

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká Fakulta

Katedra zoologie



Molekulární a morfologická variabilita
Mesalina watsonana* a *Ophisops elegans
(Squamata: Lacertidae)
na Středním východě

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Jiří Šmíd

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Daniel Frynta, PhD.

Praha 2009

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury.

Praha

Jiří Šmíd

Poděkování

V první řadě bych rád poděkoval svému školiteli Danielu Fryntovi, který ve mně vzbudil zájem o studium íránských plazů, vedl celou práci a poskytl bohatý studijní materiál.

Významný dík patří mým přátelům Adéle Chudárkové, Honzovi Pyrihovi, Aleně Roubíčkové, Viki Tóthové, Petru Vycpálkovi a Evě Michalčíkové za to, že mě s sebou vzali do Íránu a velkou měrou přispěli při získávání nových vzorků. Adéla Chudárková se navíc ujala nelehkého úkolu opravy nesčetných gramatických a stylistických chyb v rukopisu této práce.

Za seznámení s prací v laboratoři a pomoc v začátcích děkuji Kláře Průšové. Vašku Gvoždíkovi, Pavlu Hulvovi a Honzovi Červenkoví děkuji za mnohé rady ohledně laboratorní metodiky a fylogenetických analýz. Dík patří také Pavlu Munclingerovi a Pavlu Němcovi, kteří poskytli laboratorní zázemí.

Za pomoc s laboratorními pracemi, nesčetné nápady a psychickou podporu jsem nesmírně vděčný Vojtovi Balážovi.

Dále bych rád poděkoval Jiřímu Moravcovi, který umožnil přístup k materiálu ve sbírkách Národního muzea v Praze. Za poskytnutí cenného materiálu, který výrazně rozšířil geografický záběr práce děkuji Jensi V. Vindumovi (California Academy of Sciences). Lukáš Kratochvíl výraznou měrou pomohl s hodnocením morfologických znaků, za což mu patří zvláštní dík.

Na závěr bych rád poděkoval své rodině, která mne celou dobu podporovala a bez níž by tato práce nikdy nevznikla.

OBSAH

1. ÚVOD	6
1.1 Fyzická geografie Íránu.....	7
1.2 Biogeografie	9
1.3 Rod <i>Mesalina</i>	12
1.3.1 Geografické rozšíření	12
1.3.2 Fylogenetické vztahy.....	12
1.3.3 Systematika a taxonomie.....	15
1.4 Rod <i>Ophisops</i>	16
1.4.1 Geografické rozšíření	16
1.4.2 Fylogenetické vztahy.....	17
1.4.3 Poddruhová systematika.....	18
2. CÍLE	23
3. MATERIÁL A METODIKA	24
3.1 Molekulární analýzy	24
3.1.2 Izolace DNA.....	25
3.1.3 PCR a sekvenace DNA.....	26
3.1.4 Alignment.....	27
3.1.5 Tvorba datasetů	27
3.1.6 Fylogenetické analýzy	30
3.1.6.1 Neighbor - joining (NJ)	30
3.1.6.2 Maximum Parsimony (MP)	30
3.1.6.3 Maximum likelihood (ML).....	31
3.1.6.4 Bayesovská analýza (BA).....	31
3.2 Analýza morfologických dat.....	32
3.2.1 Materiál	32
3.2.2 Studované znaky	32
4. VÝSLEDKY	35
4.1 Sekvenční data.....	35
4.1.1 Analýza <i>Mesalina watsonana</i>	38
4.1.2 Analýza <i>M. watsonana</i> a sekvencí z GenBank.....	44
4.1.3 Analýza <i>Ophisops elegans</i> z Íránu	49
4.1.4 Analýza íránských <i>O. elegans</i> a sekvencí z GenBank.....	55
4.2 Morfologická variabilita studovaných druhů	61
4.2.1 Charakter znaků.....	61
4.2.2 Srovnání OTU <i>Mesalina watsonana</i>	62
4.2.3 Srovnání <i>M. watsonana</i> a <i>M. guttulata</i>	64

4.2.4 Srovnání OTU <i>Ophisops elegans</i>	66
5. DISKUSE	68
5.1 Vnitrodruhová analýza <i>Mesalina watsonana</i>	69
5.2 Srovnání <i>M. watsonana</i> s ostatními druhy rodu <i>Mesalina</i>	71
5.3 Analýza <i>Ophisops elegans</i> z Íránu a okolních zemí	74
6. ZÁVĚRY	78
7. LITERATURA	79
8. PŘÍLOHY	91

1. ÚVOD

Íránská vysočina má díky své unikátní topografii a poloze na rozhraní arabské, orientální, centrálně-asijské a mediteránní oblasti zásadní biogeografický význam. Vysoké horské hřebeny ohraničující náhorní plató od okolních nížin umožňují izolovaný vývoj a přispívají ke zdejšímu vysokému endemismu. Do dnešní doby je odtud neustále popisováno množství nových druhů.

Ještěrky rodu *Mesalina* a *Ophisops* patří v Íránu k nejrozšířenějším plazům. *M. watsonana*, typický obyvatel šterkových polopouští a nejuvýchodněji zasahující zástupce rodu *Mesalina*, obývá většinu Íránského plata, na východ zasahuje do Afghánistánu a Pákistánu. Areál druhu *O. elegans* zahrnuje východní Mediterán, v Íránu je rozšířen podél horského hřebene Zagros směrem na jihovýchod až k pákistánským hranicím. Jak pro *O. elegans* tak pro rod *Mesalina* byly v nedávné době publikovány studie zaměřené na fylogenetické vztahy mediteránních populací, potažmo druhů (Kapli et al. 2008; Kyriazi et al. 2008). Jelikož se u obou rodů předpokládá asijský původ (Mayer & Pavlicev 2007), je studium z východních částí areálu zcela zásadní pro porozumění fylogenetických a biogeografických souvislostí. Zároveň dostatečné množství materiálu z íránského plata může pomocí molekulárních technik odhalit skrytou diversitu, případně uniformitu těchto taxonů. U druhu *O. elegans* navíc vstupuje do hry problematika poddruhové systematiky, jejíž zapeklitost taxonomii druhu věru neusnadňuje.

Díky dostupnosti dostatečně bohatého materiálu lze studovat molekulární variabilitu těchto dvou druhů na území Íránu, kterou lze následně konfrontovat s variabilitou morfologickou.

1. 1 Fyzická geografie Íránu

Íránská náhorní plošina je rozlehlá oblast lemována mohutnými pohořími. Její tvar bývá připodobňován k velké míse s vysokými okraji a níže položeným středem (Fisher 1968) a zaujímá většinu plochy Íránu, přechází do západní části Afghánistánu a západního Pákistánu. Okraj je tvořen několika skupinami horských řetězců, které jsou nejen mohutné co do nadmořské výšky, ale rozprostírají se do značné délky a šířky (viz. Obr. 1).

Pohoří Zagros lemující jihozápadní okraj Íránu je tvořeno několika paralelně vedoucími hřebeny táhnoucími se od turecko - arménské hranice směrem na jihovýchod podél Perského zálivu. Na jižním konci se stáčí na východ a pokračuje nižšími vrcholy pohoří Makran podél břehů Arabského moře do Pákistánu. Svou délkou přes 1500 km a nadmořskou výškou mnohde přesahující 4500 m n. m. tvoří jednu z nejdůležitějších biogeografických bariér celého Středního Východu (Anderson 1968; Wischuf & Fritz 1996; Hrbek & Meyer 2003; Feldman & Parham 2004; Hrbek et al. 2006; Rastegar-Pouyani 2006).

Vznik Zagrosu byl iniciován nárazem arabské litosferické desky do oblasti dnešního centrálního Íránu (Tchalenko 1974; Sborshchikov et al. 1981). Ke kolizi a tedy i vyvráždění celého pohoří došlo před deseti miliony lety, přičemž horotvorné pochody pokračovaly až do konce pliocénu (před 2 miliony lety), kdy se zformovala dnešní podoba Zagrosu (Tchalenko 1974). Před nárazem bylo území dnešního Zagrosu ještě součástí Arabské desky. Po kolizi obou litosferických desek se Zagros stal částí dnešního Íránu, došlo k zániku moře Tethys a k vytvoření Perského zálivu (Dercourt et al. 1986). Západně od Zagrosu leží nejvýchodnější výběžek tzv. úrodného půlměsíce, Mezopotamské nížiny tvořené řekami Eufrat a Tigris vlévajícími se do Perského zálivu.

Na severozápadní straně íránského plata, kde se pohoří Zagros spojuje s masivy Kavkazu, vybíhá směrem na východ pohoří Elborz táhnoucí se přes 650 km podél jižního břehu Kaspického moře. Právě tyto severní svahy tvoří téměř souvislou neprůchodnou stěnu, zatímco jižní úbočí se postupně svažují a pohoří plynule přechází v pouštní krajinu centrální íránské vysočiny (Fisher 1968). Dále na východ na hřebeny Elborzu navazují nižší hřebeny pohoří Kopet Dagh, které tvoří hranici mezi íránskou vysočinou a Turanskou nížinou v Turkmenistánu (Tchalenko 1974). Východně od řeky Atrak poté pokračuje pohoří dále do Afghánistánu, kde hřebeny postupně přecházejí ve vysoké štíty Hindu Kushe.

Pohyb arabské litosferické desky směrem na severovýchod společně s pohybem Indie na sever vyvolaly před pěti miliony lety horotvorné pochody na severním okraji Íránu, tedy vznik pohoří Elborz a Kopet Dagh. Nejintenzivnější orogenetické procesy proběhly ve středním pliocénu (3-4 miliony let) a jejich důsledkem jsou dnešní geomorfologické deformace Kopet Daghu (Sborshchikov et al. 1981; Hrbek & Meyer 2003).

Na rozdíl od západu a severu, kde jsou okraje ohraničující náhorní plošinu celistvé a zcela zřetelné, jihovýchod Íránu sestává z mnoha vyvýšených vzájemně oddělených masivů. Tyto struktury jsou v krajině rozmístěny nepravidelně a netvoří žádný ucelený hřeben. Roviny ležící mezi vypínajícími se skalami mají charakter otevřených plání, někdy připomínají spíše zahloubené deprese. Východním směrem se celé území mírně svažuje a přechází v nížiny západního Afghánistánu (povodí řeky Helmand) a pouštní oblasti Pákistánu. Pokles východního Íránu byl způsoben horotvornými procesy probíhajícími během pliocénu (Macey 1998). Výraznější hranici na východě tvoří až Pamírský uzel na severu Pákistánu a z něj vybíhající série horských hřebenů. Směrem k Indickému oceánu vybíhá pohoří Sulaiman a na západ masiv Hindu Kushe. Sulaiman se před dosažením vod oceánu stáčí k západu a napojuje se na íránské pobřežní svahy Makranu, které navazují na Zagros.

Představa íránské náhorní plošiny jako mísy s vysokými okraji není tedy realitě nijak vzdálená. Uvnitř prstence více či méně vysokých pohoří leží oblast íránské vysočiny, někdy též označována jako íránské plató. Průměrná nadmořská výška přesahuje 1000 m n. m. (Fisher 1968), což kontrastuje s nízko položenými oblastmi Karakumské pouště severně od Kopet Daghu či bažinatou krajinou Mezopotámie západně od Zagrosu. Rozlohou íránská vysočina přesahuje 750 000 km². Velké plochy byly během vlhčích období zatopeny. Jezera tvořila kontinuální systém pokračující dále do Afghánistánu a střední Asie (Anderson 1999). Největší z nich se táhlo od jižních svahů Elborzu směrem na východ a jihovýchod. Dnes je celá oblast, známá pod jménem Dasht-e Kavir, tvořena solnou pouští. V některých místech jsou pod silnými solnými krustami stále vodní rezervoáry (Bičík & Krůta 1975). Se svými více než 77 000 km² představuje největší souvislou pouštní plochu Íránu. Vegetace je zde velice chudá (Bobek 1968). Na jihovýchodním okraji na ni plynule navazuje poušť Dasht-e Lut ležící při hranicích s Afghánistánem. Lokálně může teplota na Dasht-e Lut přesahovat 50°C. Nepřekvapí tedy, že kromě chudého vegetačního pokryvu nejsou tyto pouště nejbohatší ani na herpetofaunu (Gabriel 1938).



Obr. 1: Topografická mapa Íránu a okolních zemí. Převzato z The University of Texas Libraries.

1.2 Biogeografie

Íránská vysočina rozprostírající se mezi Kaspickým mořem a Perským zálivem tvoří jakýsi pomyslný most mezi Asií na jedné straně a Arábií a Afrikou na straně druhé. Jedná se o jednu z geograficky nejkomplexnějších oblastí JZ Asie, ve které se mísí prvky severoafrické, arabské, evropské, středoasijské a orientální herpetofauny (Anderson 1968). Díky své vyšší nadmořské výšce a izolaci od okolí hřeben vysokých horských masivů získává unikátní charakter jen těžko hledající ekvivalent jinde ve světě. Složení a charakter rozšíření jednotlivých druhů obývajících íránské plató byly značně ovlivněny výraznými geomorfologickými změnami krajiny odehrávajícími se v posledních deseti milionech letech (Rastegar-Pouyani 2006). Díky izolaci od okolí vykazuje zdejší fauna vysoký podíl endemismu (Wettstein 1951; Anderson 1968, 1974, 1999; Latifi 1991, Coad 1995).

Afro-arabské elementy nejsou ve většině případů schopny překonat pohoří Zagros, pokud se tedy vyskytují na území vytyčeném politickými hranicemi Íránu, jsou omezeni na západní svahy Zagrosu a Mezopotamskou nížinu (např. *Phrynocephalus arabicus* nebo rody *Asaccus* či *Stenodactylus* aj.). Jinou možností průniku z Arabského poloostrova do Íránu nabízí Hormuzský průliv, 80 km široký mořský kanál oddělující Musandamský poloostrov

v Ománu od jižního Íránu. Během pleistocénního ochlazování a poklesu mořské hladiny docházelo opakovaně k ústupu vod z Perského zálivu (Arnold & Gallagher 1977; Anderson 1968). Vzhledem k jeho malé hloubce (maximum 110 m) tak na některých místech pravděpodobně došlo ke kontaktu Arabského poloostrova s pevninskou Asií. Na obou stranách průlivu se tak vyskytují např. *Phrynocephalus maculatus*, *Pristurus rupestris* či bodlinaté myši *Acomys* (Arnold & Gallagher 1977; Průšová 2007). Anderson (1999) předpokládá osídlení íránského plata rody *Acanthodactylus* a *Mesalina* právě touto cestou.

Severozápad Íránu tvořený uzlem Zagrosu, Kavkazu a Elborzu je obývaný převážně horskými druhy a druhy pronikajícími sem z Anatólie. Během glaciálů, kdy byly tyto hory pokryty ledovci (Ferrigno 1989), byla místní fauna nucena sestupovat do nižších nadmořských výšek, odkud pak s nastalým oteplením expandovala zpět. V interglaciálech byla horská stepní vegetace nahrazována otevřenými dubovými lesy s pistáciovým podrostem. Po posledním glaciálu došlo k obnově původních porostů tvořených převážně jalovcem a duby, v menší míře jilmy, jasany, habrem a borovicemi (Saeidi - Mehrvarz 2004; Djamali et al. 2008).

Podél jižních břehů Kaspiku se na svazích Elborzu rozkládá oblast zarostlá hyrkanskými lesy. Jedná se o opadavý, převážně bukový porost. Klima je zde typicky mediteránní s relativně vysokou vzdušnou vlhkostí. Díky tomu sem zasahuje mnoho jihoevropských druhů (např. *Emys orbicularis*, *Pseudopus apodus*, *Anguis fragilis* aj.). Během glaciálů tvořilo toto území jedno z refugií, odkud se v dobách oteplení šířila zvířata na sever (Anderson 1968; Veith et al 2003)

Množství sdílených druhů je možné najít mezi íránským platem a Turanskou nížinou (Atayev a Shammakov 1994). Pohoří Kopet Dagh, rozdělující tato dvě území, sice tvoří určitou bariéru bránící migraci druhů, jeho nižší nadmořská výška (nejvyšší hora dosahuje 3147 m n.m.) a údolí řek tekoucích do Kaspického moře však umožňují migraci živočišných druhů mezi Íránem a Turkmenistánem (Misonne 1968).

Díky plynulému přechodu íránské vysočiny v afghánské nížiny zasahují areály většiny živočichů vyskytujících se na íránském platu také do západního Afghánistánu. Zde jim v cestě stojí až výběžky Hindu Kushe (Kráal 1969). Podobnou situaci můžeme pozorovat i dále na jih, kde íránské pouště postupně přecházejí do pákistánského Balúčistánu. Biogeografickou bariéru tvoří v Pákistánu severojižně orientovaná série hřebenů pohoří Sulaiman (Khan 1980).

Z Pákistánu pronikají do Íránu některé druhy typické pro Orientální oblast, např. *Calotes versicolor*, *Varanus bengalensis* či *Crocodylus palustris* (Anderson 1968; Das 1996).

Centrální íránské plató bylo díky své izolovanosti horskými hřebeny jen málo ovlivněno globálními klimatickými změnami probíhajícími v kvartéru (Misonne 1968). Takovéto prostředí, skýtající nepřeborné množství rozličných habitatů, může být centrem vzniku a následné radiace mnoha druhů. Tuto myšlenku podporuje i velké množství endemických forem a taxonů odtud neustále popisovaných (Darevsky & Szczerbak 1978; Nilson & Andrén 1978; Andrén & Nilson 1979; Szczerbak 1990; Moravec 1994; Wischuf & Fritz 1996; Rastegar-Pouyani & Rastegar-Pouyani 2001; Nilson et al. 2003; Hrbek et al. 2006; Mozaffari & Parham 2007 aj.). Íránské plató je ideálním místem pro studium fylogenetických a biogeografických vztahů, protože jeho geologická historie je velmi dobře datována. Macey et al. (1998), kteří zjistili severo – jižní divergenci mezi agamami z rodu *Laudakia* v centrálním Íránu se domnívají, že podobný scénář lze očekávat i u dalších druhů íránské náhorní plošiny.

Na formování areálů některých druhů měly vliv i podmínky klimatické. Nilson & Andrén (1978) polemizují o možnosti, že fosoriální scinkové z rodu *Ophiomorus* byli ovlivněni pohyby písečných dun větrem. Jelikož v Íránu, Afghánistánu, Pákistánu a severní Indii vanou téměř neustále větry od severu či severozápadu, pohybují se písečné duny směrem na jih. Protože tato zvířata jsou obligátní obyvatelé písečných substrátů (kromě *O. nuchalis* žijícím na štěrkových půdách (Nilson a Andrén 1978, 1981)), je jejich distribuce závislá na pohybu písečných dun větrem. Jednotlivé populace jsou od sebe izolované bariérami tvořenými oblastmi bez písečného pokryvu. Připomínají tak vzdálené ostrovy jen omezeně umožňující výměnu genetického materiálu. Kontakt může být zprostředkován právě díky pohybu písečných dun větrem. Přestože jsou tyto scinkové lokálně velmi hojní (Alcock & Finn 1896), areály jednotlivých druhů jsou velmi omezené (Anderson 1999). Možná právě díky neschopnosti překovávat nepísečné substráty. Převážná většina plazů je ve větší či menší míře vázána na určitý typ substrátu (Shenbrot & Krasnov 1997). Je tedy možné, že klimatické jevy mohou distribuci hepretofauny ovlivňovat a mít na speciaci větší vliv, než se obecně předpokládá, jak ukázali např. Mayer et al. (2006).

1.3 Rod *Mesalina*

1.3.1 Geografické rozšíření

V rámci rodu *Mesalina* je dnes rozeznáváno 14 druhů. Areál rozšíření celého rodu sahá od Maroka přes severní Afriku po Egypt, jižně zasahují do Čadu přes Súdán a Etiopii do Somálska. V Asii dále pokračuje Blízkým východem a Arabským poloostrovem. Na Středním východě obývají pobřeží Perského a Ománského zálivu, jediný druh (*M. watsonana*) obývá centrální Íránské plató od pohoří Zagros na západě po indický Rajastan na východě (Boulenger 1921).

1.3.2 Fylogenetické vztahy

V práci věnující se přehledu Palearktických ještěrek rodu *Eremias* obnovil Szczerbak (1974) starší rodové jméno navržené Grayem (1838) a povýšil tak do té doby podrod *Mesalina* na rodový status. Fylogenetické studie posledních let zaměřené na čeleď Lacertidae řadí rod shodně do podčeledi Eremiinae, ale na základě dostupných dat nejsou schopné bližší fylogenetické vztahy rozřešit. Jak práce Harris et al (1998), Fu (2000) tak Mayer & Pavlicev (2007) řadí rod *Mesalina* do společného kladu společně s rody *Ophisops* a *Acanthodactylus*. *Eremias* tvoří této skupině rod sesterský. Vzhledem k tomu, že byly rody *Mesalina* a *Eremias* dlouhou dobu považovány za rod jediný, dal by se očekávat jejich sesterský vztah. Proto jsou publikované výsledky poněkud překvapivé. I když měli všichni z výše zmíněných autorů k dispozici pouze omezený materiál, monofylii rodu *Mesalina* nezpochybňuje nikdo.

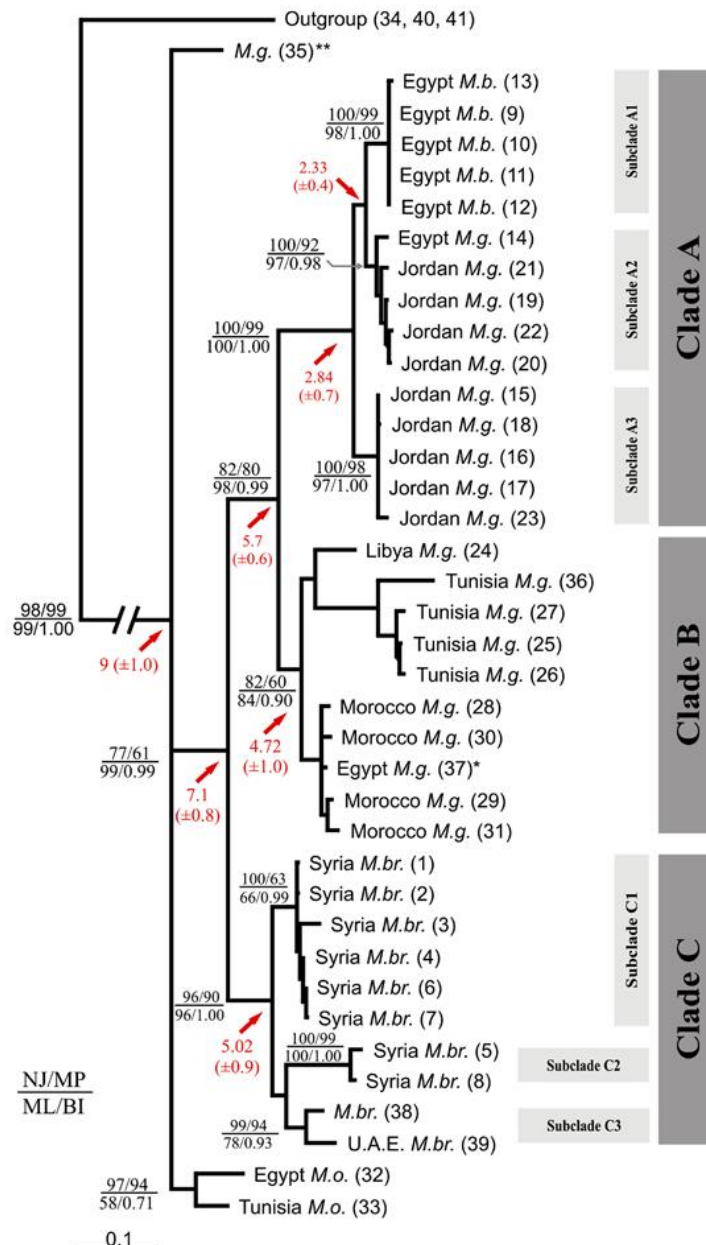
Fylogenetické vztahy v rámci rodu *Mesalina* se pomocí molekulárních metod jako první pokusili odhalit Joger & Mayer (2002). K fylogenetické analýze použili části dvou mitochondriálních genů (12S a 16S rRNA). Ve své práci věnované převážně popisu nového druhu (*M. kuri*) ze souostroví Sokotra také zveřejnili fylogenetický strom získaný na základě sekvencí mtDNA několika zástupců (*M. adramitana*, *M. balfouri*, *M. breviostris*, *M. guttulata*, *M. olivieri*, *M. rubropunctata*, *M. sp.*). Jimi provedené analýzy ale neposkytly téměř žádný náhled na fylogenezi rodu, jedinou nalezenou skupinu tvoří druhy pocházející z jihu Arabského poloostrova a Sokotry (*M. adramitana*, *M. balfouri*, *M. sp.*). Ostatní zástupci tvoří sice monofyletický, ale polytomický strom. Příbuznost jemenských druhů a druhů pocházejících ze Sokotry a přilehlých ostrovů naznačuje, že k osídlení Sokotry došlo z Arábie, nikoli ze Somálského poloostrova (Joger & Mayer 2002).

V loňském roce spatřila světlo světa publikace snažící se taktéž odhalit fylogenetické vztahy uvnitř rodu *Mesalina* (Kapli et al. 2008). Zastoupení analyzovaných druhů ale také nebylo zdaleka kompletní, autoři se zaměřili převážně na druhy *M. bahaeldini*, *M. brevirostris*, *M. guttulata* a *M. olivieri*. Jejich materiál pokrývá severní Afriku a Blízký východ. Stejně jako Joger & Mayer (2002) použili k získání fylogenetických stromů sekvence mtDNA. Jak vyplývá z výsledků, je *M. olivieri* monofyletický druh sesterský ostatním analyzovaným. Bootstrapová podpora je ale nižší než 50 %, vztahy mezi tímto a ostatními druhy tak zůstávají nevyřešené. Všechny sekvence *M. adramitana*, *M. balfouri* a *M. kuri* z práce Joger & Mayer (2002) a použité i v této publikaci tvoří sesterskou skupinu k *M. brevirostris*, ale bez větší podpory.

Areál *M. brevirostris* je v mapě publikované v Kapli et al. (2008) prezentován jako disjunktní (populace v Sýrii a Jordánsku, další až kolem Perského zálivu). Spíše než hiát v rozšíření tohoto druhu bude však příčinou absence faunistických záznamů ze Saudské Arábie a Iráku, kde se *M. brevirostris* prokazatelně vyskytuje (Moravec 2004). Tento druh tvoří v analýzách další zřetelně odlišnou skupinu. V sekvencích *M. brevirostris* nenašli Kapli et al. (2008) žádnou korelaci mezi podobností haplotypů a geografickým původem zvířat. Mezi jednotlivými klady však objevili značné rozdíly (nekorigované p distance až 11,5%) podobně jako Mayer et al. (2006), jejichž *p* distance v rámci syrských populací tohoto druhu dosahují hodnot až 10%. To společně s rozdílným charakterem uspořádání šupin zjištěným již Moravcem (2004) poukazuje, že *M. brevirostris* je sice monofyletický druh, ale zcela jistě polytypický nebo dokonce druhový komplex.

M. guttulata, druh s nejrozsáhlejším areálem rozšíření, se rozpadá do několika linií. Jeden haplotyp byl vyčleněn na bázi celého stromu. Jedná se o exemplář z neznámé lokality, jehož sekvence byla získána z GenBank (Acc. No. AF080362). Nejspíše došlo k chybné identifikaci zvířete. Pokud ne, byla by nutná taxonomická revize rodu, nezbytná ostatně i kvůli situaci popsané dále. Severozápadní Afrika tvoří skupinu (v práci označená Clade B) sesterskou blízkovýchodní a egyptské skupině (Clade A). Jednu z vnitřních větví Clade A představuje *M. bahaeldini*. Tato forma, lišící se od *M. guttulata* habitatem s vyšší nadmořskou výškou, podélným pruhováním hřbetu, nahnědlou barvou, menším počtem supralabiálií, menším počtem dorzálií, menším počtem příčných řad ventrálií a dalšími znaky ošupení, byla popsána relativně nedávno (Segoli et al. 2002). *M. guttulata* tak tvoří parafyletický taxon. Kapli et al. (2008) také pomocí molekulárních hodin odhadovali doby divergence jednotlivých linií. Oddělení *M. brevirostris* od *M. guttulata* + *M. bahaeldini* předpokládají

před 7,1 miliony lety. První štěpení uvnitř *M. guttulata* na 5,7 milionů let, což koreluje s dobou mohutných záplav na Nilu způsobených zdvihem hladiny Středozemního moře. Autoři navrhují oddělení západní (Clade B) a východní (Clade A) větve *M. guttulata* do samostatných druhů. Ani to by ovšem parafyletickou situaci nevyřešilo, neboť *M. bahaeldini* je pouze jednou z několika linií Clade A. Jeden z fylogenetických stromů pocházející z práce Kapli et al. (2008) je uveden na Obr. 2.



Obr. 2. Fylogenetické vztahy mezi *Mesalina bahaeldini* (M.b.), *M. brevisrostris* (M. br.), *M. guttulata* (M.g.) a *M. olivieri* (M.o.). Vzorek M.g. (35) stojící na bázi stromu byl získán z GenBank. Pravděpodobně se jedná o chybně určené zvíře. Čísla značí hodnotu bootstrapu získaná metodou NJ, MP (nad čarou) a ML, BA (pod čarou). Červené šipky jsou odhady doby divergence. Převzato z Kapli et al. (2008).

Co se týče druhu *M. watsonana*, je jeho pozice mezi ostatními příslušníky rodu *Mesalina* neznámá. Jeho dlouhodobé řazení jako poddruh *M. guttulata* by mohlo napovídat, že se bude jednat o blízce příbuzné taxony. Blízkou příbuznost obou forem odvozoval i Arnold (1986b) podle podobné anatomické stavby hemipenisů. Rozdíly mezi oběma taxony jsou pouze ve velikosti hemipenisu. Další morfologické odlišnosti jsou ve tvaru čenichu (u *M. guttulata* poněkud protáhlejší) (Schmidt 1939) a volnosti límce (u *M. guttulata* na posteriorním okraji pevně přirostlý) (Smith 1935). Areál druhu sahá od pohoří Zagros v Íránu východně po poušť Thar ležící na pákistánsko-indických hranicích. Nejsevernější výspou je jižní Turkmenistán, kam pronikla přes Kopet Dagh či ze severního Afghánistánu (Nikolski 1915; Schammakov et al. 1993). Sindaco & Jeremčenko (2008) spekulují, že jelikož Anderson (1999) řadí k druhu *M. watsonana* i exempláře ze západního okraje Íránu, mohlo by se v případě zvířat z Iráku, Kuvajtu a severovýchodu Saudské Arábie jednat o tentýž druh. Dostupný muzejní materiál však tuto myšlenku zatím nepotvrdil.

1.3.3 Systematika a taxonomie

Všichni zástupci rodu *Mesalina* jsou drobné, šedohnědé ještěrky s více či méně výraznou hřbetní kresbou tvořenou drobnými bílými tečkami s černým okrajem. Některé druhy jsou charakteristické podélnými pruhy na dorzální straně těla. Od rodu *Eremias* se liší uspořádáním břišních šupin, které leží v přímých podélných řadách. Dále folidózou hlavy, kde je spodní nasale v kontaktu pouze s prvním supralabiale (u *Eremias* kontakt se dvěma až třemi supralabiálními štítky). Rozdíly mezi jednotlivými druhy jsou často nepatrné, v mnoha případech vnitrodruhová variabilita překrývá rozdíly mezi druhy a ty mohou být často určeny pouze podle lokality původu. Například Boulengerem (1921) rozeznávané subspecie druhu *M. guttulata* později Haas (1951) přeurčil jako poddruhy *M. olivieri*. Arnold (1986a) studující anatomii hemipenisů povýšil některé do té doby rozeznávané subspecie na samostatné druhy (*M. balofuri*, *M. martini*, *M. watsonana*). Povýšením *M. watsonana* na druh se tak výrazně zmenšil areál druhu *M. guttulata*, od něhož byla *M. watsonana* oddělena. Východní hranice rozšíření *M. guttulata* se tím posunula západně od Íránu, ve kterém se nadále pravděpodobně nevyskytuje. Východně zasahuje nejdále od Iráku, nedávno byla její přítomnost prokázána v Kuvajtu (Al - Sirhan 2008).

Na celém svém areálu se *M. watsonana* jeví jako morfologicky velmi uniformní. Smith (1935) nenašel žádné rozdíly mezi typovými exempláři a materiálem z Indie a Persie.

Boulenger (1887, 1921), který ještě tento druh považoval za nominotypickou subspecii *M. guttulata* neobjevil žádné výrazné rozdíly jak mezi zvířaty dnes řazenými do *M. watsonana*, tak mezi jimi a severoafrickou *M. guttulata*. Vzájemnou podobnost obou forem a nejistotu s determinací projevil Wettstein (1951), který se sice už přikláněl k názoru na oddělení *M. g. watsonana* z Persie, ale přesto nebyl schopen s jistotou poddruhově zařadit exemplář pocházející z Jordánska. Aby snad nebyla situace příliš jednoduchá, popsal Stoliczka (1872) *Eremias watsonanus* (typová lokalita Kalabagh, Punjab, severní Pákistán), jehož typový exemplář prozkoumaný Andersonem (1896) odpovídá dle počtu ventrálních šupin druhu *M. brevirostris*. Naopak ostatní jedinci studovaní Andersonem (1896) a řazení jím do druhu *M. brevirostris* se dle charakteru folidózy (12 řad ventrálií) a lokality původu (Hadramut, Jemen) zdají býti spíše druhem *M. guttulata*.

Všechny nové druhy rodu *Mesalina* byly popsány z oblastí s relativně intenzivním herpetologickým výzkumem (*M. bahaeldini* – Egypt, 2002; *M. kuri* – Sokotra, 2002; *M. ayunensis* – Omán, 1980). *M. watsonana* a východní populace *M. brevirostris* nebyly kvůli špatné dostupnosti materiálu v poslední době podrobněji zkoumány. Zdá se však, že i zde se situace postupně obrací, konferenční příspěvek autorů Rastegar-Pouyani & Khosravani (2008) se snažil systematiku a rozšíření rodu *Mesalina* v Íránu předběžně nastínit.

1.4 Rod *Ophisops*

1.4.1 Geografické rozšíření

Rod *Ophisops* v současné době zahrnuje 8 druhů. Většina z nich obývá sever indického subkontinentu, jeden druh (*O. elbaensis*) se vyskytuje v jižním Egyptě, severovýchodním Súdánu a přes Rudé moře na západě Jemenu a Saudské Arábie. Podél severního afrického pobřeží se táhne areál druhu *O. occidentalis*. Nejrozšířenějším a jediným evropským druhem je *O. elegans*. Jeho areál se rozprostírá od evropské části Turecka a přilehlých částí Řecka a Bulharska směrem na východ přes Anatolii po Zakavkazsko a Írán. Na jihu sahá územím Levanty na sever Sinajského poloostrova. V Íránu obývá západní a jižní provincie, svým rozšířením přibližně kopíruje pohoří Zagros (Anderson 1968). Khan (1980, 2002, 2004) předpokládá jeho výskyt i v západním Pákistánu. Naopak Anderson (1999) během dlouhodobého výzkumu íránské herpetofauny nikdy nezaznamenal výskyt *O. elegans* ve východoíránském Sistánu a Balúčistán. Pokud se tedy v oblasti poblíž íránsko-pákistánských hranic tento druh vyskytuje, pak zřejmě pouze okrajově.

1.4.2 Fylogenetické vztahy

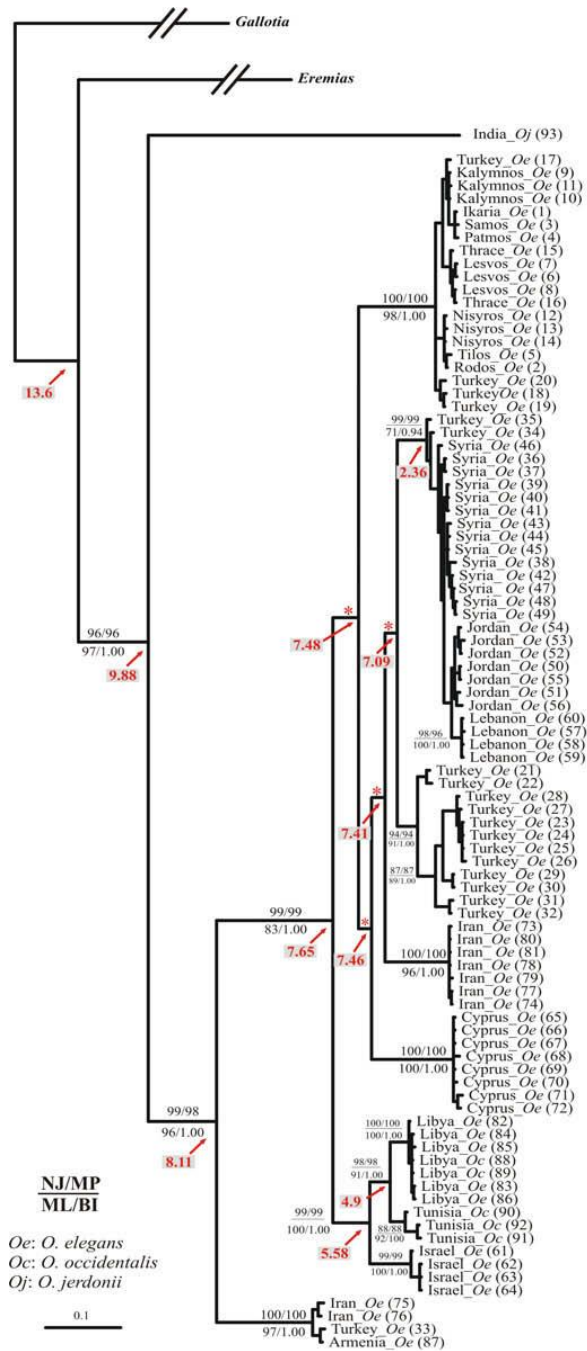
Fylogenetická pozice rodu byla zmíněna již v kapitole 1.3.3 Oba rody jsou řazeny do čeledi Lacertidae, podčeledi Eremiinae. Téměř všechny studie řadí rod *Ophisops* do blízkého příbuzenstva rodů *Mesalina* a *Acanthodactylus* (Harris et al. 1998; Fu 2000; Mayer & Pavlicev 2007). Pouze Fu (1998) na základě dat získaných sekvenováním dvou genů mtDNA stavovil rodu *Ophisops* jako sesterský rod *Eremias*. Neměl ale k dispozici sekvence žádného zástupce rodů *Acanthodactylus* ani *Mesalina*, jejich možnou příbuznost tak nelze vyloučit. Nelze proto tuto práci brát jako zcela vypovídající. Podle Mayer & Pavlicev (2007) tvoří všechny výše zmiňované rody tzv. sahara-aurasijskou monofyletickou skupinu společně s africkými *Holaspis* a *Adolfus* a arabskými *Omanosaura*.

Kyriazi et al. (2008) zveřejnili fylogeografickou studii zaměřenou na *O. elegans* a *O. occidentalis*. Jimi získané vzorky pokrývaly Turecko, Levantu, Kypr, několik oblastí severní Afriky a provincii Kermanshah ležící v západním Íránu. Za pomoci sekvencí tří mtDNA genů dospěli k následujícím závěrům: sesterskou linii ke všem ostatním sekvenovaným tvoří některé vzorky z Íránu, severovýchodního okraje Turecka a Arménie. Vysoká podpora této větve a skutečnost, že jeden ze vzorků pochází z práce jiného autora (lokalita Khosrov, Arménie; Fu 2000) vylučují chybu při sekvenování či kontaminaci jiným materiálem a zvyšují věrohodnost dané linie. Autoři ale tuto větev dále nekomentují, pouze konstatují, že další materiál a osekvenování ostatních druhů rodu *Ophisops* by přispělo k objasnění mnoha otázek. To nepochybně. Ostatní zpracované exempláře tvořící dobře podpořené monofylum jsou rozděleni do dvou kladů. Jeden tvoří *O. occidentalis* společně se vzorky *O. elegans* z Izraele. Jelikož je *O. occidentalis* vnitřní skupinou *O. elegans*, stává se tento parafylem. Druhá skupina je složena ze vzorků z Jordánska, Libanonu, Sýrie, Turecka (včetně přilehlých ostrovů) a zbývajících lokalit z Íránu. Západní Turecko a ostrovy v Egejském moři představují jeden klad, další samostatnou linii reprezentují zvířata z Kypru. Íránské vzorky tvoří monofylum sesterské východnímu Turecku, Sýrii, Jordánsku a Libanonu. Uvnitř této íránské linie jsou malé genetické rozdíly nepřesahující 0,3 %. Naopak průměrná genetická vzdálenost těchto sekvencí od bazálního kladu z Íránu, východního Turecka a Arménie popsaného výše dosahovala 18,2 %. Přitom jsou dvě nejbližší lokality zastupující různé klady vzdálené zhruba 50 km vzdušnou čarou. Sami autoři upozorňují na neobvykle vysokou míru divergence v rámci jednoho druhu, která je v čeledi Lacertidae jednou z nejvyšších (viz. např. Johns & Avise 1998; Carranza et al. 2004; Pavlicev & Mayer 2009 a jiní).

Kyriazi et al. (2008) také pomocí divergencí nukleotidových sekvencí počítali přibližnou dobu vzájemného oddělení jednotlivých skupin. Separaci druhů *O. elegans* + *O. occidentalis* od druhu *O. jerdonii* ze severní Indie odhadují na dobu před 9,8 miliony let, odštěpení bazální linie z Íránu, Arménie a SV Turecka před 8,11 miliony let. To vede autory k závěru, že rod *Ophisops* vznikl v jihozápadní Asii, odkud se následně rozšířil do Malé Asie a severní Afriky. Není to poprvé, co se tento názor objevil (Arnold et al. 2007; Mayer & Pavlicev 2007). Tento disperzní model podporuje i divergence uvnitř *O. elegans*, kdy každá distinktní linie putovala samostatně z jihozápadní Asie směrem na západ a mohla tak proniknout na dnes obývané území. Dlouhotrvající období sucha na konci miocénu mohlo umožnit expanzi tohoto suchomilného druhu (Kyriazi et al. 2008). Naopak absence jakékoli geografické korelace s topologií fylogenetického stromu v kladu z Turecka, Sýrie, Libanonu a Jordánska indikuje recentní disperzní událost datovanou na pozdní pliocén až pleistocén související s tehdejší aridizací Blízkého východu. Podobnou situaci ve stejném regionu popsali Mayer et al. (2006) pro *Mesalina brevirostris*. Fylogenetický strom získaný na základě sekvencí tří mtDNA genů kolektivem Kyriazi et al. (2008) je zobrazen na Obr. 3.

1.4.3 Poddruhová systematika

Ophisops elegans byl popsán v roce 1832, typová lokalita Baku, Ázerbájdžán (Ménétries 1832). Vzhledem k rozlehlému areálu rozšíření a vysokým populačním hustotám na vhodných lokalitách byl tento druh častým přírůstkem herpetologických sbírek. To umožnilo v následujících letech popsání mnoha forem. Zmíníme pouze subspecii nominotypickou, formu *persicus* a *blanfordi*, tj. ty, které mají vztah k Íránu. Ze severozápadního Íránu popsal Boulenger v roce 1918 subspecii *persicus*, typová lokalita Sopurghan poblíž Urmíjského jezera. Tento poddruh se od nominotypické liší drobnými detaily na folidóze hlavy (velké occipitale, 31-36 šupin kolem těla, 23-30 řad ventrálií, 8-11 femorálních pórů, zřetelnější límec, tmavý vertebrální pruh někdy protažen přes celé tělo). Íránské populace *O. elegans* řadí Boulenger (1921) právě k tomuto poddruhu. Lantz (1931) (ex Smith 1935), který studoval materiál z typové lokality *O. elegans*, jenž nebyl Boulengerovi dostupný, považuje obě formy za identické a jméno *persicus* tak za mladší a neplatné synonymum. Rozdíly nalezené v počtu šupin kolem těla a femorálních pórů považuje za vnitrodruhovou variabilitu. Tento názor podporují i Forcart (1950) a Wettstein (1951). Naopak Haas (1952) jméno *O. e. persicus* zachovává a řadí k němu i exempláře z Iráku, odkud později Weber (1960) uvádí nominotypickou subspecii.



Obr. 3. Fylogenetický strom *Ophisops elegans* (Oe) a *O. occidentalis* (Oc). Pro malou přehlednost, *O. occidentalis* je značen čísly 88, 89, 90, 91, 92. Čísla nad větví udávají hodnoty bootstrapu pro metody NJ a MP, pod větví pro ML a BA. Červené šipky značí odhad doby divergence. Převzato z Kyriazi et al. (2008).

Právě z Iráku popisuje Schmidt (1939) nový druh *O. blanfordi*, typová lokalita Halfaya, 20 mil východně od Amary. Na rozdíl od *O. elegans*, který má obvykle dva postnasální štítky, je tento druh charakteristický pouze jediným. Později byl subordinován na status poddruhu *O. elegans*. *O. e. blanfordi* bývá uváděn z jižní a východní Sýrie, Jordánska, Iráku a západního předhůří Zagrosu v Íránu (Anderson 1968; Disi 1996; Moravec 1998;

Lymerakis & Kalionzopoulou 2003). Ještě v roce 1968 předpokládá Anderson výskyt této formy v Mezopotamské nížině a na úpatí pohoří Zagros do výšky 900 m n.m. Nominotypickou formu pak uvádí pro centrální íránské plató (nadmořská výška 1100 - 3050 m n.m.). Později (Anderson 1999) však přehodnocuje svůj názor a považuje použití poddruhových jmen za neopodstatněné. Variabilita mezi populacemi i uvnitř nich nijak zřetelně neodráží geografickou distribuci forem, často se mění klinálně a nezávisle (Anderson 1872; Reed & Marx 1959). Stejného názoru jsou Disi & Amr (1998), kteří v Jordánsku zjistili syntopický výskyt *O. e. blanfordi* a *O. e. ehrenbergi* a členění druhu na subspecie zpochybňují. Řada autorů se proto poddruhové specifikaci raději vyhýbá (Eiselt 1965; Clark & Clark 1973; Leviton et al. 1992; Frynta 1997; Anderson 1999; Hraoui – Bloquet et al. 2002). Některé poddruhy byly navíc popsány pouze podle poněkud odlišného zbarvení (např. *basoglui*, Baran & Budak 1978). Vzhledem k vnitrodruhové variabilitě popsané výše působí takové popisy poněkud nedůvěryhodně.



Obr. 4: *Mesalina watsonana* z lokalit: A – Ardestan, B – Gahkom, C – Kushk-e-Nosrat, D – Tabas.



Obr. 5: (A) Štěrková polopoušť u vesnice Ardestan jako ukázka habitatu *M. watsonana*. (B) Lokalita Izadkhast, kde byli *M. watsonana* a *O. elegans* nalezeni syntopicky.



Obr. 6: *Ophisops elegans* z lokalit: A – Izadkhast, B – Khorramdarreh, C – Mahan, D – Qom.

2. CÍLE

- osekvenovat část genu pro cytochrom *b* z dostupného materiálu *M. watsonana* a *O. elegans* z íránské náhorní plošiny
- fylogenetickými analýzami posoudit míru divergence jednotlivých populací v rámci těchto druhů
- s využitím již publikovaných sekvencí posoudit fylogenetickou pozici druhu *M. watsonana* uvnitř rodu *Mesalina*
- obdobně posoudit postavení íránských populací v rámci druhu *O. elegans*
- na základě morfologických znaků zhodnotit vnitrodruhovou variabilitu *M. watsonana* napříč areálem rozšíření a íránských populací *O. elegans*
- ve studovaných znacích nalézt druhově specifické rozdíly schopné odlišit *M. watsonana* a *M. guttulata* dlouho považované za konspecifické

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1 Molekulární analýzy

3.1.1 Materiál

Původním záměrem bylo použít k získání sekvencí DNA bohatý materiál ve sbírkách Dr. Daniela Frynty, který se spolupracovníky z PřF UK podnikl do Íránu cesty v letech 1996, 1997, 1998, 2000 a 2002 (viz. např. Frynta et al. 1997). Bohužel se po opakovaných neúspěšných pokusech o extrakci a amplifikaci kýženého fragmentu DNA tento materiál ukázal pro molekulární analýzy jako nepoužitelný (dlouhodobá fixace v denaturovaném lihu), tudíž bylo nutné podniknout do Íránu další výpravy. Následující tři cesty jsem podnikl já se svými přáteli v srpnu 2007, říjnu 2007 a dubnu 2008. Tyto vzorky se vzhledem k jejich nevelkému stáří a uložení v čistém lihu ukázaly jako molekulárně zpracovatelné. Seznam lokalit původu zvířat použitých k sekvenaci viz Tab. 1. Mapa sběrů *M. watsonana* použitých k molekulární analýze je na Obr. 7. Mapa byla vyrobena v online aplikaci OMC (Online Map Creation) a graficky upravena v programu CorelDRAW® 12.0.

Tab. 1: Seznam lokalit vzorků použitých k molekulární analýze.

Taxon	Číslo vzorku	Lokalita, provincie, země	GPS souřadnice	Nadmořská výška (m)
<i>Mesalina watsonana</i>	Gah 09	Gahkom, Hormozgan, Iran	28°10'54.01"N, 55°49'20.13"E	690
<i>M. watsonana</i>	Ard 14	Ardestan, Esfahan, Iran	33°18'19.64"N, 52°24'2.39"E	1362
<i>M. watsonana</i>	Bard 05	Bardaskan, Khorasan, Iran	35°14'57.92"N, 57°58'47.05"E	958
<i>M. watsonana</i>	Izad 03	Izadkhast, Fars, Iran	31°31'58.45"N, 52°7'32.09"E	2180
<i>M. watsonana</i>	Izad 04	Izadkhast, Fars, Iran	31°31'58.45"N, 52°7'32.09"E	2180
<i>M. watsonana</i>	Izad 08	Izadkhast, Fars, Iran	31°31'58.45"N, 52°7'32.09"E	2180
<i>M. watsonana</i>	May 06	Mayamey, Semnan, Iran	36°24'10.17"N, 55°41'13.30"E	1086
<i>M. watsonana</i>	Salaf 07	Salafchegan, Qom, Iran	34°29'20.17"N, 50°28'12.90"E	1390
<i>M. watsonana</i>	Tab 11	Tabas, Yazd, Iran	33°35'57.37"N, 56°54'44.12"E	663
<i>M. watsonana</i>	Vaz 01	Vazireh, Fars, Iran	28°59'50.53"N, 54°46'52.49"E	1690
<i>M. watsonana</i>	Vaz 10	Vazireh, Fars, Iran	28°59'50.53"N, 54°46'52.49"E	1690
<i>M. watsonana</i>	Kush	Kushk-e-Nosrat, Qom, Iran	35°6'39.11"N, 50°53'51.71"E	1010
<i>M. watsonana</i>	Kush 02	Kushk-e-Nosrat, Qom, Iran	35°6'39.11"N, 50°53'51.71"E	1010
<i>M. watsonana</i>	Kush 12	Kushk-e-Nosrat, Qom, Iran	35°6'39.11"N, 50°53'51.71"E	1010
<i>M. watsonana</i>	Kush 13	Kushk-e-Nosrat, Qom, Iran	35°6'39.11"N, 50°53'51.71"E	1010
<i>M. watsonana</i>	Anj	Anjireh, Yazd, Iran	32°13'60.00"N, 54°22'60.00"E	1360
<i>M. guttulata</i>	Yem 109	Ghayl Ba Wazir, Hadramawat, Yemen	14°54'36"N, 49°02'14"E	1219

Taxon	Číslo vzorku	Lokalita, provincie, země	GPS souřadnice	Nadmořská výška (m)
<i>Ophisops elegans</i>	Osm 1	Osmancik, Çorum, Turecko	40°58'40.97"N, 34°46'17.84"E	420
<i>O. elegans</i>	Osm 2	Osmancik, Çorum, Turecko	40°58'40.97"N, 34°46'17.84"E	420
<i>O. elegans</i>	Qaz 31	Qazvin, Qazvin, Iran	36°5'7.56"N, 50°27'40.74"E	1360
<i>O. elegans</i>	Qaz 32	Qazvin, Qazvin, Iran	36°5'7.56"N, 50°27'40.74"E	1360
<i>O. elegans</i>	Fam 05	Famenin, Hamadan, Iran	35°8'49.68"N, 48°52'33.40"E	1640
<i>O. elegans</i>	Fam 35	Famenin, Hamadan, Iran	35°8'49.68"N, 48°52'33.40"E	1640
<i>O. elegans</i>	Fam 36	Famenin, Hamadan, Iran	35°8'49.68"N, 48°52'33.40"E	1640
<i>O. elegans</i>	Khor 33	Khorramdarreh, Zanzan, Iran	36°15'11.22"N, 49°12'8.43"E	1660
<i>O. elegans</i>	Zan 34	Zanzan, Zanzan, Iran	36°39'0.70"N, 48°35'43.08"E	1750
<i>O. elegans</i>	Miy 06	Miyandoab, West Azerbaijan, Iran	36°58'39.84"N, 46° 6'34.40"E	1290
<i>O. elegans</i>	Qom	Qom, Qom, Iran	34°40'14.25"N, 50°52'28.33"E	920
<i>O. elegans</i>	Qom 30	Qom, Qom, Iran	34°40'14.25"N, 50°52'28.33"E	920
<i>O. elegans</i>	Mah 15	Mahan, Kerman, Iran	29°59'12.52"N, 57°16'38.69"E	2200
<i>O. elegans</i>	Izad 38	Izadkhasht, Fars, Iran	31°31'58.45"N, 52° 7'32.09"E	2180
<i>O. elegans</i>	Morch	Morcheh Khort, Esfahan, Iran	33°5'28.77"N, 51°28'40.93"E	1670
<i>O. elegans</i>	Morch	Morcheh Khort, Esfahan, Iran	33°5'28.77"N, 51°28'40.93"E	1670
<i>O. elegans</i>	Salaf 03	Salafchegan, Qom, Iran	34°29'20.17"N, 50°28'12.90"E	1390
<i>O. elegans</i>	Salaf 04	Salafchegan, Qom, Iran	34°29'20.17"N, 50°28'12.90"E	1390

3.1.2 Izolace DNA

Ze zvířat byly odebírány následující části těla: u fixovaných zvířat jazyk nebo svalovina ze stehna, z živých zvířat špičky ocásků. Odstřihnutím části ocasu sice byla narušena vnější morfologie zvířete, ale jelikož ocas chyběl u nadpoloviční většiny fixovaných zvířat použitých k morfometrickým měřením, byla délka ocasu stejně z analýz vyloučena. K odběru byly používány nůžky sterilizované plamenem po každém odběru. Tkáň byla uložena do 96 % lihu a uchovávána v lednici při 8°C.

Před izolací byla tkáň osušena na filtračním papíře a v mikrozkuhavce rozstříhána sterilními nůžkami na drobné kousky. Zkuhavka se nechala otevřená, dokud se neodpařil veškerý etanol zbývající v tkáni. Další postup sledoval protokol komerční izolační sady Qiagen DNAeasy® Tissue Kit. Vzhledem k pomalému lyzování tvrdších částí těla (špičky ocasů) byly tyto ponechány v topném bloku při 55°C přes noc. Po izolaci byly vzorky DNA nanášeny na 1% agarózový gel a elektroforeticky byla ověřena úspěšnost izolace. Gel byl připraven z 50ml TBE, 0,5 mg agarózy (Agarose Serva) a 1 µl ethidiumbromidu (EtBr, 10 mg/ml) a v elektroforéze ponechán 30 minut při 95 V. Přítomnost nebo absence izolátu byla zkontrolována prosvícením gelu ultrafialovým světlem. Úspěšně vyizolované vzorky byly označeny nezaměnitelnou kombinací znaků a následně uloženy v mrazáku do -20°C.

3.1.3 PCR a sekvenace DNA

Požadované úseky DNA byly amplifikovány pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR, Sambrook et al. 1989) v termocycleru Techne TC-312. Byly použity následující primery amplifikující část genu pro cytochrom *b* mitochondriální DNA, převzaté z publikací Kocher et al. (1989) a Palumbi (1996):

L14841 5' - AAA AAG CTT CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA - 3'

CB3H 5' - GGC AAA TAG GAA RTA TCA TTC - 3'

Reakční směs je uvedena v Tab. 2. Směs byla vždy připravena pro větší množství vzorků do 2 ml mikrozkušavky a následně rozpipetována do ekvivalentního množství 200 μ l mikrozkušavek. K detekci případné kontaminace byla prováděná negativní kontrola (tzn. směs bez přidání DNA). Termocyclerový PCR program, který se ukázal pro daný úsek a primery optimální, je uveden v Tab. 3.

Tab. 2: Složení směsi na PCR

Chemikálie	Množství (μ l)
dd H ₂ O	10
10x PCR buffer (Fermentas)	3
dNTP (10mM)	1,8
MgCl ₂ (25mM)	4
forward primer 10pmol/ μ l	1,8
reverse primer 10pmol/ μ l	1,8
Taq DNA Polymerase 5u/ μ l	0,3
DNA	10
celkem	32,7

Tab. 3: Program pro PCR.

Krok	Teplota	Čas
1. Počáteční denaturace	93°C	2'
2. Denaturace	93°C	1'
3. Nasedání primerů	46°C	1'
4. Polymerace	72°C	1'
5. Závěrečná polymerace	72°C	10'
6. Zpět na krok 2		41 x
7. Chlazení	10°C	

Po reakci byly 2 μ l PCR produktu nanášeny na kontrolní 1 % agarózový gel (stejně složení jako po izolaci) společně s délkovým standardem označujícím délku získaného

fragmentu (GeneRuler™ 100bp DNA Ladder, Fermentas). Vzorky, u kterých došlo u úspěšné amplifikaci cyt *b* byly následně přečištěny pomocí kitu Qiaquick® PCR Purification Kit (Qiagen) pomocí návodu uvnitř sady. Množství a kvalitu PCR produktu byla ověřena na přístroji Nanodrop® ND-1000 Spectrophotometr. Dle zjištěné koncentrace byla připravena sekvenační směs, přidané primery byly totožné s primery použitými k PCR. Produkt byl následně osekvenován v laboratoři sekvenace DNA na PřF UK.

3.1.4 Alignment

Obdržené chromatogramy byly prohlíženy v programu Chromas Lite 2.01 (Technelysium Pty Ltd) a v programu Sequence Scanner 1.0 (Applied Biosystems), který umožňuje odhad pravděpodobnosti správného přečtení jednotlivých bazí sekvenátorem. Jelikož byl amplifikovaný úsek mtDNA sekvenován pomocí obou primerů (tzn. z obou stran), bylo nutné sekvenci s jedním primerem spojit s reverzní komplementární sekvencí téhož zvířete, ale získané sekvenaci s primerem druhým. To bylo prováděno v softwaru BioEdit 7.0.9.0. (Hall 1999). V témže programu byly všechny sekvence manuálně seřazeny pod sebe a proveden alignment. Jelikož použitelná délka jednotlivých sekvencí se mírně lišila byly všechny sekvence zarovnány na stejnou, tedy nejkratší získanou, délku. Odstraněním prvního nukleotidu došlo k homologizaci nynější první pozice s první pozicí čtecího rámce. Translací srovnaných nukleotidových sekvencí do sekvence aminokyselin v programu Mega 2.1 (Kumar et al. 2001) byla ověřena nepřítomnost stop kodonu. To naznačuje, že se jedná o protein kódující sekvenci.

3.1.5 Tvorba datasetů

První alignment tvořily všechny získané sekvence *Mesalina watsonana* z Íránu. Jako outgroup byla osekvenována *M. guttulata* z Jemenu od Dr. Lukáše Kratochvíla a z GenBank stažená sekvence *Acanthodactylus erythrurus* (Lacertidae), Acc. No. AF 206536 (Fu 2000). Délka tohoto alignmentu byla 714 bp.

Druhý byl vytvořen z iránských a dvou tureckých vzorků *Ophisops elegans*. I zde byla jako outgroup použita sekvence *A. erythrurus* (Fu 2000), navíc ještě *Eremias montanus*, Acc. No. FJ 416298 (Rastegar-Pouyani et al. 2009). Tento dataset měl délku sekvencí 694 bp.

Vzhledem k nedávnému publikování prací o fylogenetických vztazích v rámci rodu *Mesalina* (Kapli et al. 2008) a fylogeografii západopalearktických zástupců rodu *Ophisops* (Kyriazi et al. 2008), kde autoři použili části stejného genu, jaký jsem sekvenoval já, bylo nasnadě použít sekvence řeckých autorů k porovnání s mým materiálem. Další soubor jedinců proto tvoří mnou získané vzorky *M. watsonana* a *M. guttulata* společně s vybranými jedinci z práce Kapli et al. 2008. Jeden vzorek *M. guttulata* z Egypta pochází z práce Whiting et al. 2003. V případě shody haplotypů u více jedinců ať už mých zvířat nebo publikovaných dat byl vždy vybrán jen jeden jedinec s tímto haplotypem. Jelikož sekvenovaný úsek cyt *b* v publikovaném zdroji dosahoval délky 416 bp a zcela se nepřekrýval s mým fragmentem měl výsledný alignment délku 305 bp. Pokud se opakoval tentýž haplotyp v tomto souboru a nejednalo se o zvířata z totožné lokality, byla jejich sekvence v analýze ponechána. Stejně lokality byly v případě shody haplotypů zastoupeny pouze jednou. I zde byl jako outgroup použit výše zmiňovaný *Acanthodactylus erythrurus* (Fu 2000). Přehled sekvencí získaných z GenBank viz Tab. 4.

Poslední alignment tvořily mnou sekvenovaní jedinci *O. elegans*, ke kterým byla doplněna vybraná zvířata z práce Kyriazi et al. (2008). I zde bylo v případě shody haplotypů použito vždy jen jedno zvíře (pokud se jednalo o totožné lokality). Z publikované práce byly vybrány pouze geograficky blízké lokality, tj. autorskému kolektivu nejnáchodněji dostupné. Stejně jako v předchozím případě nebyl překryv nukleotidových sekvencí mezi mými a publikovanými daty úplný, výsledná délka alignmentu je 287 bp. Jako ve všech předchozích případech byl i nyní jako outgroup zvolen *Acanthodactylus erythrurus* (Fu 2000) společně s *Eremias montanus* (Rastegar-Pouyani et al. 2009) použité již v datasetu *O. elegans*. Mapa znázorňující lokality *Ophisops elegans* je na Obr. 20. Přehled sekvencí získaných z GenBank viz Tab. 5. Souřadnice GPS v publikaci Kyriazi et al. (2008) uvedené nebyly, ale byly zjištěny dle názvů lokalit a v práci použité mapky.

Alignment všech datasetů je ve formátu FASTA uložen na přiloženém CD.

Tab. 4: Seznam vzorků rodu *Mesalina* a outgroup získaných z GenBank.

GenBank Acc. No.	Taxon	Země původu	GPS souřadnice	Zdroj
EF555243	<i>M. bahaeldini</i>	Egypt	28°32'26.88"N, 33°58'51.6"E	Kapli et al. 2008
EF555247	<i>M. olivieri</i>			Kapli et al. 2008
EF555249	<i>M. olivieri</i>			Kapli et al. 2008
EF555250	<i>M. guttulata</i>	Jordánsko	31°15'11.16"N, 35°36'48.6"E	Kapli et al. 2008
EF555254	<i>M. guttulata</i>	Libye	30°27'57.24"N, 24°32'11.76"E	Kapli et al. 2008
EF555255	<i>M. guttulata</i>	Maroko	32°02'49.92"N, 4°24'31.68"W	Kapli et al. 2008
EF555256	<i>M. guttulata</i>	Maroko	31°24'06.48"N, 5°43'39.36"W	Kapli et al. 2008
EF555259	<i>M. simoni</i>	Maroko	31°54'43.2"N, 7°30'18"W	Kapli et al. 2008
EF555264	<i>M. brevisrostris</i>	Sýrie	35°25'02.64"N, 40°19'11.28"E	Kapli et al. 2008
EF555266	<i>M. brevisrostris</i>	Sýrie	35°25'36.48"N, 40°01'40.08"E	Kapli et al. 2008
EF555267	<i>M. brevisrostris</i>	Sýrie	34°17'35.16"N, 36°45'55.8"E	Kapli et al. 2008
EF555268	<i>M. guttulata</i>	Tunisko	33°31'21"N, 9°59'33"E	Kapli et al. 2008
EF555270	<i>M. guttulata</i>	Tunisko	33°09'00.72"N, 10°17'23.64"E	Kapli et al. 2008
EF555272	<i>M. olivieri</i>	Tunisko	32°07'43.32"N, 10°33'49.68"E	Kapli et al. 2008
EF555273	<i>M. olivieri</i>			Kapli et al. 2008
EF555274	<i>M. rubropunctata</i>	Egypt	24°24"N, 33°01'01.2"E	Kapli et al. 2008
EF555279	<i>M. guttulata</i>	Jordánsko	29°34'13.44"N, 35°24'45.68"E	Kapli et al. 2008
AY217815	<i>M. guttulata</i>	Egypt	28°25'58.79"N, 29° 4'58.21"E	Whiting et al. 2003
AF206536	<i>Acanthodactylus</i>	Špaňelsko		Fu 2000
FJ 416298	<i>Eremias montanus</i>			Rastegar-Pouyani et al. 2009

Tab. 5: Seznam sekvencí *Ophisops elegans* získaných z GenBank.

GenBank Acc. No.	Označení vzorku	Lokalita, země	GPS souřadnice	Zdroj
EU081633	Tur27	Goreme, Turecko	38°38'47.97"N, 34°50'12.31"E	Kyriazi et al. 2008
EU081635	Tur29	Karakurt, Turecko	40°09'46.45"N, 42°36'9.16"E	Kyriazi et al. 2008
EU081636	Tur30	Lake Van, Turecko	38°48'44.21"N, 42°54'29.37"E	Kyriazi et al. 2008
EU081637	Tur31	Saz Golu, Turecko	39°40'12.01"N, 44° 3'33.38"E	Kyriazi et al. 2008
EU081638	Tur32	Kuskukiran Gecidi, Turecko	39°32'21.37"N, 43°56'14.57"E	Kyriazi et al. 2008
EU081639	Tur33	Aralik, Turecko	39°52'3.72"N, 44°31'14.81"E	Kyriazi et al. 2008
EU081641	Tur35	Gaziantep, Turecko	37°03'20.96"N, 37°21'58.57"E	Kyriazi et al. 2008
EU081646	Syr45	Sýrie	35°00'57.27"N, 40°25'52.97"E	Kyriazi et al. 2008
EU081664	Ir73	Sarvabad, Iran	35°19'7.92"N, 46°22'29.97"E	Kyriazi et al. 2008
EU081666	Ir75	Eslamabad-e Gharb, Iran	34°06'34.37"N, 46°31'37.99"E	Kyriazi et al. 2008
EU081667	Ir76	Qasr-e Shirin, Iran	34°30'41.75"N, 45°35'19.19"E	Kyriazi et al. 2008
EU081668	Ir77	Kermanshah, Iran	34°18'14.51"N, 47° 2'55.36"E	Kyriazi et al. 2008
EU081671	Ir80	Kangavar, Iran	34°29'59.19"N, 47°57'58.71"E	Kyriazi et al. 2008
EU081672	Ir81	Harsin, Iran	34°19'17.16"N, 47°34'31.28"E	Kyriazi et al. 2008
AF206532	Ar87	Khosrov, Arménie	40°01'9.83"N, 44°54'42.12"E	Fu 2000

3.1.6 Fylogenetické analýzy

V programu jModelTest 0.1.1 (Posada 2008) byly nejprve vypočítány evoluční modely pro všechny datové soubory. Ve všech případech byl vypočítán model jak pomocí Akaikého informačního kritéria (AIC) tak Bayesovského informačního kritéria (BIC). V případě, že každé kritérium zvolilo jiný model, byl vybrán subjektivně ten, jehož váha byla při výpočtu druhým kritériem vyšší. Přehled získaných evolučních modelů viz Tab. 6. Následně byly pro všechny datové soubory vyhledány fylogenetické stromy následujícími metodami: Neighbor-joining (NJ), Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML) a Bayesovská Analýza (BA). Tam, kde metoda vyžaduje, byl vybrán evoluční model zaimplementován.

K prohlížení získaných stromů byl použit program TreeView 1.6.6 (Page 1996). V tomtéž softwaru a v programu CorelDRAW® 12.0 byly stromy graficky upravovány.

3.1.6.1 Neighbor - joining (NJ)

Tato distanční metoda vyhledává strom pouze na základě podobnosti mezi sekvencemi. Jako substituční model byl nastaven Kimura 2-parametrový, který předpokládá shodné frekvence všech bazí ale rozdílné frekvence tranzicí a transverzí (Kimura 1980). K počítání byl použit software PaupUp 1.0 (Calendini & Martin 2005), který je grafickou nástavbou na program PAUP* 4.0b10 (Swofford 2002). Pro odhad věrohodnosti výsledné topologie získaného stromu byl proveden bootstrap s 10 000 pseudoreplikacemi (Felsenstein 1985).

3.1.6.2 Maximum Parsimony (MP)

Metoda maximální parsimonie neboli úspornosti vybírá ze všech možných stromů ty s celkově nejkratší délkou, tzn. stromy s nejmenším počtem evolučních kroků. K počítání byl použit program PAUP* 4.0b10 (Swofford 2002). Nejparsimoniálnější stromy byly hledány pomocí heuristického vyhledávání s počtem 1000 opakování náhodného přidání sekvencí a prohledáváním okolních stromů pomocí náhodného přehazování větví (Tree bisection-reconnection - TBR). Celý příkaz: hsearch addseq=random nrep=1000 swap=TBR. Při nalezení více možných nejkratších stromů byl z těchto vytvořen striktně konsenzuální dendrogram. Podpora jednotlivých větví byla opět ověřena bootstrapem s 10 000 opakování.

3.1.6.3 Maximum likelihood (ML)

Výpočet fylogenetického stromu metodou maximální pravděpodobnosti je založen na posouzení, jak jednotlivé hypotézy vyhovují vstupním datům. Jak bylo zmíněno výše, byl model vybrán programem jModelTest využit pro nastavení programu. Vzhledem k velké výpočetní a časové náročnosti metody byla jako nejvhodnější k výpočtu zvolena online verze programu PhyML 3.0 (Guindon & Gascuel 2003, www.atgc-montpellier.fr/phyml/). Jako vstupní byl zvolen strom nalezený metodou NJ. Správnost topologie získaných stromů byla ověřena bootstrapem s 1000 pseudoreplikacemi.

3.1.6.4 Bayesovská analýza (BA)

Tato metoda je založena na výpočtu posteriorních pravděpodobností různých hypotéz vzhledem k existujícím datům a navrženému modelu. Jako software k výpočtu byl použit MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001), který pracuje metodou Markov Chain Monte Carlo (MCMC, Larget & Simon 1999). Stejně jako v metodě ML byl model zvolený programem jModelTest, případně nejbližší adekvátní, zadán do nastavení programu (příkaz `nst`). Byl také zohledněn fakt, že některé pozice v alignmentech byly konstantní (příkaz `rates=invgamma`) a že ne všechny nukleotidy mutují stejnou rychlostí (příkaz `ratepr=variable`). Počet generací byl nastaven na 5000000, přičemž z každé sté generace byl ukládán strom (příkaz: `mcmc ngen=5000000 nchains=4 printfreq=100 savebrlens=yes`). Odstranění části uložených stromů bylo možné po posouzení, kdy bylo dosaženo ustálení frekvence výskytu určitých topologií. Zpravidla bylo odstraněno 10000 stromů (z 50000 uložených). Příkaz: `sumt burnin=10000`. Konsenzuální strom obsahuje u jednotlivých větví hodnoty posteriorních pravděpodobností, které značí frekvenci výskytu jednotlivých nodů u ukládaných stromů.

3.2 Analýza morfologických dat

3.2.1 Materiál

Materiál k morfologické analýze pochází převážně ze sběrů Dr. D. Frynty a kolektivu z let 1996, 1997, 1998, 2000 a 2002. Několik zvířat bylo nasbíráno při následujících cestách v letech 2007 a 2008. K rozšíření geografického pokrytí areálu *M. watsonana* byl materiál doplněn o exempláře pocházející ze sbírek California Academy of Sciences (v přehledu značené CAS). Většina jedinců *M. guttulata* analyzována pro morfologické srovnání s *M. watsonana* pocházela ze sbírek Národního muzea v Praze, dva z materiálu Dr. L. Kratochvíla z Jemenu z roku 2005. Úplný přehled lokalit původu všech je uveden v Příloze 3.

Celkem bylo zpracováno 102 jedinců *M. watsonana*, 30 *M. guttulata* a 74 *O. elegans*. Materiál byl dokumentován pomocí fotoaparátu Panasonic DMC-FZ5 pro případné pozdější hodnocení studovaných znaků. Důraz byl kladen na snímání z následujících pohledů: celkový dorzální, celkový ventrální, detail femorálních pórů, hlava dorzálně, hlava ventrálně, hlava z obou bočních pohledů. Fotografie jsou v Příloze 4 uloženy na přiloženém CD.

3.2.2 Studované znaky

Dohromady bylo měřeno 13 morfometrických znaků a 16 znaků meristických (s drobnou změnou u obou rodů dle charakteru jejich folidózy). Měření probíhalo pomocí digitálního posuvného měřítka Powerfix® s přesností na 0,01 mm. Hodnoty znaků vyskytujících se symetricky po obou stranách těla byly počítány jako průměry měření obou stran. Kompletní tabulky měření jsou rovněž uloženy na přiloženém CD.

Morfometrické rozměry:

SVL	-	délka těla (od špičky čenichu po kloaku)
TL	-	délka ocasu (pokud původní)
HL	-	délka hlavy (od špičky čenichu po zadní okraj lebky)
HW	-	šířka hlavy v nejširším místě
AG	-	axilla-groin; délka trupu (od podpaží po tříslu)

HU	-	délka humeru
RA	-	délka radia
FE	-	délka femuru
TI	-	délka tibie
F4	-	délka 4. předního prstu
H4	-	délka 4. zadního prstu
Ear	-	maximální průměr ucha
EaEy	-	vzdálenost posteriorního okraje oka od anteriorního okraje ucha

Meristické znaky:

Aear	-	počet zvětšených šupin (tympanicum) nad uchem
Eye	-	přítomnost dvou zvětšených průhledných šupin na očním víčku; pouze u <i>Mesalina</i>
Occ	-	přítomnost occipitálního štítku (0 – ne, 1 - ano)
OccInt	-	počet šupin mezi occipitale a interparietale
OI	-	kontakt occipitale s interparietale; pouze u <i>Ophisops</i>
SupT	-	počet supratemporálií; pouze u <i>Ophisops</i>
Sup	-	počet supralabiálií před suboculare
Inf	-	počet infralabiálií
Nas	-	počet nasálií
PostMen	-	počet párů postmentálií
Gul	-	počet gulárií (v mediální linii od mentale po límec)
Col	-	počet zvětšených šupin v límci
VenPr	-	počet podéných řad ventrálií
VenPo	-	počet příčných řad ventrálií
DorPr	-	počet dorzálií příčně kolem těla (měřeno uprostřed těla)
DorPo	-	počet dorzálií podélně (v mediální linii od occipitale po úroveň kloaky)
Fem	-	počet femorálních pórů
Subdig	-	počet subdigitálních lamel na 4. prstu zadní nohy

Jelikož je v čeledi Lacertidae fenomén pohlavního dimorfismu dobře znám (Kratochvíl et al. 2003, Hong et al. 2006; Seifan et al. 2009), bylo nutné jednotlivé tělesné rozměry na jeho přítomnost otestovat. Metrické znaky vyjádřené jako relativní tělesné rozměry vzhledem k délce těla (SVL) a původní naměřené hodnoty meristických znaků byly testovány t-testem. Všechny metrické znaky a z meristických znaky vyhodnocené jako dimorfní byly v následných analýzách testovány zvlášť pro každé pohlaví.

Za účelem studia vzájemné morfologické podobnosti mezi geograficky odlišnými populacemi byla zvířata rozdělena do skupin (OTU) tak, aby co nejlépe vystihovaly přirozené fyzicko – geografické, ekologické a klimatické podmínky. Lokální klimatické podmínky publikovali Walter & Lieth (1960), podobné rozdělení aplikoval např. Rastegar – Pouyani (1999, 2005). Navržené přirozené skupiny pro jednotlivé druhy jsou uvedeny na Obr.25 a 28. Mapy byly zhotoveny online aplikací Online Map Creation a upraveny v programu CorelDRAW® 12.0.

K odfiltrování velikosti těla v morfometrických znacích byly tyto vyjádřeny jako reziduály odpovídajících hodnot konkrétní proměnné vztahované k celkové velikosti těla (SVL). Chybějící údaje (pokud množství nepřesáhlo 5 % všech dat) byly doplněny průměrem z reziduálů dle pohlaví a OTU. V případě meristických znaků byla chybějící hodnota nahrazena průměrem či mediánem dané OTU. Pomocí diskriminační analýzy (DFA) byla zjišťována případná přítomnost rozdílů mezi OTU v morfometrických a meristických znacích. Znaky nevykazující sexuální dimorfismus byly analyzovány pro obě pohlaví dohromady.

Na závěr byly morfologicky porovnány druhy *M. watsonana* a *M. guttulata*. Morfometrické znaky vyjádřené v poměru k SVL a meristické znaky vyhodnocené jako pohlavně dimorfní byly rozděleny podle pohlaví. Ostatní meristické znaky byly hodnoceny pro obě pohlaví dohromady. K analýze byl použit nepárový t-test. Veškeré statistické testy byly provedeny v programu Statistica 8.0.

4. VÝSLEDKY

4.1 Sekvenční data

Sekvence obdržené ze sekvenační laboratoře PřF UK dosahovaly délky 749 - 763 bp. Po odstranění okrajů obsahujících sekvence primerů bylo dosaženo délky 715 bp. První pozice byla umazána, aby došlo k homologizaci prvního místa s první pozicí čtecího rámce. Kvůli znečištění některých sekvencí na 3' konci (vyhodnoceno v programu Sequence Scanner) u vzorků *Ophisops*, způsobené pravděpodobně prošlou záruční dobou používaného přečišťovacího kitu, bylo nutné tyto konce umazat a do analýz nezahrnovat. Proto výsledná délka alignmentu rodu *Ophisops* dosáhla pouze 694 bp. I zde bylo dbáno na dodržení zachování správného čtecího rámce.

Evoluční modely vyhodnocené programem jModelTest 0.1.1 (Posada 2008) jsou uvedené v Tab. 6 - 9. Zajímavé je, že každé kritérium (AIC nebo BIC) navrhovalo ve všech případech různý model. Některé byly rozšířeny o parametry „I“ (invariantní, určující proporci neměnných pozic v datasetu) a „G“ (gamma, jehož parametr α charakterizuje tvar gama rozložení, tzn. rozdílnost frekvencí nukleotidových substitucí na různých pozicích). Hodnoty těchto parametrů jsou také uvedené v Tab. 6 - 9. Tamtéž jsou také frekvence bází v jednotlivých datasetech a substituční rychlosti mezi nukleotidy. Navrhované evoluční modely byly zadávány jako jeden z parametrů do vstupních analýz.

Kritérium	Navržený evoluční model	Váha modelu	-lnL	Ti/Tv	Frekvence bazí				Substituční rychlost						I	G
					A	C	G	T	A↔C	A↔G	A↔T	C↔G	C↔T	G↔T		
AIC	TIM3+G	0.3043	3005.0261	5,9854	0.2815	0.3083	0.1111	0.2990	4.3532	41.6743	1.00	4.3532	28.7716	1.00	-	0.179
BIC	TPM3uf+G	0.7211	3006.4435	5,9571	0.2872	0.3031	0.1167	0.2930	4.7652	34.629	1.00	4.7652	34.629	1.00	-	0.185

Tab. 6: Evoluční modely navržené programem jModeltest pro vzorky *M.watsonana*.

Kritérium	Navržený evoluční model	Váha modelu	-lnL	Ti/Tv	Frekvence bazí				Substituční rychlost						I	G
					A	C	G	T	A↔C	A↔G	A↔T	C↔G	C↔T	G↔T		
AIC	TPM1uf+I+G	0.3033	2366.6931	7,1107	0.3064	0.3215	0.0961	0.2761	1.0000	10.2626	0.4227	0.4227	10.2626	1.00	0.546	1.189
BIC	HKY+I+G	0.3444	2369.4815	7,1101	0.3093	0.3257	0.0947	0.2704							0.548	1.210

Tab. 7: Evoluční modely navržené programem jModeltest pro dataset obsahující *M.watsonana* a sekvence ostatních zástupců rodu *Mesalina* získaných z GenBank.

Kritérium	Navržený evoluční model	Váha modelu	-lnL	Ti/Tv	Frekvence bazí				Substituční rychlost						I	G
					A	C	G	T	A↔C	A↔G	A↔T	C↔G	C↔T	G↔T		
AIC	GTR+I+G	0.4362	2797.4133	6,6651	0.2768	0.2970	0.1281	0.2982	3.1283	6.2656	1.534	0.0584	26.794	1.00	0.476	1.310
BIC	TIM2+G	0.6984	2801.8624	6,8253	0.2785	0.2979	0.1269	0.2967	4.6357	12.8958	4.6357	1.00	51.7647	1.00	-	0.244

Tab. 8: Evoluční modely navržené programem jModeltest pro íránské *O. elegans*.

Kritérium	Navržený evoluční model	Váha modelu	-lnL	Ti/Tv	Frekvence bazí				Substituční rychlost						I	G
					A	C	G	T	A↔C	A↔G	A↔T	C↔G	C↔T	G↔T		
AIC	TIM2+I+G	0.4614	1408.2218	5,7903	0.259	0.2874	0.1515	0.3021	10.7053	19.0021	10.7053	1.00	98.6841	1.00	0.481	1.972
BIC	TIM2+G	0.5977	1409.2470	5,7453	0.2592	0.2832	0.1504	0.3072	10.3482	19.0850	10.3482	1.00	91.9209	1.00	-	0.2750

Tab. 9: Evoluční modely navržené programem jModeltest pro íránské *O. elegans* společně se sekvencemi získanými z GenBank.

4.1.1 Analýza *Mesalina watsonana*

Jedinců tohoto druhu bylo osekvenováno celkem 16, pouze jedno zvíře pocházelo ze sběrů Dr. D. Frynty (konkrétně REPT/IRA/162 z roku 1997, ve fylogramech označeno jako Anj dle lokality Anjireh). Ostatní vzorky byly z let 2007 a 2008, s jejich amplifikací většinou nebyly problémy. Jako outgroup byla osekvenována *M. guttulata* z Jemenu a z GenBank získaná sekvence *Acanthodactylus erythrurus* (Acc. No. AF206536, Fu 2000). Jak bylo zmíněno výše, měl alignment druhu *M. watsonana* délku 714 bp. Z toho 447 pozic bylo konstantních, 267 variabilních (37,3 %). Z variabilních míst bylo 175 parsimonně informativních. Tato relativně vysoká variabilita se však neodráží ve variabilitě aminokyselin získané přeložením nukleotidové sekvence do sekvence AMK podle obratlovčího mtDNA kódu. Stejně jako u jiných protein-kódujících genů byla nejvíce variabilní třetí kodonová pozice (Naylor et al. 1995). Rozložení mutací v sekvencích cyt *b* bylo vesměs pravidelné, nevyskytla se místa s výrazně větší frekvencí změn. Celkem bylo nalezeno 12 haplotypů. Mapa na Obr. 7 znázorňuje lokality osekvenovaných zvířat. Barvy bodů na mapě korespondují s barvami vzorků na fylogenetických stromech.

Topologie stromů zkonstruovaných pomocí různých metod (NJ, MP, ML, BA) byly velmi podobné. Ve všech analýzách vyšla jako monofyletická západní skupina (zobrazena fialově, lokality Ardestan, Izadkhast, Kushk-e-Nosrat a Salafchegan) s vysokou podporou bootstrapových hodnot (99, 99, 92, 0.93 – pořadí odpovídá pořadí metod na začátku tohoto odstavce). Nekorigované genetické vzdálenosti (*p* distance) se uvnitř tohoto kladu pohybují v rozmezí 0,002 – 0,085. V rámci této skupiny byly rozpoznány dvě linie, jedna tvořena jedinci z Izadkhastu (podpory 100, 100, 99, 1.00), která byla sesterskou k ostatním (99, 99, 94, 0.98). Uvnitř tohoto kladu jsou vztahy zpravidla nevyjasněné (kromě metody ML), jasně vyhraněnou skupinou jsou pouze zvířata z lokality Kushk-e-Nosrat, která nesou všechna identický haplotyp.

Druhý zřetelně vymezený klad je tvořen vzorky ze severovýchodního Íránu (oranžová, lokality Tabas, Bardeskan, Mayamey). *P* distance mezi těmito vzorky leží mezi 0,016 – 0,023. Všechny výpočetní metody udávají pro tuto skupinu velmi vysokou podporu (100, 99, 94, 1.00). Vztahy mezi těmito třemi lokalitami jsou zřetelné: Tabas a Bardeskan tvoří skupinu (95, 96, 98, 1.00) sesterskou ke vzorku z Mayamey.

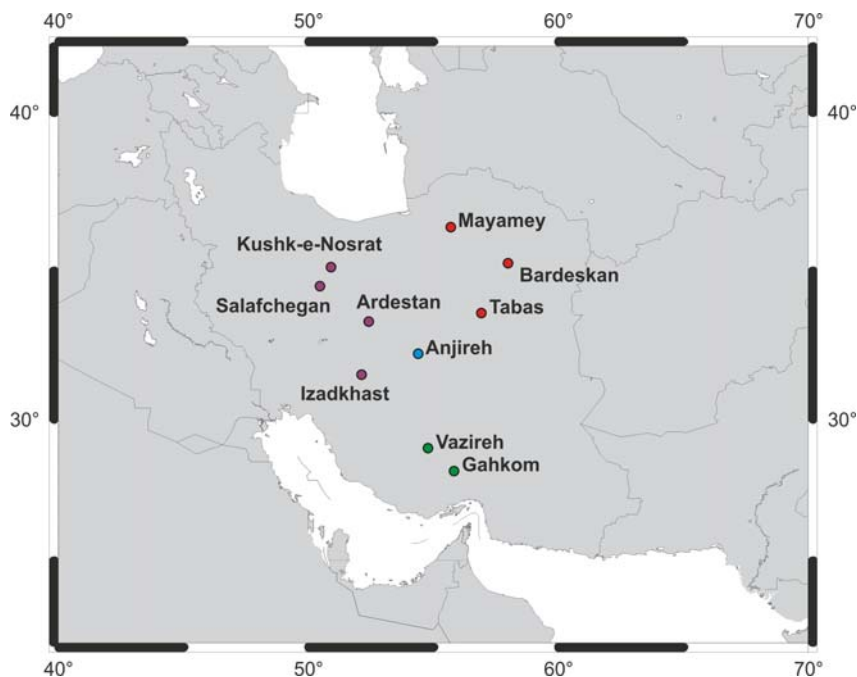
Další linie leží na jihu (zelená, lokality Gahkom a Vazireh). I tato skupina je podpořena velmi vysokými bootstrapovými hodnotami (100, 99, 91, 0.93). Přestože dva

vzorky pochází z jedné lokality (chyceny cca 100 m od sebe) nenesou stejný haplotyp, i když se vzájemně liší pouze dvěma nukleotidovými záměnami. *P* distance uvnitř jižního kladu jsou v rozmezí 0,003 – 0,012.

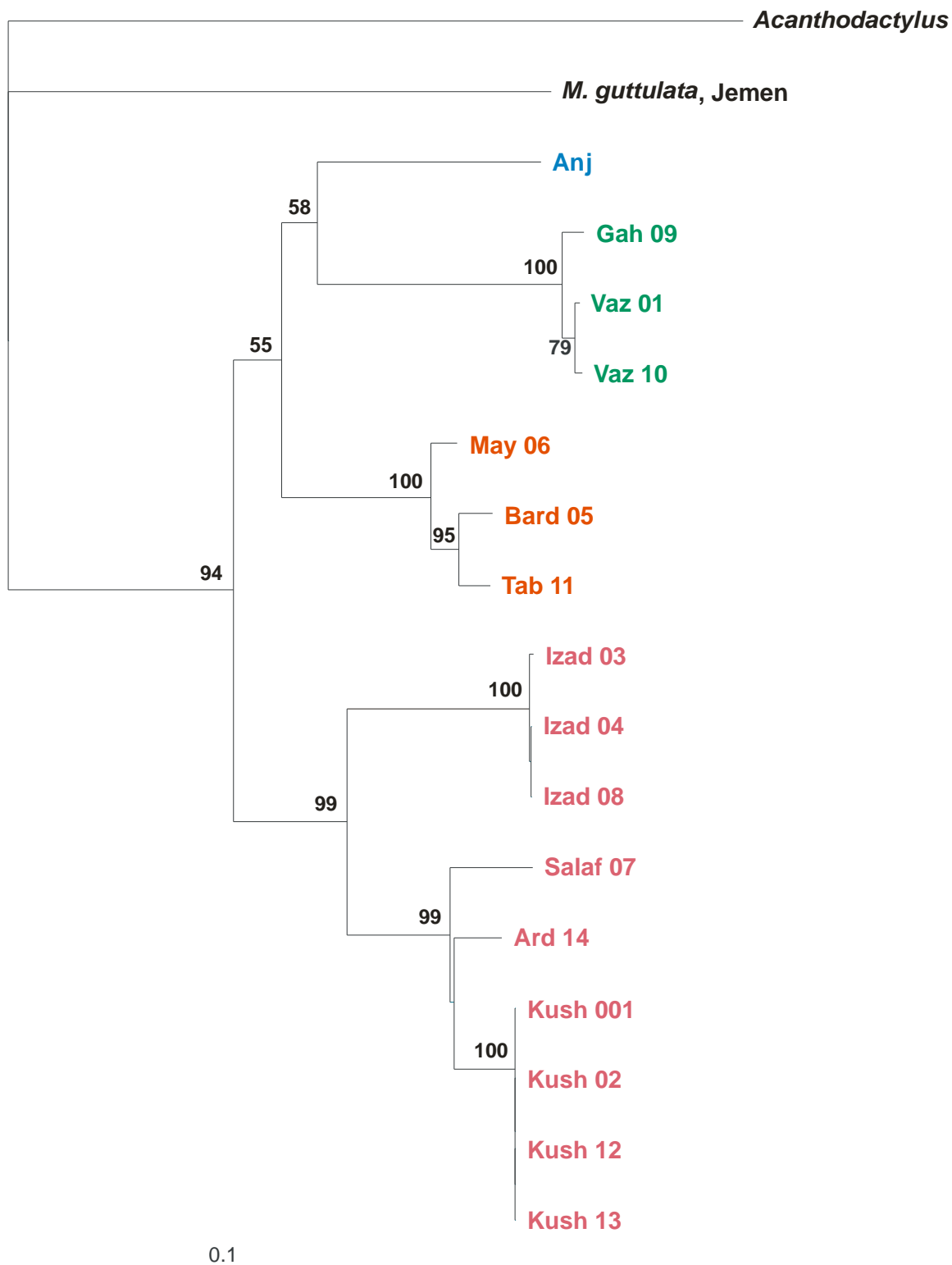
Poslední samostatná skupina je tvořena jedním vzorkem z centrálního Íránu (modrá, lokalita Anjireh). Jeho vztahy k ostatním monofyletickým liniím zůstávají neodhalené, různé metody přinesly různé topologie stromů. Metodou NJ bylo zvíře posouzeno jako sesterské k jižní linii, podpora této skupiny však není nijak vysoká (58). Stejně postavení navrhuje metoda MP, ale bootstrapová hodnota není zobrazena, protože nedosahuje ani 50. Naopak ML a BA staví vzorek jako sesterský ke kladu tvořenému západní a severovýchodní skupinou, ale ani zde není podpora vysoká (-, 0.64).

Vzájemné postavení všech výše zmiňovaných linií není jasné, NJ a MP stromy zobrazují západní větev jako sesterskou všem ostatním, podpora skupiny tvořené jižní, severovýchodní a centrální linií je ale slabá (55, 60). Naopak ML a BA určily jako nejbližší příbuzné skupiny západní, severovýchodní a centrální, podpora tohoto monofyla je ale taktéž nevalná (<50, 0.64)

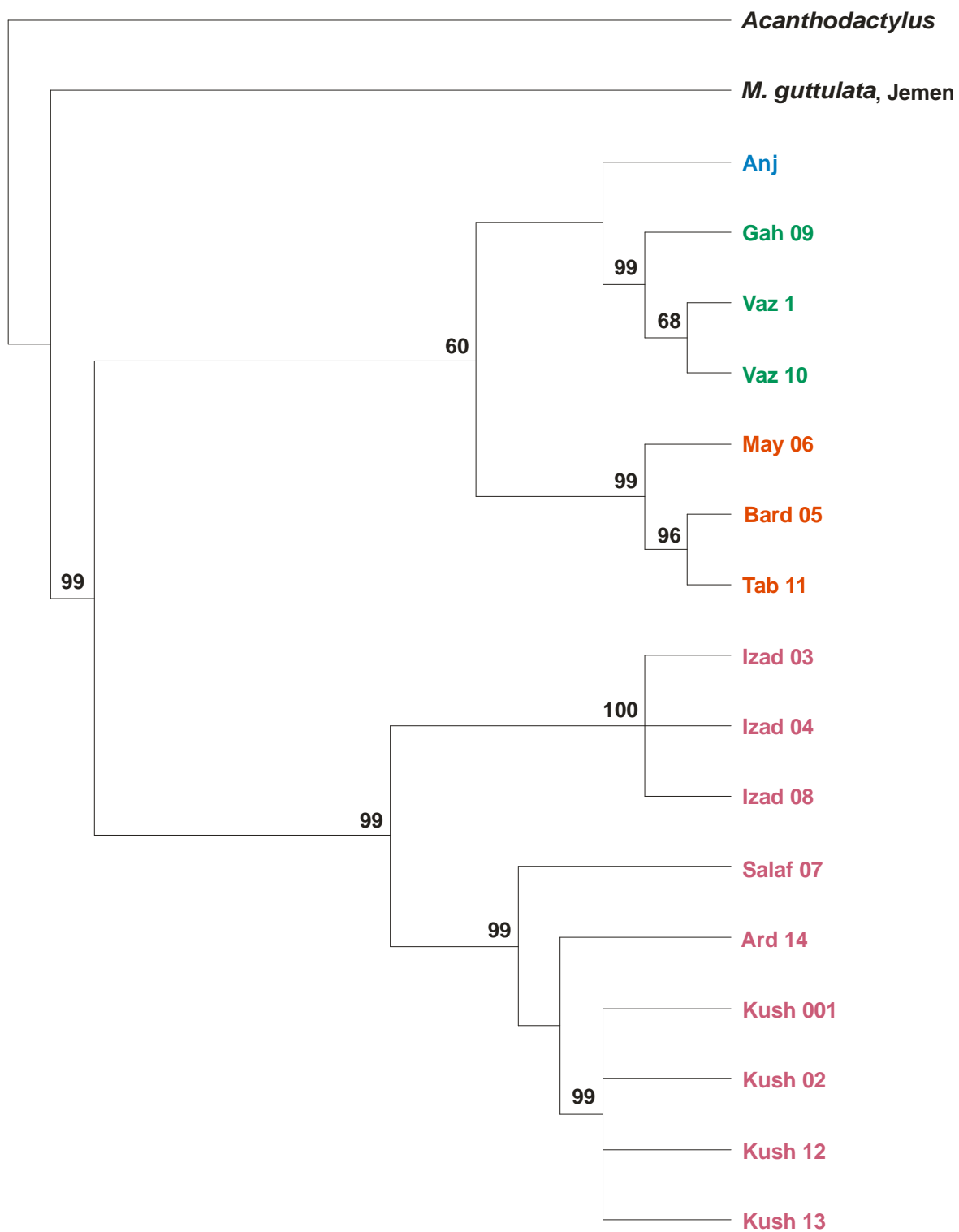
Fylogenetické stromy počítané metodami NJ, MP, ML a BA jsou uvedeny na Obr. 8 - 11. V Příloze 1 je uvedena tabulka nekorigovaných *p* distancí pro tento dataset.



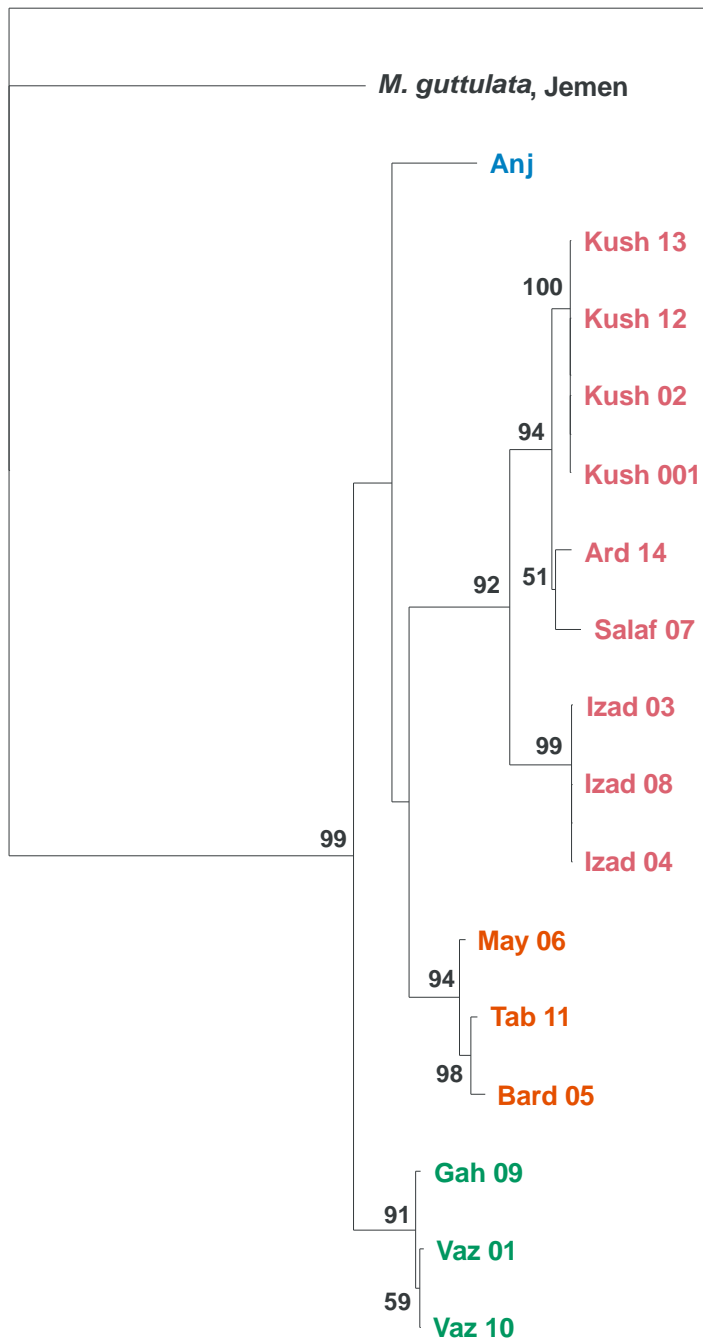
Obr. 7: Mapa vzorků *Mesalina watsonana* z Íránu. Barvy značí nalezené monofyletické linie.



Obr. 8: Fylogenetický strom druhu *Mesalina watsonana* získaný metodou NJ, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (10 000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.

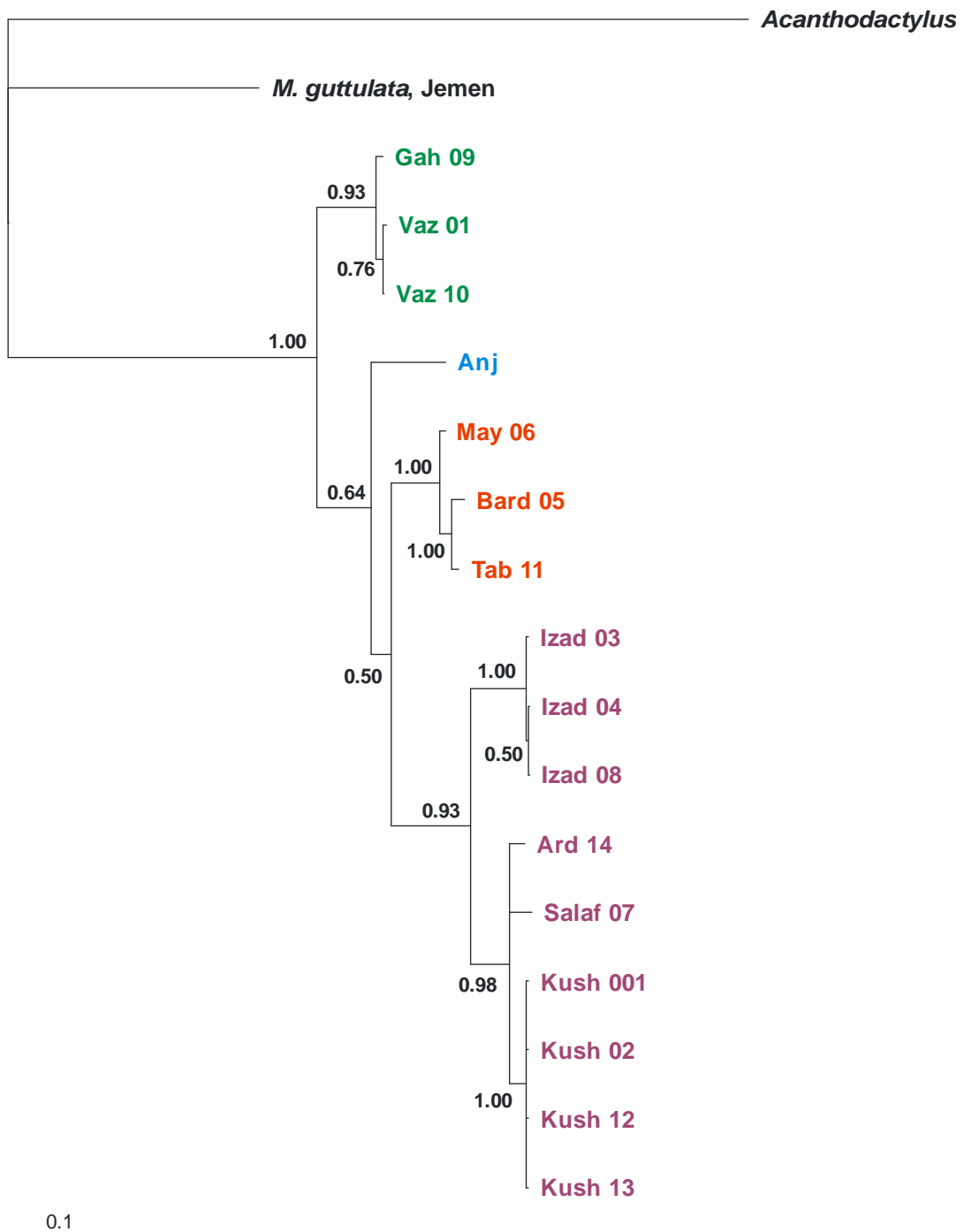


Obr. 9: Striktně konsenzuální fylogenetický strom druhu *M. watsonana* ze 2 nejparsimonnějších stromů získaných metodou MP, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (10 000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.



0.1

Obr. 10: Fylogenetický strom druhu *M. watsonana* zhotovený metodou ML, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (1000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.



Obr. 11: Fylogenetický strom druhu *M. watsonana* zhotovený metodou BA, čísla u nodů udávají hodnotu posteriorních pravděpodobností.

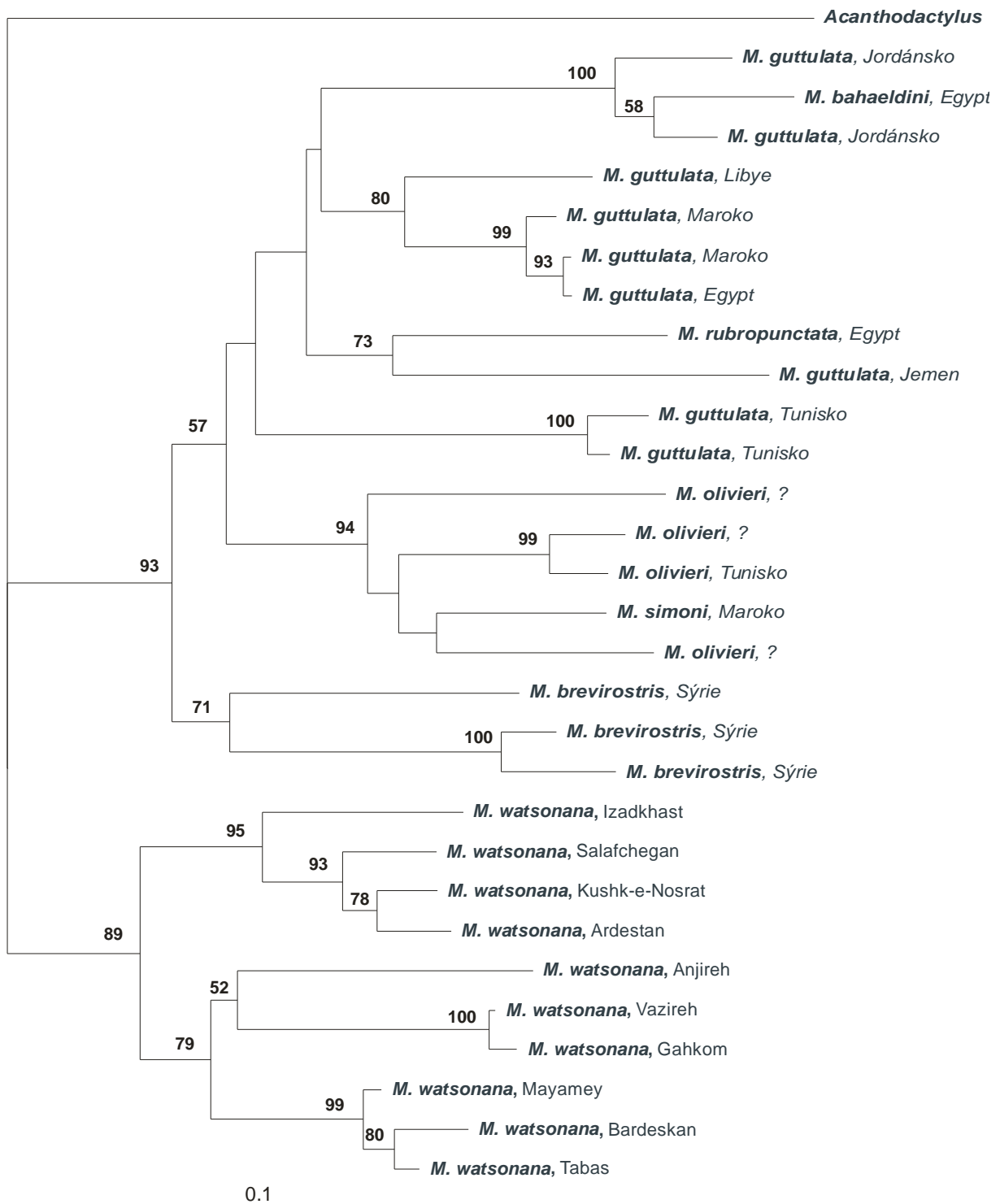
4.1.2 Analýza *M. watsonana* a sekvencí z GenBank

K získaným sekvencím byla přidána data z GenBank zahrnující některé z ostatních druhů rodu *Mesalina*. Jako outgroup byla opět použita již publikovaná sekvence *Acanthodactylus erythrurus* (Fu 2000). Celkem datový soubor obsahoval 30 sekvencí, každá tvořila unikátní haplotyp (výběr jedinců viz. kapitola 3.1.5). Vzhledem ke krátké délce úseku cyt *b* v publikované práci dosahoval alignment délky 305 bp. Z tohoto počtu bylo 127 znaků variabilních (41,6%) a 104 parsimonně informativních.

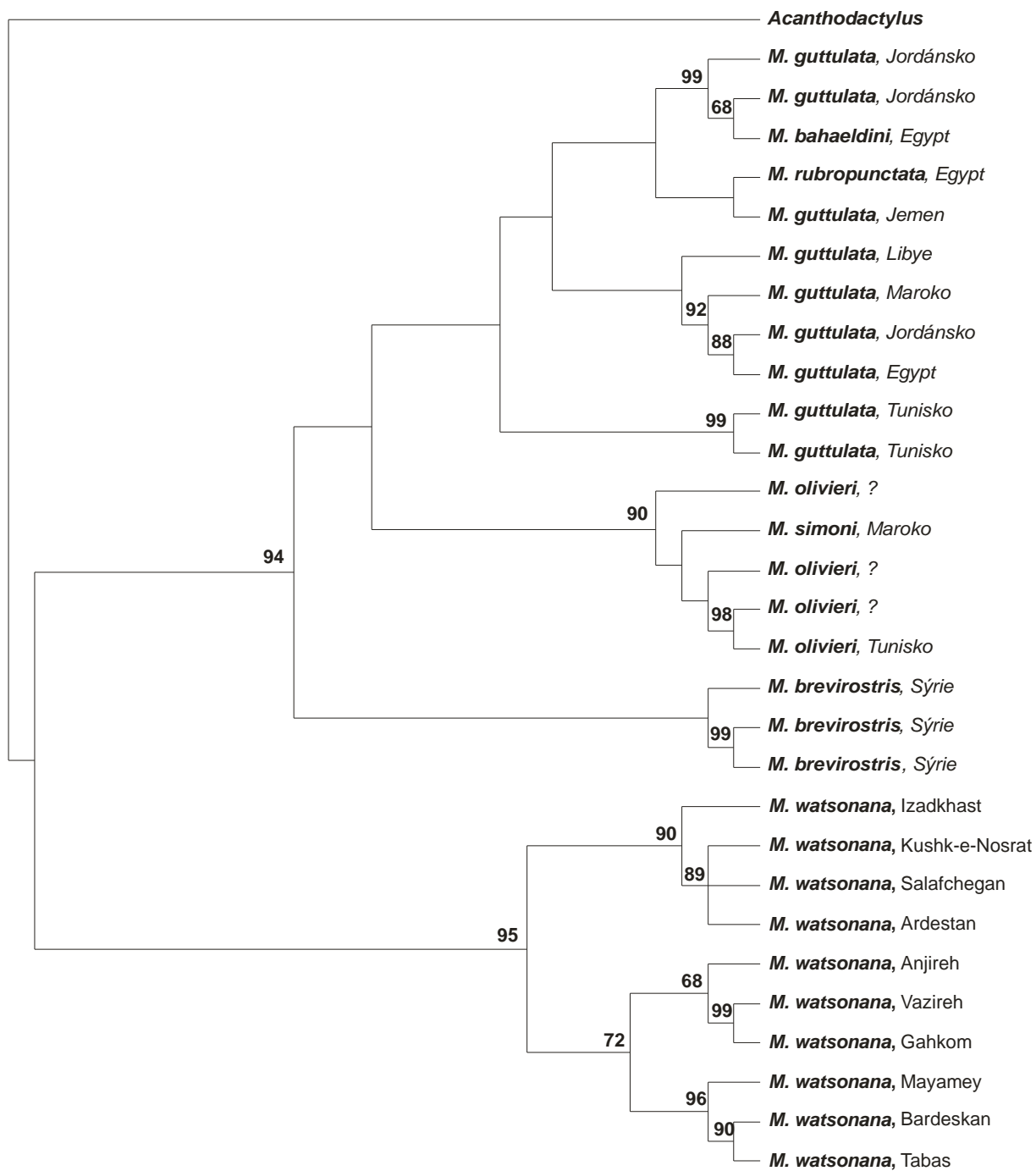
Všechny použité fylogenetické metody (NJ, MP, ML a BA) hodnotí v získaných stromech druh *M. watsonana* jako monofyletický (89, 95, 72, 0.90). Vnitřní vztahy v rámci tohoto druhu zůstávají identické se situací popsanou v kapitole 4.1.1. Vzájemná pozice jednotlivých linií popsaných v předchozí kapitole zůstává opět nevyřešena.

Všichni ostatní zástupci rodu *Mesalina* použiti v analýze tvoří monofylum (93, 94, 72, 0.78). Vztahy uvnitř této skupiny mi nepřísluší komentovat, jejich rozbor byl již proveden v práci, odkud byly sekvence převzaty (Kapli et al. 2008). Pouze konstatuji, že získané topologie jsou v souladu s výsledky řeckého kolektivu. *M. guttulata* z Jemenu, která byla osekvenována jako outgroup pro předchozí dataset, byla ve třech analýzách (NJ, MP, ML) sesterská k *M. rubropunctata* z Egypta, ovšem podpora tohoto vztahu nebyla nijak vysoká (73,-,50). Informativnější zde bude spíše strom získaný metodou BA, který vztahy mezi *M. guttulata* a *M. rubropunctata* nechal jako nerozřešený.

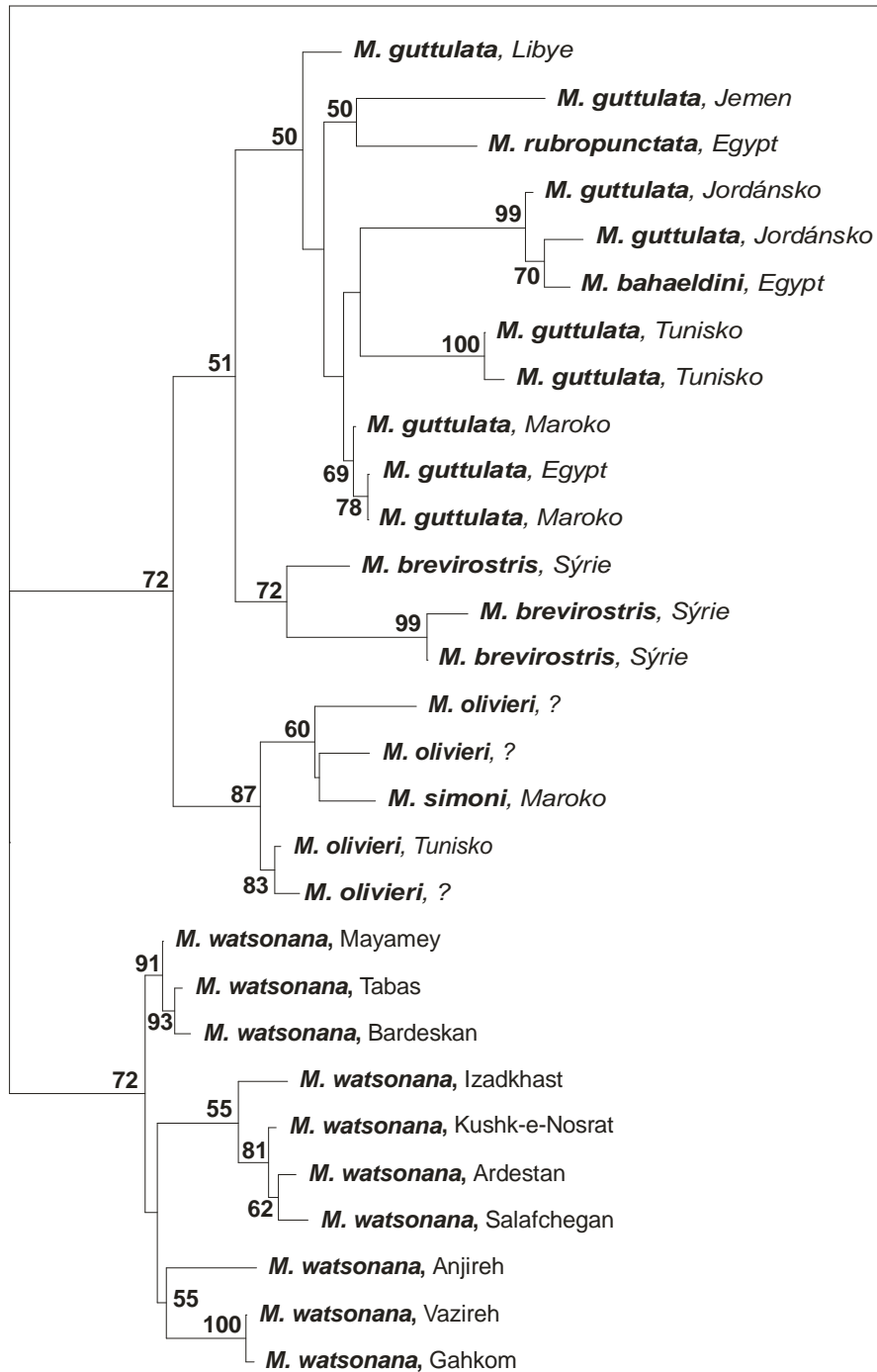
Získané fylogenetické stromy jsou znázorněny na Obr. 12 - 15.



Obr. 12: Fylogenetický strom druhu *M. watsonana* a sekvencí získaných z GenBank zhotovený metodou NJ, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (10 000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.

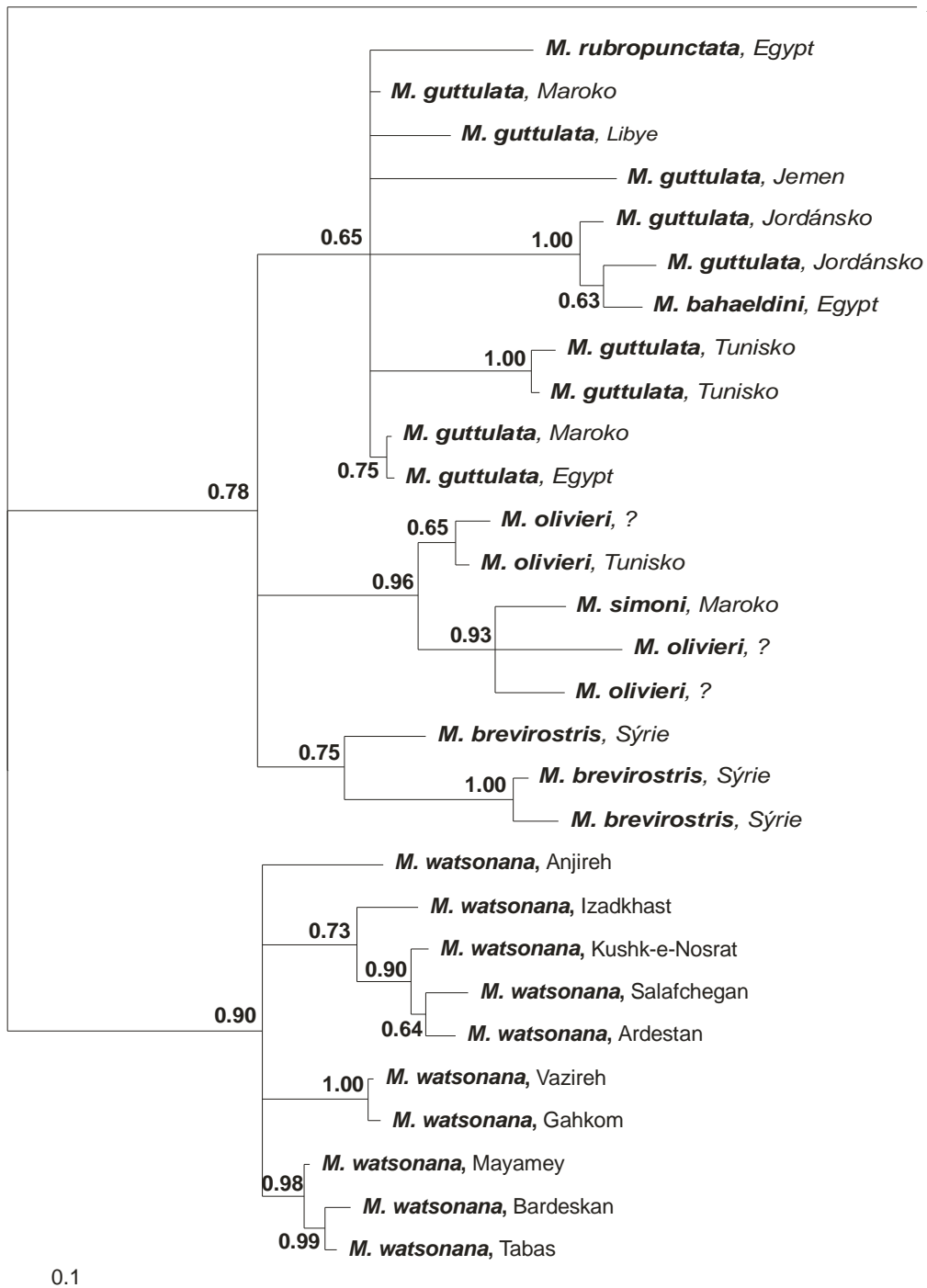


Obr. 13: Striktně konsenzuální fylogenetický strom druhu *M. watsonana* a sekvencí získaných z GenBank ze 2 nejparsimonnějších stromů získaných metodou MP, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (10 000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.



0.1

Obr. 14: Fylogenetický strom druhu *M. watsonana* a sekvencí získaných z GenBank zhotovený metodou ML, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (1000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.



Obr. 15: Fylogenetický strom druhu *M. watsonana* a sekvencí získaných z GenBank zhotovený metodou BA, čísla u nodů udávají hodnotu posteriorních pravděpodobností.

4.1.3 Analýza *Ophisops elegans* z Íránu

Celkem 18 osekvenovaných jedinců *O. elegans* představuje 15 haplotypů. Kromě šestnácti vzorků z Íránu byly použity dvě zvířata z Turecka. Všechna pocházela z let 2007 a 2008. Z 694 nukleotidových pozic bylo 460 konstantních (tj 33,7% variabilních), ze zbylých pak bylo 147 parsimonně informativních. Podobně jako v sekvencích *M. watsonana* ani zde se variabilita nukleotidů nepromítá nijak výrazněji do sekvence AMK, nejvariabilnějšími místy jsou třetí kodonové pozice, jejichž mutace nemusí mít na změnu AMK vliv. Jako outgroup byl použit *A. erythrurus* (Acc. No. AF206536) a *Eremias montanus* (Acc. No. FJ 416298).

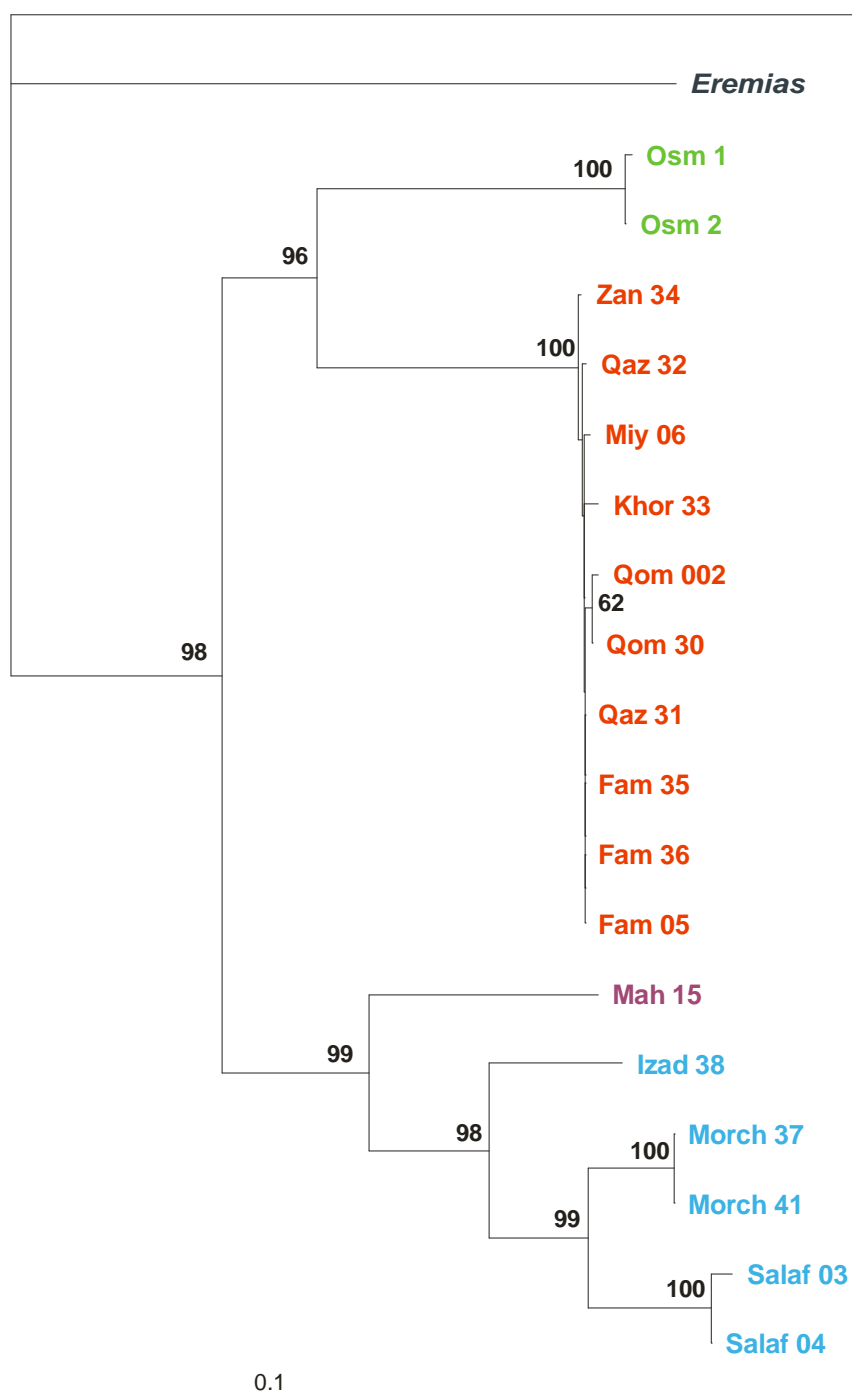
Fylogenetické stromy získané metodami NJ, MP, ML a BA mají téměř totožnou topologii. Ve všech se s vysokými hodnotami bootstrapu (100, 100, 97, 1.00) vyskytuje skupina pocházející ze severozápadního Íránu (oranžová, lokality Famenin, Khorramdarreh, Miyandoab, Qazvin, Qom, Zanjan). Tato skupina je velmi homogenní, haplotypy jsou si vzájemně podobné, nejodlišnější sekvence se liší pouze ve čtyřech nukleotidech, největší hodnota *p* distance v této skupině činí 0,006. Zajímavé je, že jsou zde jedinci z těchto lokalit mající různé haplotypy (Qom, Qazvin) i jedinci z míst vzdálených od sebe vzdušnou čarou přes 170 km (Famenin - Qazvin) a sdílející stejnou nukleotidovou sekvenci.

Tomuto kladu jsou sesterské vzorky z Turecka (světle zelené, lokalita Osmancik). Oba jedinci se vzájemně liší jedním nukleotidem. Jejich vztah k „oranžové“ linii má velmi silnou podporu (96, 91, 84, 0.99). Průměrná genetická vzdálenost mezi těmito dvěma skupinami je 0,1026.

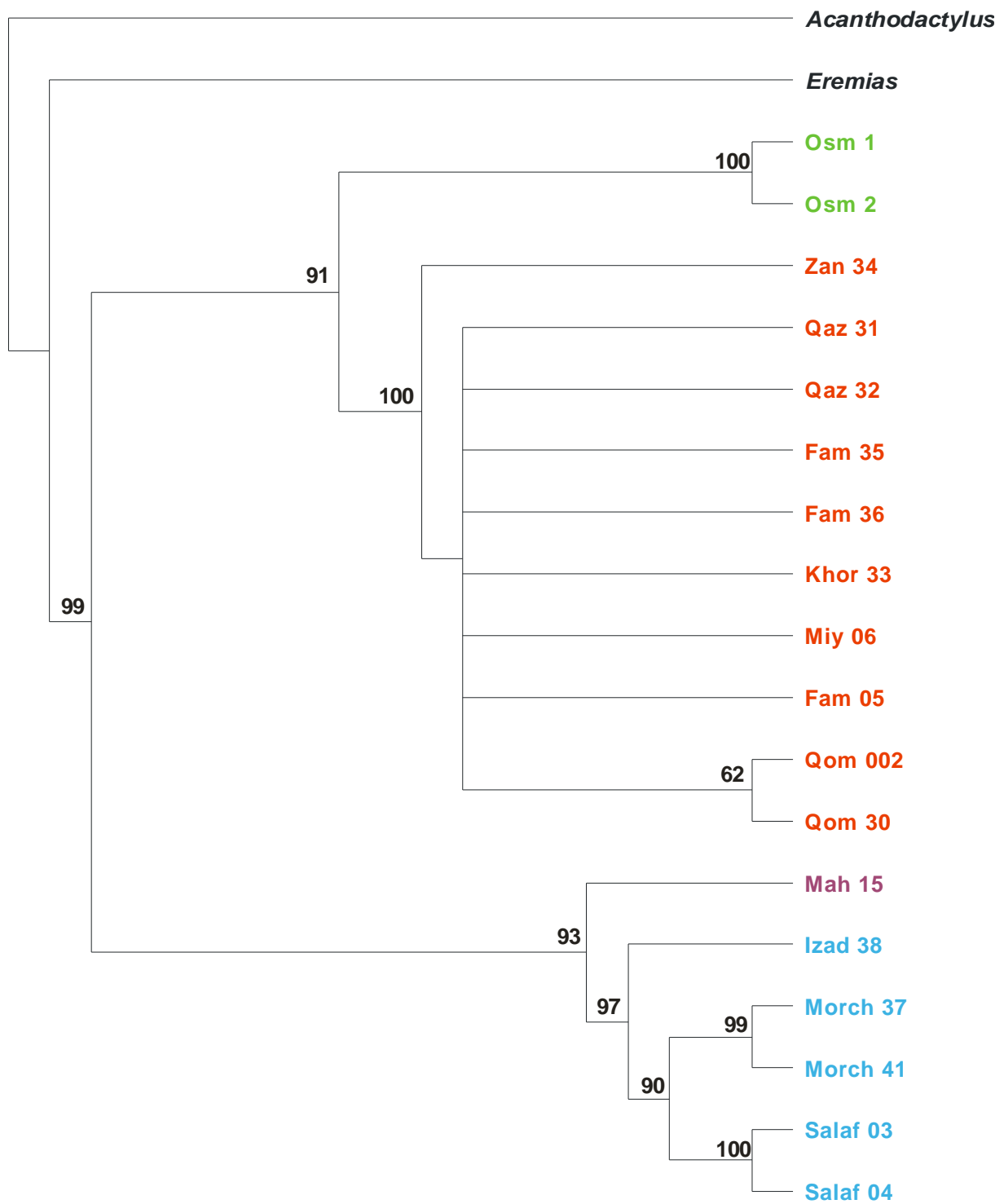
Třetí skupinu tvoří jedinci z centrálního Íránu (světle modré, lokality Salafchegan, Morcheh Khort, Izadkhast). Jejich monofylie ale není podpořena nijak závratnými bootstrapovými hodnotami (98, 97, 54, 0.67). Jsou zde rozeznávány následující linie: Salafchegan a Morcheh Khort tvoří sesterské skupiny (99, 90, 98, 1.00). Lokality nejsou geograficky nijak výrazně vzdálené. Dále na jih ležící Izadkast tvoří sesterskou linii k této skupině (98, 97, 54, 0.64). Nízké hodnoty v ML a BA stromech indikují, že Izadkhast možná tvoří zcela samostatnou linii, jejíž příbuznost na základě našich dat nelze blíže specifikovat. Na rozdíl od skupiny ze SZ Íránu, která je velmi homogenní, dosahují zde *p* distance mezi jedinci o řád vyšších hodnot. Pohybují se v rozmezí 0,005 – 0,068. Mezi zvířaty ze Salafcheganu a Morcheh Khortu dosahuje *p* hodnoty 0,042.

Poslední samostatný klad tvoří jediný vzorek původem z jihovýchodního Íránu (fialový, lokalita Mahan). Tři výpočetní metody (NJ, MP, BA) ho určily jako sesterský k předešlé skupině (99, 93, 0.64), podpora této větve v BA stromě je však příliš nízká. Naopak metoda maximální pravděpodobnosti (ML) postavila Mahan do sesterského vztahu se skupinou Turecko + SZ Írán, bootstrap však není zobrazen, neboť není ani 50. Stejně jako v případě lokality Izadkhast ani zde tedy nelze blíže stanovit vzájemnou příbuznost zvířete z Mahanu a ostatních monofyletických linií.

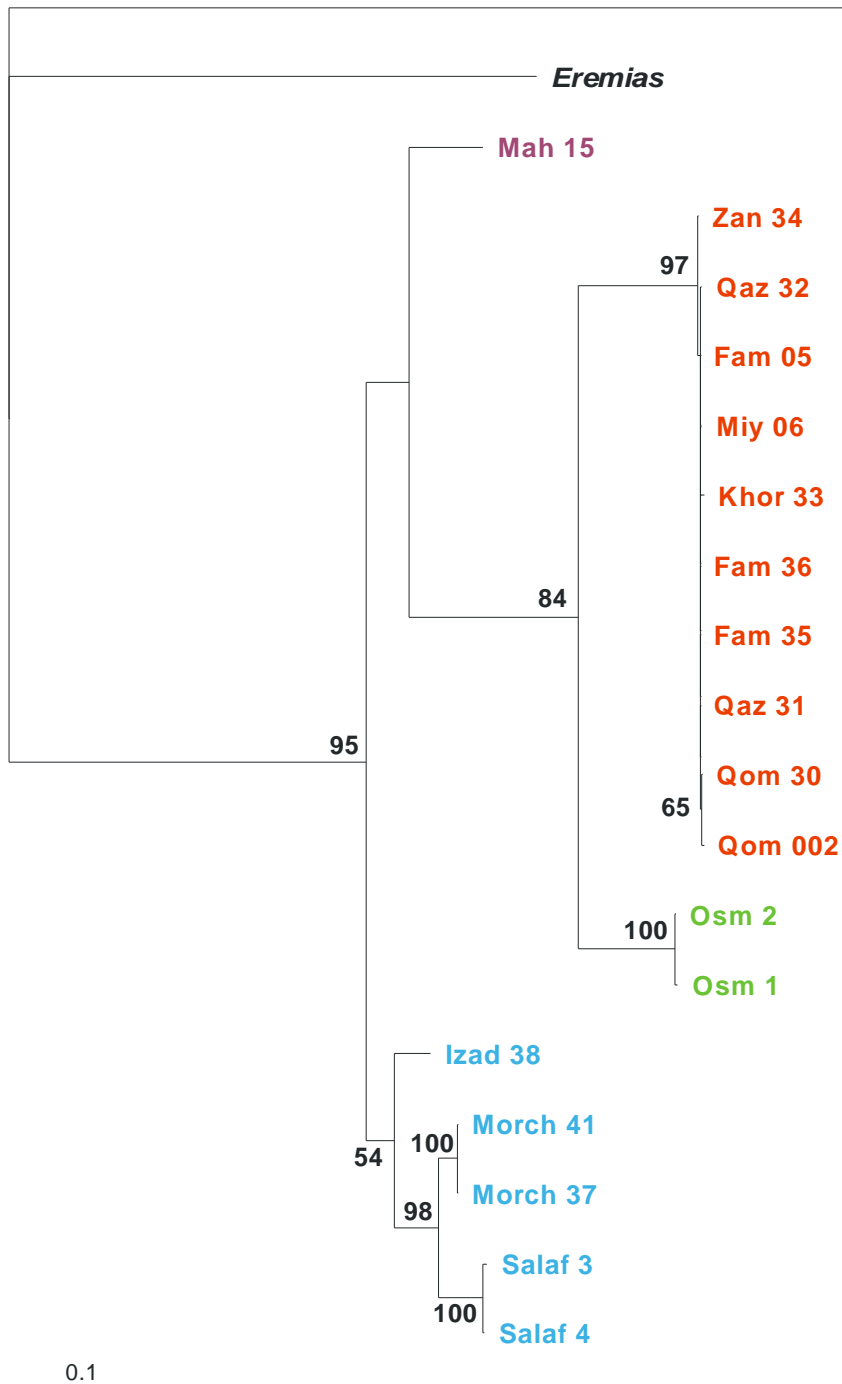
Přehled nekorigovaných p distancí tohoto datového souboru je uveden v Příloze 2. Fylogenetické stromy jsou vyobrazeny na Obr. 16 - 19. Lokality jsou pro názornost zobrazeny na Obr. 20.



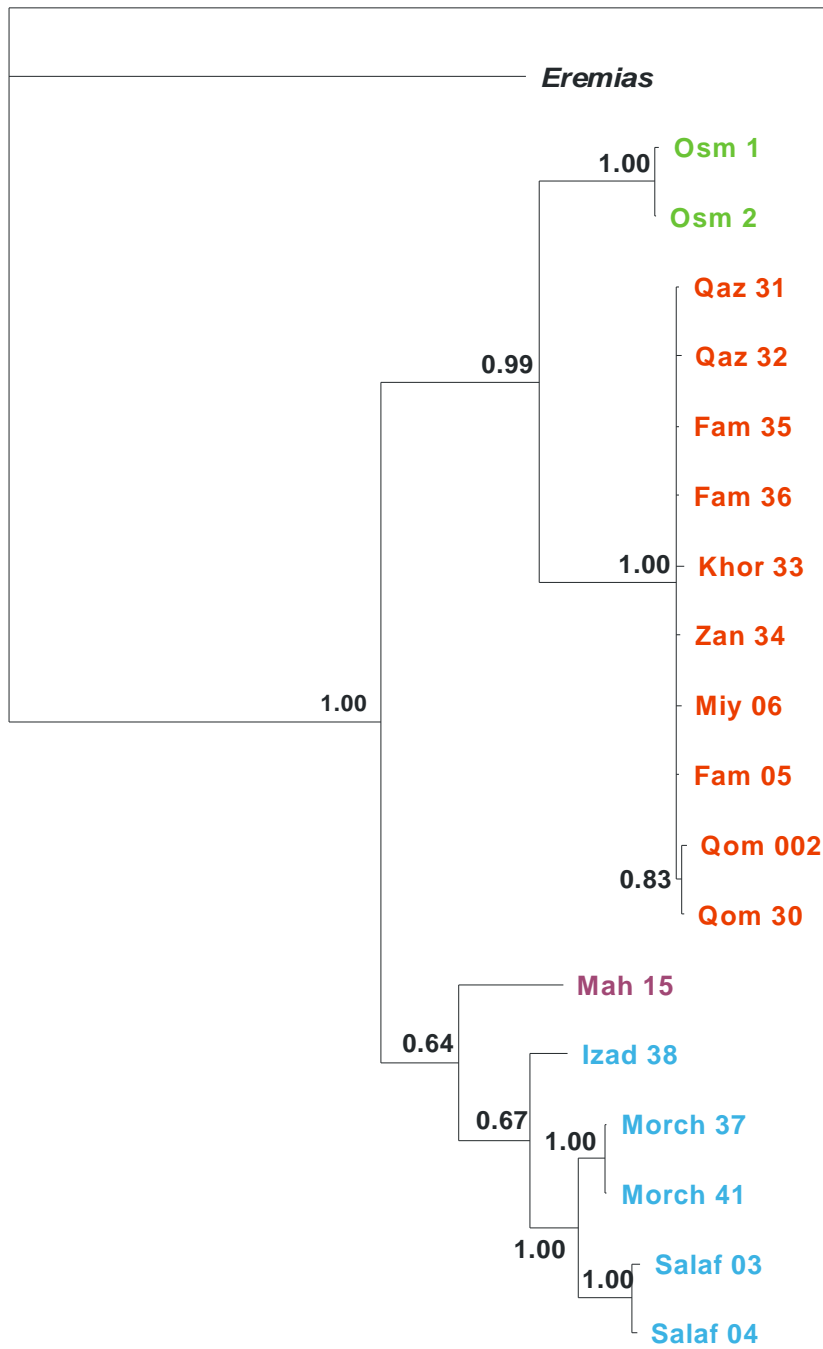
Obr. 16: Fylogenetický strom jedinců *Ophisops elegans* z Íránu a jedné turecké lokality sestrojený metodou NJ, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (10 000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.



Obr. 17: Striktně konsenzuální fylogenetický strom jedinců *O. elegans* z Íránu a jedné turecké lokality ze 4 nejparsimonnějších stromů získaných metodou MP, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (10 000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.



Obr. 18: Fylogenetický strom jedinců *O. elegans* z Íránu a jedné turecké lokality sestrojený metodou ML, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (1000 opakování).



0.1

Obr. 19: Fylogenetický strom strom jedinců *O. elegans* z Íránu a jedné turecké lokality sestrojený metodou BA, čísla u nodů udávají hodnotu posteriorních pravděpodobností.

4.1.4 Analýza íránských *O. elegans* a sekvencí z GenBank

Stejně jako v případě rodu *Mesalina* bylo možné doplnit datový soubor již publikovanými údaji získanými z GenBank. Ani zde nebyl překryv sekvencí úplný, proto měl alignment délku 287 bp. Ze 115 variabilních nukleotidů (40,1%) bylo 83 parsimonně informativních. Z publikovaného zdroje byly vybrány jen vzorky geograficky nejbližší mému souboru. Jelikož je zde situace poněkud odlišná od oné v rodu *Mesalina*, kde bližší komentář na rodové úrovni nebylo potřeba, vyžaduje zdejší situace podrobnější popis, ačkoli některé detaily již poskytli autoři v práci Kyriazi et al. (2008).

K „oranžové“ linii byly jako sesterské přiřazeny s vysokou podporou (99, 95, 94, 0.69) publikované vzorky z íránského Kermanshahu (Ir73, Ir77, Ir80, Ir81). Obě skupiny jsou si geneticky velice podobné, *p* distance mezi nimi se pohybují od 0,007 do 0,014.

Vzorek z Turecka (Osmancik) klastroval s některými dalšími tureckými (světlé zelené, Tur27, Tur29, Tur30, Tur32), se kterými tvořil relativně dobře podpořenou skupinu (99, 93, 85, 0.91).

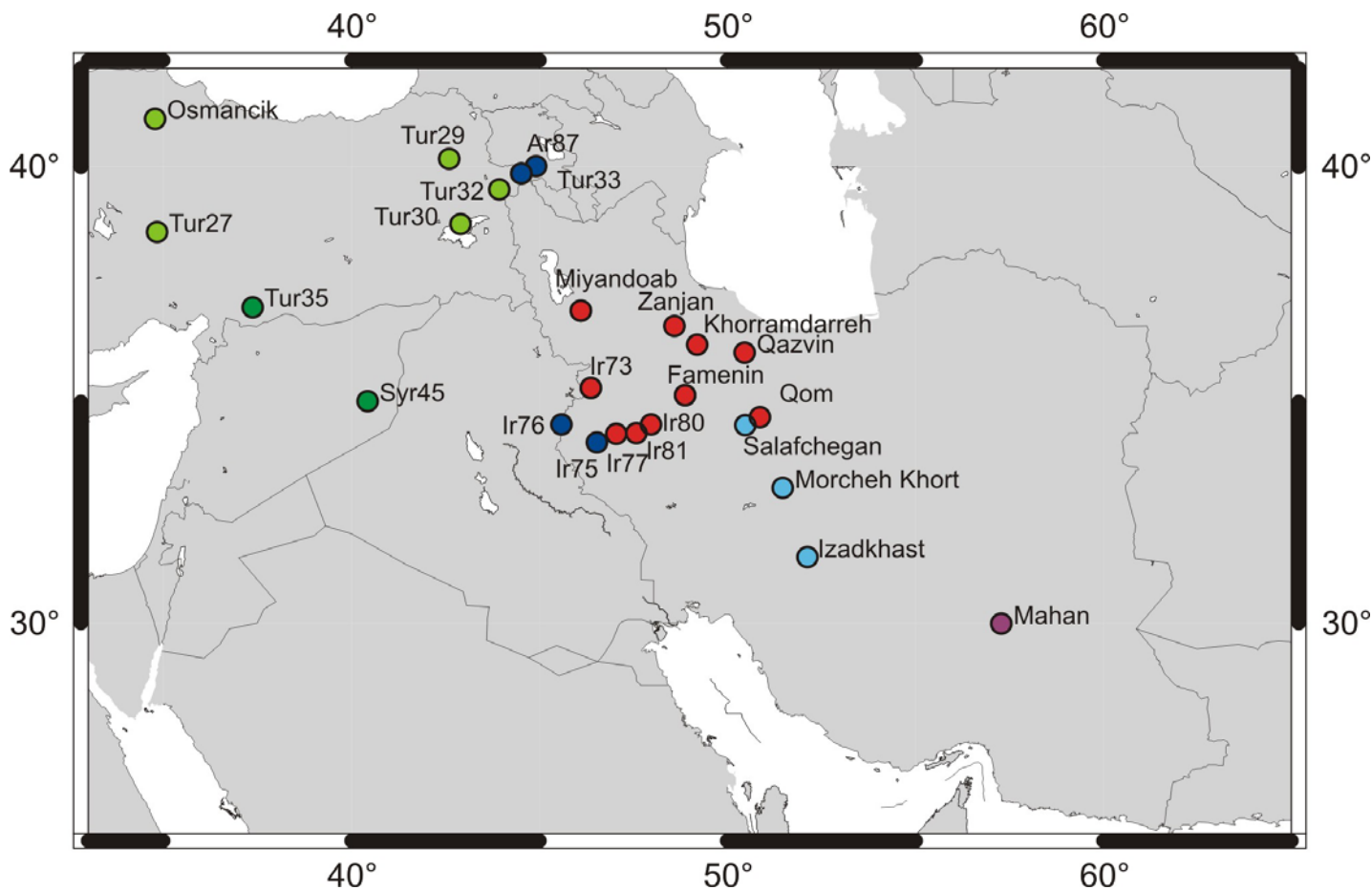
Dvě publikované sekvence z jižního Turecka a Sýrie (tmavě zelené, Tur35, Syr45) byly dle některých analýz (NJ, ML, BA) stavěny do příbuznosti ostatních tureckých vzorků (80, 79, 0.84). Nízké podpory ale nejsou zcela přesvědčivé. Jako informativnější se proto jeví MP strom, který vztah jak mezi těmito dvěma jedinci, tak jejich vztah k turecké a severozápadoíránské větvi nechává nerozřešený. Ve všech provedených analýzách má klad sestávající z linií turecké, turecko-syrské a SZ íránské velmi vysokou podporu (98, 93, 95, 1.00) a tvoří monofylum (ať už jsou vnitřní vztahy jakékoli).

Další monofyletickou skupinu tvoří zvířata z lokalit Tur33, Ar87, Ir75, Ir76 (tmavě modré). Všechna pocházejí z již opublikovaných zdrojů (Fu 2000, Kyriazi et al. 2008). Hodnoty bootstrapu podporující tuto skupinu jsou: 100, 99, 97, 0.93. Kromě MP určily všechny ostatní analýzy jako sesterskou k této skupině linii ze středního Íránu (světle modrá) z minulého datasetu, i když s nízkou podporou (83, 66, 0.57 – v pořadí NJ, ML, BA). Uvnitř posledního zmiňovaného kladu jsou zachovány vztahy popsané v kapitole 4.1.3.

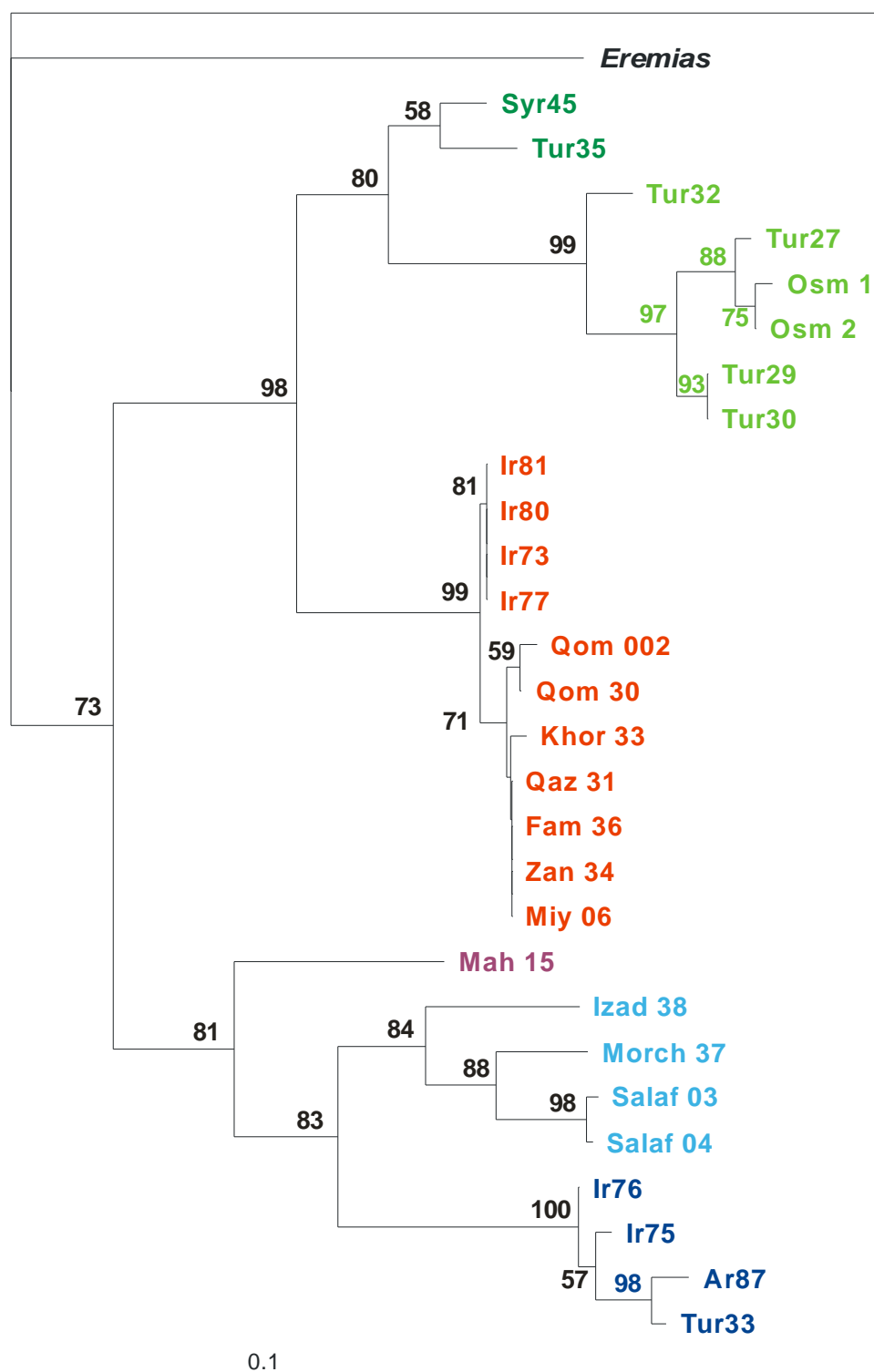
Nejasné postavení vzorku z Mahanu (fialově) se nijak nezměnilo. V NJ a MP analýzách tvoří skupinu (81, 77) spolu s centrálně-íránskými (světle modré) a arménsko/turecko/íránskými (tmavě modré). ML staví haplotyp z Mahanu do pozice sesterské všem ostatním, bootstrap je ale příliš nízký (<50). Metoda BA situaci také neřeší.

Genetická vzdálenost tohoto vzorku od větve ze SZ Íránu se pohybovala mezi 0,119 – 0,126, od větve ze středního Íránu mezi 0,095 – 0,112.

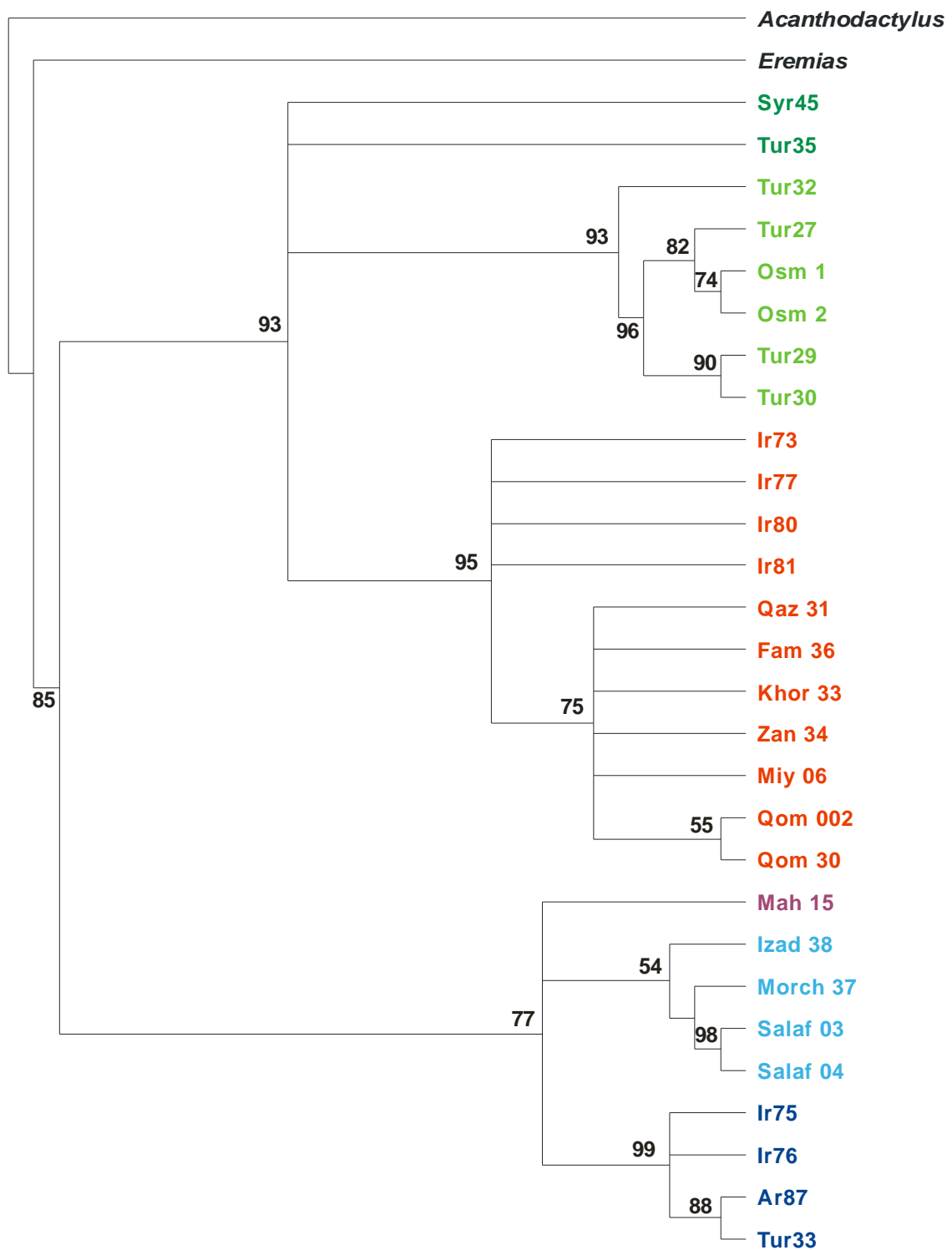
Na Obr. 21 - 24 následují fylogenetické stromy sestavené jednotlivými metodami.



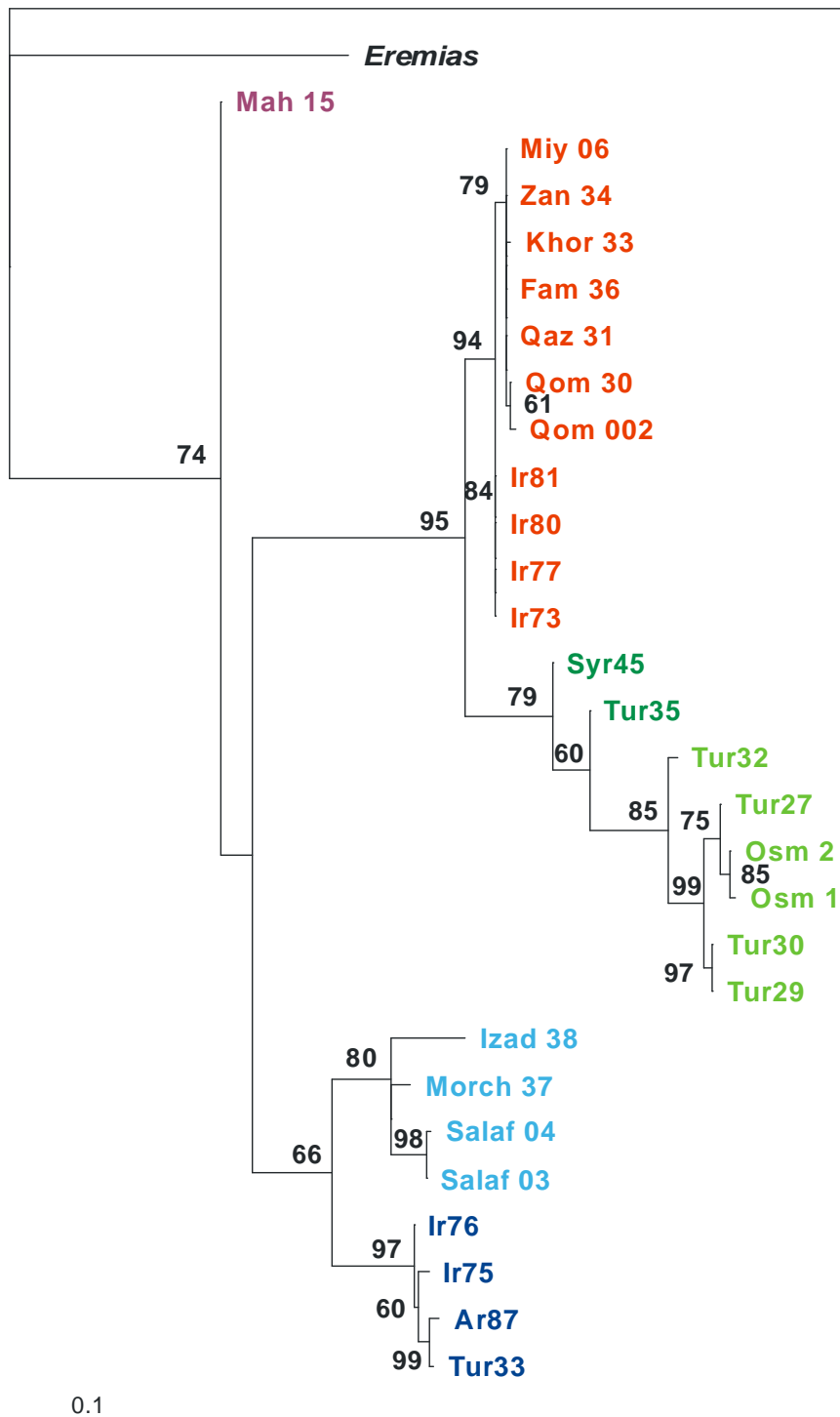
Obr. 20: Mapa Středního východu znázorňující lokality původu vzorků *O. elegans*. Názvy uvedené v plném znění značí vlastní materiál, lokality označené zkratkou a číslem data získaná z GenBank. Barvy odpovídají barvám na fylogenetických stromech.



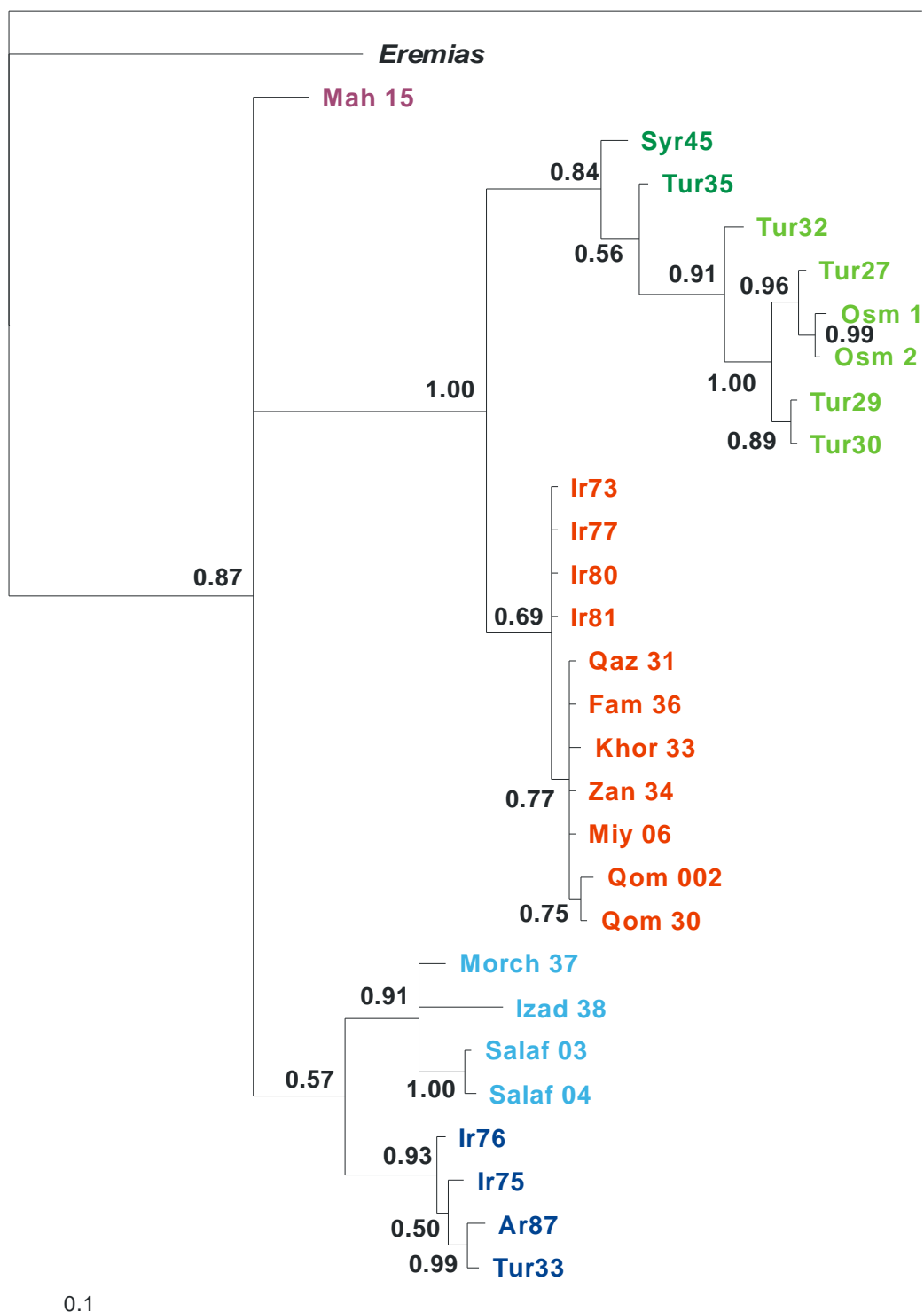
Obr. 21: Fylogenetický strom íránských jedinců *O. elegans* a sekvencí získaných z GenBank zhotovený metodou NJ, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (10 000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.



Obr. 22: Striktně konsenzuální fylogenetický strom iránských jedinců *O. elegans* a sekvencí získaných z GenBank ze 10 nejparsimonnějších stromů získaných metodou MP, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (10 000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.



Obr. 23: Fylogenetický strom íránských jedinců *O. elegans* a sekvencí získaných z GenBank zhotovený metodou NJ, čísla u nodů udávají procentuální hodnotu bootstrapu (1000 opakování). Bootstrap pod 50 % není zobrazen.



Obr. 24: Fylogenetický strom íránských jedinců *O. elegans* a sekvencí získaných z GenBank zhotovený metodou BA, čísla u nodů udávají hodnotu posteriorních pravděpodobností.

4.2 Morfologická variabilita studovaných druhů

4.2.1 Charakter znaků

Ze studovaných rozměrů a foliotických znaků nebyly některé do analýz zahrnuty. TL, jelikož původní ocas mělo méně než 50 % jedinců. Proměnné Ear a EaEy kvůli nepatrným rozměrům, jež způsobovaly příliš velkou chybu v měření. Také znaky nevykazující žídnou variabilitu byly vyloučeny. U rodu *Mesalina* to byly následující: Nas (vždy 3), Eye (1), Occ (1), u *Ophisops*: VenPr (8), Aear (1), Occ (1, kromě jednoho exempláře, který ale měl poněkud deformovanou hlavu a přítomnost štítku nebylo možné určit). Dále byli vyloučeni juvenilní jedinci (u *Mesalina* SVL < 40 mm, u *Ophisops* < 30 mm) a velmi poškozená zvířata, na kterých nebylo většinu znaků možné změřit (CAS 86288).

Nepárový t-test zjistil s vysokou mírou signifikance ($p < 0,01$) pohlavní dimorfismus u *M. watsonana* ve všech morfometrických znacích. Dále byl u tohoto druhu potvrzen dimorfismus v počtu příčných řad ventrálií, podélném počtu dorzálií a femorálních pórů. U druhu *O. elegans* byly jako dimorfní vyhodnoceny překvapivě pouze 2 znaky, relativní délka humeru a relativní délka 4. prstu na přední končetině. Pravděpodobně to bylo způsobeno malým množstvím samců v analyzovaném materiálu. Všechny metrické znaky byly přesto následně analyzovány zvlášť pro každé pohlaví, neboť chyba v případě rozdělení nedimorfního znaku na pohlaví je zanedbatelná v porovnání s chybou nerozdělení dimorfního znaku, které bychom se dopustili, kdybychom dohromady analyzovali samce i samice v dimorfních znacích. V Tab. 10 je uveden přehled proměnných *M. watsonana* vyhodnocených jako signifikantně dimorfní. Tab. 11 shrnuje metrické znaky *O. elegans*, v žádném meristickém znaku nebyl pohlavní dimorfismus nalezen.

<i>M.</i> <i>watsonana</i>	Samice					Samci					t-value	p
	n	Mean	SD	Min	Max	n	Mean	SD	Min	Max		
HL/SVL	41	0,23	0,01	0,20	0,24	46	0,25	0,01	0,23	0,27	-9,987	0,000
HW/SVL	40	0,15	0,01	0,13	0,17	46	0,16	0,01	0,15	0,18	-8,774	0,000
AG/SVL	39	0,50	0,02	0,46	0,56	43	0,45	0,02	0,40	0,49	11,003	0,000
HU/SVL	38	0,11	0,01	0,09	0,12	42	0,12	0,01	0,11	0,15	-8,231	0,000
RA/SVL	39	0,11	0,01	0,10	0,12	42	0,12	0,01	0,11	0,14	-10,223	0,000
FE/SVL	41	0,17	0,01	0,13	0,19	43	0,19	0,01	0,17	0,21	-9,396	0,000
TI/SVL	40	0,18	0,01	0,14	0,20	46	0,20	0,01	0,18	0,23	-8,597	0,000
F4/SVL	41	0,09	0,01	0,06	0,11	46	0,09	0,01	0,07	0,11	-2,826	0,006
H4/SVL	40	0,17	0,01	0,15	0,19	45	0,19	0,01	0,16	0,23	-6,104	0,000
VenPo	41	29,76	1,07	28	32	46	28,11	1,49	25	31	5,852	0,000
DorPo	41	142,07	9,11	126	163	46	137,11	7,93	120	154	2,717	0,03
Fem	41	11,45	0,97	9	14	46	12,10	1,21	9	15	-2,726	0,008

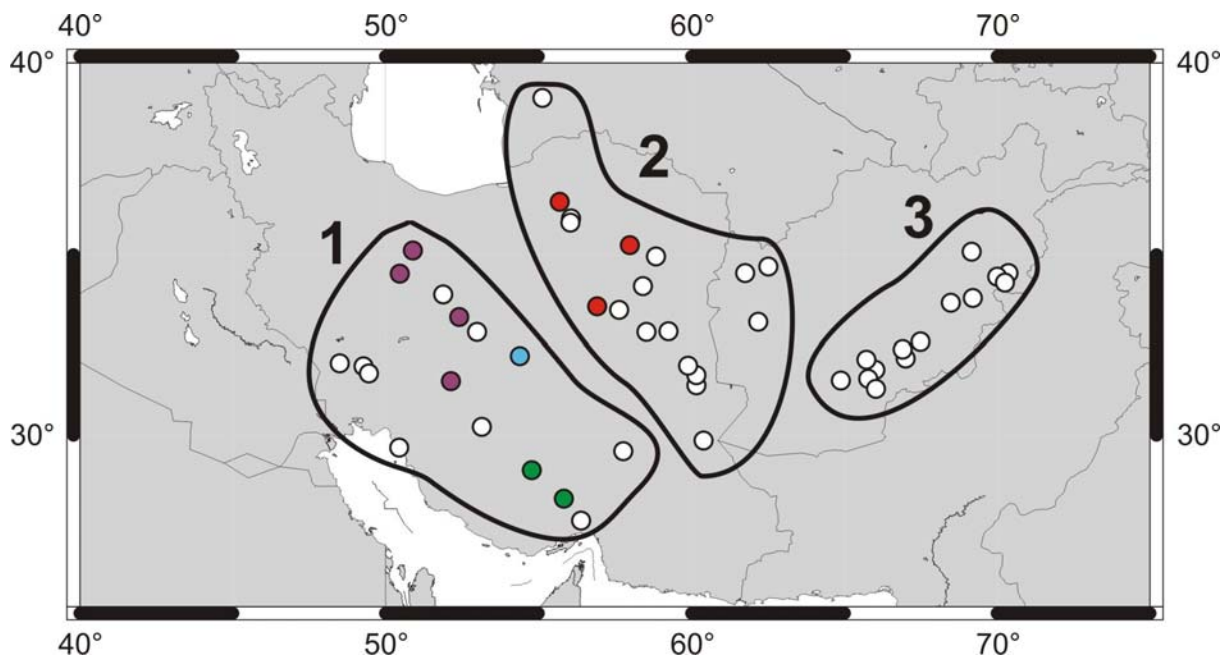
Tab. 10: Pohlavní dimorfismus u *M. watsonana*. Červeňě označeny signifikantní hodnoty.

<i>O. elegans</i>	Samice					Samci						
	n	Mean	SD	Min	Max	n	Mean	SD	Min	Max	t-value	p
HL/SVL	47	0,25	0,02	0,21	0,29	18	0,24	0,01	0,23	0,26	1,349	0,182
HW/SVL	47	0,15	0,01	0,13	0,18	18	0,15	0,01	0,14	0,17	-0,335	0,739
AG/SVL	47	0,45	0,04	0,38	0,51	18	0,45	0,03	0,41	0,51	0,046	0,964
HU/SVL	47	0,12	0,01	0,10	0,15	18	0,13	0,01	0,11	0,14	-2,049	0,045
RA/SVL	47	0,14	0,01	0,11	0,17	18	0,14	0,01	0,13	0,15	-0,877	0,384
FE/SVL	47	0,19	0,02	0,16	0,23	18	0,20	0,01	0,18	0,21	-0,957	0,342
TI/SVL	47	0,21	0,02	0,18	0,25	18	0,21	0,01	0,18	0,24	-1,034	0,305
F4/SVL	47	0,11	0,01	0,08	0,13	18	0,10	0,01	0,08	0,11	2,958	0,004
H4/SVL	47	0,22	0,03	0,17	0,29	18	0,21	0,02	0,19	0,24	0,627	0,533

Tab. 11: Pohlavní dimorfismus v metrických znacích u *O. elegans*. Červeně označeny signifikantní hodnoty.

4.2.2 Srovnání OTU *Mesalina watsonana*

Z důvodu zkoumání morfologické podobnosti byly druhy rozděleny do geografických jednotek (OTU) znázorněných na Obr. 25. Rozdělení *M. watsonana* kopíruje větší fyzicko-geografické celky, OTU 1 a 2 jsou vzájemně odděleny rozsáhlými pouštními oblastmi centrálního Íránu, OTU 2 a 3 afghánskými pohořími a zároveň absencí materiálu z přechodné oblasti (Walter & Lieth 1960; Král 1969; Rastegar – Pouyani 2005).



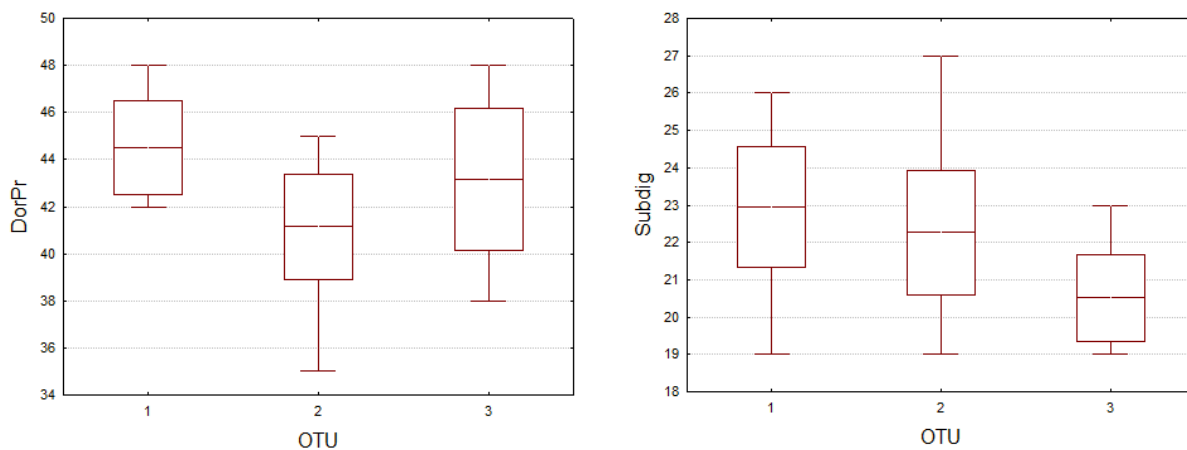
Obr. 25: Rozdělení *M. watsonana* do OTU. Exempláře z barevně označených lokalit byly použity rovněž k molekulární analýze, barvy odpovídají barvám na fylogenetických stromech v kap. 4.1.1.

Diskriminační analýza hledající rozdíly mezi předem definovanými skupinami nenašla po úpravě signifikance Bonferroniho korekcí mezi samci *M. watsonana* žádný morfometrický rozdíl (12 znaků, $p = 0,0099$). Stejně tak nebyl nalezen žádný rozdíl v souboru samic (12 znaků, $p = 0,0138$).

Při porovnávání meristických znaků, kde už nebylo třeba brát v úvahu pohlaví jedinců, byly i po Bonferroniho korekci nalezeny vysoce signifikantní rozdíly mezi OTU v proměnných DorPr a Subdig (viz Tab. 12). Hodnoty proměnné Subdig klesají směrem na východ, znak DorPr nabývá nejnižších hodnot v OTU 2. Grafy znázorňující hodnoty těchto znaků v závislosti na OTU jsou uvedeny na Obr. 26.

	Wilks' Lambda	F-remove	p
DorPr	0,720947	15,06881	0,000003
Subdig	0,744824	16,94228	0,000001

Tab. 12: Znak vyhodnocené DFA jako odlišné mezi OTU *M. watsonana*.



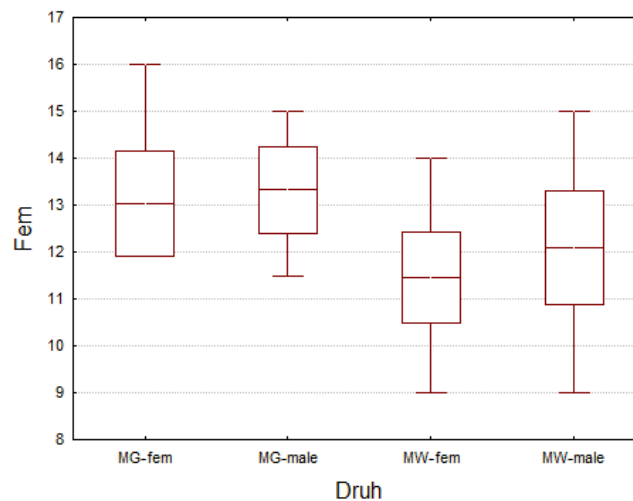
Obr. 26: Box-ploty zobrazující průměr, směrodatnou odchylku a minimální a maximální hodnotu znaků, které vykazují variabilitu mezi OTU *M. watsonana* (n OTU 1 = 21, n OTU 2 = 41, n OTU 3 = 25).

4.2.3 Srovnání *M. watsonana* a *M. guttulata*

Do této analýzy bylo zahrnuto celkem 87 (46 samců, 41 samic) jedinců *M. watsonana* a 30 (17,13) jedinců *M. guttulata*. Morfologické porovnání obou druhů prokázalo 5 znaků, ve kterých se liší obě pohlaví studovaných druhů (Fem, Inf, Gul, DorPr, Subdig), 3 znaky odlišné pouze u samic (H4, FE, VenPo) a 1 pouze u samců (AG). V případě morfometrických znaků se nejedná přímo o naměřené hodnoty, ale o relativní velikost vztaženou k SVL. Deskriptivní statistiky a výsledky t-testu všech studovaných znaků je uveden v Tab. 13. Počet femorálních pórů pro oba druhy a pohlaví je znázorněn na Obr. 27.

Morfologické rozdíly by se daly shrnout následovně:

- *M. watsonana* má oproti *M. guttulata* průměrně menší počet infralabiálií, gulárií, dorzálních šupin kolem těla a stehenních pórů, naopak více subdigitálních lamel
- Samice *M. watsonana* mají méně ventrálií podélně od límce po kloaku, vzhledem k celkové velikosti těla kratší femur a delší 4. prst zadní nohy
- Samci *M. watsonana* mají vzhledem k velikosti těla delší břicho



Obr. 27: Počet stehenních pórů dle druhu a pohlaví (MG = *M. guttulata*, MW = *M. watsonana*, fem = samice, male = samec). Zobrazen je průměr, směrodatná odchylka a minimální a maximální hodnota.

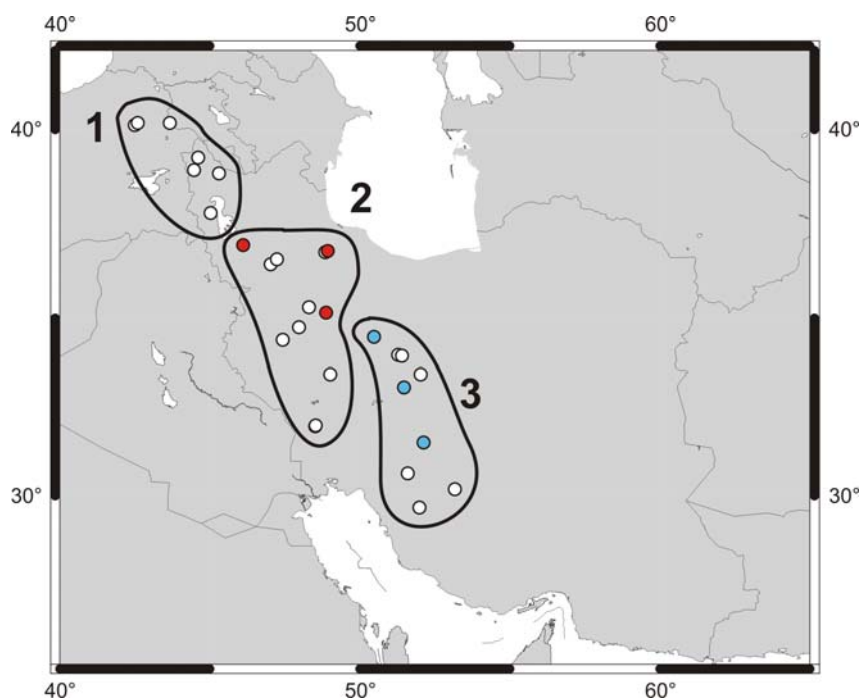
Znak	Sex	<i>M. watsonana</i>					<i>M. guttulata</i>						
		n	Mean	SD	Min	Max	n	Mean	SD	Min	Max	t-value	p
SVL	♂	46	47,79	3,55	40,99	55,38	17	45,89	3,00	40,75	51,53	1,967	0,054
	♀	41	47,57	3,86	40,21	56,09	13	46,90	3,09	40,83	51,02	0,568	0,572
HL/SVL	♂	46	0,246	0,009	0,228	0,266	17	0,250	0,006	0,241	0,264	-1,734	0,088
	♀	41	0,226	0,010	0,203	0,244	13	0,222	0,009	0,205	0,239	1,316	0,194
HW/SVL	♂	46	0,164	0,008	0,151	0,184	15	0,161	0,006	0,147	0,169	1,435	0,157
	♀	40	0,148	0,008	0,130	0,166	13	0,146	0,007	0,136	0,161	1,044	0,301
AG/SVL	♂	43	0,451	0,021	0,400	0,488	17	0,439	0,014	0,415	0,470	2,180	0,033
	♀	39	0,502	0,022	0,460	0,556	13	0,501	0,026	0,457	0,546	0,232	0,817
HU/SVL	♂	42	0,120	0,009	0,106	0,148	17	0,118	0,008	0,108	0,134	1,116	0,269
	♀	38	0,105	0,007	0,089	0,120	13	0,105	0,006	0,093	0,114	-0,192	0,848
RA/SVL	♂	42	0,125	0,007	0,113	0,142	16	0,126	0,006	0,114	0,136	-0,366	0,716
	♀	39	0,110	0,006	0,096	0,121	13	0,111	0,006	0,099	0,120	-0,139	0,890
FE/SVL	♂	43	0,188	0,011	0,167	0,215	17	0,193	0,008	0,184	0,211	-1,867	0,067
	♀	41	0,165	0,011	0,128	0,194	13	0,172	0,009	0,158	0,184	-2,105	0,040
TI/SVL	♂	46	0,205	0,012	0,183	0,230	17	0,203	0,010	0,186	0,221	0,539	0,592
	♀	40	0,183	0,012	0,144	0,197	13	0,177	0,014	0,137	0,195	1,456	0,152
F4/SVL	♂	46	0,093	0,010	0,073	0,115	17	0,092	0,006	0,080	0,102	0,417	0,678
	♀	41	0,087	0,009	0,065	0,106	13	0,086	0,007	0,075	0,096	0,456	0,651
H4/SVL	♂	45	0,186	0,015	0,163	0,226	16	0,183	0,013	0,166	0,221	0,736	0,465
	♀	40	0,169	0,011	0,149	0,188	13	0,157	0,011	0,139	0,177	3,317	0,002
VenPo	♂	46	28,11	1,49	25	31	17	28,76	1,52	25	32	-1,54	0,129
	♀	41	29,76	1,07	28	32	13	30,62	1,66	29	34	-2,20	0,033
DorPo	♂	46	137,11	7,93	120	154	17	140,41	10,77	117	163	-1,33	0,189
	♀	41	142,07	9,11	126	163	13	144,46	7,02	128	153	-0,87	0,391
Fem	♂	46	12,10	1,21	9	15	17	13,32	0,92	12	15	-3,78	0,000
	♀	41	11,45	0,97	9	14	13	13,04	1,13	12	16	-4,96	0,000
Aear	♂+♀	87	1,03	0,17	1	2	30	1,00	0,00	1	1	1,13	0,262
Occlnt	♂+♀	87	0,08	0,27	0	1	30	0,00	0,00	0	0	1,61	0,111
Sup	♂+♀	87	4,07	0,29	4	6	30	4,00	0,13	4	5	1,36	0,177
Inf	♂+♀	87	6,59	0,56	5	7,5	30	6,88	0,31	6	8	-2,62	0,009
PostMen	♂+♀	87	5,03	0,28	4	6	30	5,00	0,00	5	5	0,67	0,507
Gul	♂+♀	87	23,30	1,84	20	29	30	24,63	2,24	21	29	-3,24	0,002
Col	♂+♀	87	8,07	1,26	5	12	30	8,23	1,45	5	11	-0,59	0,556
VenPr	♂+♀	87	9,98	0,21	8	10	30	9,93	0,37	8	10	0,79	0,431
DorPr	♂+♀	87	42,54	2,80	35	48	30	45,03	3,81	34	53	-3,82	0,000
Subdig	♂+♀	87	21,93	1,78	19	27	30	21,13	0,94	19	23	2,34	0,021

Tab. 13: Deskriptivní statistiky jednotlivých proměnných *M. guttulata* a spojených OTU *M. watsonana*, výsledky t-testu a míra signifikance (červeně označeny signifikantní hodnoty).

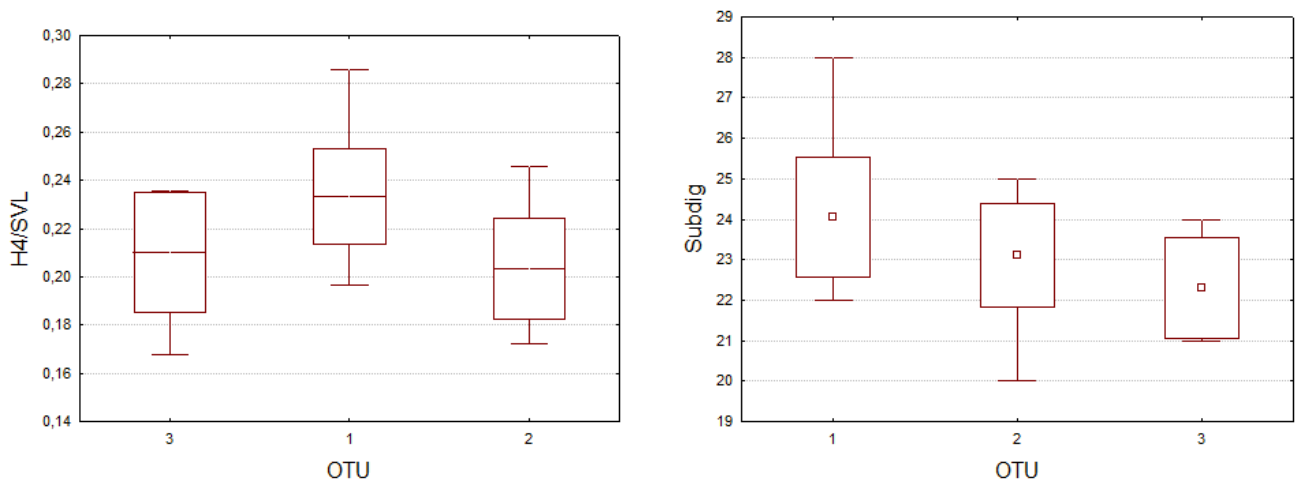
4.2.4 Srovnání OTU *Ophisops elegans*

Rozdělení *O. elegans* do OTU je znázorněno na Obr. 28. Hranice oblastí souhlasí s hranicemi klimatických zón publikovanými v práci Walter & Lieth (1960). OTU 1 leží v mediteránní klimatické zóně, OTU 2 v aridní a horské, OTU 3 v subtropické. Shodné dělení mezi OTU 2 a OTU 3 provedl také Rastegar – Pouyani (2005).

Srovnání morfometrických znaků samců neprokázalo žádný signifikantní rozdíl (9 znaků, $p = 0,4366$). V souboru samic byly OTU odlišné ve znaku H4 (Wilks' Lambda: 0,6177; $F(2,41) = 12,685$; $p < ,0001$), u žádného z ostatních znaků nebyl signifikantní rozdíl mezi OTU potvrzen. Meristické rozdíly byly prokázány pro znak Subdig (Wilks' Lambda: 0,8159; $F(2,59) = 6,655$; $p < 0,0025$). Žádný další foliotický znak nebyl mezi jednotlivými OTU odlišný. Hodnoty Subdig klesají směrem na východ, znak H4 nabývá nejnižších hodnot v OTU 2. Box-ploty hodnot znaků odlišujících OTU jsou uvedeny na Obr. 29, délka 4. zadního prstu vyjádřená v poměru k SVL.



Obr. 28: Rozdělení *O. elegans* do OTU. Exempláře z barevně označených lokalit byly použity rovněž k molekulární analýze, barvy odpovídají barvám na fylogenetických stromech v kap. 4.1.3.



Obr. 29: Box-ploty zobrazující průměr, směrodatnou odchylku a minimální a maximální hodnotu znaků, které vykazují variabilitu mezi OTU *O. elegans* (n pro H4: OTU 1 = 20, OTU 2 = 17, OTU 3 = 7; n pro Subdig: OTU 1 = 26, OTU 2 = 26, OTU 3 = 10).

5. DISKUSE

Mitochondriální geny mají v molekulární fylogenetice široké uplatnění díky své vysoké mutační rychlosti a tím schopnosti odlhalit i jemné divergence mezi druhy či populacemi jednoho druhu (Hillis & Huelsenbeck 1992). U plazů patří k nejčastějším markerům gen kódující cytochrom *b*, který bývá využíván jak ke studiu příbuzenských vztahů mezi rody (např. Harris et al. 1998; Fu 2000; Lenk et al. 2001; Carranza et al. 2004, 2008), mezi druhy v rámci rodů (např. Mausfeld et al. 2000; Giannasi et al. 2001; Carranza et al. 2002; Scott et al. 2004; Carranza & Arnold 2006; Guicking et al. 2006) nebo jednotlivými vývojovými liniemi uvnitř jednoho druhu (např. Poulakakis et al. 2003, 2005a, 2005b; Podnar et al. 2004, 2005; Carranza et al. 2006). Jeho použití ke zjištění vnitrodruhové variability u druhů *Mesalina watsonana* a *Ophisops elegans* je tedy zcela opodstatněné. Navíc jsou u rodu *Mesalina* známy nukleotidové sekvence cytochromu *b* z jedinců jiných druhů (Kapli et al. 2008), u *O. elegans* sekvence téhož genu pocházející z jiných částí areálu (Kyriazi et al. 2008). To podnítilo porovnání mnou získaných dat s již publikovanými údaji a umožnilo komplexnější náhled na fylogenezi intragenerickou, potažmo intraspecifickou.

Rozložení variabilních pozic na nukleotidové sekvenci je v souladu s obecně známou situací u kódujících úseků DNA, kde je třetí kodonová pozice nejvariabilnější (Naylor et al. 1995). Zastoupení bazí na sekvenovaném úseku cytochromu *b* přibližně odpovídá průměru jiným druhům plazů (Johns & Avise 1998). Mnou zjištěné genetické vzdálenosti (nekorigované *p* distance) patří s maximálními hodnotami 14,3 % pro *M. watsonana* a 15,9 % pro *O. elegans* u plazů k jednomu z nejvyšších. Harris & Sá-Sousa (2002) uvádějí, že průměrná genetická vzdálenost mezi druhy jednoho rodu u plazů dosahuje pro cytochrom *b* 13,6%. Vzdálenost mezi sesterskými druhy pak u plazů dosahuje na cytochromu *b* nejčastěji 6 % (Johns & Avise 1998). Pokud bychom se přiklonili k výše zmíněným názorům, rozpadly by se oba studované druhy do několika samostatných nebo by tvořily druhové komplexy. Vzdálenosti nalezené uvnitř *M. watsonana* odpovídají vzdálenostem nalezeným mezi severoafrickými populacemi *M. guttulata* (Kapli et al. 2008) i mezi syrskými populacemi *M. brevirostris* (Mayer et al. 2006). Je zřejmé, že rod *Mesalina* tvoří na celém areálu zřetelně distinktní skupiny často rozdílné více než 10 % mitochondriálních sekvencí (pro dosud studované geny *cyt b*, 12S a 16S rRNA), z nichž pouze některé byly zatím morfologicky rozeznány jako samostatné druhy. Tím je například *M. bahaeldini* oddělená od *M. guttulata* na základě morfologických znaků a na druhou stranu odlišná jen 6 % nukleotidů mtDNA.

Morfologická uniformita znesnadňuje rozeznávání jednotlivých linií dle vnějších fenotypových znaků a komplikuje jejich popis jako nových druhů. V případě *p* distancí u druhu *O. elegans* zapadají mnou zjištěné vzdálenosti do již publikovaných výsledků autorů Kyriazi et al. (2008). Rozdíly mezi bazální větví z jižního a centrálního Íránu a ostatními skupinami indikují, že se s největší pravděpodobností jedná o samostatné druhy.

5.1 Vnitrodruhová analýza *Mesalina watsonana*

Analýzou 16 jedinců z 10 lokalit byla dostatečně pokryta oblast centrálního íránského plata, na kterou je práce zaměřena. Všechny použité fylogenetické metody identifikovaly s vysokou bootstrapovou podporou 4 monofyletické hluboce oddělené linie, které odpovídají následujícím oblastem: západní okraj íránské vysočiny (lokality Kushk-e-Nosrat, Salafchegan, Izadkhas, Ardestan), severovýchodní Írán (Mayamey, Bardeskan, Tabas), jižní Írán (Gahkom, Vazireh) a centrální Írán (Anjireh). Uvnitř západoíránského kladu stojí navíc zcela samostatně zvířata pocházející z lokality Izadkhas odlišná od ostatních průměrně 7,8 %. Mohli bychom tedy vzorky z této lokality považovat za další samostatnou linii. Některé analýzy staví do bazální pozice západní klad (NJ, MP), jiné naopak klad jižní (ML, BA). Žádná z těchto dichotomií ale nemá výraznou podporu, je tedy nutné považovat příbuzenské vztahy za nerozřešené. Hluboké divergence mezi sekvencemi indikují dlouhodobé oddělení jednotlivých větví. Obdobné rozdíly v sekvencích cytochromu *b* objevili Červenka et al (2008) mezi populacemi gekonů rodu *Bunopus* pocházejícími z centrálního a jižního Íránu.

Otázkou zůstává, zda jsou nevyřešené příbuzenské vztahy způsobené tím, že ještěrky prodělaly na území Íránu rychlou radiaci a skupiny se odštěpily přibližně ve stejnou dobu, což by odhalení bližší příbuznosti neumožňovalo nebo cytochrom *b* mutuje u rodu *Mesalina* příliš rychle na to, aby odhalil hlubší fylogenetické vztahy. K podobným výsledkům se dopracovali Joger & Mayer (2002), kterým ani analyzování 960 párů bází mtDNA (12S, 16S rRNA) nikterak výrazně nedopomohlo k odhalení příbuzenských vztahů jednotlivých druhů rodu *Mesalina* z jihu Arabského poloostrova a Sokotry. Jelikož ani jaderné geny nedokáží odhalit příbuznosti mezi rody podčeledi Eremiinae, kam *Mesalina* patří, dostává se v posledních letech do popředí názor, že náhlou evoluční událost prodělala celá čeleď Lacertidae (Mayer & Pavlicev 2007; Pavlicev & Mayer 2009). To by podporovalo teorii rychlé radiace i v rodu *Mesalina*. Jadernou DNA u většího počtu zástupců tohoto rodu však zatím nikdo nestudoval.

Právě ona by mohla být užitečným nástrojem k detekci nejasných vztahů, případně k potvrzení náhlé radiace nejen u *M. watsonana*, ale u celého rodu.

Geografická izolace a zřetelná vyhraněnost jednotlivých linií *M. watsonana* je poněkud překvapivá. Zatímco oddělení SV kladu se dá vysvětlit přítomností rozsáhlých neobyvatelných pouští na íránském platu, které byly v minulosti opakovaně zatopeny slanou vodou (Anderson 1999) a nyní tvoří solí pokrytou krustu, pro divergenci mezi západním, centrálním a jižním kladem není vysvětlení v podobě biogeografické bariéry možné najít. Západní a jižní linie obývají úpatí Zagrosu, centrální klad pak poněkud východněji ležící polopoušť. Vysoká aktivita ještěrek rodu *Mesalina* a jejich nízké biotopové preference (Anderson 1968; Baker et al. 2004) nenaznačují, že by se jednalo o příliš sedentární zvířata. Bylo by tedy možné určitý stupeň migrace a výměnu genetického materiálu očekávat. Výrazná diverzifikace na geograficky izolované linie ale indikuje spíše malé migrační schopnosti.

Výběr znaků pro morfologické srovnání měl svá úskalí. Původně hodnocená sytost kresby a uspořádání skvrn na hřbetě (do podélných pruhů nebo ne) zvířat byla posléze z analýz vynechána, neboť je známo, že podélné pruhování mláďat s věkem bledne a mění vzor (Joger & Mayer 2002, vlastní pozorování 2009). Navíc může být zbarvení lokálně silně proměnlivé v závislosti na barvě substrátu (Disi & Amr, 1998). U *M. guttulata* šupiny límce zvětšené pouze nepatrně a límeček na posteriorním okraji pevně přirostlý, znaky, na jejichž základě odlišuje Smith (1935) tuto formu od *M. watsonana*, také nebyly hodnoceny. Po mnoha pokusech stanovit míru „přirostlosti“ límce a zjištění, že mezi zcela volným a zcela přirostlým je nesčetné množství přechodných stavů, bylo od tohoto znaku upuštěno. Stejně tak s velikostí šupin v límci. Počet a uspořádání průhledných šupin na očním víčku, kterých se v systematice a taxonomii rodu *Mesalina* velice často používá, nebylo možné kvůli špatné viditelnosti znaku na fixovaném materiálu hodnotit.

Nenalezení rozdílů mezi OTU v měřených metrických rozměrech svědčí o velké morfologické uniformitě tohoto druhu napříč celým areálem rozšíření. I když byla prokázána přítomnost pohlavního dimorfismu v relativních tělesných rozměrech vztažených k celkové velikosti těla, nebyl u samců ani u samic objeven žádný rozdíl v tělesných proporcích mezi jednotlivými OTU. V souboru studovaných meristických znaků byl objeven trend snižujícího se počtu subdigitálních lamel na 4. prstu zadní nohy směrem na východ.

Rozdíly v počtu dorzálních šupin kolem těla obdobný západ - východní trend nemají. Nejnižších hodnot nabývá tento znak v OTU 2 (medián 41), nejvyšších v OTU 1 (medián 45). Počet dorzálních i subdigitálních lamel bývají v systematické ještěřů často využívané znaky, přesto je zde potřeba opatrnosti, neboť se mezi všemi třemi OTU vyskytuje částečný překryv, který znemožňuje jasné vyhranění některé skupiny. Kombinace morfologických a molekulárních výsledků indikuje, že ačkoli se na území Íránu vyskytují zřetelně a dlouho oddělené linie, jejichž hlubší příbuzenské vztahy nejsme na základě získaných dat schopni vyřešit, podobné klimatické a ekologické podmínky panující dlouhodobě na celém území iránského plata byly pravděpodobnou příčinou, že nedošlo k výraznějšímu posunu v charakteru morfologických znaků.

5.2 Srovnání *M. watsonana* s ostatními druhy rodu *Mesalina*

Spojení mnou získaných sekvencí se sekvencemi rodu *Mesalina* již publikovanými (Kapli et al. 2008) zmenšilo na jednu stranu počet znaků ze 714 bazí na 305, přesto přineslo zajímavé výsledky. Ve všech použitých fylogenetických metodách vychází druh *M. watsonana* monofyletický. Překvapivé je, že všechny ostatní analyzované druhy tvoří zřetelně oddělené monofylum sesterké k *M. watsonana*. Vzhledem k dlouhodobému považování tohoto druhu za konspecifický s *M. guttulata* by se dal očekávat bližší příbuzenský vztah těchto dvou forem. *M. guttulata* ale spadá do kladu obývajících severní Afriku, kde vytváří množství samostatných linií často vůbec nekorespondujících s geografickým rozšířením (viz vzorky z Jordánska). Takovou izolovanou větev tvoří i mnou získaná sekvence tohoto druhu z Jemenu. Dobře podpořenou linií je ve všech analýzách *M. olivieri* + *M. simoni*, druhý z jmenovaných činí díky své pozici uvnitř *M. olivieri* tento druh parafyletickým. Již ne tak silně podpořený, přesto pravděpodobně distinktní druh je *M. brevirostris* ze Sýrie.

Kladogram rodu zcela odpovídá biogeografickému rozšíření. *M. watsonana* jako jediný druh zasahující hlouběji do asijského kontinentu tvoří bazální větev. K ní sesterskou je linie zahrnující druhy ze severní Afriky, Sýrie, Jordánska a Arabského poloostrova, která se rozpadá na blízkovýchodní a arabský druh *M. brevirostris*, maghrebské *M. olivieri* + *M. simoni* a široce rozšířenou *M. guttulata*. Tato topologie nejen, že výrazně podporuje již dříve navrhovanou myšlenku, že rod *Mesalina* vznikl v jihozápadní Asii a následně se rozšířil západně na Blízký východ a do severní Afriky (Kapli et al. 2008), ale dokonce se jeví jako její

zásadní argument. *M. watsonana* je nejstarším odděleným druhem rodu *Mesalina*, za dobu své existence vytvořila ve svém areálu několik oddělených vývojových linií, které by bylo možné podle molekulárních dat považovat za samostatné druhy. K diverzifikaci ostatních druhů došlo až později po expanzi jejich předků do severní Afriky. Kapli et al. (2008) s pomocí molekulárních hodin odhadovali bazální divergenci mezi jimi studovanými zástupci na 9 ± 1 milion let. Mayer & Pavlicev (2007) na základě sekvencí jaderných genů (*c-mos*, *rag 1*) předpokládají větvení společného předka rodů *Acanthodactylus*, *Eremias*, *Mesalina* a *Ophisops* na dobu před 13 miliony lety. Ač skepse a nedůvěra v aparát molekulárních hodin nabádají k opatrnosti, pokud bychom předpokládali správnost těchto odhadů, muselo k oddělení *M. watsonana* od ostatních druhů dojít nezbytně mezi 9 a 13 miliony lety. K absolutní izolaci tohoto druhu od ostatních mohlo přispět vyvrásnění pohoří Zagros, které je odhadováno právě na tuto dobu (Tchalenko 1975; Sborshchikov et al. 1981). Fragmentace areálu jednoho druhu náhlým vyvrásněním vysokého pohoří je známa ze severní Afriky, kde zdvižení Atlasu způsobilo odtržení severních a jižních populací *Agama impalearis* (Brown et al. 2002). Rozšíření *M. brevirostris* zpět na východ podél pobřeží Perského a Ománského zálivu se mohlo odehrát mnohem později během glaciálů, kdy docházelo k vysoušení Perského zálivu a tím vzniku migračních koridorů mezi Arabským poloostrovem a kontinentální Asií.

Nelze ovšem přehlížet hypotézu Szczerbaka (1989) o africkém původu rodu *Mesalina*. Tento autor ale ke zmíněnému rodu řadil také zástupce dnes již samostatného rodu *Pedioplanis* rozšířeného v jižní Africe (Angola, Botswana, Namibie a Jihoafrická republika) a řazeného v poslední době do tzv. etiopské linie podčeledi Eremiinae (Mayer & Pavlicev 2007). Touto mýlkou došlo nepochybně k zcela zásadnímu překroucení biogeografických souvislostí a jejich interpretací v rámci čeledi Lacertidae. Rod *Mesalina* má však i po nezahrnutí těchto zvířat stále velké druhové bohatství v severní Africe, která by tak mohla být vážným kandidátem na radiční centrum celého rodu. Příbuzenské vztahy s rody *Acanthodactylus*, *Eremias*, *Omanosaura* a *Ophisops* a sesterský vztah všech těchto rodů s africkými zástupci podčeledi Eremiinae poukazují na kolonizaci Afriky před oddělením těchto sesterských kladů a následnou druhotnou expanzi předka výše vyjmenovaných rodů zpět do jihozápadní Asie (Mayer & Pavlicev 2007). Zde pak mohlo dojít k již zmiňované radiaci rodu *Mesalina*.

Morfologické srovnání druhů *M. watsonana* a *M. guttulata* kladoucí si za cíl nalezení zřetelných druhově specifických znaků, díky kterým by bylo lze jasně odlišit zástupce obou

druhů, neprokázalo ve většině metrických znaků žádné mezidruhové rozdíly. Je třeba poznamenat, že některé znaky tradičně používané k odlišení obou druhů nebylo možné studovat. Velikost a anatomická struktura hemipenisu, na jejichž základě Arnold (1986a) oba druhy rozděluje, je možné zjistit pouze pitvou zvířete, čímž dojde k narušení vnější morfologie, a proto bylo od studia tohoto znaku upuštěno. Obtíže s některými dalšími znaky viz. kapitola 5.1. Tato část práce si kladla za cíl nalezení jiných možných tělesných rozměrů či charakteru ošupení, které by umožňovaly druhovou determinaci obou těchto druhů. Vynechání konvenčních znaků tedy nebylo na škodu.

Tělesné proporce, u kterých byl prokázán rozdíl, se vyskytovaly vždy pouze u jednoho pohlaví. Hodnoty relativní velikosti břicha u samců a relativní délky femuru u samic *M. guttulata* zcela spadají do variačního rozpětí *M. watsonana*, jejich variabilita je však nízká. To může být způsobeno malým množstvím studovaných zástupců *M. guttulata* (17 samců, 13 samic). Relativní délka čtvrtého prstu zadní nohy, která je u samic *M. guttulata* menší než u druhého druhu, tak výrazný překryv nevykazuje. I při porovnání původní naměřené hodnoty (tedy nevztahované k velikosti těla) je rozdíl u samic patrný. Také v případě mezidruhově odlišných meristických znaků se několikrát opakoval případ, kdy variabilita jednoho druhu spadá zcela do variační šíře druhého. Nejvýraznější rozdíly mezi dnes uznávanými druhy *M. watsonana* a *M. guttulata* byly objeveny u obou pohlaví v počtu stehenních pórů (viz Obr. 27). Dochází sice k částečnému překryvu hodnot, ten ale není tak výrazný jako u ostatních zmiňovaných znaků. Při porovnávání větších souborů zvířat by se tento znak dal k druhové determinaci využít. Úplný překryv hodnot nastal v případě počtu gulárií, dorzálií kolem těla a subdigitálních lamel. Nelze proto tyto znaky k druhové identifikaci použít. Zároveň se však dva z těchto znaků (DorPr a Subdig) lišily mezi jednotlivými OTU u *M. watsonana*. V případě, že budeme *M. watsonana* považovat nadále za jeden druh, je vnitrodruhová variabilita těchto znaků větší než mezidruhová. Pokud bychom vzali v úvahu dávnou divergenci mezi jednotlivými klady tohoto druhu a přistoupili na možnost existence více druhů, byla by např. podobnost v počtu hřbetních šupin mezi *M. guttulata* a OTU 1 větší, než mezi OTU 1 a ostatními OTU *M. watsonana*. Větší morfologické podobnosti mezi geograficky blízkými populacemi různých druhů než uvnitř jednoho druhu napříč areálem rozšíření si povšiml již Boulenger (1921) při studiu klinální proměnlivosti znaků u *M. guttulata* a *M. olivieri*.

Podle současných poznatků založených na molekulární fylogenezi (Kapli et al. 2008, vlastní data) je dnes stanovený druhový koncept rodu *Mesalina* pouze částečně vyhovující a

k náhledu na jeho celkové druhového bohatství budou nezbytné podrobnější molekulární práce a taxonomické revize. Jenom na území Íránu se vyskytuje minimálně 5 linií *M. watsonana* oddělených více než 7 % nukleotidových sekvencí, které by bylo možné považovat za samostatné druhy. Před provedením takového kroku by ale byla nezbytná detailnější analýza většího množství materiálu z rozsáhlejšího areálu, který by mimo jiné musel zahrnovat pákistánské území mezi Karáčí a Sukkurem jakožto typovou lokalitu *M. watsonana*.

5.3 Analýza *Ophisops elegans* z Íránu a okolních zemí

Jak nedávno nastínila publikace Kyriazi et al. (2008), je území vytyčené politickými hranicemi Íránu pro historii mediteránních zástupců rodu *Ophisops* zcela kruciólní. Autoři disponovali pouze okrajovým množstvím materiálu pocházejícím z Íránu a ačkoli odhalili některé dílčí výsledky, mnohé jim zůstalo utajeno. Bylo tedy nasnadě využít materiálu ve sbírkách PřF UK a z vlastních sběrů a rozšířit tak geografický záběr publikované práce. Se znalostí situace u dalšího íránského druhu (*M. watsonana*), bylo zároveň možné porovnat scénáře obou ekologicky velmi podobných druhů a objevit možné vzájemné korelace v evoluční historii. *O. elegans* se v Íránu vyskytuje v západních provinciích a podél pohoří Zagros dále na jihovýchod. Materiál z deseti lokalit kopíruje tento íránský areál a tím navazuje na práci Kyriazi et al. (2008), jejichž vzorky pocházely ze západních částí areálu, z Íránu výlučně z provincie Kermanshah.

Bazální pozice linií z centrálního a jihovýchodního Íránu částečně prokázána již v publikaci Kyriazi et al. (2008), jejich výrazná odlišnost od tureckých a SV íránských kladů a zároveň hluboké rozdíly mezi jejich zástupci (až 7 % nukleotidových substitucí) poukazují na dlouhodobou přítomnost *O. elegans* ve střední části íránského plata. Podobně jako *M. watsonana* tvoří tento druh na území Íránu zřetelně oddělené linie. Jak vidno, i přes geomorfologickou uniformitu íránského plata na východním předhůří Zagrosu se zde vyskytují izolované linie, jejichž vzájemný kontakt je již dlouhou dobu přerušen. Pozoruhodné postavení mají dvě sekvence získané z GenBank z lokalit Aralik (Turecko) a Khosrov (Arménie). Jejich blízkou příbuznost se zvířaty pocházejícími ze západoíránské provincie Kermanshah vzdálenými vzdušnou čarou 650 km zaznamenali již Kyriazi et al. (2008). Příbuznost tohoto kladu s nově osekvenanými zvířaty ze středního Íránu je sice patrna z výsledků všech provedených analýz, podpora jejich sesterského vztahu je však nízká.

Ve srovnání s výraznými genetickými vzdálenostmi mezi výše zmíněnými iránskými liniemi je překvapivá homogenita sekvencí ze SZ Íránu (lokality Famenin, Khorramdarreh, Miyandoab, Qazvin, Qom, Zanjan) a jejich podobnost s již publikovanými sekvencemi z lokalit Ir 73, 77, 80, 81. Maximální rozdíl 0,6 % (4 nukleotidy z 694) svědčí o velmi recentní divergenci. Navíc tato uniformní skupina vykazuje bližší příbuznost se zvířaty z Turecka a Sýrie a nikoli s geograficky blízkými jedinci z Íránu.

Také u rodu *Ophisops* se předpokládá asijský původ (Arnold et al. 2007; Mayer & Pavlicev 2007). Speciační událost vedoucí oddělení *O. elegans* od ostatních druhů je odhadována na pozdní miocén, konkrétně před 9,3 miliony lety (Kyriazi et al. 2008). Následně došlo k jeho expanzi na Blízký východ a do severní Afriky. Pozice nově získaných sekvencí z dosud neprozkoumaných oblastí ve středním a jihovýchodním Íránu jsou zcela v souladu s hypotézou o asijském původu *O. elegans* (Khan 1980). Během expanze západním směrem docházelo na území Íránu postupně k oddělování východních linií, které se tak dnes jeví jako bazální. Podobně jako v případě rodu *Mesalina*, kde zdvih pohoří Zagros hrál pravděpodobně roli v oddělení *M. watsonana* od ostatních druhů, mohla mít izolace iránských populací *O. elegans* stejnou příčinu. Podle odhadu doby divergence provedené autory Kyriazi et al. (2008) se jimi nalezené první větvení uvnitř *O. elegans*, které oddělilo Z Írán, V Turecko a Arménii od zbytku, odehrálo před 8,11 miliony lety. Bohužel nám nevyřešená topologie kladogramu nedovolí použít tuto dobu k odhadu doby oddělení ostatních iránských linií, i když k použití výpočtů pomocí molekulárních hodin mám stále své výhrady. K oddělení předků SZ iránského a tureckého kladu došlo podle odhadu před 7,41 miliony lety (Kyriazi et al. 2008). Výrazná homogenita v sekvencích zvířat ze SZ Íránu však poukazuje na nedávnou expanzi *O. elegans* na toto území. *O. elegans*, který v těchto podmínkách obývá vyšší nadmořské výšky tak byl pravděpodobně postižen glaciálními výkyvy klimatu, při kterých se tyto horské oblasti staly pro plazy neobyvatelnými. Nejbližší možné refugium mohly tvořit nížiny kaspické pánve známé svým dlouhodobým vývojem neovlivněným klimatickými změnami kvartéru, které tvořily během glaciálního ochlazení útočiště mnoha jiným druhům (Tuniyev 1990; Tarkhnishvili et al. 2001; Michaux et al. 2004; Fritz et al. 2008). Během následného oteplení se *O. elegans* z refugia opět rozšířil po SZ Íránu. Na jihu tak došlo ke kontaktu s liniemi z centrálního Íránu, které během ledových dob svoje rozšíření nijak neměnily, neboť klima na iránské náhorní plošině během glaciálních cyklů žádnými velkými výkyvy neprocházelo (Misonne 1968). Tím se také vysvětluje, že zvířata z lokalit Qom a Salafchegan ležících od sebe pouhých 40 km vzdušnou čarou náleží k různým liniím.

Ze severu expandující klad se mohl právě v těchto místech setkat se zvířaty již rozšířenými na íránském platu a kvůli kompetici o zdroje, které již využívala centrální íránská linie, dál proniknout nemohl.

Rozdělení areálu „tmavomodré“ linie touto postglaciální expanzí, které by mohlo vysvětlit příbuznost arménského a některých západoíránských vzorků, není příliš pravděpodobné, neboť výrazná podobnost sekvencí z Arménie a Z Íránu indikuje blízkou příbuznost a nedávnou divergenci zvířat z těchto lokalit. Materiál z oblasti Kurdistánu by mohl tuto nejasnou situaci odhalit.

Srovnání morfologických znaků přineslo pouze okrajové výsledky. Nenalezení žádného metrického rozdílu mezi samci a odlišnost pouze v relativní délce 4. zadního prstu u samic vypovídá o uniformitě tělesných rozměrů napříč OTU. Kromě rozdílného počtu subdigitálních lamel nebyl ani mezi meristickými znaky potvrzen žádný rozdíl. Rozdíl v délce 4. prstu se tak odráží i na množství šupin na něm. Směrem na východ se u samic *O. elegans* zkracuje absolutní délka 4. prstu (tedy nevyjádřená v poměru k tělesné velikosti) a tím ubývá i počet šupin na jeho spodní straně jednoduše proto, že na kratším prstu není na více šupin stejné velikosti dostatečně místa. Nepřítomnost tohoto stavu u samců může být způsobena malým vzorkem osmnácti zvířat, který takto jemné rozdíly neumožnil odhalit. Za pozornost stojí charakter některých folidotických detailů používaných k poddruhové systematice *O. elegans*. Jeden postnasální štítek, který odlišuje subspecii *blanfordi* od všech ostatních majících dva, se objevuje i u zvířat původem z centrálního Íránu (Rept/Ira/090 z lokality Esfahan, viz též Frynta et al. 1997), kde je rozšířena nominotypická forma. Naopak v Mezopotamské nížině, odkud je poddruh *blanfordi* popsán, se vyskytují taktéž jedinci se dvěma postnasálii (IRA 049, lokalita Horram Abad). Navíc tmavý dorzální pruh, který se u této formy má často vyskytovat (Moravec 1998), není přítomen ani u jednoho z exemplářů s jednou postnasální šupinou. Zdá se, že ač je v okolí řeky Tigris výskyt jednoho postnasále častější, nelze tento znak považovat za poddruhově specifický a spolu s tmavým hřbetním pruhem jej používat k determinaci. Sekvence z Iráku by mohly validitu subspecie *blanfordi* ozřejmit.

Poddruhová systematika *O. elegans* tak nadále zůstává sporná a dosavadní řešení neuspokojivé. Jak vyplývá z výsledků molekulárních analýz, je Írán obýván dvěma liniemi, jejichž morfologická homogenita znesnadňuje identifikaci obou forem. Průkaznějších výsledků by se mohlo dosáhnout při porovnání většího množství materiálu ze západního

Íránu. Terénní pozorování naznačuje, že samci uniformního „oranžového“ kladu jsou často na bocích výrazně oranžově zbarveni, kdežto samci dále na jih toto zbarvení nemají (Obr. 6). Bohužel pro malý počet samců ve srovnávaném materiálu a změnu barvy po dlouhodobé fixaci etanolem nebylo možné tento znak hodnotit. V případě, že bychom molekulárně objeveným liniím chtěli přisoudit status poddruhu, bylo by nezbytné osekvenovat zvířata z typové lokality *O. elegans*, města Baku v Ázerbajdžánu. Zde se totiž teoreticky mohou vyskytovat jak zvířata z uniformního kladu obývajícího SZ Írán, tak příslušníci jedné z bazálních linií objevení v nedaleké Arménii. V druhém případě by „oranžová“ skupina pravděpodobně obdržela jméno *persicus*, jehož typová lokalita leží v blízkosti Urmíjského jezera v severozápadním Íránu (Boulenger 1918), neboť jak ukázala tato práce, v okolí jezera se tento klad vyskytuje (lokalita Miyandoab).

Je zřejmé, že získání sekvencí dalších genů (např. jaderných) by mohlo pomoci objasnit dosud nevyřešené vztahy mezi bazálními liniemi *O. elegans* pocházejícími z centrálního a jižního Íránu a nemalou měrou tak přispět k poodhalení evoluční historie tohoto druhu.

Jak se s postupem času ukazuje, ukrývá íránská náhorní plošina i přes množství popsanych forem stále netušené druhové bohatství. Mnoho morfologicky uniformních druhů zdá se tvoří druhové komplexy odhalitelné pouze molekulárními metodami. Tak byly nalezeny hluboké rozdíly mezi íránskými ropuchami z komplexu *Pseudepidalea viridis* (Stöck et al. 2006), gekony *Bunopus tuberculatus* a *Cyrtopodion agamuroides* (Červenka et al. 2008) a jak ukazuje tato práce také ještěrkami *Mesalina watsonana* a *Ophisops elegans*. V posledních letech se sem opět zaměřil zájem herpetologů, popisy nových druhů na sebe pravděpodobně nenechají dlouho čekat.

6. ZÁVĚRY

- *Mesalina watsonana* tvoří na území Íránu několik hluboce oddělených monofyletických linií, jejichž vzájemné vztahy ale není možno na základě současných dat odhalit.
- *M. watsonana* tvoří uvnitř rodu *Mesalina* bazální skupinu a nikoli formu blíže příbuznou s *M. guttulata*, za jejíž poddruh byla na základě morfologických znaků dlouhou dobu považována.
- Napříč celým areálem rozšíření mají samci i samice *M. watsonana* stejné tělesné proporce.
- V meristických znacích byly nalezeny pouze drobné rozdíly, směrem na východ mají zvířata méně subdigitálních lamel, centrální skupina má nejméně dorzálií kolem těla.
- Metrické rozdíly prokázané při morfologickém srovnání *M. watsonana* a *M. guttulata* se vyskytovaly vždy pouze u jednoho pohlaví. Překryv hodnot většiny meristických znaků druhovou determinaci neumožňuje. Nejvýraznější rozdíl mezi oběma druhy je v počtu femorálních pórů, ze studovaných znaků by se k druhovému určení tento hodil nejlépe.
- Populace *O. elegans* pocházející z jižního a centrálního Íránu jsou v rámci druhu bazální, jejich bližší příbuzenské vztahy nebylo možné zjistit.
- Populace obývající severozápadní Írán ustoupily během pleistocénního ochlazení do refugia ležícího pravděpodobně v oblasti Kaspiku a v nedávné době prodělaly expanzi zpět.
- V Íránu a přilehlé části Turecka je *O. elegans* morfologicky uniformní, jediné nalezené rozdíly jsou ve směrem na východ klesajícím počtu subdigitálních lamel a v délce 4. prstu zadní nohy samic, který je relativně nejdelší u centrální skupiny.
- Molekulární analýzy potvrzují asijský původ rodů *Mesalina* a *Ophisops*.

7. LITERATURA

- AL - SIRHAN, A. R., 2008: First Record of the Small-spotted Desert Lizard *Mesalina guttulata* (Lichtenstein, 1823) (Sauria:Lacertidae) from Kuwait, *Zoology in the Middle East* 45: 110 – 111.
- ALCOCK, A. & FINN, F., 1896: An account of the Reptilia collected by Dr. F. P. Maynard, Captain A. H. McMahon, C. I. E., and the members of the Afghan-Baluch boundary commission of 1896. *Journal of the Asiatic society of Bengal*, 65 (2): 550 – 567.
- ANDERSON, J., 1872: On some Persian, Himalayan, and other reptiles. *Proceedings of the Zoological Society of London* 2: 371 – 404.
- ANDERSON, J., 1896: A Contribution to the Herpetology of Arabia, with a preliminary list of the Reptiles and Batrachians of Egypt. R. H. Porter, London, 124 pp.
- ANDERSON, S. C., 1968: Zoogeographical analysis of the lizard fauna. In: *The Cambridge history of Iran*, vol. 1: The land of Iran, pp. 305 – 371. Fisher, W. B. (ed), Cambridge University press, Cambridge.
- ANDERSON, S. C., 1974: Preliminary key to the turtles, lizards, and amphisbaenians of Iran. *Fieldiana Zoology*, 65 (4): 27 – 44.
- ANDERSON, S. C., 1999: *The lizards of Iran*. Society for the study of Amphibians and Reptiles. Oxford, Ohio, 422 pp.
- ANDRÉN, C. & NILSON, G., 1979: A new species of toad (Amphibia, Anura, Bufonidae) from the Kavir desert, Iran. *Journal of Herpetology*, 13 (1): 93 – 100.
- ARNOLD, E. N. 1986a: The hemipenis of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae): structure, variation and systematic implications. *Journal of Natural History* 20: 1221 – 1257.
- ARNOLD, E. N. 1986b: Why copulatory organs provide so many useful taxonomic characters: the origin and maintenance of hemipenial differences in lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 29: 263-281.
- ARNOLD, E. N. & GALLAGHER, M. D., 1977: Reptiles and Amphibians from the Mountains of Northern Oman with special reference to Jebel Akhdar region. *Journal of Oman Studies*, Special Report 1: 59 – 80.
- ARNOLD, E. N., ARRIBAS, O. & CARRANZA, S., 2007: Systematics of the Palaearctic and Oriental lizard tribe Lacertini (Squamata: Lacertidae: Lacertinae), with descriptions of eight new genera. *Zootaxa* 1430:1-86.

- ATAYEV, C. & SHAMMAKOV, S. M., 1994: The herpetofauna of Kopetdag mountains and its zoogeographic characteristics. p 10. 2nd World congress of herpetology, Adelaide, S Australia.
- BAKER, M. A., QARQAZ, M., RIFAI, L., HAMIDAN, N., AL OMARI, K., MODRY, D. & AMR, Z., 2004: Results of Herpetofaunal Inventory of Wadi Ramm Protected Area, with Notes on some relict species. Russian Journal of Herpetology 11 (1): 1 – 5.
- BARAN, I. & BUDAK, A., 1978: A new form of *Ophisops elegans* (Lacertidae, Reptilia) from Anatolia. E.Ü. Fen Fakultesi Dergisi, Seri B, C. II (S. 2): 185-192.
- BIČÍK, I. & KRŮTA, M., 1975: Čilem je Zágros. Orbis Praha, 228 pp.
- BOBEK, H., 1968: Vegetation. In: The Cambridge history of Iran, vol. 1: The land of Iran, pp. 280 - 293. Fisher, W. B. (ed), Cambridge University press, Cambridge.
- BOULENGER, G. A., 1887: Catalogue of the Lizards in the British Museum (Natural History), vol. 3, second edition, Lacertidae, Gerrhosauridae, Scincidae, Anelytropidae, Dibamidae, Chamaeleontidae. The Trustees of the British Museum, London, 575 pp + 40 pls.
- BOULENGER, G. A., 1918: On the varieties of the lizard *Ophisops elegans* Men. Annals and Magazine of Natural History 9 (2): 158 – 162. (ex Anderson 1999).
- BOULENGER, G. A., 1921: Monograph of the Lacertidae, Volume II. The Trustees of the British Museum, London, 451 pp.
- BROWN, R. P., SUÁREZ, N. M. & PESTANO, J., 2002: The Atlas mountains as a biogeographical divide in North–West Africa: evidence from mtDNA evolution in the Agamid lizard *Agama impalearis*. Molecular Phylogenetics and Evolution 24: 324–332.
- CALENDINI, F. & MARTIN, J. F. 2005: PaupUP v1.0.3.1 A free graphical frontend for Paup* Dos software.
- CARRANZA, S., ARNOLD, E.N, MATEO, J. A. & GENIEZ, P., 2002: Relationships and evolution of the North African geckos, *Geckonia* and *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution 23: 244 – 256.
- CARRANZA, S., ARNOLD, E.N. & AMAT, F., 2004: DNA phylogeny of *Lacerta* (*Iberolacerta*) and other lacertine lizards (Reptilia: Lacertidae): did competition cause longterm mountain restriction? Systematics and Biodiversity 2 (1): 57–77.

- CARRANZA, S. & ARNOLD, E.N., 2006: Systematics, biogeography, and evolution of *Hemidactylus* geckos (Reptilia: Gekkonidae) elucidated using mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 531 – 545.
- CARRANZA, S. & ARNOLD, E.N. & PLEGUEZUELOS, J. M., 2006: Phylogeny, biogeography, and evolution of two Mediterranean snakes, *Malpolon monspessulanus* and *Hemorrhoids hippocrepis* (Squamata, Colubridae), using mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40: 532 – 546.
- CARRANZA, S., ARNOLD, E.N, GENIEZ, P., ROCA, J. & MATEO, J. A., 2008: Radiation, multiple dispersal and parallelism in the skinks, *Chalcides* and *Sphenops* (Squamata: Scincidae), with comments on *Scincus* and *Scincopus* and the age of the Sahara Desert. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46: 1071 – 1094.
- CLARK, R. J. & CLARK, E. D., 1973: Report on a Collection of Amphibians and Reptiles from Turkey. *Occasional Papers of the California Academy of Sciences* 55: 1 – 9.
- COAD, B. W., 1995: Freshwater fishes of Iran. *Acta Scientiarum Naturalium Academiae Scientiarum Bohemicae*, Brno, 29(1): 1-64.
- ČERVENKA, J., KRATOCHVÍL, L. & FRYNTA, D., 2008: Phylogeny and Taxonomy of the Middle Eastern geckos of the Genus *Cyrtopodion* and their selected relatives. *Zootaxa* 1931: 25-36.
- DAREVSKY, I. S. & SZCZERBAK, N. N., 1978: *Eremias andersoni*, a new lizard (Reptilia, Lacertilia, Lacertidae) from Iran. *Journal of Herpetology*, 12 (1): 13 – 15.
- DAS, I., 1996: Biogeography of the reptiles of south Asia. Malabar, Florida : Krieger publishing company, 87 pp.
- DERCOURT, J., ZONENSHAIN, L. P., RICOU, L. - E., KAZMIN, V. G., PICHON, X., KNIPPER, A. L., GRANDJACQUET, C., SBORTSHIKOV, I. M., GEYSSANT, J., LEPVRIER, C., PECHERSKY, D. H., BOULIN, J., SIBUET, J. - C., SAVOSTIN, L. A., SOROKHTIN, O., WESTPHAL, M., BAZHENOV, M. L., LAUER, J. P. & BIJU - DUVAL, B., 1986: Geological evolution of the Tethys belt from the Atlantic to the Pamirs since the Lias. *Tectonophysics*, 123: 241 – 315.
- DISI, A. M., 1996: A contribution to the knowledge of the herpetofauna of Jordan. VI. The Jordanian herpetofauna as a zoogeographic indicator. *Herpetozoa* 9 (1/2): 71 – 81.
- DISI, A. M & AMR, Z. S., 1998: Distribution and ecology of lizards in Jordan (Reptilia: Sauria). *Faunistische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* 21:Suppl. 43 – 66.

- DJAMALI, M., DE BEAULIEU, J. L., SHAH – HOSSEINI, M., ANDRIEU – PONEL, V., PONEL, P., AMINI, A., AKHANI, H., LEROY, A. S., STEVENS, L., ALIZADEH, H. & BREWER, S., 2008: A late Pleistocene long pollen record from Lake Urmia, NW Iran. *Quaternary Research* 69:413–420.
- EISELT, J., 1965: Einige Amphibien und Reptilien aus der nordöstlichen Türkei, gesammelt von Herrn H. Steiner. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 67: 387 – 399.
- FELDMAN, C. R. & PARHAM, J. F., 2004: Molecular systematics of Old world stripe-necked turtles (Testudines: *Mauremys*). *Asiatic Herpetological Research*, 10: 28 – 37.
- FELSENSTEIN, J., 1985: Confidence limits on phylogeny: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-789.
- FERRIGNO, J. G., 1989: Glaciers of the Middle East and Africa - Glaciers of Iran. Satellite image atlas of glaciers of the world: 31 - 47 U.S. Geological Survey professional paper.
- FISHER, W. B., 1968: Physical geography. In: *The Cambridge history of Iran*, vol. 1: The land of Iran, pp. 3 - 110. Fisher, W. B. (ed), Cambridge University press, Cambridge.
- FORCART, L., 1950: Amphibien und Reptilien von Iran. *Verhandlungen der Naturforschenden Gesellschaft in Basel* 61, 141-156.
- FRITZ, U., AYAZ, D., BUSCHBOM, J., KAMI, H.G., MAZANAIEVA, L.F., ALOUFI, A.A., AUER, M., RIFAI, L., ŠILIĆ, T. & HUNDSDÖRFER, A.K., 2008: Go east: Phylogeographies of *Mauremys caspica* and *M. rivulata* – Discordance of morphology, mitochondrial and nuclear genomic markers and rare hybridization. *Journal of Evolutionary Biology* 21: 527 - 540.
- FRYNTA, D., MORAVEC, J., ČIHÁKOVÁ, J., SÁDLO, J., HODKOVÁ, Z., KAFTAN, M., KODYM, P., KRÁL, D., PITULE, V. & ŠEJNA, L. 1997: Results of the Czech biological expedition to Iran. Part 1. Notes on the distribution of amphibians and reptiles. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 61: 3-17.
- FU, J., 1998: Toward the phylogeny of the family Lacertidae: implications from mitochondrial DNA 12S and 16S gene sequences (Reptilia: Squamata). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9: 118–130.
- FU, J., 2000: Toward the phylogeny of the family Lacertidae - Why 4708 base pairs of mtDNA sequences cannot draw the picture. *Biological Journal of the Linnean Society* 71: 203–217.

- GABRIEL, A., 1938: The southern Lut and Iranian Baluchistan. *The Geographical Journal*, 92 (3): 193 – 208.
- GIANNASI, N., MALHOTRA, A. & THORPE, R. S., 2001: Nuclear and mtDNA Phylogenies of the *Trimeresurus* Complex: Implications for the Gene versus Species Tree Debate. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19 (1): 57 – 66.
- GRAY, J. E., 1838: Catalogue of the slender – tongued saurians with descriptions of many new genere and species. *Annals and Magazine of Natural History*, ser. 1, 1: 274 – 283, 388 – 394. (ex Anderson 1999)
- GUICKING, D., LAWSON, R., JOGER, U. & WINK, M., 2006: Evolution and phylogeny of the genus *Natrix* (Serpentes: Colubridae). *Biological Journal of the Linnean Society* 87: 127 – 143.
- GUINDON, S., GASCUEL, O., 2003: A Simple, Fast, and Accurate Algorithm to Estimate Large Phylogenies by Maximum Likelihood. *Systematic Biology* 52 (5):696-704.
- HAAS, G., 1951: Remarks on the status of the lizard *Eremias olivieri* Audouin. *Copeia* 4: 274-276.
- HAAS, G., 1952: Two Collections of Reptiles from Iraq, with Description of Two New Forms. *Copeia* 1: 20-22.
- HALL, T.A., 1999: BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- HARRIS, D. J., ARNOLD, E. N. & THOMAS, R. H., 1998: Relationships of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proceedings Biological Sciences* 265: 1939–1948
- HARRIS, D.J., SÁ – SOUSA, P., 2002: Molecular phylogenetics of Iberian wall lizards (*Podarcis*): is *Podarcis hispanica* a species complex? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23 (1), 75–81.
- HILLIS, D. M. & HUELSENBECK, J. P. 1992: Signal, noise, and reliability in molecular phylogenetics analyses. *Heredity* 83: 189-195.
- HONG, L., XIANG, J., YAN – FU, Q., JIAN – FANG, G. & LING, Z., 2006: Sexual dimorphism and female reproduction in the multi – ocellated racerunner *Eremias multiocellata* (Lacertidae). *Acta Zoologica Sinica* 52 (2): 250 – 255.
- HRAOUI – BLOQUET, S., SADEK, R.A., SINDACO, R. & VENCHI, A., 2002: The herpetofauna of Lebanon: new data on distribution. *Zoology in the Middle East* 27: 35-46.

- HRBEK, T. & Meyer, A., 2003: Closing of the Tethys sea and the phylogeny of Eurasian killifishes (Cyprinodontiformes: Cyprinodontidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 16: 17 – 36.
- HRBEK, T., KEIVANY, Y. & COAD, B. W., 2006: New species of *Aphanius* (Teleostei, Cyprinodontidae) from Isfahan province of Iran and a reanalysis of other Iranian species. *Copeia*, 2: 244 – 255.
- HUELSENBECK, J. P. & RONQUIST, F. R., 2001: MR BAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17: 754–755.
- JOGER, U. & MAYER, W., 2002: A new species of *Mesalina* (Reptilia: Lacertidae) from Abd al-Kuri, Socotra Archipelago, Yemen, and a preliminary molecular phylogeny for the genus *Mesalina*. *Fauna of Arabia* 19: 497 – 505.
- JOHNS, G. C. & AVISE, J. C., 1998: A Comparative Summary of Genetic Distances in the Vertebrates from the Mitochondrial Cytochrome *b* Gene. *Molecular Biology and Evolution* 15 (11): 1481 – 1490.
- KAPLI, P., LYMBERAKIS, P., POULAKAKIS, N., MANTZIOU, G., PARMAKELIS, A. & MYLONAS, M., 2008: Molecular phylogeny of three *Mesalina* (Reptilia: Lacertidae) species (*M. guttulata*, *M. brevirostris* and *M. bahaeldini*) from North Africa and the Middle East: Another case of paraphyly? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49: 102 – 110.
- KHAN, M. S., 1980: Affinities and Zoogeography of Herpetiles of Pakistan. *Biologia* 26 (1,2): 113 – 171.
- KHAN, M. S., 2002: Key and checklist to the lizards of Pakistan. *HERPETOZOA* 15 (3/4): 1 – 21.
- KHAN, M. S., 2004: Annotated Checklist of Amphibians and Reptiles of Pakistan, *Asiatic Herpetological Research* 10: 191-201.
- KIMURA, M., 1980. A simple model for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111-120.
- KOCHER, T. D., THOMAS, W. K., MEYER, A., EDWARDS, S. V., PÄÄBO, S. & VILLABLANCA, F. X., 1989: Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86: 6196-6200.
- KRÁL, B., 1969: Notes on the Herpetofauna of Certain Provinces of Afghanistan. *Zoologické listy* 18 (1): 55 – 66.

- KRATOCHVÍL, L., FOKT, M., REHÁK, I. & FRYNTA, D., 2003: Misinterpretation of character scaling: a tale of sexual dimorphism in body shape of common lizards. *Canadian Journal of Zoology* 81: 1112 – 1117.
- KUMAR, S., TAMURA, K., JAKOBSEN, I. B. & NEI, M., 2001: MEGA 2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. *Bioinformatics* 17: 1244-1245.
- KYRIAZI, P., POULAKAKIS, N., PARMAKELIS, A., CROCHET, P. A., MORAVEC, J., RASTEGAR – POUYANI, N., TSIGENOPOULOS, C. S., MAGOULAS, A., MYLONAS, M. & LYMBERAKIS, P., 2008: Mitochondrial DNA reveals the genealogical history of the snake-eyed lizards (*Ophisops elegans* and *O. occidentalis*) (Sauria: Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49: 795 – 805.
- LARGET, B. & SIMON, D. L., 1999: Markov chain Monte Carlo algorithms for the Bayesian analysis of phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 16: 750-759.
- LATIFI, M., 1991: Snakes of Iran. Society for the study of Amphibians and Reptiles. Oxford, Ohio. 159 pp.
- LENK, P., KALYABINA, S., WINK, M. & JOGER, U., 2001: Evolutionary Relationships among the True Vipers (Reptilia: Viperidae) Inferred from Mitochondrial DNA Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19 (1): 94 – 104.
- LEVITON, A. E., ANDERSON, S. C., ADLER, K. & MINTON, S. A., 1992: Handbook to the Middle East amphibians and reptiles. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Oxford, Ohio, 252 pp.
- LYMBERAKIS, P. & KALIONZOPOULOU, A., 2003: Additions to the herpetofauna of Syria. *Zoology in the Middle East* 29: 33 – 39.
- MACEY, J. R., SCHULTE, J. A., ANANJEVA, N. B., LARSON, A., RASTEGAR - POUYANI, N., SHAMMAKOV, S. M. & PAPENFUSS, T. J., 1998: Phylogenetic relationships among aganid lizards of the *Laudakia caucasia* species group: Testing hypothesis of biogeographic fragmentation and an area cladogram for the Iranian plateau. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10 (1): 118 – 131.
- MAUSFELD, P., VENCES, M., SCHMITZ, A. & VEITH, M., 2000: First Data on the Molecular Phylogeography of Scincid Lizards of the Genus *Mabuya*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 17 (1): 11 – 14.
- MAYER, W., MORAVEC, J. & PAVLIČEV, M., 2006: Differentiation within Syrian populations of the lizard *Mesalina brevirostris*. – Pp. 125–131, in Corti, C., Lo Cascio, P., Biaggini, M. (eds.): Mainland and insular lacertid lizards: a Mediterranean perspective. Firenze University Press, Firenze, 218 pp.

- MAYER, W. & PAVLICEV, M., 2007: The phylogeny of the family Lacertidae (Reptilia) based on nuclear DNA sequences: Convergent adaptations to arid habitats within the subfamily Eremiinae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44 (3): 1155 – 1163.
- MÉNÉTRIES, E., 1832: Catalogue raisonné des objets de zoologie recueillis dans un voyage au caucase et jusqu'aux frontières actuelles de la Perse. L'Académie Impériale des Sciences, St. – Pétersbourg, 312 pp.
- MICHAUX, J. R., LIBOIS, R., PARADIS, E. & FILIPPUCCI, M. – G., 2004: Phylogeographic history of the yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) in Europe and in the Near and Middle East. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32: 788 – 798.
- MISONNE, X., 1968: Mammals. In: The Cambridge history of Iran, vol. 1: The land of Iran, pp. 294 - 304. Fisher, W. B. (ed), Cambridge University press, Cambridge.
- MOZAFFARI, O. & PARHAM, J. F., 2007: A New Species of Racerunner Lizard (Lacertidae: *Eremias*) from Iran. *Proceedings of the California Academy of Sciences, Fourth Series*, 58 (28): 569 – 574.
- MORAVEC, J., 1994: A new lizard from Iran, *Eremias (Eremias) lalezharica* sp.n. (Reptilia: Lacertilia: Lacertidae). *Bonner Zoologische Beiträge*, 45 (1): 61 – 66.
- MORAVEC, J., 1998: Taxonomic and faunistic notes on the herpetofauna of Syria (Reptilia). *Faunistische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* 21/Suppl (10): 99 – 106.
- MORAVEC, J., 2004: Distribution and morphological variation of the lizard *Mesalina brevirostris* in Syria. - In: Pérez-Melado, V., Riera, N., Perera, A. (eds.) *The biology of Lacertid lizards. Evolutionary and ecological perspectives.* - Institut Menorquí d'Estudis. *Recerca*, 8: 245-257.
- NAYLOR, G. J. P., COLLINS, T. S. & BROWN, W. M., 1995: Hydrophobicity and phylogeny. *Nature* 373:565 – 566.
- NIKOLSKI, A. M., 1915: Faune de la Russie. Reptiles (Reptilia), volume I. Petrograd, 532 pp + 9 pls.
- NILSON, G. & ANDRÉN, C., 1978: A new species of *Ophiomorus* (Sauria: Scincidae) from Kavir desert, Iran. *Copeia*, 4: 559 – 564.
- NILSON, G. & ANDRÉN, C., 1981: Die Herpetofauna des Kavir-Schutzgebietes, Kavir-Wüste, Iran. *Salamandra*, 17(3-4): 130 – 146.

- NILSON, G., RASTEGAR - POUYANI, N., RASTEGAR – POUYANI, E. & ANDRÉN, C., 2003: Lacertas of south and central Zagros mountains, Iran, with description of two new taxa. *Russian Journal of Herpetology* 10 (1): 11 – 24.
- PAGE, R. D. M., 1996: TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357-358.
- PALUMBI, S. R., 1996: The polymerase chain reaction. In *Molecular systematics*, 2nd edition (ed. D. M. Hillis, C. Moritz & B. K. Mable), Sunderland, MA: Sinauer Associates, pp 205 – 247.
- PAVLICEV, M. & MAYER, W., 2009: Fast radiation of the subfamily Lacertinae (Reptilia: Lacertidae): History or methodical artefact? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 52 (3): 727 – 734.
- PODNAR, M., MAYER, W. & TVRTKOVIĆ, N., 2004: Mitochondrial phylogeography of the Dalmatian wall lizard, *Podarcis melisellensis* (Lacertidae). *Organisms, Diversity & Evolution* 4: 307 – 317.
- PODNAR, M., MAYER, W. & TVRTKOVIĆ, N., 2005: Phylogeography of the Italian wall lizard, *Podarcis sicula*, as revealed by mitochondrial DNA sequences. *Molecular Ecology* 14: 575 – 588.
- POSADA, D., 2008: jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256.
- POULAKAKIS, N., LYMBERAKIS, P., ANTONIOU, A., CHALKIA, D., ZOUROS, E., MYLONAS, M. & VALAKOS, E., 2003: Molecular phylogeny and biogeography of the wall-lizard *Podarcis erhardii* (Squamata: Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 28: 38 – 46.
- POULAKAKIS, N., LYMBERAKIS, P., TSIGENOPOULOS, C. S., MAGOULAS, A. & MYLONAS, M., 2005a: Phylogenetic relationships and evolutionary history of snake-eyed skink *Ablepharus kitaibelii* (Sauria: Scincidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34: 245 – 256.
- POULAKAKIS, N., LYMBERAKIS, P., VALAKOS, E., PAFILIS, P., ZOUROS, E. & MYLONAS, M., 2005b: Phylogeography of Balkan wall lizard (*Podarcis taurica*) and its relatives inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Ecology* 14 (8): 2433 – 2443.
- PRŮŠOVÁ K., 2007: Fylogenetické vztahy bodlinatých myší rodu *Acomys* z Předního Východu a severovýchodní Afriky. Diplomová práce, PřF UK, Praha, 112 pp.
- RASTEGAR - POUYANI, N., 1999: Analysis of geographic variation in the *Trapelus agilis* complex (Sauria: Agamidae). *Zoology in the Middle East*, 19: 75 – 99.

- RASTEGAR - POUYANI, N., 2005: A multivariate analysis of geographic variation in the *Trapelus agilis* complex (Sauria: Agamidae). *Amphibia – Reptilia*, 26: 159 – 173.
- RASTEGAR - POUYANI, N., 2006: Systematics of the genus *Asaccus* (Sauria: Gekkonidae) on the Zagros mountains, Iran. *Proceedings of the 13th Congress of the Societas Europaea Herpetologica*: 117 – 119.
- RASTEGAR – POUYANI, N. & RASTEGAR – POUYANI, E., 2001: A New Species of *Eremias* (Sauria: Lacertidae) from Highlands of Kermanshah Province, Western Iran. *Asiatic Herpetological Research* 9: 107 – 112.
- RASTEGAR - POUYANI, N. & KHOSRAVANI, A., 2008: Systematics and distribution of the Iranian Plateau species of *Mesalina* (Sauria: Lacertidae). 6th Symposium on the Lacertids of the Mediterranean Basin, Lesvos, Greece, p. 44.
- RASTEGAR - POUYANI, E., RASTEGAR - POUYANI, N., KAZEMI – NOUREINI, S., JOGER, U. & WINK, M., 2009: Molecular phylogeny of the *Eremias persica* complex on the Iranian plateau (Reptilia: Lacertidae) based on the mitochondrial DNA sequences. *Zoological Journal of the Linnean Society*, in press.
- REED, C. A. & MARX, H., 1959: A Herpetological Collection from Northeastern Iraq. *Transactions of the Kansas Academy of Science* 62 (1): 91 – 122.
- SAEIDI – MEHRVARZ, S., 2004: Palaeobotany study of Iran. The Fifth lectures in memory of N.Kryshstofovich, Saint-Petesburg, Russia, pp 1 – 5.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F. & MANIATISTIS, T., 1989: *Molecular cloning: a laboratory manual*. Second edition. Cold Spring Harbor, Laboratory Press.
- SBORSHCHIKOV, I. M., SAVOSTIN, L. A. & ZONENSHAIN, L. P., 1981: Present plate tectonics between Turkey and Tibet. *Tectonophysics*, 79: 45 – 73.
- SCOTT, I. A. W., KEOGH, J. C. & WHITING, M. J., 2004: Shifting sands and shifty lizards: molecular phylogeny and biogeography of African flat lizards (*Platysaurus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31: 618 – 629.
- SEGOLI, M., COHEN, T. & WERNER, Y. L., 2002: A new lizard of the genus *Mesalina* from Mt. Sinai, Egypt (Reptilia: Squamata: Sauria: Lacertidae). *Faunistische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* 23 (9):157-176
- SEIFAN, M., GILAD, A., KLASS, K. & WERNER, Y. L., 2009: Ontogenetically stable dimorphism in a lacertid lizard (*Acanthodactylus boskianus*) with tests of methodology and comments on life-history. *Biological Journal of the Linnean Society* 97: 275 – 288.

- SHENBROT, G. & KRASNOV, B., 1997: Habitat relationships of the lizard fauna in the Ramon erosion cirque, Negev Highlands (Israel). *Journal of Zoology* 241: 429 – 440.
- SCHAMMAKOV, S., ATAEV, C. & RUSTAMOV, E. A., 1993: Herpetological map of Turkmenistan. *Asiatic Herpetological Research* 5: 127 – 136.
- SCHMIDT, K. P., 1939: Reptiles and Amphibians from Southwestern Asia. *Zoological Series of Field Museum of Natural History* 24 (7): 49 – 92.
- SCHMIDT, K. P. & MARX, H., 1956: The Herpetology of Sinai. *Fieldiana: Zoology* 39 (4): 21 – 40.
- SINDACO, R. & JEREMČENKO, V. K., 2008: The Reptiles of the Western Palearctic. Annotated checklist and distributional atlas of the Turtles, Crocodiles, Amphisbaenians and Lizards of Europe, North Africa, Middle East and Central Asia. Edizioni Belvedere, Latina, 579 pp.
- SMITH, M. A., 1935: The Fauna of British India, including Ceylon and Burma. Reptilia and Amphibia, vol II – Sauria. Taylor and Francis, London, 440 pp + 1 pl.
- STÖCK, M., MORITZ, C., HICKERSON, M., FRYNTA, D., DUJSEBAYEVA, D., EREMCHENKO, D., MACEY, J. R., PAPENFUSS, T. J. & WAKE, D. B., 2006: Evolution of mitochondrial relationships and biogeography of Palearctic green toads (*Bufo viridis* subgroup) with insights in their genomic plasticity. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41 (3): 663 – 689.
- SWOFFORD, D. L., 2002: PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony. Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- SZCZERBAK, N. N., 1974: Yaschurki Palearktiki. Akadeimya Nauk Ukrainskoi SSR Institut Zoologii. Naukova Dumka, Kiev, 296 pp. (ex Anderson 1999).
- SZCZERBAK, N. N., 1989: Catalogue of the African Sand Lizards (Reptilia: Sauria: Eremiinae: *Lampreremias*, *Pseuderemias*, *Taenieremias*, *Mesalina*, *Meroles*). *Herpetozoa* 1(3/4): 119-132.
- SZCZERBAK, N. N., 1990: Systematics and geographic variability of *Eumeces taeniolatus* (Sauria, Scincidae). *Vestnik Zoologii*, 3: 33 – 40. (in Russian, with English summary).
- TARKHNISHVILI, D., HILLE, A. & BÖHME, W., 2001: Humid forest refugia, speciation and secondary introgression between evolutionary lineages: differentiation in a Near Eastern brown frog, *Rana macrocnemis*. *Biological Journal of the Linnean Society* 74: 141 – 156.

- TCHALENKO, J. S., 1975: Seismicity and structure of the Kopet Dagh (Iran, U.S.S.R.). Philosophical Transactions for the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences, 278 (1275): 1 – 28.
- TUNIYEV, B. S., 1990: On the independence of the Colchis center of amphibian and reptile speciation. Asiatic Herpetological Research 3: 67–84.
- VEITH, M., SCHMIDTLER, J. F., KOSUCH, J., BARAN, I. & SEITZ, A., 2003: Palaeoclimatic changes explain Anatolian mountain frog evolution: a test for alternating vicariance and dispersal events. Molecular Ecology, 12: 185 – 199.
- WALTER, H. & LIETH, H., 1960: Klimadiagramm Weltatlas. Fisher. Jena. (ex Anderson 1999).
- WEBER, N. A., 1960: Some Iraq Amphibians and Reptiles with Notes on their Food Habits. Copeia 2: 153 – 154.
- WETTSTEIN, O. 1951: Ergebnisse der Österreichischen Iran – Expedition 1949/50, Amphibien und Reptilien. Sitzungsberichte der Österreichische Akademie der Wissenschaften, Wien, Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse, ser. 1, 160 (5): 427 – 448.
- WHITING, A. S., BAUER, A. M. & SITES, J. W. Jr., 2003: Phylogenetic relationships and limb loss in sub-Saharan African scincine lizards (Squamata: Scincidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 29: 582 – 598.
- WISCHUF, T. & FRITZ, U., 1996: Eine neue Unterart der Bachschildkröte (*Mauremys caspica ventrimaculata* subsp. nov.) aus dem Iranischen Hochland. Salamandra, 32 (2): 113 – 122.

8. PŘÍLOHY

Příloha 1: Matice nekorigovaných p distancí pro *M. watsonana*.

	Ard 14	Izad 08	Izad 03	Izad 04	Kush 001	Kush 02	Kush 12	Kush 13	Salaf 07	Vaz 01	Vaz 10	Gah 09	Anj	Bard 05	May 06	Tab 11	Yem 109
Ard 14																	
Izad 08	0,076																
Izad 03	0,075	0,002															
Izad 04	0,075	0,002	0														
Kush 001	0,026	0,078	0,076	0,076													
Kush 02	0,026	0,078	0,076	0,076	0												
Kush 12	0,026	0,078	0,076	0,076	0	0											
Kush 13	0,026	0,078	0,076	0,076	0	0	0										
Salaf 07	0,03	0,085	0,083	0,083	0,034	0,034	0,034	0,034									
Vaz 01	0,136	0,142	0,143	0,143	0,132	0,132	0,132	0,132	0,134								
Vaz 10	0,139	0,142	0,143	0,143	0,132	0,132	0,132	0,132	0,131	0,003							
Gah 09	0,139	0,136	0,138	0,138	0,135	0,135	0,135	0,135	0,131	0,012	0,009						
Anj	0,122	0,127	0,128	0,128	0,125	0,125	0,125	0,125	0,118	0,106	0,106	0,103					
Bard 05	0,113	0,111	0,113	0,113	0,113	0,113	0,113	0,113	0,117	0,108	0,108	0,114	0,106				
May 06	0,108	0,104	0,106	0,106	0,107	0,107	0,107	0,107	0,111	0,094	0,097	0,103	0,096	0,023			
Tab 11	0,115	0,114	0,113	0,113	0,114	0,114	0,114	0,114	0,118	0,101	0,101	0,107	0,101	0,016	0,019		
Yem 109	0,201	0,216	0,218	0,218	0,205	0,205	0,205	0,205	0,204	0,19	0,192	0,194	0,201	0,212	0,208	0,208	
<i>Acanth</i>	0,24	0,236	0,234	0,234	0,239	0,239	0,239	0,239	0,241	0,243	0,246	0,243	0,248	0,243	0,236	0,241	0,244

Příloha 2: Matice nekorigovaných p distancí pro íránské zástupce *O. elegans*.

	Os 1	Os 2	Qom 002	Qom 30	Qaz 31	Qaz 32	Fam 35	Fam 36	Khor 33	Zan 34	Miy 06	Mah 15	Morch 37	Morch 41	Izad 38	Salaf 03	Salaf 04	Fam 05	<i>Eremias</i>
Os 1																			
Os 2	0,002																		
Qom 002	0,106	0,104																	
Qom 30	0,104	0,103	0,002																
Qaz 31	0,103	0,101	0,003	0,002															
Qaz 32	0,101	0,1	0,005	0,003	0,002														
Fam 35	0,103	0,101	0,003	0,002	0	0,002													
Fam 36	0,103	0,101	0,003	0,002	0	0,002	0												
Khor 33	0,106	0,104	0,006	0,005	0,003	0,005	0,003	0,003											
Zan 34	0,101	0,1	0,005	0,003	0,002	0,003	0,002	0,002	0,005										
Miy 06	0,104	0,103	0,005	0,003	0,002	0,003	0,002	0,002	0,005	0,003									
Mah 15	0,13	0,13	0,127	0,129	0,13	0,13	0,13	0,13	0,127	0,129	0,129								
Morch 37	0,149	0,147	0,142	0,143	0,142	0,142	0,142	0,142	0,142	0,14	0,14	0,088							
Morch 41	0,149	0,147	0,142	0,143	0,142	0,142	0,142	0,142	0,142	0,14	0,14	0,088	0						
Izad 38	0,129	0,129	0,133	0,135	0,133	0,133	0,133	0,133	0,13	0,132	0,132	0,093	0,057	0,057					
Salaf 03	0,16	0,159	0,15	0,152	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,149	0,149	0,098	0,042	0,042	0,07				
Salaf 04	0,159	0,158	0,146	0,147	0,146	0,146	0,146	0,146	0,146	0,145	0,145	0,094	0,041	0,041	0,068	0,005			
Fam 05	0,103	0,101	0,003	0,002	0	0,002	0	0	0,003	0,002	0,002	0,13	0,142	0,142	0,133	0,15	0,146		
<i>Eremias</i>	0,212	0,212	0,199	0,201	0,202	0,202	0,202	0,202	0,202	0,201	0,201	0,212	0,225	0,225	0,214	0,232	0,231	0,202	
<i>Acanth</i>	0,251	0,25	0,245	0,245	0,244	0,243	0,244	0,244	0,245	0,245	0,243	0,244	0,232	0,232	0,237	0,237	0,238	0,244	0,253

Příloha 3: Kompletní seznam lokalit materiálu použitého pro morfologické analýzy.

Druh	Sbírkové označení	Lokalita	GPS	Nadm. výška (m)	Datum	Col.
<i>M. watsonana</i>	ARD 14	Ardestan, Iran	33°18'19.64" N, 52°24'2.39" E	1362	11.10.2007	Šmíd J. a kol.
<i>M. watsonana</i>	BARD 5	Bardaskan, Iran	35°14'57.92" N, 57°58'47.05" E	958	24.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	GAH 9	Gahkom, Iran	28°10'54.01" N, 55°49'20.13" E	690	20.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	IZAD 3	Izadkhast, Iran	31°31'58.45" N, 52°7'32.09" E	2180	14.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	IZAD 4	Izadkhast, Iran	31°31'58.45" N, 52°7'32.09" E	2180	14.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	IZAD 8	Izadkhast, Iran	31°31'58.45" N, 52°7'32.09" E	2180	14.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	KUSH 001	Kushk-e-Nosrat, Iran	35°6'39.11" N, 50°53'51.71" E	1010	12.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	KUSH 12	Kushk-e-Nosrat, Iran	35°6'39.11" N, 50°53'51.71" E	1010	12.10.2007	Šmíd J. a kol.
<i>M. watsonana</i>	KUSH 13	Kushk-e-Nosrat, Iran	35°6'39.11" N, 50°53'51.71" E	1010	12.10.2007	Šmíd J. a kol.
<i>M. watsonana</i>	KUSH 2	Kushk-e-Nosrat, Iran	35°6'39.11" N, 50°53'51.71" E	1010	12.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	MAY 6	Mayamey, Iran	36°24'10.17" N, 55°41'13.30" E	1086	26.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	SALAF 07	Salafchegan, Iran	34°29'20.17" N, 50°28'12.90" E	1390	12.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	TAB 11	Tabas, Iran	33°35'57.37" N, 56°54'44.12" E	663	23.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	VAZ 01	Vazireh, Iran	28°59'50.53" N, 54°46'52.49" E	1690	21.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	VAZ 10	Vazireh, Iran	28°59'50.53" N, 54°46'52.49" E	1690	21.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/100	All Abad, Iran	32°52'60.00" N, 52°59'0.00" E	1640	3.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/101	Anjireh, Iran	32°13'60.00" N, 54°22'60.00" E	1360	3. - 4.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/103	Ney Bid, Iran	29°33'0.00" N, 57°46'0.00" E	2000	6.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/109	Tal Siyah, Iran	29°51'0.00" N, 60°23'60.00" E	1480	7.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/115	Khunik, Iran	31°25'0.00" N, 60°9'60.00" E	1206	7.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/116	Khunik, Iran	31°25'0.00" N, 60°9'60.00" E	1206	7.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/117	Hoseyn Abad, Iran	31°41'60.00" N, 60°2'60.00" E	1500	7. - 8.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/118	Hoseyn Abad, Iran	31°41'60.00" N, 60°2'60.00" E	1500	7. - 8.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/119	Hoseyn Abad, Iran	31°41'60.00" N, 60°2'60.00" E	1500	7. - 8.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/127	Esmail Abad, Iran	31°58'0.00" N, 59°53'60.00" E	1320	8.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/128	Esmail Abad, Iran	31°58'0.00" N, 59°53'60.00" E	1320	8.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/129	Birjand, Iran	32°53'60.00" N, 59°15'0.00" E	1420	8.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/131	Birjand, Iran	32°53'60.00" N, 59°15'0.00" E	1420	8.5.1997	Frynta D. a kol.

Druh	Sbírkové označení	Lokalita	GPS	Nadm. výška (m)	Datum	Col.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/132	Birjand, Iran	32°53'60.00" N, 59°15'0.00" E	1420	8.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/133	Birjand, Iran	32°53'60.00" N, 59°15'0.00" E	1420	8.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/134	Tuti, Iran	32°52'60.00" N, 58°31'60.00" E	980	8.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/136	Robat-e-Chan Gonbad, Iran	33°30'0.00" N, 57°37'60.00" E	1120	8. - 9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/137	Robat-e-Chan Gonbad, Iran	33°30'0.00" N, 57°37'60.00" E	1120	8. - 9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/138	Robat-e-Chan Gonbad, Iran	33°30'0.00" N, 57°37'60.00" E	1120	8. - 9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/139	Robat-e-Chan Gonbad, Iran	33°30'0.00" N, 57°37'60.00" E	1120	8. - 9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/141	Robat-e-Chan Gonbad, Iran	33°30'0.00" N, 57°37'60.00" E	1120	8. - 9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/145	Robat-e-Chan Gonbad, Iran	33°30'0.00" N, 57°37'60.00" E	1120	8. - 9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/146	Baghestan, Iran	34°8'60.00" N, 58°24'60.00" E	1880	9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/147	Baghestan, Iran	34°8'60.00" N, 58°24'60.00" E	1880	9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/148	Baghestan, Iran	34°8'60.00" N, 58°24'60.00" E	1880	9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/149	Baghestan, Iran	34°8'60.00" N, 58°24'60.00" E	1880	9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/150	Baghestan, Iran	34°8'60.00" N, 58°24'60.00" E	1880	9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/151	Baghestan, Iran	34°8'60.00" N, 58°24'60.00" E	1880	9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/157	Mahneh, Iran	34°57'0.00" N, 58°50'60.00" E	935	9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/158	Mahneh, Iran	34°57'0.00" N, 58°50'60.00" E	935	9.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/161	Anjireh, Iran	32°13'60.00" N, 54°22'60.00" E	1360	3. - 4.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	REPT/IRA/162	Anjireh, Iran	32°13'60.00" N, 54°22'60.00" E	1360	3. - 4.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	IRA - 046	Hade Hore, Iran	30°15'00.00" N, 53°08'60.00" E		28.4.1996	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	IRA - 047	Jafar Abad, Iran	33°54'60.00" N, 51°52'60.00" E	800	26. - 27.4.1996	Frynta D. a kol.
<i>M. watsonana</i>	CAS 86248	Masjid-i-Suleiman, Iran	31°57'00.00" N, 49°16'00.00" E	305	2.3.1958	Anderson S. C.
<i>M. watsonana</i>	CAS 86249	Masjid-i-Suleiman, Iran	31°57'00.00" N, 49°16'00.00" E	366	14.3.1958	Anderson S. C.
<i>M. watsonana</i>	CAS 86288	Masjid-i-Suleiman, Iran	31°57'00.00" N, 49°16'00.00" E	305	19.3.1958	Anderson S. C.
<i>M. watsonana</i>	CAS 86367	Bandar Abbas, Iran	27°33'00.00" N, 56°24'00.00" E	305	25.4.1958	Anderson S. C.
<i>M. watsonana</i>	CAS 86368	Bandar Abbas, Iran	27°33'00.00" N, 56°24'00.00" E	457	26.4.1958	Anderson S. C.
<i>M. watsonana</i>	CAS 86369	Bandar Abbas, Iran	27°33'00.00" N, 56°24'00.00" E	457	26.4.1958	Anderson S. C.
<i>M. watsonana</i>	CAS 86450	Tembi, Iran	31°45'00.32" N, 49°27'10.09" E	457	20.6.1958	Anderson S. C.
<i>M. watsonana</i>	CAS 86451	Tembi, Iran	31°45'00.32" N, 49°27'10.09" E	457	20.6.1958	Anderson S. C.
<i>M. watsonana</i>	CAS 90757	Tarnak, Afghanistan	31°51'11.00" N, 66°00'35.27" E	1300	19.2.1961	Gasperetti J.

Druh	Sbírkové označení	Lokalita	GPS	Nadm. výška (m)	Datum	Col.
<i>M. watsonana</i>	CAS 90758	Tarnak, Afghanistan	31°54'00.41" N, 66°07'25.02" E	1300	21.2.1961	McIlvaine
<i>M. watsonana</i>	CAS 90759	Tarnak, Afghanistan	31°55'15.36" N, 66°09'40.60" E	1350	21.2.1961	Troeger
<i>M. watsonana</i>	CAS 91599	Shash Gao, Afghanistan	33°41'44.80" N, 68°29'35.94" E	2600	15.4.1961	Gasperetti J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 91600	Shash Gao, Afghanistan	33°41'44.80" N, 68°29'35.94" E	2600	15.4.1961	Gasperetti J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 91601	Shash Gao, Afghanistan	33°41'44.80" N, 68°29'35.94" E	2600	15.4.1961	Gasperetti J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 96189	Jalalabad, Afghanistan	34°30'00.00" N, 70°22'00.00" E	700	28.7.1964	Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 96190	Jalalabad, Afghanistan	34°30'00.00" N, 70°22'00.00" E	700	28.7.1964	Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 96191	Jalalabad, Afghanistan	34°30'00.00" N, 70°22'00.00" E	700	28.7.1964	Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 96222	Char-e-Kar, Afghanistan	35°05'00.00" N, 69°10'00.00" E	1829	8.8.1964	Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 96223	Char-e-Kar, Afghanistan	35°05'00.00" N, 69°10'00.00" E	1829	8.8.1964	Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 96224	Char-e-Kar, Afghanistan	35°05'00.00" N, 69°10'00.00" E	1829	9.8.1964	Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 96274	Tayebat, Iran	34°30'00.00" N, 61°45'00.00" E	914		Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 97982	Qalat, Afghanistan	32°10'00.00" N, 67°00'00.00" E	1524	25.8.1964	Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 97983	Qalat, Afghanistan	32°10'00.00" N, 67°00'00.00" E	1524	25.8.1964	Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 97985	Ghaomi-Faringi, Afghanistan	32°38'00.00" N, 67°30'00.00" E	2134	23.8.1964	Clark R. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 115963	Kandahar, Afghanistan	31°36'00.00" N, 65°47'00.00" E	1100	1965	W. Street Expedition
<i>M. watsonana</i>	CAS 115964	Kandahar, Afghanistan	31°36'00.00" N, 65°47'00.00" E	1100	1965	W. Street Expedition
<i>M. watsonana</i>	CAS 115965	Kandahar, Afghanistan	31°36'00.00" N, 65°47'00.00" E	1100	1965	W. Street Expedition
<i>M. watsonana</i>	CAS 120559	130 km S Herat, Afghanistan	33°09'42.91" N, 62°10'52.88" E	1234	24.2.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120560	130 km S Herat, Afghanistan	33°09'42.91" N, 62°10'52.88" E	1234	24.2.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120561	130 km S Herat, Afghanistan	33°09'42.91" N, 62°10'52.88" E	1234	24.2.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120565	35-45 km W Jalalabad, Afghanistan	34°23'54.12" N, 69°59'59.82" E	792	7.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120566	35-45 km W Jalalabad, Afghanistan	34°23'54.12" N, 69°59'59.82" E	792	7.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120569	25 km SW Jalalabad, Afghanistan	34°14'59.30" N, 70°15'29.03" E	1067	8-10.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120570	25 km SW Jalalabad, Afghanistan	34°14'59.30" N, 70°15'29.03" E	1067	8-10.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120571	25 km SW Jalalabad, Afghanistan	34°14'59.30" N, 70°15'29.03" E	1067	8-10.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120573	56 km N Kandahar, Afghanistan	32°07'44.16" N, 65°42'57.88" E	1265	12.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120574	80 km W Kandahar, Afghanistan	31°33'34.05" N, 64°52'48.20" E	975	12.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120575	40 km SE of Kandahar, Afghanistan	31°18'51.82" N, 66°02'17.06" E	1067	7.4.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120577	30-70 km NE of Herat, Afghanistan	34°40'54.16" N, 62°31'29.75" E	1128	28-29.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.

Druh	Sbírkové označení	Lokalita	GPS	Nadm. výška (m)	Datum	Col.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120578	30-70 km NE of Herat, Afghanistan	34°40'54.16" N, 62°31'29.75" E	1128	28-29.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120579	30-70 km NE of Herat, Afghanistan	34°40'54.16" N, 62°31'29.75" E	1128	28-29.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120580	30-70 km NE of Herat, Afghanistan	34°40'54.16" N, 62°31'29.75" E	1128	28-29.3.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120590	80 km S Kabul, Afghanistan	33°48'49.44" N, 69°12'39.70" E	2347	8.5.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120591	80 km S Kabul, Afghanistan	33°48'49.44" N, 69°12'39.70" E	2347	8.5.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120592	80 km S Kabul, Afghanistan	33°48'49.44" N, 69°12'39.70" E	2347	8.5.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120593	24-50 km N Qalat, Afghanistan	32°24'28.45" N, 66°54'28.75" E	1768	9.5.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 120594	24-50 km N Qalat, Afghanistan	32°24'28.45" N, 66°54'28.75" E	1768	9.5.1968	Clark R. J., Clark E. D.
<i>M. watsonana</i>	CAS 184792	Danata, Turkmenistan	39°07'00.00" N, 55°08'00.00" E	180	7.5.1992	Macey R., Papenfuss T. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 184793	Danata, Turkmenistan	39°07'00.00" N, 55°08'00.00" E	180	7.5.1992	Macey R., Papenfuss T. J.
<i>M. watsonana</i>	CAS 228607	Khar Turan NP, Iran	35°57'59.90" N, 56°04'06.50" E	1196	4.5.2004	Parham J. F., Papenfuss T. J., Mozafari O., Fahimi H.
<i>M. watsonana</i>	CAS 228762	Khar Turan NP, Iran	35°51'39.80" N, 56°02'33.60" E	1103	4.5.2004	Papenfuss T. J., Parham J. F.
<i>M. guttulata</i>	JEM 015	Yemen	15°23'08'' N, 44°27'59" E	2646	6.10.2005	Kratochvíl L.
<i>M. guttulata</i>	JEM 109	Yemen	14°54'36" N, 49°02'14" E	1219	6.10.2005	Kratochvíl L.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 34809	Ar'Raqiyeh, Syria			1.5.1994	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 34810	Ar'Raqiyeh, Syria			2.5.1994	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 34811	Ar'Raqiyeh, Syria			2.5.1994	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 34812	Ar'Raqiyeh, Syria			1.5.1994	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 34813	Ar'Raqiyeh, Syria			2.6.1994	Moravec J.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70466	Ar'Raqiyeh, Syria			7.5.1996	Moravec J.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70471	Ar'Raqiyeh, Syria			9.5.1996	Moravec J.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70477/1	Azraq, Jordan			14.5.1996	Moravec J.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70477/2	Azraq, Jordan			14.5.1996	Moravec J.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70480/1	Petra, Jordan			21.5.1996	Moravec J.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70480/2	Petra, Jordan			21.5.1996	Moravec J.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70505	Syria			29.4.1997	Moravec J.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70506	Syria			29.4.1997	Moravec J.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70658/1	Safawi, Jordan			8.4.1986	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70658/2	Safawi, Jordan			8.4.1986	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70658/3	Safawi, Jordan			8.4.1986	Modrý D.

Druh	Sbírkové označení	Lokalita	GPS	Nadm. výška (m)	Datum	Col.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70658/4	Safawi, Jordan			8.4.1986	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70659	Site, Jordan			9.4.1986	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70660/1	Qasr Burqa, Jordan			12.4.1986	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70660/2	Qasr Burqa, Jordan			12.4.1986	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70660/3	Qasr Burqa, Jordan			12.4.1986	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70661/1	Marab Swed, Jordan			11.4.1986	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 70661/2	Marab Swed, Jordan			11.4.1986	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 71057	Kurayyima, Jordan			23.7.2000	Gvoždík V.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 71061	Jordan			16.7.2000	Gvoždík V.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 71062	Al Azraq , Jordan			20.7.2000	Gvoždík V.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 71321	Wadi Arava, Jordan			1996	Modrý D.
<i>M. guttulata</i>	NMP6V 71324	Al Muddawarah, Jordan			16.6.2000	Modrý D.

<i>O. elegans</i>	IR 002	Qom, Iran	34°40'14.25" N, 50°52'28.33" E	920	19.8.2007	Šmíd J. a kol.
<i>O. elegans</i>	IR 030	Qom, Iran	34°40'14.25" N, 50°52'28.33" E	920	12.10.2007	Šmíd J. a kol.
<i>O. elegans</i>	IR 031	Qazvin, Iran	36°05'07.56" N, 50°27'40.74" E	1360	13.10.2007	Šmíd J. a kol.
<i>O. elegans</i>	IR 032	Qazvin, Iran	36°05'07.56" N, 50°27'40.74" E	1360	13.10.2007	Šmíd J. a kol.
<i>O. elegans</i>	IR 033	Khorramdarreh, Iran	36°15'11.22" N, 49°12'08.43" E	1660	13.10.2007	Šmíd J. a kol.
<i>O. elegans</i>	IR 034	Zanjan, Iran	36°39'00.70" N, 48°35'43.08" E	1750	13.10.2007	Šmíd J. a kol.
<i>O. elegans</i>	IR 015	Mahan, Iran	29°59'12.52" N, 57°16'38.69" E	2200	24.8.2007	Šmíd J. a kol.
<i>O. elegans</i>	TUR 04/08 - 02	Osmancik, Turkey	40°58'40.97" N, 34°46'17.84" E	420	7.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	TUR 04/08 - 01	Osmancik, Turkey	40°58'40.97" N, 34°46'17.84" E	420	7.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 03	Salafchegan, Iran	34°29'20.17" N, 50°28'12.90" E	1390	12.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 04	Salafchegan, Iran	34°29'20.17" N, 50°28'12.90" E	1390	12.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 05	Famenin, Iran	35°08'49.68" N, 48°52'33.40" E	1640	11.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 06	Miyandoab, Iran	36°58'39.84" N, 46°06'34.40" E	1290	10.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 35	Famenin, Iran	35°08'49.68" N, 48°52'33.40" E	1640	11.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 36	Famenin, Iran	35°08'49.68" N, 48°52'33.40" E	1640	11.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 37	Morcheh Khort, Iran	33°05'28.77" N, 51°28'40.93" E	1670	13.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 38	Izadkhash, Iran	31°31'58.45" N, 52°07'32.09" E	2180	14.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.

Druh	Sbírkové označení	Lokalita	GPS	Nadm. výška (m)	Datum	Col.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 39	Izadkhast, Iran	31°31'58.45" N, 52°07'32.09" E	2180	14.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 40	Izadkhast, Iran	31°31'58.45" N, 52°07'32.09" E	2180	14.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IR 04/08 - 41	Morcheh Khort, Iran	33°05'28.77" N, 51°28'40.93" E	1670	13.4.2008	Šmíd J., Michalčíková E.
<i>O. elegans</i>	IRA 048	Pasargan , Iran	30°11'60.00" N, 53°09'60.00" E	1800	29.4.1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	IRA 049	Horram Abad, Iran	32°00'00.00" N, 48°30'60.00" E	1000	6.-7.5.1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	IRA 050	Trabzon, Iran	40°59'32.39" N, 39°45'17.94" E	100	květen 1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	IRA 051	Baba Hasan, Iran	30°38'60.00" N, 51°36'00.00" E	1800-2300	1.-2.5.1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	IRA 052	Baba Hasan, Iran	30°38'60.00" N, 51°36'00.00" E	1800-2300	1.-2.5.1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	IRA 053	Baba Hasan, Iran	30°38'60.00" N, 51°36'00.00" E	1800-2300	1.-2.5.1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	IRA 054	Baba Hasan, Iran	30°38'60.00" N, 51°36'00.00" E	1800-2300	1.-2.5.1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	IRA 055	Markan, 8 km V od Ev Oghli, Iran	38°52'00.00" N, 45°17'60.00" E	1000	24.4.1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	IRA 057	Dašt-E-Arzhan, Iran	29°40'00.00" N, 51°59'00.00" E	1800	1.5.1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	IRA 058	Dašt-E-Arzhan, Iran	29°40'00.00" N, 51°59'00.00" E	1800	1.5.1996	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/081	Kiziltepe, Iran	40°59'00.00" N, 34°39'60.00" E	430	28.4.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/082	5 km V od Maku, Iran	39°16'60.00" N, 44°37'00.00" E	1160	30.4.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/083	5 km V od Maku, Iran	39°16'60.00" N, 44°37'00.00" E	1160	30.4.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/084	5 km V od Maku, Iran	39°16'60.00" N, 44°37'00.00" E	1160	30.4.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/087	5 km V od Maku, Iran	39°16'60.00" N, 44°37'00.00" E	1160	30.4.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/088	10 km Z od Kashan, Iran	33°58'60.00" N, 51°16'60.00" E	1100	1.-2.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/089	10 km Z od Kashan, Iran	33°58'60.00" N, 51°16'60.00" E	1100	1.-2.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/090	10 km Z od Kashan, Iran	33°58'60.00" N, 51°16'60.00" E	1100	1.-2.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/096	Teppe Sialk, Iran	33°58'00.00" N, 51°23'60.00" E	1000	2.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/097	Teppe Sialk, Iran	33°58'00.00" N, 51°23'60.00" E	1000	2.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/099	Espidan, Iran	33°27'00.00" N, 52°01'60.00" E	1330	2.-3.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/209	3 km Z od Sorkkeh Dizaj, Iran	36°49'00.00" N, 48°55'60.00" E	740	17.-18.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/210	10 km JZ od Sorkkeh Dizaj, Iran	36°46'60.00" N, 48°51'00.00" E	1930	18.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/220	Bogakale, Turkey	40°07'00.00" N, 42°30'00.00" E	1510	20.-21.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/221	Tuzluca, Turkey	40°09'60.00" N, 43°39'60.00" E	1320	20.5.1997	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/505	Choplu, Iran	36°28'00.00" N, 47°01'60.00" E	1633	1.-2.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/506	Choplu, Iran	36°28'00.00" N, 47°01'60.00" E	1633	1.-2.10.1998	Frynta D. a kol.

Druh	Sbírkové označení	Lokalita	GPS	Nadm. výška (m)	Datum	Col.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/507	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/508	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/509	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/510	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/511	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/512	Choplu, Iran	36°28'00.00" N, 47°01'60.00" E	1633	1.-2.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/513	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/514	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/518	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/519	Ali Sadr, Iran	35°17'60.00" N, 48°17'60.00" E	1986	4.-5.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/520	Alanje, Iran	34°45'00.00" N, 47°58'00.00" E	1678	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/521	Alanje, Iran	34°45'00.00" N, 47°58'00.00" E	1678	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/522	Alanje, Iran	34°45'00.00" N, 47°58'00.00" E	1678	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/523	Bistoun, Iran	34°23'60.00" N, 47°25'60.00" E	1300 - 1600	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/526	Kare Kilise, Iran	38°57'00.00" N, 44°28'00.00" E	1970	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/527	Lendj Abad, Iran	33°27'00.00" N, 49°00'60.00" E	1709	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/528	Lendj Abad, Iran	33°27'00.00" N, 49°00'60.00" E	1709	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/529	Lendj Abad, Iran	33°27'00.00" N, 49°00'60.00" E	1709	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/530	Lendj Abad, Iran	33°27'00.00" N, 49°00'60.00" E	1709	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/574	Choqa Zanbil, Iran	32°00'60.00" N, 48°31'60.00" E	563	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/575	Choqa Zanbil, Iran	32°00'60.00" N, 48°31'60.00" E	563	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/618	Kahriz, Iran	37°49'60.00" N, 45°01'60.00" E	1156	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/619	Kahriz, Iran	37°49'60.00" N, 45°01'60.00" E	1156	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/621	Karakurt, Turkey	40°09'60.00" N, 42°36'00.00" E	1500	říjen 1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/622	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/623	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/643	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/644	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/645	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	REPT/IRA/646	Takht-e Suleiman, Iran	36°36'00.00" N, 47°14'00.00" E	2215	2.-4.10.1998	Frynta D. a kol.

Druh	Sbírkové označení	Lokalita	GPS	Nadm. výška (m)	Datum	Col.
<i>O. elegans</i>	R/IRA/1004					Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	R/IRA/1077					Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	R/IRA/1078					Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	R/IRA/1179					Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	R/IRA/1186					Frynta D. a kol.
<i>O. elegans</i>	R/IRA/1187					Frynta D. a kol.

- Příloha 4: CD**
- Alignment všech datasetů
 - Fotografie studovaného materiálu

