

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Martin Dušek

**Srovnávací evolučně-vývojová analýza
spirakulární oblasti obratlovců**

Comparative evolution and development
of the vertebrate spiracular region

bakalářská práce

školitel: **doc. Mgr. Robert Černý, Ph.D.**

Praha, 2024

Prohlášení

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

V Praze, 29. 04. 2024

Dušek Martin

Poděkování

Rád bych zde poděkoval doc. Mgr. Robertu Černému, Ph.D. za vstřícný a milý přístup, cenné rady, věnovaný čas a za celkové trpělivé vedení mé bakalářské práce. Dále děkuji své rodině, blízkým a přátelům za podporu během psaní této práce a během mých studií.

Abstrakt

Oblast prvních dvou faryngeálních oblouků (mandibulárního a hyoidního) představuje evolučně velice flexibilní část hlavy obratlovců. Příkladem této flexibility je spirakulární oblast, zahrnující tyto dva oblouky a první faryngeální výchlípku endodermu (zvanou také spirakulární či hyomandibulární), která je fyzicky odděluje. Tato výchlípka se může prolomit do vnějšího prostředí za vzniku malého párového otvoru na dorzální straně hlavy za očima, který nazýváme spirákulum. Spirákulum se ve své typické podobě vyskytuje u většiny paryb a u některých bazálních paprskoploutvých ryb (bichiri, jeseteři a veslonosi) a většinou slouží jako přídatný nádechový otvor pro vodu (u paryb, během obstrukce úst) či vzduch (u bichirů, zprostředkovávající většinu jejich dýchání). Tento otvor má zřejmě původ v ancestrální hyomandibulární žaberní štěrbině, která byla zmenšena a vytlačena na dorzální stranu migrujícím hyoidním obloukem podporujícím čelisti. V rámci recentních čtvernožců včetně člověka odpovídá spirakulární dutina dutině středního ucha, nabývající funkci příjmu a přenosu zvukových vln. Tato práce shrnuje známé důležité aspekty spirakulárního regionu z hlediska morfologie, ontogeneze a fylogeneze obratlovčích skupin.

Klíčová slova: spirakulární oblast, spirákulum, první faryngeální výchlípka, faryngeální oblouky, žaberní štěrbin, pseudobranch, spirakulární orgán

Abstract

The area of the first two pharyngeal arches (mandibular and hyoid) represents an evolutionarily very flexible part of the vertebrate head. An example of such flexibility is the spiracular region, comprising the two arches together with the first pharyngeal endodermal pouch (also called spiracular or hyomandibular), which physically separates them. This pouch is able to break through to the outside creating a small paired opening on the dorsal part of the head behind eyes, termed the spiracle. The spiracle in its typical form can be found in the majority of chondrichthyans and in some basal ray-finned fishes (bichirs, sturgeons and paddlefishes) and serves usually as an additional inhalatory opening for water (in chondrichthyans, when the mouth is occupied) or air (in bichirs, providing the majority of their respiration). This opening apparently has its origins in an ancestral hyomandibular gill slit, which was reduced in size and displaced dorsally by migrating hyoid arch supporting the jaws. In recent tetrapods, including humans, the spiracular cavity corresponds to the cavity of the middle ear, obtaining the function of receiving and transmitting sound waves. This thesis summarizes known important aspects of the spiracular region in terms of morphology, ontogeny and phylogeny of vertebrates.

Key words: spiracular region, spiracle, the first pharyngeal pouch, pharyngeal arches, gill slits, pseudobranch, spiracular organ

Obsah

| | |
|---|-----------|
| Úvod..... | 1 |
| 1 Morfologické vymezení spirakulární oblasti..... | 2 |
| 1.1 Spirakulární oblast jako součást viscerokrania..... | 2 |
| 1.2 Spirákulum jako „první“ žaberní štěrba..... | 4 |
| 1.3 Morfologie spirakulární dutiny..... | 6 |
| 1.4 Spirakulární orgán..... | 7 |
| 2 Spirakulární oblast v průběhu ontogeneze..... | 8 |
| 2.1 Faryngeální oblouky a výchlipky..... | 8 |
| 2.2 Role endodermu a neurální lišty v ontogenezi faryngeální oblasti..... | 9 |
| 2.3 Buněčné mechanizmy ontogeneze faryngeální oblasti..... | 13 |
| 3 Spirakulární oblast v průběhu fylogeneze..... | 15 |
| 3.1 Ancestrální skupiny obratlovců..... | 15 |
| 3.2 Kruhoústí (Cyclostomata)..... | 17 |
| 3.3 Kmenové skupiny čelistnáců..... | 18 |
| 3.4 Paryby (Chondrichthyes)..... | 19 |
| 3.4.1 Acanthodii..... | 20 |
| 3.4.2 Symmoriiformes..... | 20 |
| 3.4.3 Recentní paryby..... | 21 |
| 3.5 Paprskoploutvé ryby (Actinopterygii)..... | 22 |
| 3.5.1 Bichři (Polypteriformes)..... | 22 |
| 3.5.2 Jeseteři (Acipenseriformes)..... | 23 |
| 3.5.3 Kostlíni a kaprouni (Holostei)..... | 23 |
| 3.5.4 Korunové kostnaté ryby (Teleostei)..... | 24 |
| 3.6 Svaloploutví (Sarcopterygii)..... | 24 |
| 3.6.1 Latimérie a dvojdyšní (Actinistia a Dipnoi)..... | 25 |
| 3.6.2 Kmenové skupiny Tetrapodomorpha..... | 25 |
| 3.6.3 Korunoví čtvernožci (Tetrapoda)..... | 27 |
| Závěr..... | 29 |
| Seznam použité literatury..... | 31 |

Úvod

Hlava a s ní související oblast obličeje a hltanu (faryngu) je evolučně velice dynamickou a zajímavou strukturou obratlovců. Tato pro obratlovce unikátní část tělního plánu se embryonálně z velké části zakládá jako antero-posteriorní (předo-zadní) série segmentů a intersegmentů zvaných faryngeální oblouky a faryngeální výchlipky (Graham & Smith, 2001; Grevell & Tucker, 2010). Spousta pozornosti bylo věnováno zejména prvnímu z těchto segmentů, mandibulárnímu oblouku, který v průběhu evoluce dává vzniknout čelistem klíčovým v potravní strategii aktivního predátora (Mallatt, 1996; Cerny et al., 2010). Neméně zajímavou a evolučně flexibilní oblast ovšem představuje i druhý (hyoidní) oblouk, typicky sloužící k podpoře a uchycení čelistního aparátu ke zbytku lebky (Kardong, 2019). Hlavní oblastí zájmu této práce je spirakulární region, jenž zahrnuje první dva faryngeální oblouky a první faryngeální výchlipku, zvanou též spirakulární, která tyto první dva oblouky od sebe fyzicky separuje (Gai et al., 2022).

Spirakulární výchlipka se může u některých obratlovců během vývoje prolomit do okolí za vzniku spirakulárního otvoru podobným způsobem, jakým se prolamují žaberní štěrby vodních rybovitých obratlovců (Graham et al., 2014). Tento otvor se označuje jako spirakulum, jenž může sloužit jako důležitý přídatný nádechový otvor, kterým směrem k dýchacím orgánům (žábrám či plicím) proudí voda popř. vzduch (Hughes, 1960; Graham et al., 2014). V některých situacích proudí tekutina spirakulárním otvorem v opačném směru (ven z těla), např. při odstraňování nečistot či nevyužitého vzduchu ze spirakulární dutiny, na základě čehož je spirakulum někdy označováno německým výrazem *das Spritzloch*, v přímém překladu „stříkací otvor“ (Gegenbaur, 1872; Graham et al., 2014). Fosilní důkazy dokládají existenci plně vyvinuté hyomandibulární (nacházející se mezi hyoidním a mandibulárním obloukem) žaberní štěrby namísto redukovaného spirakulárního otvoru u vymřelých skupin obratlovců (Gai et al., 2022). Vedle prolomení spirakulárního traktu do okolního prostředí může spirakulární výchlipka během vývoje ve větší či menší míře ustoupit či zcela zaniknout, u moderních čtvernožců takto dává vznik dutině středního ucha (Clack, 2002).

Tato práce si klade za cíl shrnout vybrané poznatky týkající se spirakulárního regionu obratlovců a v následujících kapitolách blíže představit tuto překvapivě evolučně dynamickou oblast z hlediska morfologie (kapitola 1), ontogeneze (vývoje v rámci jedince, kapitola 2) a fylogeneze (vývoje celých evolučních linií, kapitola 3) obratlovčích skupin.

1 Morfologické vymezení spirakulární oblasti

Spirákulum, podle nějž spirakulární oblast nese svůj název, je ve své typické podobě relativně malý párový otvor na dorzální straně hlavy obratlovců (Goodrich, 1958; Gai et al., 2022). Tento otvor propojuje spirakulární trubicí (dutinou) oro-faryngeální dutinu s vnějším prostředím (Gai et al., 2022). Nachází se mezi prvními dvěma viscerálními (či faryngeálními) oblouky, mandibulárním (představujícím čelisti) a hyoidním (jazylkovým), resp. mezi palatoquadratem a hyomandibulou (Goodrich, 1958; Gai et al., 2022). V této podobě se dnes vyskytuje u většiny paryb (Chondrichthyes), jako jsou máčka skvrnitá (*Scyliorhinus canicula*) (Hughes, 1960), rejnok ostnatý (*Raja clavata*) (Hughes, 1960) či rejnok bodlinatý (*Leucoraja erinacea*) (Summers & Ferry-Graham, 2001), s výjimkou např. manty (Tomita et al., 2012), dále u bichirů (Polypteriformes) (Graham et al., 2014), jeseterů a veslonosů (Acipenseriformes, u těch už v poměrně zakrnělejší podobě) (Burggren, 1978; Burggren & Bemis, 1992).

Pro lepší orientaci v různých přeměnách a modifikacích spirakulárního regionu v rámci ontogeneze i fylogeneze obratlovců je vhodné zasadit tuto oblast do kontextu viscerokrania, starobylé složky lebky obratlovců skupin sloužící původně jako výztuha žaberních oblouků předků čelistnatců (Kardong, 2019).

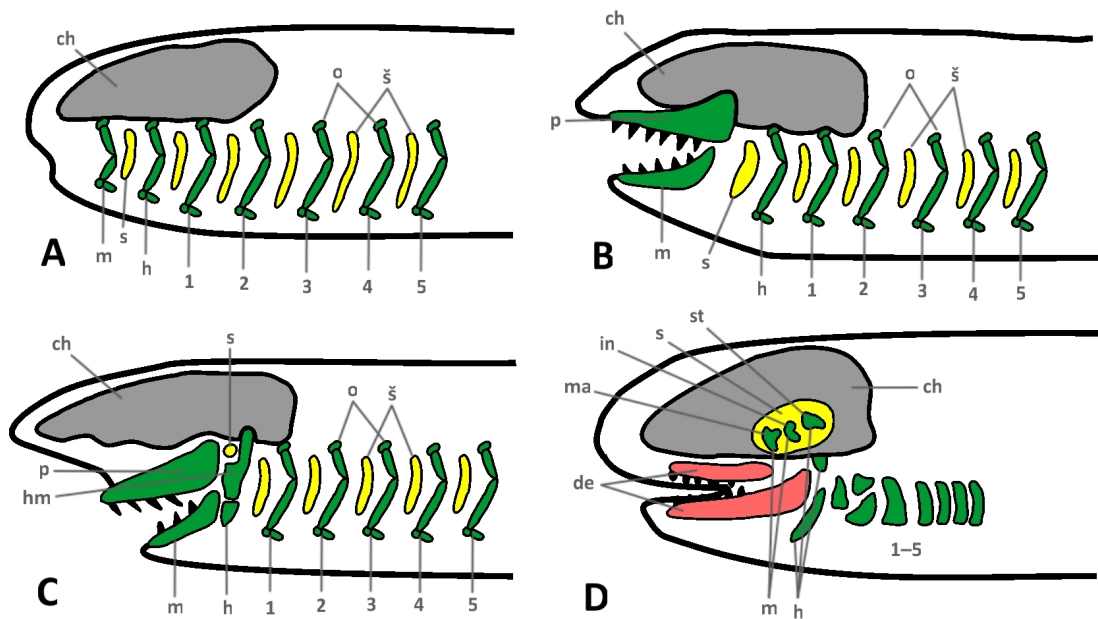
1.1 Spirakulární oblast jako součást viscerokrania

Komplexní lebka moderních obratlovců vzniká souhrou tří komponent, již zmíněného viscerokrania (sloužícího jako opora faryngeálních oblouků), chondrokrania (obklopujícího mozek, je chrupavčitého charakteru či vzniká enchondrální osifikací z chrupavky) a dermatokrania (nejjedvoženější část vznikající ze škály – dermis – endesmální osifikací, často překrývá ostatní komponenty lebky) (Kardong, 2019). Spirakulární region je oblastí prvních dvou faryngeálních oblouků, a tudíž součástí viscerokrania, kterému tak zde z hlavních částí lebky bude věnováno nejvíce pozornosti.

Viscerokranium (též splanchnokranium) sestává původně z řady chrupavčitých elementů tvořících oporu hltanové oblasti (Gegenbaur, 1872). Obecně u obratlovců poskytují viscerokraniální elementy oblouků výztuhu žaber a připojení dýchacího svalstva, u čelistnatců se anteriorní oblouky podílejí na vzniku mnohdy kostěného čelistního aparátu (Kardong, 2019). V antero-posteriorním směru lze u čelistnatců rozeznat v tomto pořadí: oblouk mandibulární (dávající vznik čelistem), oblouk hyoidní (či jazylkový, sloužící zpravidla k podpoře čelistí a jejich uchycení k chondrokranium) a následné oblouky branchiální (ohraničující žaberní štěrbiny a uchycující žaberní aparát) (Gegenbaur, 1872; Kerr, 1919; Kardong, 2019). Tyto oblouky (včetně mandibulárního a hyoidního) se nazývají souhrnně faryngeální (případně viscerální) a ohraničují embryonálně se zakládající faryngeální

(viscerální) výchlipky (viz kap. 2.1). Oblouky nesoucí žábry (většinou od třetího faryngeálního oblouku dál posteriorně) se pak zpravidla označují jako branchiální či žaberní oblouky číslované od jedné dál v antero-posteriorním směru (Richardson et al., 2010). Původně chrupavčité výztuhy mohou u čelistnatců s kostní tkání (Osteichthyes, taxonu sesterskému k parybám, Chondrichthyes) nabývat podobu osifikovaných elementů, typicky pěti (Kardong, 2019). Schématické znázornění viscerokrania u různých obratlovčích skupin představuje Obr. 1.

Spirákulum, resp. spirakulární oblast jakožto oblast zájmu této práce, zahrnuje první faryngeální výchlipku spolu s mandibulárním a hyoidním obloukem, které ji ohraničují (Gai et al., 2022). Obzvláště významné v rámci spirakulární oblasti jsou dorzální elementy těchto oblouků (chrupavčité palatoquadratum a jeho osifikace v rámci mandibulárního oblouku a hyomandibula v rámci hyoidního oblouku) (Gai et al., 2022). První faryngeální výchlipku lze nazývat také hyomandibulární vzhledem ke své poloze nebo spirakulární vzhledem ke strukturám, kterým může dát vzniknout (Gai et al., 2022).



Obr. 1: Schématické znázornění viscerokrania vzhledem k chondrokraniu. A – praobratlovec s plně vyvinutou hyomandibulární žaberní štěrbinou – např. Galeaspida (Gai et al., 2022); B – hypotetický praobratlovec nesoucí čelisti a plně vyvinutou hyomandibulární štěrbinu (Watson, 1937), zatím nenalezen u žádného organismu; C – viscerokranium skupiny Elasmobranchii – např. žraloci; D – lebka savců. m – mandibulární oblouk (1. faryngeální), h – hyoidní oblouk (2. faryngeální), 1 až 5 – 1. až 5. žaberní oblouk (3. až 7. faryngeální), o – elementy žaberních oblouků, š – žaberní štěrbinu, s – spirakulární štěrbinu či její transformace (C – spirákulum, D – střední ucho), ch – chondrokranium, p – palatoquadratum, hm – hyomandibula, de – sekundární čelisti dermatokraniálního původu, ma – malleus (kladívko), in – incus (kovadlinka), st – stapes (třmínek). Překresleno a upraveno podle Gaisler & Zima, 2018.

Zajímavou transformaci podstupuje spirakulární oblast u čtvernožců (Tetrapoda), kde spirakulární výchlípká dáva vzniknout dutině středního ucha a Eustachově trubici (Clack, 2002; Maier & Ruf, 2016). Do této dutiny se v evoluci dostává i dorzální prvek hyoidního oblouku (hyomandibula, v kontextu středního ucha pak kolumela, případně stapes – trmínek), přebírající funkci mechanotransdukce zvukových vln do vnitřního ucha a mozku, u savců (Mammalia, Obr. 1D) se k této roli přidávají i elementy mandibulárního oblouku (tzv. primárního čelistního kloubu), mění se ve sluchové kůstky malleus (kladívko) a incus (kovadlinka), funkci sekundárního čelistního kloubu u savců přebírají kosti dermatokrania (Clack, 2002; Maier & Ruf, 2016).

Vzhledem ke vzájemné vnější podobnosti elementů viscerálních oblouků (Gegenbaur, 1872) i na základě developmentálních důkazů (souhrnný vzor exprese skupiny genů platící pro každý z oblouků) jsou mandibulární, hyoidní i následné branchiální oblouky považovány za seriálně homologické (Gillis et al., 2013). Za takového předpokladu lze vnímat spirakulum jako zakrnělý dorzálně posunutý zbytek hyomandibulární (a vývojově pravé „první“*) žaberní štěrbiny (Graham et al., 2014; Burrow et al., 2020; Gai et al., 2022).

1.2 Spirakulum jako „první“ žaberní štěrbina

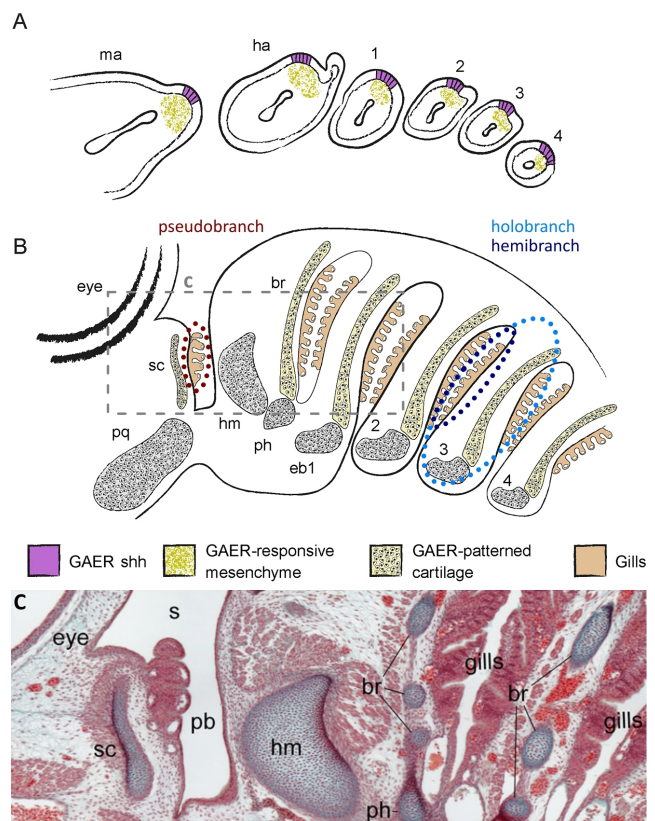
Pro původ spirakula z plně vyvinuté hyomandibulární žaberní štěrbiny hovoří i existence tzv. pseudobranchu, zakrnělé položábry nacházející se na vnitřní stěně oro-faryngeální dutiny, případně přímo ve spirakulárním traktu, pokud v daném jedinci existuje (Kerr, 1919; Goodrich, 1958). Většina žaber se vyskytuje v podobě tzv. holobranchu („celých žaber“), sestávajícího z žaberního oblouku a na něj přisedajících dvou položaber (hemibranchů, jednoho z anteriorní a jednoho z posteriorní strany) (Wegner, 2015; Kardong, 2019). Většina žaberních štěrbin tak obsahuje dva hemibranchy, jeden na anteriorní stěně štěrbiny (tedy posteriorní položábra anteriorního oblouku) a jeden na posteriorní straně štěrbiny (tedy anteriorní položábra posteriorního oblouku), tvořící dohromady jednu „respirační jednotku“ (Wegner, 2015; Kardong, 2019). Taková je situace zejména u paryb (přesněji u skupiny Elasmobranchii), kde jsou jednotlivé žaberní štěrbiny definované od vnějšku organismu až do oro-faryngeální dutiny pomocí interbranchiálních sept (mezižaberních přepážek) vybíhajících z žaberních oblouků mezi dvěma hemibranchy v rámci holobranchu (Obr. 2) (Kerr, 1919; Goodrich, 1958). U chimér (Holocephali, skupiny v rámci paryb) a vodních Osteichthyes jsou tato interbranchiální septa do značné míry redukována a všechny položábry tak sdílejí jednu žaberní (operkulární) dutinu na každé straně těla (Gillis et al., 2011; Wegner, 2015; Kardong, 2019). Tato společná žaberní dutina je

* Pojem „první“ žaberní štěrbina (s uvozovkami) bude odkazovat konkrétně na vývojově nejanteriornější hyomandibulární štěrbinu, pojem první žaberní štěrbina (bez uvozovek) bude odkazovat na první morfologicky plně vyvinutou žaberní štěrbinu mezi hyoidním a posteriorně následujícím žaberním obloukem, tedy štěrbinu bezprostředně následující za redukováným spirakulem.

pak zvnějšku kryta operkulem (skřelelemi), plochým kožním výrůstkem hyoidního oblouku, u chimér vyztuženým chrupavčitými žaberními paprsky hyoidního oblouku a u Osteichthyes zpevněným operkulární sérií kostí dermatokrania (Goodrich, 1958; Gillis et al., 2011; Richardson et al., 2012). Operkulární výrůstek se embryonálně zakládá i u blanatých (Amniota) včetně člověka a během ontogeneze internalizuje materiál posteriorních „žaberních“ oblouků (Richardson et al., 2012).

Výše zmíněný pseudobranch se dnes vyskytuje u většiny paryb a paprskoploutvých ryb (Actinopterygii), s výjimkou např. některých druhů řádu hololbříší (Anguilliformes), skupiny Siluroidei (podřád sumců) a rodů sekavec (*Cobitis*) a *Gymnarchus* (Hamidian & Alboghobeish, 2007).

Jedná se tedy o osamocený (ve smyslu chybějící položábrý na protější straně respirační jednotky) redukováný hemibranch, nacházející se ve spirakulárním traktu (Obr. 2) (Kardong, 2019; Gai et al., 2022) či přirostlý ke vnitřní stěně operkula (při ústupu spirakulární dutiny během vývoje) (Hamidian & Alboghobeish, 2007; Mölich et al., 2009; Mokhtar et al., 2023). Může mít podobu od zmenšené položábrý (např. u hlaváče černého – *Gobius niger*) až po vzhled malé žlázky (např. u rodu treska – *Gadus* či kapr – *Cyprinus*) (Mölich et al., 2009). Pseudobranch nemá přímou respirační funkci, jelikož k němu bývá přiváděna krev již okysličená následujícím plně vyvinutým žaberním obloukem (Mölich et al., 2009; Gai et al., 2022; Hirschberger & Gillis, 2022). Krev je pak přes pseudobranch odváděna směrem k oku jakožto jediný zdroj jeho prokrvení (Mölich et al., 2009). V tomto ohledu by podle některých autorů (Gai et al., 2022; Mokhtar et al., 2023) mohl pseudobranch sloužit k doplňování hladiny kyslíku energeticky velmi náročné sítnice oka, přestože důkazy pro takovou hypotézu jsou dosti nejasné (Mölich et al., 2009). Podle



Obr. 2: Horizontální řez žaberním aparátem rejnoka bodlinatého (*Leucoraja erinacea*). **A** – schéma mandibulárního (ma), hyoidního (ha) a žaberních (1 až 4) oblouků embrya rejnoka s vyznačenou buněčnou expresí *Shh* (fialově), jež signalizuje následný vznik podpůrných chrupavek; **B** – schéma korespondující oblasti schématu A na starším embryu s vyvinutým žaberním aparátem, tečkované elipsy znázorňují pseudobranch (červeně), holobranch (světle modře) a hemibranch (tmavě modře); **C** – histologický řez oblasti odpovídající šedému čárkovanému obdélníku c na schématu B. eye – oko, s – spirakulum, sc – spirakulární chrupavka, pq – palatoquadratum, hm – hyomandibula, ph – pseudohyal, eb – epi-branchiale (1. až 4. žaberního oblouku), br – žaberní paprsky (branchial rays), GAER – epiteliální hřbet žaberního oblouku exprimující *Shh* (gill arch epithelial ridge). Převzato a upraveno podle Hirschberger & Gillis, 2022.

jiných autorů (Burrow et al., 2020) mohl mít pseudobranch v minulosti např. chemosenzorickou funkci. Další možné funkce tohoto orgánu mohou být role v regulaci imunitní odpovědi či dokonce v buněčné regeneraci (Mokhtar et al., 2023).

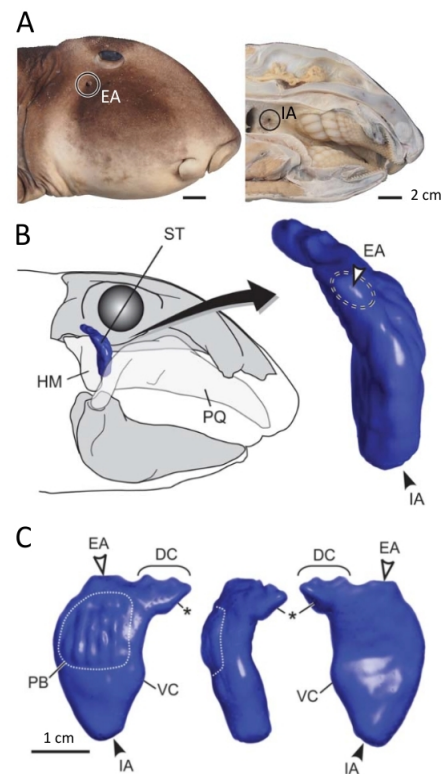
Nejasná funkce pseudobranchu a některé jeho vlastnosti, odlišující jej od normálních žaber, vedly k myšlence, že pseudobranch je novotvarem hyoidního oblouku, který není homologizovatelný s jakýmkoli hemibranchem žaberního aparátu (Miyashita, 2016). Ukazuje se však, na základě metod značení embryonálních buněk a sledování struktur, kterým dají vzniknout v následujícím vývoji (fate-mapping), že pseudobranch je derivátem mandibulárního oblouku, podpořený vlastní spirakulární chrupavkou (obdobnou chrupavčitém žaberním paprskům vybíhajícím v horizontální rovině ze žaberního oblouku), a tudíž je nejspíše homologizovatelný k hemibranchu „první“ žaberní štěrbině a seriálně homologický k ostatním zábrám (Hirschberger & Gillis, 2022; Thirupathy et al., 2022).

Spirákulum je tedy vnímáno jako pozůstatek „první“ žaberní štěrbině, jež byla zmenšena a odsunuta na dorzální stranu anteriorní migrací hyoidního oblouku k podpoře a uchycení čelistí (Graham et al., 2014; Burrow et al., 2020).

1.3 Morfologie spirakulární dutiny

Stěžejní strukturou spirakulární oblasti je tedy embryonálně se zakládající spirakulární výchlípka, dávající vznik spirakulární dutině (trubici), která se může prolomit do vnějšího prostředí v podobě spirakulárního otvoru (spirákula) (Gai et al., 2022).

Spirakulární dutina zvířat s vyvinutým spirákulem ovšem většinou nepředstavuje podobu jednoduché trubice. Vedle samotného vyústění do vnějšího prostoru (spirákula) lze často pozorovat i dvojici slepých zakončení, dle své vzájemné pozice nazývaných dorzální a ventrální spirakulární výběžek (Tomita et al., 2018). U paryby různozubce japonského (*Heterodontus japonicus*, Obr. 3) směřuje dorzální výběžek směrem k otické kapsuli (a vnitřnímu uchu) a menší ventrální výběžek hostí otvor spirakulárního orgánu (viz níže), na anteriorní stěně je patrný pseudobranch (Tomita et al., 2018).



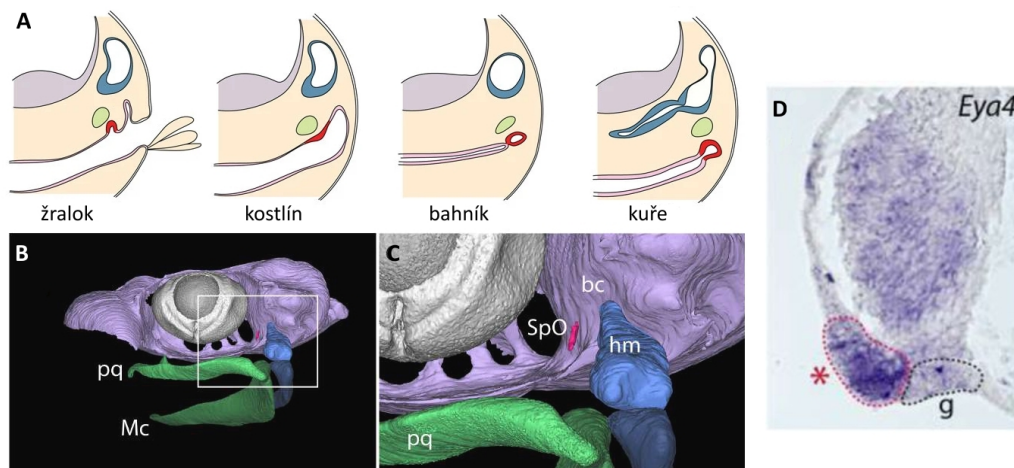
Obr. 3: Trojrozměrný model spirakulární dutiny u paryby *Heterodontus japonicus*. A – laterální pohled na vnější otvor (EA, spirákulum) a vnitřní otvor (IA, vyústění do hltnu) spirakulární dutiny; B – schéma laterálního pohledu na spirakulární dutinu, znázorněnou v 3D modelu modře; C – zleva: anteriorní, mediální a posteriorní pohled na 3D model spirakulární dutiny. ST – spirakulární dutina, HM – hyomandibula, PQ – palatoquadrate, DC – dorzální výběžek, VC – ventrální výběžek, PB – pseudobranch, * – slepé zakončení DC. Převzato a upraveno podle Tomita et al., 2018.

Podobnou morfologii zmiňuje Wright (Wright, 1885) v pozůstatku spirakulárního traktu u kostlína (*Lepisosteus*) a kaprouna (*Amia*), u kterých v dospělosti nepozorujeme prolomení spirakulární dutiny do vnějšího prostředí v podobě tradičního spirákula (viz kap. 3.5.3).

1.4 Spirakulární orgán

Významnou strukturou v rámci spirakulární oblasti je spirakulární orgán, malá trubice či výchlípka, vystlaná mechanosenzorickými vláskovými buňkami a vrostlá do stěny spirakulární dutiny, do níž ústí malým otvorem (Obr. 4) (Barry & Boord, 1984; Gillis et al., nepublikováno). Vyskytuje se u paryb, většiny paprskoploutvých (Actinopterygii), vyjma bazálních bichirů (Polypteriformes) a korunových kostnatých ryb (Teleostei), dále u latimérie a bahníků (Dipnoi) (O'Neill et al., 2012; Johnston, 2022). Velice podobný tzv. paratympanální orgán byl nalezen u některých savců (Mammalia), u ptáků, krokodýlů a u hatérie (rod *Sphenodon*) (O'Neill et al., 2012; Johnston, 2022).

Vzhledem k podobnosti těchto struktur a zejména pak vzhledem k jejich společnému původu ze samostatné plakody jsou spirakulární a paratympanální orgán považovány za homologické (O'Neill et al., 2012; Gillis et al., nepublikováno). Funkční role těchto orgánů nebyla uspokojivě potvrzena, nicméně u spirakulárního orgánu se např. předpokládá funkce proprioceptoru stisku čelistí (Barry & Boord, 1984), u paratympanálního orgánu pak např. funkce barometru (měření tlaku) či altometru (měření nadmořské výšky) (von Bartheld & Giannessi, 2011).



Obr. 4: Spirakulární orgán obratlovců. **A** – schémata spirakulárního (u kuřete paratympanálního) orgánu (červeně) na transverzálních řezech embryí různých druhů, genikulátní nervový ganglion zeleně, epitel vnitřního ucha modře, převzato a upraveno z O'Neill et al., 2012; **B** – laterální pohled na spirakulární orgán žraloka *Scyliorhinus canicula*, pq – palatoquadratum, Mc – Meckelova chrupavka; **C** – přiblížený pohled na spirakulární orgán (SpO, růžově) odpovídající bílému obdélníku na obrázku B, bc – neurokranium, hm – hyomandibula; **D** – transverzální řez embryem rejnoka bodlínatého (*Leucoraja erinacea*) ukazující samostatnou spirakulární plakodu exprimující *Eya4*, * – spirakulární plakoda, g – genikulátní plakoda, převzato z Gillis et al., nepublikováno.

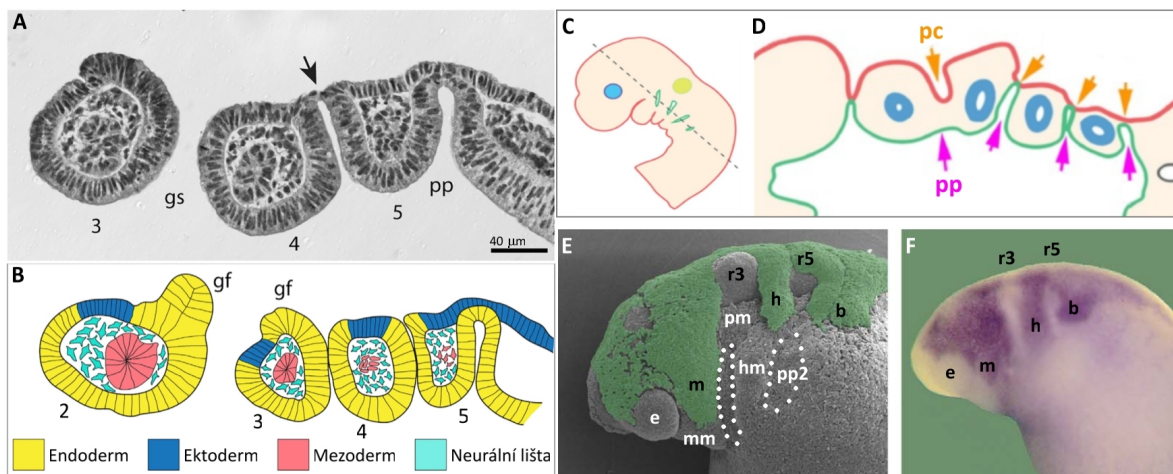
2 Spirakulární oblast v průběhu ontogeneze

Vzhledem k původu spirakulární oblasti z hyomandibulární (1. faryngeální) výchlipky (Gai et al., 2022) je ontogeneze (vývin v rámci jedince) spirakula úzce spjata s ontogenezí faryngeální oblasti obratlovců, které se tak bude obecněji věnovat tato kapitola.

2.1 Faryngeální oblouky a výchlipky

Asi nejpatrnějším rysem raného vývoje oblasti hltanu obratlovců je antero-posteriorní série vypouklých segmentů na bočních stranách hlavy, které nazýváme faryngeální oblouky (Graham & Smith, 2001). Tyto oblouky vznikají souhrou všech zárodečných listů. Každý z oblouků je zevnějšku kryt epitelem ektodermu a zevnitř vystylán epitelem endodermu, mezi těmito vrstvami se pak nachází mezenchymální jádro původem z mezodermu, které je během ontogeneze obrůstáno další vrstvou mezenchymu, zejména buňkami neurální lišty, které tak vyplní prostor většiny oblouku (Obr. 5A, B) (Noden, 1988; Graham & Smith, 2001; Grevellec & Tucker, 2010; Rees et al., 2024). Jednotlivé oblouky jsou od sebe v antero-posteriorním směru odděleny vchlipujícím se epitelem ektodermu i endodermu, tedy zevnějšku ektodermálními faryngeálními rýhami a zevnitřku embrya endodermálními faryngeálními výchlipkami (váčky; Obr. 5C, D) (Goodrich, 1958; Graham & Smith, 2001). Endoderm faryngeálního váčku může splynout s ektodermem protějšší faryngeální rýhy za vzniku klasické žaberní štěrbin (či spirakulárního otvoru v případě hyomandibulárního váčku) propojujícího oro-faryngeální dutinu s vnějším prostředím (Obr. 5A, B) (Gillis & Tidswell, 2017; Rees et al., 2024). U některých obratlovců (např. bichir, jeseter či kostlín) se stejným způsobem (a expresí stejné sady genů) vychlipuje i endoderm v oblasti před budoucími ústy, dávající vznik tzv. předústnímu střevu (pre-oral gut), tedy nulté faryngeální výchlipce (která může dát vzniknout např. cementovým žlázám embrya bichira a kostlína či podstatné části rostra jesetera) (Horackova et al., 2023).

Každá z těchto zárodečných vrstev dává vzniknout různým komponentám hltanové oblasti obratlovce. Ektoderm je základem keratinizované pokožky obličeje a sensorických neuronů, mezoderm vytváří obličejové svalstvo a endotel cév, buňky neurální lišty přispívají zejména k tvorbě pojivové a kostní tkáně viscerokrania (Graham & Smith, 2001; Grevellec & Tucker, 2010; Rees et al., 2024). Nicméně v žaberních obloucích (3. až 7. faryngeálním) zástupce rejnoka bodlinatého (*Leucoraja erinacea*) byl v rámci chrupavčité tkáně nalezen i podstatný podíl buněk mezodermu (Sleight & Gillis, 2020). Endoderm faryngeálních váčků pak kromě výstelky hltanu dává vzniknout u vodních rybovitých obratlovců zábrám a výstelce žaberních štěrbin (Gillis & Tidswell, 2017), případně u Amniot různým tkáním žláz, jako jsou krční mandle, příštítná tělíska nebo brzlík (Grevellec & Tucker, 2010).



Obr. 5: Faryngeální oblouky, výchlípky, rýhy a štěrbiny. **A** – horizontální řez faryngeální oblastí embrya rejnoka bodlinatého (*Leucoraja erinacea*) zachycující různá stadia vývoje faryngeálních výchlípek (pp) postupně laterálně dorůstajících k protilehlému ektodermu, se kterým fúzuje (černá šipka) za vzniku žaberní štěrbiny (gs); **B** – schéma obdobné situace jako v **A**, barevně znázorňující buňky jednotlivých zárodečných vrstev, 2 až 5 – 2. až 5. faryngeální oblouk, gf – základy žaberních filament, převzato a upraveno podle Gillis & Tidswell, 2017; **C** – schématické znázornění sagitálního řezu embrya kuřete, přerušovaná čára značí rovinu řezu schématu **D**; **D** – schéma horizontálního řezu embryem kuřete ilustrující endodermální faryngeální výchlípky (pp, růžově) a ektodermální faryngeální rýhy (pc, oranžově), převzato a upraveno podle Shone & Graham, 2014; **E** a **F** – embryo axolotla mexického (*Ambystoma mexicanum*) na snímku ze skenovacího elektronového mikroskopu po odstranění epidermis (**E**) a na snímku po hybridizaci AP-2 riboprobou zvýrazňující buňky neurální lišty (**F**), bíle tečkované oblasti představují kontury faryngeálních výchlípek, e – oko, r3 a r5 – rhombomery 3 a 5 zadního mozku, m – mandibulární proud buněk neurální lišty, h – hyoidní proud, b – branchiální proud, mm – mezoderm mandibulárního oblouku, hm – mezoderm hyoidního oblouku, pm – paraxiální mezoderm, pp2 – druhá faryngeální výchlípka, převzato a upraveno podle Cerny et al., 2004.

2.2 Role endodermu a neurální lišty v ontogenezi faryngeální oblasti

Jelikož je faryngeální oblast obratlovců komplexní mozaikou různých buněčných a tkáňových typů se specifickými funkcemi (viz výše), je pro její vznik třeba nějakým způsobem regulovat a navigovat buněčné linie vznikající obratlovčí hlavy. Na základě transplantačních pokusů na kuřeti, při nichž byly odebírány různé populace buněk neurální lišty a nahrazovány jinými za vzniku abnormálních fenotypů (např. presumptivní buňky 3. faryngeálního oblouku byly nahrazeny presumptivními buňkami 1. oblouku), se kandidátem pro ústřední roli v regulaci segmentace faryngeální oblasti staly právě buňky neurální lišty (Noden, 1983). Neurální lišta je (pro obratlovce typická) dočasná populace buněk oddělující se delaminací z rozhraní neurální ploténky a ektodermu během neurulace (Santagati & Rijli, 2003). Delaminované buňky neurální lišty následně migrují často i poměrně daleko v charakteristických proudech na základě jejich pozice v antero-posteriorní ose (Green et al., 2015). V rámci hlavy jsou patrné tři široké proudy těchto buněk migrujících zejména z oblasti zadního mozku do budoucích žaberních oblouků (Obr. 5E, F) (Cerny et al., 2004; Stundl et al., 2020). Ontogeneze

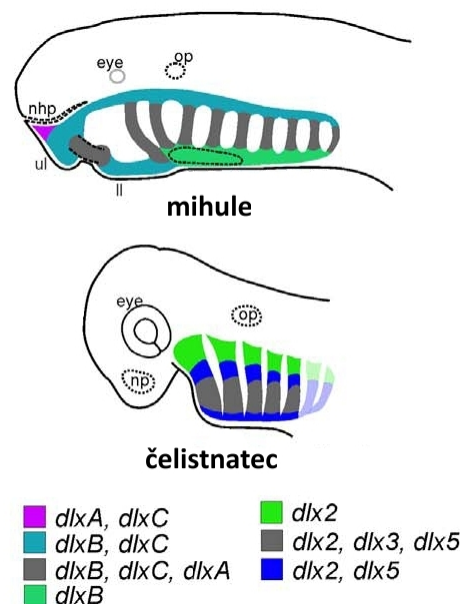
hltanové oblasti obratlovců by tak dle Nodena (Noden, 1983) byla řízena hlavně buňkami neurální lišty v závislosti na jejich poziční informaci již v rámci neuroektodermu, ze kterého později odmigrují a dají vzniknout konkrétním derivátům jednotlivých oblouků.

Navzdory těmto transplantačním pokusům (Noden, 1983) bylo zjištěno, že k segmentaci a tvorbě jednotlivých faryngeálních oblouků dochází i při absenci buněk neurální lišty (Veitch et al., 1999). Po odstranění buněk budoucí hlavové neurální trubice (včetně buněk hlavové neurální lišty) kuřete docházelo k normálnímu vychlipování endodermálních faryngeálních váčků a segmentaci faryngeálních oblouků. Tyto oblouky si dokonce zachovávaly svoji poziční informaci a polaritu pomocí regionalizované exprese řady genů (Veitch et al., 1999). Segmentace faryngeálních oblouků tak zřejmě není závislá na neurální lišti a významnou roli v řízení a signalizaci vývoje hltanové oblasti hraje endoderm faryngeálních výchlipek (Veitch et al., 1999; Graham & Smith, 2001). Tyto výsledky vedou k představě orchestrace segmentace hltanové oblasti formováním a signalizací endodermálních výchlipek, společně se specifickou migrací buněk neurální lišty, čímž dohromady utvářejí komplexní faryngeální aparát (Graham & Smith, 2001). Tomu odpovídá mutantní fenotyp *van gogh* ryby danio pruhované (*Danio rerio*), který je patrný defektem v segmentaci faryngeální oblasti, aniž by byla jakkoli narušena segmentace zadního mozku a migrace buněk neurální lišty (Piotrowski & Nüsslein-Volhard, 2000). Mutace *van gogh* vede k poruše pravidelnosti utváření faryngeálních výchlipek, následnému splývání charakteristických proudů migrujících buněk neurální lišty a neschopnosti vytvořit normálně segmentované faryngeální oblouky a struktury vnitřního ucha (Piotrowski & Nüsslein-Volhard, 2000).

Ústřední role endodermálních výchlipek v segmentaci hltanové oblasti odráží i evoluční historii faryngeálních oblouků. Nejprve se během fylogeneze ustanovila antero-posteriorní série otvorů prolamujících se laterálně z hltanové oblasti do vnějšího prostředí a až do této série byl později zabudován specializovaný mezenchym původem z neurální lišty (Veitch et al., 1999; Graham & Smith, 2001). Segmentace faryngeálního endodermu je řízena komplikovanou genovou regulační sítí, která je zřejmě konzervovaná napříč druhoústými (Deuterostomia). Konkrétně koexprese genů *Pax-Eya-Six* je klíčová ve formování endodermu faryngu (hltanu) u obratlovců (Vertebrata/Craniata), kopinatce (Cephalochordata) i žaludovce (Hemichordata) (Kozmik et al., 2007; Gillis et al., 2012; Graham & Richardson, 2012). Dalšími hráči ve vzniku komplexního segmentovaného obličejového aparátu obratlovců jsou např. geny (a jim odpovídající proteiny) rodiny *Fgf* (Fibroblast growth factor), rodiny *Bmp* (Bone morphogenetic protein) či *Shh* (Sonic hedgehog), které se společně podílejí na ustanovení poziční identity buněk faryngeální oblasti v antero-posteriorní i dorzo-ventrální rovině (Grevell & Tucker, 2010). Např. v rámci mandibulárního oblouku kuřete určuje vzájemná interakce faktorů *Fgf8* (alokovaného zejména v dorzální části) a *Bmp4* (produkovaného ve ventrální části a blokující expresi *Fgf8*) dorzo-ventrální identitu tohoto oblouku (Shigetani et al., 2000). Obecněji se na této

specifikaci podílejí geny rodiny *Dlx* (Obr. 6), jejichž kombinatorická a vzájemně vnořená exprese určuje spolu s dalšími geny (např. *Hand* či *Gsc*) dorzo-ventrální identitu podél každého z oblouků, a to u zástupců čelistnateců (Gnathostomata) i u mihule (Cyclostomata) (Cerny et al., 2010; Gillis et al., 2013; Square et al., 2017). Exprese genu *Shh* je taktéž nezastupitelná během formování hlavy a příslušné mutace vedou mimo jiné k závažným fenotypům vývoje faryngeální oblasti (Stundl et al., 2022).

Konkrétně u dania (*Danio rerio*) je formování faryngeálních výchlipek popisováno jako laterální migrace buněk endodermu, jejíž organizovanost je narušena redukcí tvorby faktorů *Fgf3* a *Fgf8* vedoucí k naprosté absenci faryngeálních výchlipek (Crump et al., 2004). Mutace dania v genu *Fgf8a* vede k menší směrovanosti a koherenci laterálně migrujících endodermálních buněk faryngeálních výchlipek naznačující roli proteinu *Fgf8a* ve vedení směru migrace endodermálních váčků (Choe & Crump, 2014). V pozdějším vývoji slouží *Fgf* proteiny zřejmě jako faktory přežití buněk neurální lišty migrujících do vznikajících faryngeálních oblouků (Crump et al., 2004). U myši je tato funkce *Fgf8* patrná apoptózou (jinak správně migrujících) buněk neurální lišty u jedinců s opožděnou expresí *Fgf8* vlivem mutace v dalším funkčně nadřazeném regulátoru *Foxi3* (Edlund et al., 2014). V rámci ranějšího vývoje myšního embrya vede redukce *Fgf8* signalizace k poruchám vývoje 1. faryngeální výchlipky i protější ektodermální rýhy (Zbasnik & Fish, 2023). Tato redukce nemá tak znatelný vliv na samotné laterální vychlipování faryngeálního váčku ani rýhy (pozorovatelné v horizontální rovině), nicméně nedostatek *Fgf8* vede k selhání jejich proximo-distálního (zde i dorzo-ventrálního, pozorovatelného v sagitální rovině) prodlužování, což vede k nedostatečné interakci endodermu hyomandibulárního váčku s ektodermem protilehlé rýhy a následně k splynutí prvních dvou faryngeálních oblouků (Zbasnik & Fish, 2023). U rejnoka bodlinatého (*Leucoraja erinacea*) je signalizace *Fgf3* a *Fgf8* nutná k prolomení žaberních štěrbin (resp. k epiteliální přestavbě na příslušných rozhraních ektoderm/endoderm), hranice buněk exprimujících a neexprimujících *Fgf3* spolu s *Fgf8* pak představuje místo budoucího prolomení každé ze žaberních štěrbin (Rees et al.,



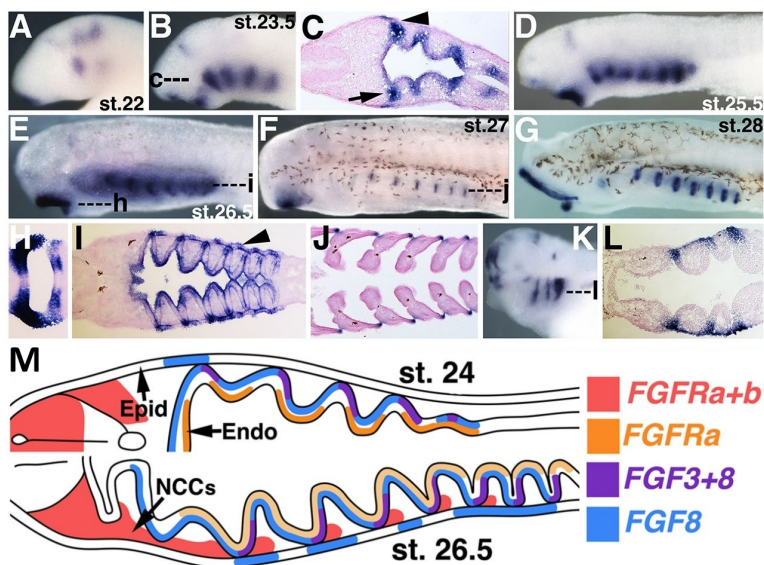
Obr. 6: Příklad kombinatorické exprese genů *Dlx* určujících identitu v rámci oblouků v dorzo-ventrální ose. Schémata laterálního pohledu na hlavu embrya čelistnatece a mihule. eye – oko, II – spodní ret, nhp – nasohypofyzární destička, np – nasální plakoda, op – optická plakoda, up – horní ret. Převzato a upraveno podle Square et al., 2017.

2024). Proteiny rodiny Fgf jsou nezbytné pro tvorbu faryngeálních výchlipek a jejich následnou kontrolovanou diferenciaci i u mihulí (Cyclostomata), ukazující důležitou roli těchto proteinů v utváření hltanové oblasti napříč obratlovci (Obr. 7) (Jandzik et al., 2014).

Signální dráhy vedoucí k morfogenezi faryngeálních výchlipek a následně i oblouků mohou být shora regulovány dalšími faktory, jako jsou Tbx1 a Foxi1 u dania (Choe & Crump, 2014; Jin et al., 2018) nebo Tbx1 a Foxi3 u myši (Hasten & Morrow, 2019). Mutantní myši pro gen *Tbx1* (T-box 1) vykazují abnormality ve tvorbě obličejových struktur včetně poruch středního a vnitřního ucha, dále absence či abnormality ušních boltců, rozštěpy patra, nedovyvinutý brzlík a příštítná tělíska či poruchy srdce, což jsou příznaky typicky spojované s lid-

ským DiGeorgeovým syndromem (delece v oblasti chromozomu 22q11) (Jerome & Papaioannou, 2001). Vedle funkčního propojení mutace v *Tbx1* s DiGeorgeovým syndromem souvisí poruchy *Tbx1* také s výše zmíněnou mutací *van gogh* u dania (Piotrowski et al., 2003).

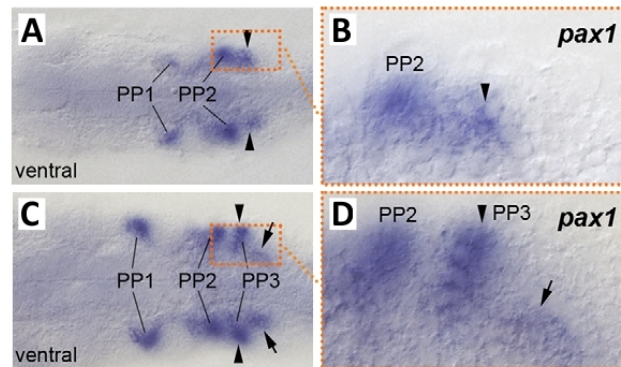
Klíčovou roli v organizaci vychlipování endodermu hraje u ryby medaka japonská (*Oryzias latipes*) gen z výše zmiňované rodiny *Pax*, konkrétně *Pax1*, který určuje svojí opakující se přerušovanou expresí pozici faryngeálních výchlipek před samotným vychlipováním endodermu (Obr. 8). Toho docílí regulací výše zmíněných genů *Tbx1* a *Fgf3* (Okada et al., 2016). V jedincích mutantních pro gen *Pax1* dochází k selhání diferenciaci 3. a následných faryngeálních výchlipek (Okada et al., 2016). Zajímavé je, že u myši zřejmě není gen *Pax1* či *Pax9* nezbytně nutný při samotné segmentaci faryngeálních výchlipek, nýbrž např. během pozdější organogeneze brzlíku a příštítných tělísek (Su et al., 2001; Okada et al., 2016). Naopak roli velice podobnou genu *Pax1* medaky zastává u myši gen *Ripply3*, jehož mutace vede k podobnému fenotypu (selhání vzniku 3. a posteriorních výchlipek) (Okubo et al., 2011). Tato rozdílná regulace myši a medaky by zřejmě mohla souviset se



Obr. 7: Příklad exprese genu *Fgf8/17/18* ve faryngeální oblasti mihule v různých stádiích vývoje (A až J) a genu *Fgf8* u embrya žáby *Xenopus laevis* (drápatka vodní, K a L). Přerušované čáry s malými písmeny představují rovinu řezu obrázku odpovídajícího písmene, šipky představují endodermální a trojúhelníky ektodermální expresi; M – schéma exprese genů rodiny *Fgf* ve faryngeální oblasti mihule. Endo. – endoderm, Epid. – epidermální ektoderm, NCCs – buňky neurální lišty. Převzato a upraveno podle Jandzik et al., 2014.

ztrátou genu *Ripply3* v taxonu zahrnujícím medaku (Neoteleostei), nicméně ani u dania, které do této skupiny nepatří, nevykazují mutantní jedinci pro *Ripply3* abnormality v segmentaci faryngeálních výchlipků, ukazující různé regulace mezi savci a skupinou Teleostei (Okada et al., 2016).

I takto konzervované vychlipování embryonálního endodermu v antero-posteriorním směru (Gillis et al., 2012) se tedy může mezi evolučními liniemi druhoústých v menší či větší míře lišit (Shone & Graham, 2014; Okada et al., 2016). Jako příklad zásadní evoluční novinky a výjimky v tomto ohledu lze uvést vývoj embryonálních vnějších žaber u bichira, které vznikají výrazným zrychlením růstu a diferenciací všech zárodečných vrstev hyoidního oblouku (Stundl et al., 2019).



Obr. 8: Příklad vzoru exprese genu *Pax1* během vývoje medaky japonské (*Oryzias latipes*) organizující postupné vychlipování endodermu v antero-posteriorním směru. PP1 až 3 – 1. až 3. endodermální faryngeální výchlipka, trojúhelníky v částech A a B představují oblast budoucích PP3, šipky v částech C a D představují oblast budoucích PP4. Převzato a upraveno podle Okada et al., 2016.

2.3 Buněčné mechanismy ontogeneze faryngeální oblasti

Organizace formování faryngeální oblasti výše zmíněnými signálními faktory probíhá skrze jednotlivé buněčné mechanismy, jež mimo jiné zprostředkovávají morfogenezi faryngeálního endodermu ve výchlipky. Samotné formování těchto výchlipků a další buněčné interakce v rámci vyvíjejícího se hltnu se však mohou v některých ohledech lišit jak mezi jednotlivými faryngeálními oblouky v rámci jedince, tak mezi stejnými oblouky v zástupcích různých druhů (Shone & Graham, 2014). Tato práce v následující podkapitole nabídne pohled na některé konkrétní popsané buněčné mechanismy stojící za regulací vzniku faryngeálních výchlipků.

Výzkum na daníu pruhovaném (*Danio rerio*) ukázal klíčové role signální dráhy proteinů Wnt při vychlipování faryngeálního endodermu (Choe et al., 2013; Choe & Crump, 2014, 2015; Jin et al., 2018). Konkrétně mezodermální exprese *Wnt11r* umožňuje skrze Rac signalizaci prvotní destabilizaci epiteliálních buněčných interakcí, která umožňuje laterální migraci výchlipků (Choe et al., 2013). Na modelu kuřete bylo ukázáno působení aktinového cytoskeletu v mechanickém směřování růstu těchto výchlipků, kdy aktinová vlákna tvoří pod plazmatickou membránou na straně lumen výchlipky dvojrozměrnou síť, zabraňující šíření buněk v jiném než proximo-distálním (zde i dorzo-ventrálním) směru (Quinlan et al., 2004). Tato síť interaguje s mezibuněčnými tzv. adhezními spoji (adherens junctions), tvořenými proteiny cadheriny, čímž aktin tvoří relativně pevnou oporu vyvíjejícího se vaku s podobnou funkcí jako např. lepicí páska obmotaná kolem nafukovaného balónku, určující jeho

výsledný tvar (Quinlan et al., 2004). U dána byl pozorován vliv již zmíněného proteinu Fgf8a na směrovanost růstu endodermálních váčků, sloužícího tedy jako jakési vodítko migrujícím buňkám (Choe & Crump, 2014). Exprese genů *Wnt11r* a *Fgf8a* (a tudíž i destabilizace a laterální směrovaná migrace endodermu) je řízena shora také již výše zmíněným faktorem Tbx1 (Choe & Crump, 2014). Naopak laterálněji ektodermální exprese genu *Wnt4a* vede k opětovné stabilizaci adhezních spojů a zastavení růstu výchlípky (Choe et al., 2013). Tato stabilizace probíhá pomocí Cdc42 signalizace vedoucí k polarizované distribuci imunoglobulinu Alcama na místech mezibuněčných spojů na apikální a laterálních okrajích buněk (Choe et al., 2013). Zpevnění epitelu finálního váčku adhezními spoji napomáhá i signalizace kinázy Pak2a, která je také spuštěna expresí *Wnt4a*, nicméně i další dráhou zahrnující proteiny efriny a jejich receptory (Choe & Crump, 2015). Podobně jako je destabilizace a následná migrace endodermálního epitelu řízena pomocí Tbx1, je následná stabilizace diferencovaného váčku u dána shora řízena faktorem Foxi1 (Jin et al., 2018). U myši je patrná genetická interakce takovýchto regulátorů *Tbx1* a *Foxi3*, jejichž mutace vedou částečně k podobným abnormálním fenotypům a zřejmě spolu sdílejí některé funkční prvky následné signalizace (Hasten & Morrow, 2019), ilustrující vskutku komplexní, leč přesné síť mechanismů, signálních drah a vzorů vedoucích ke tvorbě faryngeální a spirakulární oblasti obratlovců.

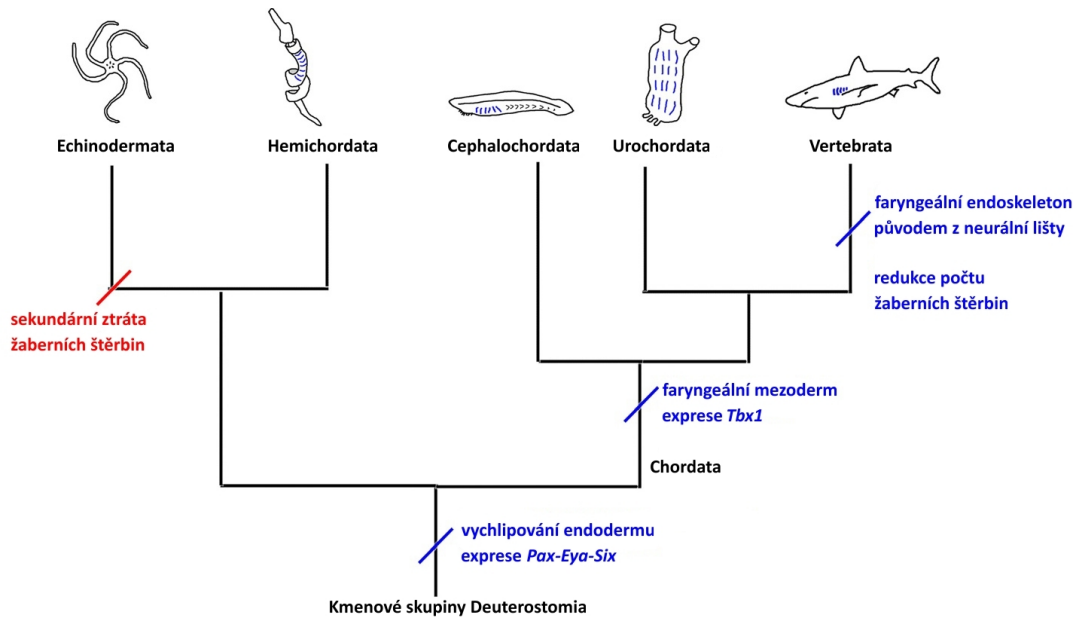
3 Spirakulární oblast v průběhu fylogeneze

V následující kapitole budou popsány klíčové body evoluce spirakulární oblasti, resp. bude představen osud spirakulárního regionu a jeho konkrétní přeměny napříč fylogenezí obratlovčích skupin. Struktura následujících podkapitol a jejich nadpisy neodpovídají stanoveným fylogenetickým úrovním (rankům), nýbrž spíše významu těchto skupin vzhledem k tématu této práce.

3.1 Ancestrální skupiny obratlovců

Ještě před samotným popisem fylogeneze spirakulárního regionu je vhodné nastínit stav této oblasti u předků obratlovčích skupin. Developmentální základ spirákula (či jeho modifikací) spočívá v první faryngeální (hyomandibulární/spirakulární) výchlípce nesoucí obecné charakteristiky endodermálních váčků dávajících vznik žaberním štěrbinám (Gai et al., 2022). Vychlipování endodermu a prolamování takto vzniklých výchlipek za vzniku žaberních štěrbin je pozorovatelné již u žaludovce (Hemichordata) (Gillis et al., 2012) a kopinatce (Cephalochordata) (Kozmik et al., 2007), u kterých je tento proces řízen stejně jako u obratlovců (Graham & Richardson, 2012) genovou regulační sítí *Pax-Eya-Six* konzervovanou napříč druhoústými (Deuterostomia). U žaludovce i kopinatce jsou tyto žaberní štěrbininy (kterých může být v případě některých žaludovců až 150) zpevněny chrupavčitými tyčinkami acelulárního charakteru (hmota chrupavky neobsahuje buňky), která je zřejmě sekretována endodermem (Rychel et al., 2006). Žaludovci nevykazují expresi *Tbx1* organizujícího funkčně shora některé další členy signální regulace vývoje hltanové oblasti. Tato absence je nejspíše spjatá s mezodermální expresí tohoto genu, resp. s absencí mezodermu mezi faryngeálními výchlipkami u žaludovce, který byl inkorporován do vývoje hltanové oblasti až před odvětvením kopinatce (Gillis et al., 2012). Na bázi obratlovců pak došlo k integraci buněčné populace neurální lišty do vývoje faryngeálních oblouků za vzniku viscerokraniálních elementů na principu celulární chrupavky (zahrnující i mezibuněčnou hmotou uvězněné chrupavku sekretující chondrocyty původem z neurální lišty) či z ní vzniklé kosti (shrnutí v Obr. 9) (Graham & Smith, 2001; Tian et al., 2022).

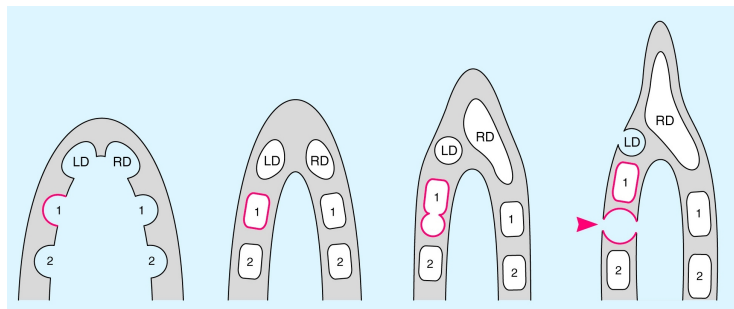
Žaberní štěrbininy kopinatce se prolamují v těsném kontaktu se žaberními nefridii (prvky vylučovacího systému) perforací endoderm-mezodermální dvojvrstvy žaberních výchlipek a mezoderm-ektodermální dvojvrstvy atria (tělní komory kopinatce vystlané ektodermem a ústící ven z kopinatčího těla otvorem zvaným atrioporus) (Kaji et al., 2016). Každá z takto vzniklých štěrbin je navíc fyzicky rozpůlena vedví dorzo-ventrálním růstem žaberních výztužných elementů (Ezhova & Malakhov, 2020). U žaludovců nedochází k úplnému rozpůlení faryngeálních žaberních štěrbin, nicméně dochází k jejich zatlačení do tvaru písmene U, více štěrbin dále ústí do společného žaberního vaku odkud vedou ven z těla mezoderm-ektodermální žaberní póry (Ezhova & Malakhov, 2020).



Obr. 9: Fylogenetický strom druhoústých (Deuterostomia) ukazující změny ve vývoji faryngeální oblasti. Předci všech druhoústých zřejmě vykazovali prolamování faryngeálního endodermu do podoby štěrbin (sekundárně ztracených u ostnokožců). U strunatců jsou segmenty mezi těmito štěrbinami vyplněny i *Tbx1* exprimujícím mezodermem a u obratlovců dochází navíc k inkorporaci buněk neurální lišty do těchto segmentů za vzniku prominentního endoskeletonu žaberních oblouků. Převzato a upraveno podle Graham & Richardson, 2012.

Zajímavou problematikou je též silná asymetrie vývoje faryngeální oblasti kopinatce, např. vývoj funkčně ústního otvoru na levé straně larvy (Soukup & Kozmik, 2016). Mnohé hypotézy se snažily o homologizaci vlevo zakládajících se úst kopinatce s ústy různých prvoústých i druhoústých organismů, případně i s levou hyomandibulární faryngeální výchlípkou, tudíž s levým spirákulem obratlovců (Kaji et al., 2016). Situace se u kopinatce ovšem nezdá být „tak jednoduchá“ a Kaji (Kaji et al., 2016)

demonstruje kopinatčí ústa jakožto speciální výchlípku levého prvního tělního somitu (jednoho z mezodermálních úseků dávajících vznik mimo jiné tělnímu svalstvu), který se prolamuje nejprve do hltanové části kopinatce a následně i do okolního prostředí (Obr. 10), homologizující ústa kopinatce s obdobnými coelomovými póry u ostnokožců (Echinodermata). Nicméně role takovýchto mezodermálních váček se ve vývoji kopinatce zdá být

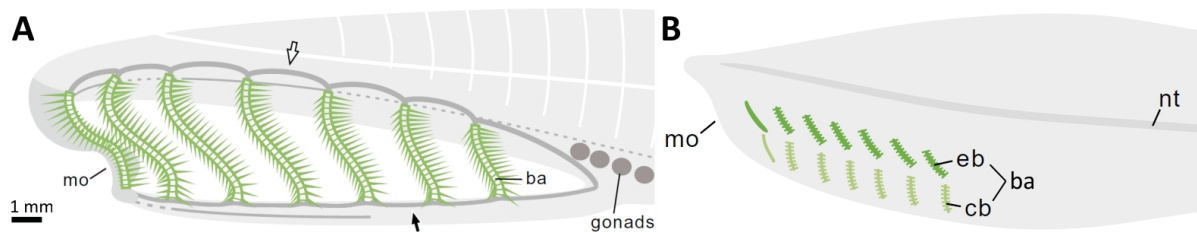


Obr. 10: Schéma vývoje úst larvy kopinatce na horizontálních řezech. LD a RD – levý a pravý coelomový výběžek, 1 a 2 – 1. a 2. tělní somit, růžová šipka představuje ústní otvor. Převzato a upraveno podle Soukup & Kozmik, 2016.

prostoru (Obr. 10), homologizující ústa kopinatce s obdobnými coelomovými póry u ostnokožců (Echinodermata). Nicméně role takovýchto mezodermálních váček se ve vývoji kopinatce zdá být

poměrně běžná, představující možnou evoluční novinku skupiny Cephalochordata a nechávající spousty otázek ohledně možného vztahu úst či jiných struktur kopinatce s konkrétními žaberními štěrbinami obratlovců (Soukup & Kozmik, 2016).

Žaberní štěrbin a jejich opory jsou patrné i ve fosilním záznamu praobratlovců z období kambria, jmenovitě si tu představíme rody *Yunnanozoon* a *Metaspriggina* (Obr. 11) fylogeneticky nejspíš mezi recentním kopinatcem (Cephalochordata) a kruhoústými (Cyclostomata) (Morris & Caron, 2014; Tian et al., 2022). Rod *Yunnanozoon* vykazuje sérii vzájemně podobných žaberních výztuh původem z celulární chrupavky, jako je tomu u dnešních obratlovců, což podporuje myšlenku, že všechny faryngeální oblouky předků obratlovců měly podobu nerozrůzněných žaberních oblouků (Tian et al., 2022). Rod *Metaspriggina* nese taktéž sérii žaberních výztuh, které jsou navíc každá složena ze dvou elementů (dorzálního a ventrálního), podobající se situaci u čelistnatců (Gnathostomata) (Morris & Caron, 2014). První pár těchto bipartitních žaberních elementů se zdá autorům (Morris & Caron, 2014) býti robustnějšího charakteru a postrádá v záznamu otisky žaberních filament. Tato absence žaber prvního oblouku by ovšem mohla být zapříčiněna i ztrátou ve fosilním materiálu.



Obr. 11: Schémata laterálního pohledu na faryngeální aparát rodů *Yunnanozoon* (A) a *Metaspriggina* (B). mo – ústní otvor, ba – žaberní oblouk, eb – epibranchiale, cb – ceratobranchiale, nt – notochord. Převzato a upraveno podle Tian et al., 2022.

Na základě těchto dokladů lze předpokládat (přestože ne zcela jistě) přítomnost spirakulární štěrbin podobající se posteriornějším žaberním štěrbinám na bázi skupiny obratlovců, podobně jako tomu je ve fosilním záznamu skupiny Galeaspida (viz kap. 3.3) (Gai et al., 2022).

3.2 Kruhoústí (Cyclostomata)

Nejdříve evolučně odvětvenými skupinami recentních obratlovců jsou jediní dodnes žijící bezčelistnatí (Agnatha), mihule a sliznatky. Vzhledem k jejich fylogenetické pozici by bylo možné předpokládat, že tyto skupiny budou vykazovat ancestrální znaky v rámci obratlovců (Mallatt, 2023). U obou těchto skupin ovšem nenacházíme spirakulární otvor mezi prvními dvěma faryngeálními oblouky (Obr. 12) (Mallatt, 1996; Oisi et al., 2013). U mihulí se první faryngeální endodermální výchlíпка (dávající vznik spirakulárnímu traktu) zakládá v podobě antero-dorzálně směřujícího šikmého váčku

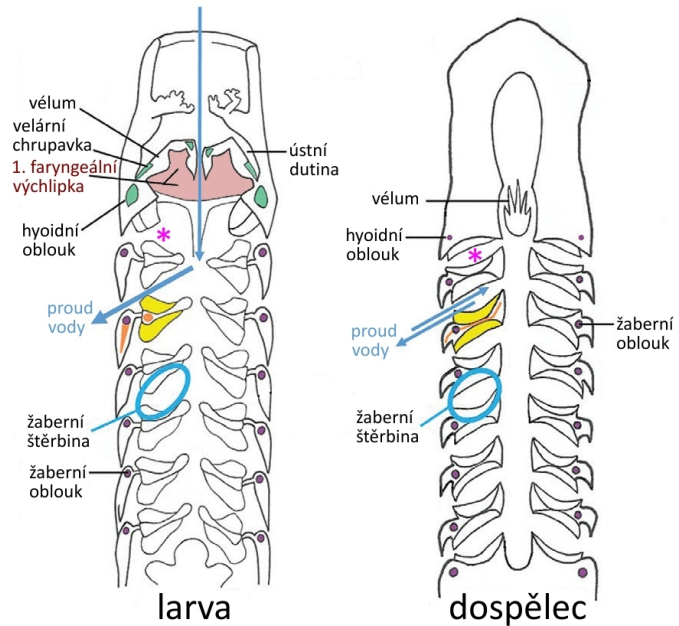
(Richardson et al., 2010) těsně za vélem, sloužícím jako aparát pumpující vodu do hltanu, původem z mandibulárního (prvního faryngeálního) oblouku (Yokoyama et al., 2021). Nicméně do okolního prostředí se prolamují za vzniku žaberního póru až druhá a následně posteriorní faryngeální výchlípky (celkem sedm pórů), které jsou zvnějšku vyztužené chrupavčitými tyčinkovitými elementy speciálního branchiálního koše (na rozdíl od typicky vícečlánekových elementů viscerokrania ostatních obratlovců vyztužujících žábry z vnitřní strany) (Richardson et al., 2010). Sliznatky taktéž embryonálně zakládají hyomandibulární (první faryngeální) výchlípku, v dospělci

se však do podoby žaberních štěrbin vyvinou dokonce až čtvrtá a následně posteriorní výchlípky (Oisi et al., 2013).

Mihule a sliznatky nyní na základě molekulárně-fylogenetických analýz přesvědčivě tvoří monofyletickou skupinu (skupinu, která zahrnuje všechny potomky společného předka všech druhů takové skupiny) zvanou kruhoústí (Cyclostomata) (Stock & Whitt, 1992; Heimberg et al., 2010). Absence spirákula u mihulí a sliznatek je tak zřejmě evoluční novinkou kruhoústých a nemusí tak nutně reflektovat stav evolučně před jejich odvětvením od ostatních obratlovců (Gai et al., 2022).

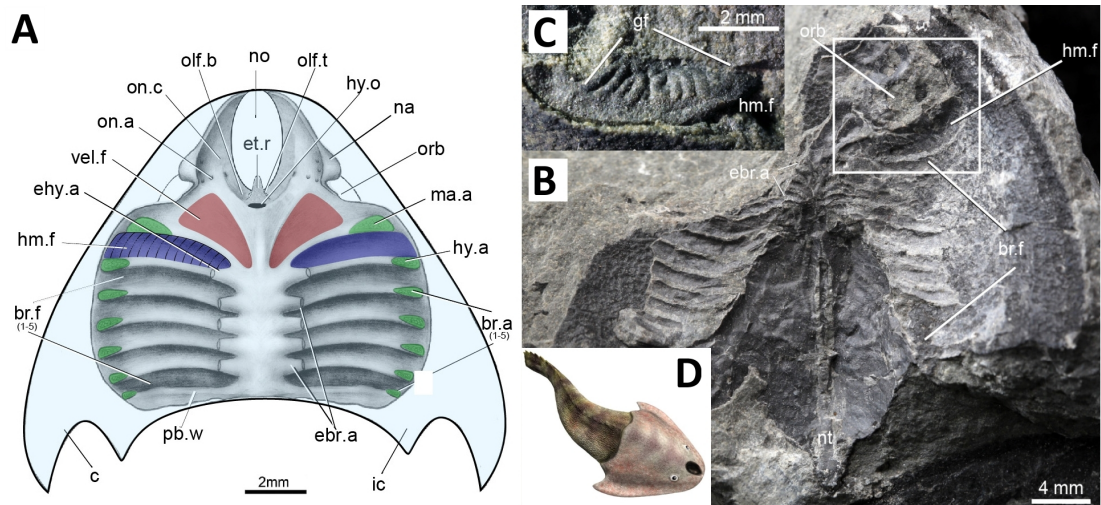
3.3 Kmenové skupiny čelistnatců

Informativní z hlediska ancestrálních znaků dávných obratlovců je fosilní záznam skupin odvětvených evolučně mezi kruhoústými a čelistnatci (Gnathostomata), tedy kmenových skupin čelistnatců. Zajímavý doklad přináší prvohorní (silur až devon) taxon Galeaspida. V lebce Galeaspida rodu *Shuyu* je totiž patrná plně vyvinutá hyomandibulární žaberní štěrbinu mezi nepříliš diferencovaným mandibulárním (čelistní aparát zde není vyvinutý) a hyoidním obloukem (Obr. 13) (Gai et al., 2022). V této štěrbině byly dokonce dochovány i otisky žaberních filament naznačujících výskyt plnohodnotné „respirační jednotky“ v podobě dvou hemibranchů (položaber), jednoho z mandibulárního a jednoho z hyoidního oblouku namísto redukovaného pseudobranchu (Gai et al.,



Obr. 12: Schématické znázornění horizontálního řezu larvy a dospělé mihule ukazující specializovaný branchiální aparát, v dospělci postrádající derivát hyomandibulární výchlípky. Růžová hvězdička označuje prostor 1. žaberního póru (2. faryngeální výchlípky). Převzato a upraveno podle Mallat, 2023.

2022). Tato skupina tak přináší fosilní důkaz tělního plánu s plně vyvinutou hyomandibulární žaberní štěrbinou tvarem i funkcí nerozlišitelnou od ostatních posteriorních štěrbin, podporujících pohled na spirákulum jako na pozůstatek „první“ žaberní štěrbin (Gai et al., 2022).



Obr. 13: Spirakulární region u rodu *Shuyu* na schématu horizontálního řezu (A) a ve fosilním materiálu (B a C). hm.f – rýha hyomandibulární štěrbin, vel.f a br.f – velární a branchiální rýhy, gf – žaberní filamenta, ma.a, hy.a a br.a – mandibulární, hyoidní a žaberní oblouky, ebr.a – eferentní branchiální tepna, no – nozdra, orb – otvor očnice, na – nasální váčky, hy.o – otvor hypofýzy, nt – notochord. Převzato a upraveno podle Gai et al., 2022. Nákres D – Nobu Tamura, 2017.

Podobná situace byla předpokládána i u další velice významné fosilní skupiny Placodermi (pancířnatí), tedy plně vyvinutá hyomandibulární žaberní štěrbinu mezi čelistmi (mandibulárním obloukem) a hyoidním obloukem (Watson, 1937). Novější rekonstrukce ovšem takovýto stav u Placodermi nepodporují, nicméně je z jejich paleontologického záznamu (z období devonu) patrná přítomnost redukováného spirákula (Arsenault et al., 2004).

3.4 Paryby (Chondrichthyes)

Recentní čelistnaté obratlovce (Gnathostomata) lze rozdělit na paryby (Chondrichthyes) a čelistnatce s kostní tkání (Osteichthyes či Osteognathostomata) (Hughes et al., 2018; Stein et al., 2018; Brownstein et al., 2024). V korunových zástupcích paryb nacházíme relativně zvětšené spirákulum, které má důležitou speciální funkci během dýchání (viz níže) (Summers & Ferry-Graham, 2001), evolučně tedy v rámci paryb dochází společně s morfologickými změnami ke specializaci spirakulárního otvoru z původní nediferencované žaberní štěrbinu.

3.4.1 Acanthodii

Acanthodii (trnoploutví) představují fosilní prvohorní skupinu rybovitých obratlovců řazenou v dnešní době na bázi paryb (Burrow et al., 2020). Jedna z prvotních interpretací spirakulární oblasti u Acanthodii vycházela z pozorování fosilií rodu *Acanthodes* a podobně jako zprvu u Placodermi předpokládala výskyt plně vyvinuté hyomandibulární štěrbinu mezi čelistmi a hyoidním obloukem (Watson, 1937). Na základě těchto představ bylo navrhováno rozlišení samostatné skupiny obratlovců zvaných „Aphetohyoidea“ (tedy obratlovců s hyoidním obloukem pozičně i funkčně volným od čelistí), kam by patřili právě Placodermi a Acanthodii nesoucí plně vyvinutou „první“ žaberní štěrbinu a představující mezistupeň mezi kruhoústými a rybovitými obratlovci se spirákulem (Watson, 1937). Tato představa byla ovšem později jak pro rod *Acanthodes*, tak pro Acanthodii jako taxon, přehodnocena a přijata přítomnost redukovaného spirákula (Miles, 1964).

Zajímavý doklad ovšem přináší fosilní záznam rodu *Cheiracanthus* nesoucí nejen dorzálně posunutou a zmenšenou vývodu spirakulárního traktu v podobě spirakulí, ale i dvojici redukovaných hemibranchů (pseudobranchů) v každém z párových spirakulí (Obr. 14A, B) (Burrow et al., 2020). Přítomnost párového pseudobranchu, tedy jednoho pseudobranchu z posteriorní strany mandibulárního (přítomného i u recentních spirakulí vykazujících druhů) a jednoho pseudobranchu z anteriorní strany hyoidního oblouku, u bazální linie paryb nasvědčuje nezávislé ztrátě hyoidního pseudobranchu u skupin Chondrichthyes (paryb) a Osteichthyes (čelistnatců s kostní tkání) (Burrow et al., 2020; Gai et al., 2022).

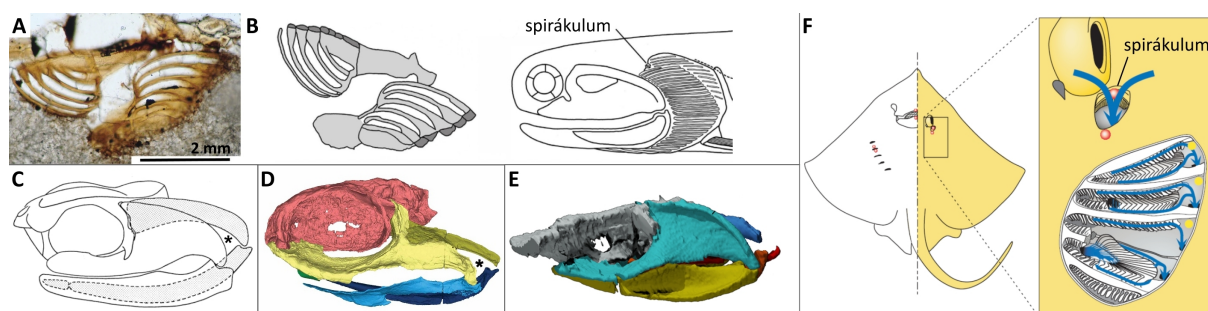
3.4.2 Symmoriiformes

Symmoriiformes představují vymřelý fosilní řád paryb (pozdní devon až raný perm) řadící se k bázi dnešních chimér (Holocephali; sesterská skupina příčnoústých – Elasmobranchii zahrnující dnešní žraloky a rejnoky) (Frey et al., 2020). Jedná se o skupinu zpočátku taktéž vyvolávající dojem plně vyvinuté hyomandibulární žaberní štěrbinu, oživující teorii skupiny „Aphetohyoidea“ (Zangerl & Case, 1976). Tento stav byl pozorován na rodech *Cobelodus* (Zangerl & Case, 1976) a *Ozarcus* (Obr. 14C, D) (Pradel et al., 2014). V trojrozměrných modelech rekonstrukcí obou těchto rodů byla patrná nápadná mezera mezi čelistmi (mandibulárním obloukem) a hyoidním obloukem (připomínajícím svými skeletálními elementy posteriorní méně diferencované žaberní oblouky), skýtající prostor pro případnou plně vyvinutou hyomandibulární štěrbinu (Zangerl & Case, 1976; Pradel et al., 2014). Výzkum na fosilním dokladu rodu *Ferromirum* naopak ukazuje velice těsný prostorový vztah elementů prvních dvou viscerálních oblouků, které tak nenechávají místo ani pro rozměrově redukovaný spirakulární otvor, natož pro plně vyvinutou žaberní štěrbinu (Obr. 14E)

(Frey et al., 2020). Tato situace u rodu *Ferromirum* může znamenat, že výše zmíněné pozorované otvory mezi prvními dvěma viscerálními oblouky u zástupců *Cobelodus* a *Ozarcus* představují posmrtné artefakty zkoumaného fosilního materiálu (Frey et al., 2020).

3.4.3 Recentní paryby

Recentní paryby se dělí na chiméry (Holocephali) a příčnoústé (Elasmobranchii), z nichž spirákulum v dospělosti vykazují pouze zástupci v rámci Elasmobranchii (ovšem ne všichni) (Stein et al., 2018; Kardong, 2019). Poměrně velké spirákulum některým parybám slouží zejména jako přídatný inhalantní otvor pro vodu, která je zvnějšku hnána do oro-faryngeální dutiny a skrze posteriorní žaberní štěrbinu zpět ven z těla (Obr. 14F) (Hughes, 1960; Summers & Ferry-Graham, 2001). Tato funkce byla experimentálně prokázána například v jedincích druhu rejnok bodlinatý (*Leucoraja erinacea*) (Summers & Ferry-Graham, 2001), máčka skvrnitá (*Scyliorhinus canicula*) a rejnok ostnatý (*Raja clavata*) (Hughes, 1960). U rejnoků byly objeveny i různé respirační módy v závislosti na situaci, kdy u zvířat v klidu převažuje právě nadechování spirákulem (a vydechování skrze zbylé žaberní štěrbinu) (Summers & Ferry-Graham, 2001). Spirákulum představuje u mnohých paryb zásadní inhalantní otvor, umožňující funkčně obejít nadechování skrze ústa (která jsou po většinu času zahrabaná či jinak v kontaktu se substrátem u rejnoků, popř. zaneprázdněná manipulací kořisti u žraloků) (Hughes, 1960; Summers & Ferry-Graham, 2001). V rámci vyvinutého spirakulárního traktu nacházíme u spousty druhů i pseudobranch (často poměrně robustní, připomínající plně vyvinutý hemibranch) mandibulárního oblouku (Hirschberger & Gillis, 2022) a spirakulární orgán (Barry & Boord, 1984).



Obr. 14: Spirakulární region skupiny Chondrichthyes. A – řez spirákulem rodu *Cheiracanthus* ukazující dvojici zakrnělých hemibranchů; B – schéma řezu A spolu se schématem laterálního pohledu na hlavu rodu *Cheiracanthus*; C až E – laterální pohledy na zástupce Symmoriiiformes, hvězdička (*) značí nápadně velké otvory mezi prvními dvěma oblouky u rodů *Cobelodus* (C) a *Ozarcus* (D), rod *Ferromirum* takovouto mezeru nevykazuje (E); F – Ventrální a dorzální pohled na rejnoka bodlinatého (*Leucoraja erinacea*) s přiblíženou oblastí spirákula jakožto inhalantního otvoru pro vodu. A a B – převzato a upraveno podle Burrow et al., 2020; C – převzato a upraveno podle Zangerl & Case, 1976; D – převzato z Pradel et al., 2014; E – převzato a upraveno podle Frey et al., 2020; F – převzato a upraveno podle Summers & Ferry-Graham, 2001.

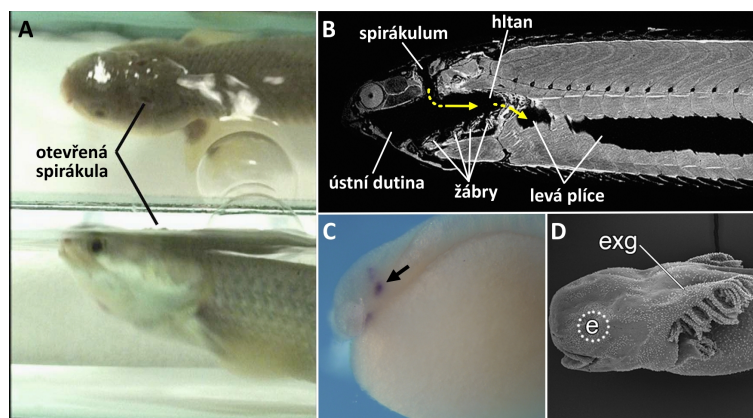
3.5 Paprskoploutvé ryby (Actinopterygii)

Paprskoploutvé ryby (Actinopterygii) představují jednu ze dvou hlavních podskupin čelistnatců s kostní tkání (Osteichthyes, Osteognathostomata) spolu se svaloploutvými rybami (Sarcopterygii; viz kap. 3.6) (Hughes et al., 2018). U bazálnějších linií je spirákulum vyvinuté a může zastávat i důležitou roli při dýchání, u dospělců vrcholových Teleostei spirakulární region tuto (i jakoukoli jinou) roli pozbývá a neprolamuje se do vnějšího prostředí (Gai et al., 2022).

3.5.1 Bichiři (Polypteriformes)

Bazální linii paprskoploutvých ryb představuje řád bichiři (Polypteriformes) (Hughes et al., 2018) obývající nestálé a na kyslík chudé vody (Moritz & Britz, 2019). Těmto podmínkám odpovídají i konkrétní adaptace, jakými jsou např. embryonální vnější žábry, nápadné spirakulární otvory a dýchání vzdušného kyslíku plicními vaky (Graham et al., 2014; Stundl et al., 2019). Ukazuje se, že právě nápadná spirákula umístěná na dorzální straně hlavy slouží k přijímání vzduchu do plic a zprostředkovávají až 93 % všech nádechů dospělé bichira (Graham et al., 2014). Vzhledem ke své stavbě hlavy (s ústy na ventrální polovině těla) by bylo pro bichira poněkud obtížné nadechovat vzdušný kyslík ústy, místo toho používá pro příjem vzduchu dorzálně ústící spirákula, která lze uzavřít sérií spirakulárních kůstek sloužících jako klapky, umožňující nádech vzduchu při minimálním vynoření hlavy s očima pod vodní hladinou a nerušeným pohledem na své okolí (Obr. 15A, B) (Graham et al., 2014). Další zajímavou modifikací hlavové oblasti jsou externí žábry larev, vznikající akcelerovaným vývojem buněk všech zárodečných vrstev hyoidního (druhé faryngeálního) oblouku, ukazující výraznou vývojovou flexibilitu tohoto oblouku během vývoje bichira (Obr. 15D) (Stundl et al., 2019).

V rámci prominentního spirakulárního traktu dospělého bichira není k nalezení ani pseudobranch (Moritz & Britz, 2019), ani spirakulární orgán (Johnston, 2022). Během vývoje bichira se



Obr. 15: Spirakulární oblast u bichira. A – pozice bichira *Polypterus senegalus* a otevření spirakulárních klapek během nádechu, převzato a upraveno podle Graham et al., 2014; B – laterální pohled hlavy bichira *Polypterus palmas* na snímku magnetické rezonance, žluté šipky ilustrují proud nadechovaného vzduchu, převzato a upraveno podle Graham et al., 2014; C – laterální pohled na časně embryonální bichira *Polypterus senegalus* s patrnou expresí genu *Pitx* značící spirakulární plakodu, převzato z Laboratoře kraniofaciální evoluce a vývoje, nepublikováno; D – laterální pohled na larvu bichira *Polypterus senegalus* na snímku ze skenovacího elektronového mikroskopu, demonstrující nápadné vnější žábry (exg), e – oko, převzato a upraveno podle Stundl et al., 2019.

nicméně zakládá samostatná spirakulární plakoda, která je obvykle základem spirakulárního orgánu (Obr. 15C) (Brezarová, 2023), což by mohlo naznačovat ztrátu spirakulárního orgánu či její plakody během vývoje bichira.

3.5.2 Jeseteři (Acipenseriformes)

Další odvětvující se linií paprskoploutvých ryb je řád jeseteři (Acipenseriformes) (Hughes et al., 2018) s celou řadou modifikací tělního plánu včetně redukce kostnatění jinak chrupavčitého skeletu zahrnující čeledi jeseterovité a veslonosovité (Gaisler & Zima, 2018). U obou těchto čeledí lze pozorovat vyústění spirakulárního traktu v podobě spirákula, avšak u obou je toto vyústění relativně redukováno a zřejmě bez významnější funkce během respirace (Burggren, 1978; Burggren & Bemis, 1992). Jeseteři (jeseteroví) v klidu spoléhají zejména na příjem vody bukální pumpou (přijímají vodu ústy) a odvádění vody operkulární štěrbinou ven těla, během čehož dochází k omývání žaber okysličenou vodou (Burggren, 1978). Při obstrukci úst zvládá jeseter dýchat přívodem vody skrze dorzální část operkulární štěrbiny (která je u jeseterů zvětšena a operkulum zde těsně nepřiléhá k trupu zvířete) směrem do žaberní a následně i bukální dutiny, odkud voda taktéž omývá žábry a je odváděna ventrální částí operkulární štěrbiny ven z těla (Burggren, 1978). Příjem vody dorzálním rozšířením operkulární štěrbiny jeseterů představuje zajímavou paralelu k použití spirákula jako přídatného inhalantního otvoru během neschopnosti úst přijímat vodu vhodnou k respiraci (Hughes, 1960; Burggren, 1978; Summers & Ferry-Graham, 2001). U veslonosů (veslonosoví) jsou spirákula ještě prostorově redukovánější než u jeseterovitých a ani zde nemá spirákulum významnou respirační funkci (Burggren & Bemis, 1992). Veslonosi vzhledem ke své potravní strategii filtrátorů využívají k dýchání ústy přijímaný proud vody generovaný během plavání (tzv. ram ventilation), čímž dochází ke spřažení příjmu potravy (zachytáváním potravy v takto přijímané vodě) a dýchání (omývání žaber takto přijímanou vodou) (Burggren & Bemis, 1992).

U obou skupin je ve spirakulární dutině přítomen relativně hluboko schovaný pseudobranch (Goodrich, 1958) a spirakulární orgán (O'Neill et al., 2012).

3.5.3 Kostlíni a kaprouni (Holostei)

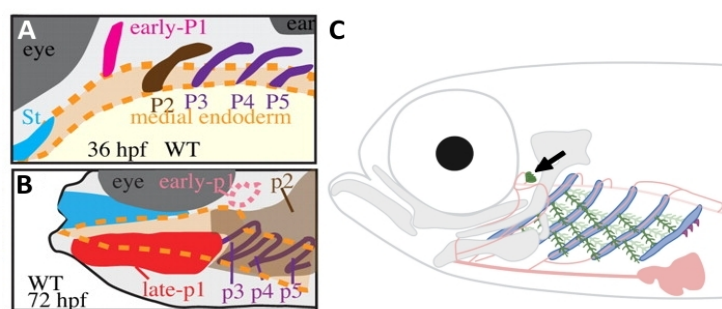
Kostlíni (Lepisosteiformes) a kaprouni (Amiiformes) tvoří spolu s Teleostei, kostnatými rybami, velkou monofyletickou skupinu paprskoploutvých ryb zvanou Neopterygii, u nichž již nepozorujeme prolomení spirakulární dutiny do okolí ve formě spirákula (Kardong, 2019; Brownstein et al., 2024). Jak kostlíni, tak kaprouni ovšem vykazují spirakulární dutinu, která se embryonálně zakládá z hyomandibulární výchlipky, u kaprounů se tato výchlipka během vývoje embrya může i dočasně prolomit do okolního prostředí a opětovně se uzavřít (Wright, 1885). Slepě zakončený spirakulární

trakt ovšem u kostlínů i kaprounů jinak vykazuje prvky tradiční morfologie této struktury, minimálně dorzální spirakulární výběžek (někdy zvaný též sluchový výběžek na základě své pozice vzhledem k otické kapsuli) (Wright, 1885), spirakulární orgán (O'Neill et al., 2012) či pseudobranch, který u kaprounů zůstává v uzavřené spirakulární dutině a u kostlína se během vývoje přesouvá na vnitřní stěnu operkula (Goodrich, 1958).

3.5.4 Korunové kostnaté ryby (Teleostei)

Korunovou a velice diverzifikovanou skupinu paprskoploutvých ryb představují Teleostei (Hughes et al., 2018; Brownstein et al., 2024), u nichž není spirakulární otvor přítomný (Kardong, 2019). I zde se ovšem hyomandibulární (první faryngeální) výchlípka embryonálně zakládá, a to ve dvou časoprostorových aspektech, nejprve jako menší časná první faryngeální výchlípka směřující z oro-faryngeální dutiny směrem dorzálně a následně i jako pozdní první faryngeální výchlípka rostoucí zejména anteriorně a laterálně (Obr. 16A, B), čímž od sebe prostorově odděluje skeletální elementy prvních dvou faryngeálních oblouků (Talbot et al., 2012). Časná oblast výchlípky má roli zejména v rané signalizaci segmentace faryngeální oblasti zvířete, pozdní část pak tvaruje a stabilizuje vyvíjející se skeletální elementy obličeje (Talbot et al., 2016).

U Teleostei se spolu se spirakulární dutinou ztrácí i spirakulární orgán (O'Neill et al., 2012), nicméně redukovaná položbra prvního faryngeálního (mandibulárního) oblouku (pseudobranch) se ve většině těchto ryb dochovává na vnitřní straně operkula (Obr. 16C) (Thiruppathy et al., 2022).



Obr. 16: Spirakulární oblast v průběhu vývoje u Teleostei. A a B – schémata sagitálních řezů embrya dania pruhovaného (*Danio rerio*) ukazující vchlípování časného (early-P1) a pozdního (late-P1) aspektu první faryngeální výchlípky, P1 až 5 – 1. až 5. faryngeální výchlípka, hpf – počet hodin po fertilizaci, převzato a upraveno podle Talbot et al., 2012; C – laterální pohled na dospělce *Danio rerio* s pseudobranchem vyznačeným šipkou, převzato a upraveno podle Thiruppathy et al., 2022.

3.6 Svaloploutví (Sarcopterygii)

Svaloploutví (Sarcopterygii) představují vedle paprskoploutvých ryb (Actinopterygii) druhou evoluční větev čelistnaticů s kostní tkání (Osteichthyes) s velice heterogenními skupinami zahrnující i čtvernožce (Tetrapoda) (Takezaki & Nishihara, 2017). V rámci této linie je pozorovatelná výrazná tendence spirakulárního regionu k postupnému přechodu z funkce dýchací k nové funkci efektivnějšího vedení zvukových vln do vnitřního ucha související mimo jiné s přechodem obratlovců z vody na souš (Gai et al., 2022).

3.6.1 Latimerie a dvojdyšní (Actinistia a Dipnoi)

Latimerie (Actinistia) a bahníci (dvojdyšní, Dipnoi) představují v tomto pořadí nejdříve se odvětvující skupiny svaloploutvých ryb (Takezaki & Nishihara, 2017). Ani jedna z těchto skupin nemá hyomandibulární výchlipku zcela prolomenou do vnějšího prostředí v podobě spirakulárního otvoru (Fritzsche et al., 2023). U latimerie je ovšem v dospělci patrná spirakulární dutina, která se sice neprolamuje do vnějšího prostředí, ale zůstává od něj oddělena pouze mebranózní strukturou s funkcí ušního bubínku (tympana), tato dutina byla nejspíše vyplněna vodou (případně tvořila v okolí tympana vzduchovou bublinu) (Fritzsche et al., 2023). Dorzální skeletální prvek hyoidního oblouku (osifikovaná hyomandibula) je přiložen k vnitřnímu uchu kolem této spirakulární dutiny (Fritzsche et al., 2023). Tato konstelace spirakulárního regionu již u latimerie pravděpodobně napomáhala vnímání zvuku oscilacemi tlaků působících na vnitřní ucho (Fritzsche et al., 2023). Uzavřená spirakulární dutina latimerie dále obsahuje i spirakulární orgán ukrytý pod kostěným afaciálním výběžkem nesoucím zoubky (Johnston, 2022). Pseudobranch nicméně přítomný není (Hughes, 1998).

Bahníci (recentní Dipnoi) nemají spirakulum ani spirakulární dutinu propojenou s orofaryngeální dutinou, přestože se tato dutina v embryu zakládá (Fritzsche et al., 2023). Spirakulární trakt v dospělci bahníka přetrvává pouze v podobě izolované komůrky, která ovšem obsahuje spirakulární orgán (Johnston, 2022). Pseudobranch chybí (Goodrich, 1958). Hyomandibula bahníků je silně redukována či přesněji řečeno z velké části fúzovaná s otickou kapsulí vnitřního ucha (Fritzsche et al., 2023).

3.6.2 Kmenové skupiny Tetrapodomorpha

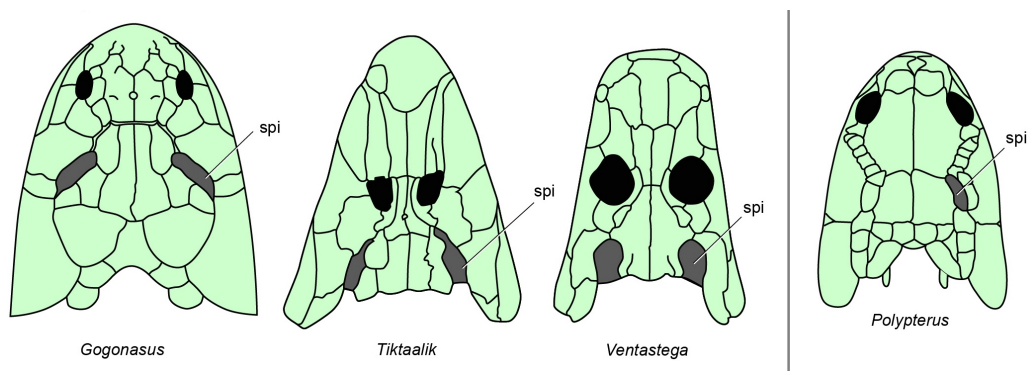
Jednu z nejvýraznějších evolučních změn v rámci fylogeneze obratlovců představuje přechod z rybích forem ke čtvernožcům a s tím pevně spjatý přechod obratlovců z vody na souš během pozdního devonu (Clack et al., 2003; Brazeau & Ahlberg, 2006). Nyní si ukážeme některé důležité rody tohoto přechodu ve formě fosilních dokladů.

Jednu z prvních linií Tetrapodomorpha představuje rod *Eusthenopteron*, který si zachovává tělní plán relativně typického rybovitého obratlovce. *Eusthenopteron* vykazuje celkem hluboký, až vertikálně orientovaný spirakulární trakt, který se na dorzální straně téměř v horizontální rovině otvírá ve formě nepříliš velkého spirakulárního otvoru (Brazeau & Ahlberg, 2006; Long et al., 2006). Hyomandibula představuje štíhlou tyčinkovitou strukturu (připomínající z laterálního pohledu bumerang) zaklíněnou a „překážející“ v prostoru pro spirakulární dutinu snižující tak její průsvit těsně před samotným spirakulárním otvorem (Obr. 18A) (Brazeau & Ahlberg, 2006).

Další odvětvující se linie představují rody *Gogonasmus* (Obr. 17) (Long et al., 2006) a *Panderichthys* (Brazeau & Ahlberg, 2006). U obou těchto rodů lze sledovat větší samotný otvor spirákula, který vychází z těla více vertikálně, samotný spirakulární trakt je naopak mělčí a spíše v horizontální rovině v kontrastu se stavem u rodu *Eusthenopteron* (Brazeau & Ahlberg, 2006; Long et al., 2006). Hyomandibula obou rodů je tvarem podobná jako u *Eusthenoptera*, maximálně trochu širší, nicméně je umístěna více horizontálně, čímž uvolňuje a zvětšuje průsvit spirakulární dutiny (Brazeau & Ahlberg, 2006; Long et al., 2006). U rodu *Panderichthys* je znatelná absence distální (posteriorní) části hyomandibuly uvolňující tak tuto kost od mandibulárního oblouku (Brazeau & Ahlberg, 2006).

Následující evoluční článek představuje rod *Tiktaalik* (Obr. 17), ilustrující pokračující tendenci dorzoventrálního zploštění lebky a horizontální polohy relativně krátké a rovné hyomandibuly (Downs et al., 2008).

Tělním plánem blízcí dnešním čtvernožcům (Tetrapoda) byli zástupci rodů *Ventastega* (Obr. 17) (Ahlberg et al., 2008), *Acanthostega* a *Ichthyostega* (Clack et al., 2003), kteří všichni vykazují výrazné spirakulární otvory a nejspíše i hyomandibulu přeměněnou ve sluchovou kůstku, nazývanou někdy kolumela u nesavčích obratlovců či stapes – třmínek, komunikující bezprostředně s vnitřním uchem. *Ventastega* a *Acanthostega* nejspíše měli kolumelu vklíněnou ve spirakulární dutině a zároveň v kontaktu s vnitřním uchem bez přítomnosti tympana, ušního bubínku (Clack et al., 2003; Ahlberg et al., 2008). Tento stav představuje nejspíše evolučně původní situaci uspořádání středního ucha Tetrapod (Capshaw et al., 2022; Gai et al., 2022). Zajímavou evoluční novinkou je pak uspořádání středního ucha rodu *Ichthyostega*, kde v rámci spirakulární dutiny nejspíše byla přítomna vzduchem vyplněná komora, jež svojí ventrální stěnou z měkké tkáně komunikovala s kolumelou, ta je u *Ichthyostegy* nápadně zploštělá a bezprostředně by mohla na tuto komoru zesponu přisedat. Skrze takto vklíněnou kolumelu mezi sluchovou spirakulární komorou a vnitřním uchem by mohlo docházet ke transdukcii zvukových vln, resp. vyvolaných vibrací této komory po vzoru plynového měchýře a Weberova aparátu u paprskoploutvých ryb skupiny Ostariophysii (Clack et al., 2003).

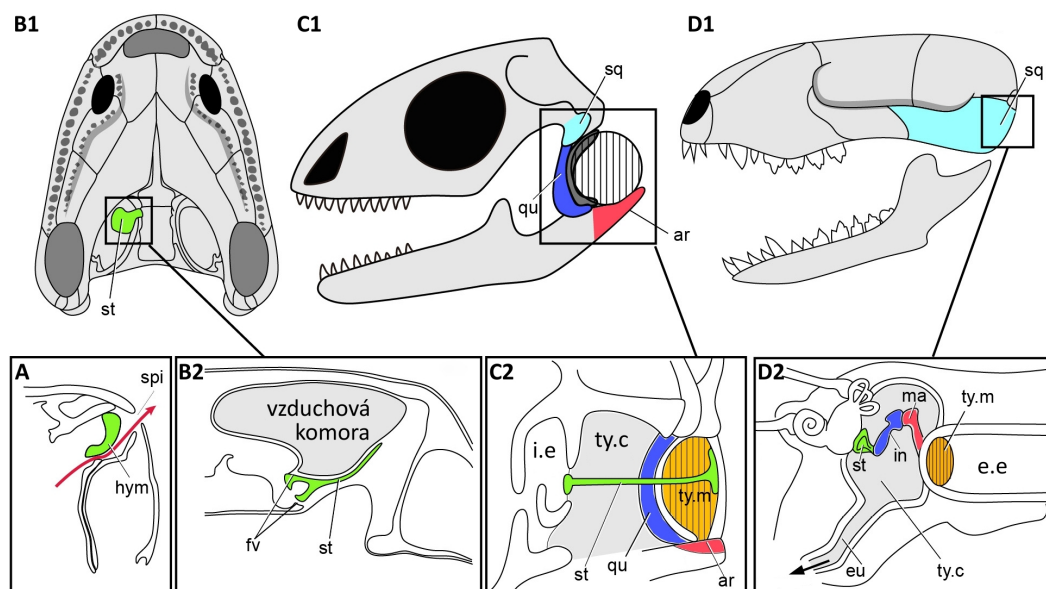


Obr. 17: Porovnání lebek v dorzálním pohledu zástupců fosilních Tetrapodomorpha a recentního bichira, ukazujících nápadně velké spirakulární otvory (spi). Převzato a upraveno podle Gai et al., 2022.

Vzhledem k poloze a postupnému fyzickému oprostění od ostatních elementů hlavového skeletu nasvědčuje hyomandibula „přechodných forem“ Tetrapodomorpha menší závislosti na dýchání pomocí pumpování vody ústy (Downs et al., 2008). Vzhledem k morfologii lebky výše zmíněných zástupců, která by odpovídala bentickému způsobu života, a nápadně velkým spirakulárním otvorům je podoba spirakulární oblasti bazálních Tetrapodomorpha nejspíš adaptací pro dýchání plynného vzduchu (jako je tomu u recentních bichirů) (Brazeau & Ahlberg, 2006). Pro funkci příjmu, zesílení a přenosu zvukových signálů u recentních čtvernožců bylo takovéto uzpůsobení spirakulární oblasti zřejmě vhodnou preadaptací (Brazeau & Ahlberg, 2006).

3.6.3 Korunví čtvernožci (Tetrapoda)

Korunvé skupiny čtvernožců zahrnují recentní skupiny obojživelníci (Lissamphibia), plazi (Sauropsida či Reptilia, včetně ptáků – Aves) a savci (Mammalia) (Brownstein et al., 2024), u kterých lze (většinou) pozorovat kompletní přeměnu spirakulárního traktu v dutinu středního ucha oddělenou od okolního prostředí tenkou membránou – ušním bubínkem, nebo-li tympanem (Obr. 18) (Clack, 2002; Gai et al., 2022). Tympanum se na rozhraní vnějšího a středního ucha rozkmitává zvukovými vlnami z vnějšího prostředí a tyto vibrace jsou následně sluchovou kůstkou/kůstkami přenášeny dutinou středního ucha do ucha vnitřního. (Capshaw et al., 2022; Fritzsche et al., 2023). U obojživelníků a plazů (včetně ptáků) je touto sluchovou kůstkou kolumela (přeměněná



Obr. 18: Přeměna spirakulární dutiny v dutinu středního ucha. A – frontální řez lebku rodu *Eusthenopteron* v místě spirákula (spi); **B1/2** – ventrální (palatální) pohled na lebku (B1) a frontální řez spirakulární oblasti (B2) rodu *Ichthyostega*; **C1/2** – laterální pohled na lebku (C1) a frontální řez dutinou středního ucha (C2) zástupce plazů; **D1/2** – laterální pohled na lebku (D1) a řez středním uchem (D2) savce. ar – articulare, e.e – vnější ucho, eu – Eustachova trubice, fv – oválné okénko, hym – hyomandibula, i.e – vnitřní ucho, in – incus, ma – malleus, qu – quadratum, st – stapes, ty.c – tympanická dutina, ty.m – ušní bubínek (tympanum). Převzato a upraveno podle Gai et al., 2022.

hyomandibula) (Clack, 2002), u savců jsou sluchové kůstky tři, jmenovitě třmínek (stapes, homolog kolumely a hyomandibuly), kovadlinka (incus, homolog kosti quadratum) a kladívko (malleus, homolog kosti articulare), z čehož třmínek (či kolumela) je tedy embryonálně původem z hyoidního (druhého faryngeálního) oblouku a kovadlinka s kladívkem jsou původu mandibulárního (z prvního faryngeálního oblouku, původně tvořící tzv. primární čelistní kloub) (Maier & Ruf, 2016).

Ukazuje se však, že tympanické ucho těchto skupin zřejmě nevzniklo během fylogeneze obratlovců pouze jednou. Nejstarší fosilní doklad středního ucha s tympanem na místě spirakulární dutiny přináší vymřelá skupina Temnospondyli (z období karbonu) ancestrální dnešním obojživelníkům (Clack, 2002; Capshaw et al., 2022), u které funkci dýchacích otvorů nejspíše přejímají dorzálně (vzhůru) směřující nozdry (Gai et al., 2022). Nicméně u kmenových fosilních skupin Amniota (blanatí, zahrnující plazy včetně ptáků a savce) není patrné tympanum a hyomandibula zde má podobu silnějšího trámu vklíněného mezi mozkovnu a čelisti (Clack, 2002). Z toho by plynulo, že evolučně původním stavem spirakulárního traktu Amniot je netympanické střední ucho znamenající nezávislý vznik a integraci ušního bubínku do středního ucha minimálně třikrát ve fylogenezi obratlovců (u některých obojživelníků, u mnoha plazů včetně ptáků a u savců) (Clack, 2002; Capshaw et al., 2022), případně čtyřikrát počítaje i spirakulární dutinu latimérie (Fritzsche et al., 2023). Vícenásobnému nezávislému vzniku tympanického středního ucha by napovídaly i některé morfologické rozdíly středního ucha plazů a savců, např. počet sluchových kůstek a jejich pozice vůči tympanu (Gai et al., 2022). Na druhou stranu došlo v evoluci i k sekundárním ztrátám tympanického ucha, např. u některých žab, u ocasatých obojživelníků, u červorů, hatérie, hadů a některých dalších plazů skupiny Lepidosauria (zahrnující např. ještěrky) (Capshaw et al., 2022). Tyto ztráty mohou evolučně souviset s miniaturizací tělního plánu (tympanické ucho pod kritickou minimální velikostí přestává být efektivní), s velikostí genomu (a nutností budovat tělní struktury z malého počtu relativně větších buněk) či přechodu k fossoriálnímu způsobu života (tedy životu v podzemních norách, kdy je výhodnější vnímat spíše vibrace substrátu) (Capshaw et al., 2022).

Spirakulární trakt (resp. dutina středního ucha) hatérie, ptáků, krokodýlů a některých savců navíc obsahuje homolog spirakulárního orgánu, tzv. paratympanální orgán (viz kap. 1.4) (O'Neill et al., 2012; Johnston, 2022).

Závěr

Spirakulární region se developmentálně zakládá mezi prvními dvěma faryngeálními oblouky jako párová vychlípenina faryngeálního endodermu, která se může prolomit do vnějšího prostředí za vzniku relativně malého párového otvoru, nebo-li spirákula (Gai et al., 2022). Vzhledem k tomuto původu lze na spirákulum nahlížet jako na zbytek evolučně „první“ hyomandibulární žaberní štěrbinu, jež byla zmenšena a odsunuta na dorzální stranu anteriorní migrací hyoidního oblouku podporujícího čelisti (Graham et al., 2014; Burrow et al., 2020). Tomu nasvědčuje i přítomnost redukovaného pseudobranchu v rámci spirakulární dutiny představujícího pozůstatek položábry mandibulárního oblouku (Hirschberger & Gillis, 2022; Thirupathy et al., 2022).

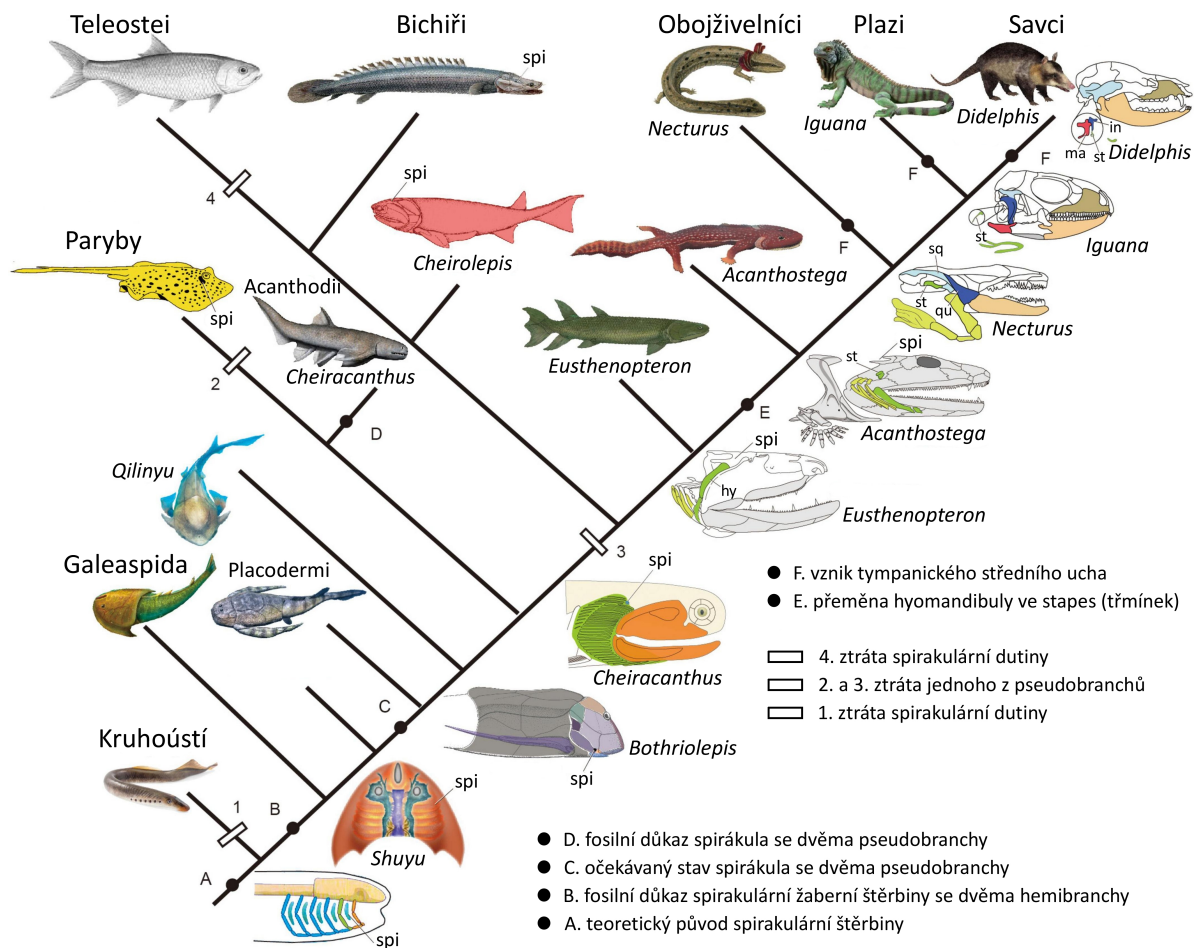
Ontogeneze faryngeální oblasti (včetně oblasti spirakulární) podléhá složité propletené síti signalizačních kaskád a regionalizované exprese mnoha genů, jejíž komponenty se mohou lišit jak mezi různými segmenty (oblouky) faryngu v rámci jednoho jedince, tak mezi stejnými oblouky různých živočišných druhů (Shone & Graham, 2014; Okada et al., 2016). Ústřední roli ve vývoji faryngeální oblasti obratlovců má hlavový endoderm a z něj se vychlípující faryngeální váčky (výchlipky), které jsou zdrojem klíčových signálů pro správnou segmentaci hlavy a orchestraci ostatních buněčných linií nevyjímaje migrující buňky neurální lišty, jež dávají vznik pojivové tkáni faryngeálních oblouků vyztužujících oblast hltanu (Veitch et al., 1999).

Toto charakteristické vychlipování endodermu se zdá být znakem konzervovaným napříč skupinou druhoústých (Deuterostomia), žaberní štěrbinu vykazují již žaludovci (Hemichordata) a kopinatci (Cephalochordata) (Kozmik et al., 2007; Gillis et al., 2012). Do faryngeálních oblouků oddělujících tyto štěrbinu byl později u strunatců (Chordata) inkorporován mezoderm a u obratlovců (Vertebrata) i buňky neurální lišty společně tvořící prominentní viscerální skelet dnešních obratlovců (Graham & Richardson, 2012).

Spirákulum ancestrálních praobratlovců mělo nejspíš podobu plně vyvinuté hyomandibulární žaberní štěrbinu mezi nepřilíš diferencovaným mandibulárním a hyoidním obloukem, jako je tomu ve fosilním záznamu skupiny Galeaspida (Gai et al., 2022). Skupina kruhoústých (mihule a sliznatky) tuto štěrbinu v dospělosti zřejmě zcela ztratila (Gai et al., 2022). V rámci evoluční linie paryb můžeme sledovat postupnou přeměnu hyomandibulární štěrbinu funkčně nerozlišené od ostatních štěrbin ve vysoce specializované prostorově redukované spirákulum, sloužící jako přídatný otvor pro nádech vody během obstrukce úst (Hughes, 1960; Summers & Ferry-Graham, 2001). Paprskoploutvé ryby (Actinopterygii) naopak ukazují postupnou tendenci ke ztrátě spirakulárního traktu, kdy u nejdříve se odvětvujících bichirů slouží spirákulum jako důležitý inhalantní otvor pro vzduch, ale v následujících liniích ztrácí funkční význam a u korunové skupiny Teleostei se již spirakulární dutina v dospělosti vůbec nevyskytuje (Graham et al., 2014). U skupiny svaloploutvých (Sarcopterygii) lze sledovat trend

přeměny spirákula z otvoru pro nadechování vzduchu (tento stav, patrný i u bichirů, je nejspíš pro obě linie Osteichthyes evolučně původním stavem) k funkci mechanotransdukce zvukových vln z vnějšího prostředí k vnitřnímu uchu u čtvernožců (Tetrapoda) (Clack, 2002). Spirakulární výchlípková recentních čtvernožců se neprolamuje zcela do okolního prostředí za vzniku spirákula, nýbrž od něj zůstává oddělena tenkou membránou, ušním bubínkem, ještě více napomáhajícím zachytávání a šíření zvukových signálů (Clack, 2002).

Tyto strukturní i funkční proměny napříč obratlovčími skupinami (Obr. 19) ilustrují velice působivou evoluční flexibilitu a dynamiku spirakulární oblasti. Spirakulární region ovšem i v dnešní době skýtá stále mnoho otázek. Ať už obecnějšího rázu, týkající se kupříkladu samotného původu této oblasti, tak konkrétnější otázky či diskrepance. Příkladem takového nesouladu může být absence mechanosenzorického spirakulárního orgánu u dospělého bichirů (Johnston, 2022), u nichž se ovšem embryonálně zakládá samostatná neurogenická plakoda v oblasti spirákula, která obvykle dává tomuto orgánu vzniknout (Brezarová, 2023). Právě osud této plakody u bichira otevírá zajímavou problematiku, které bych se rád věnoval během svého navazujícího magisterského studia.



Obr. 19: Fylogenetický strom obratlovců shrnující evoluci spirakulární oblasti. hy – hyomandibula, in – incus, ma – malleus, spi – spirákulum, sq – squamosum, st – stapes. Převzato a upraveno podle Gai et al., 2022.

Seznam použité literatury

- Ahlberg, P. E., Clack, J. A., Lukševičs, E., Blom, H., & Zupič, I. (2008). *Ventastega curonica* and the origin of tetrapod morphology. *Nature* 453, 1199–1204. [doi:10.1038/nature06991](https://doi.org/10.1038/nature06991)
- Arsenault, M., Desbiens, S., Janvier, P., & Kerr, J. (2004). “New data on the soft tissues and external morphology of the antiarch *Bothriolepis canadensis* (Whiteaves 1880), from the Upper Devonian of Miguasha, Quebec.” in *Recent advances in the origin and early radiation of vertebrates*, eds. G. Arratia, M. V. H. Wilson, & R. Cloutier (Verlag Dr. Friedrich Pfeil, Munich), 439–454.
- Barry, M. A., & Boord, R. L. (1984). The Spiracular Organ of Sharks and Skates: Anatomical Evidence Indicating a Mechanoreceptive Role. *Science* 226, 990–992. [DOI: 10.1126/science.6505680](https://doi.org/10.1126/science.6505680)
- Brazeau, M. D., & Ahlberg, P. E. (2006). Tetrapod-like middle ear architecture in a Devonian fish. *Nature* 439, 318–321. [doi:10.1038/nature04196](https://doi.org/10.1038/nature04196)
- Brezarová, D. (2023). Comparative development & evolution of adenohipofýza in basal fishes. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce doc. Mgr. Robert Černý, Ph.D.
- Brownstein, C. D., MacGuigan, D. J., Kim, D., Orr, O., Yang, L., David, S. R., et al. (2024). The genomic signatures of evolutionary stasis. *Evolution*, qpae028. [Doi:10.1093/evolut/qpae028](https://doi.org/10.1093/evolut/qpae028)
- Burggren, W. W. (1978). Gill ventilation in the sturgeon, *Acipenser transmontanus*: Unusual adaptations for bottom dwelling. *Respir. Physiol.* 34, 153–170. [doi:10.1016/0034-5687\(78\)90025-7](https://doi.org/10.1016/0034-5687(78)90025-7)
- Burggren, W. W., & Bemis, W. E. (1992). Metabolism and Ram Gill Ventilation in Juvenile Paddlefish, *Polyodon spathula* (Chondrostei: Polyodontidae). *Physiol. Zool.* 65, 515–539.
- Burrow, C. J., Newman, M. J., & Den Blaauwen, J. L. (2020). First evidence of a functional spiracle in stem chondrichthyan acanthodians, with the oldest known elastic cartilage. *J. Anat.* 236, 1154–1159. [doi:10.1111/joa.13170](https://doi.org/10.1111/joa.13170)
- Capshaw, G., Christensen-Dalsgaard, J., & Carr, C. E. (2022). Hearing without a tympanic ear. *J. Exp. Biol.* 225, jeb244130. [Doi:10.1242/jeb.244130](https://doi.org/10.1242/jeb.244130)
- Cerny, R., Cattell, M., Sauka-Spengler, T., Bronner-Fraser, M., Yu, F., & Medeiros, D. M. (2010). Evidence for the prepattern/cooption model of vertebrate jaw evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 17262–17267. [doi:10.1073/pnas.1009304107](https://doi.org/10.1073/pnas.1009304107)
- Cerny, R., Meulemans, D., Berger, J., Wilsch-Bräuninger, M., Kurth, T., Bronner-Fraser, M., et al. (2004). Combined intrinsic and extrinsic influences pattern cranial neural crest migration and pharyngeal arch morphogenesis in axolotl. *Dev. Biol.* 266, 252–269. [doi:10.1016/j.ydbio.2003.09.039](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2003.09.039)
- Choe, C. P., Collazo, A., Trinh, L. A., Pan, L., Moens, C. B., & Crump, J. G. (2013). Wnt-Dependent Epithelial Transitions Drive Pharyngeal Pouch Formation. *Dev. Cell* 24, 296–309. [doi:10.1016/j.devcel.2012.12.003](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2012.12.003)
- Choe, C. P., & Crump, J. G. (2014). *Tbx1* controls the morphogenesis of pharyngeal pouch epithelia through mesodermal *Wnt11r* and *Fgf8a*. *Development* 141, 3583–3593. [doi:10.1242/dev.111740](https://doi.org/10.1242/dev.111740)
- Choe, C. P., & Crump, J. G. (2015). Eph-Pak2a signaling regulates branching of the pharyngeal endoderm by inhibiting late-stage epithelial dynamics. *Development*, 1089–1094. [doi:10.1242/dev.115774](https://doi.org/10.1242/dev.115774)
- Clack, J. A. (2002). Patterns and processes in the early evolution of the tetrapod ear. *J. Neurobiol.* 53, 251–264. [doi:10.1002/neu.10129](https://doi.org/10.1002/neu.10129)
- Clack, J. A., Ahlberg, P. E., Finney, S. M., Dominguez Alonso, P., Robinson, J., & Ketcham, R. A. (2003). A uniquely specialized ear in a very early tetrapod. *Nature* 425, 65–69. [doi:10.1038/nature01904](https://doi.org/10.1038/nature01904)
- Crump, J. G., Maves, L., Lawson, N. D., Weinstein, B. M., & Kimmel, C. B. (2004). An essential role for Fgfs in endodermal pouch formation influences later craniofacial skeletal patterning. *Development* 131, 5703–5716. [doi:10.1242/dev.01444](https://doi.org/10.1242/dev.01444)
- Downs, J. P., Daeschler, E. B., Jenkins, F. A., & Shubin, N. H. (2008). The cranial endoskeleton of *Tiktaalik roseae*. *Nature* 455, 925–929. [doi:10.1038/nature07189](https://doi.org/10.1038/nature07189)
- Edlund, R. K., Ohyama, T., Kantarci, H., Riley, B. B., & Groves, A. K. (2014). Foxi transcription factors promote pharyngeal arch development by regulating formation of FGF signaling centers. *Dev. Biol.* 390, 1–13. [doi:10.1016/j.ydbio.2014.03.004](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.03.004)
- Ezhova, O. V., & Malakhov, V. V. (2020). Is the Gill Skeleton of Acorn Worms (Enteropneusta) Similar to the Gill Skeleton of Amphioxus (Cephalochordata)? *Dokl. Biol. Sci.* 494, 232–235. [doi:10.1134/S001249662005004X](https://doi.org/10.1134/S001249662005004X)
- Frey, L., Coates, M. I., Tietjen, K., Rücklin, M., & Klug, C. (2020). A symmoriiform from the Late Devonian of Morocco demonstrates a derived jaw function in ancient chondrichthyans. *Commun. Biol.* 3, 681. [doi:10.1038/s42003-020-01394-2](https://doi.org/10.1038/s42003-020-01394-2)

- Fritzs, B., Schultze, H.-P., & Elliott, K. L. (2023). The evolution of the various structures required for hearing in Latimeria and tetrapods. *IBRO Neurosci. Rep.* 14, 325–341. doi:10.1016/j.ibneur.2023.03.007
- Gai, Z., Zhu, M., Ahlberg, P. E., & Donoghue, P. C. J. (2022). The Evolution of the Spiracular Region From Jawless Fishes to Tetrapods. *Front. Ecol. Evol.* 10. doi:10.3389/fevo.2022.887172
- Gaisler, J., & Zima, J. (2018). *Zoologie obratlovců*, 3., přepracované vydání. Praha: Academia.
- Gegenbaur, C. (1872). *Untersuchungen zur Vergleichenden Anatomie der Wirbelthiere*. Leipzig: W. Engelmann.
- Gillis, J. A., Criswell, K. E., & Baker, C. V. H. (nepublikováno). The skate spiracular organ develops from a unique neurogenic placode, distinct from lateral line placodes. bioRxiv 2023.03.17.533203. Doi:10.1101/2023.03.17.533203
- Gillis, J. A., Fritzenwanker, J. H., & Lowe, C. J. (2012). A stem-deuterostome origin of the vertebrate pharyngeal transcriptional network. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 279, 237–246. doi:10.1098/rspb.2011.0599
- Gillis, J. A., Modrell, M. S., & Baker, C. V. H. (2013). Developmental evidence for serial homology of the vertebrate jaw and gill arch skeleton. *Nat. Commun.* 4, 1436. doi:10.1038/ncomms2429
- Gillis, J. A., Rawlinson, K. A., Bell, J., Lyon, W. S., Baker, C. V. H., & Shubin, N. H. (2011). Holocephalan embryos provide evidence for gill arch appendage reduction and opercular evolution in cartilaginous fishes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 1507–1512. doi:10.1073/pnas.1012968108
- Gillis, J. A., & Tidswell, O. R. A. (2017). The Origin of Vertebrate Gills. *Curr. Biol.* 27, 729–732. doi:10.1016/j.cub.2017.01.022
- Goodrich, E. S. (1958). *Studies on the structure and development of vertebrates. Vol. 2*. New York: Dover Publ.
- Graham, A., & Richardson, J. (2012). Developmental and evolutionary origins of the pharyngeal apparatus. *EvoDevo* 3, 24. doi:10.1186/2041-9139-3-24
- Graham, A., & Smith, A. (2001). Patterning the pharyngeal arches. *BioEssays* 23, 54–61. doi:10.1002/1521-1878(200101)23:1<54::AID-BIES1007>3.0.CO;2-5
- Graham, J. B., Wegner, N. C., Miller, L. A., Jew, C. J., Lai, N. C., Berquist, R. M., et al. (2014). Spiracular air breathing in polypterid fishes and its implications for aerial respiration in stem tetrapods. *Nat. Commun.* 5, 3022. doi:10.1038/ncomms4022
- Green, S. A., Simoes-Costa, M., & Bronner, M. E. (2015). Evolution of vertebrates as viewed from the crest. *Nature* 520, 474–482. doi:10.1038/nature14436
- Grevellec, A., & Tucker, A. S. (2010). The pharyngeal pouches and clefts: Development, evolution, structure and derivatives. *Semin. Cell Dev. Biol.* 21, 325–332. doi:10.1016/j.semcdb.2010.01.022
- Hamidian, G., & Alboghobeish, N. (2007). Histological study of pseudobranch in *Ctenopharyngodon idella*. *Altern. Anim. Test. Exp.* 14, 693–696.
- Hasten, E., & Morrow, B. E. (2019). Tbx1 and Foxi3 genetically interact in the pharyngeal pouch endoderm in a mouse model for 22q11.2 deletion syndrome. *PLOS Genet.* 15, e1008301. Doi:10.1371/journal.pgen.1008301
- Heimberg, A. M., Cowper-Sal·lari, R., Sémon, M., Donoghue, P. C. J., & Peterson, K. J. (2010). microRNAs reveal the interrelationships of hagfish, lampreys, and gnathostomes and the nature of the ancestral vertebrate. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 19379–19383. doi:10.1073/pnas.1010350107
- Hirschberger, C., & Gillis, J. A. (2022). The pseudobranch of jawed vertebrates is a mandibular arch-derived gill. *Development* 149, dev200184. Doi:10.1242/dev.200184
- Horackova, A., Pospisilova, A., Stundl, J., Minarik, M., Jandzik, D., & Cerny, R. (2023). Pre-mandibular pharyngeal pouches in early non-teleost fish embryos. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 290, 20231158. doi:10.1098/rspb.2023.1158
- Hughes, G. M. (1960). The Mechanism of Gill Ventilation in the Dogfish and Skate. *J. Exp. Biol.* 37, 11–27. doi:10.1242/jeb.37.1.11
- Hughes, G. M. (1998). The gills of the coelacanth, *Latimeria chalumnae* Latimeriidae. What can they teach us? *Ital. J. Zool.* 65, 425–429. doi:10.1080/11250009809386859
- Hughes, L. C., Ortí, G., Huang, Y., Sun, Y., Baldwin, C. C., Thompson, A. W., et al. (2018). Comprehensive phylogeny of ray-finned fishes (Actinopterygii) based on transcriptomic and genomic data. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115, 6249–6254. doi:10.1073/pnas.1719358115
- Jandzik, D., Hawkins, M. B., Cattell, M. V., Cerny, R., Square, T. A., & Medeiros, D. M. (2014). Roles for FGF in lamprey pharyngeal pouch formation and skeletogenesis highlight ancestral functions in the vertebrate head. *Development* 141, 629–638. doi:10.1242/dev.097261
- Jerome, L. A., & Papaioannou, V. E. (2001). DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1. *Nat. Genet.* 27, 286–291. doi:10.1038/85845

- Jin, S., O, J., Stellabotte, F., & Choe, C. P. (2018). Foxl1 promotes late-stage pharyngeal pouch morphogenesis through ectodermal Wnt4a activation. *Dev. Biol.* 441, 12–18. [doi:10.1016/j.ydbio.2018.06.011](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.06.011)
- Johnston, P. (2022). The missing anatomy of the living coelacanth, *Latimeria chalumnae* (Smith, 1939). *Vertebr. Zool.* 72, 513–531. [doi:10.3897/vz.72.e84274](https://doi.org/10.3897/vz.72.e84274)
- Kaji, T., Reimer, J. D., Morov, A. R., Kuratani, S., & Yasui, K. (2016). Amphioxus mouth after dorso-ventral inversion. *Zool. Lett.* 2, 2. [doi:10.1186/s40851-016-0038-3](https://doi.org/10.1186/s40851-016-0038-3)
- Kardong, K. V. (2019). *Vertebrates: comparative anatomy, function, evolution.*, Eighth edition. New York, NY: McGraw-Hill Education.
- Kerr, G. J. (1919). *Text-book of embryology. Vol. II, Vertebrata: With the exception of mammalia.* London: Macmillan.
- Kozmik, Z., Holland, N. D., Kreslova, J., Oliveri, D., Schubert, M., Jonasova, K., et al. (2007). Pax–Six–Eya–Dach network during amphioxus development: Conservation in vitro but context specificity in vivo. *Dev. Biol.* 306, 143–159. [doi:10.1016/j.ydbio.2007.03.009](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.03.009)
- Long, J. A., Young, G. C., Holland, T., Senden, T. J., & Fitzgerald, E. M. G. (2006). An exceptional Devonian fish from Australia sheds light on tetrapod origins. *Nature* 444, 199–202. [doi:10.1038/nature05243](https://doi.org/10.1038/nature05243)
- Maier, W., & Ruf, I. (2016). Evolution of the mammalian middle ear: a historical review. *J. Anat.* 228, 270–283. [doi:10.1111/joa.12379](https://doi.org/10.1111/joa.12379)
- Mallatt, J. (1996). Ventilation and the origin of jawed vertebrates: a new mouth. *Zool. J. Linn. Soc.* 117, 329–404. [doi:10.1111/j.1096-3642.1996.tb01658.x](https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1996.tb01658.x)
- Mallatt, J. (2023). Vertebrate origins are informed by larval lampreys (ammocoetes): a response to Miyashita et al., 2021. *Zool. J. Linn. Soc.* 197, 287–321. [doi:10.1093/zoolinnean/zlac086](https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlac086)
- Miles, R. S. (1964). A Reinterpretation of The Visceral Skeleton of *Acanthodes*. *Nature* 204, 457–459. [doi:10.1038/204457a0](https://doi.org/10.1038/204457a0)
- Miyashita, T. (2016). Fishing for jaws in early vertebrate evolution: a new hypothesis of mandibular confinement. *Biol. Rev.* 91, 611–657. [doi:10.1111/brv.12187](https://doi.org/10.1111/brv.12187)
- Mokhtar, D. M., Sayed, R. K. A., Zaccane, G., Alesci, A., & Hussein, M. M. (2023). The potential role of the pseudobranch of molly fish (*Poecilia sphenops*) in immunity and cell regeneration. *Sci. Rep.* 13, 8665. [doi:10.1038/s41598-023-34044-8](https://doi.org/10.1038/s41598-023-34044-8)
- Mölich, A., Waser, W., & Heisler, N. (2009). The teleost pseudobranch: a role for preconditioning of ocular blood supply? *Fish Physiol. Biochem.* 35, 273–286. [doi:10.1007/s10695-008-9207-4](https://doi.org/10.1007/s10695-008-9207-4)
- Moritz, T., & Britz, R. (2019). Revision of the extant Polypteridae (Actinopterygii: Cladistia). *Ichthyol. Explor. Freshw.*, 1–96. [doi:10.23788/IEF-1094](https://doi.org/10.23788/IEF-1094)
- Morris, S. C., & Caron, J.-B. (2014). A primitive fish from the Cambrian of North America. *Nature* 512, 419–422. [doi:10.1038/nature13414](https://doi.org/10.1038/nature13414)
- Noden, D. M. (1983). The role of the neural crest in patterning of avian cranial skeletal, connective, and muscle tissues. *Dev. Biol.* 96, 144–165. [doi:10.1016/0012-1606\(83\)90318-4](https://doi.org/10.1016/0012-1606(83)90318-4)
- Noden, D. M. (1988). Interactions and fates of avian craniofacial mesenchyme. *Development* 103, 121–140. [doi:10.1242/dev.103.Supplement.121](https://doi.org/10.1242/dev.103.Supplement.121)
- Oisi, Y., Ota, K. G., Kuraku, S., Fujimoto, S., & Kuratani, S. (2013). Craniofacial development of hagfishes and the evolution of vertebrates. *Nature* 493, 175–180. [doi:10.1038/nature11794](https://doi.org/10.1038/nature11794)
- Okada, K., Inohaya, K., Mise, T., Kudo, A., Takada, S., & Wada, H. (2016). Reiterative expression of *pax1* directs pharyngeal pouch segmentation in medaka (*Oryzias latipes*). *Development*, 1800–1810. [doi:10.1242/dev.130039](https://doi.org/10.1242/dev.130039)
- Okubo, T., Kawamura, A., Takahashi, J., Yagi, H., Morishima, M., Matsuoka, R., et al. (2011). Ripply3, a Tbx1 repressor, is required for development of the pharyngeal apparatus and its derivatives in mice. *Development* 138, 339–348. [doi:10.1242/dev.054056](https://doi.org/10.1242/dev.054056)
- O'Neill, P., Mak, S.-S., Fritsch, B., Ladher, R. K., & Baker, C. V. H. (2012). The amniote paratympanic organ develops from a previously undiscovered sensory placode. *Nat. Commun.* 3, 1041. [doi:10.1038/ncomms2036](https://doi.org/10.1038/ncomms2036)
- Piotrowski, T., Ahn, D., Schilling, T. F., Nair, S., Ruvinsky, I., Geisler, R., et al. (2003). The zebrafish *van gogh* mutation disrupts *tbx1*, which is involved in the DiGeorge deletion syndrome in humans. *Development* 130, 5043–5052. [doi:10.1242/dev.00704](https://doi.org/10.1242/dev.00704)
- Piotrowski, T., & Nüsslein-Volhard, C. (2000). The Endoderm Plays an Important Role in Patterning the Segmented Pharyngeal Region in Zebrafish (*Danio rerio*). *Dev. Biol.* 225, 339–356. [doi:10.1006/dbio.2000.9842](https://doi.org/10.1006/dbio.2000.9842)
- Pradel, A., Maisey, J. G., Tafforeau, P., Mapes, R. H., & Mallatt, J. (2014). A Palaeozoic shark with osteichthyan-like branchial arches. *Nature* 509, 608–611. [doi:10.1038/nature13195](https://doi.org/10.1038/nature13195)

- Quinlan, R., Martin, P., & Graham, A. (2004). The role of actin cables in directing the morphogenesis of the pharyngeal pouches. *Development* 131, 593–599. [doi:10.1242/dev.00950](https://doi.org/10.1242/dev.00950)
- Rees, J. M., Palmer, M. A., & Gillis, J. A. (2024). Fgf signalling is required for gill slit formation in the skate, *Leucoraja erinacea*. *Dev. Biol.* 506, 85–94. [doi:10.1016/j.ydbio.2023.11.008](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2023.11.008)
- Richardson, J., Shono, T., Okabe, M., & Graham, A. (2012). The presence of an embryonic opercular flap in amniotes. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 279, 224–229. [doi:10.1098/rspb.2011.0740](https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0740)
- Richardson, M. K., Admiraal, J., & Wright, G. M. (2010). Developmental anatomy of lampreys. *Biol. Rev.* 85, 1–33. [doi:10.1111/j.1469-185X.2009.00092.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2009.00092.x)
- Rychel, A. L., Smith, S. E., Shimamoto, H. T., & Swalla, B. J. (2006). Evolution and Development of the Chordates: Collagen and Pharyngeal Cartilage. *Mol. Biol. Evol.* 23, 541–549. [doi:10.1093/molbev/msj055](https://doi.org/10.1093/molbev/msj055)
- Santagati, F., & Rijli, F. M. (2003). Cranial neural crest and the building of the vertebrate head. *Nat. Rev. Neurosci.* 4, 806–818. [doi:10.1038/nrn1221](https://doi.org/10.1038/nrn1221)
- Shigetani, Y., Nobusada, Y., & Kuratani, S. (2000). Ectodermally Derived FGF8 Defines the Maxillomandibular Region in the Early Chick Embryo: Epithelial–Mesenchymal Interactions in the Specification of the Craniofacial Ectomesenchyme. *Dev. Biol.* 228, 73–85. [doi:10.1006/dbio.2000.9932](https://doi.org/10.1006/dbio.2000.9932)
- Shone, V., & Graham, A. (2014). Endodermal/ectodermal interfaces during pharyngeal segmentation in vertebrates. *J. Anat.* 225, 479–491. [doi:10.1111/joa.12234](https://doi.org/10.1111/joa.12234)
- Sleight, V. A., & Gillis, J. A. (2020). Embryonic origin and serial homology of gill arches and paired fins in the skate, *Leucoraja erinacea*. *ELife* 9, e60635. [Doi:10.7554/eLife.60635](https://doi.org/10.7554/eLife.60635)
- Soukup, V., & Kozmik, Z. (2016). Zoology: A New Mouth for Amphioxus. *Curr. Biol.* 26, R367–R368. [Doi:10.1016/j.cub.2016.03.016](https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.03.016)
- Square, T., Jandzik, D., Romášek, M., Cerny, R., & Medeiros, D. M. (2017). The origin and diversification of the developmental mechanisms that pattern the vertebrate head skeleton. *Dev. Biol.* 427, 219–229. [doi:10.1016/j.ydbio.2016.11.014](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.11.014)
- Stein, R. W., Mull, C. G., Kuhn, T. S., Aschliman, N. C., Davidson, L. N. K., Joy, J. B., et al. (2018). Global priorities for conserving the evolutionary history of sharks, rays and chimaeras. *Nat. Ecol. Evol.* 2, 288–298. [doi:10.1038/s41559-017-0448-4](https://doi.org/10.1038/s41559-017-0448-4)
- Stock, D. W., & Whitt, G. S. (1992). Evidence from 18 S Ribosomal RNA Sequences that Lampreys and Hagfishes form a Natural Group. *Science* 257, 787–789. [doi:10.1126/science.1496398](https://doi.org/10.1126/science.1496398)
- Stundl, J., Pospisilova, A., Jandzik, D., Fabian, P., Dobiasova, B., Minarik, M., et al. (2019). Bichir external gills arise via heterochronic shift that accelerates hyoid arch development. *ELife* 8, e43531. [Doi:10.7554/eLife.43531](https://doi.org/10.7554/eLife.43531)
- Stundl, J., Pospisilova, A., Matějková, T., Psenicka, M., Bronner, M. E., & Cerny, R. (2020). Migratory patterns and evolutionary plasticity of cranial neural crest cells in ray-finned fishes. *Dev. Biol.* 467, 14–29. [doi:10.1016/j.ydbio.2020.08.007](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2020.08.007)
- Stundl, J., Soukup, V., Franěk, R., Pospisilova, A., Psutkova, V., Pšenička, M., et al. (2022). Efficient CRISPR Mutagenesis in Sturgeon Demonstrates Its Utility in Large, Slow-Maturing Vertebrates. *Front. Cell Dev. Biol.* 10, 750833. [doi:10.3389/fcell.2022.750833](https://doi.org/10.3389/fcell.2022.750833)
- Su, D., Ellis, S., Napier, A., Lee, K., & Manley, N. R. (2001). Hoxa3 and Pax1 Regulate Epithelial Cell Death and Proliferation during Thymus and Parathyroid Organogenesis. *Dev. Biol.* 236, 316–329. [doi:10.1006/dbio.2001.0342](https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0342)
- Summers, A. P., & Ferry-Graham, L. A. (2001). Ventilatory Modes And Mechanics Of The Hedgehog Skate (*Leucoraja Erinacea*): Testing The Continuous Flow Model. *J. Exp. Biol.* 204, 1577–1587. [doi:10.1242/jeb.204.9.1577](https://doi.org/10.1242/jeb.204.9.1577)
- Takezaki, N., & Nishihara, H. (2017). Support for Lungfish as the Closest Relative of Tetrapods by Using Slowly Evolving Ray-finned fish as the Outgroup. *Genome Biol. Evol.*, 93–101. [doi:10.1093/gbe/evw288](https://doi.org/10.1093/gbe/evw288)
- Talbot, J. C., Nichols, J. T., Yan, Y.-L., Leonard, I. F., BreMiller, R. A., Amacher, S. L., et al. (2016). Pharyngeal morphogenesis requires *fras1-itga8*-dependent epithelial-mesenchymal interaction. *Dev. Biol.* 416, 136–148. [doi:10.1016/j.ydbio.2016.05.035](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.05.035)
- Talbot, J. C., Walker, M. B., Carney, T. J., Huycke, T. R., Yan, Y.-L., BreMiller, R. A., et al. (2012). *fras1* shapes endodermal pouch 1 and stabilizes zebrafish pharyngeal skeletal development. *Development* 139, 2804–2813. [doi:10.1242/dev.074906](https://doi.org/10.1242/dev.074906)
- Thiruppathy, M., Fabian, P., Gillis, J. A., & Crump, J. G. (2022). Gill developmental program in the teleost mandibular arch. *ELife* 11, e78170. [Doi:10.7554/eLife.78170](https://doi.org/10.7554/eLife.78170)
- Tian, Q., Zhao, F., Zeng, H., Zhu, M., & Jiang, B. (2022). Ultrastructure reveals ancestral vertebrate pharyngeal skeleton in yunnanozoans. *Science* 377, 218–222. [doi:10.1126/science.abm2708](https://doi.org/10.1126/science.abm2708)

- Tomita, T., Toda, M., Miyamoto, K., Ueda, K., & Nakaya, K. (2018). Morphology of a Hidden Tube: Resin Injection and CT Scanning Reveal the Three-dimensional Structure of the Spiracle in the Japanese Bullhead Shark *Heterodontus japonicus* (Chondrichthyes; Heterodontiformes; Heterodontidae). *Anat. Rec.* 301, 1336–1341. [doi:10.1002/ar.23836](https://doi.org/10.1002/ar.23836)
- Tomita, T., Toda, M., Ueda, K., Uchida, S., & Nakaya, K. (2012). Live-bearing manta ray: how the embryo acquires oxygen without placenta and umbilical cord. *Biol. Lett.* 8, 721–724. [doi:10.1098/rsbl.2012.0288](https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0288)
- Veitch, E., Begbie, J., Schilling, T. F., Smith, M. M., & Graham, A. (1999). Pharyngeal arch patterning in the absence of neural crest. *Curr. Biol.* 9, 1481–1484. [doi:10.1016/S0960-9822\(00\)80118-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)80118-9)
- von Bartheld, C. S., & Giannessi, F. (2011). The paratympanic organ: a barometer and altimeter in the middle ear of birds? *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.* 316B, 402–408. [doi:10.1002/jez.b.21422](https://doi.org/10.1002/jez.b.21422)
- Watson, D. M. S. (1937). II – The Acanthodian fishes. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 228, 49–146. [doi:10.1098/rstb.1937.0009](https://doi.org/10.1098/rstb.1937.0009)
- Wegner, N. C. (2015). “3 – Elasmobranch Gill Structure,” in *Fish Physiology*, eds. R. E. Shadwick, A. P. Farrell, & C. J. Brauner (Academic Press), 101–151. [doi:10.1016/B978-0-12-801289-5.00003-1](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801289-5.00003-1)
- Wright, R. R. (1885). On the Hyomandibular Clefts and Pseudobranchs of *Lepidosteus* and *Amia*. *J. Anat. Physiol.* 19, 476–499.
- Yokoyama, H., Yoshimura, M., Suzuki, D. G., Higashiyama, H., & Wada, H. (2021). Development of the lamprey velum and implications for the evolution of the vertebrate jaw. *Dev. Dyn.* 250, 88–98. [doi:10.1002/dvdy.243](https://doi.org/10.1002/dvdy.243)
- Zangerl, R., & Case, G. (1976). *Cobelodus aculeatus* (Cope), an anacanthous shark from Pennsylvanian black shales of North America. *Palaeontogr. A* 154, 107–157.
- Zbasnik, N., & Fish, J. L. (2023). Fgf8 regulates first pharyngeal arch segmentation through pouch-cleft interactions. *Front. Cell Dev. Biol.* 11, 1186526. [doi:10.3389/fcell.2023.1186526](https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1186526)