

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA ZOOLOGIE
ODDĚLENÍ EKOLOGIE A ETOLOGIE



**PARTENOGENETICKÉ JEŠTĚRKY Z RODU *DAREVSKIA*
JAKO EVOLUČNÍ MODEL**

Diplomová práce

Autor: Andran Abramjan

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Daniel Frynta, Ph.D.

Praha 2011

Čestné prohlášení:

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

V Praze dne 28. 9. 2011

Andran Abramjan

ABSTRAKT

Mezi ještěrkami rodu *Darevskia* (Sauria: Lacertidae) existuje několik partenogenetických linií, které jsou endemické pro oblast jižního Zakavkazska. Vysoká míra jejich heterozygotnosti, spojená s hybridním původem těchto organismů, je jedním z podstatných aspektů jejich evolučního potenciálu, stejně jako asexuální reprodukce. Na jedné straně tak stojí výhody heteroze, proti nevýhodám outbreedingové deprese či proti genetické uniformitě klonů. Cílem této práce je zhodnotit, zda tyto aspekty ovlivňují životaschopnost partenogenetických druhů a odlišují je od bisexuálních. Jako ukazatel vývojové nestability jsme zvolili míru asymetrií ve třech znacích v ošupení ještěrek. Zároveň jsme u bisexuálních a partenogenetických ještěrek zhodnotili i asymetrie v rozložení bočních modrých skvrn, které mají u lacertidů důležitou signalizační funkci. Z našich výsledků vyplývá, že v míře vývojové stability není mezi asexuálními a sexuálními druhy významný rozdíl, avšak bisexuální druhy jsou náchylnější na populační změny. Absence samců může u partenogenetických forem mít zřejmě největší vliv na zbarvení, což se projevuje ve ztrátě souměrnosti rozložení modrých skvrn.

ABSTRACT

Several parthenogenetic lineages occur within the lizards of the genus *Darevskia* (Sauria: Lacertidae) which are endemic to southern Transcaucasus. High level of heterozygosity, caused by their hybrid origin, is one of the crucial aspects of their evolutionary potential, as well as the asexual reproduction. Heterosis on one side is in the opposition to the outbreeding depression and genetic uniformity of the clones on the other side. Aim of this work is to evaluate if these aspects influence viability of parthenogenetic species and differ them from the sexual ones. We chose the amount of asymmetries as a measure of developmental instability, which we studied on three meristic characters. We also evaluated the pattern of asymmetries in lateral blue spots, which are of signaling importance in lacertid lizards. Our results suggest that there isn't significant difference between parthenogenetic and sexual species in developmental stability, but the sexual ones are more sensitive to population changes. Absence of males may have perhaps the greatest influence on coloration, resulting in loss of symmetry in the blue spots.

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych rád poděkoval doc. RNDr. Danielu Fryntovi za zprostředkování materiálu ze Zoologického muzea v Moskvě, zaučení do statistických programů a cenné připomínky během psaní této práce. Dále děkuji prof. Dr. Eduardu Yavruyanovi z Jerevanské státní univerzity za možnost pobýt v terénu v arménských horách, studovat a sbírat místní druhy ještěrek, a také za umožnění vývozu odchycených zvířat do ČR. Velký dík patří Mgr. Jitce Láskové, Mgr. Petře Frýdlové a Bc. Petře Suchomelové za neocenitelnou práci při skenování a fotografování odchycených zvířat při terénní expedici a za poskytnutí těchto digitálních obrazů. V neposlední řadě děkuji svému otci za trpělivost a obětavost při mém lovu plazů na skalnatých úbočích v Arménii.

1. ABSTRAKT
2. PODĚKOVÁNÍ
3. OBSAH
4. ÚVOD
5. LITERÁRNÍ PŘEHLED
 - 5.1. Partenogeneze u plazů
 - 5.2. Ještěrky rodu *Darevskia*
 - 5.3. Evoluční důsledky partenogeneze (Red Queen, Mullerova rohatka, genetic decay, hybridita, heteroze, fenotypová plasticita, genetická variabilita...)
 - 5.4. Asymetrie a vývojová nestabilita (flukтуаční asymetrie, atd)
 - 5.5. Hybridi a zbarvení
6. CÍLE
 - 6.1. Hraje větší roli hybridita, nebo partenogeneze?
 - 6.2. Liší se partenogenetické a bisexuální druhy v množství asymetrií?
 - 6.3. Pokud ano, lze použít flukтуаční asymetrii jako ukazatel genet.stresu?
 - 6.4. Liší se asymetrie ve zbarvení?
 - 6.5. Liší se míra variability mezi parth a bisex?
 - 6.6. Z kolika % jsou schopny epigenetické faktory ovlivňovat podobnu znaku?
7. MATERIÁL A METODIKA
 - 7.1. Materiál
 - 7.2. Zpracování materiálu
 - 7.3. Analýza obrazu
 - 7.4. Statistická analýza
 - 7.4.1. Ošupení
 - 7.4.2. Modré skvrny
8. VÝSLEDKY
 - 8.1. Ošupení
 - 8.2. Modré skvrny
9. DISKUZE
 - 9.1. ošupení
 - 9.2. modré skvrny
 - 9.3. obecné vývody
10. ZÁVĚRY
11. LITERATURA

ÚVOD

Živočichům množící se bez pomoci druhého pohlaví bylo věnováno mnoho pozornosti, ať už ze strany ekologie, genetiky či evoluční biologie obecně. Přesto panuje okolo problematiky evolučních souvislostí partenogeneze, neboli schopnosti se množit neoplodněnými vajíčky, stále mnoho nejasností. Byla vyslovena řada hypotéz, které popisují výhody a nevýhody nepohlavního rozmnožování a jejich možné důsledky, jejich testování je však mnohdy spleť.

Jednou z hojně studovaných skupin partenogenetických obratlovců jsou kavkazské skalní ještěrky rodu *Darevskia*, které byly také prvními amniotickými obratlovci, u nichž byla partenogeneze v 50. letech 20. století objevena. Od té doby byla partenogeneze u plazů zjištěna a intenzivně studována i u řady dalších druhů.¹ Touto diplomovou prací navazuji na svou bakalářskou práci, v níž jsem se věnoval problematice ještěrek rodu *Darevskia* obecně. Aktuální práce má za cíl prozkoumat na jejich příkladu některé evolučně-ekologické otázky, které byly v souvislosti s asexuálně množícími živočichy poněkud přehlíženy. Jsou to zejména vztah mezi klonalitou a morfologickými asymetriemi jako odrazy vývojové nestability. Část studie je pak věnována asymetriím ve zbarvení a případnou spojitostí s absencí samců.

¹ Ačkoli mezi odborníky panuje neshoda, zda je pojem „druh“ v případě partenogenetických organismů legitimní (viz např. Darevsky et al. 1985), je pro jednoduchost v následujícím textu používáno tohoto termínu i pro asexuální taxony.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

PARTENOGENEZE, HYBRIDITA A EVOLUČNÍ SOUVISLOSTI

Množení bez sexu je v přírodě relativně vzácným jevem, zejména pokud jde o komplexnější organismy, jakými jsou například obratlovci. Dosud je jich známo kolem 60 různých druhů (Dawley 1989). Vzhledem k celkovému počtu sexuálních taxonů v jejich fylogenetických skupinách však jde jen o zlomek. Přitom by se jednalo o mnohem úspornější způsob rozmnožování, jelikož by odpadly starosti jako je hledání partnera a z genocentrického pohledu by byly geny předány do další generace v plném počtu (Maynard Smith 1978). Přesto je převažujícím typem reprodukce pohlavní cesta. Hlavním argumentem pro úspěšnost tohoto evolučního vynálezu je udržení genetické variability. Každý jedinec má polovinu genů od jednoho a polovinu od druhého rodiče. Navíc při meióze dochází k tzv. crossing-overu, kdy dojde k výměně genetického materiálu mezi částmi chromozomů. V každé další generaci se tak ustanovuje nová, unikátní kombinace genů. Tím je zajištěna i dostatečná variabilita, díky níž se mohou organismy lépe přizpůsobovat nestálým podmínkám prostředí (Maynard Smith 1978).

Oproti tomu se vajíčko partenogenetické samice vyvine v nového jedince bez účasti spermií. Ke genetické informaci tedy nepřispívá nikdo další a organismus tak produkuje vlastní klony. Kromě partenogeneze, která je mezi plazy jediným typem asexuálního množení, existuje též mechanismus gynogeneze (spermie cizího samce pouze spustí dělení vajíčka, avšak nepřispívá svou genetickou výbavou) a hybridogeneze (otcovský genom je v každé další generaci vytěsněn a nahrazen jiným), v obojím případě jsou však potomci klony, či semiklony (Dawley 1989). Absence genetické variability, a tedy i schopnosti adaptace, by tak měla časem vést k nevyhnutelným důsledkům, které byly shrnuty mimo jiné ve dvou známých modelech:

Teorie červené královny: Van Valen (1973) navrhl hypotézu, podle níž za přežíváním druhu stojí schopnost se vyrovnat s konkurencí ostatních organismů, ať už predátorů, protivníků stejného druhu, patogenů či parazitů. Aby druh dokázal udržet krok s konkurenty, musí být schopen se přizpůsobovat stejně jako oni. Partenogenetický druh by proti tomu měl brzy vymřít, jelikož není schopen evolovat kvůli nemožnosti změnit genetickou výbavu.

V souvislosti s partenogenezí bývá často zmiňována právě parazitace, kdy by klony měly být

více nakažené cizopasníky, než bisexuální druhy. Studie Lively et al. (1990) tento předpoklad potvrdila na partenogenetických živorodkách (*Poeciliopsis*), které byly skutečně nakaženy více než jejich rodičovské formy. Moritz et al. (1991) totéž prokázali u australských partenogenetických gekonů *Heteronotia binoei*.

Müllerova rohatka: Princip Müllerovy rohatky (Muller 1964) tvrdí, že kvůli nepřítomnosti opravných mechanismů (např. rekombinace) při meióze se u asexuálních druhů musejí hromadit časem lehce škodlivé mutace, zejména delece, jejichž kumulací postupně dochází k degeneraci genomu a klon – nemaje k dispozici opravných mechanismů – posléze vymírá (Lynch et al. 1993). Některé novější studie však naznačují, že u asexuálních linií může postupem času docházet naopak k nárůstu variability a nikoli k jejímu poklesu (Janko et al. 2011).

Situace však bývá mnohem složitější, jelikož partenogenetické formy jsou ve většině případů hybridního původu. Ve výsledku jsou buď diploidní nebo triploidní, přičemž triploidní jedinci vznikají často zkřížením diploidní partenogenetické samice s běžným samcem. Proti genetické uniformitě klonů tak stojí jejich vysoká míra heterozygotnosti daná důsledkem hybridizace (Dawley 1989). Ta, jak bylo opakovaně doloženo, naopak skýtá v řadě případů výhodu, jelikož se tím eliminuje možnost homozygotnosti škodlivých recesivních alel (Kearney & Shine 2004). Efekt zvýšené životaschopnosti kříženců (heteroze) se tak projevuje například větší odolností vůči parazitární nákaze (Luikart et al. 2008, Da Silva et al. 2009). Existuje však i takzvaná outbreedingová deprese (outbreeding depression), kdy nastává opačná situace – rodičovské genomy jsou si už natolik vzdálené, že převáží efekt inkompatibility odpovídajících si genů a výsledkem je řada poruch projevujících se například sníženou životaschopností (Kearney & Shine 2004).

Partenogenetický způsob rozmnožování nicméně umožňuje svým nositelům se zbavit tzv. dvojnásobné ceny sexu – energie jinak vynaložená do produkce samců, se použije na tvorbu samic schopných se rozmnožovat stejným způsobem (Maynard Smith 1978).

Partenogenetické druhy se tam mohou množit mnohem efektivněji a rychleji se rozšířit.

Wright and Lowe (1968) přirovnávají na příkladu unisexuálních bičochvostů rodu *Aspidoscelis* (dříve *Cnemidophorus*) partenogenetické formy k plevelu („weed theory“), který je schopen se účinně šířit a úspěšně obsazovat i stanoviště, která jsou pro bisexuální druhy suboptimální, což jim patrně usnadňuje i vysoká heterozygotnost. Řada asexuálních obratlovců je navíc triploidních, což míru jejich heterozygotnosti ještě zvyšuje (Dawley 1989).

Celkový počet partenogenetických taxonů je však v porovnání s bisexuálními malý, a z fylogenetického hlediska se nacházejí v korunových skupinách, jsou tedy i relativně mladé. To svědčí ve prospěch teorie, že doba existence klonálních organismů je krátká a tyto po čase zanikají v důsledku genetické degenerace (genetic decay) (Moritz 1991, Moritz et al. 1989, 1992b, Kearney et al. 2009). Nejstarobylější známou asexuální skupinou jsou vířníci třídy *Bdelloidea*, kteří se však jako jediní vymykají představě mladých partenogenetických linií (Welch & Meselson 2000). Stále je tedy otevřená debata, nakolik jsou partenogenetické linie evolučně neúspěšnější, než bisexuální.

ASYMETRIE A VÝVOJOVÁ STABILITA

S mírou genetického stresu, kam může spadat právě například degenerace v důsledku Müllerovy rohatky, zvýšená homozygotnost nebo outbreedingová deprese, se pojí i předpoklad zvýšené pravděpodobnosti vývojové nestability. Hojně studovaným aspektem, který by mohl tento vztah odrážet, jsou odchylky od předpokládané dokonalé symetrie tělního plánu (u bilaterálních živočichů), který má představovat původní, ideální stav (Gangestad & Thornhill 1999, Leamy & Klingenberg 2005, Dongen 2006).

Asymetrií jsou definovány tři základní typy: směrová asymetrie (directional asymmetry), antisymetrie a flukтуаční asymetrie (fluctuating asymmetry). Směrová asymetrie je stálé vychýlení daného znaku na jednu stranu, s nenulovou průměrnou hodnotou. Nejčastěji bývají udávány příklady jako tvar srdce či klepeta krabů houslistů (van Valen 1962, Palmer & Strobeck 1986). Antisymetrie zas označuje jev, kdy znak nabývá v populaci vždy buď jedné, nebo druhé varianty – maxima jsou tedy dvě, každé na opačné straně od nuly, například zastoupení praváků a leváků či pravostranně a levostranně zakřivené zobáky u křivek (*Loxia*) (Benkman 1996). Směrová asymetrie i antisymetrie se tak vztahují na znaky fixované, jejichž podoba je povětšinou výsledkem selekce, ať už přírodní či pohlavní (van Valen 1962).

Oproti tomu je flukтуаční asymetrie proměnlivou veličinou, závisící na působení různých vedlejších faktorů. Vyjadřuje odchylky od stavu ideální souměrnosti jako rozdíl mezi pravou a levou stranou, kdy populační průměr je nula. Nesouměrnosti zde mají vznikat během ontogeneze v důsledku nejrůznějšího stresu, ať už genetického nebo epigenetického, respektive vlivem prostředí. S rostoucí mírou stresu při vývoji jedince tak hypoteticky stoupá i míra asymetrií, jež jsou odrazem vývojové (ne)stability jedince (Polak et al. 2004, Arnold &

Peterson 2002). Proto bylo flukтуаční asymetrii také věnováno mnoho pozornosti jako možnému indikátoru genetické kvality populací (Parsons 1992, Herczég et al. 2005, Crnobrnja-Isailovic et al. 2005). Její koncept je však stejně populární jako sporný. Z velkého množství publikací na toto téma vyplývá, že ačkoli je v celé řadě případů empiricky doložený vztah mezi flukтуаční asymetrií a genetickým či environmentálním stresem, existuje i nezanedbatelné množství případů, které tento vztah naopak nepotvrzují (metaanalýza prací o flukтуаční asymetrii např. v Palmer & Strobeck 1986). Určité závislosti však patrné jsou. Následující přehled uvádí některé z nich, s určitým zřetelem k situaci u plazů. (Pokud není uvedeno jinak, asymetrie je ve většině uvedených prací zjišťována na základě meristických znaků).

Asymetrie a teplota

Vliv inkubační teploty na morfologii plazů opakovaně dokládají četné studie. Obecně platí, že optimální inkubační teplota dává vzniknout také nejsymetričtějším jedincům, kdežto čím více se teplota od optima odchyluje, stoupá tím i množství asymetrických jedinců. Arnold & Peterson (2002) popsali tuto křivku reakční normy ve tvaru písmena „U“ u užovek *Thamnophis elegans*. Došli mimo jiné i ke zjištění, že teplotní optima se pro jednotlivé meristické znaky mohou lišit, a to i o 4°C. Větší počet abnormalit v ošupení byl i u užovek obojkových, inkubovaných při nižších teplotách (Löwenborg et al. 2011). Podobně například uvádějí Kearney & Shine (2004) u gekonů *Heteronotia binoei* či Qualls & Andrews (1999) u leguánků *Sceloporus virgatus*, vývoj více jedinců s asymetrií v počtech šupin při chladnějších inkubacích. Těmto zvířatům navíc trvala embryogeneze i delší dobu a celkově byli slabší, než jejich soukmenovci inkubovaní při vyšších teplotách. Podle studie na ještěrkách zedních (*Podarcis muralis*) zřejmě vyšší teploty neovlivňují vznik asymetrií tolik, jako nižší (Brana & Ji 2000).

Asymetrie a heterozygotnost

Studie zkoumající vztah heterozygotnosti a asymetrií lze rozdělit do dvou skupin, podle toho, zda se jedná o heterozygotnost vnitrodruhovou, závislou na faktorech jako je velikost populace, velikost areálu (či ostrova), a tedy i míra inbreedingu, nebo o heterozygotnost

mezidruhových hybridů, kde dochází naopak k narušení koadaptovaných genových komplexů (Leamy & Klingenberg 2005).

Publikace se zde ve svých výsledcích poněkud rozcházejí. Lens et al. (2000) zkoumali vztah mezi ptačími populacemi a narušeností prostředí. Dospěli ke zjištění, že méně inbrední drozdi, obývající souvislejší areály, vykazují také menší míru flukтуаční asymetrie. Podobně Bancila et al (2005) pozorovali menší míru flukтуаční asymetrie u španělských ještěrek (*Podarcis hispanica* a *bocagei*) obývajících ostrovy blíže k pevnině, které jsou tedy častěji osidlované a jejich populace je geneticky „čerstvější“. Naopak u černohorských ještěrek *Podarcis muralis* nebyla zjištěna souvislost mezi flukтуаční asymetrií a velikostí ostrova. Pevninské a ostrovní populace se nelišily (Crnobrnja-Isailovic et al. 2005). Soule (1967) uvádí, že heterozygotnost nemusí nutně znamenat větší symetrii, což dokládají i některé studie na *Drosophila melanogaster* – podle Fowlera et al. (1994) mírný inbreeding nenavýšuje u octomilek míru asymetričnosti.

Asymetrie u mezidruhových hybridů byla značně zkoumána u ryb. Zde byla podle očekávání zjištěna u umělých kříženců větší míra flukтуаční asymetrie v meristických znacích, než u rodičovských druhů, ať už v případě amerických pstruhů (*Salvelinus*, *Oncorhynchus*) či jehel rodu *Enneacanthus* (Leary et al 1985a, Graham & Felley 1985). Outbreedingová deprese je však zjevná u řady případů křížení, kdy hybridní heterozygotnost způsobuje větší vývojovou nestabilitu. U ještěrek jsou známy deformace hlavy u laboratorních kříženců *Lacerta schreiberi* a *L. agilis grusinica* (Rykena 1996). Defektní embrya se rovněž vyskytla u uměle hybridizovaných ještěrek rodu *Darevskia* (Danielyan 1987).

Asymetrie a klonální rozmnožování

Klonální organismy představují v rámci hybridních heterozygotů zvláštní kategorii vzhledem ke způsobu rozmnožování. Jejich souvislosti s asymetrií však bylo věnováno jen málo publikací. Leary et al. (1985b) pozorovali u laboratorně vytvořeného gynogenetického pstruha duhového opačný efekt, kdy byla větší asymetrie způsobena větší homozygotností. Vrijenhoek & Lerman (1982) porovnávali sexuální a triploidní asexuální linie živorodek rodu *Poeciliopsis*. Mezi oběma liniemi nebyl celkově signifikantní rozdíl ve vývojové stabilitě,

avšak u sexuálních živorodek byla patrná korelace flukтуаční asymetrie se stupněm izolace populací – s klesající heterozygotností míra asymetrie stoupala.

Z partenogenetických plazů byl v tomto ohledu zkoumán komplex australských gekonů *Heteronotia binoei*, který tvoří jednak diploidní bisexuální druhy, a jejich triploidní partenogenetičtí hybridi. Ani zde nebyl obecně zjištěn zásadní rozdíl v asymetrii (labiálních štítků) v závislosti na reprodukčním modu. Jisté rozdíly byly však zaznamenány ve vývojové úspěšnosti (více mláďat s defekty se líhlo u partenogenů), a v reakci na inkubační teplotu (partenogeni byly tolerantnější k širšímu spektru teplot) (Kearney & Shine 2004). Stejně jako v případě živorodek se tedy zdá, že klonální druhy se i přes genetickou uniformitu dokáží vyrovnávat se změnami prostředí díky heterozygotnosti – nejsou totiž postiženi jejím poklesem v případě úbytku jedinců v populaci (Vrijenhoek & Lerman 1982, Kearney & Shine 2004).

Asymetrie a modrá barva

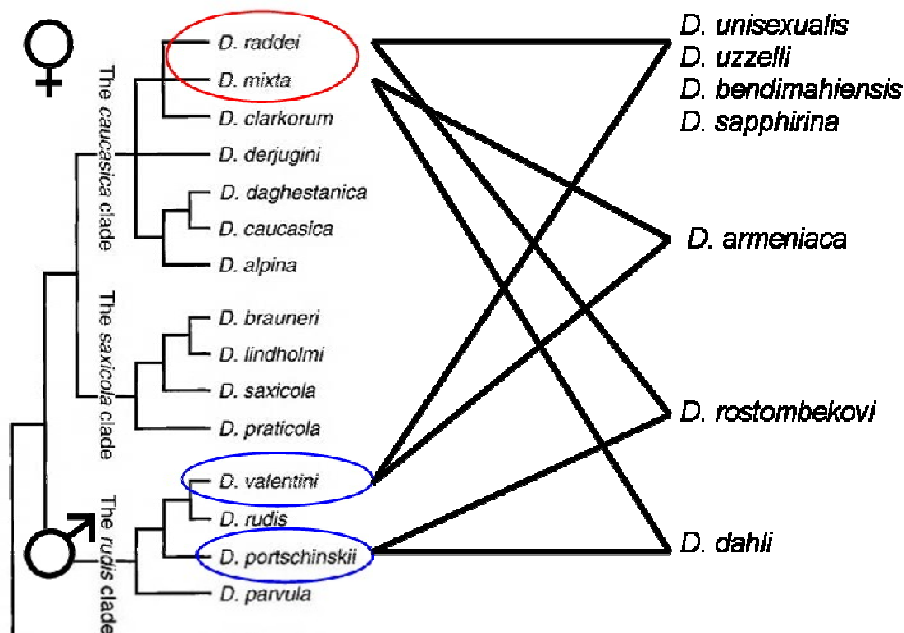
V souvislosti s asymetrií barevných vzorů se nejčastěji zmiňuje role pohlavního výběru, kdy je symetrie považována za známku dobré kondice, a tudíž jsou symetričtější samci více preferováni samicemi (Swaddle & Cuthill 1994, Morris & Casey 1998). U ještěřů je klíčovým signálním prvkem modrá barva, zejména během období rozmnožování, kdy nabývá na intenzitě. Je ponejvíce soustředěna na hrdlo, ramena a boky samců a zároveň jasně svítí v UV světle, jak dokládají například práce na druzích *Lacerta viridis*, *Timon lepidus*, nebo ještěrkách rodu *Gallotia*. Přirozeně je tedy i ve středu pozornosti pohlavního výběru (Bajer et al. 2010, Font et al. 2004, 2009). U řady ještěrek se však jasně modré zbarvení zároveň přenáší i na samice, například u baleárské *Podarcis pityusensis*. Jak bylo doloženo, u některých druhů živočichů bývají pestře zbarvení nejen samci, ale i samice. Preference pro samčí fenotyp se tedy zřejmě může dědit i s tímto fenotypem, zejména není-li vázán na pohlavní chromosomy (Dappen 2011, Pryke & Griffith 2007, Wilkinson et al. 2005). Současně však bývají modří jedinci vystaveni většímu riziku predace (Dappen 2011), zejména za strany ptáků, jejichž zrak je na ultrafialové spektrum rovněž citlivý (Cuthilla et al. 2000). Dosud však nebyly testovány souvislosti mezi asymetrií modrého zbarvení a partenogenezí.

PARTENOGENETICKÉ JEŠTĚRKY RODU DAREVSKIA

V současné době je známo více než 40 druhů partenogenetických plazů, náležících k deseti čeledím. Nejsou soustředěné v žádné konkrétní fylogenetické větvi ani geografické oblasti a z naprosté většiny se jedná o diploidní či triploidní hybridy, kteří vznikli zkřížením bisexuálních druhů (Vrijenhoek 1989, Kearney et al. 2009). Mezi nejstudovanější partenogenetické plazy patří jednak američtí bičochvosti rodů *Aspidoscelis* a *Cnemidophorus* (*Teiidae*), australský komplex bisexuálních a partenogenetických gekonů *Heteronotia binoei*, a kavkazské skalní ještěrky rodu *Darevskia* (dříve *Lacerta*), které byly prvními plazy, u nichž byla partenogeneze objevena (Darevsky 1957).

K rodu *Darevskia* náleží kolem dvaceti bisexuálních druhů, žijících od Balkánského poloostrova po severní Írán, s největší druhovou diverzitou v oblasti Kavkazu a Zakavkazska. Zde se také nachází ohnisko výskytu sedmi diploidních partenogenetických forem: *Darevskia armeniaca*, *D. dahli*, *D. rostombekovi*, *D. unisexualis*, *D. uzzelli*, *D. bendimahiensis* a *D. sapphirina*. (Darevsky 1967, Ananjeva et al. 2006, Sindaco et al. 2000). Hybridní původ těchto forem byl opakovaně potvrzen na základě proteinové elektroforézy, alozymových studií, mitochondriální DNA, studia satelitů či DNA fingerprintingu. (Uzzell & Darevsky 1975, Moritz et al, 1992a, Murphy et al. 2000, Ryabinina et al. 1999, Korchagin et al. 2007). Ukázalo se, že původ těchto partenogenetických ještěrek je fylogeneticky velmi úzce vymezen. Na jejich vzniku se podílely čtyři bisexuální druhy: *D. mixta*, *D. raddei*, *D. portschinskii* a *D. valentini*, přičemž maternální druhy *D. mixta* a *D. raddei* náleží k jedné fylogenetické větvi kavkazských ještěrek, zatímco paternální *D. portschinskii* a *D. valentini* k druhé (obr 1.). Odhaduje se, že ke vzniku partenogenetických forem došlo během nebo po posledním zalednění Kavkazu, přibližně před 10-15 000 lety (Moritz et al, 1992a, Murphy et al. 2000)

Druhy *D. uzzelli*, *D. bendimahiensis* a *D. sapphirina* se vyskytují na území východního Turecka a doposud byly prozkoumány velmi chabě. Naprostá většina prací – včetně této – se proto zabývá zbylými čtyřmi druhy, hojně se vyskytujícími v Arménii a Gruzii, které byly zevrubně studovány již od svého objevení ruským herpetologem Iljou Darevským (podle nějž byl nedávno také vytvořen nový rodový název *Darevskia*).



Obr. 1. Schéma fylogeneze ještěrek rodu *Darevskia* a původu partenogenetických forem. Podle Murphy et al. (2000).

Jak bylo řečeno v předchozích kapitolách, u partenogenetických obratlovců jsou z evolučního hlediska významné dva, spíše protichůdné aspekty – vysoká heterozygotnost a nízká genetická variabilita. Zde je uveden stručný přehled souvislostí o projevech těchto aspektů u ještěrek rodu *Darevskia*:

Počet vzniků. Ačkoli je vícečetný (polyklonální) původ u ostatních plazů obvyklý (Moritz et al. 1989), práce na ještěrkách rodu *Darevskia* se shodují, že jsou s největší pravděpodobností monoklonálního původu. Alozymové studie sice v rámci jednotlivých druhů (zejména *D. armeniaca* a *D. dahli*) odhalily klony lišící se několika mutacemi, avšak jejich frekvence byla tak vzácná, že se pravděpodobně jednalo spíše o mutace de novo (Fu et al. 2000a,b, Murphy et al. 1997, MacCulloch et al. 1997). Stejně tak se ukázalo, že mitochondriální DNA mají partenogenetické formy takřka totožnou s některými z populací druhů rodičovských, vzniky jednotlivých unisexuálních linií tedy zřejmě byly také geograficky velmi omezeny (Fu et al. 2000c, Murphy et al. 2000).

Heterozygotnost. Podobně jako u ostatních partenogenetických plazů vykazují i unisexuální ještěrky rodu *Darevskia* vysokou míru heterozygotnosti. Na základě alozymů byla určena v závislosti na druhu na 40-45%. Heterozygotnost se u rodičovských druhů pro srovnání pohybuje mezi od 1 do 7 % (MacCulloch et al. 1995, 1997a; Bobyn et al. 1996) (tab. 1).

Druh	Průměrná heterozygotnost	Procento polymorfních lokusů	Průměrný počet alel na lokus
<i>D.armeniaca</i>	44.70%	45.71	1.46
<i>D.dahli</i>	39.83%	40	1.405
<i>D.rostombekovi</i>	42.40%	42.42	1.42
<i>D.unisexualis</i>	40.25%	40.42	1.4075
<i>D.raddei</i>	1.16%	6.975	1.147
<i>D.portschinskii</i>	4.30%	13.555	1.1825
<i>D.valentini</i>	1.08%	4.17	1.0925

Tabulka 1. Heterozygotnost u partenogenetických a bisexuálních druhů rodu *Darevskia*. Podle MacCulloch et al. 1995, 1997a; Bobyn et al. 1996.

Heteroze. Partenogenetické ještěrky rodu *Darevskia* mají oproti bisexuálním řadu výhod, plynoucích zjevně z vysoké míry heterozygotnosti. Je důvod se domnívat, že z mnoha částí svého areálu vytlačily původní bisexuální druhy, už jen proto že areály rodičovských druhů jsou v současnosti v zásadě alopatické (Darevsky 1967). Na řadě lokalit navíc žije více druhů partenogenů, avšak v absenci bisexuálních druhů. Darevsky (1992) uvádí případ, kdy po vyschnutí vodních zdrojů na jedné lokalitě v Gruzii z této lokality vymizela bisexuální *D. rudis*, kdežto unisexuální *D. dahli* přetrvala, což může souviset s větší odolností vajec *D. dahli* vůči vysušení. Poslední studie rovněž podporují domněnku, že *D. dahli* (potažmo partenogeny rodu *Darevskia* obecně) vytlačují své rodičovské druhy z jejich původních stanovišť (Tarkhnishvili et al. 2010).

Danielyan et al. (2008) uvádějí, že partenogenetické *D. armeniaca* a *D. unisexualis* jsou dokonce signifikantně méně nakažené nejrůznějšími parazity, než jejich bisexuální příbuzné, tedy je tomu zcela opačně než u partenogenetických gekonů rodu *Heteronotia* (Moritz et al. 1991). Za zmínku stojí i fakt, že v 60. letech byla *D. armeniaca* experimentálně vysazena do zcela odlišného prostředí na střední Ukrajinu. Přesto se zde uchytila, začala dosahovat větší tělesné velikosti a populačních hustot než ve své domovině a tato populace existuje do současnosti (Darevsky 1992, Docenko et al. 2009)

Vývojová stabilita. Navzdory poměrně značné odolnosti těchto partenogenů vůči nepříznivým podmínkám jich však značná část hyne již během embryonálního vývoje. Darevsky (1966) uvádí, že ve zhruba 5-7% vajec se nacházejí zruďná embrya, která kvůli nejrůznějším deformitám a letálním poruchám hynou ještě ve vejci, nebo nejsou schopna se vyklubat. U bisexuálních druhů je procento postižených zárodků maximálně 1,5%. Patrně jde o přímý důsledek nekompatibility genomů rodičovských druhů, jelikož zcela stejné typy deformit

zaznamenal Danielyan (1987) u zárodků uměle nakřížených hybridů bisexuálních druhů ještěrek.

Variabilita. Genetická variabilita je klonů rodu *Darevskia* poměrně dobře prostudovaná na mini a mikrosatelitních sekvencích. Obecně platí, že vnitrodruhová shoda se pohybuje okolo 95% a zbylá variabilita je pravděpodobně způsobena spontánními mutacemi nekódujících sekvencí a mobilními retroelementy (Martirosyan et al. 2006, Davoyan et al. 2007). Nejvíce proměnlivou je v tomto směru *D. unisexualis*, u níž je možné dle specifických sekvencí rozeznat individua (Ryskov et al. 2003).

Fenetická variabilita je v průměru o něco nižší než u bisexuálních druhů, avšak existují i znatelné mezipopulační rozdíly, například u *D. rostombekovi*. Plastická odpověď těchto organismů na epigenetické faktory tedy zřejmě není zcela potlačena (Darevsky 1967, Darevsky et al. 1985).

CÍLE

Cíle této práce tedy jsou:

- Porovnat míru vývojové nestability mezi partenogenetickými a bisexuálními formami ještěrek na základě vývojových asymetrií
- Zjistit, zda může mít reprodukční modus vliv na zbarvení
- Posoudit, zda má na evoluci těchto ještěrek větší vliv partenogeneze, či hybridní původ

MATERIÁL A METODIKA

Materiál

Pro tuto studii jsme využili fotografie fixovaných exemplářů ze sbírek Zoologického Muzea v Moskvě, čítající dohromady 450 jedinců všech osmi druhů: *Darevksia mixta* (n = 57), *D. raddei* (včetně *D. r. nairensis*) (n = 57), *D. portschinskii* (n = 73), *D. valentini* (n = 34), *D. armeniaca* (n = 70), *D. dahli* (n = 70), *D. rostombekovi* (n = 27) a *D. unisexualis* (n = 62). Materiál jsme posléze rozšířili o 79 živých jedinců, odchycených během terénní expedice v Arménii v červenci 2010: *D. raddei* (n = 12), *D. armeniaca* (n = 57), *D. dahli* (n = 1), *D. rostombekovi* (n = 1) a *D. unisexualis* (n = 7). Dohromady tak soubor dat čítal 529 ještěrek, z toho 234 bisexuálních (113 samců, 121 samic) a 295 partenogenetických. Celkové četnosti jednotlivých druhů, lokalit a katalogizačních čísel jsou shrnuty v příloze.

Zpracování materiálu

Všechny exempláře byly vyfotografovány na milimetrovém papíře z dorzální a ventrální strany, živí jedinci navíc i z obou laterálních. Ke každému byl pak pořízen detail hlavy z dorzální, ventrální a laterální strany. U živých zvířat byl sejmuto obraz ventrální a dorzální strany také pomocí skeneru (CanoScan LiDE 100) při rozlišení 600 bodů na palec. Břišní strana byla nasnímana ve 3 variantách, hřbetní v jedné, pokaždé i s měřítkem v podobě kousku milimetrového papíru přilepeného ke sklu skeneru. Živí jedinci pak byli pomocí speciálních fixů individuálně označeni na hlavě jedinečnou kombinací barev a každému byl přiřazen identifikační kód.

Všem exemplářům byly změřeny následující veličiny: délka těla od špičky čenichu k ústí kloaky (snout-vent length – SVL), délka hlavy (head length – HL) a šířka hlavy (head width – HW). Pohlaví každého zvířete bylo určeno pomocí několika ukazatelů: přítomnosti hemipenisů (pokud byly vypitvány), velikosti stehenních pórů, poměrem HL:SVL, počtem ventrálních štítků a otisků čelistí na břiše. Darevsky (1967) uvádí počet ventralií jako pohlavně dimorfní znak. Podobně zmiňuje i otisky čelistí jako jev typicky nacházený u samic (samci si během páření přidržují samice za trup). Pro nedostatečnou spolehlivost však bylo k těmto znakům přihlédnuto jen v některých případech.

Rozhodli jsme se též zaznamenat údaje o nadmořské výšce jako aproximaci potenciálních epigenetických faktorů, jako je teplota prostředí a množství UV záření. Při terénním sběru

jsme určovali nadmořskou výšku za pomoci zařízení GPS. U muzejních exemplářů jsme nadmořskou výšku zpětně odvodili podle lokality sběru s využitím aplikace Gogole Earth. Jedincům s nedostatečně upřesněnou lokalitou jsme přiřadili průměrnou hodnotu nadmořské výšky, spočítanou z hodnot ostatních příslušníků téhož druhu.

Analýza obrazu

Z fotografií a skenů jsme posléze počítali jednotlivé znaky. Spolehlivý znak k určování asymetrií představuje ošupení ještěrek, jelikož jednotlivé štítky tvoří diskrétní jednotky, jejichž přítomnost, absence či počet jsou detekovatelné poměrně snadno a jednoznačně. Z tohoto důvodu jsme vybrali ke sledování tři meristické znaky: Příčné řady ventrálních štítků (V), supratemporální štítky (ST) a preanální štítky (PA). Ventrální štítky se nacházejí v řadách, z nichž se každá sestává ze šesti štítků. Celkově jsou tedy komplexnějšími strukturami, jejichž změny by mohly být jasnějším odrazem vývojové nestability.

Čtvrtým zkoumaným typem asymetrie byly nesouměrnosti ve zbarvení, konkrétně v rozložení modrých skvrn na vnějších podélných řadách ventralií.

Supratemporalia

Pro každého jedince jsme spočítali počet supratemporálních štítků po pravé i levé straně hlavy. Nenulový rozdíl v počtu mezi oběma stranami jsme pak definovali jako asymetrii.

Preanalia

Preanální štítky u ještěrek zaujímají dva možné způsoby postavení. Buď je počet štítků lichý a osa souměrnosti prochází jedním – často zvětšeným – štítkem uprostřed, nebo je počet sudý a osa pak prochází mezi dvěma prostředními štítky. Z tohoto důvodu jsme zde definovali dva typy asymetrie – početní a tvarovou. Početní asymetrie vyjadřuje nestejný počet šupin vpravo a vlevo od prostředního preanálního štítku, resp. prostředního páru štítků. Tvarovou asymetrii zas představuje výrazný rozdíl ve velikosti prostředních dvou štítků u „sudého“ typu uspořádání. Ne vždy však prochází osa souměrnosti přesně středem jednoho štítku, či hranicí mezi dvěma sousedícími. V takových případech není určení, zda jde o asymetrii tvarovou či početní jednoznačné, proto jsme zde zaznamenávali pouze přítomnost či absenci asymetrie .

Ventralia a modré skvrny

Jelikož jsou modré skvrny přímo vázané na ventrální štítky, zhotovili jsme nejdříve pro každého jedince schematický záznam počtu řad břišních štítků, který jsme použili jako podklad pro sledování obou znaků. Sloupce tabulky, očíslované 1 – 31 (což je maximální počet ventrálních řad pro ještěrky rodu *Darevskia*), jsme vyplnili příslušným počtem nul, odpovídajícím počtu řad ventralií. Přítomnost asymetrie v dané řadě jsme pak zakódovali buď jako „L“ pro levostrannou asymetrii, nebo „R“ pro pravostrannou asymetrii. Jejich součtem jsme získali celkový počet asymetrií na břicho a rozdilem údaj o lateralitě.

Řady, které nepřesáhly osu souměrnosti, jsme definovali jako řady vmezežené. Byly připočteny k celkovému počtu řad a laterality těchto asymetrií byla určena stranou vmezežení. Naopak pokud byla jinak celistvá řada přerušena na jednom místě (chybějící štítek) a nikoli v celé polovině těla, bylo za asymetrii považováno právě místo přerušení.

Asymetrii jsme zde vymezili jako jednostranné početní či strukturální narušení řádu ošupení břicha. Tedy jako anomálii nesoucí známky ontogenetické poruchy (vmezežení či rozdvojení řady, přerušení řady, splynutí štítků...).

Modré skvrny.

V případě modrých skvrn jsme postupovali podobně, s tím rozdílem, že informace byly kódovány čtyřmi symboly: „0“ – řada beze skvrn, „L“ – skvrna vlevo, „R“ – skvrna vpravo, „S“ – skvrny po obou bocích. Součtem L + R jsme získali celkový počet asymetrií, součtem L + R + S celkový počet řad s přítomností modré barvy a rozdilem L – R míru laterality.

U některých druhů, zejména *Darevskia raddei*, se kromě čistě modrých skvrn vyskytuje na vnějších podélných řadách břišních štítků též azurová barva. Azurovou jsme se však rozhodli nezahrnout do pojmu „modrá“ z několika důvodů: 1) ne u všech zkoumaných druhů je azurová barva – na rozdíl od modré – přítomna, 2) zahrnutí azurové barvy by vyrušilo případné asymetrie modrých skvrn, protože se zpravidla rozprostírá pro celé délce bočních řad a 3) fixované exempláře časem ztrácejí původní barevnost a azurové plochy blednou výrazně rychleji, než modré, které jsou mnohem stálější. Pro co největší spolehlivost jsme z fixovaných jedinců vybrali pouze ty, u nichž měly modré skvrny zřetelné okraje, čímž však také poklesla velikost studovaného vzorku.

Statistická analýza

K analýze jsme použili software Statistica 7.0 a R 2.13.1. Před započítáním samotné analýzy jsme ověřili typ rozdělení dat v rámci jednotlivých proměnných (počty asymetrií) i pro jednotlivé kategorie (samci – samice, bisexuální – partenogenetické druhy). Tam, kde rozdělení neodpovídalo zcela poissonovskému, jsme je zanesli do modelu jako quasipoissonovské. Transformací nebylo třeba.

Data k lateralitě jsme vyhodnotili za pomoci znaménkového testu. K obecným srovnáním průměrů a variancí jsme použili t-test, respektive F-test.

Pomocí zobecněných lineárních modelů (GLM) a následné analýzy variance (ANOVA) jsme otestovali vliv potenciálních faktorů (fylogenetická skupina, druh, pohlaví, nadmořská výška, délka těla, počet šupin) na četnost asymetrií či asymetrických jedinců v populaci. Nejprve jsme test provedli pouze na bisexuálních druzích, s druhem, pohlavím, délkou těla, nadmořskou výškou a interakcí druh–pohlaví jako faktory. Model jsme pak postupně zjednodušovali podle Akaikeho informačního kritéria (AIC), dokud jsme nedospěli k nejúspornějšímu vysvětlujícímu modelu. Pro větší jistotu jsme tentýž postup zopakovali i s jinými hierarchickými uspořádáními proměnných (Pekár & Brabec, 2009).

Posléze jsme aplikovali zjednodušený model GLM na celý soubor dat zahrnující i partenogeny, s reprodukčním modem (resp. příslušností k partenogenetické linii) jako dalším faktorem. Výsledek jsme ověřili v konečném srovnání partenogenetických a bisexuálních druhů přísnější metodou marginálních modelů funkcí geeglm (knihovna GEE, zobecněné rovnice odhadu), s druhem jako náhodným faktorem (s nastavením zaměnitelné korelační struktury) a příkazem anova. (Pekár & Brabec, v tisku).

Rozdíly v počtu ventrálních řad mezi bisexuálními a partenogenetickými formami jsme porovnávali metodou zobecněných nejmenších čtverců (GLS), kde byl druh opět jako náhodný faktor, a následným příkazem anova (Pekár & Brabec, v tisku).

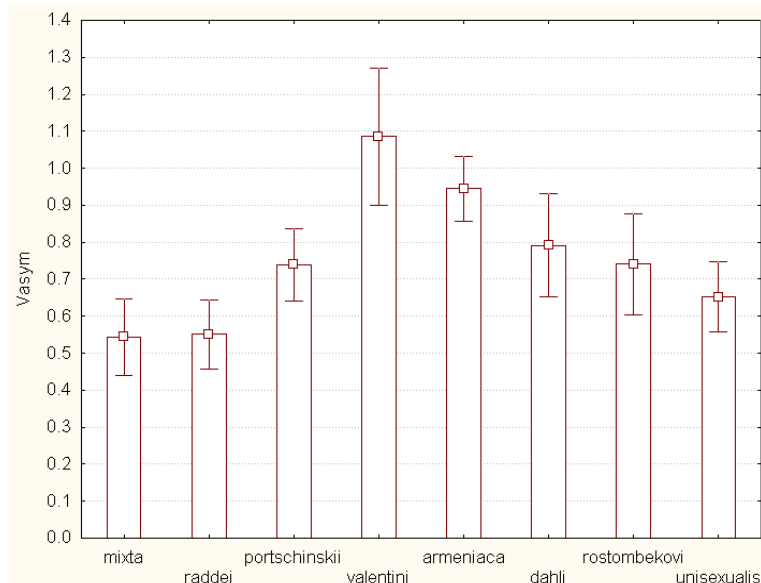
VÝSLEDKY

OŠUPENÍ

Ventralia

Počet ventralií u partenogenetických a bisexuálních forem. V celkovém srovnání partenogenetických a bisexuálních forem jsme podle očekávání zjistili rozdíl mezi pohlavími ($F = 377$; $p < 0,0001$). Po odstranění samců se již nevyjevil mezi bisexuálními a partenogenetickými samicemi žádný rozdíl ($F = 0,17$; $p = 0,68$).

Frekvence asymetrií. U partenogenetických i bisexuálních forem jsme zaznamenali podobné rozdělení v četnosti asymetrií i stejné rozpětí poruch na jedince (0 – 5). Partenogenetické druhy však oproti bisexuálním vykazovaly o něco větší průměrný počet asymetrií na ještěrku (0,82 proti 0,69) a rozptyl (0,95 proti 0,75). Na druhou stranu nejvíce nesouměrností na jedince připadlo na bisexuální *D. valentini* (1,08; obr. 2). Údaje rozepsané pro jednotlivé druhy jsou v příloze II.

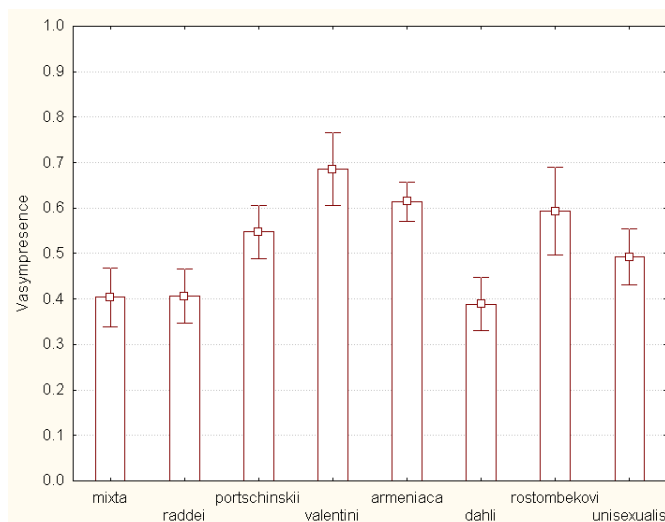


Obr 2: Průměrné hodnoty počtu asymetrií na jedince vynesené pro bisexuální (mixta-valentini) a partenogenetické (armeniaca-unisexualis) druhy. Úsečky značí střední chybu průměru.

V rámci bisexuálních druhů jsme nezjistili rozdíl mezi pohlavími, avšak jako významný se ukázal počet ventrálních řad ($p = 0,0014$) a druhová příslušnost ($p = 0,012$), která je patrná i z grafu na obr 2.

V celkovém srovnání metodou GEE, kam jsme druh zanesli jako náhodný faktor, se však nepodařilo potvrdit rozdíl mezi partenogeny a bisexuálními druhy. Příslušnost k unisexuálním liniím se ukázala jako statisticky nevýznamná ($\chi^2 = 1,00$; $p = 0,317$), avšak stále byl patrný efekt počtu řad ($\chi^2 = 26,25$; $p < 0,0001$).

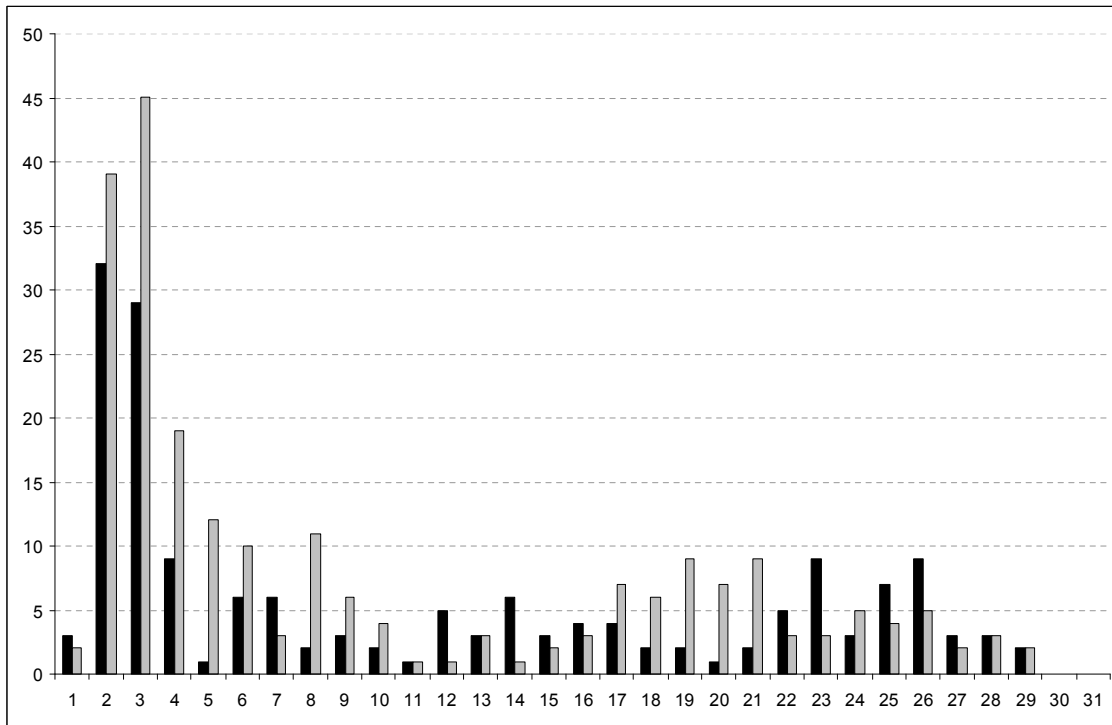
Frekvence asymetrických jedinců. Při testování četnosti asymetrických jedinců byl opět prokazatelný rozdíl mezi druhy, a to jak v rámci bisexuálních ($p = 0,017$), tak i všech zkoumaných taxonů ($p = 0,002$). Ostatní faktory vyšly neprůkazně. Nejméně asymetrických individuí se nacházelo mezi maternálními druhy (*D. mixta* a *D. raddei*) a z partenogenetických u *D. dahli* (kolem 40%), zatímco nejvyšší výskyt byl opět u *D. valentini* a z unisexuálních forem u *D. armeniaca* (mezi 60-70%; obr 3). Celkově se podíl asymetrických jedinců pohyboval u rodičovských druhů i partenogenetických hybridů kolem 50%, není tedy překvapivé, že nevyšel statisticky významně ($\chi^2 = 0,084$; $p = 0,77$). Shrnutí pro jednotlivé druhy je v příloze II.



Obr 3: Poměrné zastoupení asymetrických jedinců v rámci druhu. Na ose y procentuální škála (0 – 100%). Bisexuální druhy šedě, partenogenetické bíle. Úsečky značí střední chybu průměru.

Lateralita asymetrií. Znaménkovým testem jsme zjistili přítomnost směrové asymetrie, s průměrným vychýlením doleva o $0,11 \pm 0,80$ asymetrie ($Z = 3,407$; $p < 0,001$). Z celkové frekvence nesouměrností pro jednotlivé řady je patrné, že oblastí s nejvyšším výskytem je prvních pět řad ventralií (obr.4). Po jejich odečtení již nebyl tento trend statisticky průkazný ($p = 0,324$).

Test provedený odděleně pro obě pohlaví a zároveň pro partenogenetické a bisexuální druhy však na 5% hladině neodhalil významný rozdíl mezi stranami u asexuálních forem ($p = 0,214$; $Z = 1,24$). Oproti tomu rodičovským druhům vyšla směrová asymetrie pro obě pohlaví, pokud jde o ventralia celkově ($p < 0,001$; $Z = 3,65$). U prvních pěti řad byla prokazatelná pouze u samic ($Z = 3,20$; $p = 0,0013$; tabulka 2).



Obr 4: Souhrnná četnost asymetrií pro jednotlivé řady ventrálních štítků. Pravostranné asymetrie černě, levostranné šedě.

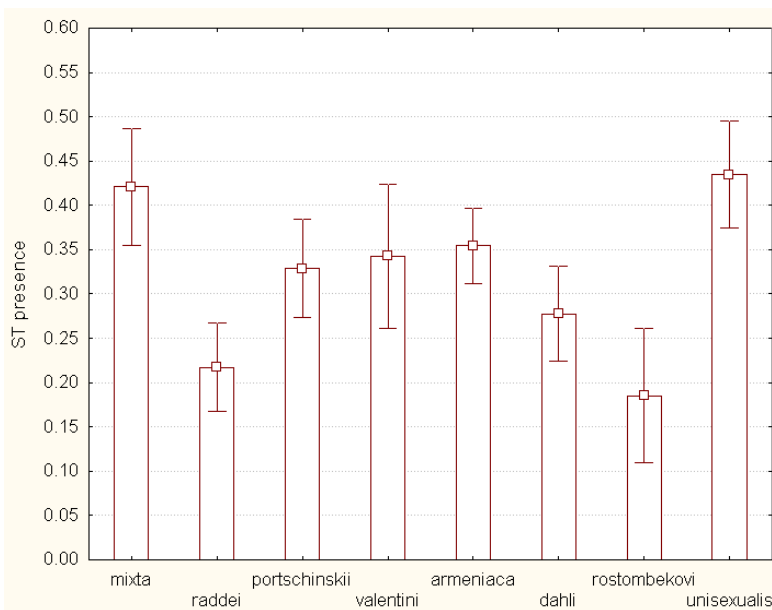
	Řady celkem				Hrud' (řada 1 – 5)		
	N	L<50<P	Z	p	L<50<P	Z	p
Bisex.	234	30.92784	3.655246	0.000257	30.66667	3.233162	0.001224
samci	113	34.69388	2.000000	0.045500	38.88889	1.166667	0.243345
samice	121	27.08333	3.031089	0.002437	23.07692	3.202563	0.001362
Parten.	295	44.09449	1.242299	0.214126	40.81633	1.717259	0.085932
Celkem	529	38.39286	3.407581	0.000655	36.41618	3.497315	0.000470

Tabulka 2. Výsledky znaménkového testu laterality asymetrií ventrálních řad

Supratemporalia

Procento asymetrických jedinců bylo u bisexuálních i partenogenetických druhů podobné, v průměru se pohybovalo okolo 33% (obr. 5). Znaménkový test neodhalil žádné stranové vychýlení jak u bisexuálních, tak i partenogenetických forem. Statistický rozdíl vykazovala

pouze *D. portschinskii* jako celek ($p = 0,024$), ale při rozdělení podle pohlaví nevyšlo signifikantně ani jedno z nich (samci, $p = 0,288$; samice, $p = 0,080$). (tab 3.)



Obr. 5. Procento jedinců s asymetrií supratemporálií.

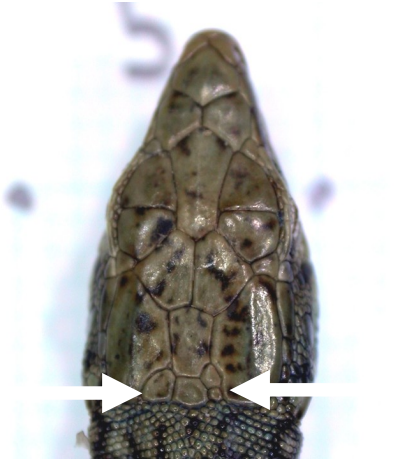
	N	% asym	Znaménkový test		
			L<50<P	Z	p
Bisex.druhy	234	0.321	56 .00	0 .923760	0 .355611
mixta	57	0.421	58 .33	0 .612372	0 .540291
raddei	69	0.217	40 .00	0 .516398	0 .605577
portschinskii	73	0.329	75 .00	2 .245366	0 .024745
valentini	35	0.343	33 .33	0 .866025	0 .386476
Parten.druhy	295	0.339	46 .00	0 .700000	0 .483927
armeniaca	127	0.354	42 .22	0 .894427	0 .371093
dahli	72	0.278	40 .00	0 .670820	0 .502335
rostombekovi	27	0.185	40 .00	-0 .000000	1 .000000
unisexualis	69	0.435	56 .66	0 .547723	0 .583882
Celkem	529	0.330	50 .28	0 .000000	1 .000000

Tabulka 3. výsledky znaménkové testu pro lateralitu supratemporálních asymetrií

Strany se v naprosté většině případů lišily pouze o jeden štítek. Rozdíl o dva štítky jsme zaznamenali ve čtyřech případech, tedy 2,3% ze 175 jedinců s asymetrií v tomto znaku, respektive 0,4% z celkového počtu exemplářů ($N = 529$). Konkrétně u partenogenetických *D. dahli* a *D. rostombekovi* a jednou u bisexuální *D. raddei*. Vzhledem k nevýznamnosti tohoto počtu jsme u každého jedince zohlednili pouze přítomnost či nepřítomnost asymetrie.

GLM model neodhalil u bisexuálních druhů rozdíl mezi pohlavími, ani vliv žádného faktoru na 5% hladině průkaznosti ($p > 0,1$). Rozdíl v procentu nesouměrných jedinců u partenogenů a jejich rodičovských druhů se metodou GEE rovněž nepotvrdil ($p = 0,68$; $\chi^2 = 0,169$).

Nicméně u znatelné části jedinců *D. portschinskii*, zejména z lokality Kodžori, jsme zaznamenali poruchy v oblasti parietálních štítků. V 17% případů (u 12 ze 73) měly ještěřky asymetricky rozdělené temenní štítky (obr. 6). Tento typ anomálie jsme v podobném rozsahu nezjistili u žádného dalšího druhu.



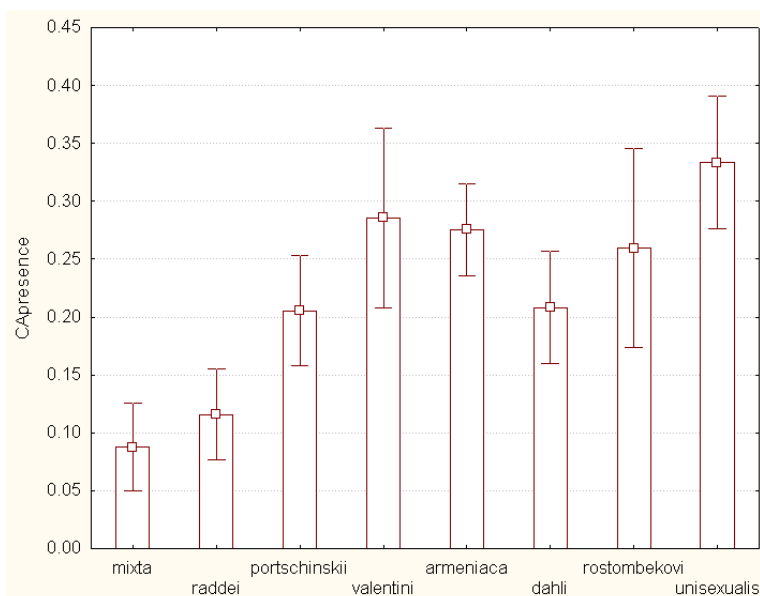
Obr. 6.: anomálie v parietální oblasti u *D. portschinskii*

Preanalia

Podobně jako u supratemporalíí, i zde jsme zaznamenali rozdíl o více než dva štítky pouze ve 3 případech (u dvou *D. armeniaca* a jedné *D. rostombekovi*; 2,8% všech asymetrií), které jsme spolu s ostatními sloučili do jediné kategorie pro presenci asymetrie. Znaménkový test opět neodhalil přítomnost směrové asymetrie u bisexuálních, ani unisexuálních forem.

Z tabulky 4 je patrné o něco vyšší zastoupení asymetrických jedinců u partenogenetických druhů, než u bisexuálních (obr. 7). U bisexuálních druhů vyšel signifikantně pouze vliv fylogenetické skupiny, tedy rozdíl mezi maternálním a paternálním kladem ($p = 0,0078$).

V celkovém srovnání se na 5% hladině nepodařilo potvrdit vliv partenogeneze ($\chi^2 = 3,34$; $p = 0,067$). Prokazatelně více asymetrických jedinců měly partenogeny jen vůči maternálním druhům ($p = 0,0016$; tab 3.).



Obr. 7. Procento jedinců s asymetrií supratemporálií.

	N	% asym	Znaménkový test			
			No. of - Non-ties	L<50<P	Z	p-level
Bisex.druhy	234	0.162	29	55.17	0.371391	0.710347
mixta	57	0.087	3	0.00	1.154701	0.248213
raddei	69	0.115	6	66.66	0.408248	0.683091
portschinskii	73	0.205	12	50.00	-0.288675	0.772830
valentini	35	0.285	8	75.00	1.060660	0.288844
Parten.druhy	295	0.271	59	55.93	0.781133	0.434724
armeniaca	127	0.275	21	71.42	1.745743	0.080856
dahli	72	0.208	11	54.54	-0.000000	1.000000
rostombekovi	27	0.259	7	42.85	0.000000	1.000000
unisexualis	69	0.333	20	45.00	0.223607	0.823063
Celkem	529	0.223	88	55.68	0.959403	0.337356

Tabulka 3. výsledky znaménkové testu pro laterality preanálních asymetrií

Modré skvrny

Narozdíl od asymetrií v ošupení se nesouměrnosti zbarvení ukázaly být spíše pravidlem. Mezi bisexuálními druhy bylo zjištěno zcela symetrických jedinců jen 13,7% a u partenogenetických nebyli nalezeni dokonce žádní. Znaménkový test neodhalil směrovou asymetrii ani mezi pohlavími, ani mezi bisexuálními a partenogenetickými formami.

Podíl asymetricky zbarvených řad se u bisexuálních forem ukázal být ovlivněný v některých případech druhem a pohlavím. *D. valentini* vyšla jako nejsymetrickější ($z = -1,97$; $p = 0,049$) a *D. portschinskii* jako pohlavně nejdymorfnější ($z = -2,18$; $p = 0,029$). Univerzálně však vyšel

jako vysvětlující faktor počet „nemodrých“ řad ($p < 0,0001$), nehledě na to, byl-li v modelech s hierarchických uspořádáním faktorů na prvním, či posledním místě.

V celkovém porovnání bisexuálních a partenogenetických forem pomocí GEE se mezi oběma skupinami vyjevil průkazný rozdíl ($\chi^2 = 14,94$; $p = 0,0001$), a to i po odfiltrování vlivu nemodrých řad, které však stále zůstaly statisticky významné ($\chi^2 = 5,75$; $p = 0,016$). Oproti tomu při zjišťování efektu nemodrých řad pouze u partenogenetických forem se závislost prokázat nepodařilo ($p = 0,068$).

DISKUZE

Liší se partenogenetické formy od bisexuálních?

Rozdíly v míře asymetrií mezi bisexuálními a partenogenetickými formami ještěrek rodu *Darevskia* jsme testovali na třech meristických znacích. Obecně se na žádném z nich nepodařilo statisticky prokázat, že by partenogenetické formy byly náchylnější ke vzniku asymetrií, než bisexuální.

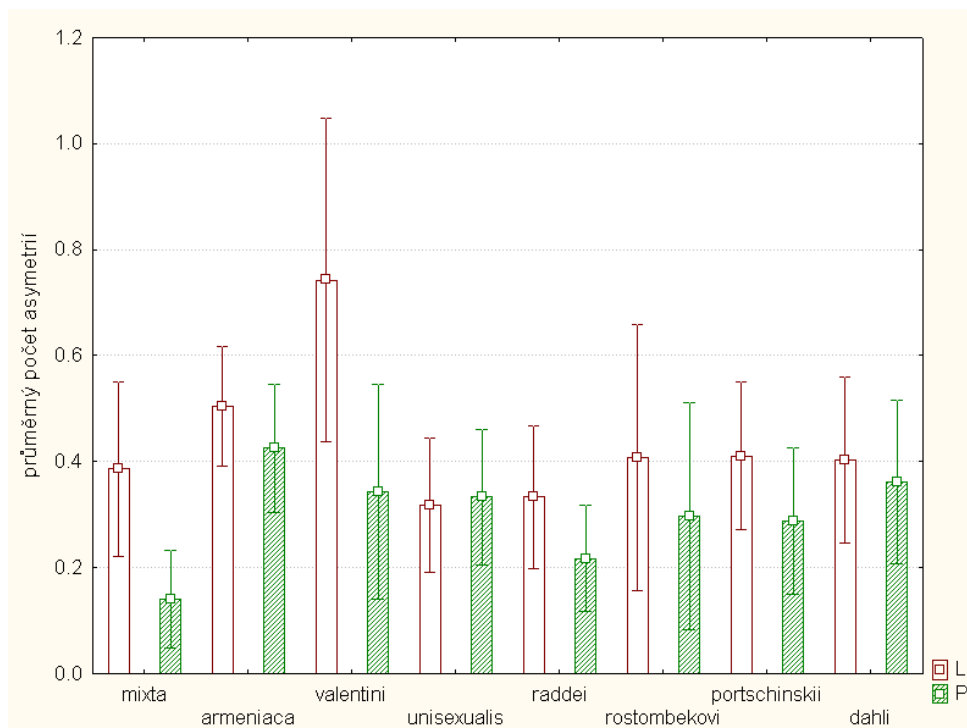
U supratemporálních a preanálních štítků jsme zaznamenali jen malou variabilitu v nesouměrnostech a žádné stranové vychýlení. Případné rozdíly mezi skupinami by tak byly už proto těžko postřehnutelné. Oba tyto znaky mají navíc jednodušší strukturu, kde absence štítku může být v duchu konceptu fluktuální asymetrie přirozenou odchylkou od normy.

Ve vzácných případech se objevila i větší nepravidelnost, než bylo běžné (tedy rozdíl o více než dva štítky) a téměř vždy se vyskytla u partenogenetických forem. Podobné zjištění učinili Kearney & Shine (2004), kteří rovněž zjistili vysokou shodu ve vývojové úspěšnosti mezi partenogenetickými a bisexuálními gekony *Heteronotia binoei*, avšak pokud byl přítomen rozdíl, těmi méně úspěšnými byli partenogeni. Stejně tak ovšem mohlo být naše pozorování ovlivněno i menším vzorkem bisexuálních druhů.

Ventrální štítky oproti tomu skýtají – zejména díky své složitější struktuře – více informací, ačkoli ani zde statistické testy neodhalily signifikantní rozdíl mezi sexuálními a asexuálními formami. Při pohledu na průměry obou skupin je však znát, že partenogenetické druhy mají o něco vyšší počet asymetrií na jedince (obr **Xx**). Z testů laterality zároveň vyplývá tendence ke směrové asymetrii, kdy asymetrie vznikají mnohem častěji na levé straně. V tomto případě se ovšem situace v závislosti na reprodukčním modu liší – partenogenetické formy vycházejí jako symetričtější. Samci a samice bisexuálních druhů vykazují prakticky shodné rozložení anomálií s převažující levou stranou, kdežto u asexuálů je poměr stran téměř vyrovnaný (obr **xx**). Neznamená to však, že by asexuální linie byly symetričtější v pravém slova smyslu. Zatímco frekvence levostranných asymetrií je u bisexuálních i asexuálních forem stejná, pravostranných mají partenogeni více, kterýžto rozdíl byl již statisticky patrný. Ve výsledku tedy působí partenogenetické formy souměrněji, jelikož se poruchy z obou stran vzájemně odečtou.

O něco vyšší celkový průměr počtu asymetrií je tedy u unisexuálních ještěrek způsoben zvýšeným počtem pravostranných poruch. Je však otázka, jaké se zde uplatňují mechanismy.

Pokud by byly stejné jako u bisexuálních druhů, nebo by šlo o genetickou degeneraci v důsledku partenogeneze, dalo by se očekávat, že vzrůst počtu anomálií se projeví zhruba stejně po obou stranách. Lze se však domnívat, že může jít o souvislost s hybridním původem. Z obr. XX je patrné, že pravé strany asexuálních hybridů v zásadě odpovídají pravým stranám těch rodičovských druhů, u nichž jsou vyšší, tedy paternálních (*D. valentini*, *D. portschinskii*). Podobný „paternální efekt“ je ještě zřetelnější v případě frekvence jedinců s asymetrií preanálních štítků, kdy hodnoty partenogenetických forem opět více či méně kopírují hodnoty druhů z paternálního kladu (obr xx). Je však otázkou, nakolik jde o shodu náhod, jelikož frekvence asymetrií u bisexuálních druhů se může měnit v čase v závislosti na faktorech, které ji ovlivňují (Soule 1967, McKenzie 2003, Leamy & Klingenberg 2005).



Obr. 8. Průměrné počty asymetrií pro levostranné a pravostranné ventrální asymetrie.

Jediný aspekt, který se zdá být přímo ovlivněn klonálním množením, a tedy genetickou identitou všech jedinců, je variabilita konkrétního znaku. Srovnání počtu břišních řad ukázalo, že ačkoli jich mají partenogenetické i sexuální samice v průměru stejný počet, u partenogenetických je variabilita prokazatelně nižší, což je plně v souladu s dřívějšími studii (Darevsky 1967, Darevsky et al. 1985).

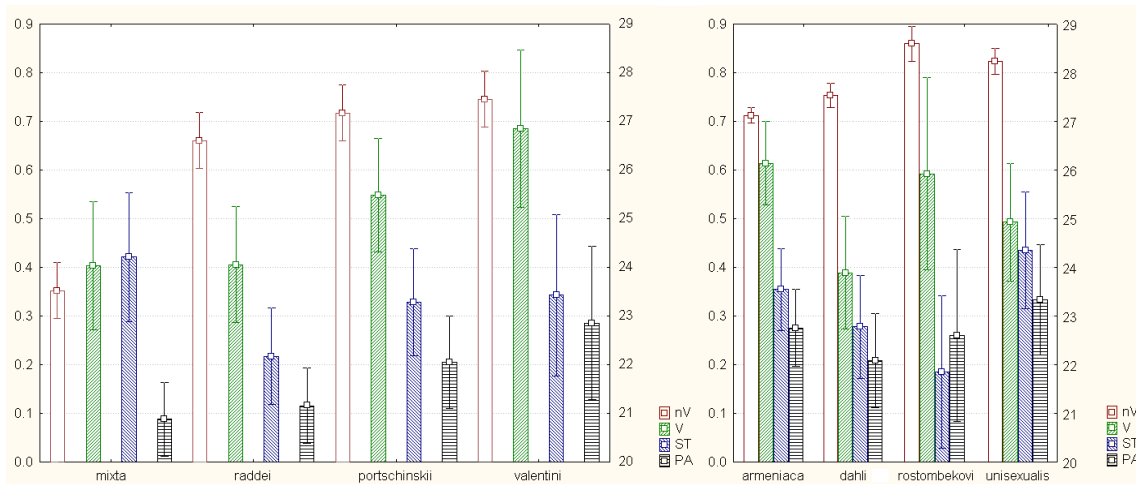
JAKÉ FAKTORY OVLIVŇUJÍ VZNIK ASYMETRIÍ?

Způsob reprodukce tedy zřejmě nemá na četnost asymetrií či asymetrických jedinců vliv. Podobně jsme nenalezli ani vztah mezi nesouměrností a nadmořskou výškou, délkou těla nebo pohlavím. Jako určující se však ukazuje druhová příslušnost a v případě ventrálních asymetrií i počet ventrálních řad. Ten je do jisté míry druhově specifický (Darevsky 1967) a na grafu z obr. 9 je dokonce patrné, že druhy s vyšším počtem řad mají i více asymetrických jedinců. U partenogenetických druhů tato pravidelnost odpadá, avšak počet řad vychází za všech okolností signifikantně. Jako obecný faktor tedy působí i vnitrodruhově, kdy s rostoucím počtem řad stoupá i pravděpodobnost vzniku nějaké anomálie, což je v souladu s očekáváním. Kromě toho však zbývá ještě efekt druhu. Řada studií dokládá vztah mezi velikostí populace, heterozygotností a mírou fluktuální asymetrie (Vrijenhoek & Lehrman 1982, Sarre & Dearn 1991, Bancila et al 2010). V našem případě mají bisexuální druhy s nejvyšším zastoupením asymetrických jedinců skutečně nejfragmentárnější areály rozšíření. Nejvíce „asymetrická“ *Darevskia valentini* obývá v izolovaných populacích hřebeny hor od nadmořské výšky 1900 m n.m. O něco méně asymetrická *D. portschinskii* má souvislejší areál ve střední Gruzii, který se rozpadá na malé ostrůvky směrem do Arménie, avšak co do rozlohy je poměrně malý. Relativně nejméně asymetrických jedinců má pak *D. raddei* s areálem sahajícím souvisle od celého jižního Zakavkazska do severozápadního Íránu a východního Turecka (Darevsky 1967, Ananjeva et al. 2006). V částečném souladu s tím jsou i studie heterozygotnosti, provedené na alozymech (MacCulloch et al. 1995, 1997a; Bobyn et al. 1996). Nejméně heterozygotní je skutečně *D. valentini* (1,08%) a *D. portschinskii* (1 do 7%, v závislosti na lokalitě). Jak uvádějí autoři, u obou těchto druhů je přitom heterozygotnost nižší, než u ostrovních populací ještěrky italské (*Podarcis sicula*) (Gorman et al 1975, ex MacCulloch et al. 1995). Oproti tomu úroveň heterozygotnosti u *D. portschinskii* z lokality Kodžori, odkud pocházela i většina materiálu v naší studii, dosahovala 3,9%, což je relativně hodně ve srovnání s *D. valentini*, ale i *D. raddei*. Časté defekty parietálních štítků u *D. portschinskii* patrně tedy mají jinou příčinu, než zvýšenou homozygotnost. *D. raddei* měla navzdory velkému areálu rozšíření překvapivě nižší heterozygotnost než *D. portschinskii* (0,2-2,4%), je ovšem možné, že je rozdíl způsoben odlišnými lokalitami vzorků v naší studii.

Problematickou zůstává *D. mixta*, k níž nejsou v literatuře dostupná alozymová data, avšak mitochondriální DNA naznačuje vysokou genetickou uniformitu, jež mohla být důsledkem

bottleneck-efektu (Fu et al. 1999). Stejně tak je i její výskyt endemický pro poměrně úzkou oblast v jihozápadní Gruzii (Darevsky 1967, Ananjeva et al. 2006), dá se tedy očekávat zvýšená míra homozygotnosti. Přesto jsou hodnoty četností asymetrií velice podobné těm u *D. raddei*. Možnou interpretací však může být, že například abundance jedinců s asymetrickými břišními řadami je ve skutečnosti vyšší než u *D. raddei*. *D. mixta* má totiž ze všech rodičovských druhů nejméně řad ventralií, tudíž přihlédneme-li k nim jako k souvisejícímu faktoru, je vůči nim výskyt poruch fakticky častější. Navíc podíl jedinců s asymetrií supratemporálních štítků je u *D. mixta* nejvyšší ze všech bisexuálních druhů (obr. 9). Zároveň je však známo, že různé znaky mohou být ovlivňovány nezávisle (Van Valen 1962, Vrijenhoek & Lerman 1982, Arnold & Peterson 2002).

Obecně tedy jistá souvislost mezi genetickou variabilitou a náchylností ke vzniku asymetrií u bisexuálních ještěrek rodu *Darevskia* zřejmě existuje. Nasvědčuje tomu i graf na obr. 9, na němž je patrné, že (snad s výjimkou *D. mixta*) frekvence asymetrických individuí mají tendenci stoupat celkově v závislosti na druhu, nehledě na typ meristického znaku



Obr. 9. Celkové podíly asymetrií u bisexuálních druhů a partenogenů. Bílý sloupec – průměrný počet ventrálních řad (pravá osa y). Ostatní sloupce (levá osa y) – zleva - % jedinců s asymetrií ventralií, supratemporalií a preanálií.

modré skvrny

U ještěrek rodu *Darevskia* je však sledování asymetrií poněkud zkomplikováno tím, že bisexuální druhy – a zejména samci – mají modré skvrny na bocích často v nepřerušené řadě, a nemohou mít tedy ani příliš asymetrií, což se týká zejména *D. valentini*, *D. portschinskii* a *D. raddei* (Darevsky 1967). V rámci druhů však existuje dostatečná variabilita, aby se dal odhalit případný trend. V naší studii vyšel jako vysvětlující faktor počet „prázdných“, tj.

nemodrých řad, který se může uplatňovat nezávisle na druhu. Se stoupajícím počtem nevybarvených řad (respektive klesajícím zastoupením modrých), zároveň stoupá i narušení souměrnosti. Tentokrát však významně vyšla i příslušnost k partenogenetickým liniím, které měly oproti sexuálním druhům vyšší podíl nepárových modrých skvrn. Lze se domnívat, že příčinou nebude jen to, že bisexuální druhy mají boční řady celistvěji zbarvené. Zastoupení modrých ploch je u samic řidší, než u samců a zhruba stejné jako u klonů (příloha II). Ti mají přesto sklon k větší nesouměrnosti.

Již Darevsky (1967) uvádí možnost, že úbytek modrých skvrn může mít původ v absenci samců, kdy skvrny ztrácejí svou signalizační funkci a mizí. Zároveň je známo, že při pohlavním výběru může upřednostňování určitého samčího fenotypu ovlivňovat i fenotyp samic (viz literární přehled). Jedno z možných vysvětlení tedy je, že geny ovlivňující symetrii zbarvení jsou vázané na autosomy a selekcí modřejších a symetričtějších samců se tento fenotyp částečně přenáší i na samice. Po pominutí selekčního tlaku na symetrii se projeví obecný mechanismus či sklon způsobující ubývání souměrnosti při úbytku modrého zbarvení. Tato hypotéza se však týká pouze odstínu modré (nezahrnující azurovou), na který jsme se v této studii soustředili. Její zastoupení není u všech partenogenů stejné, avšak u všech jsou znatelné změny v modrém zbarvení, které je charakteristické buďto nižším počtem párových skvrn, nebo menší intenzitou. Druhy *D. dahli* a *D. rostombekovi* mají například často postranní řady ventralií celistvě zbarvené, jako bisexuální druhy, ale odstín je jen světle modrošedý (Darevsky 1957, 1967).

Pokud tedy asexuální způsob rozmnožování má vliv na fenotyp jedince, mohlo by se nejrychleji projevit například na zbarvení. U druhu *D. armeniaca* existuje barevně odlišný klon, který se s velkou pravděpodobností spontánně objevil teprve v 70. letech 20. století na lokalitě ve střední Arménii. Morfologicky či geneticky je od běžné variety svého druhu nerozpoznatelný, avšak odlišuje jej vzor slitý do podélných světle hnědých pruhů a absence skvrn na hřbetě. Tato mutace je navíc dědičná (Darevsky 1992, Martirosyan et al. 2003, Malysheva et al. 2007). Zbarvení obecně má tedy potenciál se měnit mnohem rychleji než morfologie, což je známo například u asexuálních bičochvostů *Aspidoscelis tessellata*, kdy se v jedné asexuální linii vyskytují tři barevné varianty (Taylor et al. 2005, Walker & Cordes 2003).

ZÁVĚR

Rozdíl v míře asymetrií mezi partenogeny a bisexuálními druhy se prokázat nepodařilo, nicméně bisexuální druhy jsou zřejmě citlivější ke změnám prostředí. K podobným zjištěním došli i Kearney a Shine (2004) a Vrijenhoek a Lerman (1982). Partenogenetické druhy jsou tedy odolnější vůči výkyvům populační hustoty.

Absence samců může mít zřejmě také vliv na nepravidelnost modrého zbarvení u partenogenetických samic.

LITERATURA

Ananjeva NB, Orlov NL, Khalikov RG, Darevsky IS, Ryabov SA, Barabanov AV (2006) The Reptiles of Northern Eurasia: taxonomic diversity, distribution, conservation status. Pensoft, Sofia.

Arnold SJ, Peterson CR (2002) A Model for Optimal Reaction Norms: The Case of the Pregnant Garter Snake and Her Temperature - Sensitive Embryos. *The American Naturalist*, 160(3):306-316

Bajer K, Molnár O, Török J & Herczeg G (2010) Female European green lizards (*Lacerta viridis*) prefer males with high ultraviolet throat reflectance. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64(12): 2007-2014

Bancila R, van Gelder I, Rotteveel E, Loman J, Arntzen JW (2010) Fluctuating asymmetry is a function of population isolation in island lizards. *Journal of Zoology* 282:266-275

Benkman CW (1996) Are the ratios of bill crossing morphs in crossbills the result of frequency-dependent selection? *Evol. Ecol* 10:119-126
Biological Journal of the Linnean Society 97(4): 766–780

Bobyn ML, Darevsky IS, Kupriyanova LA, MacCulloch RD, Upton DE, Danielyan FD, Murphy RW (1996) Allozyme variation in populations of *Lacerta raddei* and *Lacerta nairensis* (Sauria: Lacertidae) from Armenia. *Amphibia-Reptilia* 17:233-246

Brana F, Ji X (2000) Influence of incubation temperature on morphology, locomotor performance, and early growth of hatchling wall lizards (*Podarcis muralis*). *J. Exper. Zool.* 286: 422-433

Crnobrnja-Isailovic J, Aleksic I, Bejakovic D (2005) Fluctuating asymmetry in *Podarcis muralis* populations from Southern Montenegro: detection of environmental stress in insular populations. *Amphibia-Reptilia* 26: 149-158

Cuthilla IC, Partridgea JC, Bennetta Andrew TD, Churcha SC, Harta NS & Hunta S (2000) Ultraviolet Vision in Birds. *Advances in the Study of Behavior* 29: 159-214

Danielyan F, Arakelyan M, Stepanyan I (2008) Hybrids of *Darevskia valentini*, *D. armeniaca* and *D. unisexualis* from a sympatric population in Armenia. *Amphibia-Reptilia* 29: 487-504

Danielyan FD (1987) Iskustvennaja gibrizacija dvuch biseksual'nyh vidov skalnyh jaščeric v prirodnyh uslovijach. *Trudy zoologičeskogo instituta AN SSSR* 158: 179-183

Dappen N (2010) Intralocus sexual conflict and color evolution in male and female Ibiza wall lizards. Nathan 34th annual herpetology conference
<http://snre.ufl.edu/herpetology/files/ConferenceProgram2011.pdf> p6

Darevsky IS (1957) Sistematika i ekologija skal'nych jaščeric *Lacerta saxicola* Eversmann, rasprostraněnyh v Armenii. Zool. Sb. AN ArmSSR 10:27-57

Darevsky IS (1966) Natural parthenogenesis in a polymorphic group of Caucasian rock lizards related to *Lacerta saxicola* Eversmann. J. of the Ohio Herpetological Society 5(4):115-152

Darevsky IS (1967) Skal'nyje jaščericy Kavkaza: sistematika, ekologija i filogenija polimorfnoj grupy kavkazskich jaščeric podroda *Archaeolacerta*. AN SSSR, Zool. Inst., Nauka, Leningrad

Darevsky IS (1992) Evolution and ecology of parthenogenesis in reptiles. In: Adler K (ed), Herpetology. Current research on the biology of Amphibians and Reptiles, pp 21-39

Darevsky IS, Kupriyanova LA, Uzzell T (1985) Parthenogenesis in reptiles. In: Gans C, Billet F (eds), *Biology of the Reptilia*, vol 15, Wiley, New York, pp 411-526

Davoyan AG, Aslanyan AV, Danielyan FD, Darevsky IS, Martirosyan IA (2007) Revealing of allele polymorphism in the populations of parthenogenetic lizards *Darevskia dahli* (Lacertidae) using locus-specific PCR. Russian Journal of Genetics 43(1):20-23

Dawley RM (1989) An introduction to unisexual vertebrates. In: Dawley RM, Bogart JP (eds), *Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates*, New York State Museum Bull. 466, Albany, New York, pp 1-18

Docenko IB, Peskov VN, Miropol'skaja MV (2009) Sravnitelnyj analiz vněšněj morfologii skalnych jaščeric roda *Darevskia*, obitajuščich na teritorii Ukrainy i ich vidovaja prinadležnost'. Zbirnik prac Zoologičnogo muzeju, Kiev, 40:130-142

Dongen SV (2006) Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. Journal compilation of European society for evolutionary biology 1727–1743

Font E, I De Lanuza GP, Sampedro C (2009) Ultraviolet reflectance and cryptic sexual dichromatism in the ocellated lizard, *Lacerta* (*Timon*) *lepida* (Squamata: Lacertidae).

Fowler K & Whitlock MC (1994) Fluctuating asymmetry does not increase with moderate inbreeding in *Drosophila melanogaster*. Heredity 73: 373—376

Fu J, MacCulloch RD, Murphy RW, Darevsky IS (2000a) Clonal variation in the Caucasian rock lizard *Lacerta armeniaca* and its origin. Amphibia-Reptilia 21:83-89

Fu J, MacCulloch RD, Murphy RW, Darevsky IS (2000a) Clonal variation in the Caucasian rock lizard *Lacerta armeniaca* and its origin. Amphibia-Reptilia 21:83-89

Fu J, MacCulloch RD, Murphy RW, Darevsky IS, Tuniyev BS (2000b) Allozyme variation patterns and multiple hybridization origins: Clonal variation among four sibling parthenogenetic Caucasian rock lizards. Genetica 108:107-112

Fu J, MacCulloch RD, Murphy RW, Darevsky IS, Tuniyev BS (2000b) Allozyme variation patterns and multiple hybridization origins: Clonal variation among four sibling parthenogenetic Caucasian rock lizards. *Genetica* 108:107-112

Fu J, Murphy RW, Darevsky IS (1999) Limited genetic variation in *Lacerta mixta* and its parthenogenetic daughter species: evidence from cytochrome b and ATPase 6 gene DNA sequences. *Genetica* 105:227-231

Fu J, Murphy RW, Darevsky IS (2000c) Divergence of the cytochrome b gene in the *Lacerta raddei* complex and its parthenogenetic daughter species: Evidence for recent multiple origins. *Copeia* 2000(2):432-440

Gangestad SW, Thornhill R (1999) Individual differences in developmental precision and fluctuating asymmetry: a model and its implications. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 402–416

Gorman GC, Soutl, RI, Yang, SY, Sevo E (1975) Evolutionary genetics of insular Adriatic lizards. *Evolution* 29: 52-71.

Graham J H, Felley J D (1985) Genomic coadaptation and developmental stability within introgressed populations of *Enneacanthus gloriosus* and *E. obesus* (Pisces, Centrarchidae). *Evolution* 39(1): 104-114

Herczeg G, Szabó K, Korsós Z (2005) Asymmetry and population characteristics in dice snakes (*Natrix tessellata*): an interpopulation comparison. *Amphibia-Reptilia* 26: 422-426 in *Drosophila melanogaster*. *Environmental pollution* 127: 145–155.

Janko K, Drozd P, Eisner J (2011) Do clones degenerate over time? Explaining the genetic variability of asexuals through population genetic models. *Biology Direct* 2011, 6:17 pp 25

Kearney M, Shine R (2004) Developmental success, stability, and plasticity in closely related parthenogenetic and sexual lizards (*Heteronotia*, Gekkonidae). *Evolution* 58(7):1560-1572

Korchagin VI, Badaeva TN, Tokarskaya ON, Martirosyan IA, Darevsky IS, Ryskov AP (2007) Molecular characterization of allelic variants of (GATA)_n microsatellite loci in parthenogenetic lizards *Darevskia unisexualis* (Lacertidae). *Gene* 392:126-133

Leamy LJ, Klingenberg CP (2005) The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36:1–21

Leary R F, Allendorf F W & Knudsen K L (1985a) Developmental instability and high meristic counts in interspecific hybrids of Salmonid Fishes. *Evolution* 39(6): 1318-1326

Leary RF, Allendorf FW, Knudsen KL and Thorgaard' GH (1985b) Heterozygosity and developmental stability in gynogenetic diploid and triploid rainbow trout. *Heredity* 54: 219-225

Lens L, Van Dongen S, Galbusera P, Schenck T, Matthysen E & Van de Castele T (2000) Developmental instability and inbreeding in natural bird populations exposed to different levels of habitat disturbance. *J. Evol. Biol.* 13: 889–896.

Lively CM, Craddock C, Vrijenhoek RC (1990) Red Queen hypothesis supported by parasitism in sexual and clonal fish. *Nature* 344:864-866

Löwenborg K, Shine R & Hagman M (2011) Fitness disadvantages to disrupted embryogenesis impose selection against suboptimal nest-site choice by female grass snakes, *Natrix natrix* (Colubridae). *J. Evol. Biol.* 24:177–183

MacCulloch RD, Fu J, Darevsky IS, Danielyan FD, Murphy RW (1995) Allozyme variation in three closely related species of Caucasian rock lizards. *Amphibia-Reptilia* 16:331-340

MacCulloch RD, Fu J, Darevsky IS, Danielyan FD, Murphy RW (1995) Allozyme variation in three closely related species of Caucasian rock lizards. *Amphibia-Reptilia* 16:331-340

MacCulloch RD, Murphy RW, Fu J, Darevsky IS, Danielyan F (1997a) Disjunct habitats as islands: genetic variability in the Caucasian rock lizard *Lacerta portschinskii*. *Genetica* 101:41-45

MacCulloch RD, Murphy RW, Kupriyanova LA, Darevsky IS (1997b) The Caucasian Rock Lizard *Lacerta rostombekovi*: a monoclonal parthenogenetic vertebrate. *Biochemical Systematics and Ecology* 25(1):33-37

Malysheva DN, Vergun AA, Tokarskaya ON, Sevast'yanova GA, Darevsky IS, Ryskov AP (2007) Nucleotide sequences of the microsatellite locus Du215 (arm) allelic variants in the parthenospecies *Darevskia armeniaca* (Lacertidae). *Russian Journal of Genetics* 43(2):116-120

Martirosyan IA, Kan NG, Petrosyan VG, Malysheva DN, Trofimova AA, Danielyan FD, Darevsky IS, Korochkin LI, Ryskov AP, Tokarskaya ON (2003) Variation of mini- and microsatellite DNA repeats in parthenogenetic lizard *Darevskia armeniaca* as revealed by DNA fingerprinting analysis. *Russian Journal of Genetics* 39(2):159-165

Martirosyan IA, Korchagin VI, Tokarskaya ON, Darevsky IS, Ryskov AP (2006) Finding of Bov-B LINE retroelement in parthenogenetic and bisexual lizard species of the genus *Darevskia* (Lacertidae). *Russian Journal of Genetics* 42(7):790-794

Maynard Smith J (1978) *The Evolution of Sex*. Cambridge University Press.

Moritz C (1991) The origin and evolution of parthenogenesis in *Heteronotia binoei* (Gekkonidae): Evidence for recent and localized origins of widespread clones. *Genetics* 129:211-219

Moritz C, Brown WM, Densmore LD, Wright JW, Vyas D, Donnellan S, Adams M, Baverstock P (1989) Genetic diversity and the dynamics of hybrid parthenogenesis in *Cnemidophorus* (Teiidae) and *Heteronotia* (Gekkonidae). In: Dawley RM, Bogart JP (eds), *Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates*, New York State Museum Bull. 466, Albany, New York, pp 87-112

- Moritz C, Brown WM, Densmore LD, Wright JW, Vyas D, Donnellan S, Adams M, Baverstock P (1989)** Genetic diversity and the dynamics of hybrid parthenogenesis in *Cnemidophorus* (Teiidae) and *Heteronotia* (Gekkonidae). In: Dawley RM, Bogart JP (eds), *Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates*, New York State Museum Bull. 466, Albany, New York, pp 87-112
- Moritz C, McCallum H, Donnellan S, Roberts JD (1991)** Parasite loads in parthenogenetic and sexual lizards (*Heteronotia binoei*): Support for the Red Queen hypothesis. *Proceedings: Biological Sciences*, 244:145-149
- Moritz C, Uzzell T, Spolsky C, Hotz H, Darevsky I, Kupriyanova L, Danielyan F (1992a)** The material [sic maternal] ancestry and approximate age of parthenogenetic species of Caucasian rock lizards (*Lacerta*: Lacertidae). *Genetica* 87:53-62
- Moritz C, Wright JW, Brown WM (1992b)** Mitochondrial DNA analyses and the origin and relative age of parthenogenetic *Cnemidophorus*: Phylogenetic constraints on hybrid origin. *Evolution* 46(1):184-192
- Morris MR, Casey K (1998)**, Female swordtail fish prefer symmetrical sexual signal. *Animal Behaviour* 55(1): Pages 33-39
- Müller H (1964)** The relation of recombination to mutational advance. *Mutation Research*, 1:2-9 Citováno podle **Ridley (1993)**
- Murphy RW, Darevsky IS, MacCulloch RD, Fu J, Kupriyanova LA, Upton DE, Danielyan F (1997)** Old age, multiple formation of genetic plasticity? Clonal diversity in the uniparental Caucasian rock lizards, *Lacerta dahli*. *Genetica* 101:125-130
- Murphy RW, Fu J, MacCulloch RD, Darevsky IS, Kupriyanova LA (2000)** A fine line between sex and unisexuality: the phylogenetic constraints on parthenogenesis in lacertid lizards. *Zoological Journal of the Linnean Society* 130:527-549
- Palmer AR, Strobeck C (1986)** Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 391-421.
- Parsons PA (1992)** Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. *Heredity* 68: 361-364.
- Pekár S, Brabec M (2009)** Moderní analýza biologických dat 1.díl, zobecněné lineární modely v prostředí R. Praha: Scientia, pp 185.
- Pekár S, Brabec M (v tisku)** Moderní analýza biologických dat 2.díl, lineární modely s korelacemi v prostředí R. Praha: Scientia, pp 185.
- Pérez-Mellado V, Riera N & Perera A (2004)** (eds.) Ultraviolet reflectance of color patches in *Gallotia galloti* lizards from Tenerife, Canary island sfont, e. & molina-borja, m. the biology of lacertid lizards. *Evolutionary and Ecological Perspectives*. Institut Menorquí d'Estudis. *Recerca* 8: 201-221

Polak M, Kroeger DE, Cartwright IL & deLeon CP (2004) Genotype-specific responses of fluctuating asymmetry and of preadult survival to the effects of lead and temperature stress Populations. *Journal of Heredity* 84:339-344

Pryke SR, Griffith SC (2007) The relative role of male vs. female mate choice in maintaining assortative pairing among discrete colour morphs. *Journal of Evolutionary Biology* 20(4): 1512–1521

Qualls CP, Andrews RM (1999) Cold climates and the evolution of viviparity in reptiles: cold incubation temperatures produce poor-quality offspring in the lizard, *Sceloporus virgatus*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 67: 353-376
revealed by neutral and candidate gene markers in roe deer from a long-term study. *Evolution* 63-2: 403–417

Ryabinina NL, Grechko VV, Semenova SK, Darevsky IS (1999) On the hybridogenous origin of the parthenogenetic species *Lacerta dahli* and *Lacerta rostombekovi* revealed by RAPD technique. *Russian Journal of Herpetology* 6(1):55-60

Rykena S (1996) Experimental interspecific hybridization in the genus *Lacerta*. *Israel journal of zoology* 42:171-184

Ryskov AP, Martirosyan IA, Badaeva TN, Korchagin VI, Danielyan FD, Petrosyan VG, Darevsky IS, Tokarskaya ON (2003) Hyperunstable (TCT/TCC)_n microsatellite loci in parthenogenetic lizards *Darevskia unisexualis* (Lacertidae). *Russian Journal of Genetics* 39(9):986-992

Sarre S, Dearn JD (1991) Morphological variation and fluctuating asymmetry among insular populations of the sleepy lizard, *Trachydosaurus rugosus* Gray (Squamata, Scincidae). *Aust. J. Zool.* 39:91-104

Sindaco R, Venci A, Carpaneto GM, Bologna MA (2000) The reptiles of Anatolia: a checklist and zoogeographical analysis. *Biogeographia* 21:441-554

Soule M (1967) Phenetics of Natural Populations. II. Asymmetry and Evolution in a Lizard. *The American Naturalist* 101(918):141-160

Swaddle JP & Cuthill IC (1994) Female Zebra Finches Prefer Males with Symmetric Chest Plumage. *Proc. R. Soc. Lond.* 258: 267-271

Tarkhnishvili D, Gavashelishvili A, Avaliani A, Murtskhvaladze M, Mumladze (2010) Unisexual rock lizard might be outcompeting its bisexual progenitors in the Caucasus. *Biol. J. Linn. Soc.* 101:447-460

Taylor HL, Walker JM, Cordes JE, Manning GJ (2005) Application of the Evolutionary Species Concept to Parthenogenetic Entities: Comparison of Postformational Divergence in Two Clones of *Aspidoscelis tessellata* and between *Aspidoscelis cozumela* and *Aspidoscelis maslini* (Squamata:Teiidae). *Journal of Herpetology*, 39(2):266-277
The Southwestern Naturalist 48(1): 126-129

Uzzell T, Darevsky IS (1975) Biochemical evidence for the hybrid origin of the parthenogenetic species of the *Lacerta saxicola* complex (Sauria: Lacertidae), with a discussion of some ecological and evolutionary implications. *Copeia* 1975(2):204-222

Van Valen L (1962) A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16(2):125-142

Van Valen L (1973) A new evolutionary law. *Evolutionary Theory*, 1:1-30 Citováno podle **Ridley (1993)**

Vrijenhoek RC (1989) Genetic and ecological constraints on the origins and establishment of unisexual vertebrates. In: Dawley RM, Bogart JP (eds), *Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates*, New York State Museum Bull. 466, Albany, New York, pp 24-31

Vrijenhoek RC, Lerman S (1982) Heterozygosity and developmental stability under sexual and asexual breeding systems. *Evolution* 36:768-776

Wilkinson GS, Amitin EG, Johns PM (2005) Sex-linked Correlated Responses in Female Reproductive Traits to Selection on Male Eye Span in Stalk-eyed Flies. *Integr. Comp. Biol.* 45(3): 500-510

Wright JW, Lowe CH (1968) Weeds, polyploids, parthenogenesis and the geographical and ecological distribution of all-female species of *Cnemidophorus*. *Copeia* 1968(1):128-138