

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA UNIVERZITY KARLOVY
katedra zoologie

Hana Ročková

Morfogeneze pletence pánevního a urostylu žab

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Ivan Horáček, CSc.
Konzultant: Doc. RNDr. Zbyněk Roček, DrSc.

Poděkování

Úvodem bych ráda poděkovala vedoucímu diplomové práce doc. RNDr. Ivanu Horáčkovi, CSc. a školiteli doc. RNDr. Zbyňku Ročkovi, DrSc. za vedení diplomové práce a poskytnutí cenných rad. Za pomoc při sběru a poskytnutí použitého materiálu děkuji Mgr. Jiřímu Brúnovi a Mgr. Lence Sedláčkové, oběma z PřF MU v Brně, Mgr. Pavle Havelkové z Biologické fakulty JU v Českých Budějovicích, Mgr. Davidu Fišerovi z muzea v Příbrami, Mgr. Karlu Královcovi a Mgr. Janu Duškovi, oběma z PřF UK v Praze, a Mgr. Borisu Ekrtovi z paleontologického oddělení Národního muzea v Praze.

Poděkování za pomoc při práci v laboratoři patří Mgr. Jorze Rudolfové, Haně Majorové. Mgr. Martinu Kuntdrátovi a Mgr. Josefu Hotovému děkuji za poskytnutí chemikálií a literatury.

Zvláštní dík náleží mojí rodině za podporu a toleranci.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala sama, pouze s použitím uvedené literatury.

OBSAH

1. Úvod	5
2. Materiál metodika	7
3. Výsledky	11
3.1. Morfogeneze pánevní oblasti <i>Discoglossus pictus</i>	11
3.2. Morfogeneze pánevní oblasti <i>Bombina variegata</i>	14
3.3. Morfogeneze pánevní oblasti <i>Bombina bombina</i>	20
3.4. Morfogeneze pánevní oblasti <i>Pelobates fuscus</i>	25
3.5. Morfogeneze pánevní oblasti <i>Xenopus laevis</i>	30
3.6. Morfogeneze pánevní oblasti <i>Bufo bufo</i>	35
3.7. Morfogeneze pánevní oblasti <i>Rana dalmatina</i>	41
3.8. Pánevní oblast různých ontogenetických stádií rodu <i>Palaeobatrachus</i>	45
4. Diskuse	47
4.1. Sacrum a variabilita této struktury	47
4.2. Urostyl a jeho variabilita	54
4.3. Pletenec pánevní	59
4.3.1. Ilium	61
4.3.2. Ischium	66
4.3.3. Pubis	67
5. Závěry	70
6. Seznam literatury	74

1. ÚVOD

Duellman a Truebová (1986) výstižně popsali skelet obojživelníků jako rigidní a zároveň flexibilní strukturu, která vyztučuje tělo, a zároveň umožňuje složitý pohyb.

Největší pohybová variabilita mezi obojživelníky se bezesporu vyvinula u žab a umožnila jim osídlit rozmanité typy prostředí. Zástupci Anura se pohybují plaváním, lezením a skákáním, které je považováno za nejodvozenější způsob lokomoce obojživelníků. Dále se u nich objevují i jiné schopnosti, např. zahrabávání se do substrátu. U žab mají hlavní podíl na těchto schopnostech zadní končetiny, které se pomocí pánevního pletence připojují k axiálnímu skeletu. Proto není divu, že se jednotlivé lokomoční typy žab od sebe liší i morfologií pánevní, sakrální a postsakrální částí kostry.

Pánev, zejména ilium, nese řadu druhově specifických znaků a právě tato struktura je nejčastěji používána při rutinním určování kosterních pozůstatků z vývržků sov nebo z fosilního záznamu (např. Böhme, 1977).

Mnoho prací se zabývá pletencem pánevním u fosilních obojživelníků a jejich předchůdců, jejich autory byli např. Eaton (1959), Hecht (1962), Sanchíz a Młynarski (1979) a dále Panchen a Smithson (1990). Anatomii nejstaršího obojživelníka *Ichthyostega* souhrnně popsal Jarvik (1996). Raným obojživelníkem pocházejícím z karbonských sedimentů je *Crassigyrinus scoticus*; jeho skeletem se zabývali Panchen a Smithson (1990). Labyrinthodontní obojživelníky z raného karbonu až střední jury studoval Wood a kol. (1985, z Warenové a Snella, 1991). Madagaskarský *Triadobatrachus massinoti* ze skupiny Proanura je fosilní obojživelník z triasu zmiňovaný např. Hechtem (1962, pod jménem *Protobatrachus*), Ragem a Ročkem (1989) a nejspíše tvoří mezičlánek mezi primitivními obojživelníky a žábami (Roček a Rage, 2000, z Heatwola a Carrolla, 2000).

První skutečnou žabu, *Prosalirus bitis*, studovali Shubin a Jenkins (1995) a Wakeová (1997). Jedinou vymřelou skupinou pravých žab (čeledi Palaeobatrachidae) se zabývali např. Fejérváry (1917), Portis (1922, z Heatwola a Carrolla, 2000) a Špinar (1972).

Kromě toho řada autorů studovala fosilní zástupce recentních čeledí. Jsou to například Fejérváry (1917), Noble (1924), Zwifel (1956), Hecht (1970), Sokol (1975), Baézová (1981, 1996), Böhme a kol. (1982), Baézová a Basso (1996), Bézová a Truebová (1997), Baézová a Rage (1998), Laucková a Tyler (1999), Bever (2002).

Studiem pánve recentních druhů obojživelníků se mnoho prací nezabývá a pokud ano, charakterizují pouze vnější morfologii (např. Madej, 1964; Michałowski, 1966), lebeční

skelet (např. Stadtmüller, 1936; Sokol, 1977), obecný ontogenetický vývoj axiálního skeletu (např. Shishkin, 1989), měřením jednotlivých skeletálních struktur (např. Capula a kol., 1984) či popisují ocasaté obojživelníky (např.: Francisová, 1934).

Jiní autoři používají některých morfologických znaků k tvorbě kladogramů a jako důkazů různých evolučních teorií, např. Hecht (1963) a Kluge a Farris (1969).

Osovou kostru a pletenec pánevní recentních obojživelníků zmiňují ve svých pracích autoři, kteří jsou citováni v dalších kapitolách této práce.

Jak již bylo řečeno na začátku, většinou se lze setkat pouze s popisy definitivního stavu u dospělců. Pokud se někdo zabýval morfogenezí pánve, většinou charakterizoval jen jeden druh nebo několik sobě příbuzných skupin, náležících buď do jedné čeledi nebo čeledí blízce příbuzných. S hodnocením různých kosterních struktur z hlediska funkční morfologie (např. v souvislosti s typem pohybu) se lze v literatuře setkat jen velmi ojediněle.

Cílem této práce je prozkoumat ontogenetické procesy, kterými se formuje pánevní oblast skeletu, urostyl a sacrum a shrnout vývoj jednotlivých struktur u charakteristických představitelů různých lokomočních a ekologických typů.

3. MATERIÁL A METODIKA

Tato kapitola obsahuje výčet použitého materiálu (viz Tab.1) a postup, jakým byl zpracován. Vzhledem k tématu diplomové práce byly studované druhy žab vybírány jakožto charakterističtí reprezentanti určitých lokomočních a ekologických typů.

Xenopus laevis je čistě vodní druh, který se na souši pohybuje stejnými „plavacími“ pohyby jako ve svém přirozeném prostředí. Zástupci rodu *Bombina* jsou žáby zdržující se hlavně ve stojatých vodách a okolí, převážně se pohybují plaváním. Do stejné čeledi Discoglossidae se s kuškami řadí *Discoglossus pictus*, jenž dobře plave, ale i skáče. *Pelobates fuscus* patří k žábám se schopností se pomocí zadních končetin zahrabávat do substrátu. Čeleď Ranidae zahrnuje terestrické druhy žáb, které se pohybují hlavně saltací. Druh *Rana dalmatina* byl vybrán jakožto extrémě dobrý skokan. Poslední studovaný recentní terestrický druh *Bufo bufo* je představitelem žab pohybujících se lezením. Studováno bylo i několik dobře zachovaných pulců fosilní žáby rodu *Palaeobatrachus*, která je ekologickým typem blízkým *Xenopus laevis*.

V této a dalších kapitolách je užito pojmů pulec, subadult a adult. Ve shodě s Nieuwkoopem a Faberem (1967) je pulec jedinec do stádia 66, což je poslední stádium metamorfózy. Subadult navazuje na stádium pulce. Tato fáze trvá do doby pohlavní dospělosti. Za adulta, neboli dospělce, je považován fertilní jedinec.

Latinské pojmenování jednotlivých morfologických struktur je převzato z Gauppa (1896).

ODCHOV

Snůšky druhu *Pelobates fuscus*, *Rana dalmatina*, *Discoglossus pictus* a *Bufo bufo* byly umístěny do terárií, ve kterých tvořila vodní hladina $\frac{3}{4}$ celkové plochy a souš z kamenů, trsů trávy a písku $\frac{1}{4}$.

Po celou dobu odchovu, až po ukončení metamorfózy, byli pulci krmeni rozdrcenými sušenými kopřivami nebo rostlinným krmivem pro akvarijní ryby. Během metamorfózy přecházejí na živočišnou potravu a proto je nutné metamorfovaným subadultům poskytovat drobné bezobratlé, například malé instary cvrčků.

FIXACE

Jedinci byli fixováni, vždy minimálně po třech, ve 4% roztoku formaldehydu a to nejprve v pravidelných intervalech tří až sedmi dnů a později spíše podle viditelných změn ve vnějších morfologických znacích. Změny je možné pozorovat hlavně na vývoji zadních končetin, například v délkovém růstu končetiny či v postupné definici všech prstů.

URČOVÁNÍ STÁDIÍ

Jednotlivá stádia byla určována podle tabulek normálního vývoje druhu *Xenopus laevis* (Nieuwkoop a Faber, 1967). Výhody tohoto klíče před ostatními, například prací Gosnera (1960), spočívají ve větší přehlednosti a podrobnějších popisech jednotlivých struktur. Jsou zde charakterizovány vnější a vnitřní morfologické znaky jednotlivých stádií, přičemž pro zařazení použitých vzorků do jednotlivých fází ontogeneze byly využity pouze vnější morfologické znaky. Avšak vnitřní morfologické znaky, hlavně kosterní, byly také později s literaturou konfrontovány. Vývojové odlišnosti oproti *Xenopus laevis* jsou dané hlavně druhovou variabilitou.

Část materiálu získaná z jiných pracovišť byla již určená a obarvená, jednalo se o druhy *Xenopus laevis*, *Bombina bombina* a *Bombina variegata*, které byly zařazena do vývojových stádií podle Gosnera (1960). Proto je bylo nutné přehodnotit podle převodní tabulky uvedené v práci Truebové a Hankena (1992).

V práci Nieuwkoopa a Fabera (1967) jsou stádia charakterizována, kromě vnějších a vnitřních morfologických znaků, také časovými údaji uvedenými nejprve v hodinách a později ve dnech. Ovšem nejsou popsány podmínky laboratorního odchovu, na kterých rychlost ontogeneze žab, jakožto poikilotermních živočichů, závisí. Jedná se o teplotu prostředí, počet jedinců na určitý objem, výšku vodního sloupce, podíl souše v teráriu a samozřejmě množství dostupné potravy.

BARVENÍ

Materiál byl barven podle upravené metody Wassersuga (1976), jež se zakládá na diferenciálním barvení chrupavky a kosti. Je v ní využito schopnosti vazby alcianové modři na kolagen v chrupavkách a afinity alizarinu k iontům vápníku obsaženým v kostech. Roztokem KOH lze docílit prosvětlení měkkých tkání aniž je porušena základní topografie jednotlivých zkoumaných částí skeletu.

Postup barvení byl následující:

1. Jedince je nutné uchovat ve výše popsaném fixačním roztoku nejméně čtrnáct dní. Po osušení filtračním papírem a operačním zbavení vnitřních orgánů, kůže a očí (u starších stádií), se mohou přemístit do následujícího barvicího roztoku:

alciánová modř15 mg

96 % ethanol80 ml

ledová kyselina octová20 ml

V tomto roztoku byly vzorky ponechány 2 – 3 dny.

2. Dále byly vzorky opět osušeny filtračním papírem a promývaly se minimálně 5 dní v 96% ethanolu.
3. Opět osušené vzorky byly umístěny do maceračního roztoku KOH s malým množstvím barvicího roztoku alizarinu. Koncentraci roztoku KOH a délku macerace bylo nutné přizpůsobit velikosti jedince. Pro malé pulce jsem použila 3-4% roztok a ponechala jsem je v něm 3-5 dní. Žabky potřebují silnější roztok, tedy 6-7% a delší dobu macerace (5-7 dní). Alizarin se přidává v podobě nasyceného roztoku v 96% ethanolu (Jarošová, ústní sdělení). Výsledný macerační roztok přidáním několika kapek roztoku alizarinu nabude fialové až vínově červené barvy.
4. Vzorek, který v roztoku KOH ztratil pigment, má v měkkých tkáních zbytky alizarinu, tedy červené barvy. Ty bylo nutno vymýt vzestupnou glycerinovou řadou čítající roztoky 25, 50, 75 a 100%, v němž jsou nakonec vzorky trvale uchovávány. Tím se zbylé měkké tkáně dokonale prosvětlí. Po převedení vzorků do konečného 100% roztoku glycerínu je možné přidat krystalek fenolu pro trvalé zachování barev.

DOKUMENTACE

Pomocí digitálního fotoaparátu NIKON COOLPIX 950 a binokulárního mikroskopu NIKON SMZ-U byly obarvené exempláře zdokumentovány. Úpravu jednotlivých fotografií byla provedena v programu Adobe Photoshop Limited 6.0 a Corel PHOTO-PAINT 9.

Tabulka 1.

Čeleď	Druh	Zkoumaná stádia	Počet jedinců	Lokalita sběru	Sbíral/la	Uloženo
Discoglossidae	<i>Discoglossus pictus</i>	52 - adult	6	laboratorní odchov	Hana Ročková a Mgr. Jorga Rudolfová	na katedře zoologie PřF UK v Praze
	<i>Bombina variegata</i>	50 - adult	110	Jezeří v okrese Vsetín	Mgr. Lenka Sedláčková, PřF MU Brno, Mgr. Karel Královec, PřF UK Praha	na katedře zoologie PřF UK v Praze
	<i>Bombina bombina</i>	50 - adult	72	slanisko u Nesytu, jezera u Rakvic, Novosedly v okrese Břeclav	Mgr. Lenka Sedláčková, PřF MU Brno	na katedře zoologie PřF UK v Praze
Pipidae	<i>Xenopus laevis</i>	52 - 66	27	laboratorní odchov	Karel Královec, PřF UK Praha	na katedře zoologie PřF UK v Praze
Pelobatidae	<i>Pelobates fuscus</i>	44- 65	112	Příbramsko	Mgr. David Fišer, Muzeum Příbram	na katedře zoologie PřF UK v Praze
Bufonidae	<i>Bufo bufo</i>	50 - 66	95	Trója, Zruč nad Sázavou	doc. RNDr. Zbyněk Roček, DrSc., Mgr. Jan Dušek	na katedře zoologie PřF UK v Praze
Ranidae	<i>Rana dalmatina</i>	47 - 66	130	okolí Českých Budějovic	Mgr. Pavla Havelková, Biologická fakulta JU České Budějovice	na katedře zoologie PřF UK v Praze
†Palaeobatrachidae	† <i>Palaeobatrachus</i> sp.	52	83	Bechlejšovice u Děčína	Prof. Zdeněk V. Špinar	v Národním muzeu v Praze

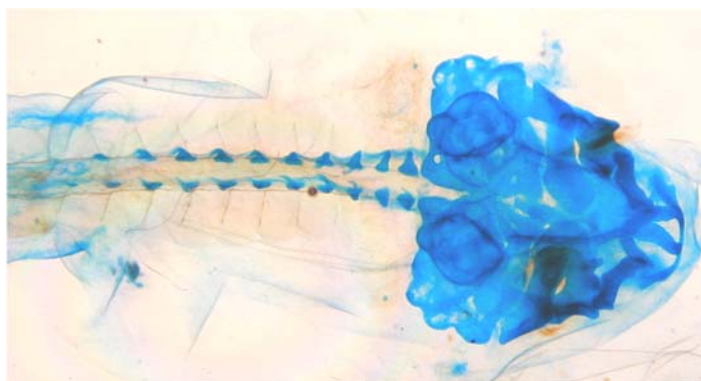
3.VÝSLEDKY

3.1. MORFOGEZE PÁNEVNÍ OBLASTI U *DISCOGLOSSUS PICTUS*

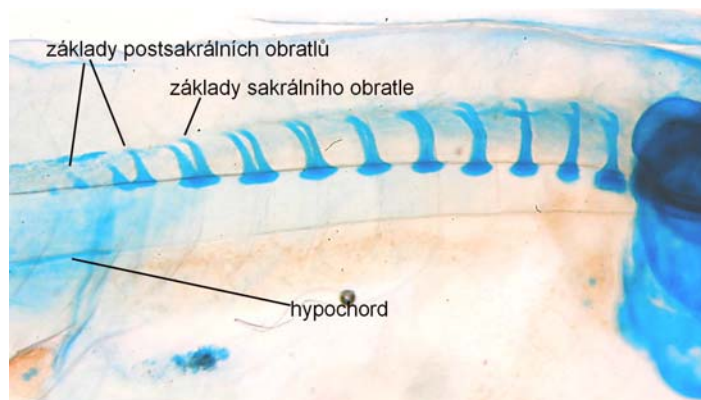
Stádium 52

Je vyvinut základ sakrálního, čili devátého, obratle, v podobě páru chrupavčitých půlměsíčkovitých struktur.

Také se objevuje desátý a jedenáctý pár základů obratlů, ty jsou, na rozdíl od předešlých, pouze v podobě bodových chondrifikací. To znamená, že se vyvíjejí dva postsakrální obratle. Je znatelná i další část urostylu, chrupavčitý hypochord umístěný pod chordou.



Obr. 1: Celkový dorzální pohled na *Discoglossus pictus* ve stádiu 52.



Obr. 2: Postkranální skelet *Discoglossus pictus* ve stádiu 52, z laterálního pohledu (pravá strana). Jsou vidět základy obratlů, hypochordu a zadních končetin.

Stádium 55

Základy sakrálního obratle rostou ventrálně i dorzálně a tak formují budoucí obratlové centrum a neurální oblouk.

V tomto stádiu jsou vyvinuty všechny tři části pletence pánevního, tzn. ilium, ischium a pubis. Tyčkovitá ilia se prodlužují směrem vzhůru k páteři. Ischia a pubes lze nalézt v podobě párových struktur umístěných vedle sebe a pod koncovým oddílem páteře. Ischium a pubis každé strany jsou navzájem spojeny do puboischiadické destičky, která obkružuje ventrolaterálně proximální hlavu femuru a předním koncem se spojuje s dorzálně umístěným iliem.

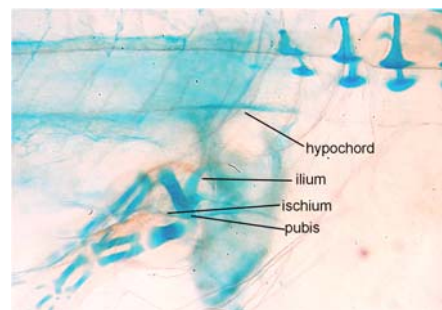
Celý chrupavčitý pletenec pánevní začíná rotovat, křídla ilii (*ala ossis ilii*) nejsou kolmé k páteři, zaujímají vůči axiálnímu skeletu trochu šikmou polohu. Ischia ještě nejsou kaudálně spojena s ilii. Obě doposud oddělené poloviny pánevního pletence rostou ventrálně a kaudálně proti sobě.

Stádium 56-57

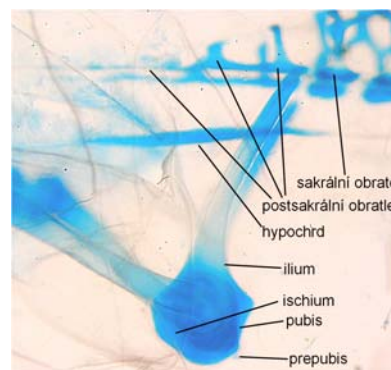
Obě části sakrálního obratle jsou často výrazně asymetrické a kompletně chrupavčité. Dotváří se centrum a dorzální část neurálního oblouku sakrálního obratle. Na bocích začíná obratel osifikovat. Příčné výběžky se již odlišují od výběžků ostatních obratlů. Jsou výrazně větší a mají téměř eliptický tvar.

Kompletně chrupavčitý desátý obratel má tvar prstýnku, má tedy plně chondrifikované obratlové centrum a neurální oblouk. Po obou stranách začíná osifikovat. Je též ventrálně kloubně spojen se sakrálním obratlem a kaudálně splývá s útvarem tvořeným rudimenty jedenáctého a dvanáctého obratle. Hypochord se svým kraniálním koncem začíná přibližovat k páteři a tak postupně zaškrcuje chordu.

Křídla ilii (*ala ossis ilii*) jsou ze 2/3 osifikovaná a dosahují k ventrální straně páteře. Objevuje se na nich hřeben (*margo dorsalis*). Chrupavčitá ischia se kaudálně přiblížila až k sobě a spojila se. Pubes jsou též chrupavčité a nesou znatelný základ prepubes.



Obr. 3: Pánevní oblast skeletu *Discoglossus pictus* ve stádiu 55, z laterálního pohledu (pravá strana). Přítomny jsou všechny tři elementy pánevního pletence.



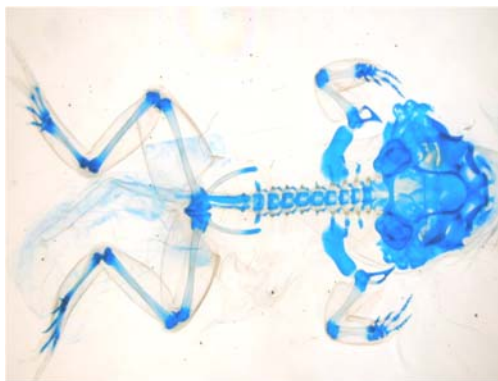
Obr. 4: Pánevní oblast jedince druhu *Discoglossus pictus* ve stádiu 57, z laterálního pohledu (pravá strana).

Stádium 57-58

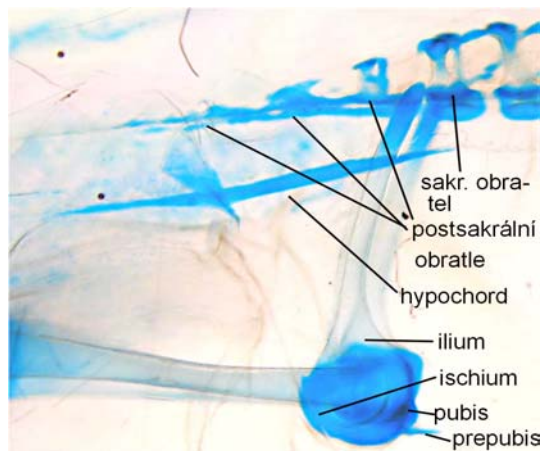
Chrupavčité je pouze centrum, dorzomediální část neurálního oblouku a diapofýzy sakrálního obratle, které mají tvar špičky kopí.

Urostyl je celkově velmi dlouhý, což je pro tento druh charakteristické. Hypochord začíná osifikovat a kraniálním koncem se stále přibližuje k páteři.

Prepubes se zvětšují a pubes se navzájem dostávají do těsné blízkosti. Hřeben ilii (*margo dorsalis*) se prodlužuje v souladu s prodlužováním ilii.



Obr. 5: *Discoglossus pictus* ve stádiu 57-58, z ventrálního pohledu. Modré jsou chrupavčité úseky a světlejší barvu mají již osifikované části.



Obr. 6: Pánevní oblast *Discoglossus pictus* ve stádiu 57-58, z laterálního pohledu. Za povšimnutí stojí základ epipubis prominující dopředu z pubické části pánevního pletence.

Adult

Celé sacrum osifikuje. Příčné výběžky sakrálního obratle mají tvar poměrně úzkého a velmi symetrického vějíře.

Urostyl dokončuje osifikaci dopsud chrupavčitých částí. Desátý obratel nese tyčkovité příčné výběžky. Celý je kloubně připojen k devátému, čili sakrálnímu obratli.

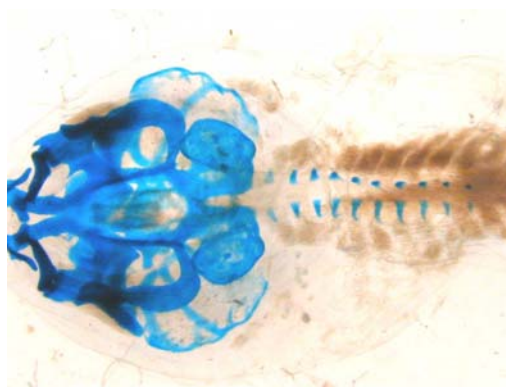
Pánevní pletenec je po dosažení tohoto stádia téměř celý osifikovaný a osifikace stále probíhá. *Ala ossis ilii* jsou téměř rovná a uprostřed zesílená. Výrazná prepubis neosifikuje, stejně jako pubis; obě struktury zůstávají chrupavčité.

3.2. MORFOGENEZE PÁNEVNÍ OBLASTI U *BOMBINA VARIEGATA*

Stádium 51-53

Ve stádiu 51 se poprvé objevují chrupavčité základy neurálních oblouků sakrálního obratle a v dalších stádiích pokračuje jeho chondrifikace. U některých jedinců však nebyl ještě ve stádiu 52 sakrální obratel nalezen.

Chrupavčité základy 10. (tedy prvního ocasního) obratle se vyvíjejí ve stádiu 53. V tomto stádiu se objevují na každé straně pod páteří dvě chrupavčité políčka. Jsou to základy femuru a ilia (základy *ala ossis ilii*). U některých jedinců se femur zakládá dříve než pánevní pletenec a celá zadní končetina se může dostat do velmi pokročilého stádia mnohem dříve, než se objeví základ pletence pánevního.



Obr. 7: *Bombina variegata*, stádium 53, z dorzálního pohledu.

Stádium 54-55

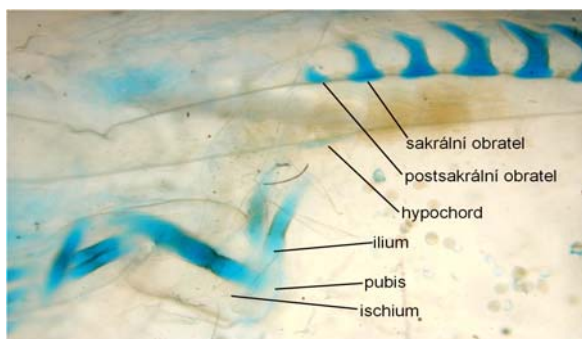
Pokračuje chondrifikace neurálních oblouků sakrálního obratle. Pár půlměsíčitých základů se zvětšuje a roste směrem do stran a dorzálně. Sakrální obratel nabývá z laterálního pohledu tvar trojúhelníku.

Vývoj 10. obratle následuje vývoj sakrálního obratle. Někteří jedinci mají teprve náznak neurálních oblouků desátého obratle, a to buď pouze na jedné straně nebo na obou stranách.

U části pulců se objevují chrupavčité základy neurálních oblouků 11. obratle, ačkoliv tyto jedinci ještě nemají ani náznak pletence pánevního. Na ventrální straně chordy lze rozeznat krátký chrupavčitý, tyčinkovitý hypochord.

Výběžky ilii (*ala ossis ilii*) se ve stádiu 54 z bodové chrupavky rozrůstají do tyčkovitého útvaru, který směřuje kolmo vzhůru k páteři a prodlužuje se tímto směrem, až se dostává na úroveň chordy. Růst výběžků může probíhat asymetricky. Tělo ilii je prozatím rovněž chrupavčité. Byly nalezeny chrupavčité základy pubes. Ischia nesou náznak chondrifikace a expandují ventrokaudálně.

I v tomto stádiu lze nalézt velké spektrum variability ve vývoji pánevní oblasti. Pánev je u některých jedinců stále bodového charakteru, ačkoli femur, tibia i fibula jsou již chrupavčité a



Obr. 8: *Bombina variegata*, přechodné stádium 54-55, z laterálního pohledu (pravá strana). Kromě postupně se vyvíjejících obratlů je vidět drobný tyčinkovitý hypochord a struktury pánevního pletence.

dokonce se chrupavka začíná objevovat i v distálních elementech zadní končetiny. U jiných chondrifikuje téměř celý femur a pánevní pletenec nebyl nalezen. A u dalších exemplářů se pánevní pletenec ani zadní končetina v tomto stádiu ještě neobjevují. Někdy se vyskytuje částečně chrupavčitý femur, ale chybějí doposud základy 10. obratle.

Stádium 55

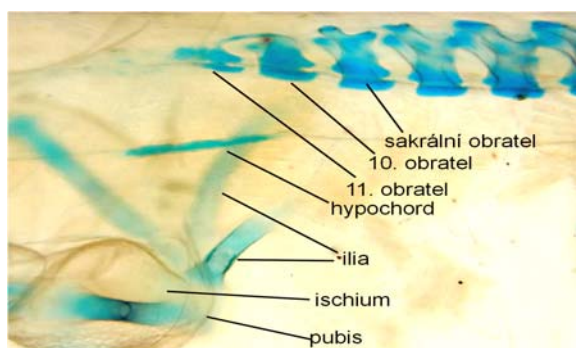
Pokračuje chondrifikace základů sakrálního obratle a jeho neurální oblouky začínají osifikovat. Objevují se příčné výběžky, které poté rostou do stran a rozšiřují se. Začíná chondrifikovat i obratlové centrum.

Na desátém, tedy prvním postsakrálním obratli začínají být znatelné diapofýzy a chrupavčité obratlové centrum. Stejně jako ve stádiu 54 mají někteří jedinci náznaky vznikajícího jedenáctého obratle.

Hypochord je stále malý a chrupavčitý, avšak zřetelně se prodlužuje kaudálním směrem.

Stádium 55-56

Vývoj sakrálního obratle pokračuje růstem jeho dosavadních částí, i když u některých jedinců jsou na tomto obratli ještě velmi drobné příčné výběžky. Pokračuje i jeho osifikace.



Obr. 9: Pánevní oblast druhu *Bombina variegata* ve stádiu 55-56, z laterálního pohledu (pravá strana). Markantní je pohyb přední části hypochordu směrem k páteři, čímž se zaškrcuje chorda.

Jedenáctý obratel se zvětšuje a nabírá tvaru protáhlých a poměrně mohutných chrupavčitých tyček. Je stále oddělený od 10. obratle, který nese náznaky začínající osifikace. Vznikají základy 12. obratle. Hypochord roste a začíná se stáčet tak, že se svým kraniálním koncem přibližuje

k páteři (viz obr. 9).

Uprostřed výběžků ilii se zakládá osifikační centrum. Zbytek ilii zůstává chrupavčitý. Ve stádiu 55 směřují výběžky ilii kolmo k páteři, ale ve stádiu 56 začíná pletenec pánevní rotovat směrem dozadu, takže se výběžky ilii dostávají vzhledem k páteři do šikmé pozice. Pubes a ischia jsou stále chrupavčitá a zvětšují se.

Stádium 56

Devátý (sakrální) obratel má větší chrupavčité příčné výběžky než v předchozím stádiu. Pokračuje osifikace neurálních oblouků a tvorba obratlového centra.

V tomto stádiu jsou přítomny chrupavčité základy 11. a 12. obratle, přičemž jedenáctý obratel začíná v některých případech osifikovat. Desátý a jedenáctý obratel nesou náznaky příčných výběžků. Hypochord roste kaudálním směrem.

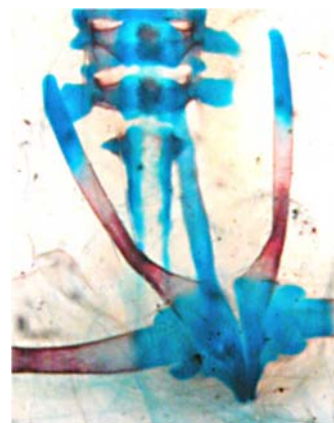
Stádium 56-57

Pokračuje tvorba chrupavčitého centra sakrálního obratle a oba jeho neurální oblouky se dorzálně navzájem spojují. Vývoj těchto struktur může probíhat asynchronně, tedy na jedné straně rychleji než na druhé. Příčné výběžky mají tvar malého špalíku a jsou celé chrupavčité.

Stádium 57-58

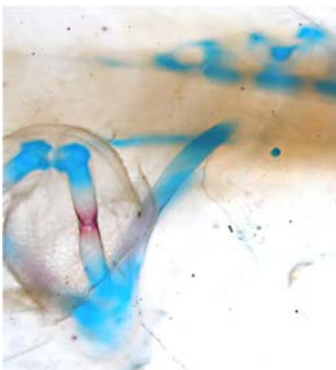
V tomto stádiu se dotváří centrum a dorzomediální část neurálních oblouků sakrálního obratle. V neurálních obloucích probíhá dorzálním směrem osifikace. Příčné výběžky nabývají eliptického tvaru a rozšiřují se, až se jejich tvar mění na křídlovitý.

Dokončuje se tvorba chrupavčitého těla 10. obratle a jeho neurálních oblouků a zakládají se jeho diapofýzy. Rovněž pokračuje jeho osifikace. Na jedné či obou stranách splývá, v místech kloubních spojení mezi obratli, 10. obratel s obratlem jedenáctým, takže mezi nimi zůstává jen otvor pro výstup spinálních nervů. Jedenáctý obratel se také zvětšuje, ale zůstává stále chrupavčitý. V některých případech splývá



Obr. 10: *Bombina variegata*, stádium 57-58, z ventrálního pohledu.

se základy dvanáctého obratle, které mají podobu páru protáhlých chrupavčitých tyčinek podél chordy.



Obr. 11: *Bombina variegata*, stádium 57-58 z laterálního pohledu (pravá strana).

Hypochord roste nyní i kraniálním směrem a zasahuje na úroveň zadního okraje devátého obratle. Na jeho ventrální hraně se u některých jedinců objevuje náznak začínající osifikace.

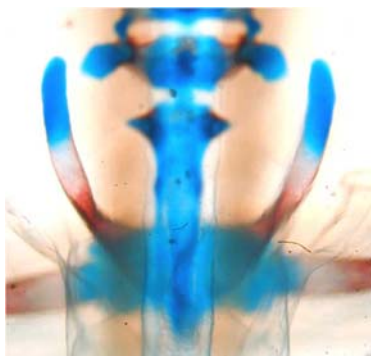
Pokračuje osifikace výběžků ilii, takže jsou ve stádiu 57 osifikována téměř z $\frac{1}{4}$ a ve stádiu 58 ze $\frac{2}{3}$. Zároveň se výběžky ilii prodlužují a při přechodu do dalšího stádia mohou dosahovat až k ventrální straně sakrálních diapofýz. Ischia expandují natolik, že se ventrálně navzájem dotýkají.

Stádium 58

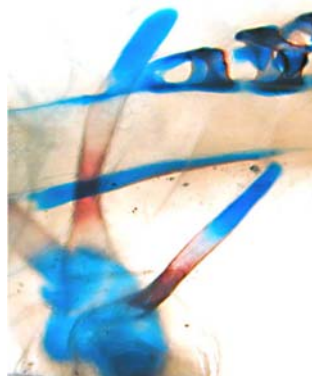
Část urostylu, tvořená postsakrálními obratli, se kloubně připojuje k sakrálnímu obratli. Desátý, jedenáctý a pokud se vyskytují, tak i dvanáctý a třináctý obratel splývají dohromady. Spojují se buď ventrálně, v oblasti těla obratle, nebo i dorzálně v oblasti pre- a postzygapofýz. V případě obojího spojení se na urostylu vytvářejí jedno až dvě okna pro výstup spinálních nervů, přičemž záleží na tom, kolik obratlů srůstá.

Desátý obratel nese chrupavčité, trnovité příčné výběžky. Dvanáctý a třináctý obratel jsou většinou pouze rudimentární a málo znatelné.

Výběžky ilii nadále osifikují a prodlužují se. Na začátku stádia můžeme nalézt jedince s výběžky dosahujícími pouze do poloviny chordy. Exempláře představující konečnou fázi stádia mají ilia s výběžky ze $\frac{2}{3}$ osifikovanými a dosahujícími až k ventrální straně sakrálních diapofýz a dokonce se špičkami mírně hákovitě zahnutými a zploštělými, což by mohlo naznačovat možnost spojení těchto dvou struktur tenkým ligamentem.



Obr. 12: Stádium 58 druhu *Bombina variegata* z dorzálního pohledu.



Obr. 13: Stádium 58 druhu *Bombina variegata* z laterodorzálního pohledu.

Stádium 58-59

V tomto stádiu se dokončuje osifikace téměř celého těla sakrálního obratle a neurálních oblouků, s výjimkou dorzomediální části neurálních oblouků a mediální části obratlového centra. Příčné výběžky jsou chrupavčité, i když se u některých velmi vyspělých jedinců již mohou objevit při jejich bázi počátky osifikace. Velikostně a tvarově se diapofýzy během stádia pohybují od kosočtverečných, přes vějířovité až po roztažené, křídlovité.

Zajímavé je, že se objevují jedinci, kteří mají skelet na vysokém stupni ontogenetického vývoje, ale celý chrupavčitý, bez sebemenšího náznaku osifikace.

Postsakrální obratle následují svým vývojem sakrální obratle. Na desátém obratli se objevují diapofýzy různého tvaru, od velmi malých kulovitých až po delší tyčkovité. Pokračuje chondrifikace jedenáctého obratle, objevují se náznaky jeho obratlového centra.

Pubes obou stran se ve stádiu 59 dostávají velmi blízko k sobě.

Stádium 60-61

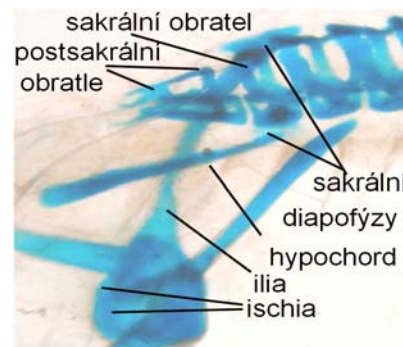
Osifikace postupuje tak, že nejpokročilejší jedinci mají chrupavčitý pouze dorzální spoj neurálních oblouků a sakrálních diapofýz. Příčné výběžky sakrálního obratle jsou rozmanitého tvaru, tzn. jsou v různém stupni vývoje, stejně jako u předešlých stádií. Konečného tvaru nabývají ve stádiu 61.

Hypochord dosahuje své konečné délky a kraniálním koncem se přibližuje k ventrální straně páteře a ve stádiu 61 se dostává k páteři i svým kaudálním koncem.

Osifikace výběžků ilii přechází i na tělo ilii. Na ischiích jsou pozorovatelné náznaky srůstu obou polovin.

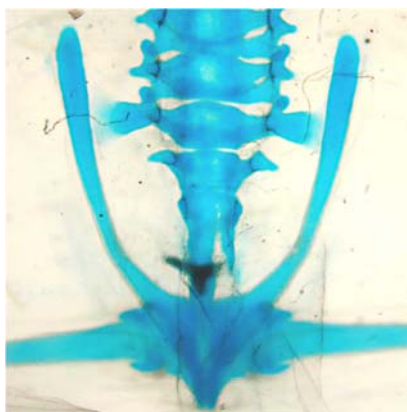
Stádium 62-63

Desátý obratle může být samostatný, pouze kloubně připojený k okolním obratlům. Vypadá pak jako zmenšenina předchozího obratle. Jedenáctý obratle se též může vyskytovat



Obr. 14: Jedinec druhu *Bombina variegata* ve stádiu 60. Ukázka toho případu, kdy je exemplář ve vysokém stupni vývoje, ale jeho skelet nenese žádné náznaky osifikace.

v kompletní podobě, avšak pouze chrupavčitý. Většinou však všechny postsakrální obratle splývají dohromady.



Obr. 15: *Bombina variegata* ve stádiu 62 z dorzálního pohledu. Opět velmi vyspělý jedinec, avšak pouze s chrupavčítým skeletem.

Stále osifikující hypochord je již přiložený k páteři. Nejprve se připojuje k tělu sakrálního obratle a poté začíná srůstat s postsakrálními obratli. Ve stádiu 63 je hypochord připojen k ventrální straně celé postsakrální části páteře.

Ve stádiu 63 se pletenec pánevní dostává rotací do konečné horizontální pozice. Z ventrálního pohledu je patrné, že ischia jsou srostlá a pubes velmi blízko u sebe. U některých exemplářů můžeme pozorovat náznak jejich srůstu.

Stádium 66

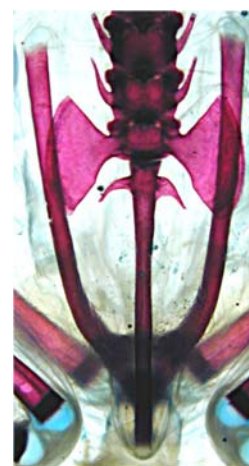
Desátý obratel se v některých případech připojuje prezygapofýzami k devátému obratli. Tento spoj se u žab obvykle nevytváří. Proto se objevuje pouze rudimetárně. V plně vyvinuté podobě se považuje za anomálii.

Adult

Dokončuje se osifikace dosud chrupavčitých částí sakrálního obratle. Kostěnou se stává dorzomediální část neurálních oblouků a mediální část obratlového centra. Chrupavčité zůstávají pouze kloubní spoje a pruh na distálním okraji výběžků.

Desátý obratel je již osifikovaný ve stejné míře jako devátý. Má trnovité příčné výběžky. Ventrálně i dorzálně je srostlý s jedenáctým obratlem. Rudimenty jedenáctého a dvanáctého obratle jsou rovněž pevně navzájem srostlé a jsou také plně osifikované. Urostyl nabývá konečného vzezření kompaktního kostěného útvaru.

Ilia jsou plně osifikované až na distální konce jejich rostrálních výběžků, které jsou v kontaktu se sakrálními diapofýzami. Ischia dokončují osifikaci, kdežto již jednolitá pubis zůstává po celý život chrupavčitá a dokonce se velikostně redukuje.



Obr. 16: Pánevní oblast dospělé žáby druhu *Bombina variegata* z dorzálního pohledu.

3.3. MORFOGENEZE PÁNEVNÍ OBLASTI U *BOMBINA BOMBINA*

Stádium 50-51

Lze pozorovat osm chrupavčitých párových základů neurálních oblouků presakrálních obratlů a ve stádiu 51 se objevuje i pár chrupavčitých bodových základů devátého, sakrálního obratle.

Stádium 52-54

Základy devátého obratle se zvětšují a mají z laterálního pohledu tvar tyčky táhnoucí se vertikálně podél chordy. Již ve stádiu 52 se objevuje chrupavčitý párový základ desátého obratle.

Ve stádiu 54 se z pletence pánevního zakládají anterodorzálně od femuru oba výběžky ilií.

Mají podobu krátké tyčinky a představují první chrupavčitou část pletence pánevního.

Obr. 17: Jedinec *Bombina bombina* ve stádiu 54 z laterálního pohledu. Jsou vidět základy pánevního pletence v podobě ala ossis ilií směřujících kolmo k páteři.

Stádium 55

Na devátém obratli jsou znatelné výrazné základy prezygapofýz zprostředkovávajících spojení s postzygapofýzami osmého, posledního presakrálního, obratle. Znatelně se tvoří obratlové centrum a dorzální část neurálního oblouku.

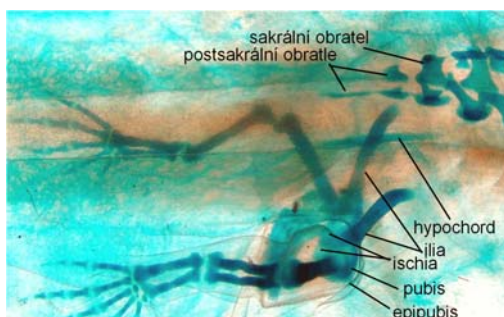
Desátý obratel následuje svým vývojem devátý obratel. Objevuje se velmi krátký chrupavčitý hypochord.

Ilii jsou již celá chrupavčitá, tedy i viditelná a iliakální výběžky (základy *ala ossis il.*) směřují kolmo k páteři. V tomto stádiu se objevují i chrupavčité pubes a ischia, která srůstají s ilií. Ischia také začínají expandovat kaudověventrálně proti sobě. Celý pánevní pletenec začíná, v pokročilejším vývojovém stupni tohoto stádia, rotovat.

Stádium 56

Neurální oblouk sakrálního obratle má chrupavčité boky, avšak není ještě kompletně dotvořen, chybí jeho dorzomediální část, stejně jako úplné centrum obratle. Objevují se příčné výběžky, které jsou ze začátku pouze malé a kulovité. Postupně rostou a protahují se

v tyčkovité útvary. Dotvořilo se spojení mezi devátým a osmým obratlem zprostředkované pomocí pre- a postzygapofýz.



Obr. 18 : Stádium 56 *Bombina bombina* z laterálního pohledu. Ala ossis ilii jsou delší než na předchozím obrázku a jsou již vidět chrupavčité pubes a ischia.

Desátý obratel je již poměrně vysoký a kromě neurálního oblouku je tvořen i základy obratlového centra. Objevují se základy jedenáctého obratle. Ty mají z boku tvar trojúhelníku a začínají splývat s desátým obratlem. Dvanáctý obratel se vyvíjí v podobě bodových chondrifikací. Hypochord roste a má již charakteristický tvar tyčky umístěné pod chordou.

Iliakální křídla (*ala ossis il.*) osifikují a dorůstají až k ventrální straně hypochordu. Iliia s ischii nejsou ještě plně srostlá. Pubes mají kranálně drobný výběžek (rudiment epipubis).

Stádium 57

Centrum sakrálního obratle nadále chondrifikuje. Dorzomediální část neurálních oblouků jsou již plně chrupavčité a oba neurální oblouky jsou navzájem spojené. Příčné výběžky, stále pouze chrupavčité, se rozšiřují do stran.

Desátý obratel má kompletní chrupavčité neurální oblouky navzájem spojené a stejně jako na sakrálním obratli se zde dotváří obratlové centrum. Diapofýzy desátého obratle, které vznikají až v tomto stádiu, jsou drobné a kulovité. Tvoří se kloubní spojení devátého a desátého obratle. Rudimenty jedenáctého a dvanáctého obratle jsou úplně srostlé ve dva tyčkovité útvary podél chordy. Pokračuje vývoj hypochordu.

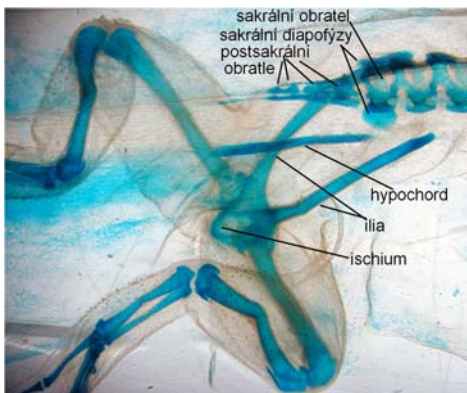
Pokračuje i rotace pánevního pletence, přičemž se výběžky ilii neustále prodlužují. Ischia obou stran se svými kaudálním konci navzájem dotýkají. Iliia a ischia jsou kompletně spojená.

Stádium 58

Centrum sakrálního obratle je již celé chrupavčité a začíná od středu osifikovat. Podobně začínají osifikovat neurální oblouky; chrupavčité zůstává pouze dorzomediální část oblouků. Ta zůstává chrupavčité. Příčné výběžky se stále zvětšují. Osmý obratel se často vyskytuje

jako obratel symsakrální, tzn. má rozšířený jeden nebo oba příčné výběžky, které později srůstají s příčnými výběžky sakrálního obratle a podílí se tak na kloubním spojení s ilii.

Rovněž neurální oblouky desátého obratle začínají osifikovat. Kloubní spojení devátého a desátého obratle se vytvořilo na ventrální straně mezi centry obou obratlů a u některých



Obr. 19: Pánevní oblast *Bombina bombina* ve stádiu 58, z laterálního pohledu (pravá strana). Znatelné jsou sakrální diapofýzy a hypochord, který se kranální koncem přibližuje k páteři.

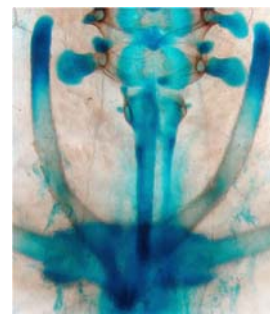
jedinců je i spojení mezi rudimenty pre- a postzygapofyzárního. Toto spojení je u recentních žab většinou zakrnělé, nedovyvinuté. Diapofýzy prvního postsakrálního obratle se prodlužují a získávají tyčkovitý tvar. Tento obratel také srůstá s rudimenty jedenáctého obratle a tak se podílí na tvorbě kompaktního urostylu. Některým jedincům se vytvářejí i rudimenty třináctého obratle, které srůstají se zbytkem postsakrální páteře. Hypochord se svým kranálním koncem přibližuje k páteři a též začíná na ventrální straně osifikovat.

Výběžky ilii dorůstají, během tohoto stádia, až k sakrálním diapofýzám a jejich špičky se hákovitě zahýbají. Zpočátku mohou být ještě celé chrupavčité, ale rychle osifikují a osifikace přechází i na těla ilii. Pubes se k sobě přibližují, dostávají se do těsné blízkosti a spojují se.

Stádium 59-62

Ve stádiu 59 se v pánevní oblasti objevuje osifikace neurálních oblouků jedenáctého obratle. Urostyl je v dalším stádiu (st. 60) velmi dlouhý, nejspíš je vyvinut i rudiment čtrnáctého obratle. U jedinců ve stádiu 62 mají diapofýzy sakrálního obratle konečný tvar a od báze začínají osifikovat. Hypochord se svým kranálním koncem dostává již do těsné blízkosti páteře.

Ilia jsou téměř celá osifikovaná, chrupavčité zůstávají pouze konce jejich výběžků.



Obr. 20: Dorzální pohled na pánevní oblast jedince druhu *Bombina bombina* ve stádiu 60.

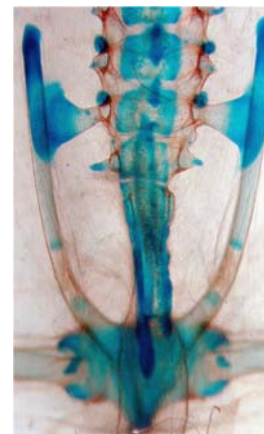
Stádium 63

Stádium 63 je charakterizováno rozšířenými příčnými výběžky desátého obratle, které tvarem připomínají špičku kopí. Pubes i ischia obou stran jsou přiložené k sobě a jsou navzájem spojené.

Stádium 64-65

Osifikace jedenáctého obratle značně pokročila. Hypochord je kraniálním koncem přiložen k ventrální straně devátého obratle. Svým kaudálním koncem se hypochord též pohybuje směrem k postsakrální části páteře a přikládá se k ní ve stádiu 65.

Obr. 21: Pánevní oblast *Bombina bombina* z dorzálního pohledu, ve stádiu 64. Na fotografii je vidět postupující osifikace.



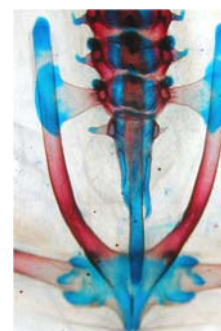
Stádium 66

Neurální oblouky sakrálního obratle jsou kompletně osifikované, centrum nadále osifikuje. Diapofýzy se v tomto stádiu nacházejí osifikované přibližně do poloviny své délky a rostou, ač svůj základní tvar již nemění.

Celá postsakrální část páteře na bocích osifikuje. Hypochord má osifikovanou přední polovinu a osifikace dále probíhá kaudálním směrem.

Osifikuje rovněž ischium.

Obr. 22: Pánevní oblast *Bombina bombina* z dorzálního pohledu, v posledním stádiu metamorfózy. Skelet je v tomto stádiu téměř definitivní a zbývající změny jsou jen minimální.



Adult

Dokončuje se osifikace obratlového centra a příčných výběžků sakrálního obratle, kterým zůstává pouze chrupavčitý pruh na distální straně. Tento chrupavčitý lem je důležitý pro spojení diapofýz s ilii a pro pohyb ilii vůči sakrálnímu obratli a proto dále neosifikuje.

Urostyl je téměř kompletně osifikovaný. Hypochord srůstá s postsakrálními obratli. Desátý obratel má trnovité příčné výběžky.

Ilia a ischia pletence pánevního kompletně osifikují. Pubes zůstává po celý život chrupavčité. Ischia a pubes obou stran jsou navzájem srostlá.