebe poskládány a za pomoci funkcí programu byl vytvořen trojrozměrný model struktury. Modelem je možné rotovat ve všech směrech a lze tak pozorovat skutečný tvar, velikost a vzájemnou polohu jednotlivých elementů. Výsledné snímky jsem upravila do konečné podoby v programu Corel Paint Shop Pro Photo X2.

**c) Fotodokumentace exemplářů z Národního muzea.**

Na základě fotodokumentace exemplářů z Národního muzea jsem měla možnost prohlédnout si i lopatkové pletence druhů surýn úhořovitý (*Siren lacertina*), velemlok japonský (*Andrias japonicus*) a velemlok americký (*Cryptobranchus alleganiensis*).

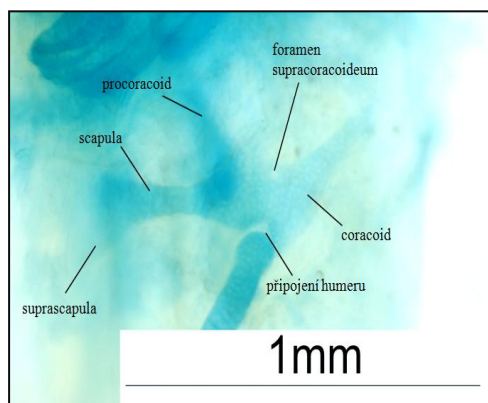
## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Ontogenetický vývoj lopatkového pletence.

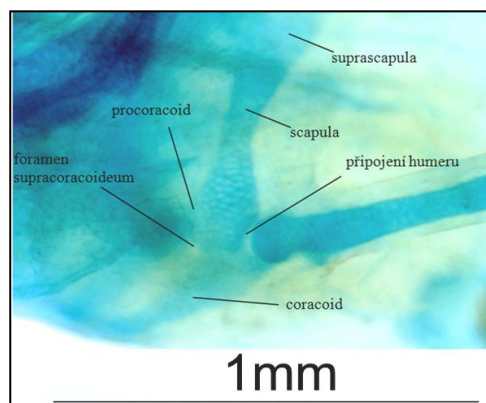
#### 4.1.1. Ontogenetický vývoj lopatkového pletence – čolek obecný:

**Stádium W/R 7:** V tomto stádiu larválního vývoje se již lopatkový pletenec skládá, vyjma sterna, ze všech elementů. Je zde zřetelně přítomna skapula a na její distální konec navazující supraskapula. Korakoidy jsou špičaté, k sobě se přibližující struktury. Na korakoid navazuje malý prokorakoid. Na korakoidu lze pozorovat *foramen supracoracoideum* (Obr. 11).

**Stádium W/R 8:** Složení elementů pletence je shodné s předchozím stádiem, supraskapula se zvětšuje a stejně tak korakoidy. Na korakoidu je zřetelně vytvořeno místo pro připojení humeru (Obr. 12).



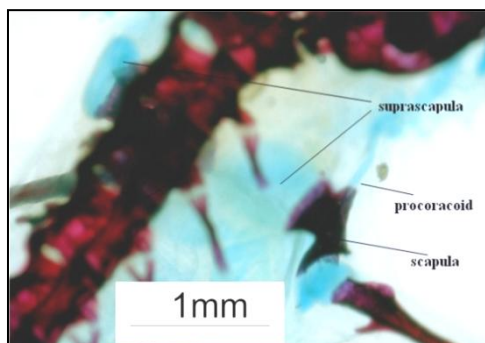
Obr. 11: Čolek obecný, W/R 7; pravý laterální pohled.



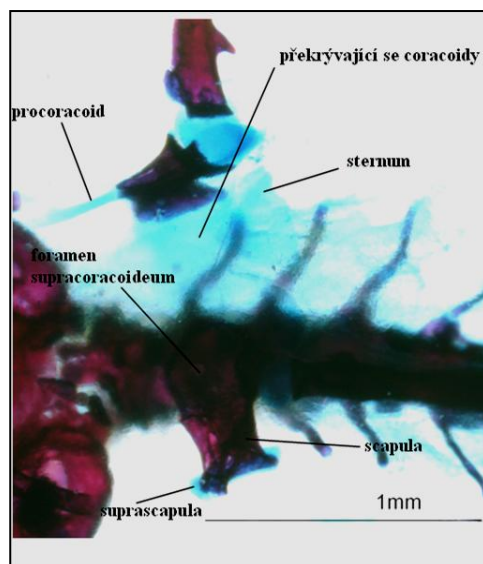
Obr. 12: Čolek obecný, W/R 8; levý laterální pohled.

**Stádium W/R 13, 14:** Všechny součásti pletence se zvětšují, korakoidy se přibližují, ale stále se ještě nepřekrývají. Na žádném z elementů není pozorována osifikace.

**Stádium WR 21, 22:** Tato stádia jsou již metamorfovaní jedinci (Obr. 13 a 14). Všechny elementy pletence jsou vytvořeny a dosahují svého finálního tvaru. Korakoidy se vzájemně překrývají a je přítomno sternum, což je struktura, jejíž tvorbu jsem u larválních stádií nepozorovala. Skapula a část korakoidu, zahrnující *foramen supracoracoideum* jsou kompletně osifikované.



Obr. 13: Čolek obecný, W/R 21; dorzální pohled.

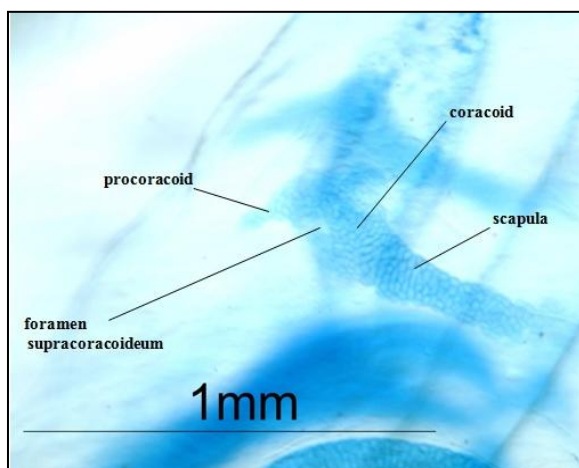


Obr. 14: Čolek obecný, W/R 22; pravý laterální pohled.

#### 4.1.2. Ontogenetický vývoj lopatkového pletence – *Pleurodeles waltl*:

**Stádium W/R 4:** V tomto raném stádiu jsou již základy lopatkového pletence vytvořeny. Přítomna je skapula a korakoid, naznačen je i vznikající prokorakoid a na korakoidu se tvoří místo pro připojení humeru a také *foramen supracoracoideum*.

**Stádium W/R 5:** Složení pletence je srovnatelné se stádiem 4, zvětšuje se skapula, supraskapulu zatím nelze od skapuly odlišit, prokorakoid stále nenabývá zřetelných rozměrů a *foramen supracoracoideum* ještě není kompletně uzavřeno (Obr. 15).

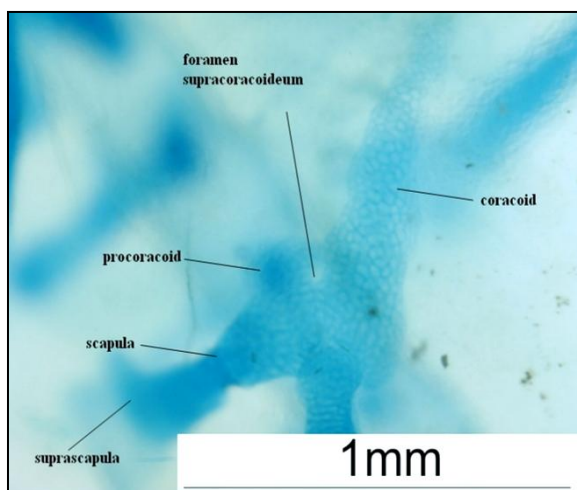


Obr. 15: Žebrovník Waltlův, W/R 5; pravý laterální pohled.

**Stádium W/R 6:** Korakoid, skapula i prokorakoid se zvětšují, *foramen supracoracoideum* se uzavírá a nabírá tradiční kruhovitý tvar.

**Stádium W/R 7,8:** Všechny struktury jsou stále chrupavčité, v těchto stádiích již lze zřetelně odlišit supraskapulu tvořící se na distálním konci skapuly.

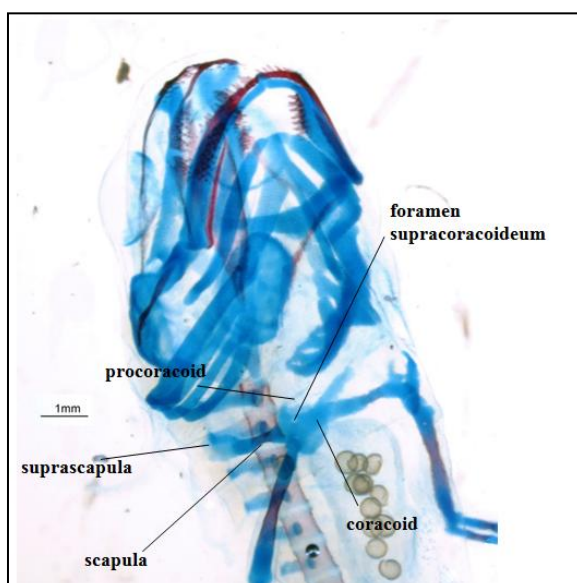
**Stádium W/R 9:** Korakoid se zvětšuje a nabývá podlouhlého špičatého tvaru, supraskapula se taktéž zvětšuje (Obr. 16).



Obr. 16: Žebrovník Waltlův, W/R 9; pravý laterální pohled.

**Stádium W/R 10:** V tomto stádiu dochází ke zvětšení prokorakoidu, který roste do špičatého tvaru. Korakoidy se k sobě postupně přibližují a na skapule a humeru lze pozorovat počínající osifikaci.

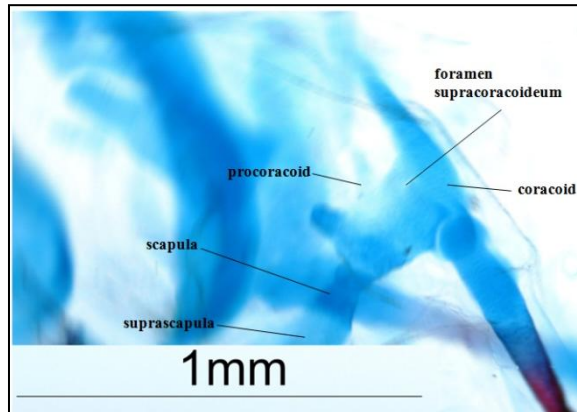
**Stádium W/R 11, 12:** Skapula a humerus plně osifikují, ostatní elementy pletence si zachovávají chrupavčitý charakter (Obr. 17).



Obr. 17: Žebrovník Waltlův, W/R 12; pravý ventrálně-laterální pohled.

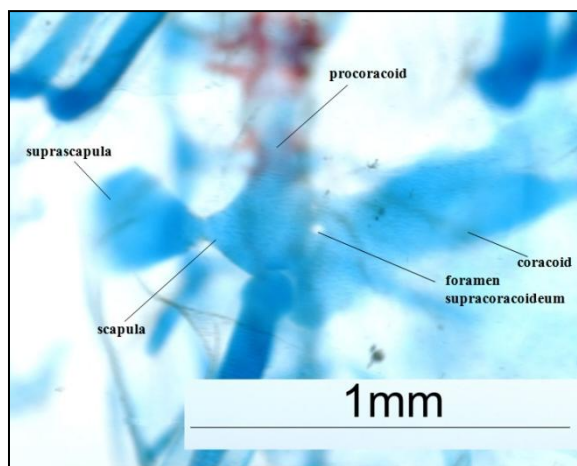
**Stádium W/R 13, 14:** Korakoidy dále rostou a přibližují se k sobě, roste i prokorakoid a supraskapula. Další části pletence neosifikují.

**Stádium W/R 15, 16:** V těchto stádiích již struktury dosahují svých finálních podob. Korakoidy se téměř dotýkají. Jediným osifikovaným elementem pletence stále zůstává skapula (Obr. 18).



Obr. 18: Žebrovník Waltlův, W/R 16; pravý ventrálně-laterální pohled.

**Stádium W/R 17, 18:** Toto jsou poslední stádia předcházející metamorfóze, další části pletence neosifikují, korakoidy se dotýkají svými distálními konci, ale k jejich překryvu nedochází (Obr. 19).



Obr. 19: Žebrovník Waltlův, W/R 17; pravý laterální pohled.

#### 4.1.3. Ontogenetický vývoj lopatkového pletence – *axolotl mexický*

U použitých larválních stádií (WR 3-8) nebylo možné fotograficky zdokumentovat tvořící se elementy vznikajícího lopatkového pletence. Zřejmě došlo k vadnému prosvětlení tkání, kterého jsem ani opakovanými pokusy nedocílila. Pod binokulárním mikroskopem jsem byla schopná vznikající

elementy identifikovat a popisovat. Veškeré elementy skeletu jsou v pozorovaných stádiích chrupavčitého charakteru.

**Stádium W/R 3:** Na vzorku lze pozorovat končetinové pupeny, avšak elementy lopatkového pletence ještě přítomny nejsou.

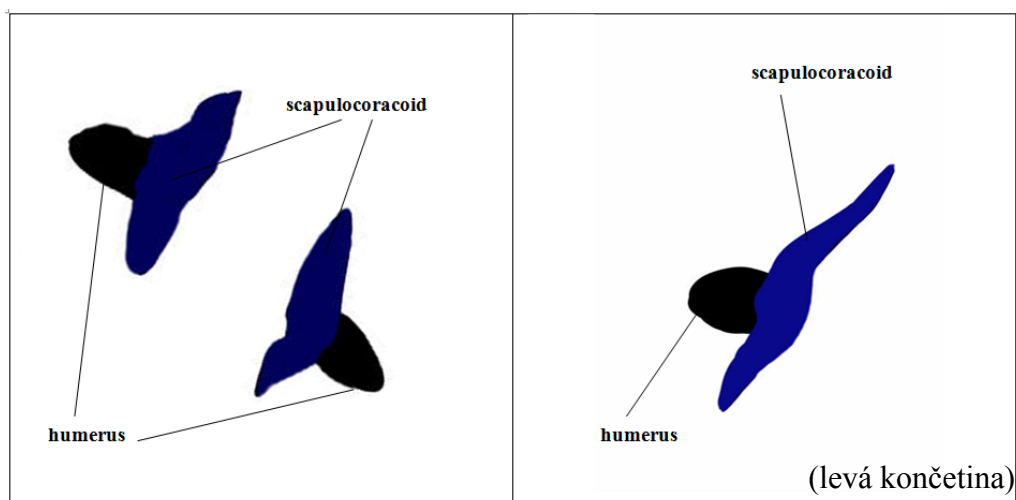
**Stádium W/R 4-5:** V tomto stádiu lze již pozorovat strukturu připojující končetinu, nelze však rozpoznat jednotlivé složky pletence, jedná se o kompaktní chrupavčitý element.

**Stádium W/R 6-7:** U larvy tohoto stáří již lze pozorovat jednotlivé elementy pletence; je vytvořen korakoid včetně *foramenu supracoracoideum*, na něj navazuje malý prokorakoid, je přítomna skapula, supraskapula nelze zatím odlišit.

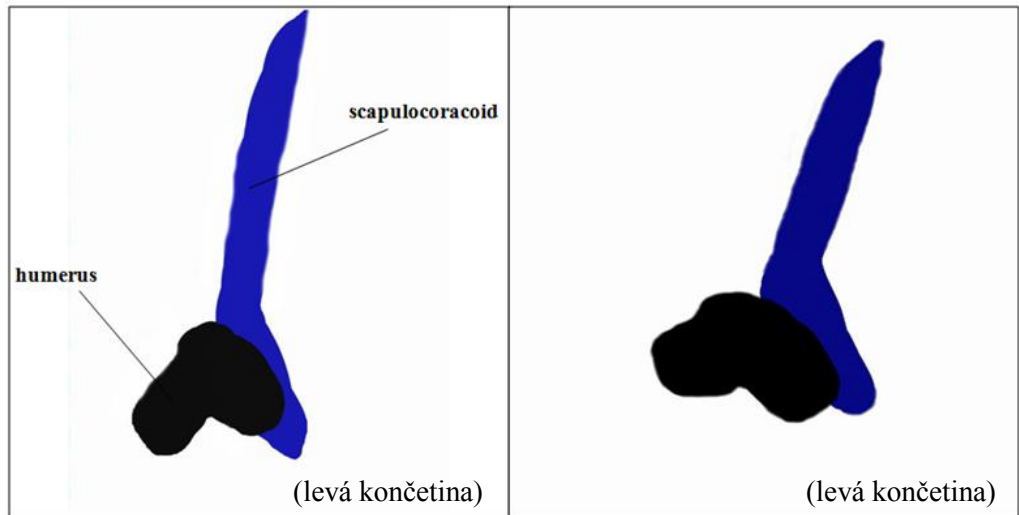
**Stádium W/R 7-8, 8:** Všechny součásti pletence se zvětšují, korakoidy se vzájemně nepřekrývají, supraskapula je odlišitelná a navazuje na distální konec skapuly.

#### 4.2. Výsledné 3D modely lopatkových pletenců.

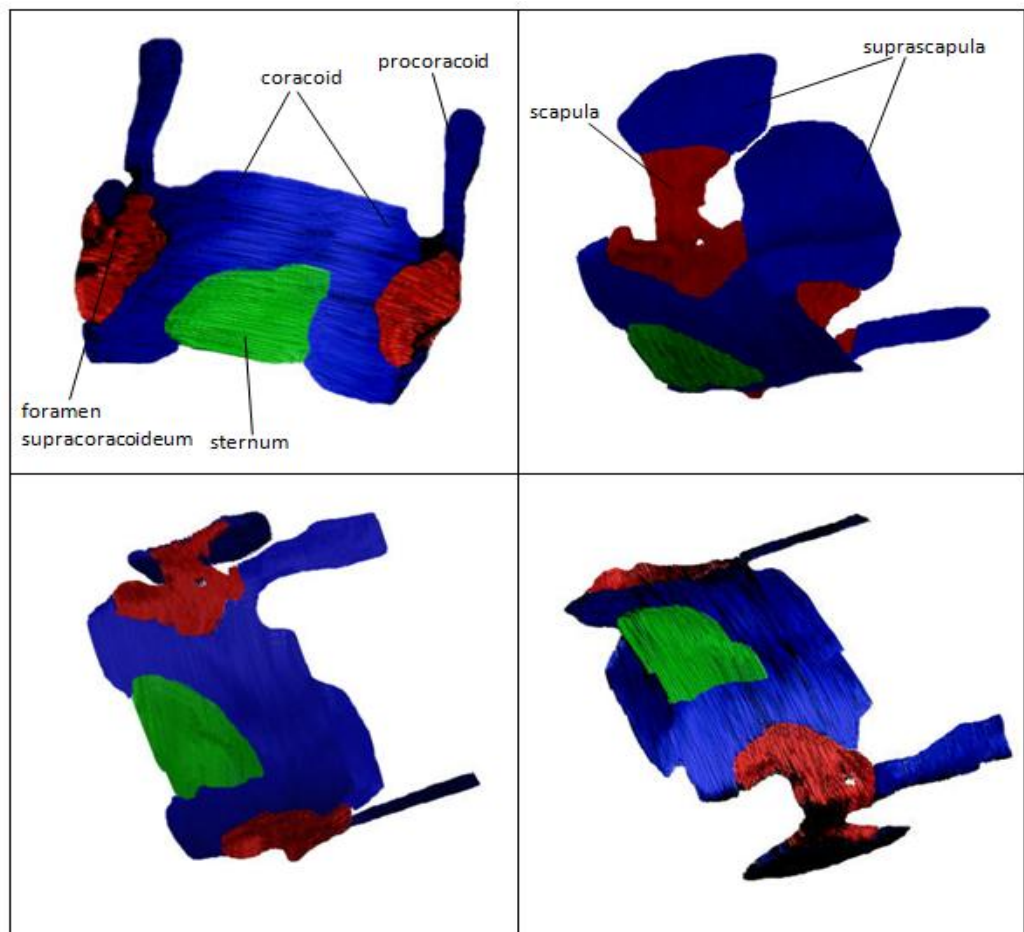
Pomocí programu 3D studio max jsem vytvořila trojrozměrné modely lopatkových pletenců u druhů axolotl mexický, žebrovník Waltlův, čolek velký a čolek horský, které jsou zobrazeny a popsány na obrázcích 20 – 25.



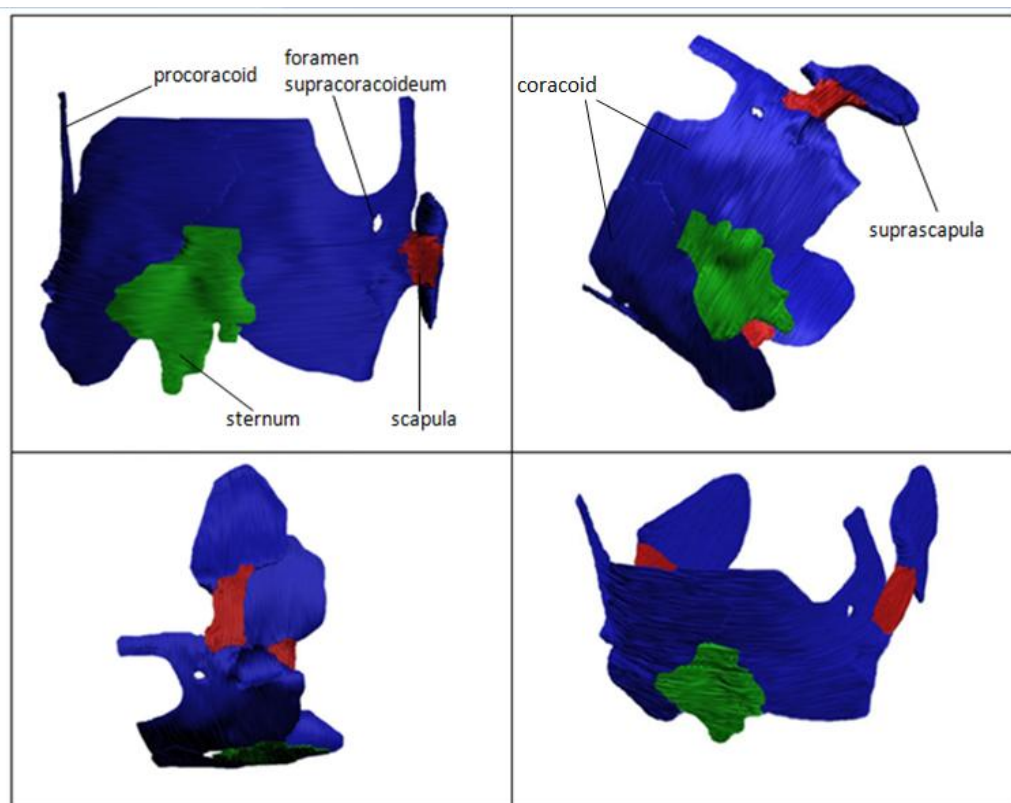
Obr. 20: Popis modelu axolotl mexický - W/R 4-5.



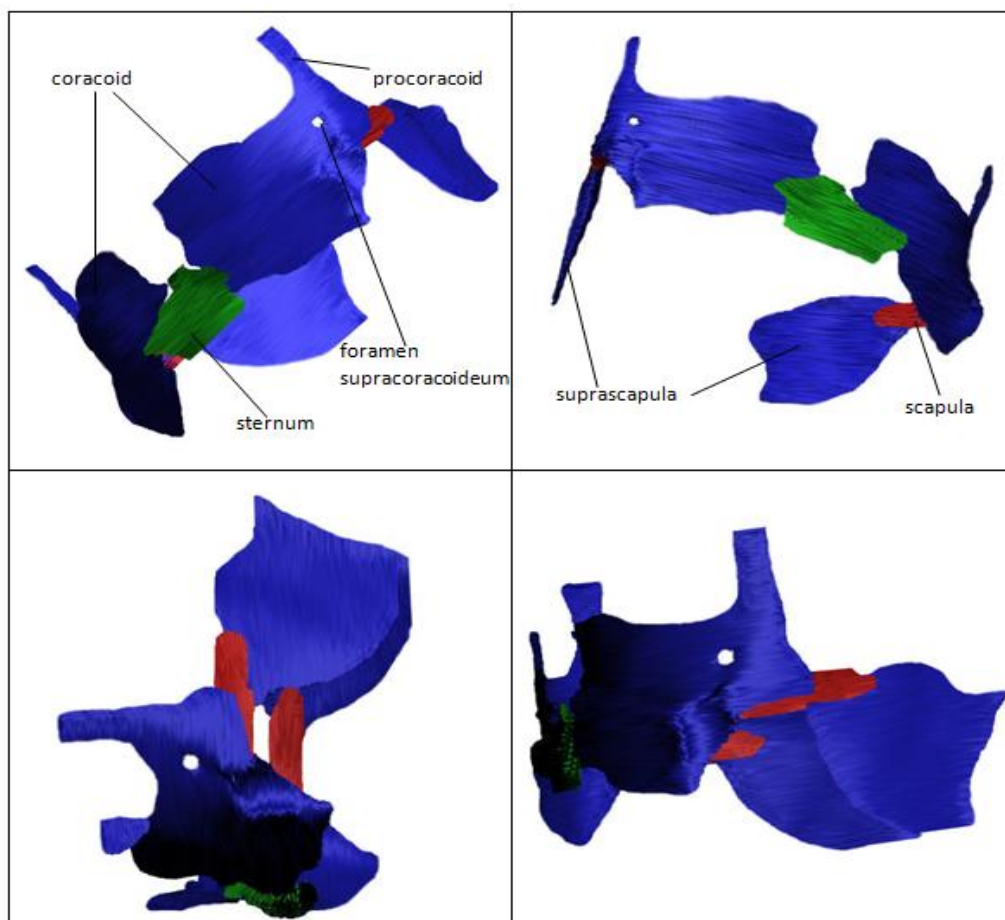
Obr. 21: Popis modelu žebrovník Waltlův – W/R 4.



Obr. 22: Popis modelu čolek horský – 77mm.

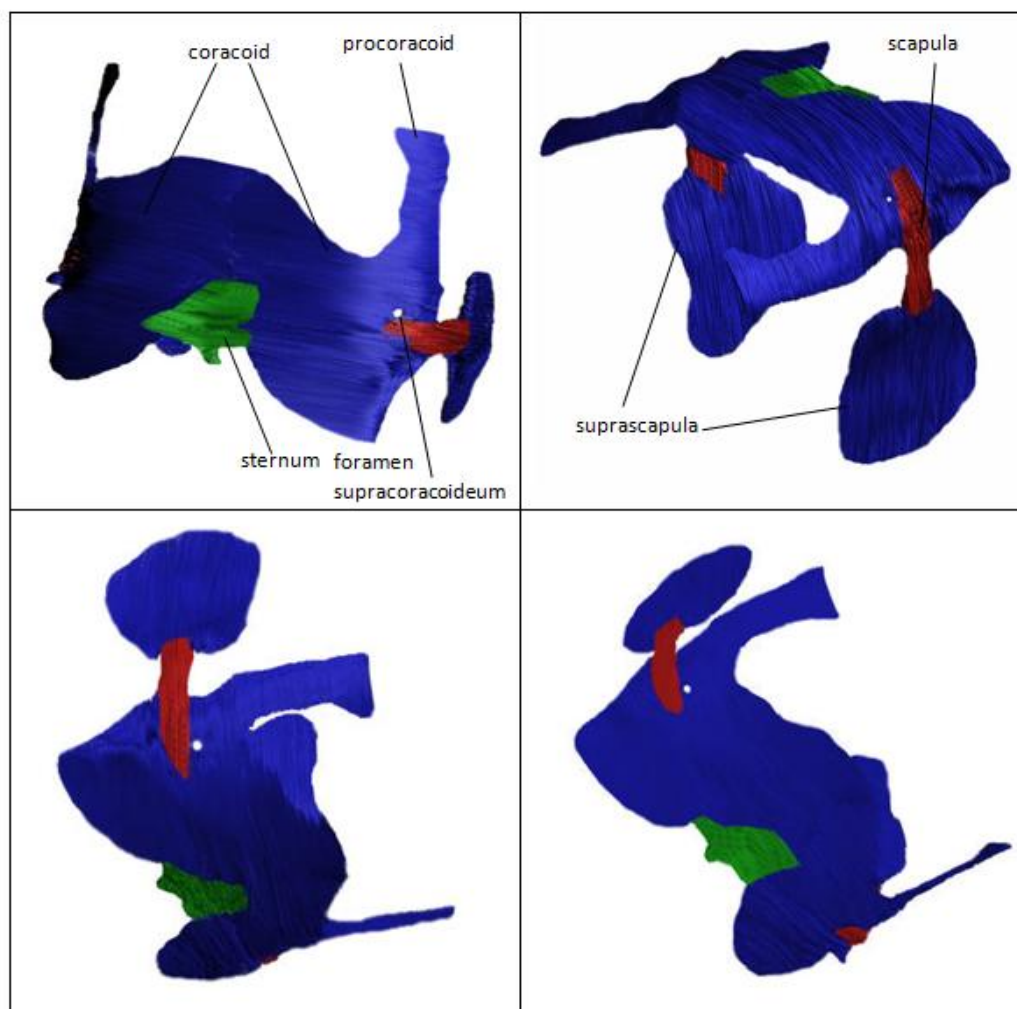


Obr. 23: Popis modelu čolek velký – 36 mm.



Obr. 24: Popis modelu čolek velký – 53mm.



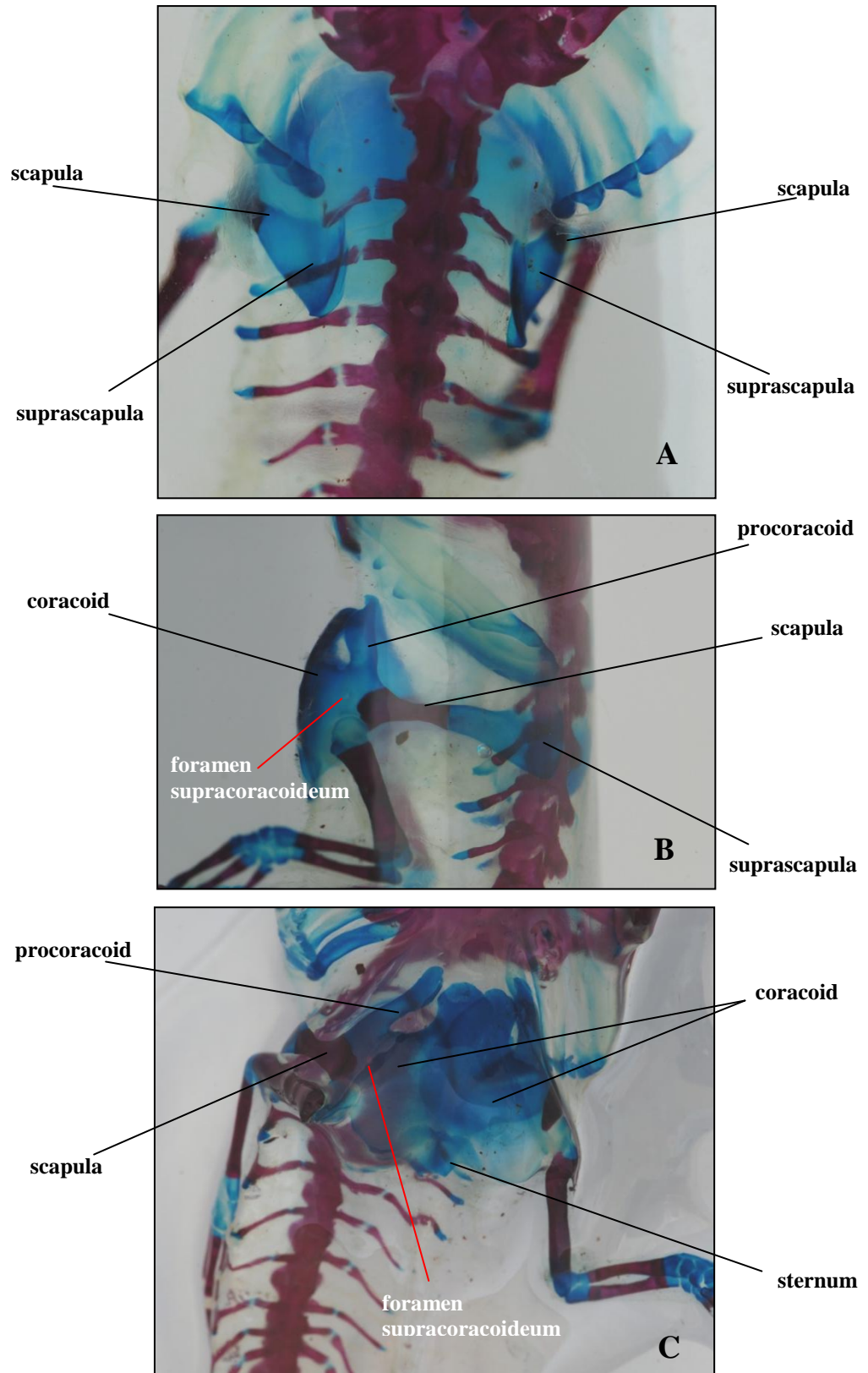


Obr. 25: Popis modelu čolek velký – 73mm.

### 4.3. Lopatkové pletence adultních jedinců.

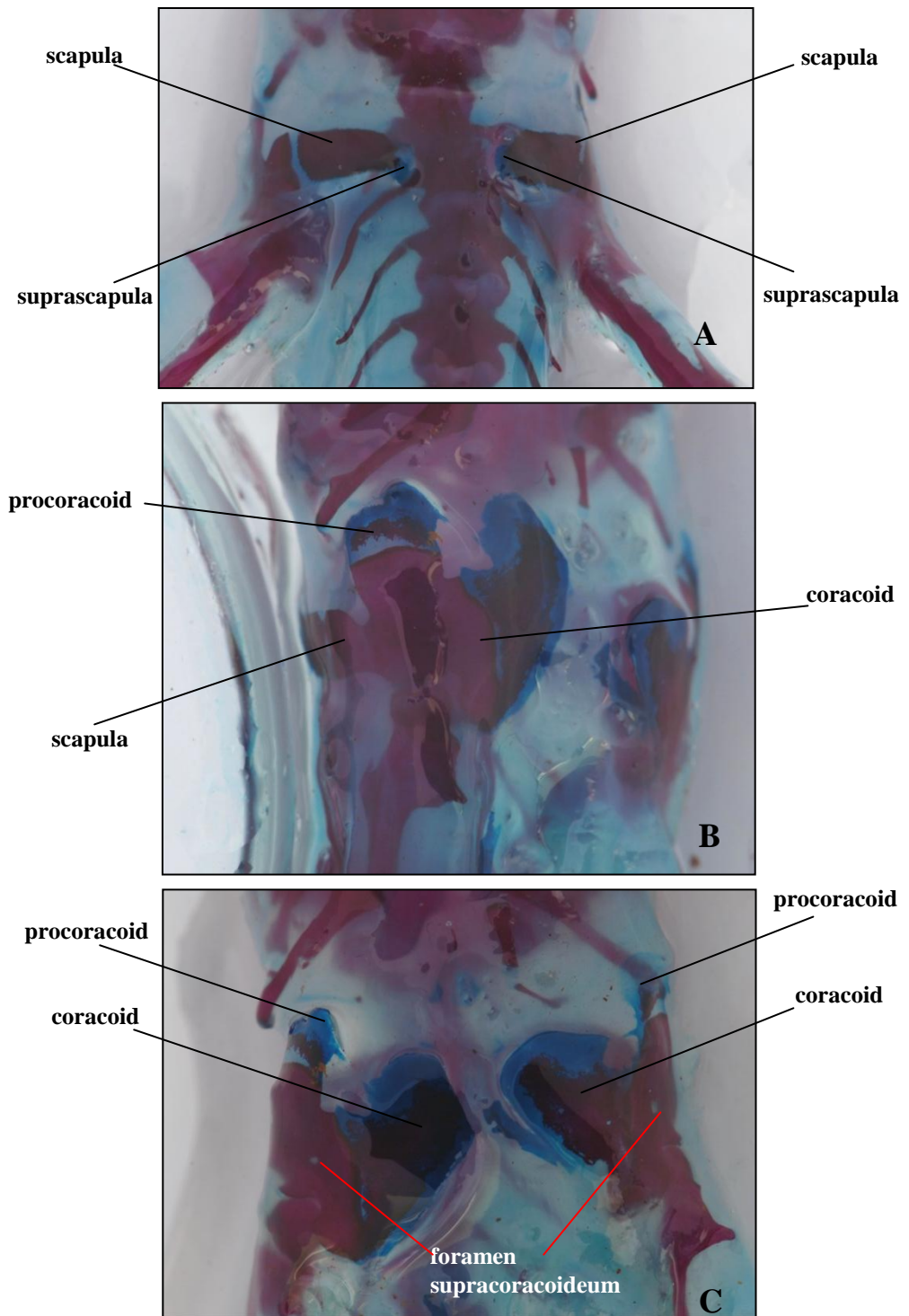
Pomocí metod diferenciálního barvení, popsaných výše, jsem obarvila dospělé jedince ocasatých obojživelníků z pěti různých čeledí. Jednalo se o druhy axolotl mexický (Ambystomatidae), žebrovník Walzlův (Salamandridae), čolek velký (Salamandridae), pamlok henanský (Hynobiidae), mločik třípásý (Plethodontidae) a úhořík tříprstý (Amphiumidae). Fotodokumentace jejich lopatkových pletenců se nachází na obrázcích 26 – 31.

1. Axolotl mexický (Ambystomatidae).



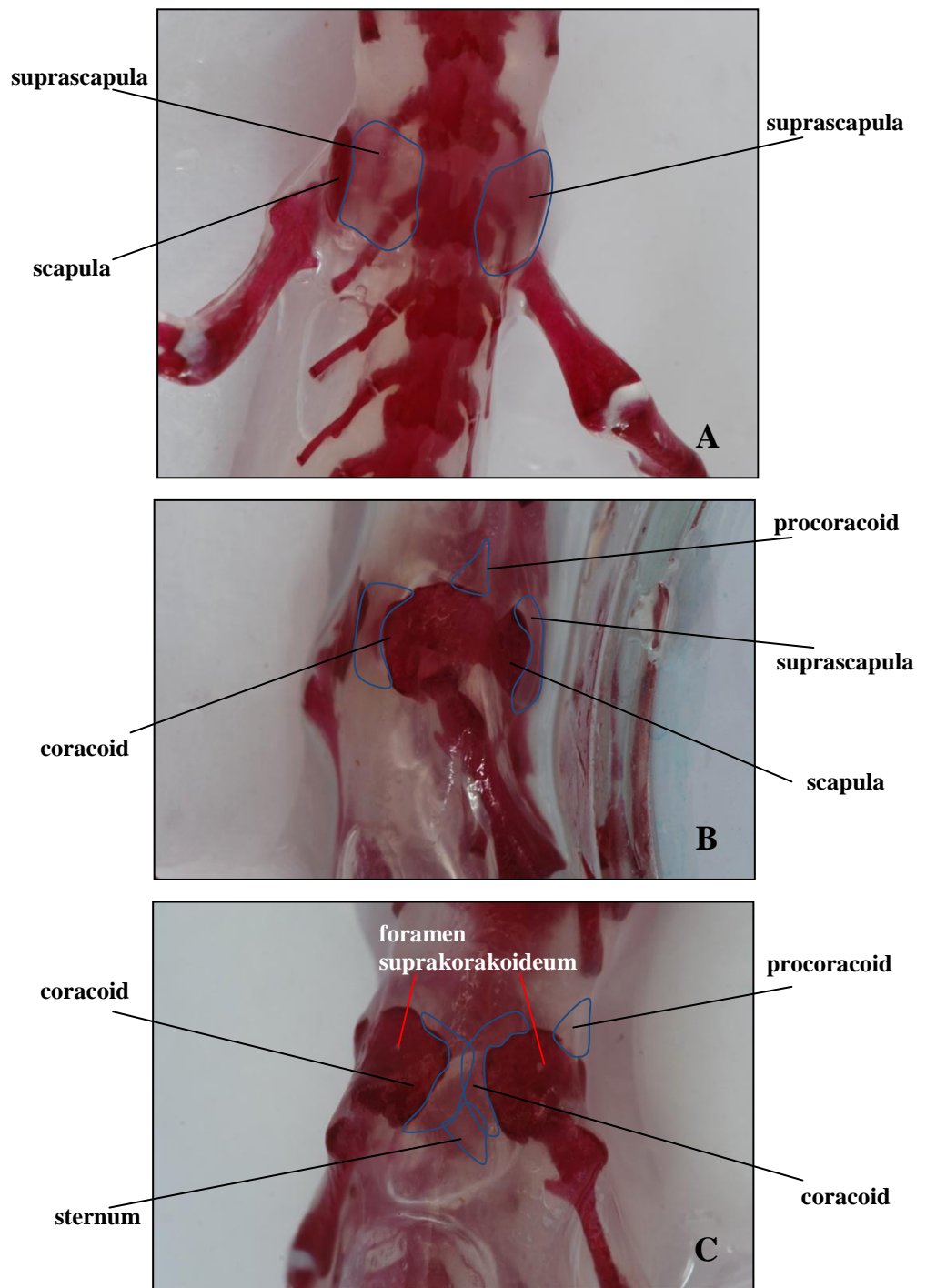
Obr. 26: Axolotl mexický (A – dorzální pohled; B – levý laterální pohled; C – ventrální pohled).

## 2. Žebrovník Waltlův (Salamandridae).



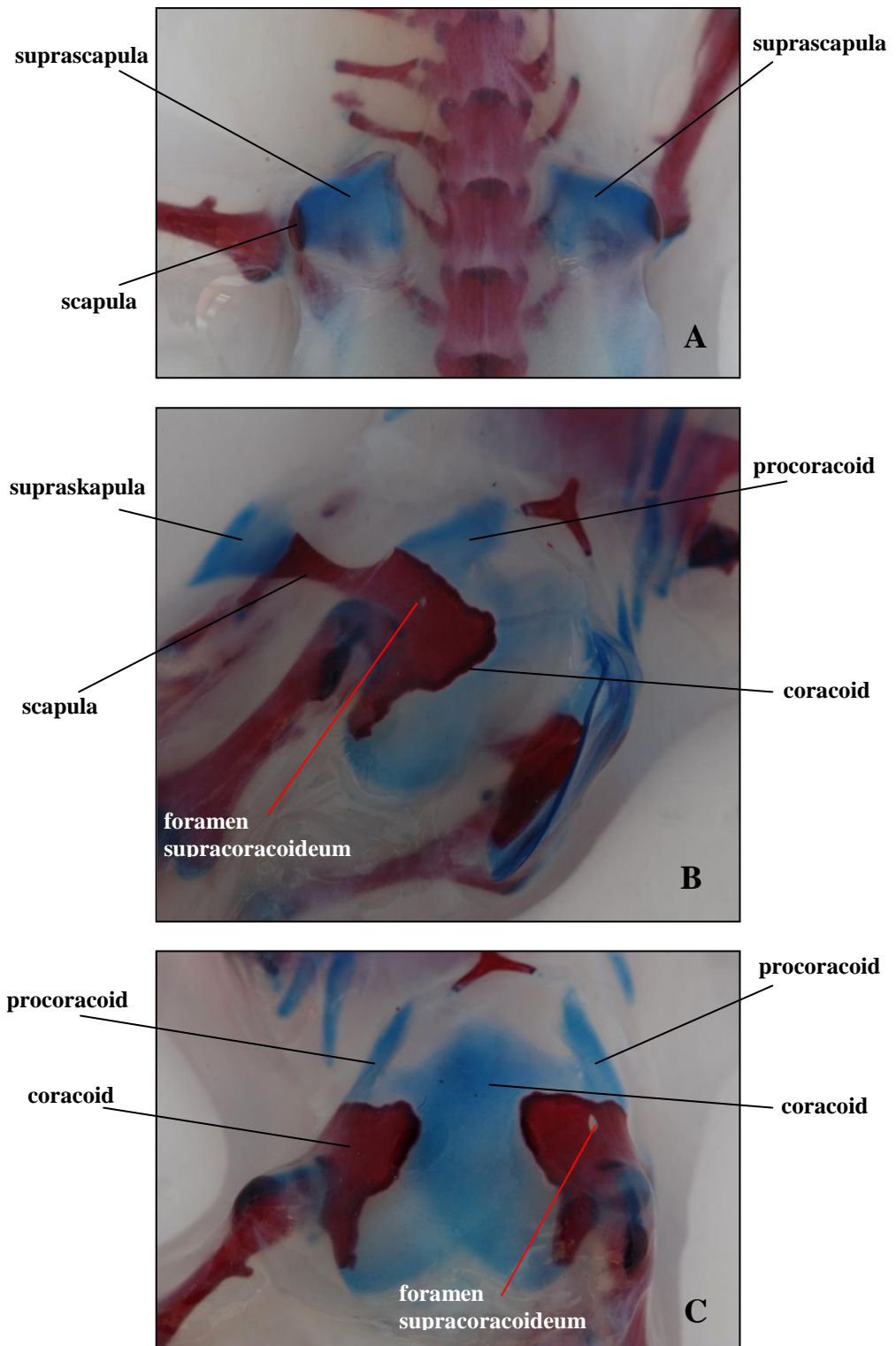
Obr. 27: **Žebrovník Waltlův** (A – dorzální pohled; B – pravý laterální pohled; C – ventrální pohled).

### 3. Čolek velký (Salamandridae).



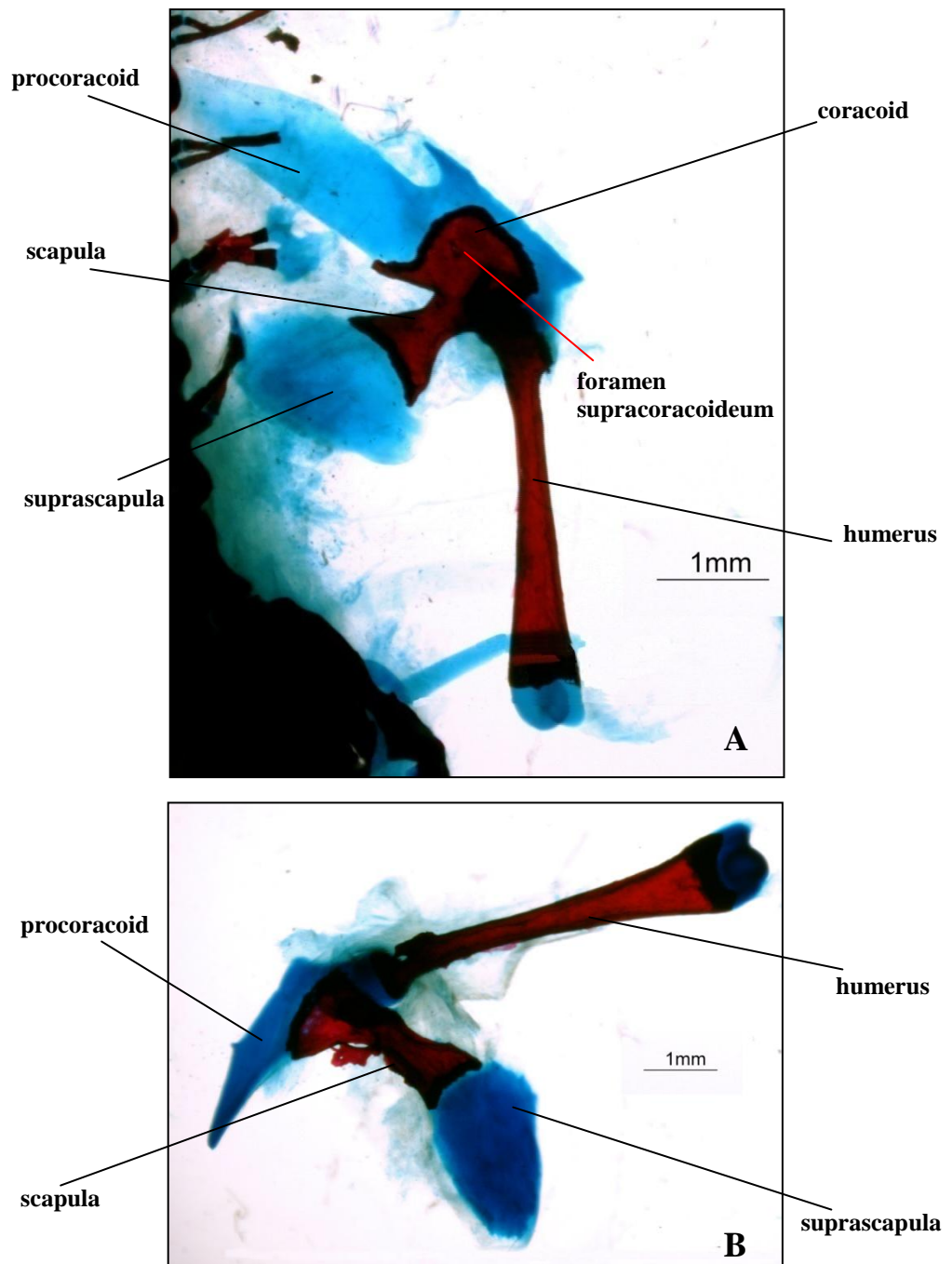
Obr. 28: **Čolek velký** (A – dorzální pohled; B – levý laterální pohled; C – ventrální pohled). Modrými obrysy jsou naznačeny chrupavčité elementy, neboť části obarvené alcianovou modří se staly téměř průhlednými a na fotografii byly nezaznamatelné.

#### 4. Pamlok henanský (Hynobiidae).



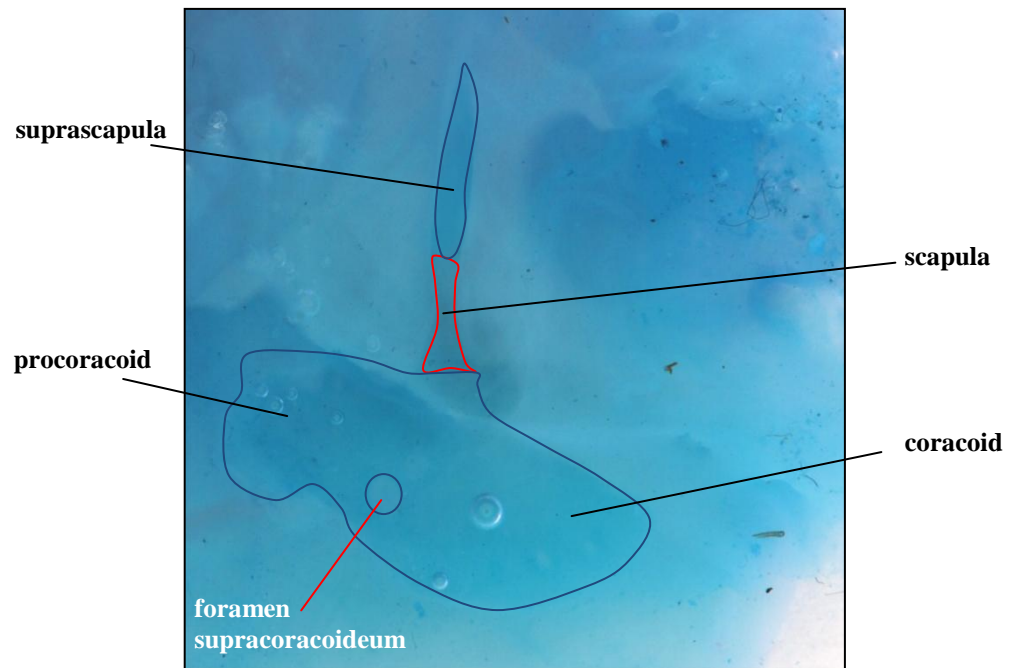
Obr. 29: Pamlok henanský (A – dorzální pohled; B - pravý laterální pohled; C – ventrální pohled).

## 5. Mločik třípásý (Plethodontidae).



Obr. 30: Mločik třípásý (A – dorzální pohled; B – detail celého pletence včetně humeru).

## 6. Úhořík tříprstý (Amphiumidae).



Obr. 31: **Úhořík tříprstý** – detail lopatkového pletence pravé končetiny.  
(Modře obrysy chrupavčitých elementů, červeně osifikace.)

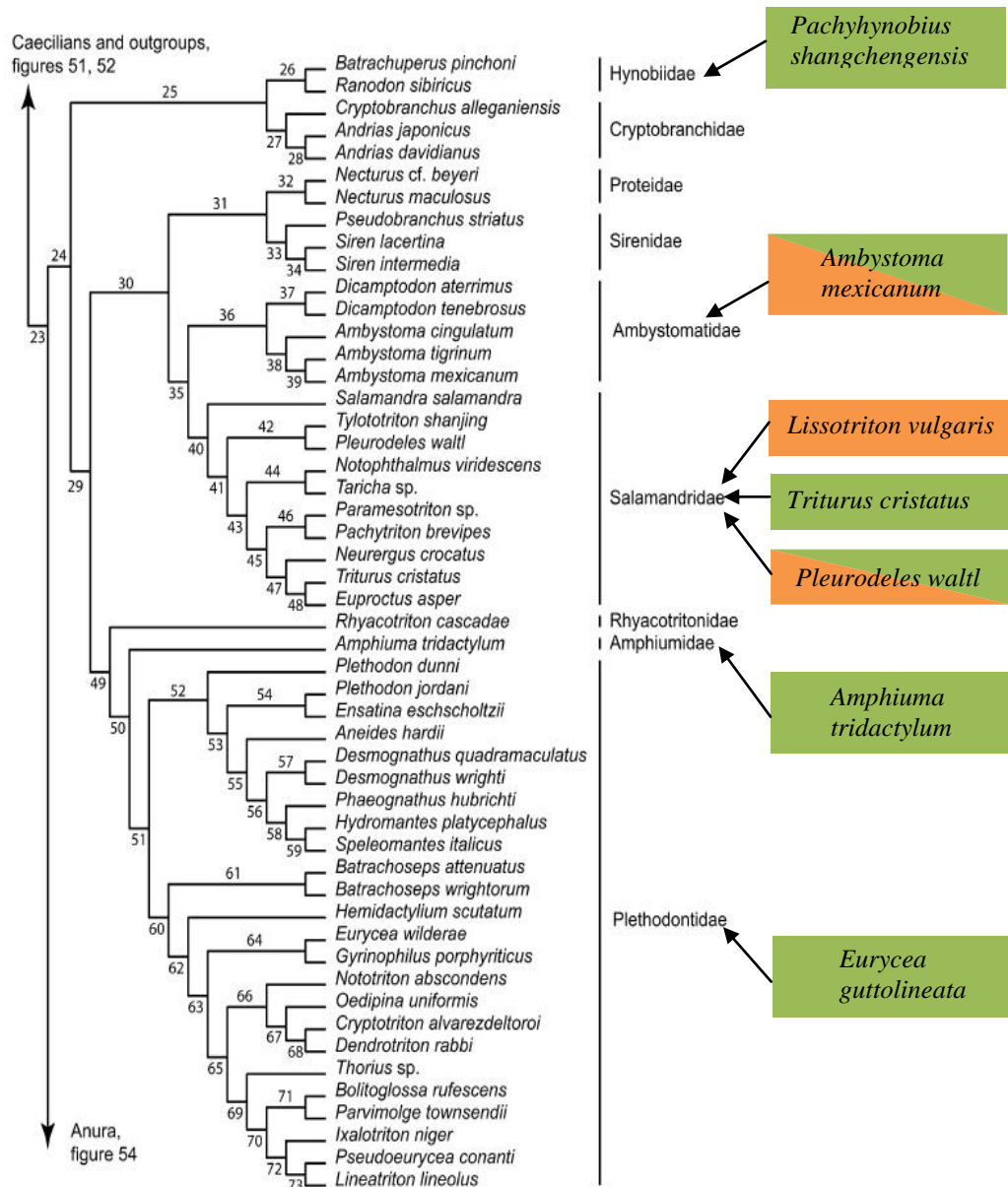
## 5. DISKUSE

V této práci jsem se věnovala studiu lopatkového pletence. Lopatkový pletenec je součástí těla všech obratlovců, s výjimkou těch druhů, které pletenec během svého vývoje druhotně ztratily (např. hadi nebo červoři). Tato struktura si v sobě nese odkaz z hluboké historie, kdy tvořila součást lebečních kostí devonských lalokoploutvých ryb, pravděpodobných předků všech tetrapodů. A právě obojživelníci, jakožto starobylá skupina obratlovců, si ve svém pletenci ponechali elementy, které byly u dalších obratlovců v průběhu evoluce eliminovány.

Během mé práce jsem se zaměřila na studium morfologie lopatkového pletence u vybraných zástupců skupiny Caudata, přítomnost a tvar jednotlivých elementů a především pak na jeho ontogenetický vývoj, který nám umožňuje pochopit, jak se jednotlivé části tohoto útvaru vytvářejí. K tomu mi posloužily dvě metody barvení, které využívají diferenciálního obarvení kosti a chrupavky. Na larvální stádia jsem aplikovala lehce upravenou metodu dle Wassersuga (1976). Tento způsob barvení jsem použila i na některé adultní jedince. Druhá metoda barvení vycházela z lehce modifikovaného postupu dle Taylora a Van Dyka (1985). Obě metody využívají stejných barvicích látek (Alcian Blue, Alizarin Red). Kdybych tyto metody měla nějak porovnat, tak první z nich je ideální pro barvení larválních stádií a je o poznání rychlejší než druhá z metod. U dospělců však vyžaduje barvení dle této metody stažení z kůže, což vedlo u některých mých vzorků k následnému rozpadu částí jedince (např. u mločika třípásého). V tomto ohledu se osvědčila u barvení dospělců metoda druhá, protože zde není nutné z jedince kůži odstraňovat, neboť dojde k jejímu odbarvení. Avšak časově to pochopitelně skýtá mnohem větší nároky.

Fylogeneze skupiny Caudata s vyznačenými druhy jednotlivých čeledí a barevným odlišením použitých larválních a adultních jedinců je zobrazena na obr. 32.





Obr. 32: Fylogeneze skupiny Caudata podle Frosta et al. (2006) s vypsányými použitými druhy jednotlivých čeledí. (Zeleně – obarvení adultní jedinci, oranžově – obarvená larvální stádia)

Ontogenetický vývoj pletence jsem měla možnost pozorovat u třech druhů ocasatých obojživelníků – čolka obecného (*Lissotriton vulgaris*), žebrovníka Waltlova (*Pleurodeles waltl*) a axolotla mexického (*Ambystoma mexicanum*).

- 1) U čolka obecného jsem měla omezené množství vzorků a jako nejranější stádium byl vyhodnocován vzorek W/R 7, ve kterém je již pletenec plnohodnotného složení. U tohoto druhu jsem měla ještě k dispozici histologické řezy jedince stádia W/R 1-3. Při zkoumání

tohoto materiálu jsem našla pouze vzniklé končetinové pupeny, avšak žádné známky tvořícího se pletence jsem nepozorovala. Z toho lze soudit, že základy pletence se tvoří někde mezi stádii W/R 3 – W/R 6, proto by bylo vhodné tato stádia získat a zhodnotit.

- 2) Ontogenezi pletence u žebrovníka Waltlova jsem měla možnost pozorovat na obarvených vzorcích v rozmezí stádií W/R 4 – W/R 18. Ve stádiu W/R 4 je již pletenec přítomen a lze na něm odlišit i některé struktury. Jeho přítomnost byla potvrzena i na základě histologických řezů, kde byly ve stádiu W/R 4 struktury patřící pletenci zjištěny, ale nebylo možno jednotlivé elementy odlišit a na modelu jsou označeny jako jeden celistvý útvar - skapulokorakoid. Na dalších histologických řezech (stádia W/R 1, 2 a 3) jsem zaznamenala vzniklé končetinové pupeny, ale základy pletence nebyly pozorovány.
- 3) Jako třetí druh jsem ve své práci použila axolotla mexického. Od tohoto druhu jsem měla skutečně jen omezený počet stádií a to ještě poměrně raných – W/R 3 – W/R 8. Na obarvených vzorcích jsem ve stádiu W/R 3 nepozorovala žádné struktury patřící vznikajícímu lopatkovému pletenci. Ve stádiu označeném W/R 4-5 je již zjevné připojení vznikající končetiny, avšak jednotlivé elementy jsou zatím nerozlišitelné. Stejně tak histologické řezy prokázaly, že se pletenec vyvíjí až během stádia W/R 4-5, neboť na řezech stádií W/R 2 a W/R 3 se přítomnost základů pletence neprokázala.

Každá součást lopatkového pletence, podle mnoha autorů, vzniká jako autonomní element a na počátku vývoje pletence stojí tři chondrifikační centra (Detwiler, 1918), (Engler, 1929; Makinouchi, 1932; Chen, 1935 ex Borkhvardt & Baleeva, 2002). Taktéž výsledky studie zaměřené na ontogenezi pletence u skupiny Anura říkají, že vznikající lopatkový pletenec se vytváří ze tří chondrifikačních center, které tvoří základy budoucí skapuly, korakoidu a prokorakoidu (Robovská – Havelková, 2010). Z výsledků mého pozorování se však zdá, že lopatkový pletenec ocasatých má na svém počátku ontogeneze spíše podobu celistvého elementu, který se dále diferencuje v jednotlivé struktury. Podle Detwilerova (1918) by čeled' Ambystomatidae měla mít na vznikajícím pletenci tři chondrifikační centra.

Avšak o jejich přítomnosti nemohu z mých výsledků nic soudit, neboť základy lopatkového pletence jsem u nejranějších použitých stádií druhu axolotla mexického, zaznamenala již ve formě kompaktního, chrupavčitého elementu.

Další otázkou je přítomnost tzv. osifikačních center. I v nich byla v dřívějších studiích zaznamenána jistá variabilita. Jedno osifikační centrum bylo zaznamenáno u čeledi Ambystomatidae (Parker, 1868; Detwiler, 1918), Cryptobranchidae, Proteidae (Parker, 1868), a Hynobiidae (Borkhvardt & Baleeva, 2002). Dvě centra osifikace bychom dle Parkera (1868) našli u skupin Sirenidae a Amphiumidae. V rámci čeledi Salamandridae byla pozorována rozdílnost, kdy u všech zástupců této skupiny bylo nalezeno jedno osifikační centrum, ale u rodů *Triturus* a *Salamandra* byla pozorována celkem tři centra osifikace (Parker, 1868). Na obarvených larválních stádiích jsem osifikaci zaznamenala u žebrovníka Waltlova od stádia W/R 10 a to výhradně na skapule, zatímco u dospělců tohoto druhu lze vidět, že osifikace dále expanduje i do oblasti korakoidů. Avšak nemohu soudit, zdali osifikace na korakoidu pochází ze stejného centra osifikace jako na skapule, nebo má původ v dalším osifikačním centru. U čolka obecného byla osifikace přítomna u vzorků W/R 21 a 22, tedy u čerstvě metamorfovaných jedinců. Zde osifikace pokrývala celou skapulu a část korakoidu. Podle Parkera (1868) by zástupci skupiny Amphiumidae měli mít na svém pletenci přítomna dvě centra osifikace. Z této čeledě jsem měla k dispozici zástupce úhořika tříprstého, na jehož pletenci jsem však zaznamenala pouze osifikaci profilující se na skapule. A na rozdíl od nákresu Parkera, jsem na pletenci mého jedince pozorovala přítomnost i foramenu suprakorakoideum. Délka těla úhořika tříprstého je v literatuře uváděna 46 – 106 cm, což je poměrně široký rozptyl (Petranka, 1998). Parker (1868) bohužel ve své práci stáří ani velikost studovaného jedince neuvádí. Jedinec, kterého jsem ve své práci použila, měřil 52 cm, mohlo by se tedy jednat ještě o mladého jedince. Zároveň by to ale nabízelo hypotézu, že pokud se na pletenci tohoto druhu vyskytují dvě osifikační centra, tak jednotlivé osifikace neprobíhají simultánně. Pro potvrzení této domněnky by bylo vhodné získat staršího jedince a diagnostikovat rozsah a místa osifikace na jeho pletenci. Dvě centra

osifikace jsem zaznamenala na skapule a korakoidu pletence surýna úhořovitého, což potvrzuje tvrzení Parkera (1868).

Osifikaci částí lopatkového pletence je možné pozorovat i na vytvořených modelech lopatkových pletenců čolka horského a čolka velkého, u kterých je skapula vždy kompletně osifikovaná a částečně osifikace zasahuje i do oblasti korakoidu.

Dalším charakteristickým rysem lopatkového pletence skupiny Caudata je vzájemný překryv mediálních konců korakoidů. Tento znak byl popsán u většiny čeledí této skupiny – Ambystomatidae, Cryptobranchidae, Salamandridae (Parker, 1868) a Hynobiidae (Borkhvardt & Baleeva, 2002). Ale například u rodů *Amphiuma* a *Proteus* není překryv korakoidů přítomen (Hoffman, 1936). Na obarvených vzorcích jsem měla možnost pozorovat, jak se během ontogenetického vývoje korakoidy zvětšují a vzájemně se přibližují. Avšak u žádného z larválních stádií nedosáhly korakoidy vzájemného překrytí. U žebrovníka Waltlova ve stádiu W/R 18 lze vidět, jak se korakoidy svými konci dotýkají. U čerstvě metamorfovaných jedinců (stádia W/R 21, 22) čolka obecného je již vzájemné překrytí korakoidů patrné. Překryv lze dobře pozorovat i na obarvených dospělících, kde se kromě úhořika tříprstého u všech jedinců nachází a také na vytvořených modelech, na kterých je u všech druhů přítomen. Ani model jedince čolka velkého (53 mm) na obr. 24 není výjimkou. Korakoidy jsou na tomto modelu nepřírozně oddáleny (nejspíš narušení při tvorbě řezů), což ale hezky demonstruje skutečnost, že překryv korakoidů je zcela volně ložená struktura. Zároveň překryv korakoidů zřejmě nějakým způsobem koreluje s lateralitou individuálního jedince.

Sternum je jedním z elementů lopatkového pletence obojživelníků a jeho přítomnost je dalším, zajímavě variabilním znakem. Sternum bylo pozorováno u druhů: velemlok čínský (*Andrias davidianus*) (osobní sdělení školitelky), velemlok japonský (*Andrias japonicus*), axolotl mexický, čolek velký, čolek obecný (Parker, 1868), velemlok americký (*Cryptobranchus alleganiensis*) (Hoffman, 1936), mlok skvrnitý (*Salamandra salamandra*) (Parker, 1868; Francis, 1934), pamlok sibiřský (*Salamandrella keyserlingii*) (Borkhvardt & Baleeva, 2002) a pamlok tmavý (*Hynobius nigrescens*) (Hall, 2006). U žádného z fosilních předků obojživelníků nebylo sternum nalezeno

(Wang & Rose, 2005), což může být odůvodněno špatnou fosilizací chrupavčitých částí. Ale i u recentních druhů máme možnost absenci sternu pozorovat – např. u druhů žábřonoš skvrnitý (*Necturus maculosus*) (Parker, 1868; Hoffman, 1936), macarát jeskynní (*Proteus anguinus*) nebo úhořík dvouprstý (*Amphiuma means*) (Parker, 1868).

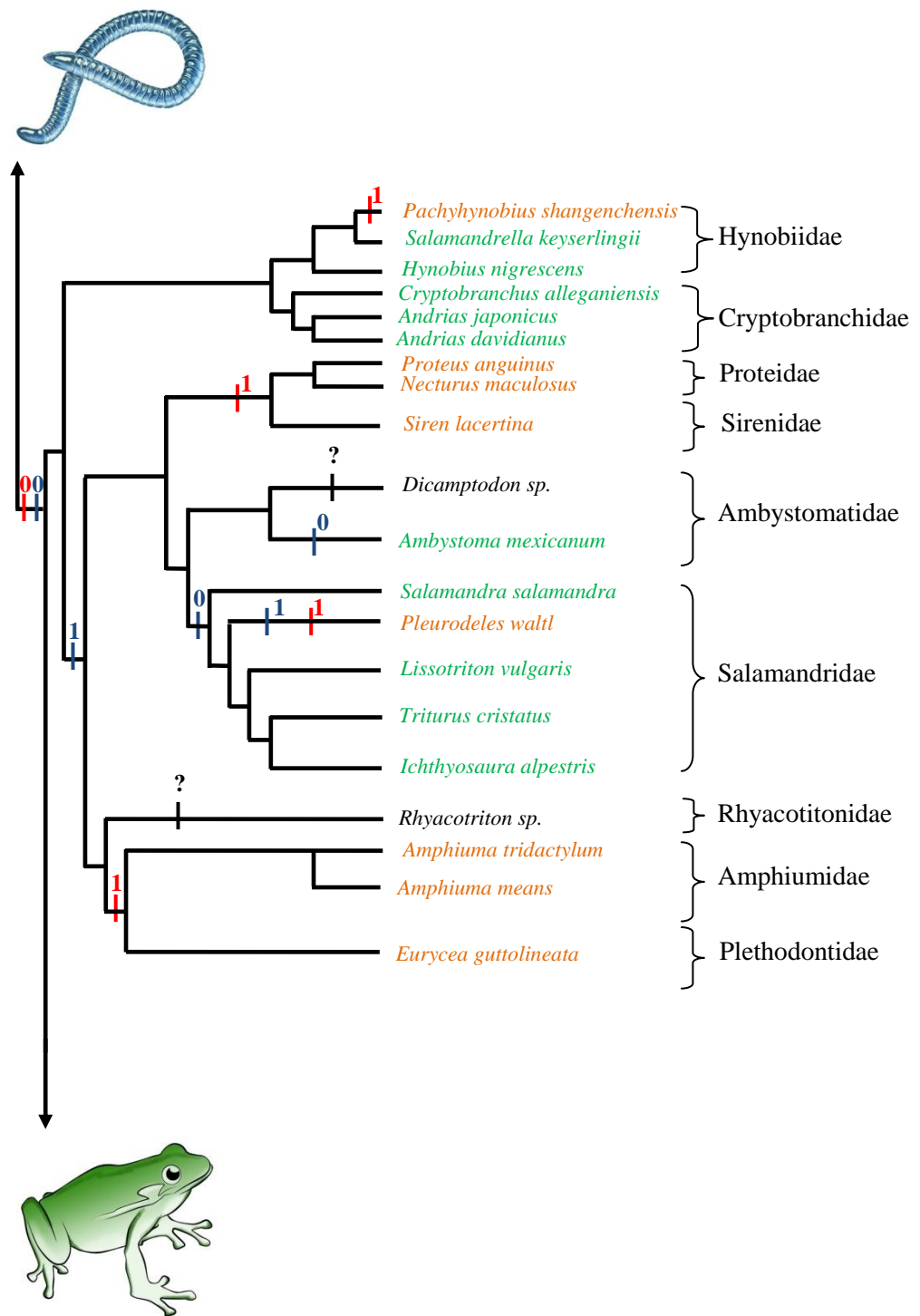
Během ontogeneze larev nebyl vznik sternu na vyvíjejícím se pletenci pozorovatelný u žádného ze stádií všech tří zkoumaných druhů. Pokud je ontogeneze tohoto elementu obdobná jako u skupiny Anura, tak sternum vzniká jako poslední část pletence (Robovská-Havelková, 2010). U čolka obecného bylo sternum přítomno u metamorfovaných jedinců stádií W/R 21 a W/R 22. Stejně tak bylo sternum patrné na vytvořených modelech všech dospělých jedinců. U obarvených dospělců jsem přítomnost sternu zaznamenala u druhů axolotl mexický a čolek velký, což odpovídá očekávanému podle Parkera (1868) a stejně tak jsem potvrdila jeho absenci i u druhu úhořík tříprstý. Absenci sternu jsem nemohla jednoznačně potvrdit u mločika třípásého, neboť během procesu barevní došlo k částečnému rozpadu tohoto jedince. Měla jsem ale k dispozici ještě dalšího jedince, který nebyl barven. Pod binokulárním mikroskopem jsem tělo mločika v oblasti mezi předními končetinami nařízla a odstranila jsem kůži a povrchové svalstvo, abych se mohla podívat na uspořádání pletence. Po odkrytí jsem viděla, že korakoidy se překrývají a zároveň jsem mohla potvrdit domněnku, že sternum se u tohoto druhu skutečně nenachází. Na základě fotodokumentace jedinců ze sbírky Národního muzea, jsem potvrdila přítomnost sternu u velemloka japonského a velemloka amerického a stejně tak i absenci sternu u surýna úhořovitého z čeledi Sirenidae.

Stejně jako u larválních stádií, tak i u adultních jedinců druhu žebrovník Waltlův jsem přítomnost sternu nezaznamenala. Z čehož by vyplývalo, že v rámci čeledi Salamandridae existují rozdílnosti v přítomnosti sternu, neboť u zbylých, dosud studovaných, druhů této čeledi tento element nacházíme. Práce Borkhvardta a Baleevy (2002) je zaměřena na studium ontogeneze pletence u pamloka sibiřského (*Salamandrella keyserlingii*) z čeledi Hynobiidae. A v jejich studii se mluví mimo jiné o přítomnosti sternu u tohoto druhu. Stejně tak je přítomnost sternu zmíněna v publikaci Halla (2006) u pamloka tmavého (*Hynobius nigrescens*), dalšího zástupce této

čeledi. Já jsem ve své práci použila jiného zástupce, a sice pamloka henanského (*Pachyhynobius shangchengensis*), u kterého jsem přítomnost sternu nezaznamenala. Což naznačuje, že i v rámci čeledě Hynobiidae se vyskytuje rozdílnost v přítomnosti této struktury.

Sternum je element, který slouží jednak jako podpora vnitřních orgánů obojživelníků a také se na něj upínají některé svaly pletence (např. *m. pectoralis*). Tyto svaly do značné míry ovlivňují pohyblivost předních končetin, pro které sternum slouží jako určité ukotvení. Nabízí se myšlenka, že přítomnost či absence sternu bude nějak souviset s mírou využívání končetin u jednotlivých druhů. Žábronoš skvrnitý, macarát jeskynní, úhořík dvouprstý a úhořík tříprstý jsou druhy, u nichž se sternum nenachází a jejich společným znakem by mohla být redukce končetin, což by mohlo zjevně nějak korespondovat i s absencí sternu. Ale v této práci se k druhům, u kterých sternum nenalzáme, přidávají i žebrovník Waltlův, surýn úhořovitý a pamlok henanský, což jsou druhy, jejichž končetiny nejsou nijak redukovány. Kdy bychom tedy zkusili najít společný znak všech těchto výše uvedených druhů, tak by nás mohlo napadnout, že se jedná o druhy, které tráví celý svůj život, nebo alespoň jeho většinu, ve vodním prostředí. Což by mohlo být dalším vysvětlením absence sternu, neboť na pohyb končetin a oporu těla se ve vodním prostředí nekladou takové nároky, na rozdíl od prostředí suchozemského. Tuto hypotézu však narušují typicky vodní zástupci jako axolotl mexický nebo velemloci (Cryptobranchidae), u nichž je přítomnost sternu potvrzena. Zajímavým zjištěním je absence sternu u mločika třípásého, což je druh, který nezapadá ani do jedné z předešlých hypotéz – končetiny nemá redukované a nejedná se ani o vodní druh obojživelníka. Pokud by se absence sternu potvrdila i u dalších druhů čeledi Plethodontidae, pak by bylo možné spekulovat o hypotéze, že ztráta sternu by mohla být její evoluční změnou společnou se sesterskou čeledí Amphiumidae.

Souhrn dosavadních poznatků o přítomnosti či naopak absenci sternu jsem znázornila na jednoduchém kladogramu (obr. 33). Zároveň jsem se pokusila na této fylogenezi jednotlivých čeledí ocasatých obojživelníků namapovat, jak pravděpodobně evoluce sternu u jednotlivých skupin probíhala.



Obr. 33: Fylogeneze skupiny Caudata (podle Frosta et al., 2006, doplněna o informace z Pyrona & Weinse, 2011); mapování přítomnosti či absence sternu u studovaných druhů ocasatých obojživelníků, (zeleně – sternum přítomno, oranžově – sternum není přítomno, černě – nemáme údaje; indexem 0 je zobrazena přítomnost sternu, indexem 1 je označena evoluční absence sternu).

Na kladogramu jsou znázorněny dvě hypotézy (červeně a modře), které nabízí možnosti evolučního vzniku sterna. První (červená) vychází z předpokladu, že sternum je v rámci skupiny Caudata znakem původním a k jeho absenci dochází následně pouze u určitých skupin. Druhá hypotéza (modrá) předpokládá, že sternum je struktura původní pouze pro čeledi Hynobiidae a Cryptobranchidae a u druhé větve spojující všechny zbylé čeledi došlo k zániku sterna a přítomnost této struktury byla znovu obnovena pouze u vybraných druhů. U rodů *Dicamptodon* a *Rhyacotriton* nejsou zatím dostupné informace, proto jsou v rámci kladogramu označeny s otazníkem.

Určitě by bylo zajímavé podívat se na lopatkové pletence i dalších druhů a zjistit tak případné odlišnosti v přítomnosti sterna, překryvu korakoidů, tvaru jednotlivých elementů nebo počty osifikačních center.

Z citací prací, které se morfologií lopatkového pletence zabývají, je zřejmé, že doba velkých morfologických studií je již dávno minulou. Ale myslím si, že by tato součást biologického bádání neměla být opomíjena a vedle molekulárních a genetických studií by tento obor měl stále nalézt své opodstatněné a pevné postavení.



## 6. ZÁVĚR

Výsledky a závěry plynoucí z mého pozorování jsou shrnuty do níže uvedených bodů:

- Na žádném z larválních stádií pozorovaných druhů jsem nebyla schopna určit přítomnost tzv. chondrifikačních center, neboť základy pletence, u nejranějších použitých stádií, tvořil vždy kompaktní chrupavčitý útvar, ze kterého se postupně vytvářely jednotlivé elementy.
- Osifikaci pletence během larválního vývoje bylo možno pozorovat u druhu žebrovník Waltlův od stádia W/R 10 a to výlučně na skapule.
- U adultních jedinců byla vždy osifikace přítomna na celé skapule částečně zasahovala i do oblasti korakoidu (vyjma úhořika tříprstého).
- K překryvu mediálních konců korakoidů docházelo u všech metamorfovaných jedinců všech použitých druhů (vyjma úhořika tříprstého).
- Sternum nebylo pozorováno v žádném z larválních stádií všech studovaných druhů.
- U dospělců druhů axolotl mexický, čolek velký, čolek horský a subadultních jedinců čolka obecného byla přítomnost sternu potvrzena.
- U dospělců druhu pamlok henanský nebylo sternum nalezeno, což ho odlišuje od pamloka sibiřského a pamloka tmavého ze stejné čeledě Hynobiidae.
- V žádném z larválních stádií ani u dospělců žebrovníka Waltlova nebyla zjištěna přítomnost sternu, což odlišuje tento druh od ostatních, dosud studovaných, druhů čeledi Salamandridae.
- Přítomnost sternu byla potvrzena u velemloka japonského a velemloka amerického z čeledi Cryptobranchidae.
- Absence sternu byla potvrzena i u surýna úhořovitého z čeledi Sirenidae.
- Z mapování přítomnosti sternu u skupiny Caudata se jeví, že sternum je zřejmě původním znakem – nacházíme ho u primitivních skupin a stejně tak i u skupiny Anura.
- Do budoucna by bylo zajímavé zjistit přítomnost/ absenci sternu u více druhů všech čeledí, zejména pak u nejvíce odvozené čeledi Plethodontidae.

## 7. PODĚKOVÁNÍ

Na závěr bych ráda poděkovala především školitelce mé bakalářské práce RNDr. Pavle Robovské, Ph.D. za její výborné vedení práce, její ochotu, čas, pomoc, péči, užitečné rady a cenné zkušenosti, které mi během celé práce předávala.

Dále bych chtěla poděkovat panu RNDr. Jiřímu Moravcovi, CSc. za umožnění fotodokumentace a studia exponátů Národního muzea v Praze, Terce Holicové za pomoc při fotodokumentaci, Pavlovi Sucháčkovi za zapůjčení fotoaparátu, Bc. Heleně Strakové za sérii obarvených vzorků, Elišce Robovské za zapůjčení maminky a všem dalším lidem, bez kterých by tato práce nemohla vzniknout. V neposlední řadě bych ráda poděkovala mé rodině a přátelům za bezmeznou podporu a náklonnost nejen během tvorby této práce, ale i v průběhu celého studia. A nakonec bych chtěla poděkovat všem čolkům, mlokům, žebrovníkům a úhoříkům za to, že mi propůjčili svá těla, abych mohla uskutečnit svou studii a dali mi tak možnost dozvědět se více o tajnostech, které jejich úžasné tělní struktury ukrývají.

## 8. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

AHLBERG, P. E., CLACK, J. A., BLOM, H. (2005): The axial skeleton of the Devonian tetrapod *Ichthyostega*, *Nature*, 437:137-140.

BEERBOWER, J. R. (1963): Morphology, paleoecology, and phylogeny of the Permo-Pennsylvania amphibian *Diploceraspis*, *Bulletin of The Museum of Comparative Zoology*, 130: 31-108.

BISAZZA, A., CANTALUPO, C., ROBINS, A., ROGERS, L. J., VALLORTIGARA, G. (1997): Pawedness and motor asymmetries in toads, *Laterality*, 2: 49–64.

BOISVERT, C. A. (2005): The pelvic fin and girdle of *Panderichthys* and the origin of tetrapod locomotion, *Nature*, 438:1145-1147.

BOLT, J. R. (1969): Lissamphibian Origins: Possible Protolissamphibian from the Lower Permian of Oklahoma, *Science*, 166: 888-891.

BOLT, J. R., LOMBARD, R. E. (1985): Evolution of the tympanic ear and the origin of frogs, *Biological Journal of the Linnean Society*, 24: 83–99.

BORKHVARDT, V. G., BALEEVA, N. V. (2002): Development of the Pectoral Girdle in Larvae of Siberian Salamander *Salamandrella Keyserlingii* - (Amphibia: Hynobiidae), *Russian Journal of Herpetology*, 9(3): 177-184.

BORKHVARDT, V. G., IVASHINTSOVA, E. B. (1994): On the position of the epicoracoids in amphibian arciferal pectoral girdles, *Russian Journal of Herpetology*, 1: 114-116.

BORKHVARDT, V. G., IVASHINTSOVA, E. B. (1995): Arciferal pectoral girdle of amphibians — an instrument for recognizing right- and left-handedness?, *Russian Journal of Herpetology*, 2(1): 34 – 35.

BORKHVARDT, V. G., LITVINCHUK, S. N. (2000): Epicoracoid overlap indices in newts of the genus *Triturus* (Amphibia: Salamandridae), *Russian Journal of Herpetology*, 7: 224–225.

BORKHVARDT, V. G., MALASHICHEV, Y. B. (1997): Position of the epicoracoids in arciferal pectoral girdles of the fire-bellies *Bombina* (Amphibia: Discoglossidae), *Russian Journal of Herpetology*, 4:28–30.

BURKE, A. C. (1991): Proximal elements in the vertebrate limb: evolutionary and developmental origin of the pectoral girdle. In *Developmental Patterning of the Vertebrate Limb* (ed. Hinchliffe, J. R., Hurle, J. M., Summerbell, D.), NATO ASI, Series A, New York: Plenum, 205: 385-394 pp.

CANNATELLA, D. C., HILLIS, D. M. (1993): Amphibian relationships: phylogenetic analysis of morphology and molecules, *Herpetological Monographs*, 7: 1–7.

CARROLL, R. L., GASKILL, P. (1978): The order Microsauria, *The American Philosophical Society*, Philadelphia. 211 pp.

CARROLL, R. L., HOLMES, R. (1980): The skull and jaw musculature as guides to the ancestry of salamanders, *Zoological Journal of the Linnean Society*, 68,1–40.

CARROLL, R. L. (1996): Revealing the patterns of macroevolution, *Nature*, 381: 19-20.

CARROLL, R. L. (1999): The ancestry and interrelationships of modern amphibians, *Canadian Association of Herpetologists*, 13: 2–7.

CARROLL, R. L., KUNTZ, A., ALBRIGHT, K. (1999): Vertebral development and amphibian evolution, *Evolution and Development*, 1: 136 - 148.

CARROLL, R. L. (2007): The Palaeozoic ancestry of salamanders, frogs and caecilians. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 150: 1–140.

CLACK, J. A. (2006): The emergence of early tetrapods, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 232:167-189.

CLARK, J., CARROLL, R. L. (1973): Romeriid reptiles from the Lower Permian. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 144(5): 353-407.

- COATES, M. I. (1994): The origin of vertebrate limbs, *Development 1994 Supplement*, 169-180.
- COATES, M. I. (1996): The Devonian Tetrapod *Acanthostega gunnari* Jarvik: Postcranial Anatomy, Basal Tetrapod Interrelationships and Patterns of Skeletal Evolution, *Transactions of the Royal Society of Edinburgh: Earth Sciences*, 87: 363-421.
- DAESCHLER, E. B., SHUBIN N. H., JENKINS, F. A. Jr. (2006): A Devonian tetrapod-like fish and the evolution of the tetrapod body plan, *Nature*, 440:757-763.
- DETWILER, S. R. (1918): Experiments on the development of the shoulder girdle and the anterior limb of *Amblystoma punctatum*, *Journal of Experimental Zoology*, 25: 499-528.
- DUELLMAN, W. E., TRUEB, L. (1994): *Biology of Amphibians*, The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 696pp.
- ENGLER, E. (1929): Untersuchungen zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte des Brustschulterapparates der Urodelen, *Acta Zoologica*, Stockholm, 10(1 – 2), 143 –229.
- EMERSON, S. B. (1983): Functional analysis of frog pectoral girdles, the epicoracoid cartilages, *Journal of Zoology*, 201: 293-308.
- EVANS, S. E., LALLY, C., CHURE, D. C., ELDER, A., MAISANO, J. A. (2005): A Late Jurassic Salamander (Amphibia: Caudata) from the Morrison Formation of North America, *Zoological Journal of the Linnean Society*, 143: 599-616.
- FELLER, A. E., HEDGES, S. B. (1998): Molecular Evidence for the Early History of Living Amphibians, *Molecular Phylogenetic Evolution*, 9: 509-516.
- FRANCIS, E. T. B. (1934): *The Anatomy of the Salamander*, Clarendon Press, Oxford. 377 pp.

- FROST, D., GRANT, T., FAIVOVICH, J., BAIN, R. H., HAAS, A., HADDAD, C. F. B.; DE SÁ, R. O., CHANNING, A., et al. (2006): The Amphibian Tree of Life, *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 297: 1–371.
- GADOW, H. (1909): The Cambridge natural history, Vol. 8. -Amphibia and reptiles, London: Macmillan and Co, 668 pp.
- GAO, K. Q., SHUBIN, N. H. (2001): Late Jurassic salamanders from northern China, *Nature*, 410: 574-576.
- GAO, K. Q., SHUBIN, N. H. (2003): Earliest known crown-group salamanders, *Nature* 422: 424-428.
- GARDNER, J. (2000): Revised taxonomy of albanerpetontid amphibians, *Acta Palaeontologica Polonica*, 45, 55–70.
- GREER, A. E., MILLS, A. C. (1997): Directional asymmetry in the amphibian pectoral girdle: Additional data and a brief overview, *Journal of Herpetology*, 31: 594–596.
- HALL, B. K. (2001): Development of the clavicles in birds and mammals, *Journal of Experimental Zoology*, 289(3): 153-161.
- HALL, B. K. (2006): Fins into Limbs: Evolution, Development and Transformation, *University of Chicago Press*, 344 pp.
- HAVELKOVÁ, P. (2006): Ontogenetic development of the pectoral girdle in anura, Department of Zoology, Faculty of biological sciences, University of south bohemia, České Budějovice, Czech Republic, 79 pp. (nepublikovaná dizertační práce)
- HAVELKOVÁ P., ROČEK, Z. (2006): Transformation of the pectoral girdle in the evolutionary origin of frogs: Insights from the primitive anuran *Discoglossus*, *Journal of Anatomy*, 209: 1-11.
- HOFFMAN, A. C. (1936): Die Anatomie van die Skouergordels en die ontwikkeling van die Sternum by die Urodele - *Cryptobranchus*

*alleghaniensis* en *Necturus maculatus*, Soölogiese Navorsing van die Nasionale Museum Bloemfontein, 1(5): 33-50.

CHEN, H. K. (1935): Development of the pectoral limb of *Necturus maculosus*, *Illinois Biological Monographs*, 14(1): 1 – 71.

CHEVALLIER, A. (1977): Origine des ceintures scapulaires et pelviennes chez l'embryon d'oiseau, *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 42, 275–292.

IVACHNENKO, M. F. (1978): Urodelans from the Triassic and Jurassic of Soviet Central Asia, *Paleontological Journal*, 12: 362-368.

JANVIER, P. (1996): The dawn of the vertebrates: Characters versus common ascent in the rise of current vertebrate phylogenies, *Palaeontology*, 39:259-287.

JARVIK, E. (1952): On the fish-like tail in the ichthyostegid stegocephalians, *Meddelelser om Grønland*, 114: 1-90.

JARVIK, E. (1955): The oldest tetrapods and their forerunners, *Scientific Monthly*, 80: 141-154.

JARVIK, E. (1996): The Devonian tetrapod Ichthyostega, *Fossils and Strata*, 40: 1-213.

JENKINS, F. A., WALSH, D. M. (1993): An Early Jurassic caecilian with limbs, *Nature*, 365: 246-250.

JESSOP, N. M. (1994): *Zoology: The Animal Kingdom*, McGraw – Hill Book Company, New York. 484 pp.

KAPLAN, M. (2004): Evaluation and redefinition of the states of anuran pectoral girdle architecture, *Herpetologica* 60(1): 84-97.

KARDONG, K. V. (1998): *Vertebrates: Comparative Anatomy, Function, Evolution*. McGraw – Hill Book Company, New York. 747 pp.

LARSON, A. (1991): A molecular perspective on the evolutionary relationship of the salamander families, *Evolutionary Biology*, 25: 211-277.

LAURIN, M., REISZ, R. R. (1997): A new perspective on tetrapod phylogeny. In Sumida, S., Martin, K.: Amniote Origins, *Academic Press*, San Diego , 9–59 pp.

LEBEDEV, O. A. (1984): The first find of a Devonian tetrapod in USSR, *Doklady Akademii Nauk SSSR*, 278: 1407-1413.

LEBEDEV, O. A., COATES, M. I. (1995): The postcranial skeleton of the Devonian tetrapod *Tulerpeton curtum* (Lebedev), *Zoological Journal of the Linnean Society* 114: 307-348.

MATSUOKA, T., AHLBERG P. E., KESSARIS, N., IANNARELLI, P., DENNEHY, U., RICHARDSON, W. D., McMAHON, A. P., KOENTGES, G. (2005): Neural crest origins of the neck and shoulder, *Nature*, 436(7049): 347-355.

MAKINOUCI, R. (1932): Beiträge zur Kenntnis der Morphogenese der Extremitäten und des Extremitätengürtels, *Anatomischer Anzeiger*, 74 (11-12): 177 – 195.

MALASHICHEV, Y. B., NIKITINA, N. G. (2002): Preferential limb use in relation to epicoracoid overlap in the shoulder girdle of toads, *Laterality*, 7: 1-18.

MALASHICHEV, Y. B. (2002): Asymmetries in Amphibians: A Review of Morphology and Behaviour, *Laterality*, 7: 197-217.

McGONNELL, I. M. (2001): The evolution of the pectoral girdle, *Journal of anatomy*, 199:189-194.

McGOWAN, G. J., EVANS, S. E. (1995): Albanerpetontid amphibians from the early Cretaceous of Spain, *Nature* 373, 143–145.

MILNER, A. R. (1988): The relationships and origin of living amphibians. In: Benton, M. J. - The Phylogeny and Classification of the Tetrapods, Vol. 1., *Clarendon Press*, Oxford, 59-102 pp.



- MILNER, A. R. (1993): Chapter 38, Amphibian-grade Tetrapoda. In *The Fossil Record 2.*, Benton, M. J., 663-677, Palaeontological Association / Chapman & Hall, London, 845 pp.
- MILNER, A. R., SEQUEIRA, S. E. K.,(1994): The temnospondyl amphibians from the Visean of East Kirkton, West Lothian, Scotland, *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 84: 331-361.
- NAUCK, E. T. (1938): Extremitätenskelett der Tetrapoden. In: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere, Vol. 5 ( Bolk, L., Göppert, L., Kallius, E., Lubosch, W.), Urban & Schwarzenberg, Berlin, 71-248 pp.
- PARKER, W. K. (1868) A monograph on the structure and development of the shoulder-girdle and sternum in the Vertebrata, *Royal Society*, London, 237 pp.
- PARSONS, T. S., WILLIAMS, E. E. (1962): The teeth of Amphibia and their relationship to amphibian phylogeny, *Journal of Morphology*, 110:375–389.
- PARSONS, T. S., WILLIAMS, E. E. (1963): The relationships of the modern Amphibia: a reexamination, *Quaternary Review of Biology*, 38: 26–53.
- PETRANKA, J. W. (1998): Salamanders of the United States and Canada, Smithsonian Institution Press, Washington and London, 587 pp.
- PIVETEAU, J. (1936): Une forme ancestrale des Amphibiens Anoures dans le Trias inférieur de Madagascar, *C. R. Acad. Sci., Paris*, 202: 1607-1608.
- PYRON, R. A., WIENS, J. J. (2011): A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians, *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 61:543-583.
- RAGE, J. C., ROČEK, Z. (1989): Redescription of *Triadobatrachus massinoti* (Piveteau, 1936) an anuran amphibian from the Early Triassic, *Paleontographica Abt.A*, 206:1-16.

- ROBINS, A., LIPPOLIS, G., BISAZZA, A., VALLORTIGARA, G., ROGERS, L. J. (1998): Lateralized agonistic responses and hind-limb use in toads, *Animal behaviour*, 56: 875–881.
- ROBOVSKÁ-HAVELKOVÁ, P. (2010): How can ontogeny help us to understand the morphology of anuran pectoral girdle? *Zoomorphology*, 129: 121-132.
- ROČEK, Z. (2002): Historie obratlovců - evoluce, fylogeneze, systém, Academia Praha, 512 pp.
- ROMER, A.S. (1970): *The Vertebrate Body*, W. B. Saunders, Philadelphia. 601 pp.
- RUTA, M., COATES, M. I., QUICKE, D. L. J. (2003): Early tetrapod relationships revisited, *Biological Reviews*, 78(2): 251-345.
- SÄVE-SÖDERBERGH, G. (1932): Preliminary note on Devonian stegocephalians from East Greenland, *Meddelelser om Grønland*, 98(3): 1-211.
- SCHULTZE, H. P., ARSENAULT, M. (1985): The panderichthyid fish *Elpistostege*: a close relative of tetrapods? *Palaeontology*, 28: 293-309.
- SIBLEY, C. G., AHLQUIST, J. E. (1990): *Phylogeny and classification of birds: a study in molecular evolution*, Yale University Press, New Haven, 976 pp.
- STARCK, D. (1979): *Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere auf evolutionsbiologischer Grundlage. Band 2: Das Skeletalsystem Allgemeines, Skeletsubstanzen, Skelet der Wirbeltiere einschlieslich Lokomotionstypen*. Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 776 pp.
- STEYER, S. (2011): *Země před dinosaury*, Ottovo nakladatelství, 200 pp.
- TAYLOR, W. R., VAN DYKE, G. C. (1985): Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study, *Cybium*, 9(2): 107-119.

THOMSON, J. A. (1916): *Outlines of Zoology*, New York: D. Appleton & Company, 638 pp.

TORREY, T. W. (1978): *Morphogenesis of the Vertebrates*. New York: Wiley, 528 pp.

TRUEB, L., CLOUTIER, R. (1991): A phylogenetic investigation of the inter- and intrarelationships of the Lissamphibia (Amphibia, Temnospondyli). In: Schultze, H. P., Trueb L. - Origin of the Higher Groups of Tetrapods — Controversy and Consensus, *Cornell University Press*, Ithaca, 223–313 pp.

WANG, Y., EVANS, S. E. (2006): A new short-bodied salamander from the Upper Jurassic/Lower Cretaceous of China, *Acta Palaeontologica Polonica*, 51(1): 127-130.

WANG, Y., ROSE, C. S. (2005): *Jeholotriton paradoxus* (Amphibia: Caudata) from the Lower Cretaceous of southeastern Inner Mongolia, China, *Journal of Vertebrate Paleontology*, 25(3): 523–532.

WARREN, A., SNELL, N. (1991): The postcranial skeleton of Mesozoic temnospondyl amphibians: a review. *Alcheringa* 15: 43-64.

WASSERSUG, R. J. (1976): A procedure for differential staining of cartilage and bone in whole formalin – fixed vertebrates, *Stain Technology*, 51 (2): 131–134.

WATSON, S., RUSSELL, A. P. (2000): A posthatching developmental staging table for the longtoed salamander, *Ambystoma macrodactylum krausei*, *Amphibia-Reptilia*, 21: 143-154.

WESTOLL, T. S. (1938): Ancestry of the tetrapods, *Nature* 141:127-128.

YOUNG, J. Z. (1981): *The Life of Vertebrates*, 3rd ed. xv, Oxford: Clarendon Press, 645 pp.

<sup>www1</sup> Internetový zdroj: <http://www.earthhistory.org.uk/recolonisation/first-amphibians>, 15. 4. 2012.