Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká Fakulta



Mikrostruktura tribosfénického moláru

srovnávací analýza

František Špoutil

doktorandská disertační práce

2010

Školitel: Prof. RNDr. Ivan Horáček CSc.

Doktorandská disertační práce

ŠPOULIL F., 2009: Mikrostruktura tribosfénického moláru – srovnávací analýza. [Microstructure of a tribosphenic molar – comparative analysis; Ph.D. Thesis in Czech] – 174 pp. Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace / Annotation:

The proposed thesis concerns in the study of tribosphenic molar, the key apomorphy of mammalian clade, mainly in structure and development of its enamel coat. As the main model species served us European vespertilionid bat *Myotis myotis*. The aims of this thesis are: (1) to describe structure and microstructure of enamel in tribosphenic molars in detail; (2) to compare it with unicuspid teeth of the same dentition; (3) to describe mineralization process and enamel maturation in insectivorous dentition; (4) to describe late odontogenesis in molars of insectivorous dentition and its interlacing with enamel maturation, and how they come to occlusion.

Grantová podpora

Tato práce byla podporována z grantového projektu Evropské unie COST B23: Oral and facial development.

Prohlášení

Prohlašuji, že zde uvedenou práci jsem vypracoval samostatně, jen s použitím citované literatury a všichni spoluautoři jsou uvedeni jako spoluautoři dílčích kapitol.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111 / 1998 Sb. v plném znění souhlasím se zveřejněním své disertační práce a to 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.

František Špoutil

V Českých Budějovicích 21.5.2010 ..... František Špoutil .....

Poděkování

Tato disertační práce by jistě nevznikla bez velkého množství lidí. Pominu-li všechny mé blízké, patří můj dík mému školiteli, Ivanu Horáčkovi, za vedení a směřování mé práce a Vojtěchu Vlčkovi, který rozšířil mé poznání skloviny o krystalografický pohled. Neměl bych opomenout ani Janu Nebesářovou a její tým z Laboratoře elektronové mikroskopie ParÚ AV ČR za jejich pomoc při přípravě vzorků pro SEM. Janu Procházkovi a Simoně Polákové děkuji za připomínky k textu. A nezbývá než ještě poděkovat grantovému programu COST B23: Oral and facial development za finanční podporu.

Seznam přiložených vědeckých publikací a podíl autora

Příloha 1: Špoutil F, Vlček V, Horáček I. Enamel microarchitecture of a tribosphenic molar. *Journal of Morphology*. [IF = 1,702 – v tisku]

– preparace a detailní dokumentace valné většiny vzorků a skloviny za využití SEM, získání metrických údajů z takto pořízené dokumentace a jejich statistické zpracování, podíl na textu

Příloha 2: Špoutil F, Vlček V, Horáček I. Molar eruption dynamics and enamel maturation in vespertilionid bats. [rukopis]

– preparace a dokumentace jednotlivých vzorků a skloviny hlavního modelového druhu *Myotis myotis* za využití SEM, dokumentace vývojové řady *Myotis myotis*, získání metrických údajů z takto pořízené dokumentace a jejich statistické zpracování, podíl na textu

Příloha 3: Horáček I, Špoutil F. Why triboshenic? On variation and constraints in developmental dynamics of chiropteran molars. In: Gunnell G, Simmons N, eds. *Evolution of bats*. Edinburgh: Cambridge University Press [knižní publikace – v tisku]

– preparace a dokumentace jednotlivých vzorků a skloviny hlavního modelového druhu *Myotis myotis* za využití SEM, dokumentace vývojové řady *Myotis myotis*, získání metrických údajů z takto pořízené dokumentace a jejich statistické zpracování, korekce textu

Prof. RNDr. Ivan Horáček CSc.

.....

Obsah

Skladba disertační práce 10

1. Úvod 11

1.1 Tribosfénický molár 13

1.1.1 Evoluce a funkce tribosfénické dentice 13

1.1.2 Odontogeneze insektivorní dentice 14

1.2 Sklovina savčího zubu 17

1.2.1 Produkce a maturace sklovinového pláště 18

1.2.2 Evoluce, stavba a funkce prismatické skloviny 18

1.3 Specifika biologie netopýrů ve vztahu k jejich dentici 20

2. Metodické principy 24

2.1 Studium mikrostruktury skloviny 24

2.1.1 Příprava vzorků 24

2.1.2 Metrické charakteristiky 25

2.2 Studium pozdní odontogeneze 25

2.3 Statistický aparát 26

3. Hlavní výstupy a jejich přehledné shrnutí 27

3.1 Distribuce sklovinového pláště netopýří dentice 27

3.1.1 Proměnlivost mocnosti skloviny v rámci zubu 28

3.1.2 Trendy v mocnosti skloviny u distální dentice 28

3.2 Mikrostruktura netopýří skloviny 28

3.2.1 Změna úhlových charakteristik v rámci zubu 29

3.2.2 Proměnlivost úhlových charakteristik v distální dentici 29

3.3 Poměrný objem prismatické skloviny a šířka prismat 29

3.4.1 Poměrové objemy typů skloviny 29

3.4.2 Šířka prismat 30

3.4 Krystality HAP 31

3.4.1 Morfologie a distribuce HAP krystalitů 31

3.4.2 Produkce a tvorba HAP krystalitů 31

3.5 Mineralizace sklovinového pláště u netopýra 32

3.6 Postnatální odontogeneze distální netopýří dentice 33

3.6.1 Zubní erupce 33

3.6.2 Vztah odontogeneze k postnatálnímu vývoji lebky 34

4. Závěry 37

5. Seznam citované literatury 38

Přílohy 49

Příloha I: Enamel microarchitecture of a tribosphenic molar 50

Příloha II: Molar eruption dynamics and enamel maturation in vespertilionid bats 88

Příloha III: Why triboshenic? On variation and constraints in developmental dynamics of chiropteran molars 120

Příloha IV: Seznam zkratek a vybraných termínů 165

Příloha V: C.V. 171

Seznam grafických tabulí a statistických tabulek

Obr.1: Morfologie korunky stoliček u netopýra velkého (*Myotis myotis*) 12

Obr. 2: Schéma vývoje multikuspidního savčího zubu 15

PŘÍLOHA I – Tab. 1: Základní statistika pro objem krystalitů vzhledem ke kategoriím typů skloviny a jejich podtypům dle typu zubu a strany hrbolku ..... Př.I: 26

PŘÍLOHA I – Tab. 2: Výsledky faktoriální ANOVy pro jednotlivé proměnné skloviny ..... Př.I: 27

PŘÍLOHA I – Fig. 1: Typy skloviny a variace v objemu krystalitů prismatické skloviny (PE), interprismatické matrix (IPM) a aprismatické skloviny (APE)..... ..... Př.I: 28

PŘÍLOHA I – Fig. 2: Definice úhlových proměnných ..... Př.I: 29

PŘÍLOHA I – Fig. 3: Williamsonův-Hallův graf zkoumaných vzorků ..... Př.I: 30

PŘÍLOHA I – Fig. 4: Proměnlivost v tloušťce sklovinového pláště na horizontálních řezech ..... Př.I: 31

PŘÍLOHA I – Fig. 5: Kvantitativní proměnné sklovinové mikrostruktury v horním špičáku a horní a dolní P4 (centrální řez) ..... Př.I: 32

PŘÍLOHA I – Fig. 6: Kvantitativní proměnné sklovinové mikrostruktury u M^1. Př.I: 33

PŘÍLOHA I – Fig. 7: Kvantitativní proměnné sklovinové mikrostruktury u M_1. Př.I: 34

PŘÍLOHA I – Fig. 8: Vertikální řez zubem M^1 u *Myotis myotis* ..... Př.I: 35

PŘÍLOHA I – Fig. 9: Proměnlivost relativního množství typů skloviny v silné a slabé sklovině hrbolků od EDJ k OES ..... Př.I: 36

PŘÍLOHA I – Fig. 10: 1. a 2. ordinální osa PCA pro hlavní kvantitativní proměnné v M^1 ..... Př.I: 37

PŘÍLOHA II – Tab. 1: Definice věkových kategorií přes načasování erupce stoliček .... Př.II: 20

PŘÍLOHA II – Fig. 1: Schéma metrických a úhlových znaků na lebce, horní zubní řadě, spodní zubní řadě a na horních a spodních stoličkách ..... Př.II: 21

PŘÍLOHA II – Fig. 2: Boxplot vybraných rozměrů vzhledem k věkovým kategoriím ... Př.II: 22

PŘÍLOHA II – Fig. 3: 1. a 2. ordinální osa PCA metrických proměnných lebky a dentice, spodních molárů, horních molárů a horní a dolní M1 ... Př.II: 23

PŘÍLOHA II – Fig. 4: Distribuce průměrných hodnot pro relativní C.V. ... Př.II: 24

PŘÍLOHA II – Fig. 5: Tři typy povrchu skloviny ... Př.II: 25

PŘÍLOHA II – Fig. 6: Schéma prostorové distribuce tří typů povrchu skloviny na M1 a M2, plus vzorek věkové kategorie 1 ... Př.II: 26

PŘÍLOHA II – Fig. 7: Mikrostruktura prematurované skloviny ... Př.II: 27

PŘÍLOHA II – Fig. 8: Ameloblasty druhu *Myotis nattereri* ... Př.II: 28

PŘÍLOHA II – App. 1: Spearmanova korelační matice pro lebeční a dentální rozměry . ... Př.II: 29

PŘÍLOHA II – App. 2: Spearmanova korelační matice pro metrické a úhlové rozměry horních molárů a I^1-P^4 ... Př.II: 30

PŘÍLOHA II – App. 3: Spearmanova korelační matice pro metrické a úhlové rozměry spodních molárů a I_1-P_4 ... Př.II: 31

PŘÍLOHA III – Fig. 1: Příčný řez adultní M^1 (*Myotis myotis*) ... Př.III: 25

PŘÍLOHA III – Fig. 2: Příčný řez vrstvou skloviny (*Myotis myotis*: úbočí fossy adultní M^1) ... Př.III: 25

PŘÍLOHA III – Fig. 3: Tloušťka skloviny (A), deklinace (B) a inklinace (C) sklovinových prismat na vertikálním řezu adultní M^1 u *Myotis myotis* ... Př.III: 26

PŘÍLOHA III – Fig. 4: Histologický řez formující se sklovinou v pozdním stádiu zvonu (A1) a SEM pohled na odpovídající situaci v primordiu M^1 (*Myotis nattereri*, embryo 14 mm) krájeno mikrodisekcí (A2). Povrch vrcholu zubu (P^4) těsně před erupcí (B) ... Př.III: 26

PŘÍLOHA III – Fig. 5: Mesiální pohled na povrch skloviny M^1 (*Myotis myotis*) na počátku perierupce (postnatální stádium 3, přibl. 14 dní) ... Př.III: 27

PŘÍLOHA III – Fig. 6: Horní čelist adultního *Myotis myotis* (A) v porovnání s (B) horní čelistí juvenila (postnatální stádium 2, přibl. 12 dní, měřítko stejné jako

v A). (C) M2 v přibližně tomtéž stádiu vykazuje zřetelné rozdíly ve srovnání s adultním zubem. (D) Schematický náčrt vývoje horního moláru ..... Př.III: 27

PŘÍLOHA III – Fig. 7: Biometrie postnatálního vývoje M^1 a M^2 u *Myotis myotis* (n = 89, 1-65 dní) ..... Př.III: 28

PŘÍLOHA III – Fig. 8: Biometrie postnatálního vývoje M_1 a M_2 u *Myotis myotis* (n = 89, 1-65 dní) ..... Př.III: 28

PŘÍLOHA III – Fig. 9: Zcela odvápněné čelisti *Myotis myotis* (stádium 1 postnatálního vývoje, tj. začátek erupce M_1) ..... Př.III: 29

PŘÍLOHA III – Fig. 10: (A) Heterotopická histodiferenciace podél předpokládané hrany zubního hřebene je pravděpodobně společná všem tribosfénickým zubům (zde M^1 *Monodelphis domestica*, postnatální den 4). (B) Topologie hlavních hrbolků v embryonálních primordiích M^1 a M^2 (*Myotis nattereri*, délka embrya 18 mm) ..... Př.III: 29

PŘÍLOHA III – Fig. 11: UPGMA klastrování 22 nemetrických dentálních znaků 65 druhů vespertilionidních netopýrů založený na 1-r vzdálenosti (dynamické kódování stavů znaků do kategorií 1 až 5) ..... Př.III: 30

PŘÍLOHA III – Fig. 12: Nejstarší horní stoličky netopýrů ..... Př.III: 31

PŘÍLOHA III – Fig. 13: Inovace v horních stoličkách spojené se specializací na velkou a malou kořist ..... Př.III: 32

PŘÍLOHA III – Fig. 14: Původní vs. odvozený stav horní dentice u některých vybraných případů ..... Př.III: 32

PŘÍLOHA III – Fig. 15: Původní a odvozené stavy u netopýřích spodních stoliček (M_1) ..... Př.III: 33

PŘÍLOHA III – Fig. 16: Linguální pohled na spodní molariformní dentici u vybraných taxonů ..... Př.III: 34

Skladba disertační práce

Úvod

Obsahuje úvod do problematiky studia tribosfénického moláru a jeho sklovinového pláště. Seznamuje čtenáře se současnými poznatky o evolučním i ontogenetické vývoji tribosfénické dentice a o stavbě a vývoji (evolučním i ontogenetickém) sklovinového pláště u savců. Na závěr zvýrazňuje specifika netopýří dentice, jak se odráží v jejich biologii a předkládá otázky, které jsou v této práci řešeny.

Metodické principy

Stručně seznamuje čtenáře s metodologickým aparátem vyvinutým pro řešení námi kladených otázek.

Hlavní výstupy a jejich přehledné shrnutí

Shrnuje a dává do souvislostí výsledky z publikací uveřejněných v Přílohách o stavbě a maturaci sklovinového pláště netopýrů a perierupční dynamice netopýří dentice.

Závěry

Bodové shrnuté poznatků rozvedených o kapitolu dříve.

Seznam citované literatury

Seznam literatury citované v předcházejících částech.

Přílohy

Vědecké publikace zahrnuté do této disertační práce včetně předběžných výsledků, v angličtině.

Seznam zkratek a vybraných termínů

Zkratky a termíny spojené s popisem morfologie a vývoje dentice a se zde užitými statistickými metodami.

C.V.

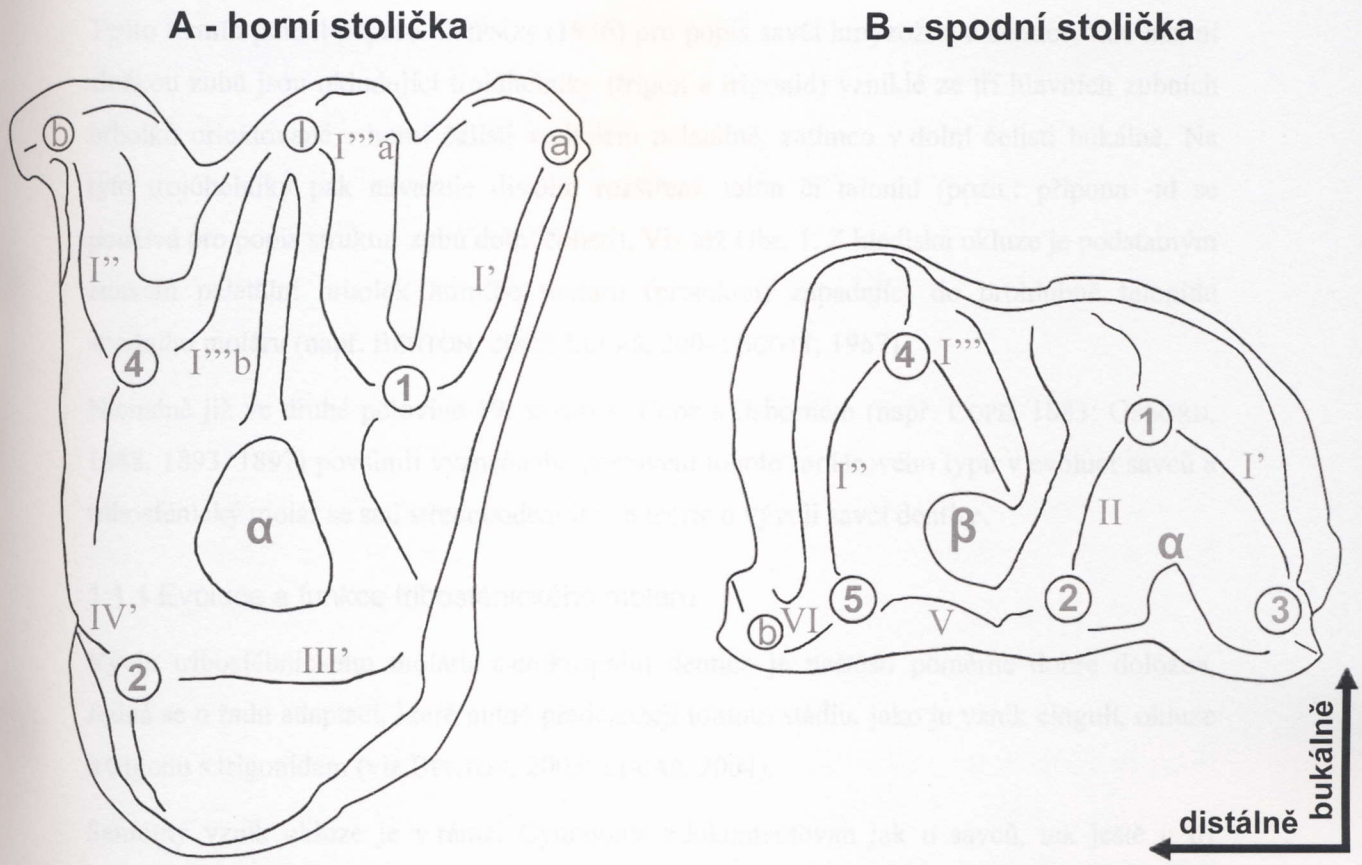
Strukturovaný životopis autora.

1. Úvod

Vývin, vývoj a funkce jsou tři náhledy na každou strukturu, z nichž každý může poskytnout o ní vlastní, jedinečné informace. Morfologií reprezentovaný funkční náhled nám poskytuje informace o tvaru a pomáhá nám tak pochopit funkci. Sledováním ontogeneze poznáváme, jak se taková struktura utváří. A konečně náhled na vývin struktury za pomoci poznatků paleontologie a fylogenetiky přidává ke konečnému obrazu rozměr času a výčet minulých možností a mezistupňů, kterými námi sledovaná struktura prošla.

Zoologie a její obory, jako všechno lidské snažení, prochází obdobími různých módních trendů, které se odrážejí na formulaci myšlenek té které doby. V našem případě vedou k akcentaci jednotlivých náhledů. Zpočátku byla hlavním vysvětlujícím klíčem paleontologie, která poskytovala jasné a snadno demonstrovatelné příběhy o strukturách vyvíjejících se z jednoduchých ve složité, jen s tu a tam připuštěnou degradací, a to i v případě, že jiné obory, např. právě vývojová biologie, závěry paleontologů zpochybňovaly (viz např. OSBORN 1897). Náhled vývojové biologie se ale přece jen začal v následujících dekádách čím dál tím více prosazovat (HERSHKOVITZ, 1971). Do popředí se dostává zejména s rozvojem molekulárních metod a genetiky. Ovšem další výzkum ukázal, že až na pár výjimek (např. Hox geny) jsou interakce jednotlivých faktorů přespříliš složité, než abychom byli schopni pochopit jejich přesnou funkci ve vztahu ke zkoumané struktuře, natož aby poskytly jednoznačné a jednoduché vysvětlení (viz např. JERNAVALL & THESLEFF, 2000a; SHARPE, 2000; ZHAO *et al.*, 2000). A proto v posledních letech dochází ke snaze spojit oba dříve si konkurující náhledy do nového evolučně-ontogenetického oboru, který primárně zkoumá evoluci ontogenetického vývoje, a pro který se ujala (zcela v souladu s naší dobou) zkratka evo-devo.

Ustanovení evo-devo pak zcela zákonitě znovu probudilo zájem o morfologii popisující struktury, jejichž vznik (jak evoluční, tak ontogenetický) se počal zkoumat a přezkoumávat. A jelikož biologie ráda pracuje s modely, i zde se vyprofilovalo několik pilířových modelů a jedním z nich je právě zub – opakující se struktura vznikající z interakce ektodermálního mezenchymu s epitelem, která v sobě zanechává sledovatelné stopy vlastního vývoje, je zajímavá i z medicínského hlediska, její ontogeneze je poměrně dobře popsána, má snadno definovatelnou funkci a navíc se dobře zachovává v paleontologickém záznamu (BHASKAR, 1976; DEAN, 2000; LUCAS, 2004; RENSBERGER, 2000). I proto se zub, konkrétně tribosfénický molár, stal centrem mého zájmu v této disertační práci.



Obr. 1: Morfologie korunky stoliček u netopýra velkého (*Myotis myotis*). (Dle HERSHKOVITZ, 1971.) Řecká abeceda = báze zubu; arabské číslice = hlavní hrbolky; latinka = vedlejší hrbolky; římské číslice = hlavní hřebeny a lišty. (A) Horní stolička: α = báze trigonu; 1 = parakon / eokon, 2 = protokon; 4 = metakon; a = parastyl / mesiostyl, b = metastyl / distostyl, l = mesostyl; I = eokrista, I' = parakrista, I'' = metakrista, I''' = centrokrista, I'''a = postparakrista, I'''b = premetakrista, III' = protokrista, IV' = plagiokrista. (B) Spodní stolička: α = báze trigonidu, β = báze talonidu; 1 = protokonid / eokonid, 2 = metakonid, 3 = parakonid, 4 = hypokonid, 5 = entokonid; b = hypokonulid / distostylid; I = eokristid, I' = parakristid, I'' = hypokristid, I''' = centrokristid, II = protokristid, V = entokristid, VI = distokristid.

1.1 Tribosfénický molár

Tento termín použil poprvé SIMPSON (1936) pro popis savčí hmyzožravé dentice, kde hlavní složkou zubů jsou okludující trojúhelníky (trigon a trigonid) vzniklé ze tří hlavních zubních hrbolků orientované v horní čelisti vrcholem palatálně, zatímco v dolní čelisti bukálně. Na tyto trojúhelníky pak navazuje distální rozšíření, talon či talonid (pozn.: přípona -id se používá pro popis struktur zubů dolní čelisti). Viz též Obr. 1. Z hlediska okluze je podstatným znakem palatální hrbolek horního moláru (protokon) zapadající do prohlubně talonidu spodního moláru (např. BENTON, 2005; LUCAS, 2004; SCOTT, 1967).

Nicméně již ve druhé polovině 19. století si Cope s Osbornem (např. COPE, 1883; OSBORN, 1888, 1893, 1897) povšimli význačného postavení tohoto molárového typu v evoluci savců a tribosfénický molár se stal středobodem jejich teorie o vývoji savčí dentice.

1.1.1 Evoluce a funkce tribosfénického moláru

Vývin tribosfébnického moláru z unikuspidní dentice je naštěstí poměrně dobře doložen. Jedná se o řadu adaptací, které nutně předcházejí tomuto stádiu, jako je vznik cingulí, okluze a trigonu s trigonidem (viz BENTON, 2005; LUCAS, 2004).

Samotný vznik okluze je v rámci Cynodonta zdokumentován jak u savců, tak ještě u tří skupin, které moderní savce předcházejí – poprvé se s ním setkáváme u skupiny Diademodontidae (spodní až střední trias), kde je spojen s vývinem typického skusu, kdy elementy spodní čelisti kloužou distálním směrem po elementech čelisti horní, a dále pak u Traversodintidae (spodní až svrchní trias) a Tritylodontidae (spodní až střední jura). Externí cingulum je zdokumentováno až u sesterské savčí skupiny Tritheledontidae (svrchní trias až spodní jura), kde je i současně zdokumentováno obojí zakloubení spodní čelisti – jak plazí mezi *articulare* a *quadratum*, tak savčí mezi *dentale* a *squamosum* (viz BENTON, 2005).

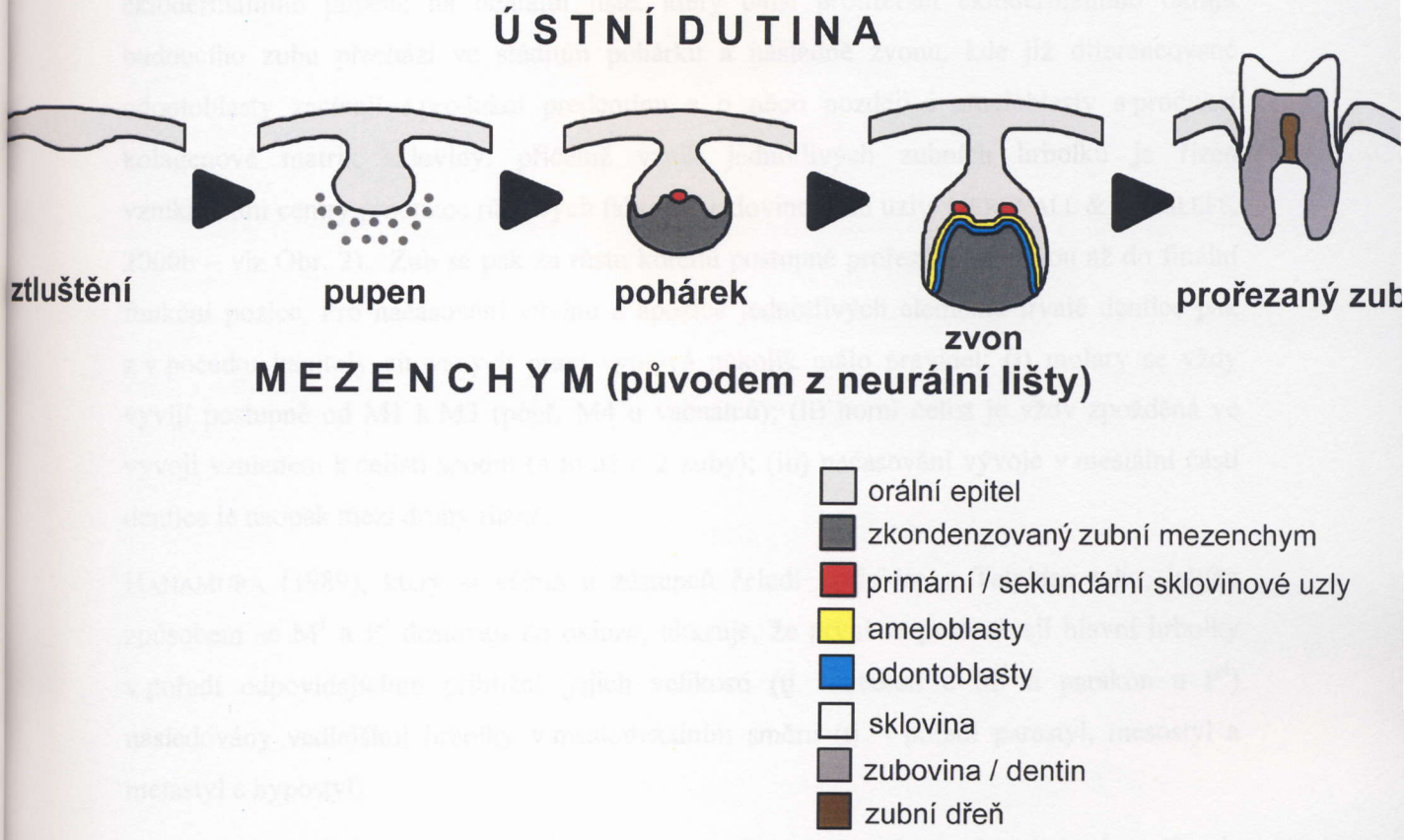
V rámci savců se dlouho věřilo, že tribosfénický molár vznikl jen jednou, dokud LUO *et al.* (2001) podrobně nezanalyzovali dosavadní nálezy po popisu *Ambondro mahabo* ze střední jury Madagaskaru, který sladil paleontologický záznam s molekulárními daty (FLYNN *et al.*, 1999). Náhle začalo být jasné, že v rámci savců se tribosfenie vyvinula minimálně dvakrát nezávisle – jednou na jižní polokouli ve skupině Australosphenida (kam patří i recentní ptakořitní) a podruhé na polokouli severní ve skupině Boreosphenida. Určujícím rozdílem je přítomnost lingválního cingulidu u první zmiňované skupiny. Směrem k Boreosphenida se předstupeň k dokonalé tribosfenii, trigon a trigonid (tedy dva obrácené trojúhelníky, jejichž vrcholy jsou tvořeny třemi hlavními hrbolky) objevuje od skupiny Symmetrodota (viz

BENTON, 2005). Když pak LUO *et al.* (2007) popsali druh *Pseudotribos robustus* ze střední jury, u nějž byl popsán výskyt „talonidu" mesiálně od trigonu (a je proto nazýván pseudotalonid), bylo zřejmé, že zde už máme doložen třetí nezávislý vznik tribosfenie uvnitř savců (MARTIN, 2008). Otázka počtu vzniků tribosfenie (včetně pseudotribosfenie) ale není ještě ukončena, neboť některé molekulárně-fylogenetické analýzy (WOODBURNE *et al.*, 2003) ukazují, že Australosphaenida nejsou sesterskou skupinou vejcorodých, ale Eutheria. Dávají tak za pravdu starší hypotéze o jednotném původu tribosfénického moláru, nebo alespoň pravého tribosfénického moláru s distálním talonidem.

Jak již bylo zmíněno výše, je pro tribosfénický molár klíčový protokon zapadající do báze talonidu. Parakon je v kontaktu s distální stěnou trigonidu a mesiální stěnou hypokonidu a metakon s distální stěnou talonidu a mesiální stěnou trigonidu následujícího moláru (viz např. BENTON, 2005; SCOTT, 1967). Právě tato opakující se struktura vzájemně okludujících pilovitých zubních hřebenů, která má schopnost samu sebe udržovat ve funkční ostrosti, se ukázala evolučně nejvýhodnější pro insektivorii a tím i pro všechny předchůdce dnešních savců a přetrvala v prakticky nezměněném stavu do současnosti (EVANS, 2005; EVANS & SANSON 1998, 2006; JERNVALL, 1995; POLLY *et al.*, 2005). Dokonce se dá tvrdit, že právě insektivorie byla hnací silou v savčí vývojové linii, která vedla nejen ke vzniku zubní okluze (pro efektivní narušování těl měkkých hmyzích larev) a následně ke vzniku tribosfenie (napomáhající drcení silněji inkrustovaných těl imág), ale i ke zmenšení velikosti a zrychlení metabolismu a tím i tlakem na zefektivnění čelistního aparátu a snad i k redukci zubních generací – viz LUCAS (2004).

1.1.2 Odontogeneze insektivorní dentice

Jelikož hmyzožravé druhy savců nepatří mezi běžné laboratorní modely, i výzkum jejich ontogeneze je upozaděn před běžnými modelovými druhy (myš) a nebo druhy více příbuznými člověku (primáti). Přesto je v současné době již několik studií, které se věnují dynamice vývoje dentice a zubní výměně u hmyzožravců (ASTÚA & LEINER, 2008; FENTON, 1970; FUNAKOSHI *et al.*, 1992; HERMANSON *et al.*, 1982; KRÁTKÝ, 1970, 1981, 1988; KUNZ, 1973; MARSHAL & BUTLER, 1966; MÍŠEK & ŠTĚRBA, 1989; MÍŠEK & WITTER, 2002; NIEVELT & SMITH, 2005; PEGELS & JONES, 1974; PHILLIPS, 1971; STEGEMAN, 1956; VAN DER MERWE, 1985; WEBSTER, 1981), a nebo vzácněji vývoji tribosfénického zubu a jeho jednotlivých hrbolků (HANAMURA, 1989; MARSHAL & BUTLER, 1966).



Obr. 2: Schéma vývoje multikuspidního savčího zubu. (Podle TUCKER & SHARPE, 2004.)

Počátek odontogeneze je dle očekávání zcela shodný se zubním vývojem jakéhokoli jiného savce (blíže např. GAUNT & MILES, 1967; TUCKER & SHARPE, 2004): počíná stádiem ektodermálního pupene na dentální liště, který další proliferací ektodermálního okrajů budoucího zubu přechází ve stádium pohárku a následně zvonu, kde již diferencované odontoblasty začínají s produkcí predentinu a o něco později i ameloblasty s produkcí kolagenové matrix skloviny, přičemž vznik jednotlivých zubních hrbolků je řízen vznikajícími centry produkce růstových faktorů, sklovinovými uzly (JERNVALL & THESLEFF, 2000b – viz Obr. 2). Zub se pak za růstu kořenů postupně prořezává gingívou až do finální funkční pozice. Pro načasování vývinu a apozice jednotlivých elementů trvalé dentice pak z v počátku kapitoly citovaných prací vyplývá několik málo pravidel: (i) moláry se vždy vyvíjí postupně od M1 k M3 (popř. M4 u vačnatců); (ii) horní čelist je vždy zpožděná ve vývoji vzhledem k čelisti spodní (a to až o 2 zuby); (iii) načasování vývoje v mesiální části dentice je naopak mezi druhy různé.

HANAMURA (1989), který si všímá u zástupců čeledí Soricidae a Talpidae toho, jakým způsobem se M^1 a P^4 dostávají do okluze, ukazuje, že první se prořezávají hlavní hrbolky v pořadí odpovídajícímu přibližně jejich velikosti (tj. metakon u M^1 a parakon u P^4) následovány vedlejšími hrbolky v mesiodistálním směru (tj. v pořadí parastyl, mesostyl a metastyl a hypostyl).

Nicméně nejpodstatnější data týkající se popisu odontogeneze hmyzožravé dentice přinesla bezesporu práce, jejímiž autory jsou MARSHAL & BUTLER (1966), kteří při podrobném studiu na pavrápenci *Hipposideros beatus* (Andersen, 1906) dospěli mimo jiné k následujícím, netriviálním závěrům: (i) spodní molár je vždy v pokročilejším stádiu vývoje než jemu odpovídající molár horní; (ii) mesiální část zubu je v pokročilejším stádiu vývoje než část distální; (iii) vzájemně si oponující části horního a dolního moláru jsou v podobné fázi vývoje; (iv) metakon se vyvíjí až po parakonu a až následně jej přerůstá, tudíž (v) ač se redukované či nízké hrbolky vyvíjejí později, rozhodně není pravidlem, že nejvyšší hrbolek se vyvíjí první, a hlavně (vi) během celého stádia odontogeneze, kdy moláry postupně rostou, jsou stále v dokonalé okluzi. Zvláště poslední zjištění je autory v souladu s tehdejšími znalostmi jen těžko interpretovatelné, a tak se přiklánějí k možnosti jednotné genetické kontroly horní i dolní dentice (BUTLER, 1961), nanejvýš připouštějí možnost postupné koevoluce dentice obou čelistí až do stádia perfektní okluze současnosti (KURTEN, 1957). Přímé ovlivňování jednoho žubního základu druhým či existenci společného

morfogenetického pole pro dentici horní i dolní čelisti pokládají za málo pravděpodobné u první, a nebo za nevysvětlující rozdíly mezi horním a dolním molárem u druhé možnosti.

Během posledních dvou dekád byl molekulární výzkum vývoje dentice zintenzivněn a hrubá mapa regulačních faktorů je již známa (viz např. JERNVALL & THESLEFF 2000a, SHARPE, 2000). Platí to alespoň pro modelový organismus, myš, jejíž dentice je ale silně odvozená, a není kompletní. Tento druh výzkumu na jiných savcích je teprve v začátcích. Pro savce s kompletní hmyzožravou denticí jsou známá data jen pro FGF-9 a BMP-4 u vačice *Didelphis albiventris* (Lund, 1840), které ukazují rozdíly v expresi obou faktorů oproti myši (TORRES *et al.*, 2006; TORRES *et al.*, 2008), avšak zda souvisí tyto rozdíly spíše s jiným typem dentice, nebo s rozdílem mezi vačnatci a placentály, není dnes ještě možno s jistotou říci. Nicméně se už při dnešním poznání dá usuzovat na to, že hlavní hypotéza, kterou ve své práci podporovali MARSHAL & BUTLER (1966) nebude platná, neboť horní a dolní čelist jsou dva oddělené systémy, ve kterých se společně mohou prosadit jen faktory ovlivňující hrubou stavbu dentice, a ne jemné poziční vyladění hrbolků a skusných hran, tak zásadní pro tribosfénický molár (srovnej se ZHAO *et al.*, 2000). JERNVALL (2006) sice při své studii účinku EDA u myši naznačuje významné změny v morfologii molárů při zachování funkční okluze, nicméně u myši jsou nositelem funkce rovnoběžné transversální hřebeny a ne složitý pilovitý vzor tribosfénického moláru a navíc, jak již bylo zmíněno výše, v případě kompletní dentice může být síť vztahů jednotlivých morfogenů a jejich exprese jiná.

1.2 Sklovina savčího zubu

Sklovinový plášť korunky je definitívum pro funkci a vývoj zubu. Sice kopíruje sklovino-dentinové rozhraní (EDJ), ale výsledný tvar povrchu korunky může ovlivňovat svou rozdílnou tloušťkou na různých částech zubu. Navíc je tato nejtvrdší a prakticky anorganická tkáň savčího těla neměnná, jakmile se ocitne nad povrchem gingívy a tedy odumřou ji produkující ameloblasty (BHASKAR, 1976). Zcela přirozeně se tato vlastnost přenáší i na vše, co sklovina pokrývá, tedy na celý zub, a jedinou možností změny je pak mechanický obrus (např. LUCAS, 2004). Na druhou stranu evoluční tlak nutí stavbu zubu zůstat funkční co nejdéle i přes zvyšující se obroušení zubní hmoty (EVANS, 2005; EVANS & SANSON, 2005; LUCAS, 2004), čehož musí být dosaženo už při tvorbě sklovinového pláště během amelogeneze (RENSBERGER, 2000).

1.2.1 Produkce a maturace sklovinového pláště

Cytodiferenciace ameloblastů z epiteliálních buněk začíná až ve stádiu zubního zvonu poté, co odontoblasty na druhé straně EDJ již začaly produkovat predentin (např. BHASKAR, 1976). Z dosavadních zjištění se nezdá, že by se stavba a vznik ameloblastů nějak výrazně lišili mezi různými savčími skupinami (MOSS-SALENTIJN *et al.*, 1997). Během cytodiferanciace buňka získá svůj protáhlý tvar, vytvoří je jí směrem k EDJ Tomesovy výběžky, namnoží se organely a buňka se propojí s okolními buňkami pomocí gap-junction. Od této fáze začínají ameloblasty produkovat několik typů proteinů, z nichž nejhojnější jsou enameliny (DEUTSCH *et al.*, 1995, FINCHAM *et al.*, 2000) a amelogeniny (FINCHAM *et al.*, 2000; SASAKI & SHIMOKAWA, 1995). Ty napomáhají mineralizaci skloviny, a tedy se lokálně starají o správnou tvorbu krystalitů (DOI *et al.*, 1984; VEIS, 2005; WARSHAWSKY *et al.*, 1984), která počíná malými krystalizačními jádry u EDJ. Krystality se pak prodlužují a na závěr ztlušťují (DACULSI *et al.*, 1984; PEYER, 1968). Tomesovy výběžky a orientace k sekrečnímu povrchu ameloblastu pak určuje rozdělení skloviny na prismata a interprismatickou matrix (WAKITA & SHIOI, 1984), přičemž nepřítomnost či vymizení Tomesových výběžků vede ke vzniku aprismatické (popř. bezprismatické) skloviny (SANDER, 1995, 1997, 2000). Složitější stavba skloviny (jako Hunter-Schregerovy proužky – HSB) je pak dán pohybem ameloblastů (FORTELIUS, 1984; KOENIGSWALD, 1997b, 2000; MOSS; 1969). Navíc sklovina zachycuje i periodické střídání aktivity jednotlivých ameloblastů, které se projevuje vrstvami hypomineralizované skloviny buď jako cross-striation v rámci krystalitu a nebo Retziovy linie v rámci celé skloviny (DEAN, 2000). Tolik praví obecně přijímaný model (srovnej s MOSS-SALENTIJN *et al.*, 1997).

Je ale pravda, že stále není dostatečně objasněna řada dílčích procesů při tvorbě skloviny, jako je způsob, jakým je do skloviny dopravován vápník nebo jak přesně jsou řízeny pohyby jednotlivých ameloblastů (MOSS-SALENTIJN *et al.*, 1997). Nejasnosti do modelu vnáší také prokázaná korelace mezi strukturou amelogeninů účastnících se amelogeneze a finální složitostí skloviny (MATHUR & POLLY, 2000), která *de facto* umenšuje roli ameloblastů na přímém ovlivňování konečné podoby skloviny, a tedy i její funkčnosti.

1.2.2 Evoluce, stavba a funkce prismatické skloviny

Stejně jako se dobře zachovávají v paleontologickém záznamu zuby, zachovává se s nimi i sklovinový plášť včetně detailní krystalické struktury. Díky tomu můžeme sledovat jak stále složitější stavbu zubní korunky, tak i vývoj mikrostruktury skloviny. Výchozím stavem je

bezprismatická sklovina běžná u všech ostatních skupin obratlovců (SANDER 1997, 2000), která ale už v rámci Synapsida (a to již od skupiny Pelycosauria – BENTON, 2005) jeví jistou organizovanost vyznačující se přítomností diskontinuit dělící sklovinu na jednotlivé sloupce a mluví se o ní proto jako o synapsydní sloupovité sklovině (SCE) (SANDER, 1995). Na rozdíl od prismat však tyto sloupce nejsou v přímé korelaci s ameloblasty a je velmi pravděpodobné, že ameloblasty nejen že neměly v té době Tomesovy výběžky (a jejich povrch byl tak hladký – podobně jako třeba u současných plazů), ale zároveň nebyly přímo napojeny na krystalizující sklovinu. Předpokládá se, že nejprve došlo právě k posunu mineralizační fronty skloviny k povrchu ameloblastu, a pak k tvorbě Tomesových výběžků (SANDER, 1997, 2000), a nebo k vyklonění sekretujícího ameloblastu z rovnoběžné pozice k růstu skloviny (MOSS, 1969), což vedlo k rychlému objevení se prismat jakožto hlavního znaku zubní skloviny savců (porovnej s MOSS, 1969).

Prismatická sklovina je doložena poprvé u skupiny Trithelodonta (BENTON, 2005) a nesouvisí tudíž ani se vznikem okluze, ani se vznikem tribosfenie, nýbrž koreluje se vznikem cingulí (viz kapitola 1.1.1). Pro časnou prismatickou sklovinu je typický velký podíl interprismatické matrix (IPM), zatímco prismata (oddělená od IPM prismatickou pochvou) bývají drobná, podkovovitá, otevřená směrem k povrchu (OES) a otevřeným koncem z nich vystupuje do IPM malá diskontinuita, prismatický šev. Prismata jsou v rámci skloviny seřazena radiálně a nad nimi bývá mohutná vrstva aprismatické skloviny (APE) (LESTER & KOENIGSWALD, 1989). Nicméně podobně jako okluze či tribosfenie tak i pro prismata platí podezření, že vznikla v evoluci savců vícekrát, neboť prismata nebyla doložena u bazálních příslušníků savců. Uvažuje se i o samostatném vzniku v několika liniích včetně tzv. gigantoprismatické skloviny u Multituberculata (FOSSE *et al.*, 1973; FOSSE *et al.*, 1978; WOOD & STERN, 1997). Je samozřejmě pravda, že se může jednat naopak o několikanásobnou ztrátu a v některých případech mohlo dojít ke špatné preparaci fosilního materiálu, nicméně výskyt prismata připomínajících struktur ve sklovině agamy trnorepa (*Uromastyx* Merrem, 1820 – viz např. SANDER, 2000) stejně jako výskyt složitějších organizačních struktur ve sklovině některých býložravých dinosaurů (HWANG, 2005; SANDER, 2000) naznačují, že vícenásobný vznik organizované skloviny je možný (srovnej s WOOD & STERN, 1997).

Tvrdí se, že důvodem vzniku prismatické skloviny u savců je vznik difylodontní dentice (s monofylodontními stoličkami), který způsobil tlak na zvýšení odolnosti sklovinového aparátu (GRINE & VRBA, 1980; RENSBERGER, 2000; SANDER, 2000). Sklovina tak již nemohla být obnovena prostou výměnou celého zubu. Nicméně přímá korelace těchto dvou znaků není v

paleontologickém záznamu doložena (srovnej BENTON, 2005 s CLEMENS, 1997; SANDER, 1997 a WOOD & STERN, 1997). Teprve později, zvláště s přizpůsobením se dalším potravním strategiím a se zesílením sklovinového pláště, dochází u savců k převládnutí prismatické složky nad interprisamtickou (o významu prismatické složky např. SAHNI & LESTER, 1988), k zesložitění směřování sklovinových prismat až po HSB, jejichž funkcí je minimalizovat tlaky způsobené rozvojem čelistního aparátu (ať již z důvodů narůstající velikosti jedince a nebo specializací na tvrdší potravu), které působí destruktivně na sklovinu, a ke složitějšímu uspořádání schmelzmusteru s různým rozložením různých typů prismatické skloviny (radiální, tangenciální, HSB, nepravidelná – např. KOENIGSWALD, 2000; KOENIGSWALD & SANDER, 1997a) po zubním povrchu (KOENIGSWALD *et al.* 1987).

1.3 Specifika biologie netopýrů ve vztahu k jejich dentici

Netopýři (Chiroptera) jsou druhým nejpočetnějším savčím řádem a představují tak vůbec největší skupinu recentních savců s původním tribosfénickým typem moláru, ač u některých druhů došlo vlivem odlišné potravní strategie k redukci tohoto vzoru (např. u Pteropodidae a Phyllostomidae). Netopýři jdou tak dobrým příkladem úspěšnosti této struktury, která zůstává u nich prakticky nezměněna při porovnání s fosilními druhy (viz Př.III: Fig.13-16). Změny se projevují spíše v mesiálních, unikuspidních elementech dentice, které slouží k uchopení kořisti (FREEMAN, 1992). Distální elementy, stoličky, které slouží k rychlému porcování bezobratlé potravy, jsou teda v zásadě neměnné (pomineme-li rozdíly mezi nyctalodontním a myotodontním typem moláru) a odlišnosti ve zpracovávané potravě se projevují zejména výškou hrbolků (FREEMAN, 1979, 1981, 1992, 1998, 2000), ačkoli se zdá, že některé drobnější odlišnosti by mohly existovat vzhledem k specializaci na konkrétní typy hmyzu (EVANS & SANSON, 2005).

Co však moderní netopýry charakterizuje, je odlišná stavba dočasné dentice, která na rozdíl od dentice trvalé neslouží k příjmu potravy, ale k zachycení se v srsti a na mléčných či příchytných bradavkách samice (SPILLMAN, 1927), čemuž odpovídá i její morfologie. Toto uzpůsobení přitom muselo vzniknout až během evoluce netopýrů (ALLEN, 1939; REVILLIOD, 1917) a jen v některých případech došlo k její částečné (DORST, 1957a) či úplné sekundární redukci (DORST, 1953; FUNAKOSHI *et al.*, 1992; GRASSÉ, 1955; SPILLMAN, 1927). Nepřekvapí proto, že dočasná dentice netopýrů na sebe strhává prakticky veškerou pozornost, jak demonstruje velké množství popisných prací, které se věnují buď jen samotné stavbě a náhradě za dentici trvalou (BAKER, 1956; BIRNEY & TIMM, 1975; CZAPLEWSKI, 1987; DORST,

1949, 1957b; FENTON, 1970; FORMAN *et al.*, 1968; FRIANT, 1951, 1963; KRÁTKÝ, 1970; KUNZ, 1973; LECHE, 1875, 1877, 1878; MILLER, 1896, 1907; NELSON, 1966; OWEN, 1840-1845; PETERSON, 1968; PHILLIPS, 1971, 2000; REEDER, 1953; SLAUGHTER, 1970; STEGEMAN, 1656; WEBSTER, 1981) a nebo řidčeji i jejímu vzniku (ALLEN, 1895; FUNAKOSHI *et al.*, 1992; HERMANSON *et al.*, 1982; MÍŠEK & WITTER, 2002; VAN DER MERWE, 1985). Kvůli specifikům stavby a funkce dočasné dentice nejen že se netopýr (ve většině případů) rodí s kompletní dočasnou denticí, ale i její náhrada (spojená s přechodem na dospělou dietu) za dentici trvalou musí být velmi rychlá – např. MÍŠEK & WITTER (2002) uvádějí pro netopýra velkého (*Myotis myotis* Borkhausen, 1797) dobu 35 dní od narození, kdy je trvalá dentice kompletní, přičemž M1 se začíná prořezávat již kolem 10. dne po narození, tedy přibližně 37 dní po té, co je poprvé zaznamenán její základ v embryonálním vývoji. Je zřejmé, že takováto rychlost klade extrémní nároky na celou odontogenzi a zvláště na amelogenezi trvalé dentice, která třeba v tomto případě zůstává funkční i přes 20 let života jedince (GÜTTINGER *et al.*, 2001).

I sklovinový plášť netopýrů (prvně detailněji zkoumaný v práci LOHER, 1929) si podobně jako jejich dentice zachovává některé původní znaky – je to první skupina, u které byl popsán prismatický šev (LESTER & BOYDE, 1987; LESTER & HAND, 1987), který byl až později identifikován jako původní diskontinuita v savčí sklovině (LESTER & KOENIGSWALD, 1989). Mimo to je sklovinový plášť relativně tenký bez výrazných změn v tloušťce (DUMONT, 1995; LUCAS *et al.*, 2008) a tvořený výhradně radiálními prismaty, které jen k OES mírně mění svou inklinaci (KOENIGSWALD, 2000; KOENIGSWALD & CLEMENS, 1992). Takové uspořádání by mělo být zcela dostačující ke zpracování málo abrazivní, relativně měkké kořisti, jakou jsou chitinem pokrytá hmyzí těla (srovnej s EVANS, 2005; EVANS & SANSON, 2005; LUCAS *et al.*, 2008).

Netopýři představují pozoruhodnou modelovou skupinu a jejich dentice je zajímavá z evolučně-ontogenetického hlediska (jak ukazuje třeba LESTER *et al.*, 1988, kde porovnávání více-méně shodné dentice různých zástupců Phyllostomidae umožňuje demonstrovat postupné změny v hustotě prismat v závislosti na postupné změně potravní strategie). Většina výzkumu se ale omezuje pouze na zevní popis dentice (zejména té dočasné) s ohledem na taxonomii a potravní strategii, popř. na popis výměny dočasné dentice za trvalou, jak už bylo demonstrováno výše. Bohužel zcela chybí nabízející se srovnání tribosfénické a „původnější" unikuspidní dentice v rámci jednoho jedince, popis změny dynamiky sklovinotvorného orgánu jak vertikálním směrem v rámci jednoho zubu, tak mesio-distálním směrem mezi jednotlivými (a opakujícími se) elementy molariformní dentice, nebo popis perierupční

dynamiky tribosfénických molárů a maturace skloviny (s výjimkou FRIANT, 1964), které jsou klíčovými a posledními možnými momenty pro ustavení dokonalé okluze. Taktéž není zcela vyjasněna povaha široké škály drobných variací tribosfénických molárů v rámci Chiroptera (např. otázka absolutní i relativní velikosti hrbolků, redukce talonu a hypokonu, funkční a vývojové rozdíly mezi nyctalo- a myotodoncií atp.), přičemž všechny by měly být uzpůsobeny jedné insectivorní potravní strategii. Není tedy jasné, zda rozdílná stavba odráží pouze fylogenetickou příbuznost a nebo je podmíněna i funkčními možnostmi struktury.

Co nám tedy může přinést další studium skloviny netopýrů? Jejich sklovina již byla pospána jako jednoduchá, a snad proto se od jejího dalšího studia upustilo. Bohužel nikdo z předchozích autorů (DUMONT, 1995; LUCAS *et al.*, 2008; KOENIGSWALD, 2000; KOENIGSWALD & CLEMENS, 1992; LESTER & BOYDE, 1987; LESTER & HAND, 1987) již neřešil zjevný paradox mezi jednoduchostí vnitřní stavby sklovinového pláště a dlouhou dobou, po níž vydrží dentice být neustále funkční a hrany ostré. Existuje nějaký mechanismus ve stavbě skloviny, který napomáhá této životnosti? Mohou to být úhlové vlastnosti prismat, celkově vyšší množství prismatické hmoty a nebo snad velikost krystalitů HAP?

Je to také právě jednoduchost stavby netopýří skloviny, která nám může být nápomocna při odkrývání dynamiky sklovinotvorného aparátu, kde nebudeme rušeni složitěji vystavěným schmelzmusterem a budeme se moci soustředit na hlavní kvantitativní charakteristiky skloviny a odhalit tak případnou dynamiku napříč denticí (neboť stoličky netopýrů jsou v podstatě opakující se struktury), nebo v rámci jednoho zubu. Vždyť není neobvyklé, že srovnávací práce porovnávají mezi sebou různé savčí druhy na základě jediného výbrusu na různých zubech (např. LESTER *et al.*, 1988) bez toho, aniž by se byť jen tušilo, jestli nejsou rozdíly i mezi jednotlivými zuby či jejich částmi a jak mnoho může tato netušená variabilita ovlivňovat naše závěry.

Konstantní tvar stoliček hmyzožravé dentice nám může u juvenilních jedinců posloužit i k odhalení mineralizační dynamiky sklovinového pláště a změn v pozici jednotlivých zubních hrbolků (viz MARSHAL & BUTLER, 1966) s ohledem na vznik přesně okludujících skusných hran. Jejich sekvenčním zakládání (viz např. MÍŠEK & WITTER, 2002) totiž umožňuje sledovat v rámci jednoho jedince zuby na různém stádiu vývoje a tedy zpětně odvozovat průběh celého procesu. Je dobré si ještě jednou připomenout, že po plné maturaci a erupci již zuby musí být funkčně sladěny, protože žádná další změna (krom obrusu) pak není možná a následky v případě netopýrů mohou být fatální. Perierupční stádium spojené s ukončením

mineralizačního procesu skloviny tak může být klíčovým okamžikem ve vývoji celé distální dentice netopýrů.

V této disertační práci se proto budu zabývat následujícími otázkami:

- Jaká je detailní mikrostruktura sklovinového pláště tribosfénického moláru?
- Jaké jsou rozdíly ve stavbě skloviny mezi unikuspidními zuby a tribosfénickými stoličkami?
- Existuje variabilita uvnitř tribosfénického moláru či mezi jednotlivými zuby?
- Jak probíhá maturace sklovinového pláště tribosfénického moláru?
- Jak vypadá pozdní odontogeneze u druhu s tribosfénickými moláry?

2. Metodické principy

2.1 Studium mikrostruktury skloviny

2.1.1 Příprava vzorků

Detailní studium struktury zubní skloviny bylo vždy destruktivní ať už v dobách světelné mikroskopie (POLE, 1967; SCOTT, 1967), tak i po přechodu na mikroskopii elektronovou (FEARNHEAD, 1960; FOSSE *et al.*, 1973; FOSSE *et al.*, 1978; FRANK & SOGNNAES, 1960; POLE, 1967). I to je jedním z důvodů, proč se ke studiu používaly jen jednotlivé výbrusy, zlomy, popř. pouhé naleptání kyselinou povrchu často jediného zubu (metody klasické histologie nebyly nikdy kvůli nutné dekalcifikaci vzorků příliš rozšířeny – viz PEYER, 1968). Ačkoli tento postup může být dostačují u druhů s neustále dorůstajícími zuby (hlodavci) nebo alespoň u zubů s vysokými, sloupovitými korunkami (přežvýkavci či koňovití), pro detailní popis situace členitých zubů s relativně vysokými hrbolky a hluboko položenými bázemi korunky mezi nimi (jako jsou třeba právě tribosfénické moláry) nemusí být dostačující. Navíc se popis často omezuje jen na popis sledované struktury (tvar prismatických pochev, typy prismatické skloviny a jejich rozmístění, schmelzmuster). Téměř se nevyužívá detailní morfometriky a statistického zhodnocení takto získaných dat, které se omezuje maximálně na základní statistické hodnoty velikosti krystalitů, mocnosti skloviny a úhlovém příklonu prismat k vrcholku zubu, inklinaci (KOENIGSWALD & SANDER, 1997a).

Abychom mohli studovat to, co nás na stavbě skloviny primárně zajímalo, museli jsme překročit zaběhnutý metodologický úzus (viz např. KOENIGSWALD & CLEMENS, 1997 nebo LESTER *et al.*, 1988) a značně jej inovovat. Předně jsme nevycházeli z jediného řezu, který vede po spojnici hlavních hrbolků, ale provedli jsme sérii řezů horizontálně pro zuby levé poloviny čelisti a vertikálně pro čelist pravou, přičemž každý řez byl fotograficky zdokumentován, abychom mohli zpětně přesně lokalizovat jeho pozici. To nám umožnilo lépe pochopit a popsat mikrostrukturu skloviny a zdokumentovat topografickou pozici jednotlivých mikroskopických snímků, tak důležitou pro pozdější statistické zhodnocení.

Celkem jsme takto pořídili a zdokumentovali kolem 4300 SEM fotografií v různých zvětšeních (do 200x pro celkové orientační snímky řezů, mezi 650x a 1200x pro popis orientace prismat a od 3500x do 5000x pro detaily a měření velikosti krystalitů).

2.1.2 Metrické charakteristiky

Pro popis struktury sklovinového pláště jsme na vertikálních řezech za pomoci morfometrické analýzy snímků sledovali dvanáct charakteristik: (i) objem krystalitů HAP vypočítaný ze (ii) šířky a (iii) délky krystalitu, (iv) celkovou šířku skloviny, (v) šířku prismatické skloviny, (vi) šířku APE, (vii) relativní šířku APE (k celkové tloušťce skloviny), (viii) šířku prismat, (ix) poměrový objem prismatické skloviny a z úhlových charakteristik kromě (x) inklinace ještě (xi) deklinaci a (xii) deflekci. Přičemž relativní množství prismatické hmoty, deklinaci a deflekci jsme museli definovat jako nově zavedené veličiny a to následovně:

Poměrový objem prismatické skloviny – bylo zjišťováno na vybraných snímcích vertikálních řezů proložením deseti linií v pravidelných rozestupech od EDJ k OES. Vzdálenost, jakou pak linie probíhaly prismaty, byla změřena a relativizována s celkovou délkou linie. Viz Př.I: Fig. 9.

Deklinace – úhlový odhad toho, jak moc se prismata odklánějí od roviny řezu. Nabývá hodnot od -90 do +90, přičemž nulová hodnota značí prismata, která běží rovnoběžně s rovinou řezu a kladné hodnoty značí směr k pozorovateli. Viz Př.I: Fig. 2c.

Deflekce – je definována jako ohyb prismatu od EDJ k OES a byla vypočítána jako rozdíl počáteční inklinace u EDJ a konečné inklinace u OES. Podobně se dal vypočítat i rozdíl mezi počáteční a konečnou deklinací, který byl pak označován jako **horizontální deflekce**. Viz. Př.I: Fig. 2b.

Celkem bylo naměřeno 2794 krystalitů. Ostatní kontinuální proměnné (všechny, které nebyly odhadovány jako deklinace) jsme měřili na třech místech v rámci jednoho snímku a naměřené veličiny byly pro následující analýzu zprůměrovány (a tedy připadala od každé veličiny jedna hodnota na jeden snímek). Z těchto průměrů spolu s topografickými údaji byla sestavena tabulka o 279 položkách (snímcích) a 24 proměnných. Šířka prismat byla navíc měřena na 3 pozicích: u EDJ, ve středu a poblíž OES. Celkem bylo změřeno 2007 prismat, což po průměrování na snímek činí 669 položek (tj. 223 na každou pozici).

2.2 Studium pozdní odontogeneze

Zde byla klíčovou vývojová řada 89 jedinců nasbíraná Sklenářem v šedesátých letech minulého století (viz SKLENÁŘ, 1962) a přechovávaná ve sbírkách katedry zoologie Přírodovědecké fakulty Universšty Karlovy v Praze. Lebeční materiál byl na základě pokročilosti erupce stoliček rozdělen do sedmi věkových kategorií (viz Př.II: Tab. 1) a

z digitálních fotografií pořízených v okluzním pohledu bylo zjišťováno za využití klasické morfometriky 50 lebečních a dentálních vzdáleností a úhlů a dva rozměry vypočítané (vzdálenost protokonu od spojnice para-metakon u M^1 a M^2) – viz Př.II: Fig. 1.

2.3 Statistický aparát

Statistické zpracování dat zahrnovalo: (1) zjištění základních statistických údajů (průměr, minimum, maximum, variance atd.) pro hlavní soubor dat i pro všechny podskupiny; (2) analýzu hlavních komponent (PCA), popř. vytvoření korelační matice vybraných skupin znaků; (3) jednocestnou, popř. faktorovou analýzu variance (ANOVA) a doprovodné analýzy (reziduální diagnostiku, analýzu homogenity variance a Tukeyho post-hoc test).

Pro porovnání variability mezi jednotlivými rozměry zahrnutými do analýzy postnatální odontogeneze (viz kapitola 2.2) jsme užily průměrované relativní koeficienty variance (C.V.) vztažené na C.V. kondylo-bazální délky lebky odpovídající věkové kategorie, abychom předešli rozdíly způsobené rozdílnou velikostí jednotlivých rozměrů a rozdílům v početním zastoupení jednotlivých věkových kategorií.

K analýze variance a přidružených testech bylo užito programu Statistica 8.0 (Statsoft Inc., 2007), k PCA programu Canoco 4.5 (Braak & Šmilauer, 1997). Měření byla prováděna v programech tpsDig a tpsDig 2 (Rohlf, 2004, 2005).

3. Hlavní výstupy a jejich přehledné shrnutí

3.1 Distribuce sklovinového pláště netopýří dentice

Ačkoli všechny současné studie (DUMONT, 1995; LUCAS *et al.*, 2008) zmiňují, že distribuce skloviny je u tribosfénických molárů rovnoměrná, už naše první výsledky (viz Př.I: Fig. 5-8 a Př.III: Fig. 1 & 3) hovoří o opaku. Ukazují komplexní strukturu s netriviálním rozložením v podstatě dvou odlišných typů sklovinového pláště (a to již od počátku tvorby skloviny – viz Př.II: Fig. 7f). Ty se výrazně liší svou mohutností, vzdáleně tak připomínající stav v molárech některých hrabošů (KOENIGSWALD & SANDER, 1997b). V našem případě je sklovinový plášť selektivně na některých částech zubu v průměru pětkrát slabší než na částech jiných. Rozdíl mezi tímto „slabým" a „silným" pláštěm je ale i v dalších charakteristikách, jako je (absolutní i relativní) mohutnost APE, výrazná u silného pláště, zato velmi slabá, popř. až chybějící u pláště slabého. Třetím odlišitelným subtypem je zde cingulární sklovinový plášť, ve své mohutnosti tvořící přechod mezi slabým a silným pláštěm zubních hrbolků, avšak s výraznou vrstvou APE.

Silný sklovinový plášť pokrývá většinu povrchu zubních hrbolků a bází. V pozici slabé skloviny jsou prostorové rozdíly specifické pro horní a dolní stoličky – v případě horních stoliček je tento umístěn bukálně, zatímco u dolních lingválně. Dochází tak k opačné orientaci obou subtypů podél skusných hřebenů horních a dolních molárů tak, že do vzájemného kontaktu přichází vždy oblasti se slabým pláštěm. Důvod je velmi pravděpodobně funkční, neboť silný sklovinový plášť se bude obrušovat pomaleji než slabý a bude se tak udržovat ostrá hrana určená k rychlému naporcování hmyzí kořisti. Tento fakt je pravděpodobně podstatnější pro dlouhodobou funkčnost tribosfénického moláru než samotný tvar zubu, jak předpokládají EVANS & SANSON (2006).

U unikuspidních zubů je distribuce obou subtypů odlišná. Zde je buď rozložení sklovinového pláště rovnoměrné (v případě malých premolárů jako P^2 a P^3) a pokud jsou rozpoznatelné oblasti se slabým pláštěm, pak vždy na distální straně hlavního hrbolku. V případě horního špičáku je omezen na nevýraznou (a špatně odlišitelnou) oblast při vrcholku, u P_4 pak na spodní 2/3 výšky hrbolku. Nejpodobnější molárům je z tohoto hlediska P^4, která je už součástí pilovité střižné hrany.

3.1.1 Proměnlivost mocnosti skloviny v rámci zubu

Při podrobnější analýze jsou patrné i jemnější rozdíly v tloušťce skloviny a mohutnosti APE. Směrem k bázi korunky dochází k ztenčování sklovinového pláště (zvláště silného, který pak pozvolna přechází ve slabou sklovinu protějšího hrbolku) a naopak k zesilování APE (umocněné pak ještě na cingulech) – viz Př.I: Fig. 8.

V molárech jsou však rozdíly i mezi jednotlivými zubními hrbolky. Největší rozdíly mezi slabým a silným sklovinovým pláštěm jsou tak v oblastech hlavních funkčních hřebenů (tj. eokrista a eokristid – konkrétně para- a metakon a proto- a hypokonid) – celkový rozdíl je ještě zvýrazněn v případě metakonu a protokonu výrazně mohutnějším silným pláštěm, než je obvyklé na jiných hrbolcích. Naopak výrazně nižší rozdíl mezi oběma subtypy (daný hlavně neobvykle mohutnou vrstvou slabé skloviny) je u protokonu a entokonidu. Tyto jemné rozdíly uvnitř zubů ještě podtrhují důležitost takovéto heterotopie v distribuci skloviny pro správnou funkci netopýřího tribosfénického moláru.

3.1.2 Trendy v mocnosti skloviny u distální dentice

V molárové řadě má v průměru nejtenčí silný sklovinový plášť redukovaná distální M^3, zatímco nejsilnější je u horní a dolní M2. Srovnatelnou tloušťku sklovinového pláště mají též horní špičáky. Minimálně v tomto případě pak bude tento stav souviset s uzpůsobením špičáku jakožto hlavního nástroje pro chycení kořisti, který je tak vystaven působení většího tlaku než zkoumané premoláry. V mohutnosti APE nebyly shledány žádné významné rozdíly.

3.2 Mikrostruktura netopýří skloviny

Sklovina je po celé zkoumané dentici jasně radiální, jak popisují již mnohé jiné práce (KOENIGSWALD, 1997; LESTER & BOYEDE, 1987; LESTER & HAND, 1987; LESTER *et al.*, 1988), nicméně i zde podrobnější analýza odhaluje odchylky v inklinaci a deklinaci v závislosti na lokalizaci v rámci jak jednotlivých zubů, tak celkové dentice. Pro nás nejzajímavější je opět porovnat slabý a silný sklovinový plášť. Zde je na první pohled patrné, že v silném plášti (a v omezené míře i na cingulech) dochází k postupné změně orientace prismat, takže z počátku kladná inklinace (vůči vrcholku hrbolků, popř. hraně cingulí) se mění na inklinaci téměř nulovou (viz Př.I: Fig. 5-7) – srovnej s KOENIGSWALD & CLEMENS (1992). Nicméně rozdíl mezi slabým a silným sklovinovým pláštěm je už v počáteční inklinaci, ve spodní polovině tloušťky skloviny, kde prismata silného pláště jsou přikloněny k vrcholku pod výrazně větším úhlem než u pláště slabého či cingulárního (které se od sebe v této hodnotě prakticky neliší).

Vypadá to tedy, že orientace prismat výrazně napomáhá delší trvanlivosti silné skloviny, kde horní část tlumí tlaky působící na sklovinu a zabraňuje vzniku prasklin, zatímco spodní více odolává atrici než slabý sklovinový plášť na stejné úrovni (tím, že jsou prismata kolměji orientována na působící síly se hůře obrušují).

3.2.1 Změna úhlových charakteristik v rámci zubu

Podobně jako se v rámci každého hrbolku směrem k bázi ztenčuje sklovina, snižuje se i inklinace, která je tak opět nejvyšší podél funkčních hran (s nejvyšší odolností proti obrusu). A obdobně, jako týmž směrem roste zastoupení APE, zvětšuje se i deklinace prismat, která dosahuje svého maxima na cingulech. Naznačuje tak postupné rozšiřování struktury jednotlivých hrbolků, popř. zubu a případné pohyby vyvíjejícího se zubu do stran.

3.2.2 Proměnlivost úhlových charakteristik v distální dentici

Je zajímavé, jak základní úhlové charakteristiky, inklinace a deklinace, graduálně klesají v obou čelistech od P4 (pro deklinaci) či M1 (pro inklinaci – ta je naopak u P4 nízká) až k M3. Nejmenší průměrné hodnoty jsou zjištěny z M^3, která tak určuje výraznější podobu trendu v horní čelisti. Horní špičáky jsou v naměřených hodnotách podobné stoličkám, což naznačuje, že se sklovina musí vyrovnat s podobnou zátěží.

Podobně jako inklinace je podél funkčních hřebenů vysoká i deflekce v silném plášti. Její vyšší hodnoty jsou i v distálních částech zubu jako metakon a talonid.

Deflekce je ale i jediná charakteristika, ve které se v celkovém trendu liší horní a dolní čelist: zatímco v horní čelisti je nejnižší v mesiálnějších elementech (C^1, P^4 a M^1), ve spodní čelisti je výrazně vyšší právě v P_4. Naproti tomu horizontální deflekce je typicky vyšší v nejdistálnějších elementech dentice (M_2, M_3 a M^3) a u P_4, jakoby právě zde byl předozadní pohyb struktur nejmarkantnější.

3.3 Poměrový objem prismatické skloviny a šířka prismat

3.3.1 Poměrové objemy typů skloviny

Jako u všech známých studií (např. BHASKAR, 1976; SEHIC *et al.*, 2009), i v našem případě množství prismatické hmoty nejprve od EDJ kontinuálně narůstá na úkor IPM, dokud nedosáhne svého maxima, a pak opět pozvolna klesá k OES nahrazováno jak IPM, tak hlavně

APE (viz Př.I: Fig. 8). Nicméně konstantní centrální část sklovinového sloupce se dá snadno porovnávat a může nám poskytnout další informace o odolnosti skloviny.

Zcela ve shodě s předchozími výsledky je v silném sklovinovém plášti více prismatické hmoty než ve sklovině slabé či v cingulech, což jej opět potvrzuje jako nejpevnější část sklovinového pláště netopýrů (porovnej se SAHNI & LESTER, 1988 a SANDER, 2000). Podobná shoda panuje i v rámci jednoho zubu, kde je nejvíce prismatické hmoty na jednotku objemu u vrcholu zubních hrbolků, a při pohledu na celou distální dentici je i v této charakteristice patrný sestupný trend od M1 k M3. M1 a M2 obsahují nejvíce prismatické hmoty na jednotku objemu ze všech zkoumaných zubů, nejméně naopak M3 a P_4. Zbylé unikuspidní zuby se se svými hodnotami nacházejí někde mezi oběmi skupinami.

Ačkoli se může zdát, že jednotlivé charakteristiky zubní skloviny (tloušťka, mohutnost APE, inklinace, deklinace a poměrový objem prismatické hmoty) jsou provázány, opak je pravdou a všechny tyto kvality jsou na sobě více-méně nezávislé, takže každá z nich přispívá k výsledné kvalitě skloviny samostatně (viz Př.I: Fig. 10).

3.3.2 Šířka prismat

Pokud je v nějaké části skloviny více prismatické hmoty, dá se tohoto stavu dosáhnout dvěma způsoby: (i) prismata jsou stejná, ale jejich hustota je větší, a nebo (ii) prismata jsou mohutnější. Dle našich zjištění se šířka prismat od EDJ k OES zvětšuje, takže počáteční nárůst prismatické hmoty je vskutku dán rozšiřováním prismat. Je zajímavé, že šířka prismat při EDJ je významně větší u unikuspidů než u stoliček. Pravděpodobně je to důsledek složitějšího prostorového uspořádání vyvíjejících se stoliček, kde je potřeba vměstnat co nejvíce ameloblastů (přináležejících k jednotlivým hrbolkům) vedle sebe, které tím pádem musí být menší a tedy produkují i menší prismata. Unikuspidy žádné takovéto prostorové omezení přirozeně nemají.

Ve vyšších partiích skloviny se však tyto rozdíly srovnají a významným se stává rozdíl mezi silným a slabým sklovinovým pláštěm, kde širší prismata jsou v plášti silném. Jak patrno, více prismatické hmoty v silné sklovině je způsobeno hlavně širšími prismaty. Z těchto výsledků vyplývá, že množství prismatické hmoty je v případě tribosfénického moláru netopýrů způsobeno možností (ii), tedy rozdílnou mohutností prismat v různých úsecích sklovinového pláště.

3.4 Krystality HAP

3.4.1 Morfologie a distribuce HAP krystalitů

Všechny sklovinové krystality mají tvar jehlic výrazně protažených ve směru od EDJ k OES (DACULSI *et al.*, 1984). Nabízela se otázka porovnat mezi sebou krystality jednotlivých typů skloviny (prismata, IPM a APE). Analýzy jasně ukazují, že prokazatelně nejmohutnější krystality jsou v prismatech a nejmenší v APE (viz Př.I a Př.III: Fig. 2). Z toho také vyplývá, že prismatické krystality jsou nejen nejpevnější, ale i jejich produkce by měla trvat nejdelší dobu. Naopak krystality v APE jsou nejen nejméně odolné, ale též velmi rychle produkované.

Uvnitř těchto typů byly hledány a nalezeny drobnější rozdíly mezi subtypy sklovinového pláště a skupinami zubů (unikuspidy, horní a dolní stoličky). Podstatným výsledkem pro pochopení komplexnosti krystalické stavby je to, že tyto dva způsoby dělení jsou na sobě nezávislé, a že ve všech sklovinových typech jsou dále trendy v podstatě shodné. Při srovnání sklovinového pláště jsou největší krystality v silné sklovině a nejmenší v cingulární. Zároveň krystality v horních stoličkách jsou mohutnější ve srovnání s dolními stoličkami a unikuspidy. Jinak řečeno: nejodolnější sklovina je v silném sklovinovém plášti a v horních molárech.

Detailní krystalografická analýza nám odhalila ještě složitější obraz krystalické struktury netopýří skloviny, který naznačuje, že námi zkoumané krystality jsou ve skutečnosti kompozity mnohem menších primárních krystalitů HAP, jejichž struktura může významně ovlivňovat výsledné vlastnosti celé skloviny – viz Př.I.

3.4.2 Produkce a tvorba HAP krystalitů

Náš průzkum prematurované skloviny netopýra velkého jen potvrdil naše předpoklady stanovené z analýzy velikosti krystalitů plně maturované skloviny: prismata, která obsahují největší krystality jsou tvořena výrazně dříve než ostatní komponenty skloviny a mají tedy více času na to, aby získaly požadovanou velikost. Naopak APE je produkována v samém závěru amelogeneze, během přechodu ameloblastů ze sekreční do maturační fáze. Viz Př.II: Fig. 5, 7 a 8 a Př. III: Fig. 4.

Tato zjištění by mohla odpovídat pozorováním, jaká udělal za pomoci fázového kontrastu již PEYER (1968), který pozoroval postup mineralizace od středu sekreční plochy ameloblastu a prostor mezi prismaty v místech mineralizace.

3.5 Mineralizace sklovinového pláště u netopýra

Postupná tvorba jednotlivých typů skloviny nám umožnila ještě další sledování: porovnání načasování amelogeneze v různých částech zubu. Díky výše uvedenému fenoménu měla totiž prematurovaná sklovina tendenci rozpadat se po vysušení do jakých si „ker" v závislosti na stupni mineralizace jednotlivých složek a tvořila tak kontinuální přechod od plně maturované skloviny s hladkým povrchem (umístěné apikálně) až k obnaženému (pre)dentinu s mineralizačními jádry skloviny (umístěnému bazálně) – viz Př.II: Fig. 5 a Př.III: Fig. 5. Porovnáním jednotlivých zubů v řadě stoliček, které jsou v podstatě opakující se struktury, jsme byli schopni rekonstruovat relativní časovou posloupnost tvorby sklovinového pláště v různých částech jednotlivých zubních typů. Ta do značné míry odpovídala posloupnosti z histologických studií načasování tvorby jednotlivých hrbolků – porovnej s HERSHKOVITZ (1971).

To znamená, že zatímco unikuspidní P4 měly jen jedno mineralizační centrum, horní stoličky je měly tři a dolní stoličky pět a tato mineralizační centra odpovídala všem hlavním zubním hrbolkům. Existence mineralizačních center vedlejších hrbolků (para-, meso-, metastyl a hypokonulid) je spekulativní.

Načasování počátku mineralizace na hlavních hrbolcích je pak následující: (1)protokonid > (2)metakonid > (3)parakonid > [(4)entokonid > (5)hypokonid] ve spodních stoličkách a (1)parakon > (2)metakon > (3)protokon v horních stoličkách. Toto pořadí jednak opravňuje k užívání termínu eokon/-id pro parakon / protokonid jako hlavní hrbolky horního a dolního moláru tak, jak je stanovil už HERSHKOVITZ (1971), a dokládá tvrzení MARSHAL & BUTLER (1966), že konečná velikost hrbolku nekoreluje s pořadím, v jakém jsou zakládány.

Mineralizační fronty vzešlé z jednotlivých center pak splývají ve spodních stoličkách v následujícím pořadí: 1+2 = epikristid > 3+(1+2) = parakristid > [(4+5 = postmetakristid) + (3+4 = entokristid)] > 4+6 = centrokristid. Hypokonulid se jeví být výrůstkem entokonidu. V horních stoličkách je pak pořadí takovéto: 1+3 = protokrista > 1+2 = eokrista > 2+3 = plagiokrista. Para-, meta- a mesiostyl vznikají v tomto pořadí a minimálně mesostyl prokazatelně vzniká splynutím mineralizačních center para- a metakonu. Krom cingulí je mineralizace nejopožděnější v bázi talonidu a trigonu. Metakon a talonid, oblasti moláru s největší deklinací, jsou tak zároveň části, které se jako poslední připojují ke korpusu celého moláru. Viz Př.II: Fig. 6.

Vývoj cingulí se liší dle zubního typu. U unikuspicních P4 jsou cingula v pokročilejším stádiu na labiální straně zubu. U horních molárů začíná tvorba cingula mesiálně a končí palatálně. Cingulid spodních stoliček začíná na mesiální a distální straně v podstatě současně a poslední cingulid se tvoří bukálně. Ve všech případech se zdá, že na vnější (tj. silnější) straně cingulí je mineralizace v pokročilejší fázi.

I slabý a silný sklovinový plášť se liší v rychlosti tvorby, přičemž oblast s tenkou sklovinou je maturovaná dle očekávání dříve než sklovina silná (a tedy je zde situace opačná od cingulí). Tento rozdíl je obzvláště patrný na stoličkách, hlavně v oblasti trigonidu a bukální stěně bukálních hrbolků horních stoliček (porovnej s SHELLIS, 1984).

3.6 Postnatální odontogeneze distální netopýří dentice

3.6.1 Zubní erupce

Stoličky přicházejí postupně do okluze od M1 k M3 a ve zkoumaném materiálu byla rozeznatelná tato stádia (která pak v Př.II a Př.III sloužila k rozdělení do věkových kategorií): M1 je viditelná v zubním primordiu > začíná erupce M1 a M2 je viditelná v zubním primordiu > začíná erupce M2 a M3 je viditelná v zubním primordiu > začíná erupce M3 > M1 se prořezává gingívou > M2 se prořezává gingívou > M3 se prořezává gingívou > M1 je v plné okluzi > M2 a M3 jsou v plné okluzi. Platí při tom (v souladu s MARSHAL & BUTLER, 1966), že spodní čelist je o jedno až dvě stádia před čelistí horní. P^4 je sice rozlišitelná v zubním primordiu již od ranných stádií (cca od doby, kdy M^1 je viditelná v primordiu a všechny spodní stoličky již započaly s erupcí), ale její erupce je opožděná až do pokročilejších stádií (cca do doby, kdy se obě M1 a M_2 již prořezávají gingívou a erupce zbylých stoliček již dávno započala). To P_4 je rozeznatelná v zubním primordiu až v této době a její erupce začíná až když M1 jsou v plné okluzi. Erupce P4 tak více odpovídá zjištěním MÍŠKA & WITTER (2002) než KRÁTKÉHO (1970).

U unikuspidních P4 je průběh erupce v podstatě shodný: nejprve se prořezává eokon/-id, po něm distostyl/-id s distální částí cingula/-idu a na závěr zbytek cingula/-idu. U P^4 se poslední nad gingívu dostává rozšířená palatální část cingula. M_1 a M_2 se prořezávají v této sekvenci: velmi urychlený protokonid >> (meta- + hypo- + entokonid) > (parakonid + hypokonulid) > mesiální a distální cingulid > báze trigonidu a talonidu > bukání cingulid. V M_3, která má redukovaný talonid je pořadí erupce jednotlivých částí pozměněno takto: protokonid >> metakonid > [parakonid > (hypo- + entokonid)] > hypokonulid. M^1 a M^2 mají takovéto pořadí

erupce: (para- > metakon) > protokon > (para- + mesostyl) > metastyl > eokrista > (mesiální cingulum > bukální strana zubu) > báze trigonu > palatální cingulum. V redukované M^3 dochází ke změně pořadí v tomto smyslu: parakon > parastyl > (protokon + mesostyl) > metakon.

Je tedy zřejmé, že pořadí erupce jednotlivých hrbolků (které alespoň pro horní dentici odpovídá rámcově zjištěním, která udělal HANAMURA, 1989) nijak nekoresponduje se vznikem mineralizačních center a tedy nejspíše ani se zakládáním jednotlivých hrbolků, jak tvrdí už MARSHAL & BUTLER (1966). Zatímco u horních stoliček pořadí erupce odpovídá přibližně velikosti hlavních hrbolků a vedlejší hrbolky se prořezávají v mesio-distálním směru, u spodních stoliček je nápadná urychlená erupce báze talonidu, tedy místa s největší deklinací v rámci spodních stoliček a zároveň jedné z klíčových struktur pro správnou funkci tribosfénického moláru.

3.6.2 Vztah odontogeneze k postnatálnímu vývoji lebky

Délky lebky a většina délek zubních řad se během prořezávání trvalé dentice prodlužuje s výjimkou délky M1-M2, kde se růst zastavuje v momentě, kdy se obě stoličky začnou řadit do plné okluze (viz Př.II: Fig. 2a-c). To znamená, že v rámci čelistí musí existovat dvě růstové zóny: jedna distálně, která vytváří místo pro stoličky, a druhá v mesiální oblasti, která přispívá k prodlužování rostra. Z rozměru M1-M2 vyplývá, že samotné zuby nějakým způsobem mění svoji velikost a to buď tak, že během erupce mění svůj náklon, ale přípustným vysvětlením je i postupný růst a zvětšování korunky (jak ostatně předkládá MARSHAL & BUTLER, 1966). Šířky patra jsou oproti lebečním délkám po většinu času konstantní a rostou dramaticky jen v časné a konečné fázi postnatálního vývoje (viz Př.II: Fig. 2d). Zubní rozměry však nejsou příliš silně korelovány s lebečními rozměry a taktéž jejich variabilita je v průměru větší, tedy se dá usuzovat, že jejich růst je na těchto nezávislý a jedná se o samostatný, oddělený systém.

U spodních stoliček se zvětšování rozměrů projevuje hlavně v šířkách zubu a vzdálenosti proto-hypokonid a to v prvních fázích postnatálního vývoje a pro rozměry talonidu ke konci vývoje (Př.II: Fig. 2h, Př.III: Fig. 8). Ač je M_2 o něco proměnlivější než M_1, jsou jednotlivé rozměry spolu úzce korelovány a v rámci jednoho zubu se vymezují šířky trigonidu oproti ostatním rozměrům (viz Př.II: Fig. 3b). Úhlové rozměry jsou u spodních stoliček více-méně konstantní po celou dobu vývoje s výjimkou M_2 a úhlech majících vztah k talonidu, kde je patrný jistý nárůst (viz Př.II: Fig. 2e).

U horních stoliček je ale situace odlišná. Většina rozměrů M^2 vykazuje nárůst až do doby, kdy se začíná prořezávat, a ve vzdálenosti para-metakon dokonce do doby, kdy se již prořezal gingívou. Další nárůst velikosti je pak zaznamenán v samém závěru dentice (viz Př.II: Fig. 2i, j a Př.III: Fig. 7). M^1 tento trend téměř bez rozdílů kopíruje, jen se odehrává o něco dříve. Pokud se ale srovná M^1 a M^2, tak zjistíme, že odpovídající si rozměry spolu v podstatě nekorelují s výjimkou bukáních délek zubu (viz Př.II: Fig. 3c), jakoby byla dána velikost zubu, ale ne přesná pozice hrbolků v něm (Př.III: Fig. 10). V rámci horní stoličky pak jsou v podstatě tři skupiny rozměrů: (i) vzdálenost meta-protokon a vzdálenost protokonu od spojnice para-metakon, (ii) vzdálenosti para-metakon a para-protokon a (iii) bukání délky zubu. Hlavně vzdálenost protokonu dosahuje v případě obou molárů extrémních hodnot ve variabilitě dat (viz Př.II: Fig. 4), což nepřímo ukazuje na nahodilost výsledné hodnoty, a tedy výsledek individuálního vývoje. Oproti spodním stoličkám vykazují všechny horní stoličky nárůst hodnot úhlových rozměrů minimálně v počátcích vývoje s výjimkou úhlu na mesostylu (jehož ramena tvoří postparakrista a premetakrista), u nějž se projevuje zastavení růstu přibližně ve stejné době jako u vzdálenosti para-metakon (viz Př.II: Fig. 2f). S výjimkou úhlu na parakonu jsou zbylé dva úhly positivně korelovány s rozměry zubu, čili opět situace zcela opačná od spodních molárů.

Kupodivu ani rozměry protilehlých stoliček nejsou mezi sebou příliš silně korelované (viz Př.II: Fig. 3d). Nejsilnější korelace tak je mezi vzdáleností para-protokon a hypo-entokonid a dále je korelace vzdáleností para-metastyl a meso-metastyl se vzdálenostmi meta-entokonid a proto-hypokonid. Jedná se tedy znovu o korelace rozměrů talonidu s jim odpovídajícími rozměry na horním moláru.

Ze všech výše uvedených indicií se zdá, že důvodem přesného nastavení horních a dolních tribosfénických molárů není ani společný morfogen, ani vzájemná koevoluce, jak navrhují MARSHAL & BUTLER (1966), ale postupné poziční vyladění protilehlých zubů během erupce. Dle našeho předpokladu spodní stoličky (dříve se vyvíjející a podobnější si mezi sebou navzájem), zvláště pak jejich trigonid, slouží jako předloha pro stoličky horní (později se vyvíjející a variabilnější). Z tohoto důvodu je důležité tlačit talonid přednostně vzhůru, aby se mohl sladit s protokonem (nejvariabilnější rozměr) a z vnějšku na něj správně dosedl metakon. Proto je také pro stoličky důležité, že mají rychle hotové kontaktní plochy se slabým sklovinovým pláštěm a vlastně skusné hřebeny vůbec. Proto metakon splývá jako poslední pevně s ostatními hrbolky trigonu a to ještě později než je hotová báze talonidu (pozn.: talonid a metakon mají nejvyšší hodnoty deklinace), která je posledním místem mineralizace na

funkční korunce (tj. bez cingulidů) spodních molárů. A proto je důležité odsunout mineralizaci méně významných složek skloviny, IPM a APE, na co nejpozdější dobu, aby celá struktura zůstala co nejdéle tvárná. Protože v momentě, kdy je sklovinový plášť plně mineralizovaný a cingula uzavřou zub kolem dokola, nedá se, jak již bylo několikrát zmíněno, již jeho tvar s výjimkou obrusu nijak měnit (viz LUCAS, 2004). Je tak možné velký zub na počátku vývoje „zabalit" do menšího prostoru drobné netopýři čelisti (s menšími buňkami) a nechat ho „rozvinout" až během erupce, kdy čelist sama o něco povyroste, a zároveň ho pozičně sladit s ostatními zuby jen na základě reakce poddajné tkáně na své okolí (viz Př.III: Fig. 6 & 10).

4. Závěry

- Sklovinový plášť tribosfénického moláru a netopýří dentice vůbec vykazuje vysokou heteropii v distribuci skloviny. Tato heteropie je primární (není výsledkem odlišného opotřebení) a zcela odpovídá rozdílným funkčním nárokům na rozdílné části zubu a dentice.
- Heteropie není jen v běžných charakteristikách (tloušťka skloviny, inklinace prismat, množství prismatické hmoty atd.), ale je přítomná už na úrovni krystalitů HAP.
- Bylo prokázáno, že jednotlivé typy skloviny (prismata, IPM a APE), které se mezi sebou liší v mohutnosti krystalitů HAP, jsou fakticky produkovány v jinou dobu amelogeneze a že produkce rozdílných typů skloviny je spojena s morfologickou změnou ameloblastů.
- Bylo ukázáno, že tribosfénické moláry mění, tj. zvětšují své rozměry během erupce a jsou schopny díky řadě uzpůsobení dosáhnout své dokonalé okluze až během erupce bez nutnosti jakéhokoli vnějšího řídícího faktoru. Zdá se, že rozhodující jsou spodní stoličky, podle nichž se prostorově vylaďují stoličky horní.

5. Seznam citované literatury

Allen GM. 1939. Bats. Cambridge: Harvard Univ. Press, pp. 368

Allen H. 1895. On the embryos of bats. Contrib. *Zool. Lab. Univ. Pennsylvania* **1**: 3-42

Andersen K. 1912. *Catalogue of the Chiroptera in the collection of the British Museum. 2nd ed.* London: British Mus. (Nat. Hist.); pp. 567

Astúa D, Leiner NO. 2008. Tooth eruption sequence and replacement pattern in Wooly Opossums, genus *Caluromys* (Didelphimorpha: Didelphidae). *J. Mamm.* **89 (1)**: 244-251

Baker RH. 1956. Mammals of Coahuila, Mexico. *Univ. Kansas Publ. Mus. Nat. Hist.* **9**: 125-335

Benton MJ. 2005. *Vertebrate paleontology – 3rd ed.* Malden: Blackwell Publishing. 455 pp.

Bhaskar SN. 1976. *Orban's oral histology and embryolology – 8th ed.* St. Luouis: C.V. Mosby Co. 470 pp.

Birney EC, Timm RM. 1975. Dental ontogeny and adaptation in *Diphylla ecaudata. J. Mamm.* **56(1)**: 204-207

Butler PM. 1961. Relationships between upper and lower molar patterns. In: Vanderbroek G., ed. *Int. Colloq. Evolution of Mammals. Part I.* Brussels: Kunsten; 117-126

Clemens WA. 1997. Characterization of enamel microstructure terminology and application of the origins of prismatic structures in systematic analysis. In: Koenigswald Wv, Sander PM, eds. *Tooth enamel microstructure*. Rotterdam: Balkema; 85-112

Cope ED. 1883. The tritubercular type of superior molar tooth. *Proc. Ac. Nat. Sci. Philadelphia* **35**: 56

Czaplewski NJ. 1987. Deciduous dentition of Thyroptera tricolor. *Bat Res. News* **28(3-4)**: 23-25

Daculsi G, Menanteau J, Kerebel LM, Mitre D. 1984. Enamel crystals: Size, shape, length, and growing process; high resolution TEM and Biochemical study. In: Fearnhead RW & Suga S, eds. *Tooth enamel IV*. Amsterdam: Elsevire; 14-18

Deutsch D, Palmon A, Dafni L, Catalano-Sherman J, Young MF, Fisher LW. 1995. The enamelin (tuftelin) gene. *Int. J. Dev. Biol.* **39**: 135-143

Doi Y, Eanes ED, Shimokawa H, Termine JD. 1984. Modulation of seed enamel apatite crystal growth in vitro by enamel matrix amelogenin and enamelin proteins. In: Fearnhead RW & Suga S, eds. *Tooth enamel IV*. Amsterdam: Elsevire; 19-27

Dorst J. 1949. Remarques sur la dentition de lait des Chiropteres. *Mamm.***13**: 45-48

Dorst J. 1953. Note sur la dentition d un foetus de *Lavia frons* (Chiroptères, Mégadermatidés). *Mamm.* **17**: 83-84

Dorst J. 1957a. Considérations sur la dentition de lait des Chiroptères de la famille des Molossidés. *Mamm.* **21**: 133-135

Dorst J. 1957b. Note sur la dentition lactéale de *Tonatia amlyotis* (Chiroptères, Phillostomidés). *Mamm.* **21**: 302-304

Dumont ER. 1995. Enamel thickness and dietary adaptation among extant Primates and Chiropterans. *J. Mamm.* **76 (4)**: 1127-1136

Evans AR. 2005. Connecting morphology, function and tooth wear in microchiropterans. *Biol. J. Linn. Soc.* **85**: 81-96

Evans AR, Sanson GD. 1998. The effect of tooth shape on the breakdown of insects. *J. Zool. Lond.* **246**: 391-400

Evans AR, Sanson GD. 2005. Correspondence betweem tooth shape and dietary biomechanical properties in insectivorous microchiropterans. *Evol. Ecol. Res.* **7**: 453-478

Evans AR, Sanson GD. 2006. Spatial and functional modeling of carnivore and insectivore molariform teeth. *J. Morph.* **267**: 649-662

Fenton MB. 1970. Deciduous dentition and its replacement in *Myotis lucifugus* (Chiroptera – Vespertilionidae). *Can. J. Zool.* **48 (4)**: 817-820

Fincham AG, Luo W, Moradian-Oldak J, Paine ML, Snead ML, Zeichner-David M. 2000. Enamel biomineralization: the assembly and disassembly of the protein extracellular oragnic matrix. In: Teaford MF, Smith M-M, Ferguson MWJ, eds. *Development function and evolution of teeth.* Edinburgh: Cambridge University Press; 37-61

Flynn JJ, Parrish JM, Rokotosamimanana B, Simpson WF, Wyss AR. 1999. A Middle Jurassic mammal from Madagascar. *Nature* **401**: 57-60

Forman GL, Baker RJ, Gerberde JD. 1968. Comments on systematic status of vampire bats (family Desmodontidae). *Syst. Zool.* **17(4)**: 417-425

Fortelius M. 1984. Vertical decussation of enamel prims in lophodont ungulates. In: Fearnhead RW & Suga S, eds. *Tooth enamel IV*. Amsterdam: Elsevire; 427-431

Freeman PW. 1979. Specialized insectivory: beetle-eating and moth-eating Molossid bats. *J. Mamm.* **60(3)**: 467-479

Freeman PW. 1981. Correspondence of food habits and morphology in insectivorous bats. *J. Mamm.* **62(1)**: 166-173

Freeman PW. 1988. Fructivorous and animalivorous bats (Microchiroptera): dental and cranial adaptations. *Biol. J. Linn. Soc.* **33**: 249-272

Freeman PW. 1992. Canine teeth of bats (Microchiroptera): size, shape and role in crack propagation. *Biol. J. Linn. Soc.* **45**: 97-115

Freeman PW. 1998. Form, function, and evolution in skulls and teeth of bats. In: Kunz TH, Racey PA, eds. *Bat biology and conservation.* Washington: Smithsonian Institution Press; 140-156

Freeman PW. 2000. Macroevolution in Microchiroptera: Recoupling morphology and ecology with phylogeny. *Evol. Ecol. Res.* **2**: 317-335

Friant M. 1951. A dentition temporaire, diete lacteale, de la Rousette (*Rousettus leachi* A. Sm.), Chiroptère fruguivore. *C. R. Acad. Sci.* **233**: 890-892

Friant M. 1963. Recherches sur la formule et la morphologie des dents temporaires des Chiroptères. *Ac. Anat.* **52(1-2)**: 90-101

Friant M. 1964. Sur le développement de l'énamel tubulé des Chiroptera. *Acta Zoo.l* **45**: 133-138

Fearnhead RW. 1960. Mineralization of rat enamel. *Nature* **188**: 509-510

Fosse G, Eskidsen O, Risnes S, Sloan RE. 1978. Prism size in tooth enamel of some late Cretaceous mammals and its value in multituberculate taxonomy. *Zool. Scripta* **7**: 57-61

Fosse G, Risnes S, Holmbakken M. 1973. Prisms and tubules in multituberculate enamel. *Calc. Tiss. Res.* 11: 133-150

Frank RM, Sognnaes RF. 1960. Electron microscopy of matrix formation and calcification in rat enamel. *Arch. Oral. Biol.* **1**: 339-348

Funakoshi K, Fukue Y, Tabata S. 1992. Tooth development and replacement in the Japanese Greater Horseshoe Bat, *Rhinolophus ferrumequinum nippon. Zool. Sci.* **9(2)**: 445-450

Gaunt WA, Miles AEW. 1967. Fundamental aspects of tooth morphogenesis. In: Miles AEW, ed. *Structural and chemical organization of teeth. Vol. I.* New York: Academic Press; 151-197

Grassé P-P. 1955. Ordre des chiroptères. In: Grassé P-P, ed. *Traité de zoologie. Anatomie, systématique, biologie, 2nd ed. 16.* Paris: Libraires de l'Academie de Médicine; 1173-2300

Grine FE, Vrba RW. 1980. Prismatic enamel: a preadaptation for mammalian diphyodonty? *S. Afr. J. Sci.* **76**: 139-141

Güttinger Rv, Zahn A, Krapp F, Schober W. 2001. *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) – Großes Mausohr, Großmausohr In: Krapp F, ed. *Handbuch der Säugetiere Europas – Band 4: Fledertiere I.* Graz: Aula-Verlag, 123-208

Hanamura H. 1989. Ontogeny of cusp and tooth replacement in the Insectivora. *Mammal. Sci.* **19(2)**: 1-12

Hermanson JW, Woods CA, Howell KM. 1982. Dental ontogeny in the Old-World Leaf-Nosed bats (Rhinolophidae, Hipposiderinae). *J. Mamm.* **63(3)**: 527-529

Hershkovitz P. 1971. Basic Crown Patterns and Cusp Homologies of Mammalian Teeth. In: Dahlberg AA, ed. *Dental Morphology and Evolution.* Chicago: Univ. of Chicago Press, 95-150

Hwang SH. 2005. Phylogenetic patterns of enamel microstructure in Dinosaur teeth. *J. Morph.* **266**: 208-240

Jernvall J. 1995. Mammalian molar cusp patterns: Developmental mechanism of diversity. *Acta Zool. Fennica* **198**: 3-61

Jernvall J. 2006. Mammalian dentition: from development and genes to fossils. *J. Vert.*

Paleon. **26 (3)** Suppl.: 82A

Jernvall J, Thesleff Y. 2000a. Reiterative signaling and pattering during mammalian tooth morphogenesis. *Mech. Dev.* **92**: 19-29

Jernvall J, Thesleff Y. 2000b. Return of lost structure in the developmental control of tooth shape. In: Teaford MF, Smith M-M, Ferguson MWJ, eds. *Development function and evolution of teeth.* Edinburgh: Cambridge University Press; 19-29

Koenigswald Wv. 1997a. Brief survey of enamel diversity at the schmelmuster level in Cenozoic placental mammals. In: Koenigswald Wv, Sander PM, eds. *Tooth Enamel Microstructure.* Rotterdam: Balkema; 137-162

Koenigswald Wv. 1997b. Evolutionary trends in the differentiation of mammalian enamel ultrastructure. In: Koenigswald Wv, Sander PM, eds. *Tooth Enamel Microstructure.* Rotterdam: Balkema; 203-235

Koenigswald Wv. 2000. Two different strategies in enamel differentiation: Marsupialia vs. Eutheria. In: Teaford MF, Smith M-M, Ferguson MWJ, eds. *Development function and evolution of teeth.* Edinburgh: Cambridge University Press; 107-118

Koenigswald Wv, Clemens WA. 1992. Levels of complexity in the microstructure of mammalian enamel and their application in studies of systematic. *Scanning Microsc.* **6(1)**:195-218

Koenigswald Wv, Rensberger JM, Pretzschner HU. 1987. Changes in the tooth enamel of early Paleocene mammals increased diet diversity. *Nature* **328**: 150-152

Koenigswald Wv, Sander PM. 1997a. Glossary of terms used for enamel microstructure. In: Koenigswald Wv, Sander PM, eds. *Tooth Enamel Microstructure*. Rotterdam: Balkema; 267-280

Koenigswald Wv, Sander PM. 1997b. Schmelzmuster differentiation in leasing and trailing edges, a specific biomechanical adaptation in rodents. In: Koenigswald Wv, Sander PM, eds. *Tooth Enamel Microstructure.* Rotterdam: Balkema; 259-266

Krátký J. 1970. Postnatale Entwicklung des Grossmausohrs, *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797). *Acta Soc. Zool. Bohemoslov.* **23(3)**: 202-218

Krátký J. 1981. Postnatale Entwicklung der Wasserfledermaus, *Myotis daubentoni* Kuhl,

1819 und bisherige Kenntnis dieser Problematik im Rahmen der Unterordnung Microchiroptera (Mammalia: Chiroptera). *Fol. Mus. Rer. Natur. Bohem. Occident., Plzeň, Zool.* **16**: 1-34

Krátký J. 1988. The deciduous tooth morphology in the Mystacine bat, *Myotis mystacinus* (Mammalia, Chiroptera). *Acta Soc. Zool. Bohemoslov.* **52**: 22-27

Kunz TH. 1973. Population studies of the cave bat (*Myotis velifer*), reproduction, growth, and development. *Occas. Pap. Mus. Nat. Hist. Univ. Kans.* **15**: 1-43

Kurten B. 1957. A case of Darwinian selection in bears. *Evolution, Lancaster, Pa.* **11**: 412-416

Leche W. 1875. Studier öfver mjölkdentitionen och tändernas homologier hos Chiroptera. *Lunds Univ. Årsskr.* **12**: 1-47

Leche W. 1877. Studien über Milchgebiss und die Zahnhomologien bei den Chiropteren. *Arch. f. Naturgeschichte* **43**: 1-47

Leche W. 1878. Zur Kenntniss des Milchgebisses in der Zahnhomologien bei Chiroptera, II Teil. *Lunds Univ. Årsskr.* **12**: 1-47

Lester KS, Boyde A. 1987. Relating developing surface to adult ultrastructure in chiropteran enamel by SEM. *Adv. Dent. Res.* **1(2):** 181-190

Lester KS, Hand SJ. 1987. Chiropteran enamel structure. *Scanning Microsc.* **1:** 421-436

Lester KS, Hand SJ, Vincent F. 1988. Adult phyllostomid (bat) enamel by scanning electron microscopy – with note on dermopteran enamel. *Sanning Microsc.* **2:** 371-383

Lester KS, Koenigswald Wv. 1989. Crystallite orientation discontinuites and the evolution of mammalian enamel – or, when is a prism? *Scanning Microsc.* **3(2)**: 645-663

Loher R. 1929. Beitrag zum groberen und feineren (submikroskopischen) Bau des Zahnschmelzes und der Dentinfortsatze von *Myotis myotis*. *Z. Zellforsch.* **10:** 1-37

Lucas P. 2004. *Dental functional morphology: How teeth work.* Edinburh: Cambridge University Press. 355 pp.

Lucas P, Constantino P, Wood B, Lawn B. 2008. Dental enamel as dietary indicator in

mammals. *Bioessays* **30 (4):** 374-385

Luo Z-X, Cifelli RL, Kielan-Jaworowska Z. 2001. Dual origin of tribosphenic mammals. *Nature* **409**: 53-57

Luo Z-X, Ji Q, Yuan C-X. 2007. Convergent dental adaptations in pseudo-tribosphenic and tribosphenic mammals. *Nature* 450: 93-97

Marshal PM, Butler PM. 1966. Molar cusp development in the bat, *Hipposideros beatus*, with reference to the ontogenetic basis. *Archs. Oral. Biol.* **11**: 949-965

Martin T. 2008. Dental evolution in Mesozoic mammals. *14th International Symposium on Dental Morphology: Program & Abstracts*: O3

Mathur AK, Polly PD. 2000. The Evolution of Enamel Microstructure: How Important Is Amelogenin? *J. Mamm. Evol.* **7(1)**: 23-42

Matthews LH. 1950. La dentition de lait chez *Nyctalus leisleri* (Kuhl.). *Mamm.* **14**: 11-13

Miller GS. 1896. Note on the milk dentition of *Desmodus*. *Proc. Biol. Soc. Washington* **10**: 113-114

Miller GS. 1907. The families and genera of bats. *Bull. US Nat. Mus.* **57**: 1-282

Míšek I, Štěrba O. 1989. Developmental anatomy of the mole *Talpa europaea*. X. Development of dentition. *Folia Zool.* **38**: 59-67

Míšek I, Witter K. 2002. Die ontogenetische Entwicklung des Gebisses beim Großen Mausohr (*Myotis myotis*, Chiroptera). *Wein. Tierärztl. Mschr.* **89**: 1-6

Moss ML. 1969. Evolution of mammalian dental enamel. *Am. Mus. Nov.* **2360**: 1-39

Moss-Salentijn L, Moss ML, Yuan MS. 1997. The ontogeny of mammalian enamel. In: Koenigswald Wv, Sander PM, eds. *Tooth Enamel Microstructure*. Rotterdam: Balkema; 5-30

Nelson CE. 1966. The deciduous dentition of the Central American phyllostomid bats *Macrotus waterhousii* and *Pteronotus suapurensis*. *Southwestern Nat.* **11**: 142-143

Nievelt AFHv, Smith KK. 2005. Tooth eruption in M*onodelphis domestica* and its significance for phylogeny and natural history. *J. Mamm.* **86 (2)**: 333-341

Osborn HF. 1888. The evolution of mammalian molars and form the tritubercular type.

Amer. Nat. **22 (264)**: 1067-1079

Osborn HF. 1893. Recent researches upon the succession of the teeth in Mammals. *Amer. Nat.* **27 (318)**: 493-508

Osborn HF. 1897. Tritubercuły: A review dedicated to the late professor Cope. *Amer. Nat.* **31 (372)**: 993-1016

Owen R. 1840-1845. *Odontography* . London. 665 pp.

Pegels JF, Jones C. 1974. Growth and development of the free-tailed bat, *Tadarida rasiliensis cynocephala* (Le Conte). *Southwest. Natur.* **19**: 267-276

Peterson P. 1968. Biology of oral tissues and oral disease: Darwin and Quantum. In: Peterson P, ed. *Biology of the mouth.* Washington: Publ. Amer. Assoc. Adv. Sci. **89**; 1-309

Peyer B. 1968. *Comparative odontology.* Chicago: University of Chicago Press. 347 pp.

Phillips CJ. 1971. The dentition of Glossophagine bats: Development, morphological characteristics, variation, pathology, and evolution. *Univ. of Kansas Mus. Nat. Hist. Misc. Publ.* **54**: 1-138

Phillips CJ. 2000. A theoretical consideration of dental morphology, ontogeny, and evolution in bats. In: Adams RA, Pedersen SC, eds. *Ontogeny, functional ecology, and evolution of bats.* Cambridge: Cambridge Univ. Press; 247-275

Pole DFG. 1967. Phylogeny of tooth tissues: Enameloid and enamel in recent vertebrates, with a note on the history of cementum. In: Miles AEW, ed. *Structural and chemical organization of teeth. Vol. I.* New York: Academic Press; 111-149

Polly PD, Le Comber SC, Burland TM. 2005. On the occlusal fit of tribosphenic molars: are we understanding species diversity in Mesozoic? *J. Mamm. Evol.* **12 (1/2)**: 283-299

Reeder WG. 1953. The deciduous dentition of the Fish-eating Bat, *Pizonyx vivesi. Occ. Pap. Mus. Zool. Univ. Mich.* **545**: 1-5

Rensberger JM. 2000. Pathways to functional differentiation in mammalian enamel. In: Teaford MF, Smith M.M, Ferguson MWJ, eds. *Development function and evolution of teeth.* Edinburgh: Cambridge University Press; 252-268

Revilliod P. 1917. Fledermäuse aus der Braunkohle von Messel bei Darmstadt. *Abhandl. Hessischen Geol. Landesanstalt, Darmstadt* **7**: 159-196

Sahni A, Lester KS. 1988. The nature and significance of enamel tubules in therapsids and mammals. In: Russell DE, Santoro J-P, Sigogneau-Russell D, eds. *Teeth revised: Proceedings of the 7th International symposium on dental morphology, Paris 1986. Mém. Mus. Natn. Hist. Nat., Paris (Série C)* **53**: 89-99

Sander PM. 1995. *The microstructure of reptilian tooth enamel: Terminology, function, and Phylogeny.* Unpublished Habitalitation Thesis, Un. of Bonn. 191 pp.

Sander PM. 1997. Non-mammalian synapsid enamel and the origin of mammalian enamel prisms: The bottom-up perspective. In: Koenigswald Wv, Sander PM, eds. *Tooth enamel microstructure*. Rotterdam: Balkema; 41-62

Sander PM. 2000. Prismless enamel in amniotes: terminology, function, and evolution. In: Teaford MF, Smith M-M, Ferguson MWJ, eds. *Development function and evolution of teeth.* Edinburgh: Cambridge University Press; 92-106

Sasaki S, Shimokawa H. 1995. The amelogenin gene. *Int. J. Dev. Biol.* **39**: 127-133

Scott JH. 1967. *Introduction to dental anatomy – 5th ed.* Edinburgh: Livingstone ltd. 327 pp.

Sehic A, Peterková R, Lesot H, Risnes S. 2009. Distribution and structure of the initial dental enamel formed in incisors of young wild-type and Tabby mice. *Eur. J. Oral. Sci.* **117**: 1-11

Sharpe PT. 2000. Homeobox genes in initiation and shape of teeth during development in mammalian dentition. In: Teaford MF, Smith M-M, Ferguson MWJ, eds. *Development function and evolution of teeth.* Edinburgh: Cambridge University Press; 3-12

Shellis RP. 1984. Inter-relationships between growth and structure of enamel. In: Fearnhead RW & Suga S, eds. *Tooth enamel IV*. Amsterdam: Elsevire; 467-471

Simpson GG. 1936. Studies of the earliest mammalian dentitions. *D. Cosmos* **78:** 791-800; 940-953

Sklenář J. 1962. Poznámky k biologii a postnatálnímu vývoji mláďat netopýra velkého (*Myotis myotis* Borkh.). *J. Natl. Mus. (Prague), Nat. Hist. Ser*: 147-154

Slaughter BH. 1970. Evolutionary trends of chiropteran dentitions. In: Slaughter BH, Walton WD, eds. *About bats*. Dallas: Southern Methodist Univ. Press; 51-83

Spillman F. 1927. Beiträge zur Biologie des Milchgebisses des Chiropteren. *Abhandl. Senckenberg. Naturf. Gesellsch.* **40**: 249-255

Stegeman LC. 1956. Tooth development and wear in *Myotis*. *J. Mamm.* **37(1)**: 58-63

Torres CBB, Alves JB, Silva GAB, Goes VS, Nakao LYS, Goes AM. 2008. Role of BMP-4 during tooth development in a model with complete dentition. *Archs. Oral. Biol.* **53**: 2-8

Torres CBB, Goes VS, Goes AM, Pacificko LGG, Silva GAB, Lopes N, Alves JB. 2006. Fibroblast growth factor 9: cloning and immunolocalization during tooth development in *Didelphis albiventris*. *Archs. Oral. Biol.* **51**: 263-272

Tucker A, Sharpe P. 2004. The cutting-edge of mammalian development; How the embryo makes teeth. *Nature reviews: Genetics* **5**: 499-508

Van der Merwe M. 1985. Deciduous teeth and their replacement in *Miniopterus schreibersii natalensis*. *S. Afr. J. Zool.* **20(2)**: 72-76

Veis A. 2005. A window on biomineralization. *Science* **307**: 1419-1420

Wakita M, Shioi T. 1984. Three-dimensional correlation between enamel crystalite arrangement and Tomes' processes: computed representation. In: Fearnhead RW & Suga S, eds. *Tooth enamel IV*. Amsterdam: Elsevire; 478-482

Washawsky H, Bai P, Nanci A, Josephsen K. 1984. Morphological visualization of twocategories of enamel proteins in relation to the crystals. In: Fearnhead RW & Suga S, eds. *Tooth enamel IV*. Amsterdam: Elsevire; 177-182

Webster WD. 1981. Tooth replacement in *Myotis albescens*. *J. Mamm.* **1(9)**: 422-423

Wood CB, Stern DN. 1997. The earliest prisms in mammalian and reptilian enamel. In: Koenigswald Wv, Sander PM, eds. *Tooth enamel microstructure*. Rotterdam: Balkema; 63-83

Woodburne MO, Rich TH, Springer MS. 2003. The evolution of tribospheny and the antiquity of mammalian clades. *Molecular Phylogen. and Evol.* **28**: 360-385

Zhao Z, Weiss KM, Stock DW. 2000. Development and evolution of dentition patterns and their genetic basis. In: Teaford MF, Smith M-M, Ferguson MWJ, eds.

Development function and evolution of teeth. Edinburgh: Cambridge University Press; 152-172

Přílohy

Příloha I.....Enamel microarchitecture of a tribosphenic molar

Příloha II..... Molar eruption dynamics and enamel maturation in vespertilionid bats

Příloha III.....
Why triboshenic? On variation and constraints in developmental dynamics of chiropteran molars

Příloha IV .....Seznam zkratek a vybraných termínů

Příloha V .....C.V.

Enamel microarchitecture of a tribosphenic molar

- Příloha I -

Enamel microarchitecture of a tribosphenic molar

Authors:

František Špoutil (1), Vojtěch Vlček (2), Ivan Horáček (3)

Addresses:

(1) Department of Zoology, Faculty of Science, University of South Bohemia, Branišovská 31, České Budějovice, Czech Republic

(2) Institute of Geochemistry, Mineralogy and Mineral Resources, Faculty of Science, Charles University, Albertov 6, Prague, Czech Republic

(3) Department of Zoology, Faculty of Science, Charles University, Viničná 7, Prague, Czech Republic

Short title:

Enamel microarchitecture of a tribosphenic molar

Abstract

The tribosphenic molar is a key dental apomorphy of mammals and the molar type from which all derived types originated. Its enamel coat is expected to be primitive: a thin, evenly distributed layer of radial prismatic enamel. In the model species (a bat, *Myotis myotis*) we reinvestigated the 3D architecture of the dental enamel using serial sectioning combined with SEM analyses, biometrics of enamel prisms and crystallites and X-ray diffraction. We found distinct heterotopies in enamel thickness (thick enamel on the convex sides of the crests, thin on the concave ones), angularity of enamel prisms and in distribution of particular enamel types (prismatic, interprismatic, aprismatic) and demonstrated structural relations of these heterotopies to the cusp and crest organization of the tribosphenic molar. X-ray diffraction demonstrated that the crystallites composing the enamel are actually the aggregates of rather smaller primary crystallites (i.e., SEM indicates that the crystallites are about $1.5x10^{-2}$ μm^3, while X-ray diffraction suggests they are $1.5x10^{-5}$ μm^3). The differences among particular enamel types in degree of crystallite aggregation and the variation in structural microstrain of the primary crystallites (depending upon the duration and the mechanical context of mineralization) represent factors not fully understood as yet that may contribute to the complexity of enamel microarchitecture in a significant way.

Key words: tribosphenic molar, enamel microstructure; hydroxyapatite; microstrain; scanning electron microscopy; X-ray diffraction

Molar eruption dynamics and enamel maturation in vespertilionid bats

- Příloha II -

Authors:

František Špoutil (1), Ivan Horáček (2)

Title:

Molar eruption dynamics and enamel maturation in vespertilionid bats

Affiliations and addresses:

(1) Department of Zoology, Faculty of Science, University of South Bohemia, Branišovská 31, České Budějovice, Czech Republic

(2) Department of Zoology, Faculty of Science, Charles University, Viničná 7, Prague, Czech Republic

Abstract

We studied molar eruption in the postnatal development of vespertilionid bats, from the aspects of craniometry, eruption process description, surface structure of erupting teeth, microstructure of premature enamel, and morphology of enamel organ, to uncover mechanisms of perfect occlusion development in tribosphenic molar dentition. Digital morphometry and scanning electron microscopy were used to reach our goal. We presume, that (i) tuning up of the occlusion can be caused just mechanically due the contact of the opposing teeth during eruption, where (ii) faster developing lower molars serve as template for upper molars, (iii) whose structure is modular and their cusps fuse together gradually during the time of eruption. This kind of development is made possible by (i) eruption of the cusp tips in the time, when mineralization process is not finished in the basal parts of the tooth; (ii) delayed mineralization of interprismatic matrix and outer aprismatic layer according to enamel prisms; (iii) primal eruption of talonid in lower molars; and (iv) delayed fusion of protocone and metacone as well as of the trigon base in upper molars.

Keywords: occlusion, premature enamel, tooth eruption, tribosphenic molar

Why triboshenic? On variation and constraints in developmental dynamics of chiropteran molars

- Příloha III -

Seznam zkratek a vybraných termínů

- Příloha IV -

abraze – opotřebování povrchu zubů kontaktem s potravou (v zubařské literatuře jako „otření")

ameloblast – epiteliální buňka ektodermálního původu produkující sklovinu

amelogeneze – tvorba skloviny

ANOVA = analysis of varinace – analýza variance

APE = aprismatic enamel – aprismatická sklovina

aprismatická sklovina (APE) – v této práci označuje vnější vrstvu skloviny při OES, kde již nejsou patrná sklovinová prismata

atrice – opotřebování povrchu zubů kontaktem s jiným (protilehlým) zubem (v zubařské literatuře jako „abraze")

bezprismatická sklovina – sklovina, kde nejsou v celé její mocnosti patrná sklovinová prismata

bukální směr – vně, směrem k tvářím

BMP-4 = bone morphogenetic protein 4 – růstový faktor, který reguluje tvorbu zubů, končetin a kostí z mezodermu a je aktivován i při hojení zlomenin

cingulum/-id – sklovinový šelf při bázi zubní korunky horních / dolních zubů

cross-striation – příčné šrafování krystalitu HAP vzniklé střídáním více a méně mineralizovaných částí

C.V. = coefficient of variation – koeficient variance = standardní odchylka dělená průměrem

deflekce – úhlová změna v inklinaci prismat

DEJ – viz. EDJ

deklinace – úhlový odhad odklonu prismatu od roviny vertikálního řezu, 0° = zcela rovnoběžný s rovinou řezu, ±90° = zcela kolmý na rovinu řezu, kladné hodnoty směrem k pozorovateli

dekuzace – opakovaná změna inklinace / deklinace prismat u HSB

dentin (= zubovina) – část zubu tvořená HAP a významným poměrem organické složky, produkovaná mezenchymálními odontoblasty

difylodontní dentice – dentice se dvěmi generacemi zubů

distokristid – hřeben spojující entokonid s hypokonulidem

distální směr – k čelistnímu kloubu

distostyl/-id – distální vedlejší hrbolek u unikuspidních zubů – u molárů odpovídá metastylu / hypokonulidu

EDA = ectodysplasin – membránový protein, který je proteolyticky uvolňován do mezibuněčného prostoru a tím zajišťuje komunikaci mezi buňkami a který hraje významnou roli při vývoji ektodermálních orgánů

EDJ = enamel-dentin junction – sklovino-dentinové rozhraní

entokonid – disto-linguální hrbolek spodního moláru, vývojově odpovídá hypokonu horního moláru

entokristid – hřeben spodního moláru spojující metakonid s entokonidem

eokon/-id – hlavní zubní hrbolek (horní / dolní čelist) – u molárů odpovídá parakonu / protokonidu

eokrista – hlavní hřeben horního moláru zahrnující parastyl, parakon, mesiostyl, metakon a metastyl, dělí se dále na mesiální (parakrista), centrální (centrokrista = postparakrista + premetakrista) a distální (metakrista) část

eokristid – hlavní hřeben spodního moláru zahrnující parakonid, protokonid, hypokonid a hypokonulid / entokonid, dělí se na mesiální (parakristid), centrální (centrokristid) a distální (hypokristid) část

FGF-9 = fibroblast growing factor 9 – lidský glia-aktivující faktor, u nějž byla v případě myši prokázána závislost exprese na signálu Sonic hedgehog (SHH)

gap-junction – typ mezibuněčného spojení živočišných buněk, které propojuje přímo cytoplasmy a umožňuje tak volný mezibuněčný pohyb malých molekul a iontů

gigantoprismatická sklovina – sklovina vyznačující se velkými prismaty (v průměru kolem 8 μm) typická pro některé zástupce skupiny Multituberculata

gingíva – dáseň

HAP = hydroxyapatit

horizontální deflekce – změna v deklinaci prismat

HSB = Hunter-Schreger Bands – Hunter-Schregerovy pásky

Hunter-Schregerovy pásky (HSB) – optický projev dekuzace prismat, typ uspořádání skloviny

hydroxyapatit (HAP) – hlavní anorganická složka skloviny i dentinu tvořící krystality

hypokon – disto-palatální hrbolek horního moláru, vývojově odpovídá entokonidu spodního moláru, u *Myotis myotis* nepřítomen

hypokonid – disto-bukální hrbolek spodního moláru, vývojově odpovídá metakonu horního moláru

hypokonulid (= distostylid) – distální vedlejší hrbolek spodního moláru

inklinace – úhlová odchylka prismatu od kolmice k EDJ ve vertikálním řezu sklovinou, kladné hodnoty směrem k vrcholu zubu

interprismatická matrix (IPM) – hmota skloviny vyplňující prostor mezi prismaty a oddělená od nich velkou diskontinuitou, prismatickou pochvou

IPM = intreprismatic matrix – interprismatická matrix

labiální směr – vně, směrem ke rtům, odpovídá bukálnímu směru

linguální směr – dovnitř, směrem k jazyku (ve spodní čelisti)

malá diskontinuita – jiná diskontinuita než prismatická pochva, viz. též prismatický šev

mesiální směr – do středu zubní řady

mesiostyl – viz. parastyl

mesostyl – bukální vedlejší hrbolek mezi para- a metakonem

metakon – disto-bukální hrbolek horního moláru, vývojově odpovídá hypokonidu spodního moláru

metakonid – linguální hrbolek spodního moláru, vývojově odpovídá protokonu horního moláru

metastyl (= distostyl) – distální vedlejší hrbolek horního moláru

monofylodontní dentice – dentice s jedinou generací zubů

multikuspidní zub – zub s více hlavními hrbolky

myotodontní dentice – distální eokristid spojuje hypokonid s entokonidem, pokročilejší stav

nepravidelná sklovina – typ prismatické skloviny, kde dekuzace neprobíhá v pravidelných vrstvách

nyctalodontní dentice – distální eokristid spojuje hypokonid s hypokonulidem, původnější stav

odontoblast – mezenchymální buňka produkující dentin

odontogenze – tvorba zubu

OES = outer enamel surface – vnější povrch skloviny

okluze – způsob, jakým do sebe zapadají zuby horní a dolní čelisti

palatální směr – dovnitř, směrem k patru (pro horní čelist)

parakon – mesio-bukální hlavní hrbolek horního moláru, vývojově odpovídá protokonidu spodního moláru

parakonid – mesio-linguální hrbolek spodního moláru

parastyl (= mesiostyl) – mesiální vedlejší hrbolek horního moláru

PCA = principal component analysis – analýza hlavních komponent

plagiokrista – hřeben horního moláru spojující proto- a metakon

prisma – hlavní složka savčí skloviny oddělená od zbytku sklovinové hmoty velkou diskontinuitou, prismatickou pochvou

prismatická pochva (= velká diskontinuita) – hranice mezi prismatem a IPM, respektive jejich krystality vzniklá velkou úhlovou změnou v dosedajících krystalitech obou složek

prismatický šev (= malá diskontinuita) – primitivní znak savčí skloviny, směřuje ze středu prismatu do IPM přes podkovovitě otevřený konec prismatu

protokon – (mesio-)palatální hrbolek horního moláru, vývojově odpovídá metakonidu ve spodním moláru

protokonid – mesio-bukální hlavní hrbolek spodního moláru, vývojově odpovídá parakonu horního moláru

protokrista – hřeben horního moláru spojující parastyl s protokonem

protokristid – hřeben spodního moláru spojující protokonid s metakonidem

pseudotribosfénický molár – typ stoličky, kde „talonid" a „trigonid" jsou v obráceném pořadí – pseudotrigonid je distálně a pseudotalonid je mesiálně, pouze u fosilních savců

radiální sklovina – sklovina, kde prismata vedou rovnoběžně od EDJ k OES

Retziovy linie – v intervalech se vyskytující pruhy hypomineralizované skloviny

SCE = synapsid columnar enamel – synapsidní sloupovitá sklovina

schmelzmuster – trojrozměrná organizace sklovinového pláště

sklovina – část zubu tvořená v maturované verzi z valné části HAP a jen se zanedbatelným obsahem organické hmoty, produkovaná ektodermálními ameloblasty

sklovino-dentinové rozhraní (EDJ, DEJ) – hranice mezi sklovinou a dentinem a tedy mezi neuroektodermem a ektodermálním mezenchymem uvnitř zubu

sklovinové prisma – viz. prisma

synapsidní sloupovitá sklovina (SCE) – pokročilé stádium bezprizmatické skloviny v synapsidní linii plazů organizované do sloupovitých struktur o nepravidelném polygonálním průřezu

talon – mladší část horního moláru tvořená distálním cingulem a hypokonem

talonid – mladší, distální část spodního moláru tvořená hypo- a entokonidem a jejich bází

tangenciální sklovina – podobně jako u radiální prismatické skloviny zde není dekuzace, ale narozdíl od ní prismata směřují horizontálně a ne apikálně

Tomesovy výběžky – proximální výběžky ameloblastů podílející se na tvorbě prismatické skloviny

tribosfénický molár – výchozí typ savčího moláru typický trikuspidním trigonem/-idem a na něj distálně napojeným talonem/-idem, kde metakon horního moláru zapadá do báze talonidu spodního moláru.

trigon – hlavní část horního moláru tvořená para-, meta- a protokonem a jejich bází

trigonid – hlavní (mesiální) část spodního moláru tvořená proto-, meta- a parakonem a jejich bází

typ skloviny – prisma / IPM / APE

unikuspidní zub – zub s jedním hlavním hrbolkem

velká diskontinuita – viz. prismatická pochva

Příloha V: C.V.



Mgr. František Špoutil

narozen: 1979, Praha, Česká republika

Vzdělání:

1997 – maturitní zkouška – gym. Pernerova 25, Praha 8 – Karlín

2000 – bakalářská státní zkouška – Jihočeská Univerzita, Biologická fakulta

Téma bakalářské práce: Morfometrická analýza vnitrodruhové proměnlivosti vrápence velkého (*Rhinolophus ferrumequinum*)

Školitel: prof. RNDr. Ivan Horáček, CSc.

2003 – magisterská státní zkouška – Jihočeská Univerzita, Biologická fakulta

Téma magisterské diplomové práce: Geografická proměnlivost vrápencovitých: sympatrický posun, paralelizmus nebo divergence?

Školitel: prof. RNDr. Ivan Horáček, CSc.

Od r. 2003 – postgraduální doktorský studijní program na katedře zoologie, Jihočeská Univerzita, Přírodovědecká fakulta.

Téma doktorské disertační práce: Mikrostruktura tribosfénického moláru – srovnávací analýza

Školitel: prof. RNDr. Ivan Horáček, CSc.

Jazykové dovednosti: čeština (rodilý mluvčí), angličtina, němčina, japonština (základy), ruština (základy).

Členství: Česká společnost pro ochranu netopýrů (ČESON)

Stáže a studijní pobyty:

únor 2007 – School of X-ray imaging techniques v ESRF, Grenoble, Francie

listopad 2007 + červen 2008 – Evolution & Development unit, Institute of Biotechnology, University of Helsinki, Helsinki, Finsko

Zaměstnání:

duben až prosinec 2007 + od června 2009 – oddělení teratologie, laboratoř odontogeneze, Ústav Experimentální Medicíny AV ČR, v.v.i., Praha 4

od února 2008 do prosince 2009 – oddělení propagace, Přírodovědecká fakulta, Jihočeská Univerzita, České Budějovice

Granty:

2004 – 2008 – účast na evropském výzkumném programu COST B23: Oral and Facial Development

Publikace:

- krátké články v impaktovaných žurnálech:

Horáček I, Špoutil F, Vrabcová S. 2007. Odontogenetics of tribosphenic molars: developmental background of a major mammalian apomorphy. *J. Morph.* **268(12)**: 1086 (IF = 1,702)

Robovský J, Špoutil F, Říčánková V. 2007. Schmelzmuster of *Alticola strelzovi* and *Lasiopodomys brandrtii* (Arvicolinae, Rodentia) and its evolutionary polarization. *J. Morph.* **268(12)**: 1124-1125 (IF = 1,702)

- plné publikace:

Špoutil F, Vlček V, Horáček I. In Print. Enamel microarchitecture of a tribosphenic molar. *J. Morph.* (IF = 1,702)

Konference a konferenční příspěvky:

únor 2004 – Zoologické dny, Brno, Česká republika

Špoutil F, Horáček I. Geografická proměnlivost vrápencovitých

duben 2004 – Workshop COST B23: Oral-facial development and morphogenesis, Ghent, Belgie

Horáček I, Špoutil F. Dental phenotype in vespertilionid bats: a comment on variation and constraints

červenec 2004 – 9th Congress Teeth morphogenesis and development, York, Velká Británie

Horáček I, Špoutil F. Tribosphenic molar: developmental architecture of its enamel coat

srpen 2004 – 13th International Bat Research Conference, Mikolajki, Polsko

Horáček I, Špoutil F. Why tribosphenic? On mystery of chiropteran teeth

říjen 2004 – Workshop COST B23: Oral-facial development and morphogenesis, Debrecen, Maďarsko

Špoutil F, Horáček I. Enamel patterns in tribosphenic molars

červenec-srpen 2005 – 9th International Mammalogical Congress, Sapporo, Japonsko

Horáček I, Špoutil F. Maturation of enamel in *Myotis myotis* (Chiroptera, Vespertilionidae)

Špoutil F, Horáček I. Geographic variability in European Horseshoe Bats (Rhinolophidae)

srpen 2005 – 10th European Bat Research Symposium, Galway, Irsko

Špoutil F, Horáček I. Size variability among populations of the Greater Horseshoe Bat, *Rhinolophus ferrumequinum* (Schreber 1774) in the Near East

únor 2006 – Zoologické dny, Brno, Česká republika

Špoutil F, Horáček I. Maturace zubní skloviny: a co na to netopýři?

květen 2006 – COST Action oral facial development and regeneration joint meeting of WG1-4, Helsinki, Finsko

Horáček I, Špoutil F, Vrabcová S. Why tribosphenic?

srpen 2006 – 1st European Evo-Devo Meeting, Praha, Česká republika

Horáček I, Špoutil F, Vrabcová S. Genetic signalling or contextual control? Regulation dynamics in development of mammalian dentitions

únor 2007 – Zoologické dny, Brno, Česká republika

Horáček I, Špoutil F, Vrabcová S. Evoluční vývojová biologie apomorfií: genetická determinace nebo kontextuálni regulace

červenec 2007 – 8th International Congress of Vertebrate Morphology, Paříž, Francie

Horáček I, Špoutil F, Vrabcová S. Odontogenetics of tribosphenic molars: developmental background of a major mammalian apomorphy

Robovský J, Špoutil F, Říčánková V. Schmelzmuster of *Alticola strelzovi* and *Lasiopodomys brandrtii* (Arvicolinae, Rodentia) and its evolutionary polarization

únor 2009 – Zoologické dny, Brno, Česká republika

Špoutil F, Horáček I. Postnatální vývoj dentice netopýra velkého (*Myotis myotis*)

- *neimpaktované příspěvky:*

Špoutil F. 2010. Ad GIS. *Vesmír* **89(1)**: 5

Špoutil F. 2010. Hybridní netopýři. *Vesmír* **89(6)**: 348-349

Špoutil F. 2010. Levá, pravá, přední, zadní. *Vesmír* **89(6)**: 350