



Diplomová práce

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Sociální interakce a morfometrická analýza u vybraných populací tilikvy obrovské (*Tiliqua gigas*)

Social interactions and morphometric analysis of
populations of Blue-Tongued Skink (*Tiliqua gigas*)

Bc. Kristýna Jachnická

Katedra zoologie, Oddělení ekologie a etologie

Školitel: doc. RNDr. Daniel Frynta, Ph.D.

Konzultanti: RNDr. Petra Frýdlová, Ph.D.

RNDr. Eva Landová, Ph.D.

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie

Praha, srpen 2018

Poděkování

Ráda bych poděkovala především doc. RNDr. Danielu Fryntovi, PhD. za odborné vedení, cenné rady a trpělivý přístup. Velké díky patří také RNDr. Petře Frýdlové, Ph.D. za pomoc se statistickým vyhodnocením dat, vstřícnost a rady při sepisování práce. Také bych chtěla poděkovat RNDr. Evě Landové, PhD. za připomínky k metodice a Bc. Veronice Baranové za pomoc při natáčení experimentů. Dále patří velký dík mé rodině a přátelům za veškerou podporu, kterou mi při studiu poskytli.

Prohlášení

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

V Praze dne 13. 8. 2018

.....
Kristýna Jachnická

Abstrakt

Autor: Bc. Kristýna Jachnická

Katedra zoologie, Oddělení ekologie a etologie

Školitel: doc. RNDr. Daniel Frynta, Ph.D.

Konzultanti: RNDr. Petra Frýdlová, Ph.D.

RNDr. Eva Landová, Ph.D.

Abstrakt: *Tiliqua gigas* je vzácný, s oblibou chovaný druh velkého scinka. Sociální struktura tohoto charismatického druhu však zůstává téměř neznámá. Vzhledem k vysoké agresivitě tohoto druhu a jeho obtížnému studiu v přírodě, se experiment založený na pachové diskriminaci jeví jako vhodný nástroj k jejímu lepšímu pochopení. Naše výsledky ukázaly, že reakce na pachový stimul je obecně slabá a má silně individuální charakter. Zájem jedince vzbuzují především látky produkované skrze kůži v oblasti hřbetu a nezdá se, že by pach jiného jedince vedl k útěkové reakci.

Behaviorální analýza byla také doplněna o podrobnou analýzu hlav druhů *T. gigas* a *T. scincoides*. Je známo, že tyto druhy se dělí na několik diferencovaných poddruhů, které jsou dále tvořeny geograficky odlišnými populacemi. Zajímalo nás, zda se jednotlivé populace dají od sebe rozlišit na základě geometrické morfometrie a zda je dané rozdělení v souladu s jejich příbuzností. Ukázalo se, že po sloučení do větších skupin na základě genetické příbuznosti, se populace jeví jako distinktní, a jsou tím podpořeny výsledky fylogenetické analýzy. Nicméně zdá se, že tvar hlavy se neliší mezi pohlavími a nepoukazuje tak na pohlavní dimorfismus ve tvaru hlavy u těchto druhů. Vzhledem k pravděpodobné monomorfii těchto druhů, je velmi problematické u nich spolehlivě určit pohlaví. V rámci této práce navrhujeme novou neinvazivní metodu, založenou na sbírání svleček hemipenisů, pomocí níž lze s vysokou přesností určit samčí pohlaví. Tato metoda může pomoci mnoha chovatelům i výzkumným týmům předejít nechtěným agresivním střetům dvou samců.

Klíčová slova: Pachová diskriminace, *Tiliqua*, geometrická morfometrie, určení pohlaví.

Abstract

Author: Bc. Kristýna Jachnická

Department of Zoology, Division of Ecology and Ethology

Supervisor: doc. RNDr. Daniel Frynta, Ph.D.

Consultants: RNDr. Petra Frýdlová, Ph.D.

RNDr. Eva Landová, Ph.D.

Abstract: A Blue-tongued skink (*Tiliqua gigas*) is a rare exotic species which is very popular between breeders. Nevertheless, the social structure of this charismatic skink remains almost unknown. Because of its high aggressiveness and difficulties connected with study in its natural habitat, experiments based on the odor discrimination looks like a good alternative for its better understanding. Our results revealed that the reaction on the odor is generally poor and is very individual. We observed the highest response of interest on odors produced through dorsal parts of skin. The reaction on conspecific's odor did not lead to escape behavior.

Behavioral analysis was complemented by morphological analysis of heads in *T. gigas* and *T. scincoides*. These species are divided into separate subspecies, which are formed by geographically distinct populations. We wondered whether it is possible to separate these populations by geometric morphometrics and whether this separation is consistent with phylogenetic studies. We found out that if the populations are united in bigger groups based on their congeniality they seem to be distinct according to the head shape. Our results also revealed the monomorphy in head shape. Unfortunately, it is very difficult to distinguish between sexes due to the absence of sexual dimorphism. Here we propose a new method for sex discrimination based on the collection of hemipenis sloughs. The identification of slough leads to the certain identification of male sex and it can help many breeders and scientists to prevent the aggressive fights of this species in the future.

Keywords: Odor discrimination, *Tiliqua*, geometric morphometrics, sex determination.

Obsah

1 Úvod	1
2 Obecná charakteristika rodu	2
2.1 Fylogenetické zařazení	2
2.2 Původ a rozšíření	4
2.3 Ekologie a etologie druhů <i>Tiliqua</i> <i>gigas</i> a <i>Tiliqua scincoides</i>	5
2.3.1 Antipredační chování	6
3 Chemická komunikace plazů	8
3.1 Související experimenty	9
4 Morfometrie	11
5 Určení pohlaví	12
6 Materiál a metodika	14
6.1 Sociální interakce	14
6.1.1 Chov	14
6.1.2 Experimentální design	14
6.1.3 Hodnocené prvky chování	15
6.1.4 Statistické vyhodnocení	16
6.2 Morfometrie	17
6.2.1 Materiál	17
6.2.2 Pořizování fotografií a určování hodnocených bodů (landmarků)	20
6.2.3 Statistické vyhodnocení	23
6.3 Sbíráání svleček hemipenisů	23
7 Výsledky	25
7.1 Určení pohlaví	25
7.2 Sociální interakce	28
7.2.1 Efekt pachu pro proměnnou lick	31
7.2.2 Efekt pachu pro proměnnou avoid	32
7.2.3 Opakovatelnost	33
7.3 Morfometrie	34
7.3.1 Populace v rámci rodu <i>T. gigas</i> ..	34
7.3.2 Srovnání populací <i>T. gigas</i> a <i>T. scincoides</i>	39
7.3.3 Pohlavní dimorfismus	44
8 Diskuze	46
8.1 Sociální interakce	46
8.2 Morfometrie	49
8.3 Určení pohlaví	50
9 Závěr	52
Literatura	54
Další zdroje	58
A Doplňující analýzy	59
A.1 Shluková analýza pro jednotlivé po- pulace	59
A.2 Shluková a diskriminační analýza pro populace Merauke a Merauke se znaky <i>scincoides</i>	61
B Obrázky	62

Tabulky

1. Souhrnná tabulka pro jedince účastníků se výzkumu sociálních interakcí 15
2. Souhrnná tabulka pro jedince zahrnuté do analýz za pomoci geometrické morfometrie (1)..... 18
3. Spearmanova korelační analýza 28
4. Reakce na pachové stimuly pro proměnnou lick 31
5. Reakce na pachové stimuly pro proměnnou avoid 32
6. Shluková analýza (CVA), procenta meziskupinové variability pro *T. gigas* 34
7. Hodnoty p pro Mahalanobisovy vzdálenosti u CVA analýzy populací *T. gigas* ... 35
8. Hodnoty p pro Prokrustovy vzdálenosti u shlukové analýzy populací *T. gigas* 35
9. Křížové porovnání (cross-validation) v rámci diskriminační analýzy pro skupiny Halmerau a JayBiCer 36
10. Křížové porovnání (cross-validation) v rámci diskriminační analýzy pro skupiny HalMerau a Kai 37
11. Křížové porovnání (cross-validation) v rámci diskriminační analýzy pro skupiny JayBiCer a Kai 38
12. Shluková analýza a meziskupinová variabilita pro *T. gigas* a *T. scincoides* 39
13. Hodnoty p pro Mahalanobisovy vzdálenosti u shlukové analýzy (CVA) populací *T. gigas* a *T. scincoides* 39
14. Hodnoty p pro Prokrustovy vzdálenosti u shlukové analýzy (CVA) populací *T. gigas* a *T. scincoides* 39
15. Křížové porovnání v rámci diskriminační analýzy pro skupiny HalMerau–Tanimbar 41
16. Křížové porovnání v rámci diskriminační analýzy pro skupiny JayBiCer a Tanimbar 42
17. Křížové porovnání v rámci diskriminační analýzy pro skupiny Kai a Tanimbar 43
18. Analýza hlavních komponent (PCA) pro samce a samice 44
19. Cross-validation pro rozlišení mezi polhavi. 45
20. Reakce na konkrétní pachové stimuly v rámci populací..... 59
21. Procenta meziskupinové variability pro všechny populace druhů *T. gigas* a *T. scincoides* 59
22. Hodnoty p pro Mahalanobisovy vzdálenosti při shlukové analýze všech populací..... 59
23. Hodnoty p pro Prokrustovy vzdálenosti u všech populací *T. gigas* a *T. scincoides* v rámci shlukové analýzy 60
24. Shluková analýza (CVA), procenta meziskupinové variability mezi Merauke a Merauke se znaky *scincoides* 61
25. Křížové porovnání (cross-validation) pro Merauke a Merauke se znaky *scincoides* .. 61

Obrázky a grafy

1. Fylogenetický strom rodu *Tiliqua* 2
2. Fylogenetický strom rodu jednotlivých populací druhů *T. gigas* a *T. scincoides* 3
3. Plné vypláznutí jazyka 6
4. Kontrastní radiologické vyšetření pro zobrazení pohlavních orgánů u druhu *Uromastyx aegyptia* 12
5. Svléčka hemipenisu druhu *Omanosaura cyanura* 13
6. Samčí pohlavní orgán 17
7. Samicí pohlavní orgán 17
8. Lokality původu testovaných populací ... 17
9. Rozmístění landmarků u studovaných druhů 20
10. Schématické znázornění rozmístění šupin z bočního pohledu u druhu *T. gigas* 20
11. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Merauke 21
12. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Merauke s podkladem.... 21
13. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Halmahera 21
14. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Halmahera s podkladem .. 21
15. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Jayapura 21
16. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Jayapura s podkladem.... 21
17. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Biak 21
18. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Biak s podkladem..... 21
19. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Ceram 22
20. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Ceram s podkladem 22
21. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Kai ostrovy 22
22. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Kai ostrovy s podkladem .. 22
23. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Sorong 22
24. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Sorong s podkladem 22
25. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. scincoides*-Aru ostrovy 22
26. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. scincoides*-Aru ostrovy s podkladem 22
27. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. scincoides*-Tanimbar 23
28. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. scincoides*-Tanimbar s podkladem 23
29. Svléčka hemipenisu-ID jedince 503 Merauke s popisky 25
30. Svléčka hemipenisu-ID jedince 429 Merauke 26
31. Svléčka hemipenisu-ID jedince 429 Merauke 2 26
32. Svléčka hemipenisu-ID jedince 409 Biak 26
33. Svléčka hemipenisu-ID jedince 409 Biak 2 26
34. Svléčka hemipenisu-ID jedince 413 Halmahera 26
35. Svléčka hemipenisu-ID jedince 413 Halmahera 2 26
36. Svléčka hemipenisu-ID jedince 427 Merauke 27
37. Svléčka hemipenisu-ID jedince 427 Merauke 2 27
38. Svléčka hemipenisu-ID jedince 430 Merauke 27
39. Svléčka hemipenisu v kontrastním světle-ID jedince 430 Merauke 2 27
40. Svléčka hemipenisu-ID jedince 404 Jayapura 27
41. Svléčka hemipenisu v kontrastním světle-ID jedince 404 Jayapura 2 27
42. Svléčka hemipenisu-ID jedince 503 Merauke 28
43. Analýza hlavních komponent (PCA) pro všechny proměnné. 29
44. Analýza hlavních komponent (PCA) pro sloučené proměnné lick, avoid a bite. 29
45. Statistické rozdělení dat u proměnné lick .. 30
46. Statistické rozdělení dat u proměnné avoid..... 30

47. Statistické rozdělení dat u proměnné bite . . .	30
48. Boxplot reaktivity jedinců v závislosti na předkládaném stimulu pro proměnnou lick.	31
49. Boxplot reaktivity jedinců v závislosti na předkládaném stimulu pro proměnnou avoid.	32
50. Křivka outliers pro všechny landmarky . . .	34
51. Křivka outliers bez landmarků 11 a 12 . . .	34
52. Výsledný graf podobnosti populací na základě shlukové analýzy (CVA) u <i>T. gigas</i> . . .	35
53. Variabilita v rámci hodnocených landmarků u sloučených populací <i>T. gigas</i>	35
54. Křížové porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro skupiny HalMerau a JayBiCer.	36
55. Schéma variability tvaru mezi skupinami HalMerau a JayBiCer.	36
56. Křížové porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro skupiny HalMerau a Kai.	37
57. Schéma variability tvaru hlavy mezi skupinami HalMerau a Kai.	37
58. Křížové porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro skupiny JayBiCer a Kai.	38
59. Schéma variability ve tvaru hlavy mezi skupinami JayBiCer a Kai.	38
60. Variabilita v rámci hodnocených landmarků u <i>T. gigas</i> a <i>T. scincoides</i>	39
61. Bodový graf populací <i>T. gigas</i> a <i>T. scincoides</i> na základě shlukové analýzy (CVA) . . .	40
62. Bodový graf populací <i>T. gigas</i> a <i>T. scincoides</i> na základě shlukové analýzy (CVA) . . .	40
63. Křížové porovnání (cross-validation) v rámci diskriminační analýzy pro skupiny HalMerau a Tanimbar.	41
64. Schéma variability tvaru mezi skupinami HalMerau a Tanimbar.	41
65. Křížové porovnání (cross-validation) v rámci diskriminační analýzy pro skupiny JayBiCer a Tanimbar.	42
66. Schéma variability tvaru mezi skupinami JayBiCer a Tanimbar.	42
67. Křížové porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro skupiny Kai a Tanimbar.	43
68. Schéma variability tvaru mezi skupinami Kai a Tanimbar.	43
69. Bodový graf skóre první a druhé osy, získaných pomocí analýzy hlavních komponent pro rozeznání pohlaví	44
70. Bodový graf skóre první a druhé osy, získaných pomocí analýzy hlavních komponent pro rozeznání pohlaví v rámci skupiny HalMerau	44
71. Graf křížového porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro pohlavní dimorfismus.	45
72. Shluková analýza (CVA) pro všechny zkoumané populace <i>T. gigas</i> a <i>T. scincoides</i>	60
73. Shluková analýza pro populace Merauke a Merauke se znaky <i>scincoides</i>	61
74. Diskriminační analýza pro populaci Merauke a Merauke se znaky <i>scincoides</i>	61
75. Fotografie hlavy jedince ID 522 z populace ceram.	62
76. Fotografie hlavy jedince ID 509 z populace ceram.	62
77. Barevný vzor populace Kai	62
78. Barevný vzor populace Halmahera	63
79. Barevný vzor populace Merauke	63
80. Barevný vzor populace Sorong	64
81. Barevný vzor populace Ceram	64
82. Barevný vzor populace Jayapura	65
83. Barevný vzor populace Biak	65

Kapitola 1

Úvod

Získávání informací na základě analýzy chemických látek ze svého okolí pomocí čichového epitelu a vomeronasálního ústrojí je pro plazy důležitý způsob monitorování prostředí (Martín a Lopéz 2014). Chemická komunikace je jeho významnou součástí a ačkoliv není na první pohled lidmi pozorovatelná, jedná se o velmi komplexní způsob výměny informací. Může například obsahovat informace o sociální struktuře společenstva (Aragón a kol. 2001a, Aragón a kol. 2001b) nebo být zásadní při výběru budoucího partnera (Cooper, Jr. a Pérez-Mellado 2002). U druhů, kde není sociální uspořádání známé a jejich studium v přírodě je velmi obtížné, mohou být behaviorální experimenty zaměřené na sledování reakce na pachový stimul vhodnou alternativou k jeho lepšímu pochopení.

Mezi tyto druhy patří i novoguinejský druh scinka *Tiliqua gigas*. Ačkoliv nejbližší příbuzný druh *Tiliqua scincoides* byl již v minulosti zkoumán na některé typy pachové diskriminace (potravní preference (Cooper, Jr. 2000), rozpoznání vlastního pachu (Graves a Halpern 1991)), *T. gigas* je druh, o kterém toho zatím moc nevíme. Jedná se sice o druh, který je s oblibou chovaný v zajetí (Unverzagt 2000), nicméně vzhledem k lokalitě jeho původu je poměrně obtížné jej studovat v přirozeném prostředí (Shea 2000). Ze zkušenosti chovatelů také víme, že samci obou druhů se vůči sobě chovají velmi agresivně a jejich potenciální teritorialita tudíž není vyloučena, ačkoliv v přírodě zatím pozorována nebyla (Gassner 2000).

V souvislosti s širokým rozšířením druhu (pás táhnoucí se od východní Indonésie až po východní Novou Guineu) *T. gigas* (Shea 2000) i druhu *T. scincoides* (severo–východní Austrálie a ostrovy severně od Austrálie) (Unverzagt 2000) se vytvořilo několik distinktních poddruhů z různých geografických lokalit (Shea 2000). V rámci lokalit výskytu jsou od sebe některé populace vzhledově snadno odlišitelné (Shea 2000), nicméně u některých je identifikace obtížnější (Hitz a Hauschild 2000). Vzhledem k popularitě jejich chovu, může často docházet k hybridizaci mezi populacemi i mezi poddruhy (několik populací může být v rámci jednoho poddruhu) nebo k záměně lokality jejich původu za účelem získání vyšší prodejní ceny (Hitz a Hauschild 2000, Unverzagt 2000). Vyvinutí dostupné terénní metody zařazení jedince do správné populace by bylo velmi přínosné ať už pro vědce zabývající se touto problematikou, tak i pro chovatele těchto charismatických druhů velkých scinků. Takovou metodou může být například geometrická morfometrie, kterou jsem v této práci na rozlišení populací aplikovala.

Nedílnou součástí mé diplomové práce týkající se jak chemické komunikace, tak morfometrie je problematika určení pohlaví u těchto druhů, neboť doposud není známa žádná spolehlivá neinvazivní metoda k jeho určení. Otázky, na které se budu snažit získat odpověď jsou následující:

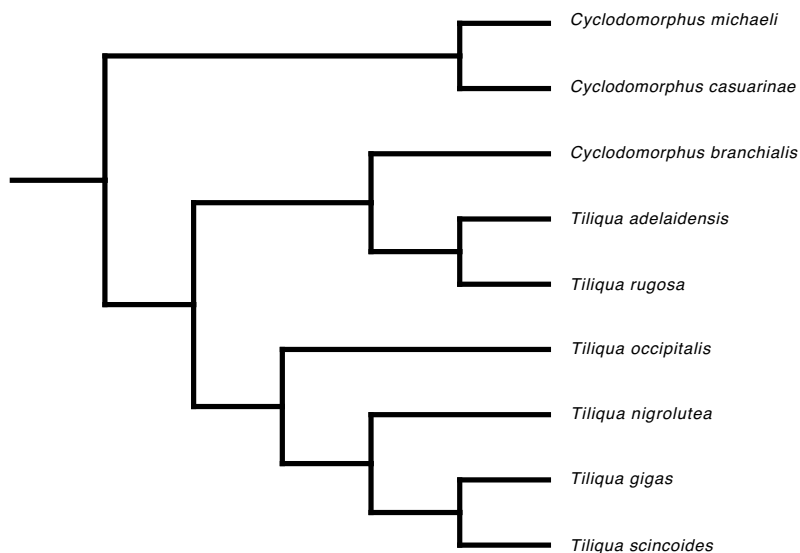
- Liší se reakce na jednotlivé typy pachových stimulů a jsou mezi nimi jedinci schopni rozlišovat?
- V případě že ano, liší se reakce v závislosti na pohlaví či na populaci ze které daný jedinec pochází?
- Je možné od sebe jednotlivé populace rozlišit na základě geometrické morfometrie hlavy a je toto rozdělení v souladu s fylogenetickými vztahy?
- Je možné od sebe pomocí geometrické morfometrie hlavy odlišit pohlaví testovaných jedinců?

Kapitola 2

Obecná charakteristika rodu

2.1 Fylogenetické zařazení

Rod *Tiliqua* patří mezi šupinaté plazi (*Squamata*), do kladu *Scincomorpha*, v jehož rámci patří do nadčeledi *Lygosomoidea* a čeledi *Egerniidae* (Hedges 2014). V rámci rodu *Tiliqua* rozeznáváme 7 druhů, kterými jsou: *T. adelaidensis* (Peters, 1863), *T. gigas* (Schneider, 1801), *T. multifasciata* (Sternfeld, 1919), *T. nigrolutea* (Quoy and Gaimard, 1824), *T. occipitalis* (Peters, 1863), *T. rugosa* (Gray, 1825) a *T. scincoides* (White, 1790) (Hedges 2014).



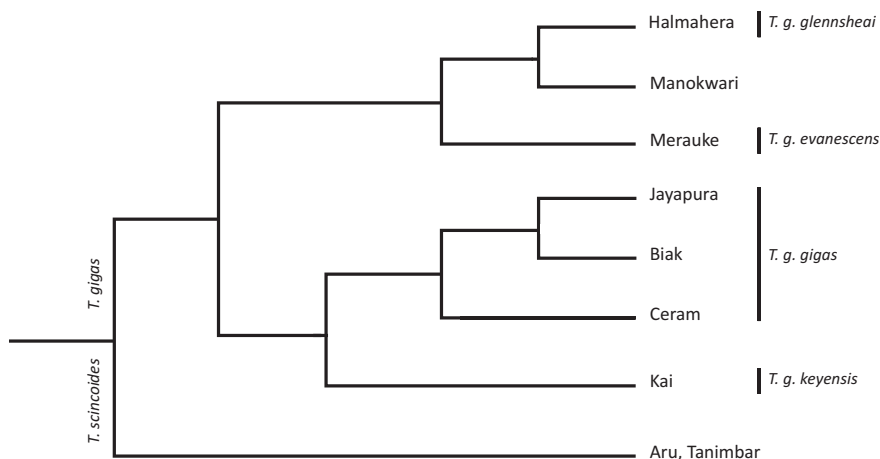
Obrázek 1. Zjednodušený fylogenetický strom rodu *Tiliqua* dle Pyrona a kol. (2013). Pro druh *T. multifasciata* neexistují molekulární data a ve stromu tudíž není zahrnutý (Frynta a kol. 2018 submitted).

V této práci se zaměřím hlavně na druhy *T. gigas* a *T. scincoides*, které si jsou navzájem v rámci rodu nejblíže příbuzné (Hedges 2014), viz obr. 1. Fylogenetické rozdělení jejich poddruhů bylo dříve zpracováváno primárně podle morfologických charakteristik (Shea 2000). *T. scincoides* je členěna na tři poddruhy: bazální *T. scincoides scincoides* (White, 1790), oddělené *T. scincoides chimaerea* Shea, 2000 a *T. scincoides intermedia* Mitchell, 1955 (Shea 2000).

Pro druh *T. gigas* je situace trochu komplikovanější. Nejprve došlo k rozdělení na poddruhy *T. gigas gigas* (Schneider, 1801) a *T. gigas keyensis* Oudemans, 1894 (Shea 2000). Shea (2000) popsal následně další poddruh, *T. gigas evanescens* Shea, 2000. Hoser (2014) v nedávné době vyčlenil na základě morfologických charakteristik dva poddruhy z již existujících poddruhů zmíněných výše. Konkrétně se jedná

o populaci z Halmahery dříve řazenou pod *T. g. gigas* a nově tvořící vlastní poddruh *T. gigas glennsheai* (Hoser 2014). Druhým nově vytvořeným poddruhem je populace z ostrovu Yapen, tvořící nově druh *T. gigas grantturneri* (Hoser 2014).

V současné době však již máme informace z nové studie, zaměřující se na vztahy mezi jednotlivými poddruhy na základě molekulárních dat (Frynta a kol. 2018 submitted). *T. gigas* se štěpí na dva jasné klady, odpovídající i geografickým lokalitám daných populací. První zahrnuje *T. g. glennsheai* z Halmahery, blíže příbuzné druhům z oblasti Manokwari. Těmto dvěma liniím se jeví jako nejbližší příbuzná *T. g. evanescens* z oblasti v okolí Merauke. Druhý klad zahrnuje poddruhy *T. g. gigas* a *T. g. keyensis*. V rámci *T. g. gigas* jsou si nejbližší příbuzné populace z oblasti Jayapura a Biaku (Frynta a kol. 2018 submitted). Jednotlivé vztahy jsou přehledně znázorněny v obr. 2. Zajímavé je, že populace z oblasti Aru dříve řazená pod *T. g. keyensis* má vzhledem k výsledkům z proběhlé analýzy mnohem blíže k poddruhům *T. s. chimaerea* a *T. s. intermedia* (Frynta a kol. 2018 submitted). Autoři však zmiňují, že pro konkrétnější zařazení v rámci těchto dvou poddruhů je potřeba provést další analýzy (Frynta a kol. 2018 submitted).



Obrázek 2. Zjednodušený fylogenetický strom příbuznosti populací druhů *T. gigas* a *T. scincoides* podle Frynta a kol. 2018 submitted.

Vzhledem k obrovskému rozšíření druhu *T. gigas* (viz podkapitola „Původ a rozšíření“) je vysoce pravděpodobné, že ještě mnoho poddruhů zůstává neobjevených. Nicméně situace ohledně jejich určování je velmi problematická, neboť zvířata exportovaná z této oblasti jsou často nejistého původu (Hitz a Hauschild 2000). Za účelem získání vyšší prodejní ceny může docházet k mezidruhovému hybridizaci ze strany chovatelů (Hitz a Hauschild 2000). U druhu *T. scincoides* je situace ještě komplikovanější, neboť export australských druhů podléhá přísné legislativě a tudíž je prakticky nemožný (Unverzagt 2000). Většinou tedy dochází k vývozu příbuzného druhu *T. s. chimaerea*, který může být vydáváný za australský druh *T. s. scincoides* (Hitz a Hauschild 2000).

2.2 Původ a rozšíření

Scinkové tvoří v Austrálii nejpočetnější a nejdiferenzovanější skupinu ještěřů. Zjednodušeně by se dalo říct, že se dají nalézt ve všech typech habitatů, kde mají půdu pod nohama (Wilson 2012). Zde také proběhla radiace rodu *Tiliqua* (Frynta a kol. 2018 submitted). Pět ze sedmi druhů rodu *Tiliqua* se stále vyskytuje pouze v Austrálii, přičemž jsou rozšířeny v podstatě po celé její ploše (Swan 2008). Dva druhy však expandovaly i mimo oblast Austrálie. Jedná se konkrétně o druhy *T. scincoides* a *T. gigas*, přičemž druhý zmíněný se vyskytuje pouze na sever od Torres Strait, mimo kontinent Austrálie (Frynta a kol. 2018 submitted). Jejich nejbližší příbuzný je druh *T. nigrolutea* (Pyron a kol. 2013).

K oddělení druhu *T. gigas* od *T. scincoides* došlo pravděpodobně v oblasti Torres Strait (resp. Torreského průlivu) v období klesnutí hladiny oceánů důsledkem nárůstu ledovců (Hitz a Hauschild 2000). Populace, které překonaly tuto oblast, se následně začaly šířit na sever od vodní bariéry a vytvořily samostatný druh *T. gigas* (Hitz a Hauschild 2000). Holotyp *T. gigas* byl popsán jako *Scincus gigas* z oblasti okolo Ambonu (Shea 2000). Nicméně možnost překročení Torreského průlivu nastala v geologické historii pravděpodobně vícekrát, tudíž mnohonásobná disperze není vyloučená, naopak by vysvětlovala vyvinutí poddruhu *T. s. chimaerea* mimo Austrálii (Hitz a Hauschild 2000).

Jak jsem již zmínila výše, v minulosti docházelo k dočasným propojením mezi izolovanými pevninami, což umožňovalo migraci zvířat a také rozšíření druhu *T. gigas* i mimo oblast ostrovu Nová Guinea (Voris 2000). V důsledku těchto procesů obývá tilikva obrovská v současnosti obrovské území táhnoucí se 1600 km od východní Indonésie až po východní Novou Guineu (Shea 2000). Její rozšíření sahá částečně až po geografickou oblast Wallacey, kde docházelo pouze k mořské migraci (Frynta a kol. 2018 submitted). Je otázkou, do jaké míry byla do těchto nedostupných oblastí také importována lidskou činností.

Vzhledem k tomu, že na daném území se vyskytuje spousta přirozených bariér (Centrální vysočina táhnoucí se napříč Novou Guineou, Halmaherské moře, Seramské moře a další) zabraňujících genetickému driftu mezi populacemi, došlo v rámci druhu k vytvoření několika oddělených poddruhů (Frynta a kol. 2018 submitted).

- *Tiliqua scincoides*

Rozšíření druhu *T. s. scincoides* je vázáno především na severo–východní oblasti Austrálie. Vyskytuje se v pobřežním pásu od severo–východního teritoria Západní Austrálie až po severo–východní části teritoria Jižní Austrálie (Unverzagt 2000). *T. s. intermedia* je známa především ze severní části australského teritoria Západní Austrálie. *T. s. chimaerea* obývá ostrovy Tanimbar a Babber, které se nacházejí mezi Austrálií a Novou Guineu (Unverzagt 2000). Dle studie Frynty a kol. 2018 submitted je na místě sem zařadit i populaci z ostrovů Aru.

- *Tiliqua gigas*

Jak jsem již zmínila výše, *T. gigas* je jediný druh, který se vyskytuje zcela mimo území Austrálie. *T. g. gigas* je známa především z některých lokalit na souostroví Moluky ve východní Indonésii (Ambon, Saparau, Ceram, Misol, Ternate a Morotai) (Shea 2000). Dále z oblastí při severním pobřeží Nové Guinei (Doom, Biak, Selev, Kar Kar, Jayapura) (Shea 2000, Frynta a kol. 2018 submitted). *T. g. keyensis* se vyskytuje na Kai ostrovech při jiho–západním pobřeží Nové Guinei (Shea 2000).

T. g. evanescens byla pozorována v nížinách a přilehlých podhůřích na východní a jižní části Nové Guinei (konkrétně například lokalita Merauke). Kromě těchto lokalit byl její výskyt zaznamenán i na pár ostrovech při severo-východním a východním pobřeží Nové Guinei (Shea 2000). Nově vyčleněný druh *T. g. grantturneri* je znám z oblasti Yapenu (Hoser 2014) a *T. g. glennsheai* z Halmahery (Hoser 2014).

2.3 Ekologie a etologie druhů *Tiliqua gigas* a *Tiliqua scincoides*

Druhy *T. gigas* a *T. scincoides* jsou poměrně oblíbené mezi chovateli, neboť nejsou příliš náročné na péči a snadno se s nimi manipuluje. Oproti dřívějším rokům je možné najít i literaturu věnující se jejich chovu, která částečně vypovídá o etologii a ekologii těchto zvířat (Unverzagt 2000, Gassner 2000, Swan 2008). Nicméně stále je mnoho populací, jako například poddruh *T. s. chimaerea*, o kterých je velmi obtížné získat informace (Hitz a Hauschild 2000).

Tyto dva druhy lze od sebe rozlišit morfologicky již na první pohled. Je proto s podivem, že bývají často na fotografiích zaměňovány (Gassner 2000). *T. gigas* má na šíji jasný černý pruh a zesponu těla a na končetinách převládá obvykle tmavá až černá barva (Gassner 2000). Také jednotlivé populace mohou mít odlišnou délku těla, zbarvení či vzor, který může být kryptický (Shea 2000). Jedním z předmětů mého výzkumu bylo zjistit, zda jsou od sebe vybrané populace morfometricky rozlišitelné na základě tvaru hlavy a uspořádání šupin na hlavě. Výsledky by mohly být cenné jak mezi chovateli, tak na vědeckém poli, neboť by se dalo snadno ověřit, jestli daný jedinec patří do příslušné populace, jiné populace či se jedná o nový druh.

Oba druhy jsou omnivorní a nepohrdnou téměř žádným druhem stravy počínaje ovocem, zeleninou, hmyzem, drobnými savci či mršinou. Obzvláště oblíbenou potravou jsou ulitnatí plži (Shea 2000, Unverzagt 2000, Gassner 2000, autorovo vlastní pozorování).

Jedná se o diurnální živočichy, kteří mají dobře vyvinuté oči, uši i chemosenzorické orgány (Wilson 2012). Noc většinou tráví v úkrytu. Jako úkryt může sloužit tlející dřevo, plech, kůra nebo substrát.

Vyskytují se v různých typech habitatů počínaje tropickými deštnými pralesy, plantážemi až po polopouště (Shea 2000, Price-Rees a kol. 2013). Ovšem bývají také často spatřeny poblíž lidských obydlí, v parcích a na zahradách, kde jsou vítanými hubiteli ulitnatých plžů (pozorováno hlavně u *T. scincoides*) (Unverzagt 2000).

Obvykle žijí soliterně a potkávají se pouze v reprodukčním období, které může být velmi různorodé a liší se především podle místa výskytu druhu a sezonality lokálního podnebí. U australských druhů se uvádí období místního jara, které se kryje s obdobím sucha (Unverzagt 2000). Ovšem druhy vyskytující se blíže k rovníku, žijí v prostředí s klimatem tropického deštného pralesa a nemají distinktně oddělená období sucha jako australské druhy. Pouze jižnější populace na Nové Guinei mají několik měsíců dlouhé období sucha, podle kterého se mohou orientovat (Gassner 2000). Je známo, že blízké příbuzný druh *T. rugosa* je monogamní a dokonce tvoří stabilní páry i napříč sezonami (Bull 1988).

Zatím není jasné zda-li se jedná o teritoriální živočichy, nicméně na základě pozorování chovatelů se samci v zajetí vůči sobě chovají agresivně a teritorialita u nich není vyloučená, spíše naopak (Unverzagt 2000, Gassner 2000). Gassner (2000) pozoroval v zajetí agresivitu u *T. scincoides* i vůči samicím.

Samice jsou březí zhruba tři měsíce a rodí 2-25 živých mláďat (Gassner 2000, Unverzagt 2000, Shea 2000). Mláďata jsou hned po porodu samostatná, matka jim maximálně pomůže se vysvléct z placenty, kterou následně mláďata snědí. Chovatelé je většinou ihned po porodu od matky oddělí, nicméně bylo pozorováno, že matka mláďata u sebe tolerovala i po dobu zhruba třech týdnů, aniž by jim věnovala jakoukoliv pozornost (Gassner 2000, Unverzagt 2000, Shea 2000). Je zajímavé, že blízce příbuzný monogamní druh *Egernia stokesii* žije v poměrně stabilních skupinách, které obsahují pár a jeho potomky v rámci několika snůšek (Gardner a kol. 2001, Gardner a kol. 2007). Dokonce bylo pozorováno, že ve skupině jsou tolerováni i již dospělí potomci (Gardner a kol. 2001).

■ 2.3.1 Antipredační chování

Pro oba tyto druhy je typický jejich jasně modře melaninem zbarvený jazyk (Abbate a kol. 2009). Jeho plné vyplazení (tzv. „full tongue display“ viz obr. 3) je často pozorováno, když se jedinci cítí v ohrožení (Abramjan a kol. 2015, Badiane a kol. 2018, Unverzagt 2000). V dřívějších dobách mu byla vzhledem k nápadnosti a souvislostem jeho prezentace přikládána primárně antipredační funkce. Často je také plné vyplazení jazyka pozorováno v reakci na predátora a společně s ním prvky chování jako stočení těla do tvaru podkovy a syčení, což tuto hypotézu podporuje (Unverzagt 2000). Nicméně až do letošního roku nebyla publikována žádná studie týkající se tohoto jevu, která by behaviorálně ověřovala jeho funkci.



Obrázek 3. Obrázek převzat z práce Badiane a kol. 2018. Je na něm zachyceno plné vypláznutí jazyka (tzv. „full tongue display“) u druhu *T. scincoides intermedia*. Je zde také patrné stočení těla do tvaru podkovy.

Dle výzkumu Abramjana a kol. (2014) může mít také funkci vnitrodruhového signálu. Samci těchto druhů se vůči sobě chovají velmi agresivně, tudíž by bylo pro obě strany výhodné mít signál, který umožní případnému souboji předejít. Odstín a intenzita modrého zbarvení se vnitrodruhově liší a mohla by také odrážet aktuální kondici zvířete (věk, zdraví, hormonální hladinu) (Abramjan a kol. 2015).

Modrá barva jazyka je UV-reflektivní (Abramjan a kol. 2015). Výše zmíněnou hypotézu vnitrodruhového signálu podporuje i fakt, že druhy z rodu *Tiliqua* jsou schopni vidět v UV-spektru (New a kol. 2012). Výzkum byl sice proveden u druhu *T. rugosa*, nicméně zdá se, že vizuální aparát je u denních ještěřů poměrně konzervativní (Loew a kol. 2002, Fleishman a kol. 1993, Abramjan a kol. 2015). Zajímavé je, že čistě modrý jazyk mají v rámci rodu *Tiliqua* v podstatě pouze dva druhy, kterými jsou právě zmiňované *T. gigas* a *T. scincoides*. *T. rugosa* má například jazyk téměř černý a u blízce příbuzného druhu *Cyclodomorphus gerrardii* mají modře zbarvený jazyk pouze mláďata (Abramjan a kol. 2015).

V letošním roce byla publikována práce týkající se behaviorálního ověření funkce plného vypláznutí jazyka jakožto antipredačního mechanismu. Konkrétně se autoři studie zajímali o to, zda-li je plné vypláznutí jazyka je spuštěno bezprostředně hrozící predací (Badiane a kol. 2018). Jako modelový druh

byla vybrána *T. s. intermedia*, přičemž experimentu se účastnilo 13 jedinců z volné přírody. Postupně byli vystaveni čtyřem atrapám sympatricky žijících predátorů (*Pseudonaja mengdeni*, *Dacelo leachii*, *Varanus panoptes* a blíže nespecifikovaný druh lišky) a jedné kontrole (dřevo) v různých stupních útoku. K plnému vypláznutí jazyka docházelo až v posledních fázích simulovaného útoku, což vedlo autory k závěru, že správné načasování může být zásadní z hlediska úspěšnosti daného chování. Současně autoři studie pozorovali, že to jak moc daný jedinec vyplazuje jazyk při chemosenzorickém zkoumání okolí, závisí na přítomnosti predátora. Kromě výsledků z behaviorálních experimentů také zjistili, že zadní část jazyka je v UV světle dvakrát více zářivější než jeho špička. Na základě výsledků studie autoři navrhli několik vysvětlujících hypotéz týkajících se tohoto typu chování. Jako nejpravděpodobnější se mi jeví hypotéza, že vypláznutí jazyka funguje jako deimatický signál pro vystrašení predátora a naznačení, že mu bezprostředně hrozí útok od ještěra. Deimatický signál je druhově specifický, typický svým rychlým, často překvapivým provedením. Jeho hlavním účelem je momentálně „šokovat“ predátora, který na základě tohoto signálu zastaví, zpomalí nebo alespoň přeruší útok (Umbers a kol. 2015). U některých druhů může být součástí odstrašující zbarvení (Umbers a kol. 2015). Autoři této studie naznačují, že je potřeba navázat dalšími studii týkajícími se tohoto jevu, nicméně se zaměřením na reakci predátora (Badiane a kol. 2018).

Kapitola 3

Chemická komunikace plazů

Jedním z důležitých zdrojů výměny informací u šupinatých plazů je chemická komunikace (Baeckens a kol. 2017, Martín a Lopéz 2014). Ačkoliv je v současnosti stále předmětem výzkumů, ukazuje se, že hraje významnou roli v mnoha aspektech běžného života plazů (viz review Martín a Lopéz 2014, Mason a Parker 2010). Mezi nesporné výhody chemické komunikace patří, že se dá dobře využívat za tmy, informaci nese dlouho poté co producent pachu odejde a může k ní docházet i na delší vzdálenosti (Mason a Parker 2010).

Na základě pachové diskriminace jsou jedinci schopni rozeznat biologicky důležité stimuly (například potravu), od těch nedůležitých (Cooper, Jr. a Burghardt 1990). Aktivní lovci se na chemické informace spoléhají mnohem více než druhy se strategií „sit and wait“, kteří se spíše řídí vizuálními vjemy (Baeckens a kol. 2017). Chemická komunikace může také sloužit k rychlému rozpoznání hierarchických vztahů mezi samci, což může být zásadní z hlediska úspory energie a minimalizaci zranění (Aragón a kol. 2001b). Kromě výše zmíněných hraje významnou roli v rozeznání jedince a pohlaví, sociální organizaci (Aragón a kol. 2001a), značení teritoria a v neposlední řadě při výběru partnera a následném páření (Cooper, Jr. a Pérez-Mellado 2002). Některé z výše zmíněných interakcí mohou podléhat sezonalitě a být závislé například na aktuální pářící kondici samce (Cooper, Jr. a Vitt 1984).

Chemické látky (pachy) mohou být ze vzduchu zpracovány dvěma cestami. Buď přímo přes tzv. „nasal olfactory system“ a nebo pomocí vomeronasálního orgánu (Schwenk 1995), kam jsou dopravovány pomocí jazyka (Baeckens a kol. 2017). Pro lepší nasání a lokalizaci pachu, může docházet i k přímým dotekům jazyka se stimulem, což hraje významnou roli např. při individuálním rozpoznávání (Schwenk 1995). Šupinatí plazi jsou dobrým objektem pro výzkum chemické komunikace, neboť vyplazování jazyka je u nich často pozorovaný prvek chování, který vypovídá o zájmu jedince a počet jeho vypláznutí je snadno spočitatelný (Cooper, Jr. a Pérez-Mellado 2002).

Zásadní složkou pachu vyvolávající reakci jedince jsou feromony (Martín a Lopéz 2014). Karlson a Luscher (1959) definují feromony jako: „substance, které jsou jedincem vylučovány ven, kde jsou přijaty jedincem stejného druhu, ve kterém vyvolají specifickou reakci jako např. určité chování nebo vývojový proces“. Může se jednat o různé chemické látky jako například steroidy, mastné kyseliny a další (Martín a Lopéz 2014). Odlišná složení těchto látek nebo jejich asociace s jinými látkami může podávat informace o daném jedinci. Konkrétně například o zdravotním stavu daného individua, jeho pohlaví nebo sociálním statusu (Martín a Lopéz 2014). Wyatt (2010) tyto rozdílné seskupení látek v produkovaném sekretu označuje jako „signature mixture“. Feromony vysvětluje jako molekuly, které jsou například obecně produkované všemi jedinci stejného pohlaví jednoho druhu. Oproti tomu „signature mixture“ jsou směsí signálů a molekul charakteristických pro jedince (či v případě sociálního hmyzu pro kolonii). Zásadní rozdíl spočívá také v tom, že reakce na feromony je vrozená, nicméně pro reakci na „signature mixture“ je nezbytný proces učení (Wyatt 2010).

Nejdůležitější místa, kde dochází k produkci sekretů obsahujících výše zmíněné látky jsou femorální a prekloakální žlázy (Martín a Lopéz 2014). Nicméně na povrch těla mohou být vylučovány i jiné chemické látky, které mají důležitou metabolickou funkci (např. vitamin E, kyselina linolová) a mohou vyvolávat reakci podobnou té, co vyvolávají feromony. Takovéto látky často nejsou obratlovci schopni sami produkovat, ale musí je získat z prostředí. To, že je vyloučí ve formě pachu, může vypovídat o kvalitě jedince, neboť jich jsou schopni získat nadbytek, tudíž mohou nějaké postrádat a posléze je vyloučit (Martín a Lopéz 2014). Vyloučení těchto látek může být jasným signálem pro samici, že samec obývá teritorium s dostatkem potravních zdrojů a je vhodným partnerem k páření. Stále je však předmětem výzkumů, jak spolehlivě se mohou chemické látky obsažené v pachu přiřadit k charakteristikám daného jedince (Martín a Lopéz 2014).

Nezanedbatelnou součástí chemické komunikace tvoří trus, jež hraje významnou roli při značení teritoria. Důležitým zdrojem informací může být i pro juvenilní jedince, kteří si pomocí něj sociálně mapují prostředí (Moreira a kol. 2008). Moreira a kol. (2008) zjistili, že mláďata *Iberolacerta monticola* dokáží rozeznávat mezi trusem jiných mláďat, dospělých samic a dospělých samců, přičemž místům označeným dospělým samcem se snaží vyhýbat. Tímto chováním snižují riziko predace a kanibalismu od dospělých samců a má tedy zásadní vliv na jejich budoucnost (Moreira a kol. 2008).

3.1 Související experimenty

Druh dominující provedeným experimentům minulých let týkajících se chemické komunikace u ještěřů je *I. monticola* (viz (Aragón a kol. 2001a, Aragón a kol. 2001b, Moreira a kol. 2008). Nicméně byly provedeny i výzkumy s některými druhy scinků, jež zmíním níže v této podkapitole.

V experimentech zkoumajících chemickou komunikaci bývají často jako stimuly nesoucí pach jedince použity vatové tyčinky (Cooper, Jr. a Pérez-Mellado 2002, Cooper, Jr. a Vitt 1984, Aragón a kol. 2001b, Cooper, Jr. 2000). Jako kontrolní pachy se naopak používají různé typy alkoholů (např. kolínská), voda nebo čistá tyčinka.

- *Tiliqua scincoides*

Graves a Halpern (1991) zkoumali, zda-li dokáže jedinec druhu *T. scincoides* odlišit svůj pach od jiných pachových stimulů. Během experimentu bylo testované zvíře přemístěno do nového terária, které mělo stejné dispozice jako jeho domovské terárium. Na dně byl umístěn papír, který byl nasáklý testovaným pachem a fungoval tedy jako stimul. Kromě vlastního pachu zvířete byla testována reakce na pach jiného zvířete stejného druhu, jídlo a čistý papír (kontrola). Vyhodnocení experimentu bylo založeno na počtu vypláznutých jazyků („tongue flicking“) v průběhu pěti minut od začátku experimentu. Reakce na jednotlivé stimuly se signifikantně lišily, přičemž na svůj vlastní pach reagovali nejméně. Autoři studie vysvětlují toto chování tak, že testovaní jedinci jsou schopni odlišit sebe od ostatních pachů a tudíž reagují méně, protože se nejedná o nový, pro ně zajímavý stimul (Graves a Halpern 1991).

- *Plestiodon laticeps*

Autory studie týkající se druhu *Plestiodon laticeps* (známější jako *Eumeces*) zajímalo, zda-li jsou samci schopni rozlišit pach samce od samice vlastního druhu a zda je tato diskriminace vázána na aktuální pářící kondici samce (Cooper, Jr. a Vitt 1984). Pachy byly předkládány na vatových tyčinkách a

odebírány z dvou oblastí na těle zvířete (kloaka a oblast břicha). Jako kontrola sloužila tyčinka namočená v destilované vodě. Celý experiment se skládal ze dvou částí. V první předkládali testovaným jedincům pachy odebrané z kloaky samce, samice a kontrolní pach, přičemž v druhé části byl postup stejný, nicméně samcům injekčně aplikovali testosteron k navození reprodukční aktivity a samicím estrogen. Hlavním měřeným faktorem bylo vyplazování jazyka, nicméně autoři párkrát upozorovali i kousnutí do tyčinky. V prvním experimentu zvířata vyplazovala jazyk signifikantně více na pachy kloaky než na vodu a rozdíl byl pozorován i mezi pachy z kloaky navzájem (více vyplazovali jazyk na samičí kloaku). Po aplikaci testosteronu a estrogeneru se zvedla reakce na samičí pach a reakce na samčí zůstala stejná jako v první části experimentu. Autoři studie z výsledků usuzují, že oblast kloaky musí obsahovat specifické látky, které vyvolávají zvýšenou reakci v podobě vyplazování jazyka u samců (Cooper, Jr. a Vitt 1984).

- *Tiliqua scincoides* a *Tiliqua rugosa*

Na závěr této podkapitoly bych ráda zmínila experiment, který se sice netýká sociálních interakcí, nicméně jedná se o pachovou diskriminaci u mého modelového druhu, proto si myslím, že by zde měl být zmíněn. Cooper (2000) testoval reakce u dvou druhů tilikev (*T. scincoides* a *T. rugosa*) na chemické stimuly představující jejich přirozenou potravu. Jednalo se konkrétně o živočišnou potravu, kterou představoval cvrček (*Acheta domestica*) a rostlinnou v podobě lociky seté (*Lactuca sativa*). Jako kontrolní stimuly byly použity deionizovaná voda a kolínská, jakožto kontrola na chemický stimul, kterým není voda. Pach byl předkládán na vatových tyčinkách. Během vyhodnocování bylo počítáno množství vypláznutí jazyka, nicméně zásadním prvkem bylo, pokud jedinec kousl do tyčinky, neboť to znázorňovalo krmení a schopnost zvířete rozeznat potravu. Výsledky se lišily u obou zkoumaných druhů. *T. scincoides* průkazně rozlišuje mezi stimulem cvrčka a vodou. Všichni jedinci kousali do stimulu s pachem cvrčka, ovšem ve vyplazování jazyka se mezi stimuly moc nelišili. Nicméně autoři vysvětlují toto chování tak, že pro cvrčka i rostlinu byla často kratší doba experimentu, neboť následně do stimulu kousli a tím byl ukončen. U druhu *T. rugosa* se podle počtu vyplazených jazyků a latence do kousnutí nenašel signifikantní rozdíl v reakci na stimuly, ovšem našel se podle hodnoty TFAS (R) (proměnná ukazující sílu reakce jedince na základě kombinace prvků vyplazování jazyka, kousnutí a doba trvání experimentu do kousnutí) u které byla vyhodnocená vyšší reakce na pach cvrčka než rostlinnou potravu (Cooper, Jr. 2000). Zdá se, že minimálně *T. scincoides* je schopna jasně rozlišovat mezi některými typy potravních stimulů a spolu s experimentem uvedeným výše v této kapitole poukazovat na to, že je vhodným druhem k experimentům týkajících se pachové diskriminace.

Kapitola 4

Morfometrie

Morfometrické metody prošly v posledních desetiletích zásadním vývojem. Rohlf a Marcus (1993) označují jako revoluční bod přechod od tradiční morfometrie ke geometrické. Tradiční morfometrie byla založená především na měření délky, hloubky a šířky objektů a měření pouze lineárních rozměrů (Zelditch a kol. 2004). Nelze ovšem tvrdit, že by informace o tvaru neobsahovala, spíše je bylo velmi těžké vyextrahovat, především když se měřená zvířata významně lišila ve velikosti. Hlavním vysvětlením variability mezi druhy v ní tedy byla velikost (Zelditch a kol. 2004). Rozdíl mezi tradiční a geometrickou morfometrií spočívá především v tom, že geometrická morfometrie pracuje se souřadnicemi vzájemně identických morfologických bodů (landmarků), z nichž se následně počítá geometrie struktury, zatímco tradiční pracuje bez nich (Rohlf a Marcus 1993). Tvar je následně mnohem lépe patrný, nezastíněný velikostí. Zelditch a kol. (2004) charakterizoval landmarky jako: „oddělená anatomická místa, která jsou rozeznána jako identická napříč všemi jednotkami, které jsou součástí studie“ (Zelditch a kol. 2004).

Morfometrie může sloužit jako nástroj k rozlišení variability tvaru (Adams a kol. 2013), oddělení kryptických druhů (Protiva a kol. 2016, Dobigny a kol. 2002) či rozeznání pohlaví (Kaliontzopoulou a kol. 2007).

Protivovi a kol. (2016) se podařilo za použití morfologické analýzy od sebe oddělit populace želvyamboinské *Cuora amboinensis* z oblasti Bornea a Sumatry. V této studii porovnávali tvar karapaxu a plastronu výše zmíněného druhu želvy, přičemž u obou našli významný rozdíl mezi populacemi. Dodatečně byla provedena analýza DNA, která s výsledky z morfometrie korespondovala (Protiva a kol. 2016).

Ačkoliv v minulosti byly druhy klasifikovány výhradně na základě jejich morfologických charakteristik, v současnosti naprosto převládá moderní genetická analýza. Nicméně i v současnosti mohou mít morfometrické metody některé nesporné výhody. Na rozdíl od sekvenování nejsou finančně náročné. Dle mého názoru ale jejich hlavní výhoda spočívá v možnosti využití přímo v terénu. Je možné je využít například při monitorování rozšíření populací kryptického druhu či ověření totožnosti při koupi zvířete. Je zde ovšem nutno zmínit, že pro každý druh, kde by se mohla morfometrická analýza v praxi použít, je nutno mít předem vytvořený dataset s dostatečným množstvím zpracovaných jedinců.

V této studii nás především zajímá, zda-li jsou od sebe jednotlivé populace druhu *Tiliqua gigas* odlišitelné na základě geometrické morfometrie a zda případně rozlišení souhlasí s provedenou molekulární analýzou (Frynta a kol. 2018 submitted). Dále se budeme zabývat rozdíly mezi *T. gigas* a *T. scincoides*. Výsledky by tak mohly být cenné nejenom na vědeckém poli, ale i mezi chovateli, kteří by si v případě nejistoty mohli snadno ověřit původ daného zvířete. V neposlední řadě nás bude zajímat, jestli není možné pomocí této metody rozlišit pohlaví, vzhledem k jeho problematice, jež je popsána v následující kapitole.

Kapitola 5

Určení pohlaví

U sexuálně dimorfních druhů může být poměrně snadné od sebe jednotlivá pohlaví odlišit pouze na základě sekundárních pohlavních znaků (Rice 1984). Pro diskriminaci mezi samcem a samicí bývají ještěřů často použity velikost těla (Frýdlová a Frynta 2010), tělesné míry, či tvar těla (Olsson a kol. 2002, Vitt 1983). Nejčastěji se jedná o větší velikost hlavy u samců (Vitt 1983, Kratochvíl a Frynta 2002) nebo delší vzdálenost mezi končetinami u samic (Olsson a kol. 2002, Frýdlová a kol. 2011). Větší velikost hlavy samců bývá vysvětlována rivalitou a množstvím soubojů mezi samci a naopak delší vzdálenost mezi končetinami u samic potřebou prostoru pro vývin většího počtu vajíček (Brana 1996). U některých plazích druhů může být také pohlavní dimorfismus jasně patrný z odlišného zbarvení samců a samic, jako například u druhu *Tropidurus torquatus* (Pinto a kol. 2005).

U *T. gigas* není na první pohled patrný žádný sexuální dimorfismus ve tvaru či velikosti těla. Dle aktuálních studií se zdá, že ani nemají morfologicky rozlišené pohlavní chromozomy (Kratochvíl in verb). Z tohoto důvodu je u nich velmi obtížné určit pohlaví, což může být v některých situacích (například páření) velmi problematické. Na základě zkušenosti chovatelů víme, že samec se vůči jinému samci chová velmi agresivně a nesprávné určení pohlaví může mít pro daná zvířata fatální následky (Gassner 2000).

Jednou z metod jak lze spolehlivě určit samčí pohlaví je kontrastní radiologické vyšetření a kontrastní CT (Obr. 4) (Di Ianni a kol. 2015). Nicméně tyto možnosti jsou pro testovaného jedince poměrně invazivní, neboť musí být pod vlivem narkózy a do oblasti předpokládaného hemipenisu se mu vpraví kontrastní látka (Di Ianni a kol. 2015).



Obrázek 4. Obrázek převzat z práce Di Ianni a kol. (2015). Kontrastní radiologické vyšetření pro zobrazení pohlavních orgánů u druhu *Uromastix aegyptia* s vyznačením hemipenisu.

Phillips a kol. (2016) zkoumali, zda-li se dá pohlaví určit podle různých poměrů délky těla (SVL-délka od rostra ke kloace, šířka hlavy, délka těla mezi končetinami). Bohužel úspěšnost určení správného pohlaví byla velmi slabá (Phillips a kol. 2016). V příručkách chovatelů lze najít různé tipy na určení pohlaví, nicméně málokdy jsou naprosto spolehlivé (Swan 2008). Jednou z takových metod je zkoumání kořene ocasu daného jedince. V případě samice by se měl ocas začít zužovat ihned za kloakou, na rozdíl od samce, který má za kloakou ještě umístěny „kapsy“ hemipenisu. Z tohoto důvodu by si měl samčí ocas za kloakou z počátku udržovat svou šířku a začít se zužovat až později (Gassner 2000). Dle mého názoru je tato metoda vysoce závislá na kondici daného zvířete a nemusí u všech fungovat. Nicméně může být dobrým doplňkem k jiné metodě.

Ráda bych zde zmínila novou metodu určení pohlaví, která je zcela neinvazivní. Samci z čeledi *Lacertidae* si pravidelně svlékají kůži z reprodukčních orgánů (hemipenisů) (Obr. 5). Zajímavé je, že tak mohou činit v podstatě denně (in den Bosch 2001). Ačkoliv se jedná o relativně nepříbuzné druhy a morfologie hemipenisů napříč taxony může být poměrně variabilní, pokusili jsme se sledovat terária našich zvířat, zda v nich podobný útvar také nenalezneme. Více informací je následně v kapitole „Výsledky“.



Obrázek 5. Obrázek převzatý z práce in den Bosch (2011). Svlečka hemipenisu druhu *Omanosaura cyanura*.

Kapitola 6

Materiál a metodika

6.1 Sociální interakce

6.1.1 Chov

Pro výzkum sociálních interakcí byli použiti jedinci z chovů Katedry zoologie UK v Praze. Všechna zvířata byla importována z Indonésie na podzim roku 2014. V každém teráriu byl umístěn jeden jedinec, přičemž rozměry terárií byly 54x48x46 cm. Jako podestýlka byla využita směs lignocelu a mulčovací kůry v poměru 2:1. Kromě podestýlky byla v teráriích umístěna také miska s vodou, umožňující i případné koupání. Teplota v chovech byla během testovací sezony udržována mezi 24–28°C. V teráriích byla umístěna také UV lampa, která umožňovala zvířatům bodově se vyhřát na vyšší teplotu. Zvířata byla krmena 1-2 dny před plánovaným experimentem směsí ovoce (banán, jablko), masovými kapsičkami, šneky nebo hmyzem. Spolu s kmením dostávali také vápník (ve formě prášku „NutriMix, Trouw Nutrition Biofaktory, Ltd“) a jednou za měsíc směs vitamínu AD3 a E ve formě kapek.

6.1.2 Experimentální design

Výzkum probíhal na jaře roku 2017 a 2018, přičemž data z roku 2017 sloužila nakonec jen jako pilotní experiment. V této práci jsou zahrnuta data ze sezony 2018. Zařazeno do něj bylo 19 adultních jedinců *Tiliqua gigas* (n=18) a jeden adultní jedinec *Tiliqua scincoides* (n=1) (Tab. 1).

Testování probíhalo v domovských teráriích, vždy mezi 9-16 hodinou, neboť testovaná zvířata mají denní aktivitu. Měsíc před začátkem testovací sezony byly mezi terária umístěny přepážky, aby na sebe zvířata neviděla a nebyla rozptylována aktivitou v sousedních ubikacích. V rámci přípravy před experimentem byly z terária také odstraněny všechny nadbytečné předměty (miska s vodou, zbytky jídla), aby testované zvíře nebylo vystaveno dalším podnětům, které by mohly potenciálně zkreslit výsledky experimentu a rušily při záznamu experimentu.

Reakce byla testována na čtyři typy pachů předkládaných na vatových tyčinkách. Vatové tyčinky byly vybrány jako vhodný nosič pachového stimulu, v souladu s pracemi jež jsem zmínila výše. Všechny pachové stimuly byly připravovovány těsně před provedením experimentu. Dva byly odebírány přímo z těla zvířete, a to z kloaky a ze hřbetu. Pach z kloaky měl představovat silnější stimul a pach ze hřbetu slabší stimul. Zbylé dva sloužily jako kontrola, přičemž jedna byla vatová tyčinka namočená do ethanolu (99,8 procentní ethanol) a druhá tyčinka bez jakéhokoliv pachu. Při odebírání pachu byly vždy použity gumové rukavice, aby se zabránilo případné kontaminaci vzorků. Během jednoho dne byl pach odebírán pouze od jednoho jedince a následně předkládaný všem jedincům včetně toho, od kterého pach pocházel.

Pachový stimul byl testovanému jedinci předložen vždy po dobu jedné minuty. Na začátku experimentu byla vatová tyčinka opatrně předložena přímo před rostrum testovaného zvířete. Jednotlivé pachové

Tabulka 1. Seznam jedinců zařazených do experimentu týkajícího se chemické komunikace (SVL-délka od rostra ke kloace).

ID	Druh	Populace	SVL (cm)	Váha (g)
428	<i>T. gigas</i>	Merauke	28.67	566,4
429	<i>T. gigas</i>	Merauke	32.06	743,8
430	<i>T. gigas</i>	Merauke	30.23	732
426	<i>T. gigas</i>	Merauke	32.56	675,2
427	<i>T. gigas</i>	Merauke	29.45	516,6
417	<i>T. gigas</i>	Halmahera	29.69	730,6
419	<i>T. gigas</i>	Halmahera	31	699
415	<i>T. gigas</i>	Halmahera	25.79	259
413	<i>T. gigas</i>	Halmahera	26.57	363,8
418	<i>T. gigas</i>	Halmahera	28.36	456,4
420	<i>T. gigas</i>	Halmahera	28.73	348,4
408	<i>T. gigas</i>	Jayapura	28.28	649,4
407	<i>T. gigas</i>	Jayapura	28.45	578,8
404	<i>T. gigas</i>	Jayapura	24.29	335,2
403	<i>T. gigas</i>	Jayapura	26.07	347,2
409	<i>T. gigas</i>	Biak	26.8	445,4
411	<i>T. gigas</i>	Biak	28.61	596,8
410	<i>T. gigas</i>	Biak	28.74	474,2
402	<i>T. scincoides</i>	Tanimbar	25.16	294,2

stimuly byly předkládány v náhodném pořadí. Experiment byl natáčen na kameru SONY DCR-SX15E a trval celkem čtyři minuty, neboť jedinci byly předkládány čtyři pachové stimuly, každý po dobu jedné minuty. V rámci jednoho dne byl každý jedinec podroben pouze jednomu experimentu.

6.1.3 Hodnocené prvky chování

Natočené záznamy byly vyhodnocovány v programu Activities 2.1 ((Vrba a Donát 1993)). Hlavní proměnné, které nás z výstupu programu zajímaly, byly četnosti daných typů chování (prvků). Jako hodnocené prvky byly zvoleny následující pozorované typy chování:

1. vyplazování jazyka (vyplazování jazyka volně do prostoru)
2. dotknutí se jazykem tyčinky
3. kousnutí do tyčinky
4. zavření očí (jednoho nebo obou dohromady)
5. prsknutí
6. syčení
7. zívnutí
8. ucuknutí hlavou od tyčinky
9. odcházení od tyčinky (v případě, že zvíře od tyčinky odešlo, experimentátor vyčkal pár vteřin a stimulu zvířeti znovu opatrně předložil)
10. pokus o kousnutí
11. neaktivita (v případě, že testovaný jedinec neudělal za celou minutu žádný z výše zmíněných typů chování)

6.1.4 Statistické vyhodnocení

Vzhledem k tomu, že některé prvky chování se vyskytovaly jen zřídka a nebylo by možné je statisticky vyhodnotit, rozhodli jsme se udělat tzv. kompozitní proměnné prvků. Na základě Spearmanovy korelační analýzy provedené v programu Statistica 9.1 (StatSoft Inc.) došlo k sloučení některých prvků chování, majících stejný behaviorální význam a s těmito novými proměnnými se nadále pracovalo. Konkrétně se jednalo o proměnné:

- lick–sloučené prvky „vyplazování jazyka“ a „dotknutí se jazykem tyčinky“
- avoid-sloučené prvky „ucuknutí hlavou od tyčinky“, „odcházení od tyčinky“, „prsknutí“, „syčení“
- bite-sloučené prvky „kousnutí“ a „pokus o kousnutí“

Tyto sloučené skupiny představovaly útok (bite), zájem (lick) a defenzívu (avoid). Prvky „zavření očí“ a „zívnutí“ byly vyhodnoceny jako inaktivita (případně nezáměr o daný stimul) a nebyly zahrnuty do následných analýz.

Prvky chování byly podrobeny analýze hlavních komponent (Principal Components Analysis PCA) v programu Statistica 9.1 (StatSoft Inc.) ve sloučené i nesloučené formě.

Z důvodu špatného statistického rozdělení dat byly pro následné analýzy sečteny pro každého jedince počty testovaných prvků v rámci jednotlivých experimentů. V nově vytvořené tabulce byl tedy pro každého jedince sečten celkový počet prvků (v rámci lick, avoid a bite) pro každý testovaný pachový stimul. Pomocí druhé odmocniny těchto dat jsme dosáhli normálního rozdělení, které bylo ověřeno pomocí Shapiro-Wilk W testu ((Shapiro a Wilk 1965)), viz grafy 45, 46, 47. Z důvodu nízkého počtu reakcí a špatného rozdělení dat byla proměnná bite z následujících analýz vyloučena.

Následná analýza probíhala v programu R (R development core team, 2010). Pro zjištění efektu vybraných vysvětlujících proměnných na reakci zvířete byl použit balíček nlme (Pinheiro a kol. 2018) (funkce gls, součást R package version 2.10.0.; R development Core Team 2009). Vysvětlované proměnné použité pro následující analýzy byly avoid a lick a jako vysvětlující proměnné byly dosazeny typ stimulu, pohlaví a populace. ID jedince bylo dosazeno jako náhodný faktor (random factor). Proměnná stimul byla také testována v interakci s proměnnými pohlaví a populace.

Rozdělení na jednotlivé subpopulace bylo dle genetické příbuznosti viz (Frynta a kol. 2018) na Merauke, Halmahera, Tanimbar a Jayapura+Biak sloučené dohromady. V první řadě byl metodou ANOVA srovnán model s vysvětlující proměnnou stimul a ID jako náhodným faktorem s analogickým modelem bez náhodného faktoru. V případě, že byl mezi modely za pomoci AIC (Akaikeho informační kritérium) zjištěn signifikantní rozdíl, pracovalo se dále s modelem zahrnujícím náhodný faktor.

Analýza opakovatelnosti probíhala v programu R s použitím balíčku rptR (Stoffel a kol. 2017) s funkcí rpt.Gaussian. Hodnocenými proměnnými byly lick, avoid a bite. Analyzována byla opakovatelnost chování konkrétního jedince a vliv stimulu byl odfiltrován jako fixní faktor v lineárním modelu, který byl základem pro výpočet opakovatelnosti.

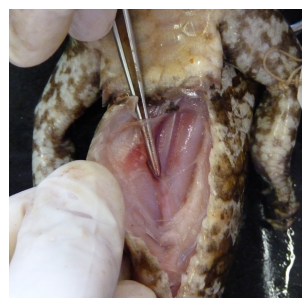
6.2 Morfometrie

6.2.1 Materiál

Pro výzkum bylo použito 69 fotografií adultních jedinců druhu *T. gigas* (n=65) a *T. scincoides* (n=4), viz tabulka 2. Nafocena byla jak živá, tak mrtvá zvířata pocházející z chovů Katedry zoologie UK v Praze a soukromých sbírek chovatelů. Třicet zvířat bylo dovezeno z Indonésie v rámci projektu GAUK č. 754213/2016 a byla známa přesná lokalita jejich původu. Nadpoloviční většina zvířat použitých k analýze byla také osekvenována pomocí mitochondriálního ND4 a 12rRNA genu a jaderných cmos genů (Frynta a kol. 2018 submitted). Na základě této analýzy byla zvířata rozdělena do hlavních fylogenetických linií, které byly v souladu s údaji o geografickém původu studovaných jedinců. U nadpoloviční většiny zvířat bylo také známo pohlaví (u mrtvých zvířat na základě detailní inspekce anatomie reprodukčních a kopulačních orgánů viz obrázky 6 a 7, u živých dle pozorování přítomnosti svlečky hemipenisu či pozorování páření a porodů) a do analýzy využívající geometrickou morfometrii v závislosti na pohlaví zvířete byly zařazeny pouze fotografie jedinců s jistým pohlavím (přímo pozorovaným, jednalo se primárně o zvířata, která byla podrobena pitvě).



Obrázek 6. Samčí pohlavní orgán.



Obrázek 7. Samičí pohlavní orgán.

Jak jsem již zmínila výše, nafocení jedinci pochází z různých lokalit a populací druhů *T. gigas* a *T. scincoides*. Konkrétně se jedná o lokality Merauke, Halmahera Jayapura, Biak, Seram, Kai, Sorong, Aru a Tanimbar, jež jsou znázorněny na obr. 8 a v tabulce 2. K jedincům zařazených do naší studie jsme dále přistupovali na základě lokality jejich původu, proto jsme zachovali i označení dle geografického původu.



Obrázek 8. Lokality původu testovaných populací na Nové Guineji a v jejím okolí (vlastní tvorba).

Tabulka 2. Souhrnná tabulka pro jedince zahrnuté do analýz za pomoci geometrické morfometrie (ID2 a halotyp jedinců na základě studie Frynty a kol. 2018 submitted) Délkou hlavy je míněn rozměr mezi body 1-10 a pro šířku byly použity rozměry 19-20 (Obr. 9).

ID	Druh	ID 2	Haplotyp	Populace	SVL (cm)	Délka hlavy (cm)	Šířka hlavy (cm)	Rozdělení 1	Rozdělení 2
511	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	22.74	3.63	1.85	HalMerau	Merauke
512	<i>T. gigas</i>	230	2	Merauke	30.81	3.98	2.17	HalMerau	Merauke
513	<i>T. scincoides</i>	401	29	Aru	32.59	4.77	2.98	Tanimbar	–
318	<i>T. gigas</i>	227	7	Merauke	32.2	3.79	2.17	HalMerau	Merauke
319	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	32.62	4.26	1.98	HalMerau	Merauke2
320	<i>T. gigas</i>	237	17	Halmahera	27.58	4.73	2.39	HalMerau	–
321	<i>T. gigas</i>	221	20	Halmahera	27.75	4.69	2.45	HalMerau	–
322	<i>T. scincoides</i>	–	–	Tanimbar	29.82	3.28	1.73	Tanimbar	–
323	<i>T. gigas</i>	–	–	Halmahera	34.44	3.74	2.31	HalMerau	–
324	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	31	5.18	2.88	HalMerau	Merauke
326	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	27.11	3.69	1.96	HalMerau	Merauke
327	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	31.24	4.46	2.31	HalMerau	Merauke2
329	<i>T. gigas</i>	206	16	Halmahera	22.79	3.98	1.88	HalMerau	–
330	<i>T. gigas</i>	205	13	Kai	25.83	4.47	2.12	Kai	–
331	<i>T. gigas</i>	204	14	Kai	24.66	4.52	2.58	Kai	–
332	<i>T. gigas</i>	202	14	Kai	27.29	3.48	2.09	Kai	–
333	<i>T. gigas</i>	–	–	Ceram	16.32	2.54	1.51	JayBiCer	–
334	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	28.03	3.73	2.07	HalMerau	Merauke
335	<i>T. gigas</i>	–	–	Halmahera	28.6	4.56	2.27	HalMerau	–
336	<i>T. gigas</i>	214	20	Halmahera	26	3.26	2.18	HalMerau	–
337	<i>T. gigas</i>	213	15	Ceram	18.65	2.95	1.84	JayBiCer	–
339	<i>T. gigas</i>	–	–	Halmahera	23.63	3.70	2.06	HalMerau	–
340	<i>T. gigas</i>	229	23	Merauke	34.4	4.94	2.54	HalMerau	Merauke2
341	<i>T. gigas</i>	–	–	Kai	27.66	3.26	1.69	Kai	–
342	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	35.1	4.42	2.11	HalMerau	Merauke
343	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	32.14	4.14	2.30	HalMerau	Merauke
356	<i>T. gigas</i>	–	–	Kai	32.09	6.98	3.87	Kai	–
357	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	26.66	3.41	2.1	HalMerau	Merauke
358	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	26.23	3.6	2.08	HalMerau	Merauke
359	<i>T. scincoides</i>	218	22	Tanimbar	28.27	4.1	2.35	Tanimbar	–
361	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	–	2.61	1.38	HalMerau	Merauke
425	<i>T. gigas</i>	425	43	Merauke	31.43	4.05	2.61	HalMerau	Merauke
428	<i>T. gigas</i>	428	44	Merauke	28.67	5.14	2.74	HalMerau	–
429	<i>T. gigas</i>	429	4	Merauke	32.06	4.77	2.81	HalMerau	–
430	<i>T. gigas</i>	430	10	Merauke	30.23	5.30	2.75	HalMerau	–
426	<i>T. gigas</i>	426	44	Merauke	32.56	5.1	3.0	HalMerau	Merauke

ID	Druh	ID 2	Haplotyp	Populace	SVL (cm)	Délka hlavy	Šířka hlavy	Rozdělení 1	Rozdělení 2
427	<i>T. gigas</i>	427	2	Merauke	29.45	5.09	2.89	HalMerau	Merauke
417	<i>T. gigas</i>	417	39	Halmahera	29.69	4.84	2.38	HalMerau	–
419	<i>T. gigas</i>	419	40	Halmahera	31	5.13	2.6	HalMerau	–
415	<i>T. gigas</i>	415	38	Halmahera	25.79	4.21	2.19	HalMerau	–
413	<i>T. gigas</i>	413	37	Halmahera	26.57	4.05	2.05	HalMerau	–
418	<i>T. gigas</i>	418	16	Halmahera	28.36	4.18	2.25	HalMerau	–
420	<i>T. gigas</i>	420	41	Halmahera	28.73	4.54	2.28	HalMerau	–
408	<i>T. gigas</i>	408	34	Jayapura	28.28	4.43	2.90	JayBiCer	–
407	<i>T. gigas</i>	407	21	Jayapura	28.45	4.74	2.62	JayBiCer	–
404	<i>T. gigas</i>	404	32	Jayapura	24.29	3.91	2.32	JayBiCer	–
403	<i>T. gigas</i>	403	31	Jayapura	26.07	4.39	2.4	JayBiCer	–
409	<i>T. gigas</i>	409	35	Biak	26.8	5.13	2.61	JayBiCer	–
411	<i>T. gigas</i>	411	35	Biak	28.61	4.36	2.46	JayBiCer	–
410	<i>T. gigas</i>	410	36	Biak	28.74	4.85	2.33	JayBiCer	–
402	<i>T. scincoides</i>	402	30	Tanimbar	25.16	3.87	2.16	Tanimbar	–
500	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	32.27	5.41	2.66	HalMerau	Merauke2
501	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	31.56	5.07	2.4	HalMerau	Merauke2
502	<i>T. gigas</i>	231	25	Merauke	33.02	5.74	3.6	HalMerau	Merauke2
503	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	31.48	4.3	2.53	HalMerau	Merauke
504	<i>T. gigas</i>	234	26	Merauke	36.42	5.84	3.01	HalMerau	Merauke2
505	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	30.13	4.62	2.88	HalMerau	Merauke
506	<i>T. gigas</i>	125	5	Merauke	31.88	5.01	2.67	HalMerau	Merauke
507	<i>T. gigas</i>	126	5	Merauke	32.95	4.23	2.91	HalMerau	Merauke
509	<i>T. gigas</i>	212	19	Ceram	–	2.24	1.56	JayBiCer	–
510	<i>T. gigas</i>	–	–	Merauke	31.44	6.57	3.45	HalMerau	Merauke
508	<i>T. gigas</i>	217	21	Jayapura	31.08	4.73	2.87	JayBiCer	–
520	<i>T. gigas</i>	–	–	Ceram	23.98	3.90	2.38	JayBiCer	–
521	<i>T. gigas</i>	–	–	Ceram	23.47	3.54	2.12	JayBiCer	–
522	<i>T. gigas</i>	–	–	Ceram	23.19	4.08	2.08	JayBiCer	–
523	<i>T. gigas</i>	–	–	Sorong	24.35	3.69	2.03	HalMerau	–
524	<i>T. gigas</i>	–	–	Ceram	24.85	4.09	2.07	JayBiCer	–
525	<i>T. gigas</i>	–	–	Kai	31.47	4.12	2.46	Kai	–
526	<i>T. gigas</i>	–	–	Kai	29.06	4.60	2.53	Kai	–

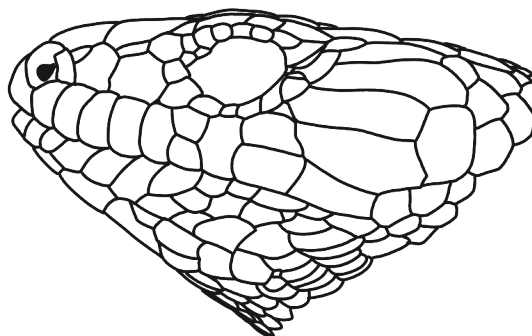
6.2.2 Pořizování fotografií a určování hodnocených bodů (landmarků)

Fotografie byly pořizovány pomocí fotoaparátu Panasonic Lumix DMC-FZ38 fixovaného na stativu, vždy standardním způsobem tak, aby hlava byla kolmo k fotoaparátu a s minimálním použitím zoomu. Hlavy byly foceny z dorzálního pohledu, bočního pohledu a také byly pořizeny skeny či fotografie z ventrální strany těla.

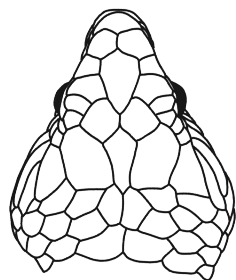
Po srovnání jednotlivých hlavových šupin bylo vybráno 18 bodů (landmarků), které bylo možné najít u všech testovaných subpopulací a druhů, viz obrázek 9. Schématické znázornění šupin u jednotlivých populací je znázorněno na obrázcích 10–26.



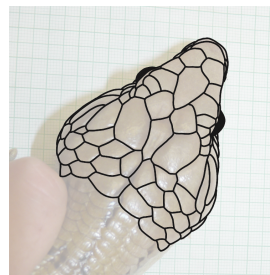
Obrázek 9. Rozmístění landmarků.



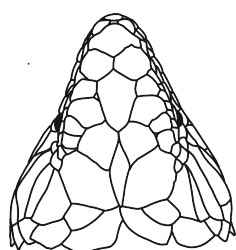
Obrázek 10. Boční pohled na rozmístění šupin u druhu *T. gigas*, Halmahera.



Obrázek 11. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Merauke.



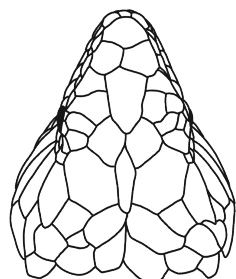
Obrázek 12. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Merauke s podkladem.



Obrázek 13. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Halmahera.



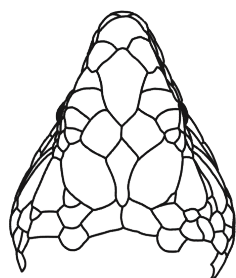
Obrázek 14. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Halmahera s podkladem.



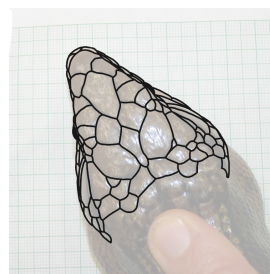
Obrázek 15. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Jayapura.



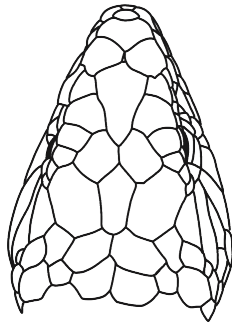
Obrázek 16. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Jayapura s podkladem.



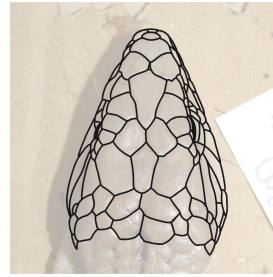
Obrázek 17. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Biak.



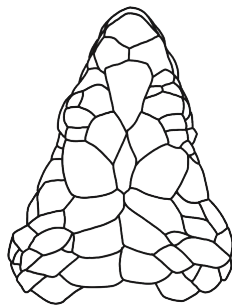
Obrázek 18. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Biak s podkladem.



Obrázek 19. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Ceram.



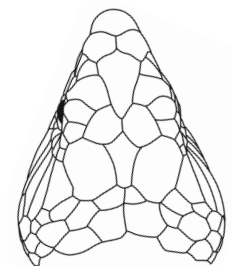
Obrázek 20. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Ceram s podkladem.



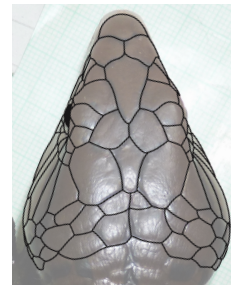
Obrázek 21. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Kai ostrovy.



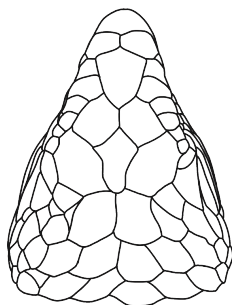
Obrázek 22. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Kai ostrovy s podkladem.



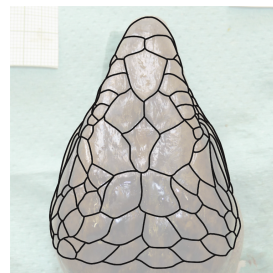
Obrázek 23. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Sorong.



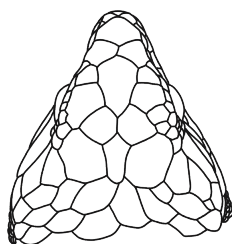
Obrázek 24. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. gigas*-Sorong s podkladem.



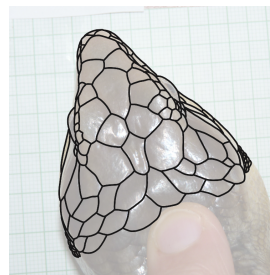
Obrázek 25. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. scincoides*-Aru ostrovy.



Obrázek 26. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. scincoides*-Aru ostrovy s podkladem.



Obrázek 27. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. scincoides*-Tanimbar.



Obrázek 28. Ukázka uspořádání hlavových šupin u populace *T. scincoides*-Tanimbar s podkladem.

6.2.3 Statistické vyhodnocení

Vybrané fotografie byly nejprve transformovány do TPS souboru pomocí programu tpsUtil (Rohlf 2008a). Landmarky byly následně rozmístěny pomocí programu tpsDig, verze 2.12 (Rohlf 2008b).

Následná statistická analýza probíhala v programu MorphoJ (Klingenberg 2011). Pro odstranění vlivu rozdílné velikosti použitých souborů s vyznačenými landmarky a jejich případné odlišné orientace byla použita Prokrustova superimpozice (Zelditch a kol. 2004). Následně byla provedena symetrizace landmarků, neboť analyzované subjekty byly osově souměrné (object symmetry). Před započítáním analýz jsme pomocí nástroje implementovaného v MorphoJ hledali odlehlé hodnoty. Na základě grafů (50 a 51) jsme následně vyřadili dva landmarky (11 a 12) ze všech analýz.

Pro analýzy týkající se rozdílů mezi populacemi byla nejprve provedena shluková analýza (Canonical variates analysis) a následně diskriminační analýza DFA (Discriminant function analysis). Všechny testované populace byly křížem porovnány (cross validation) s použitím permutačního testu. Bylo také testováno různé seskupení a rozdělení jednotlivých populací na základě genetické příbuznosti (Frynta a kol. 2018 submitted). Konkrétně se jednalo o rozdělení populací 1 a 2, znázorněné v tabulce 2. Vzhledem k nízkému počtu zastoupení jedinců v některých populacích a ne moc přesvědčivým výsledkům shlukové analýzy porovnávající všechny populace, byly na základě příbuznosti (Obr. 2) populace sloučeny do větších skupin (rozdělení 1: HalMerau-sloučeny populace Halmahera, Merauke a Sorong; JayBiCer-sloučeny populace Jayapura, Biak a Ceram; Kai-pouze populace Kai). Vzhledem k možné hybridizaci s druhem *T. scincoides* v okolí lokality Merauke, zahrnuje rozdělení 2 rozlišení mezi jedinci vykazující znaky *scincoides* (skupina s názvem Merauke2) a jedinci, kteří je nevykazují (skupina s názvem Merauke).

Analýza rozdílnosti ve tvaru hlavy mezi pohlavími byla provedena pomocí analýzy hlavních komponent (PCA). PC skóry pro první a druhou osu byly exportovány z MorphoJ a následně vyneseny do grafu v programu Statistica. Následně byla v MorphoJ provedena i diskriminační analýza, ale pouze s jedinci, u kterých bylo známo jejich pohlaví (viz tabulka 2).

6.3 Sběrání svleček hemipenisů

Minimálně jednou týdně byla prohlížena terária našich jedinců, přičemž kromě substrátu se kontrolovala i nádoba s vodou, zda-li se v ní svlečka nenachází. Zhruba jednou za měsíc byla také prováděna palpáce

v oblasti báze ocasu, neboť právě na základě palpce jsme pozorovali, že jedinec může mít na bázi kloaky útvar, který vypadal jako několik nevyločených vrstev svleček hemipenisu dohromady. Někteří jedinci tak mohli mít problém samovolně svlečku vyloučit a jemná palpce je vhodnou metodou k jejímu nálezu a uvolnění.

Nalezené svlečky byly foceny pod binolupou pomocí fotoaparátu Panasonic Lumix DMC-FZ38.

Kapitola 7

Výsledky

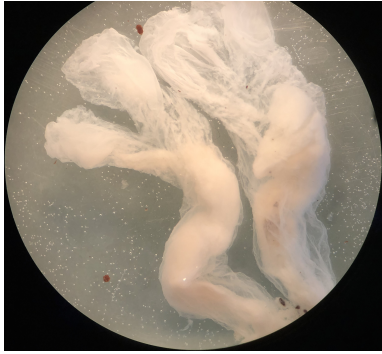
7.1 Určení pohlaví

Při pravidelné kontrole terárií byla průkazná svlečka hemipenisu nalezena celkem u 7 jedinců z 19. Z toho u jednoho jedince byla nalezena vícekrát, nicméně nalezená svlečka nevypadala příliš věrohodně. Je možné, že se jednalo pouze o fragment svlečky, ovšem nebylo to jasné patrné, proto mezi obrázky není zařazena. Kromě výše zmíněných byly objekty podobné svlečkám hemipenisů nebo jejich fragmentům nalezeny u dalších třech jedinců a to dokonce vícekrát. Nicméně nebyly dostatečně věrohodné, tudíž na jejich základě nemohlo být pohlaví jedince 100 % určeno. Kromě těchto jedinců, účastnících se pachových experimentů, byla také nalezena průkazná svlečka u jednoho jedince z morfometrické analýzy. Je zajímavé, že párkrát byla svlečka nalezena i v nádobě s vodou (n=2). Svlečky hemipenisů jsou znázorněny na obrázcích 29-42.

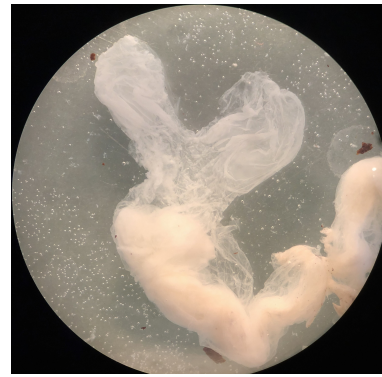
Je samozřejmě možné, že u některých potenciálních samců jsme si nemuseli vyprodukované svlečky všimnout. Ovšem na základě objevených svleček a pozorování chování při přímých interakcích zvířat z důvodů reprodukce jsme, se pokusili pohlaví určit a v následných analýzách bylo použito jako vysvětlující proměnná.



Obrázek 29. Svlečka hemipenisu-ID jedince 410 Biak (popisky obrázku převzaty z práce Vergilov a kol. (2017)).



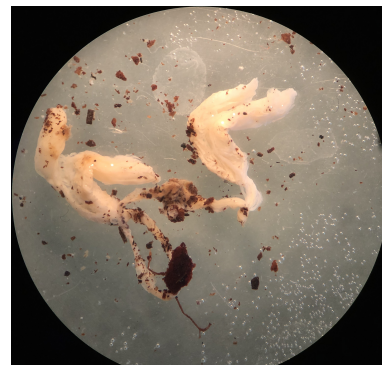
Obrázek 30. Svlečka hemipenisu-ID jedince 429 Merauke.



Obrázek 31. Svlečka hemipenisu-ID jedince 429 Merauke 2.



Obrázek 32. Svlečka hemipenisu-ID jedince 409 Biak.



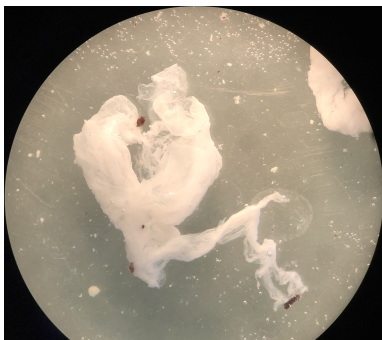
Obrázek 33. Svlečka hemipenisu-ID jedince 409 Biak 2.



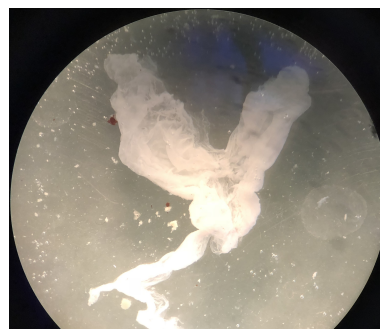
Obrázek 34. Svlečka hemipenisu-ID jedince 413 Halmahera.



Obrázek 35. Svlečka hemipenisu-ID jedince 413 Halmehera 2.



Obrázek 36. Svlečka hemipenisu-ID jedince 427 Merauke.



Obrázek 37. Svlečka hemipenisu-ID jedince 427 Merauke 2.



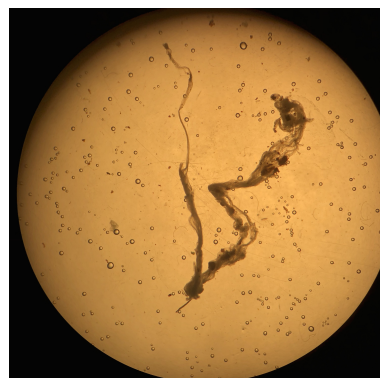
Obrázek 38. Svlečka hemipenisu-ID jedince 430 Merauke.



Obrázek 39. Svlečka hemipenisu v kontrastním světle-ID jedince 430 Merauke 2.



Obrázek 40. Svlečka hemipenisu-ID jedince 404 Jayapura.



Obrázek 41. Svlečka hemipenisu v kontrastním světle-ID jedince 404 Jayapura 2.



Obrázek 42. Svlečka hemipenisu-ID jedince 503 Merauke.

7.2 Sociální interakce

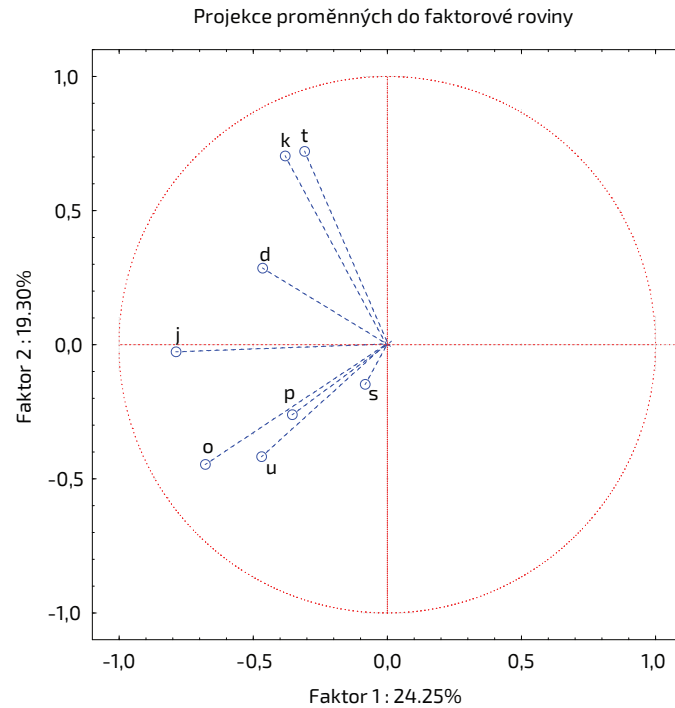
Na základě korelační analýzy a provedených PCA analýz je zřejmé, že proměnná „vyplazování jazyka“ (dále jen jazyk) koreluje se všemi ostatními proměnnými kromě „syčení“. Nejvíce je pozitivně korelovaná s proměnnými „dotknutí se jazykem tyčinky“ (dále jen dotknutí) a „odcházení od tyčinky“ (dále jen odcházení). Proměnná „dotknutí“ může být na základě těchto výsledků a pozorování vysvětlena jako vyšší stupeň zájmu o pachový stimul. Nicméně odcházení bylo vyhodnoceno spíše jako defenzivní chování, neboť je nejvíce pozitivně korelováno s proměnnými „ucuknutí od tyčinky“, „prsknutí“ a „syčení“ (Tab. 3).

Tabulka 3. Spearmanova korelační analýza pro všechny hodnocené prvky chování kromě prvků „zavření očí“ a „zívnutí“ (j-vyplazování jazyka, d-dotknutí se jazykem tyčinky, k-kousnutí do tyčinky, p-prsknutí, u-ucuknutí hlavou od tyčinky, o-odcházení od tyčinky, s-syčení, t-pokus o kousnutí). U hodnot zvýrazněných tučným písmem je $p < 0.05$.

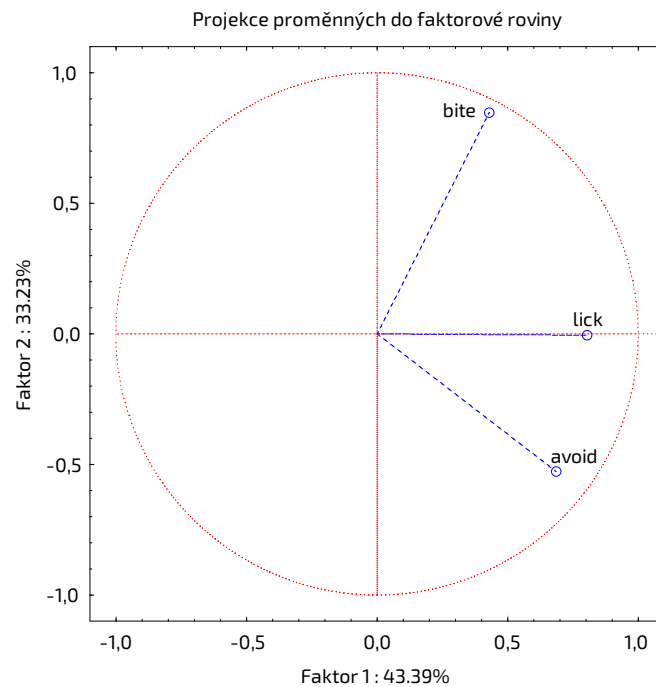
Proměnná	j	d	k	p	u	o	s	t
j	1.000	0.559	0.159	0.227	0.346	0.535	0.022	0.101
d	0.559	1.000	0.185	0.089	0.023	0.180	-0.066	0.136
k	0.159	0.185	1.000	0.001	0.017	0.031	0.05	0.419
p	0.227	0.089	0.001	1.000	0.075	0.209	0.006	-0.017
u	0.346	0.023	0.017	0.075	1.000	0.442	0.593	0.011
o	0.535	0.180	0.031	0.209	0.442	1.000	0.138	0.007
s	0.022	-0.066	0.05	0.006	0.059	0.138	1.000	-0.013
t	0.101	0.136	0.419	-0.017	0.011	0.007	-0.013	1.000

PCA analýza nesloučených proměnných (Obr. 43) vysvětluje první osou PC1 24.25 % celkové variability a druhou osou PC2 vysvětluje 19.30 % celkové variability.

Druhá PCA analýza týkající se sloučených (Obr. 44) proměnných vysvětluje první osou PC1 43.39 % variability a druhou osou PC2 33.23 % variability. Na základě této analýzy se zdá, že proměnná „lick“ je projevem aktivity (zájmu), z kterého se může případně vyvinout defenzivní (proměnná „avoid“) nebo útočné (proměnná „bite“) chování. Toto tvrzení podporuje i fakt, který jsem zmínila výše, že na základě výsledků z korelační analýzy vyplývá, že vypláznutí jazyka pozitivně koreluje téměř se všemi proměnnými.



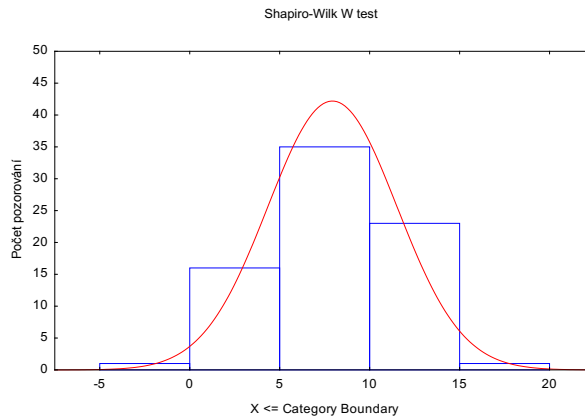
Obrázek 43. Faktorové zátěže jednotlivých proměnných vymezujících v grafu proměnné dvěma komponentami (j-vyplazování jazyka, d-dotknutí se jazykem tyčinky, k-kousnutí do tyčinky, p-prsknutí, u-ucuknutí hlavou od tyčinky, o-odcházení od tyčinky, s-syčení, t-pokus o kousnutí).



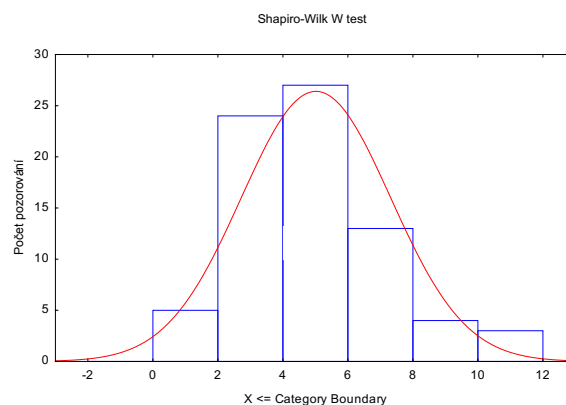
Obrázek 44. Faktorové zátěže jednotlivých proměnných vymezujících v grafu proměnné dvěma komponentami (lick-vyplazování jazyka a dotknutí se jazykem tyčinky; avoid-odcházení od tyčinky, ucuknutí od tyčinky, prsknutí, syčení; bite-kousnutí do tyčinky, pokus o kousnutí do tyčinky).

- Histogramy rozdělení dat pro proměnné lick, avoid a bite.

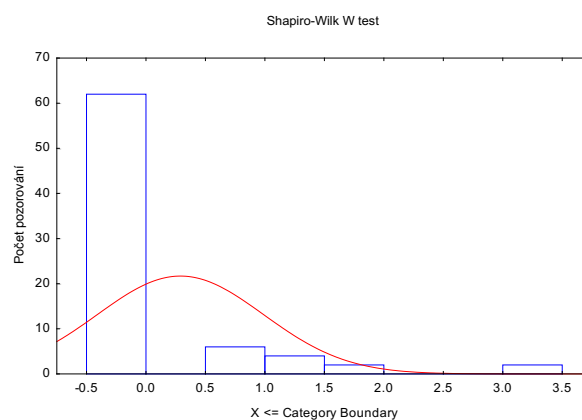
Námi použitá transformace pomohla vylepšit rozdělení dat ve prospěch normality u lick (Obr. 45) a avoid (Obr. 46), nicméně nepomohla u bite (Obr. 47), a proto byla tato proměnná z dalších analýz vyloučena.



Obrázek 45. Histogram rozdělení dat pro proměnnou lick na základě Shapiro–Wilk W testu ($p=0.823$).



Obrázek 46. Histogram rozdělení dat pro proměnnou avoid na základě Shapiro–Wilk W testu ($p=0.022$).



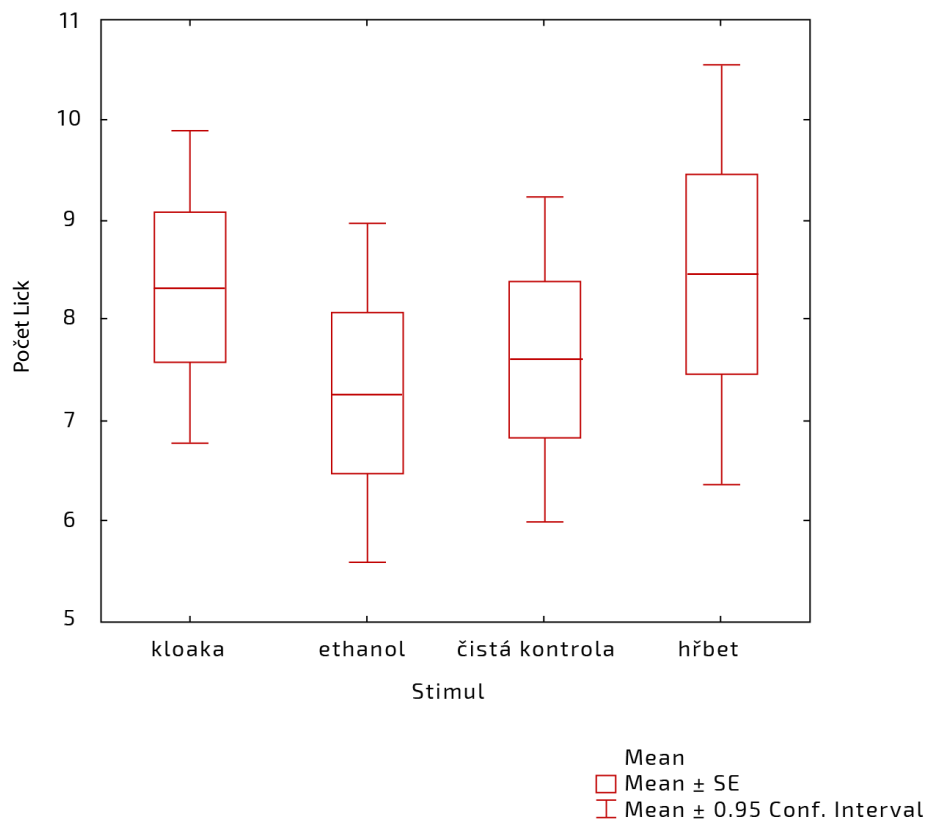
Obrázek 47. Histogram rozdělení dat pro proměnnou bite na základě Shapiro–Wilk W testu ($p<0.0001$).

7.2.1 Efekt pachu pro proměnnou lick

Srovnání modelu s ID jedince a bez ID jedince ukázalo signifikantní rozdíl mezi modely (L -ratio=88.141, $p < 0,0001$). Po odfiltrování vlivu jedince byl také zjištěn efekt předkládaného stimulu (ANOVA: $df=3$, $F=3.643$, $p=0.0166$). Reakce na čistou kontrolu, ethanol a kloaku se od sebe příliš nelišily, nicméně ve srovnání s čistou kontrolou byla reakce na hřbet vyšší (Tab. 4, obr. 48).

Tabulka 4. Reakce na konkrétní pachové stimuly pro proměnnou lick.

	Hodnota	SE	t-value	p-value
Rho	0.8726583			
Intercept	7.625	0.833	9.153	<0.001
Hřbet	0.850	0.420	2.023	0.047
Ethanol	-0.334	0.420	-0.795	0.429
Kloaka	0.714	0.420	1.697	0.094



Obrázek 48. Boxplot odmocněného množství pozorované proměnné lick (vypláznutí jazyka a dotknutí se jazykem tyčinky) v závislosti na předkládaném stimulu.

Po přidání vysvětlující proměnné pohlaví, se neprokázal efekt pohlaví v reakci na stimul (ANOVA: $df=1$, $F=0.418$, $p=0.5198$). Efekt pohlaví byl počítán i v interakci se stimulem, nicméně výsledný efekt byl neprůkazný (ANOVA: $df=3$, $F=1,2$, $p=0,316$).

Následně jsme počítali zda má na reakci testovaného jedince vliv, do jaké patří populace a jsou-li subpopulace v reakcích konzistentní. Ukázalo se, že subpopulace vliv nemá (ANOVA: $df=3$, $F=0.663$, $p=0.578$), ani v interakci s (ANOVA: $df=9$, $F=0.546$, $p=0.835$).

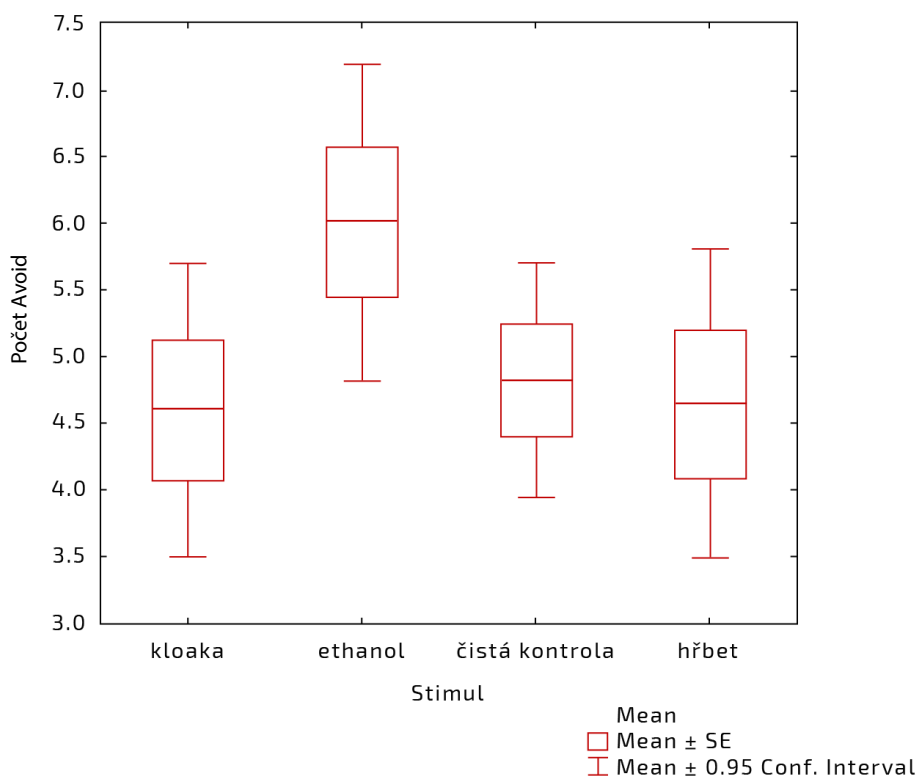
Reakce jedince má tedy individuální charakter, nicméně ovlivňuje ji i typ předkládaného pachového stimulu. Pohlaví nebo příslušnost jedince ke konkrétní subpopulaci na reakci vliv nemá.

7.2.2 Efekt pachu pro proměnnou avoid

Stejně jako pro proměnnou lick i zde se model s identitou jedince jako náhodným faktorem od analogického modelu bez náhodného faktoru signifikantně lišil ($L\text{-ratio}=86.661$, $p<0.0001$). Po odfiltrování vlivu jedince byl i zde průkazný vliv předkládaného stimulu (ANOVA: $df=3$, $F=12.539$, $p<0.0001$). Hodnoty pro pach kloaky, hřbetu a čisté kontroly se od sebe příliš neliší, nicméně na ethanol byla reakce vyšší (Tab. 5, obr. 49).

Tabulka 5. Reakce na konkrétní pachové stimuly pro proměnnou avoid.

	Hodnota	SE	t-value	p-value
Rho	0.8689864			
Intercept	4.825	0.520	9.275	<0.0001
Hřbet	-0.182	0.266	-0.683	0.497
Ethanol	1.182	0.266	4.437	<0.0001
Kloaka	-0.23	0.266	-0.863	0.391



Obrázek 49. Boxplot odmocněného množství pozorované proměnné avoid (odcházení od tyčinky, ucuknutí od tyčinky, syčení a prsknutí) v závislosti na předkládaném stimulu.

Po přidání vysvětlující proměnné pohlaví, se neprokázal efekt pohlaví v reakci na stimul (ANOVA: $df=1$, $F=0.427$, $p=0.516$). Efekt pohlaví byl počítán i v interakci se stimulem, nicméně výsledný efekt byl také neprůkazný (ANOVA: $df=3$, $F=1.515$, $p=0.219$).

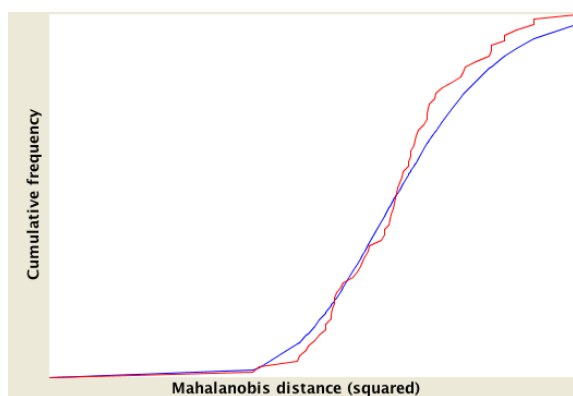
Vliv populace na reakci zvířete se neprokázal (ANOVA: $df=3$, $F=1.206$, $p=0.314$). Ovšem v interakci s proměnnou stimul byl ve dvou případech průkazný (ANOVA: $df=9$, $F=2.669$, $p=0.011$) (Tab. 20).

■ 7.2.3 Opakovatelnost

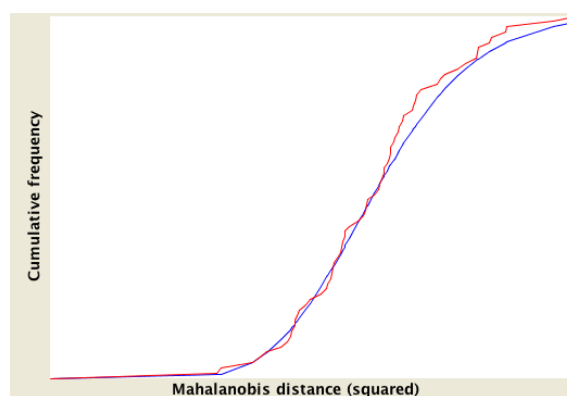
Vzhledem k výsledkům z předchozích analýz týkajících se vlivu identity jedince při reakci na pach, byly provedeny také testy opakovatelnosti pro proměnné lick a avoid, přičemž ID jedince fungovalo jako náhodný faktor. Bite z důvodu nízké frekvence pozorovaných prvků chování a špatného rozdělení dat (Obr. 47) nebyl analýze podroben. Jak proměnná avoid ($r=0.801$, $p<0.0001$), tak proměnná lick ($r=0.857$, $p<0.0001$) se ukázaly jako dobře opakovatelné.

7.3 Morfometrie

Před začátkem statistické analýzy týkající se morfometrie byly hledány odlehlé hodnoty. V obrázku č. 50 jsou zahrnuty všechny landmarky a v obrázku č. 51 chybí landmarky 11 a 12. Výsledná křivka vypadá lépe na obrázku č. 51 a proto jsme se rozhodli landmarky 11 a 12 z následných analýz vyřadit. Důvodem by mohla být odlišná kondice jednotlivých zvířat. Body 11 a 12 více odrážejí měkké části hlavy a tento rozměr tím mohl být ovlivněný.



Obrázek 50. Křivka outliers pro všechny zanešené landmarky.



Obrázek 51. Křivka outliers bez landmarků 11 a 12.

7.3.1 Populace v rámci rodu *T. gigas*

Na základě genetické příbuznosti byly populace sloučeny do skupin (Halmahera+Merauke+Sorong jako **HalMerau**, Jayapura+Biak+Ceram jako **JayBiCer** a **Kai**. Počet jedinců v testovaných skupinách následující: HalMerau (n=43), JayBiCer (n=15), Kai (n=7).

- CVA

Jako signifikantní se ukázaly první dvě osy, přičemž první osa vysvětluje 58.7 % meziskupinové variability a druhá osa 41.3 % meziskupinové variability (Tab. 6).

Tabulka 6. Shluková analýza (CVA) analýza, procenta meziskupinové variability pro sloučené populace *T. gigas*.

	Eigen values	% Variability
1.	2.31383723	58.692
2.	1.62851418	41.308

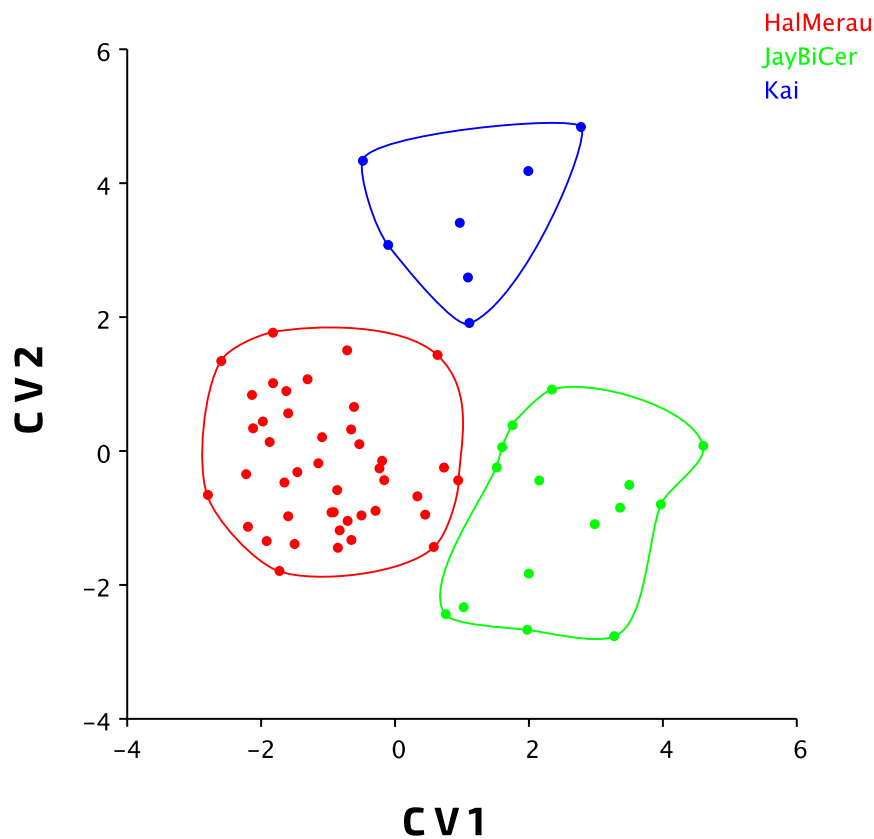
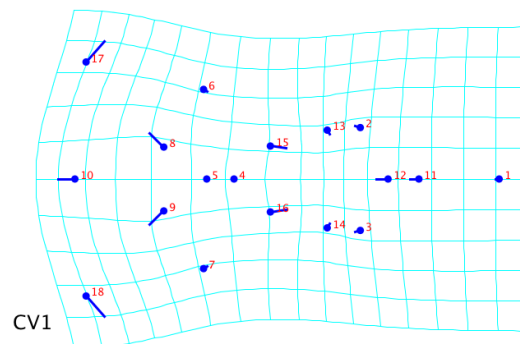
Jednotlivé populace byly následně křížově porovnávány pomocí permutačních testů a to nejprve na základě Mahalanobisových vzdáleností a poté pomocí Prokrustových vzdáleností. Výsledné hodnoty ukazují, že jednotlivé populace jsou od sebe signifikantně rozlišitelné (Tab. 7, 8). Jejich odlišnost je také prezentována v bodovém diagramu shlukové analýzy (Tab. 52). Na základě obrázku č. 53 se zdá, že hlavní tvarové rozdíly mezi zkoumanými skupinami jsou v oblasti parietálních, frontoparietálních a interparietálních šupin.

Tabulka 7. Hodnoty p pro Mahalanobisovy vzdálenosti.

	HalMerau	JayBiCer
JayBiCer	<0.0001	
Kai	<0.0001	<0.0001

Tabulka 8. Hodnoty p pro Prokrustovy vzdálenosti.

	HalMerau	JayBiCer
JayBiCer	0.0004	
Kai	0.0007	<0.0001

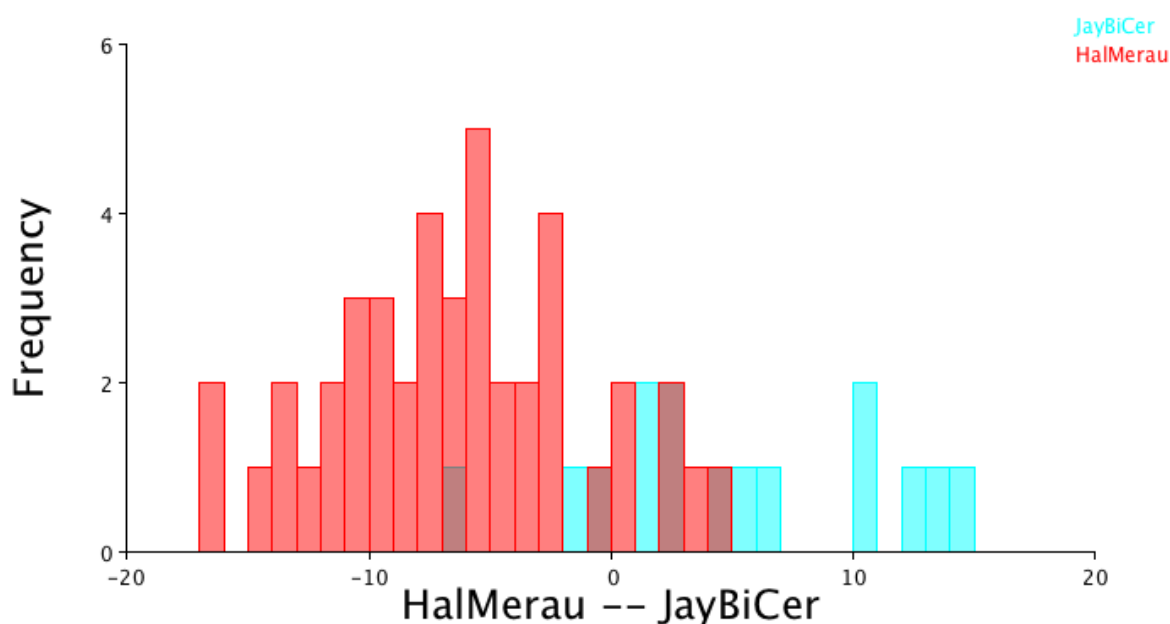
**Obrázek 52.** Bodový diagram populací na základě shlukové analýzy u *T. gigas* (spojené populace: HalMerau-Halmahera, Merauke, Sorong; JayBiCer-Jayapura, Biak, Ceram; Kai).**Obrázek 53.** Variabilita v rámci hodnocených landmarků u sloučených populací *T. gigas*.

- Diskriminační analýza

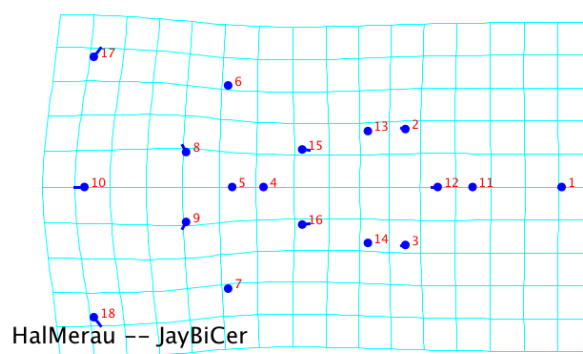
Na základě diskriminační analýzy se ukázalo, že skupiny HalMerau a JayBiCer jsou od sebe na základě tvaru hlavy odlišitelné (1000 permutací, Prokrustovy vzdálenosti: 0.001, $p < 0.0001$) (Tab. 9, obr. 54).

Tabulka 9. Klasifikační tabulka na základě křížového porovnání (cross-validation) pro skupiny HalMerau a JayBiCer v diskriminační analýze.

Skupina	HalMerau	JayBiCer	Total
HalMerau	37	6	43
JayBiCer	3	12	15



Obrázek 54. Křížové porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro skupiny HalMerau a JayBiCer.

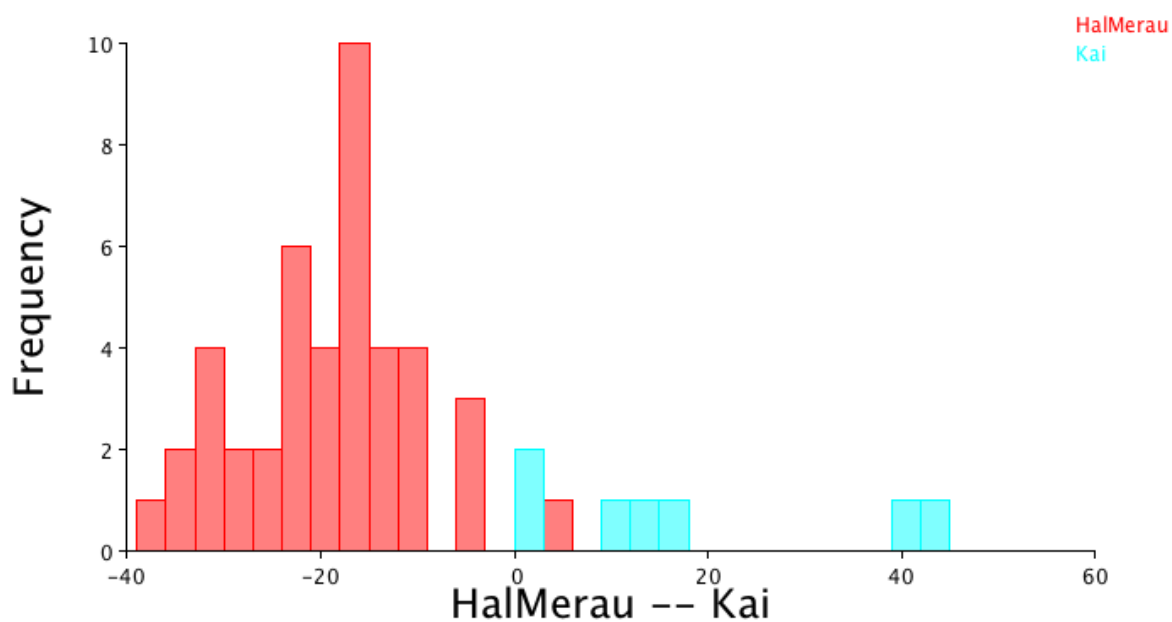


Obrázek 55. Schéma variability ve tvaru hlavy mezi porovnávanými skupinami HalMerau a JayBiCer znázorněna pomocí transformační mřížky.

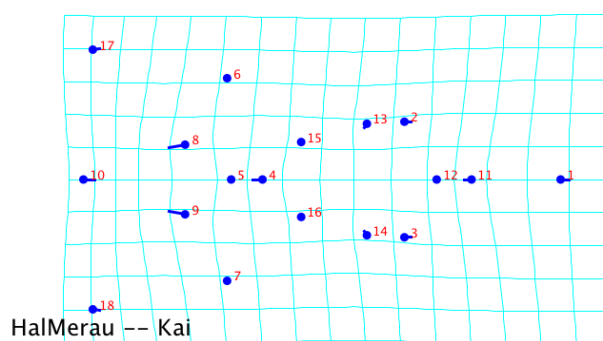
Další srovnávané skupiny byly HalMerau a Kai. I u nich se jejich odlišnost ukázala jako průkazná (1000 permutací, Prokrustovy vzdálenosti: 0.001, $p < 0.0001$) (Tab. 10, obr. 56). Rozdíly ve tvaru hlavy jsou vidět patrně především na styku mezi parietálními, frontoparietálními a interparietálními šupinami (Obr. 57).

Tabulka 10. Klasifikační tabulka na základě křížového porovnání (cross-validation) pro skupiny HalMerau a Kai v diskriminační analýze.

Skupina	HalMerau	Kai	Total
HalMerau	42	1	43
Kai	0	7	7



Obrázek 56. Křížové porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro skupiny HalMerau a Kai.

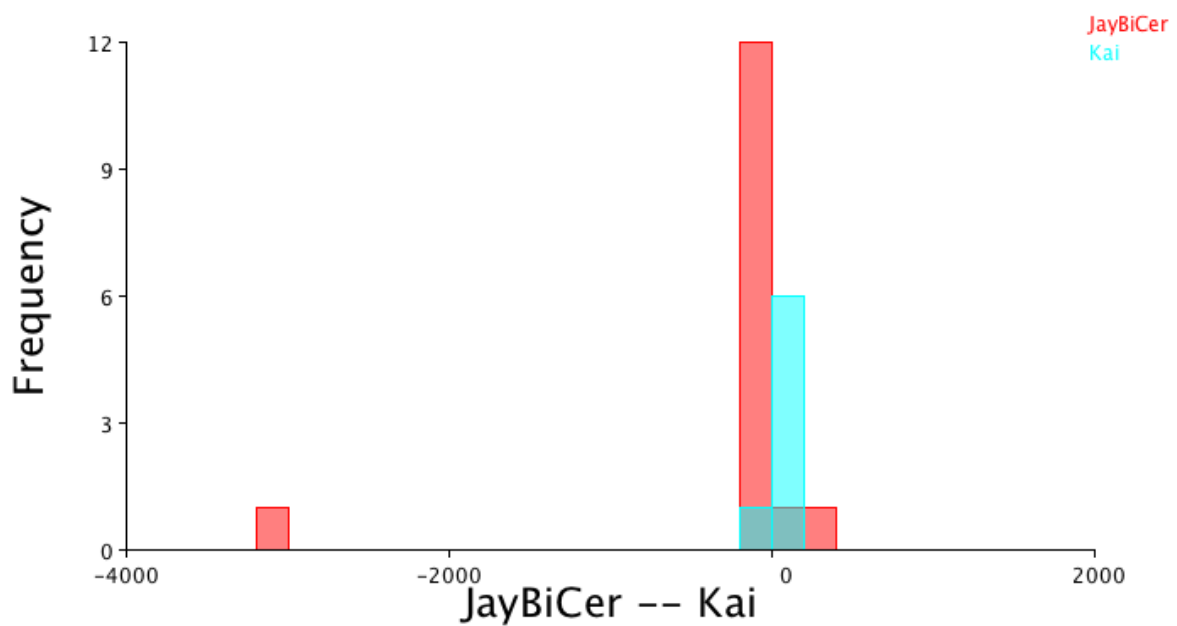


Obrázek 57. Schéma variability ve tvaru hlavy mezi porovnávanými skupinami HalMerau a Kai.

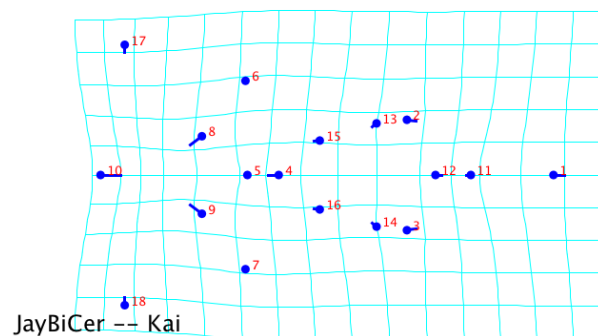
V rámci této diskriminační analýzy byly poslední srovnávanou dvojicí skupiny JayBiCer a Kai. Stejně jako výše zmíněné skupiny i tyto dvě se od sebe tvarem hlavy liší (1000 permutací, Prokrustovy vzdálenosti: <0.0001 , $p=0.007$) (Tab. 11, obr. 58).

Tabulka 11. Klasifikační tabulka na základě křížového porovnání (cross-validation) pro skupiny JayBiCer a Kai v diskriminační analýze.

Skupina	JayBiCer	Kai	Total
JayBiCer	13	2	15
Kai	1	6	7



Obrázek 58. Křížové porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro skupiny JayBiCer a Kai.



Obrázek 59. Schéma variability ve tvaru hlavy jedinců mezi porovnávanými skupinami JayBiCer a Kai.

7.3.2 Srovnání populací *T. gigas* a *T. scincoides*

Do následných analýz byly zahrnuty stejné populace jako v předchozí podkapitole („Populace v rámci rodu *T. gigas*“), nicméně byly doplněny o data jedinců druhu *T. scincoides* (n=4). V rámci druhu *T. scincoides* byly sloučené populace z Tanimbaru (n=3) a ostrovů Aru (n=1), označované nadále jako „Tanimbar“.

Srovnání těchto druhů má ale své limitace. První z nich je malý počet zvířat, což způsobuje omezení věrohodnosti případných nalezených rozdílů. Může zde být také pozorována tendence oddělit v prvních osách jedince mezi více zastoupenými skupinami. Poslední limitací je, že špatné oddělení skupin v prvních osách může být artefaktem toho, že je malý počet jedinců ve skupině.

- Shluková analýza (CVA)

Jako signifikantní se prokázaly první dvě osy, přičemž první osa vysvětluje 49.7 % meziskupinové variability a druhá osa 33.2 % meziskupinové variability (Tab. 12).

Tabulka 12. Shluková analýza, procenta meziskupinové variability.

	Eigen values	% Variability
1.	2.30088576	49.650
2.	1.53711725	33.169
3.	0.79622328	17.181

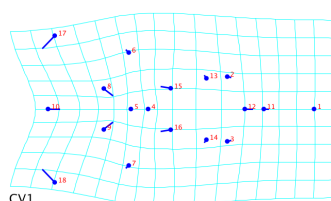
Výsledky permutačních testů na základě Mahalanobisových vzdáleností i Prokrustových vzdáleností ukázaly, že jsou od sebe populace HalMerau, JayBiCer, Kai a Tanimbar pomocí geometrické morfometrie odlišitelné (Tab. 13 a 14).

Tabulka 13. Hodnoty p pro Mahalanobisovy vzdálenosti.

	HalMerau	JayBiCer	Kai
JayBiCer	<0.0001		
Kai	<0.0001	<0.0001	
Tanimbar	<0.0001	<0.0001	0.0012

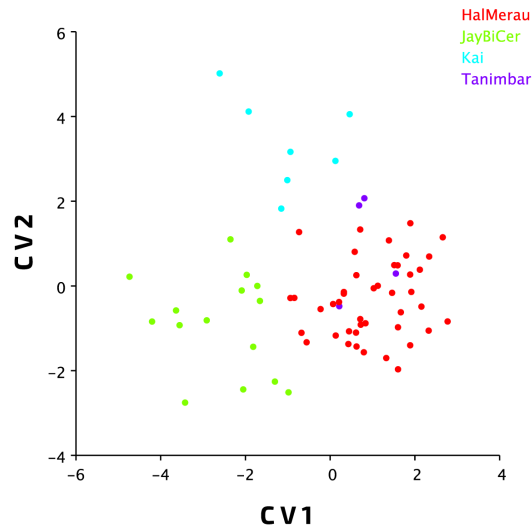
Tabulka 14. Hodnoty p pro Prokrustovy vzdálenosti.

	HalMerau	JayBiCer	Kai
JayBiCer	0.0004		
Kai	0.0012	<0.0001	
Tanimbar	0.0225	0.0228	0.0077

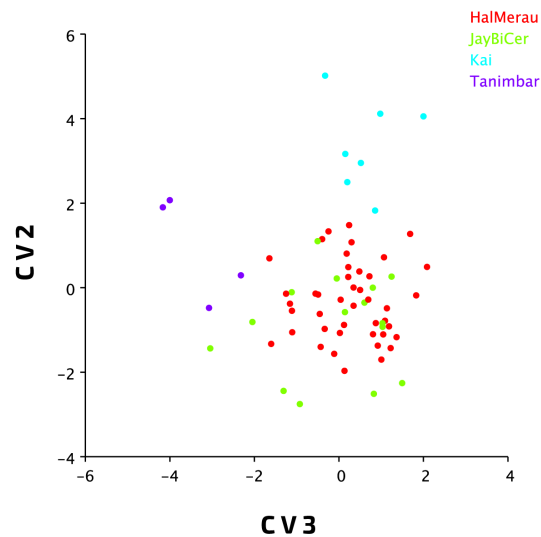


Obrázek 60. Variabilita v rámci hodnocených landmarků u *T. gigas* a *T. scincoides* je patrná především v zadní polovině hlavy počínaje frontální šupinou a končí na styku s occipitálními šupinami.

Na základě shlukové analýzy se po vynesení první a druhé osy populace *T. scincoides* (Tanimbar) nejeví jako distinktní (Obr. 61). Nicméně po vynesení druhé a třetí osy zůstane populace Kai a Tanimbar oddělená, zatímco Halmerau a JayBiCer se překrývají (Obr. 62).



Obrázek 61. Bodový graf populací na základě shlukové analýzy u *T. gigas* (spojené populace: HalMerau-Halmahera, Merauke, Sorong; JayBiCer-Jayapura, Biak, Ceram; Kai) a *T. scincoides* (Tanimbar).



Obrázek 62. Bodový graf populací na základě shlukové analýzy u *T. gigas* (spojené populace: HalMerau-Halmahera, Merauke, Sorong; JayBiCer-Jayapura, Biak, Ceram; Kai) a *T. scincoides* (Tanimbar), s vynesáním druhé (CV2) a třetí (CV3) osy.

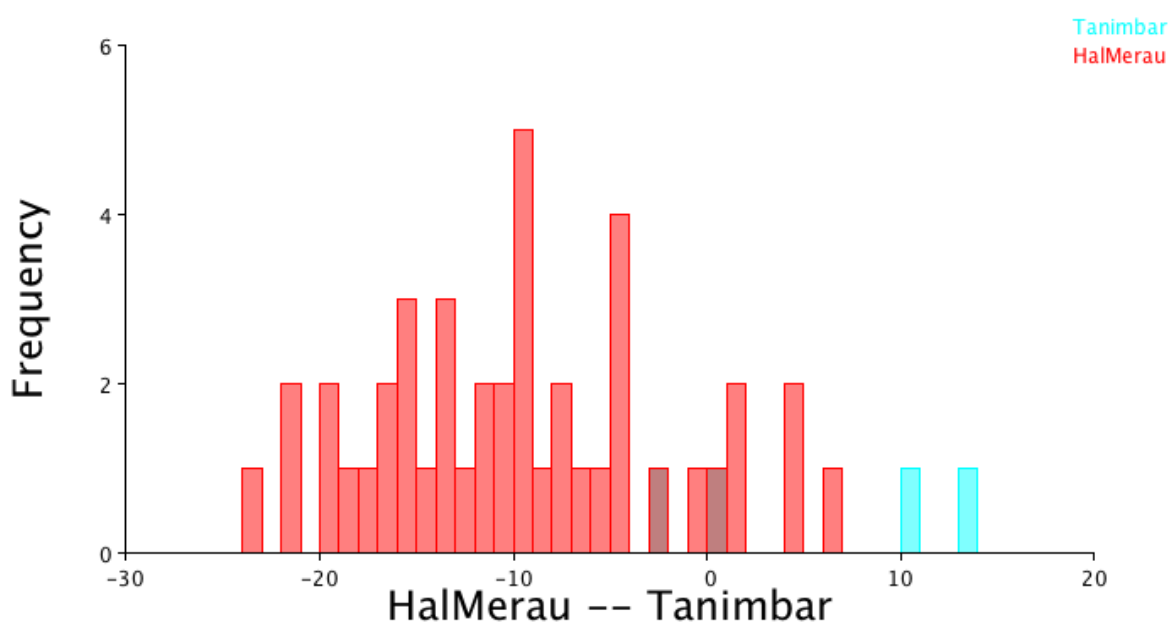
- Diskriminační analýza

V rámci diskriminační analýzy byly porovnávány všechny populace *T. gigas* pouze vůči *T. scincoides*, neboť diskriminační analýzy pro *T. gigas* jsou znázorněny v tabulkách č. 9, 10, 11.

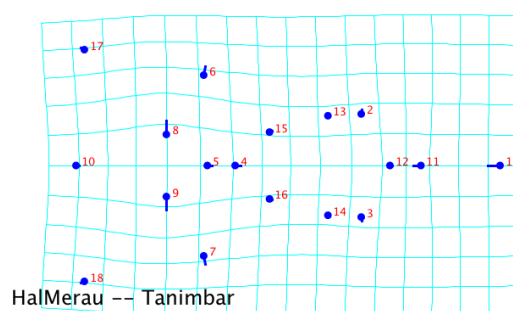
První srovnávaná dvojice HalMerau a Tanimbar se ukázala na základě geometrické morfometrie jako odlišitelná (1000 permutací, Prokrustovy vzdálenosti: 0.025, $p=0.003$) (Tab. 15, obr. 63).

Tabulka 15. Klasifikační tabulka na základě křížového porovnání (cross-validation) pro skupiny HalMerau a Tanimbar v diskriminační analýze.

Skupina	HalMerau	Tanimbar	Total
HalMerau	37	6	43
Tanimbar	1	3	4



Obrázek 63. Křížové porovnání (cross-validation) v rámci diskriminační analýzy pro skupiny HalMerau a Tanimbar.

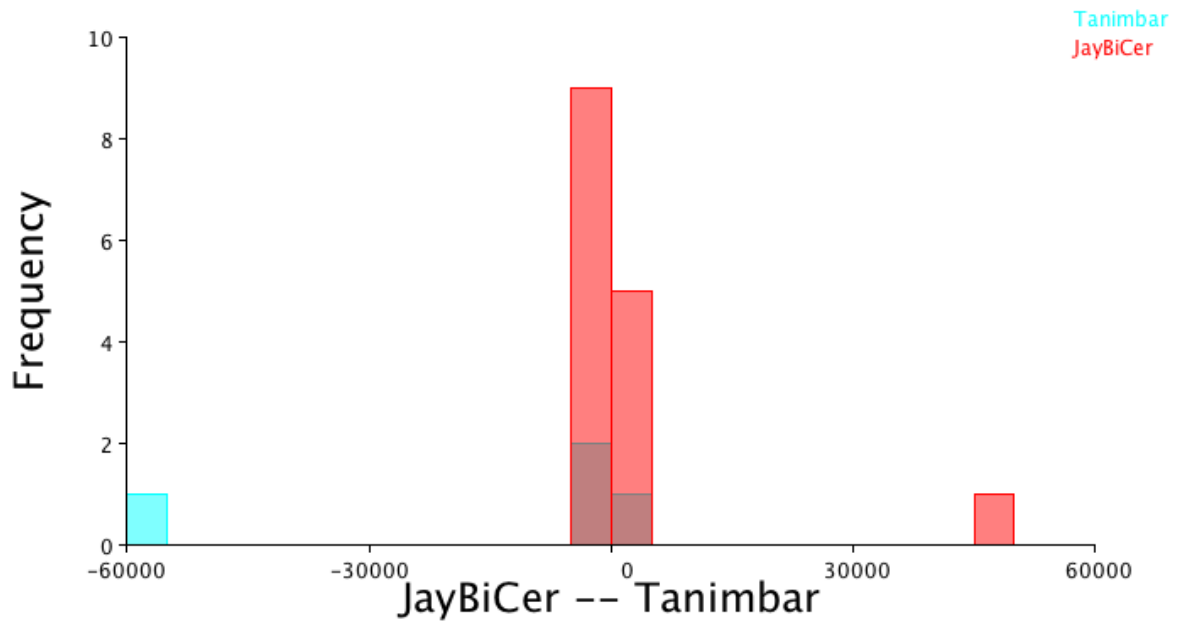


Obrázek 64. Schéma variability ve tvaru hlavy mezi porovnávanými skupinami HalMerau a Tanimbar.

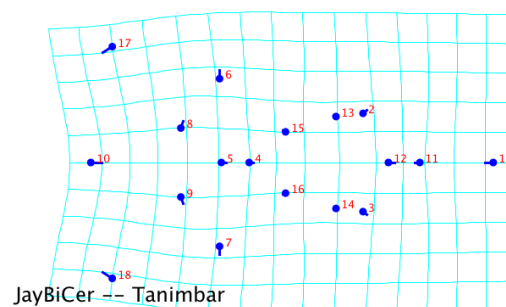
Pro další srovnávanou dvojici JayBiCer a Tanimbar se tvarové rozdíly při odlišení populací ukázaly jako neprůkazné (1000 permutací, Prokrustovy vzdálenosti: 0.023, $p=0.278$) (Tab. 16, obr. 65).

Tabulka 16. Klasifikační tabulka na základě křížového porovnání (cross-validation) pro skupiny JayBiCer a Tanimbar v diskriminační analýze.

Skupina	JayBiCer	Tanimbar	Total
JayBiCer	9	6	15
Tanimbar	3	1	4



Obrázek 65. Křížové porovnání (cross-validation) v rámci diskriminační analýzy pro skupiny JayBiCer a Tanimbar.

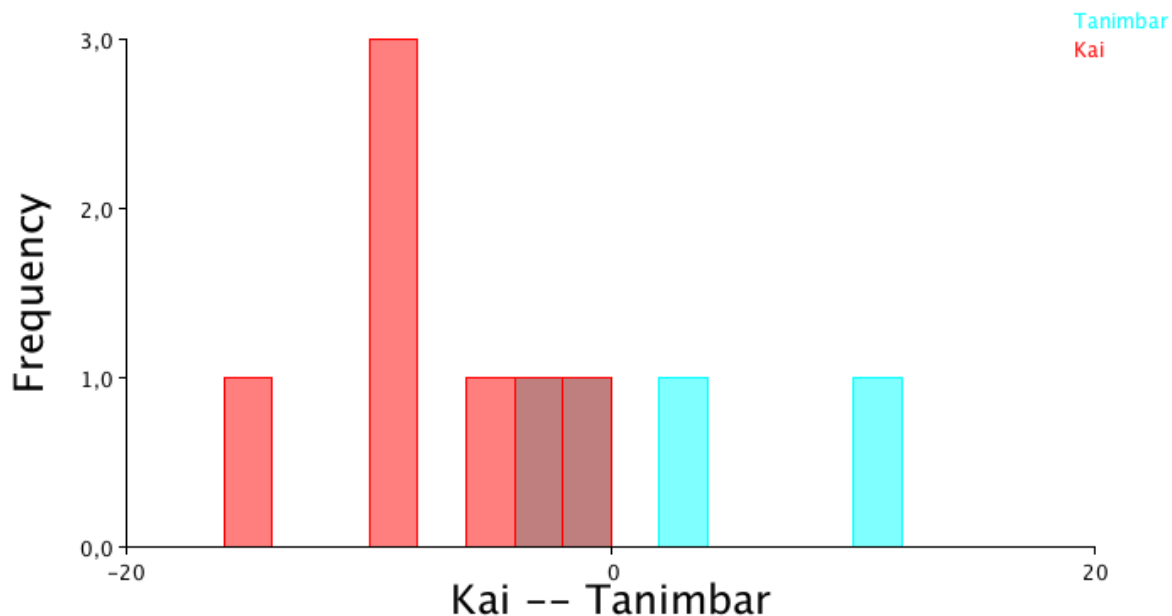


Obrázek 66. Schéma variability ve tvaru hlavy mezi porovnávanými skupinami JayBiCer a Tanimbar.

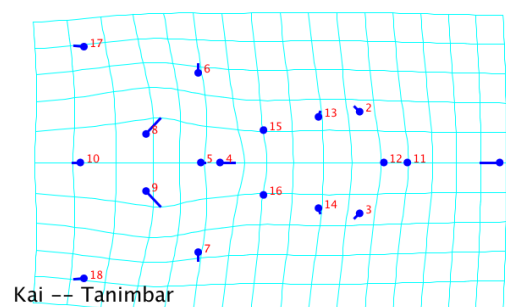
Poslední srovnávanou dvojicí byla Kai a Tanimbar. U této dvojice se tvarové rozdíly hlavy ukázaly jako odlišitelné (1000 permutací, Prokrustovy vzdálenosti: 0.008, $p=0.001$) (Tab. 17, obr. 67).

Tabulka 17. Klasifikační tabulka na základě křížového porovnání (cross-validation) pro skupiny Kai a Tanimbar v diskriminační analýze.

Skupina	Kai	Tanimbar	Total
Kai	7	0	7
Tanimbar	2	2	4



Obrázek 67. Křížové porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro skupiny Kai a Tanimbar.



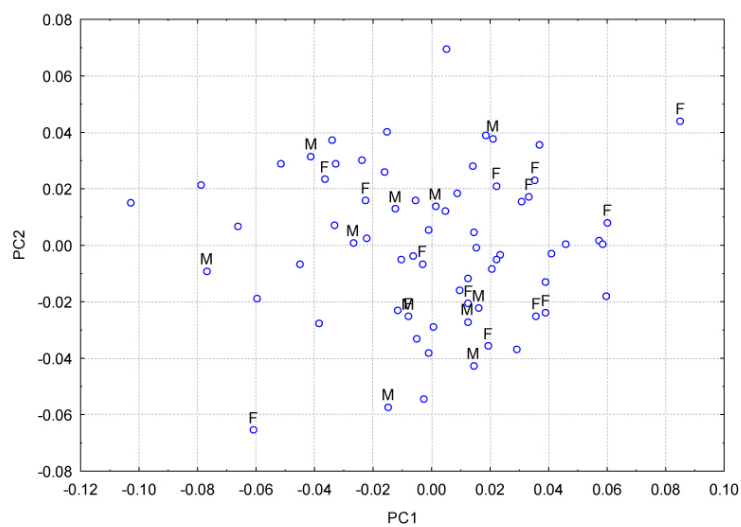
Obrázek 68. Schéma variability ve tvaru hlavy mezi porovnávanými skupinami Kai a Tanimbar. Zajímavé je, že je zde poměrně jasně patrná variabilita ve frontonasálních šupinách na rozdíl od ostatních porovnávaných skupin.

7.3.3 Pohlavní dimorfismus

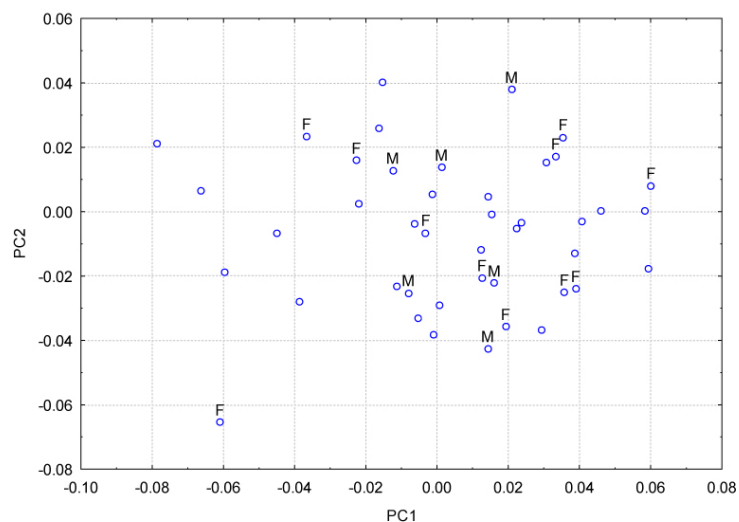
Provedená analýza hlavních komponent (PCA) neprokázala pohlavní dimorfismus ve tvaru hlavy u zkoumaných druhů s jistým určením pohlaví (Obr. 69), ani s jistým určením pohlaví pouze v rámci tvarově homogenní sloučené populace HalMerau (sloučené populace Halmahera a Merauke) (Obr. 70).

Tabulka 18. Analýza hlavních komponent (PCA) pro samce a samice.

	Eigen values	% Variability	Cumulative %
1.	0.00132483	29.466	29.466
2.	0.00071578	15.920	45.386
3.	0.00045997	10.230	55.617



Obrázek 69. Bodový graf skóreů první a druhé osy, získaných pomocí analýzy hlavních komponent z geometrické morfometrie tvaru hlavy (M-samec, F-samice, bez popisku jsou jedinci s neznámým pohlavím)



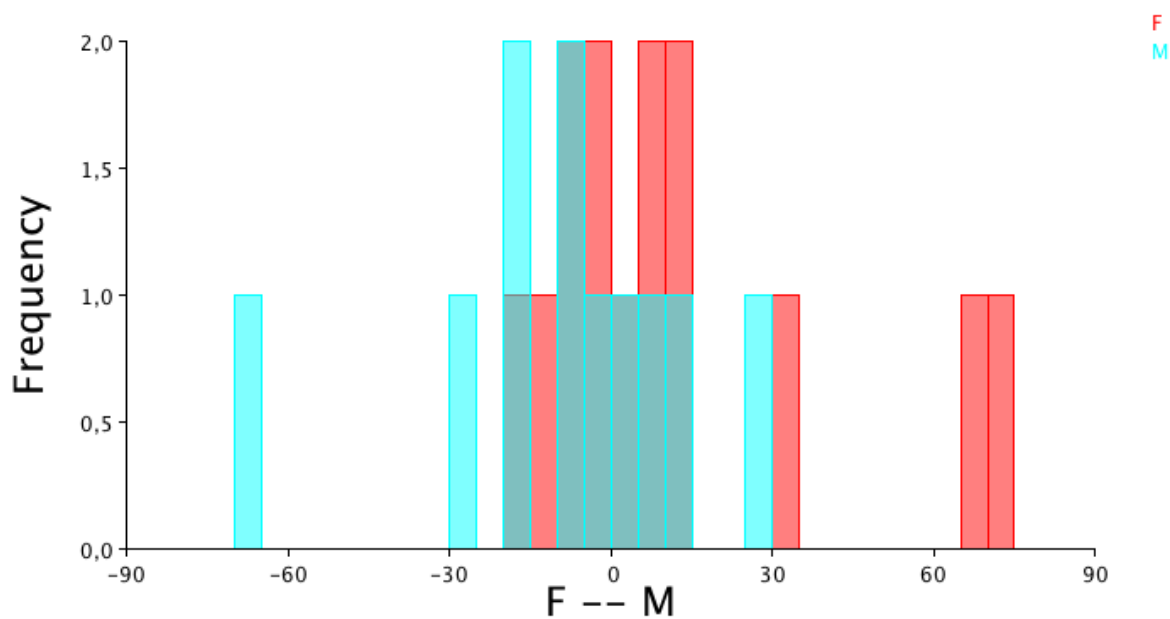
Obrázek 70. Bodový graf skóreů první a druhé osy, získaných pomocí analýzy hlavních komponent z geometrické morfometrie tvaru hlavy pro skupinu HalMerau (M-samec, F-samice, bez popisku jsou jedinci s neznámým pohlavím)

- Diskriminační analýza

Zdá se, že na základě diskriminační analýzy není mezi testovanými jedinci patrný žádný sexuální dimorfismus (1000 permutací, Prokrustovy vzdálenosti: 0.251, $p=0.661$) (Tab. 19, obr. 71).

Tabulka 19. Klasifikační tabulka na základě křížového porovnání (cross-validation) pro rozlišení mezi pohlavími.

Skupina	Female	Male	Total
Female	6	8	14
Male	7	4	11



Obrázek 71. Graf křížového porovnání (cross-validation) na základě diskriminační analýzy pro pohlavní dimorfismus (F-samice, M-samec).

Kapitola 8

Diskuze

8.1 Sociální interakce

V této práci jsme se nejprve zabývali pachovou diskriminací. Zajímalo nás především, zda-li dokáží druhy *T. gigas* a *T. scincoides* rozlišovat mezi pachem vlastního druhu a kontrolami a budou na ně tudíž pozorované odlišné reakce. Zvýšená reakce byla očekávána primárně na pachy odebraných ze zvířat, přičemž silnější reakce byla předpokládána na pach z kloaky. Dále nás zajímalo, zda-li se reakce liší v závislosti na pohlaví či populaci daného jedince.

Nejčastěji pozorovaným prvkem chování a hlavním projevem aktivity testovaných jedinců bylo vyplazování jazyka. Pomocí vyplazování jazyka se jedinec snaží získat více informací o daném pachu, ať už se jedná o pozitivní či negativní stimul (negativní–míněno potenciálně nebezpečný) (Martín a López 2014). Na základě výsledků z korelační analýzy vyplývá, že s ním pozitivně korelují všechny ostatní prvky chování kromě syčení. U většiny studií zabývajících se touto problematikou u plazů bylo vyplazování jazyka jediným hodnoceným prvkem chování (Cooper, Jr. a Vitt 1984, Graves a Halpern 1991, Aragón a kol. 2001b). Vzhledem k tomu, že během tohoto experimentu byly pozorovány další prvky chování, byly do následných analýz také zahrnuty, neboť mohly kromě aktivity a zájmu vysvětlovat také agresivitu, vyhýbání se stimulu (utíkání) či nezájem.

Vyplazování jazyka bylo nejvíce korelováno s dotknutím se jazykem tyčinky a odcházením od tyčinky. Dotknutí se tyčinky může být chápáno jako vyšší stupeň zájmu o stimul a potřebu jeho detailnějšího prozkoumání. Naopak odcházení od tyčinky může značit nezájem o předkládaný stimul nebo vzhledem k jeho vysoké korelaci s ucuknutím od tyčinky být spíše projevem plachosti a vyhýbání se stimulu.

Jediné pozorované chování, které s vyplazováním jazyka nekoreluje, je syčení. Syčení je také záporně korelované s dotekem jazykem tyčinky. V přírodě bývá součástí antipredačního chování (Unverzagt 2000, Badiane a kol. 2018) a často bývá pozorováno s tzv. „plným vypláznutím jazyka“ (Badiane a kol. 2018). Je známo, že „plné vypláznutí jazyka“ se objevuje až v poslední fázi obrany před predátorem a v tomto experimentu nebylo nikdy pozorováno. Syčení bylo spíše projevem plachosti a počátečním náznakem hrozby ze strany testovaného zvířete.

Na základě korelační analýzy byly pozorované prvky chování sloučeny do tří skupin: lick, avoid a bite. Proměnná lick byla tvořena dvěma prvky, vypláznutí jazyka a dotknutí se jazykem tyčinky. Byla chápána jako zájem jedince o předkládaný stimul a následně se mohla vyvinout v reakci avoid nebo bite. V proměnné avoid byly sloučeny prvky: odcházení od tyčinky, ucuknutí od tyčinky, syčení a prsknutí a značilo primárně plachost a vyhýbání se danému stimulu. Poslední sloučenou proměnnou bylo bite, které zahrnovalo kousnutí a pokus o kousnutí. Nicméně četnost bite byla velmi nízká, celkem bylo pozorováno 43x v rámci šesti jedinců a zdá se, že je dané primárně personalitou zvířete. Z následujících analýz bylo bite vyřazeno z důvodu špatného statistického rozdělení dat.

Ukázalo se, že u zbylých dvou proměnných „lick“ i „avoid“ byl silný vliv jedince v reakci na stimul. Experiment také vyšel jako vysoce opakovatelný, což by podporovalo osobní charakter reakce jedince. Nicméně nezdá se, že by chování souviselo s příslušností jedince do dané populace. U proměnné lick se vliv populace v reakci na stimul neprokázal a u proměnné avoid byl efekt v interakci s proměnnou stimul průkazný, nicméně pouze u dvou populací.

Testování jedinci byli také schopni rozlišovat mezi pachovými stimuly, ačkoliv reakce byla obecně spíše slabšího charakteru. Nicméně u proměnné lick se ukázalo, že na pach odebraný ze hřbetu je mnohem vyšší reakce než na čistou kontrolu. Vzhledem k tomu, že jsme předpokládali, že silnější stimul představuje kloaka, která se ve srovnání s čistou kontrolou příliš nelišila, byl tento výsledek poněkud neočekávaný. Zdá se tedy, že pokud něco u těchto druhů vzbuzuje zájem, je to spíše než předpokládaná genitální oblast, oblast kůže. Nabízí se několik možných vysvětlení.

U ještěřů může docházet k významnému vylučování potenciálně důležitých komunikačních látek i skrze kůži (Martín a Lopéz 2014, Louw a kol. 2007). Vzhledem k tomu, že plocha hřbetu, kde byl pach odebírán byla větší než oblast kloaky, mohl se z ní stát silnější stimul a tudíž vzbuzovat větší reakci. Ve stresových situacích mohou být také ve velkém množství vylučovány některé typy lipidů (např. kyselina olejová, kyselina palmitová) v podstatě jako součást všech žlázových sekretů, tudíž i skrze kůži (Martín a Lopéz 2014). Na tyčinku s pachem ze hřbetu by se tyto sekrety mohly dostat s vyšší pravděpodobností, neboť byl odebírán z větší plochy a mohly následně vzbudit větší reakci.

Před odebíráním pachu z oblasti kloaky také často docházelo k vyprázdnění zvířete. Zvíře bylo následně opatrně očištěno neparfémovaným ubrouskem a dbalo se na to, aby na tyčince nebyl přítomen trus. Ačkoliv zatím není moc známo, jestli mohou být s trusem produkovány i látky vzbuzující reakci jiného jedince (Martín a Lopéz 2014), Cooper a Vitt (1984) uvádějí, že u scinků druhu *P. laticeps* nejsou známky toho, že by na trus či moč byla zvýšená reakce. Nicméně očištěním zvířete mohla být koncentrace takových látek z oblasti kloaky snížena a vést k nižší reakci.

Podle mého názoru je jedna z nejpravděpodobnějších hypotéz, že látky vylučované skrze kůži podávají těmto druhům hlavní informace o jedincích v jejich okolí (míře jejich stresu, fyzické kondici atd.) a to v průběhu celého roku. *T. gigas* i *T. scincoides* jsou soliterně žijící živočichové a monitorování okolí a vyhýbání se případným konfliktům je pro ně zásadní i vzhledem k vysoké agresivitě při vzájemných konfliktech (vlastní pozorování). V průběhu pářící sezony mohou také obsahovat informaci o kondici samice, neboť dle zkušenosti chovatelů a na základě vlastních pozorování víme, že samec před pářením může samici párkrát olíznout. Vzhledem k jejich převážně plazivému způsobu pohybu, otírání kůže o zem by mohlo do jisté míry také fungovat jako značení teritoria. Femorální žlázy sloužící u jiných druhů ke značení nejsou u těchto druhů známy, což by tuto hypotézu mohlo podporovat (Pianka a Vitt 2003).

U většiny studií zabývajících se touto problematikou, je pach odebírán hlavně z oblasti kloaky a femorálních žláz, tudíž není moc srovnání napříč reakcemi na pach ze hřbetu nebo kůže obecně.

Alternativní hypotézou nižší reakce na pach kloaky by mohlo být špatné odhadnutí pářící sezony. Vzhledem k tomu, že testování jedinci pochází z různých geografických lokalit je možné, že u každého je pářící sezona v jiném období (Shea 2000, Gassner 2000). Je možné, že na pach z kloaky byla reakce pouze nepatrně vyšší než na kontrolní stimuly a v pářící sezóně by byla vyšší a zaznamatelná. K odfiltrování efektu sezony bývá v některých studiích navozena pářící sezona uměle aplikací testosteronu samcům

(Cooper, Jr. a Vitt 1984). Nicméně autoři v této studii pozorovali vyšší reakce na pach samice v porovnání se samcem i bez aplikace testosteronu. Po něm se reakce na pach samice jenom zvýšila (Cooper, Jr. a Vitt 1984).

U většiny studií zabývajících se touto problematikou, je pach odebírán hlavně z oblasti kloaky a femorálních žláz, tudíž není moc srovnání napříč reakcemi na pach ze hřbetu nebo kůže obecně.

U proměnné avoid byla výrazně vyšší reakce na kontrolu s ethanolem než na ostatní stimuly. Ethanol představoval pachově poměrně silný stimul, tudíž se jako nejpravděpodobnější vysvětlení zdá, že jeho pach byl moc silný a testovaná zvířata se mu snažila vyhýbat (Cooper, Jr. a Pérez-Mellado 2002). Jako nepříjemný pachový stimul se kontrolní tyčinka s alkoholem jevila i druhu *Coleonyx brevis* ve studii týkající se diskriminace mezi pachy predátorů (Dial a Schwenk 1996). Kontrola s alkoholem v podobě voňavky (naředěná 1:1 s vodou) vyvolávala olizování tlamy a očí u testovaných jedinců, což může být chápáno jako projev diskomfortu (Dial a Schwenk 1996). Toto chování může být srovnatelné s tím, které jsme pozorovali u našich jedinců, přičemž ty se snažily stimulu spíše vyhýbat.

Podle mého názoru je také vysoce pravděpodobné, že ostatní pachy nebyly dost silné pro to, aby vzbudily útěkovou reakci. Na základě vlastního pozorování tohoto druhu usuzuji, že ve vzájemných interakcích se jedná spíše o agresivní zvířata a moc před sebou neutíkají. Bylo by tedy logické, že nebudou utíkat ani na slabší stimul v podobě pachy na vatové tyčince, když neutíkají v přímé konfrontaci s jedincem.

V souvislosti s výše zmíněným se nabízí ještě poslední vysvětlující hypotéza, která se však jeví podle mého názoru jako možná nejpravděpodobnější. Obecně nízká reaktivita zvířat při experimentu by mohla být vysvětlena potřebou multimodálního signálu. Vzhledem k tomu, že jeden z hlavních antipredačních signálů tohoto druhu (plné vyplazování jazyka) (Badiane a kol. 2018) má silně optický charakter je možné, že k vyšší reakci potřebují spolu s pachem také vizuální stimul. Tato hypotéza by mohla být podpořena i faktem, že dle Abramjana a kol. 2015 může modré zbarvení jejich jazyka sloužit také k vnitrodruhové komunikaci. V takovém případě by vnitrodruhové komunikace měla i silně optický charakter.

Z výsledků experimentu není patrné, že by se lišila reakce samce od reakce samice. Nicméně vzhledem k obtížím spojeným s určováním pohlaví je třeba brát výsledky s rezervou.

V budoucích studiích by podle mého názoru bylo vhodné odstranit kontrolu v podobě ethanolu. Ačkoliv je alkohol jako kontrola používán i v jiných studiích, podle mého názoru je to příliš silný stimul. Bylo by zajímavé, testovat zda-li se liší reakce jedince na pach z vlastního hřbetu, na pach ze hřbetu jiného jedince stejného druhu a na jiného jedince blízkého druhu (např. *Egernia stokesii*). Ověřilo by se tím, zda-li je daný jedinec schopný rozeznávat pach vlastního druhu a může tedy sloužit k vnitrodruhové komunikaci.

Bylo by také zajímavé uskutečnit experiment, který by umožnil porovnání výsledků této studie s výsledky přímých interakcí stejných jedinců. Porovnat, zda jsou reakce srovnatelné a mají stále silně individuální charakter nebo vzhledem k multimodálnímu signálu jsou spíše ovlivněny přítomností druhého zvířete (jeho kondicí, pohlavím, stářím).

8.2 Morfometrie

V rámci morfometrické analýzy jsme se snažili zjistit, zda jsou mezi sebou jednotlivé populace a pohlaví rozlišitelná na základě tvaru hlavy a uspořádání šupin. Také nás zajímalo, jestli případná morfologická odlišnost koresponduje s vymezením populací na základě molekulární analýzy provedené v rámci studie Frynta a kol. 2018 submitted.

Většina populací druhu *T. gigas* se od sebe liší vzhledem a bývá to patrné pouhým okem. Mohou být jinak zbarvené, mít větší či menší velikost těla nebo například jiný poměr délek částí těla (Shea 2000). Ukázalo se, že po sloučení populací na základě genetické příbuznosti (Frynta a kol. 2018 submitted) na HalMerau (Halmahera+Merauke+Sorong), JayBiCer (Jayapura+Biak+Ceram) a Kai (Kai ostrovy), jsou od sebe populace odlišitelné i na základě geometrické morfometrie tvaru hlavy. Rozdílnost mezi skupinami koresponduje s tím, jak jsou jednotlivé linie uspořádány fylogeneticky, neboť populace Jayapura, Biak a Ceram patří do jednoho poddruhu *T. g. gigas* a populace Kai tvoří samostatný poddruh *T. g. keyensis*. Jedinci z populace Merauke, jež spadá do poddruhu *T. g. evanescens* jsou blízce příbuzní populaci z Halmahery (*T. g. glennsheai*) (Frynta a kol. 2018 submitted). Je zde tedy patrná kongruence mezi geny a morfologií hlavy.

Nicméně nebylo možné od sebe všechny populace rozlišit na podrobnější úrovni (Obr. 72). Je možné, že rozdíly v morfometrii tvaru hlavy mezi jednotlivými klady jsou velmi jemné a vzhledem k nižšímu počtu jedinců v rámci některých populací, se od sebe nedaly odlišit. V případě, že by byl počet jedinců vyšší, je možné, že by se mezi jednotlivými populacemi ukázaly větší rozdíly a jevily by se jako distinktní. Nicméně je třeba zmínit, že zkoumaná zvířata jsou velmi vzácná a vzorek, který se podařil nasbírat, nemá v rámci druhu *T. gigas* obdoby.

V porovnávání populací s druhem *T. scincoides* je situace trochu komplikovanější. *T. gigas* i *T. scincoides* jsou od sebe na první pohled odlišitelné (Gassner 2000). I na základě genetické analýzy je mezi nimi velký rozdíl (Frynta a kol. 2018 submitted). Ovšem na základě bodového diagramu shlukové analýzy se *T. scincoides* nejeví jako jasně distinktní. Jedním z možných vysvětlení je, že tento výsledek je artefaktem malého počtu jedinců ve skupině *T. scincoides*. Tímto faktem by také mohlo být vysvětleno, proč se po vynesení třetí osy jeví *T. scincoides* jako morfometricky oddělitelná, neboť při vynesení prvních os bývá tendence oddělit jedince z více zastoupených skupin a rozdíly i v rámci méně zastoupených skupin mohou být patrné v dalších osách. Ovšem vzhledem k nízkému počtu jedinců druhu *T. scincoides* je třeba brát tuto analýzu s rezervou.

Je známo, že v okolí lokality Merauke bývají spatřeni jedinci, kteří vykazují některé morfologické znaky druhu *T. scincoides* (Hitz a Hauschild 2000). Dalo by se říct, že geneticky by u těchto dvou druhů hybridizace možná byla, neboť rozdíly mezi nimi jsou menší, než jsou maximální známé rozdíly u hybridizujících šupinatých plazů (Jančúchová-Lásková a kol. 2015). Shodou okolností i u některých našich jedinců importovaných z této lokality byly tyto znaky pozorovány. Na základě shlukové analýzy se jeví jako morfometricky oddělitelné, nicméně diskriminační analýza to nepotvrdila (viz 25). Zdá se tedy, že na dané lokalitě hybridy můžou existovat, nicméně v současnosti je to spíše nepotvrzená, ale zároveň i nevyvrácená hypotéza.

Na základě vlastních pozorování uvádí Shea (2000) ve své práci některé rozdíly v uspořádání šupin u poddruhů *T. gigas*. Nicméně většinou nejsou tyto znaky pozorovány u všech jedinců pozorovaných v rámci konkrétní populace. Například uvádí, že u 25 z 36 jedinců z oblasti Ceramu byly parietální šupiny rozděleny na anteriorní a posteriorní část (Shea 2000). U našich jedinců z této oblasti bylo toto rozdělení pozorováno u 2 ze 6 jedinců (Obr. 76 a 75). Dále uvádí, že rozmístění šupin mezi *T. g. evanescens* u nás zastoupenou populací z Merauke a *T. g. keyensis*, by mělo být podobné. Nicméně v námi provedené shlukové i diskriminační analýze se jeví uspořádání šupin těchto dvou poddruhů jako tvarově odlišitelné. Ovšem tento rozdílný výsledek může být způsoben faktem, že Shea (2000) analyzoval rozdílnost primárně na základě počtu šupin, zatímco v naší analýze se jednalo o tvarové rozdíly.

Podle mého názoru, hlavní variabilita je způsobena primárně tvarem šupin, ovšem rozdíly jsou spíše jemného charakteru. Na základě schematických obrázků rozmístění šupin v podkapitole „Pořizování fotografií a určování hodnocených bodů (landmarků)“ je patrné, že například tvar frontální šupiny napříč populacemi se moc neliší. Nicméně například parietální a interparietální šupiny mají trochu jiný tvar. Vzhledem k tomu, že i Shea (2000) nepozoroval konkrétní znak u všech jedinců v dané populaci, i zde je patrná individuální variabilita. Ovšem landmarky v rámci této analýzy byly rozmístěny tak, aby hodnotily spíše celkový tvar hlavy a nebyly ovlivněny případným individuálním rozdílem v rámci populace, ale rozdíly napříč populacemi.

8.3 Určení pohlaví

Kromě zmíněné metody určení pohlaví pomocí svleček hemipenisů byla zvířata z našich chovů podrobena ultrazvukovému vyšetření (MVDr. Jan Hnízdo, Animal Clinic). Nicméně nepodařilo se spatřit žádné vnitřní reprodukční orgány, neboť tilikvy mají pod šupinami v kůži zabudované kostěné struktury (osteodermy), které ultrazvuk zcela odstíní. Ve spolupráci s prof. Lukášem Kratochvílem, Ph.D. jsme se také pokusili od sebe jednotlivá pohlaví odlišit cytogeneticky, nicméně na základě předběžných výsledků se zdá, že nemají morfologicky diferencované pohlavní chromozomy (Kratochvíl in verb). Počítačová tomografie s použitím kontrastních látek zaměřená na zobrazení hemipenisů raději použita nebyla, neboť zvířata musí být při vyšetření uspána, což by bylo příliš riskantní.

Morfometrická analýza nepotvrdila, že by u druhů *T. gigas* a *T. scincoides* byl dimorfismus ve tvaru hlavy. Na základě dostupných informací se tedy zdá, že se jedná spíše o monomorfní druhy. Hypotézu, že se jedná o monomorfní druhy by mohly podporovat i některé behaviorální aspekty těchto zvířat.

Dle Anderssona (1994) mohou být u mnoha monomorfních druhů samci aktivnější než samice, například z důvodu obrany teritoria. Uvádí, že samci jsou v takovém případě vystaveni silnější sexuální selekci, nicméně ta může mít vliv i jenom na jejich odlišné chování oproti samicím a nemusí vyústit v morfologické změny (Andersson 1994). Na základě informací chovatelů i vlastních pozorování víme, že samec se samicí druhů *T. gigas* i *T. scincoides* se v jednom teráriu bez problémů snesou a samci jsou většinou aktivnější než samice. Ovšem většinou spolu bez problémů vycházejí i samice, případně jeden samec a dvě samice. Teritorialita u těchto druhů zatím prokázána nebyla, což může být ale způsobeno i skutečností, že vzhledem k jejich skrytému způsobu života, je poměrně obtížné je v jejich přirozeném prostředí studovat.

Monomorfie bývá také často pozorována u monogamních druhů (Andersson 1994). V rámci rodu *Tiliqua* je monogamní chování známo u blízce příbuzného druhu *Tiliqua rugosa* (Bull a kol. 1998). Jedinci tohoto druhu tvoří během pářící sezóny stabilní monogamní páry, které dokonce udržují napříč sezónami (Bull 1988). Jak jsem již zmínila výše je známo, že samice se se samcem v jednom teráriu bez problémů toleruje, a to i v průběhu celého roku. Když se do takového terária přidá další samec, vyústí to neprodleně v souboj mezi samci. Takovéto chování by mohlo vypovídat o určité míře teritoriality u samců. Není známo, zda-li je v zajetí samice *T. gigas* ochotná se po úspěšném páření, pářit i s jiným samcem v jiném teráriu. V případě, že by nebyla, hypotézy o teritorialitě a monogamii těchto druhů by tímto byly podpořeny. Do budoucna by se nabízelo, takovéto chování ověřit experimentálně přímými interakcemi v pářícím období mezi jistě určenými samci a samicemi.

Dalším případným vysvětlením monomorfie může být blízká genetická korelace mezi pohlavími, která vede k vyvinutí stejných sekundárních pohlavních znaků u obou pohlaví (Andersson 1994).

Vzhledem k tomu, že tyto druhy od sebe nelze odlišit na základě morfologických znaků, sbírání svleček hemipenisů se jeví jako snadná a neinvazivní metoda. Nalezené svlečky kopírovali tvar hemipenisu, který jsme měli možnost porovnat na základě anatomické inspekce mrtvých zvířat. U některých svleček hemipenisů byl dokonce patrný *sulcus spermaticus*. Samčí pohlaví nebylo možné zaměnit se samičím, neboť u samic se nacházela pouze struktura v podobě tenkostěnné kavity bez osvalení. V případě nalezení svlečky je určení pohlaví samce 100% a tato metoda může být aplikována každým.

Kapitola 9

Závěr

Reakce na pach u druhu *T. gigas* je spíše slabšího charakteru, nicméně zdá se, že jedinci jsou do určité míry schopni mezi pachy diskriminovat. Jejich reakce má silně individuální charakter a liší se primárně v zájmu o daný pachový stimul, který se projevuje vyplazováním jazyka. Vypadá to, že charakter reakce není ovlivněn příslušnou populací ani pohlavím jedince, ovšem vzhledem k problémům s určením pohlaví, je třeba se vyjadřovat rezervovaně. Vyšší zájem vzbuzuje oproti čisté kontrole především pach odebraný ze hřbetu, oproti očekávanému pachu z oblasti kloaky. Vzhledem k tomuto výsledku je možné, že hlavní látky, které vzbuzují reakce jiných jedinců jsou vylučovány skrze kůži.

Zdá se, že kontrola v podobě ethanolu je jedincům pachově nepříjemná a vzbuzuje útěkovou reakci. Vzhledem k vysoké agresivitě při vzájemných střetnutích se jedná spíše o zvířata, pro která je útek až poslední možnou alternativou vyřešení souboje. Tím by se dal vysvětlit fakt, že oproti čisté kontrole pach ze hřbetu ani z kloaky útěkovou reakci nevzbuzují.


Obecně nízká reaktivita jedinců by mohla být alternativně vysvětlena potřebou multimodálního signálu. Vzhledem k tomu, že jeden z hlavních antipredačního signálů tohoto druhu, hrození si pomocí jazyků má silně optický charakter, je možné, že potřebují mít pachové signály doplněné také těmi vizuálními.

V části týkající se geometrické morfometrie se podařilo prokázat kongruenci mezi fylogenetickým zařazením a morfologií hlavy u populací testovaných jedinců. To, jak si jsou jednotlivá zvířata na první pohled (zbarvení, tělní dispozice) podobná koresponduje i s tvarem jejich hlavy a genetickou příbuzností. Nicméně rozdíly v morfometrii jsou velmi jemného charakteru a populace jsou od sebe jasně rozlišitelné až po sloučení do větších skupin. Nemožnost detailnějšího rozdělení může být způsobena nízkým počtem jedinců v některých populacích. Nicméně druhy *T. gigas* a *T. scoincoides* jsou velmi vzácná zvířata a jejich import je poměrně složitý a vzorek, který se podařilo shromáždit je v rámci tohoto druhu nadstandardní.

V rámci této práce se neprokázal pohlavní dimorfismus na základě tvaru hlavy a šupin. Ovšem podařilo se aplikovat novou metodu určení pohlaví u tohoto druhu, na základě sbírání svleček hemipenisů, pomocí které lze 100% jistotou určit samčí pohlaví. Vzhledem k tomu, že doposud neexistuje spolehlivá neinvazivní metoda určení pohlaví u tohoto druhu, mohla by tato metoda pomoci mnoha chovatelům a výzkumným týmům předejít nechtěným agresivním střetům mezi samci, které mohou být následkem chybného určení pohlaví.

Odpovědi na otázky, které jsme si v této práci kladli za cíl zodpovědět jsou tedy následující:

- Reakce na pachové stimuly se liší, nicméně je velmi slabá. Oproti čisté kontrole jsou jedinci schopni odlišit pach odebraný z oblasti hřbetu a projevují o něj větší zájem, naopak ethanol vzbuzuje oproti čisté kontrole větší útěkovou reakci.
- Reakce testovaných jedinců má silně individuální charakter a příslušnost k populaci ji spíše neovlivňuje. Zdá se, že pohlaví jedince na příslušnou reakci také vliv nemá.


- 
- Po sloučení populací do větších skupin je možné tyto skupiny od sebe na základě morfologie hlavy oddělit. Toto rozdělení je v souladu s jejich fylogenetickými vztahy.
 - Pohlaví testovaných jedinců od sebe na základě geometrické morfometrie hlavy oddělit nelze a zdá se, že se jedná o monomorfní druhy.

Literatura

- Abbate, F., Latella, G., Montalbano, G., Guerrera, M. C., Germanà, G. P., Levanti, M. B. (2009): The lingual dorsal surface of the blue-tongue skink (*Tiliqua scincoides*). *Anatomia, histologia, embryologia*, 38(5), 348–350.
- Abramjan, A., Bauerová, A., Somerová, B., Frynta, D. (2015): Why is the tongue of blue-tongued skinks blue? Reflectance of lingual surface and its consequences for visual perception by conspecifics and predators. *The Science of Nature*, 102(7-8), 42.
- Adams, D. C., Rohlf, F. J., Slice, D. E. (2013): A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix*, 24(1), 7.
- Andersson, M. (1994): Sexual monomorphism. In *Sexual Selection*. Princeton University Press, 161–162.
- Aragón, P., López, P., Martín, J. (2001a): Chemosensory discrimination of familiar and unfamiliar conspecifics by lizards: implications of field spatial relationships between males. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 50(2), 128–133.
- Aragón, P., López, P., Martín, J. (2001b): Discrimination of femoral gland secretions from familiar and unfamiliar conspecifics by male Iberian rock-lizards, *Lacerta monticola*. *Journal of Herpetology*, 35(2), 346–350.
- Badiane, A., Carazo, P., Price-Rees, S. J., Bernal, M. F., Whiting, M. J. (2018): Why blue tongue? A potential UV-based deimatic display in a lizard. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 72(7), 104.
- Baeckens, S., Herrel, A., Broeckhoven, C., Vasilopoulou-Kampitsi, M., Huyghe, K., Goyens, J., Damme, R. V. (2017): Evolutionary morphology of the lizard chemosensory system. *Scientific reports*, 7(1), 10141.
- Brana, F. (1996): Sexual dimorphism in lacertid lizards: male head increase vs female abdomen increase? *Oikos*, 75(3), 511–523.
- Bull, C. M. (1988): Mate fidelity in an Australian lizard *Trachydosaurus rugosus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 23(1), 45–49.
- Bull, C. M., Cooper, S. J. B., Baghurst, B. C. (1998): Social monogamy and extra-pair fertilization in an Australian lizard, *Tiliqua rugosa*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 44(1), 63–72.
- Cooper, W. E., Vitt, L. J. (1984): Detection of conspecific odors by the female broad-headed skink, *Eumeces laticeps*. *Journal of Experimental Zoology*, 229(1), 49–54.
- Cooper, Jr., W. E. (2000): Food chemical discriminations by the omnivorous scincid lizards *Tiliqua scincoides* and *Tiliqua rugosa*. *Herpetologica*, 56(4), 480–488.
- Cooper, Jr., W. E., Burghardt, G. M. (1990): A comparative analysis of scoring methods for chemical discrimination of prey by squamate reptiles. *Journal of Chemical Ecology*, 16(1), 45–65.
- Cooper, Jr., W. E., Pérez-Mellado, V. (2002): Pheromonal discriminations of sex, reproductive condition, and species by the lacertid lizard *Podarcis hispanica*. *Journal of Experimental Zoology*, 292(6), 523–527.
- Cooper, Jr., W. E., Vitt, L. J. (1984): Conspecific odor detection by the male broad-headed skink, *Eumeces laticeps*: Effects of sex and site of odor source and of male reproductive condition. *Journal of Experimental Zoology*, 230(2), 199–209.
- Di Ianni, F., Volta, A., Pelizzone, I., Manfredi, S., Gnudi, G., Parmigiani, E. (2015): Diagnostic sensitivity of ultrasound, radiography and computed tomography for gender determination in four species of lizards. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 56(1), 40–45.
- Dial, B. E., Schwenk, K. (1996): Olfaction and predator detection in *Coleonyx brevis* (Squamata: Eublepharidae), with comments on the functional significance of buccal pulsing in geckos. *Journal of Experimental Zoology*, 276(6), 415–424.

- Dobigny, G., Baylac, M., Denys, C. (2002): Geometric morphometrics, neural networks and diagnosis of sibling *Taterillus species* (Rodentia, Gerbillinae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 77(3), 319–327.
- Fleishman, L. J., Loew, E. R., Leal, M. (1993): Ultraviolet vision in lizards. *Nature*, 365(6445), 397.
- Frynta, D., Gunalen, D., Somerová, B. (2018): Genetic variation of blue-tongue skinks of the genus *Tiliqua* (Squamata: Scincidae) from New Guinea and Wallacea. Submitted to *Zoological Science*. unpublished.
- Frýdlová, P., Frynta, D. (2010): A test of Rensch's rule in varanid lizards. *Biological Journal of the Linnean Society*, 100(2), 293–306.
- Frýdlová, P., Velenský, P., Šimková, O., Cikánová, V., Hnízdo, J., Reháček, I., Frynta, D. (2011): Is body shape of mangrove-dwelling monitor lizards (*Varanus indicus*; Varanidae) sexually dimorphic? *Amphibia-Reptilia*, 32(1), 27–37.
- Gardner, M. G., Bull, C. M., Cooper, S. J. B., Duffield, G. A. (2001): Genetic evidence for a family structure in stable social aggregations of the Australian lizard *Egernia stokesii*. *Molecular Ecology*, 10(1), 175–183.
- Gardner, M. G., Bull, C. M., Fenner, A., Murray, K., Donnellan, S. C. (2007): Consistent social structure within aggregations of the Australian lizard, *Egernia stokesii* across seven disconnected rocky outcrops. *Journal of Ethology*, 25(3), 263–270.
- Gassner, P. (2000): Husbandry and reproduction of *Tiliqua gigas* (Schneider, 1801) in the terrarium. In *Blue-Tongued Skinks: Contributions to Tiliqua and Cyclodomorphus*. Münster: Natur und Tier-Verlag, 190–194.
- Graves, B. M., Halpern, M. (1991): Discrimination of self from conspecific chemical cues in *Tiliqua scincoides* (Sauria: Scincidae). *Journal of Herpetology*, 25(1), 125–126.
- Hedges, S. B. (2014): The high-level classification of skinks (Reptilia, Squamata, Scincomorpha). *Zootaxa*, 3765(4), 317–338.
- Hitz, R., Hauschild, A. (2000): New blue-tongued skinks from Indonesia. In *Blue-Tongued Skinks: Contributions to Tiliqua and Cyclodomorphus*. Münster: Natur und Tier-Verlag, 195–204.
- Hoser, R. T. (2014): New Bluetongue Lizard and Sailfin Dragon Lizard taxa from Indonesia (Squamata:Sauria). *Australasian Journal of Herpetology*, 24, 12–15.
- in den Bosch, H. A. (2001): Male lizards change their genital skin almost every day: squamate pan-epidermal synchrony refuted. *Canadian journal of zoology*, 79(3), 512–516.
- Jančúchová-Lásková, J., Landová, E., Frynta, D. (2015): Are genetically distinct lizard species able to hybridize? A review. *Current Zoology*, 61(1), 155–180.
- Kalioztopoulou, A., Carretero, M. A., Llorente, G. A. (2007): Multivariate and geometric morphometrics in the analysis of sexual dimorphism variation in *Podarcis* lizards. *Journal of Morphology*, 268(2), 152–165.
- Karlson, P., Lüscher, M. (1959): Pheromones: a new term for a class of biologically active substances. *Nature*, 183(4653), 55–56.
- Klingenberg, C. P. (2011): MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11, 353–357.
- Kratochvíl, L., Frynta, D. (2002): Body size, male combat and the evolution of sexual dimorphism in eublepharid geckos (Squamata: Eublepharidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 76(2), 303–314.
- Loew, E. R., Fleishman, L. J., Foster, R. G., Provencio, I. (2002): Visual pigments and oil droplets in diurnal lizards: a comparative study of Caribbean anoles. *Journal of Experimental Biology*, 205(7), 927–938.
- Louw, S., Burger, B. V., Le Roux, M., Van Wyk, J. H. (2007): Lizard epidermal gland secretions I: chemical characterization of the femoral gland secretion of the sungazer, *Cordylus giganteus*. *Journal of chemical ecology*, 33(9), 1806–1818.
- Martín, J., Lopéz, P. (2014): Pheromones and Chemical Communication in Lizards. *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara*, 43–77.
- Mason, R. T., Parker, M. R. (2010): Social behavior and pheromonal communication in reptiles. *Journal of Comparative Physiology A*, 196(10), 729–749.

- Moreira, P. L., Lopéz, P., Martín, J. (2008): Discrimination of conspecific faecal chemicals and spatial decisions in juvenile Iberian rock lizards (*Lacerta monticola*). *Acta ethologica*, 11(1), 26–33.
- New, S. T. D., Hemmi, J. M., Kerr, G. D., Bull, C. M. (2012): Ocular anatomy and retinal photoreceptors in a skink, the sleepy lizard (*Tiliqua rugosa*). *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, 295(10), 1727–1735.
- Olsson, M., Shine, R., Wapstra, E., Ujvari, B., Madsen, T. (2002): Sexual dimorphism in lizard body shape: the roles of sexual selection and fecundity selection. *Evolution*, 56(7), 1538–1542.
- Phillips, C. A., Roffey, J. B., Hall, E., Johnson, R. S. P. (2016): Sex identification in the eastern blue-tongued lizard (*Tiliqua scincoides* White, ex Shaw, 1790) using morphometrics. *Australian Veterinary Journal*, 94(7), 256–259.
- Pianka, E. R., Vitt, L. J. (2003): *Lizards: windows to the evolution of diversity*. University of California Press.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., R Core Team (2018): nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. *R package version 3.1*, 137.
- Pinto, A. C. S., Wiederhecker, H. C., Colli, G. R. (2005): Sexual dimorphism in the Neotropical lizard, *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae). *Amphibia-Reptilia*, 26(2), 127–137.
- Price-Rees, S. J., Brown, G. P., Shine, R. (2013): Habitat selection by bluetongue lizards (*Tiliqua*, Scincidae) in tropical Australia: a study using GPS telemetry. *Animal Biotelemetry*, 1(1), 7.
- Protiva, T., Gunalen, D., Bauerová, A., Palupčíková, K., Somerová, B., Frýdlová, P., Jančúchová-Lásková, J., Šimková, O., Frynta, D., Reháč, I. (2016): Shell shape and genetic variability of Southeast Asian Box Turtles (*Cuora amboinensis*) from Borneo and Sumatra. *Vertebrate Zoology*, 66(3), 387–396.
- Pyron, R. A., Burbrink, F. T., Wiens, J. J. (2013): A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. *BMC evolutionary biology*, 13(1), 93.
- Rice, W. R. (1984): Sex chromosomes and the evolution of sexual dimorphism. *Evolution*, 38(4), 735–742.
- Rohlf, F. (2008a): tps Util, v. 1.40. *Stony Brook, NY: Department of Ecology & Evolution, SUNY Stony Brook*.
- Rohlf, F. (2008b): TPSDIG, version 2.12. *Stony Brook: Department of Ecology and Evolution, State University of New York*.
- Rohlf, F. J., Marcus, L. F. (1993): A revolution in morphometrics. *Trends in ecology and evolution*, 8(4), 129.
- Schwenk, K. (1995): Of tongues and noses: chemoreception in lizards and snakes. *Trends in ecology & evolution*, 10(1), 7–12.
- Shapiro, S. S., Wilk, M. B. (1965): An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52(3/4), 591–611.
- Shea, G. M. (2000): The New Guinea bluetongue, *Tiliqua gigas* (Schneider, 1801): Ecology and review of the subspecies, with the description of the subspecies *Tiliqua gigas evanescens* Shea, 2000. In *Blue-Tongued Skinks: Contributions to Tiliqua and Cyclodomorphus*. Münster: Natur und Tier-Verlag, 177–189.
- Stoffel, M. A., Nakagawa, S., Schielzeth, H. (2017): rptR: Repeatability estimation and variance decomposition by generalized linear mixed-effects models. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(11), 1639–1644.
- In: M. Swan (ed.): (2008): *Keeping and breeding Australian lizards*. Mike Swan Herp. Books.
- Umbers, K. D. L., Lehtonen, J., Mappes, J. (2015): Deimatic displays. *Current Biology*, 25(2), R58–R59.
- Unverzagt, T. (2000): The continuous keeping and breeding of *Tiliqua scincoides scincoides* (Hunter, 1790) in the terrarium. In *Blue-Tongued Skinks: Contributions to Tiliqua and Cyclodomorphus*. Münster: Natur und Tier-Verlag, 169–176.
- Vergilov, V. S., Zlatkov, B. P., Tzankov, N. D. (2017): Hemipenial differentiation in the closely related congeners *Ablepharus kitaibelii* (Bibron & Bory De Saint-Vincent, 1833), and *Ablepharus budaki* Gocmen, Kumlutas & Tosunoglu, 1996. *Herpetozoa*, 30(1-2), 39–48.
- Vitt, L. J. (1983): Reproduction and sexual dimorphism in the tropical teiid lizard *Cnemidophorus ocellifer*. *Copeia*, (2), 359–366.

- 
- Voris, H. K. (2000): Maps of Pleistocene sea levels in Southeast Asia: shorelines, river systems and time durations. *Journal of Biogeography*, 27(5), 1153–1167.
- Vrba, I., Donát, P. (1993): Activities version 2.1. *Computer programme for behavioural studies*.
- Wilson, S. (2012): *Australian Lizards: A Natural History*. Csiro Publishing.
- Wyatt, T. D. (2010): Pheromones and signature mixtures: defining species-wide signals and variable cues for identity in both invertebrates and vertebrates. *Journal of Comparative Physiology A*, 196(10), 685–700.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D., Fink, W. L. (2004): *Geometric morphometrics for biologist: a primer*. Elsevier Academic Press (New York and London).



Další zdroje



OPENSTREETMAP (2018): Otevřená databáze geografických dat.

<https://www.openstreetmap.org> [cit. 8. 5. 2018].

NATURAL EARTH (2018): Natural Earth free vector and raster map data.

<https://www.naturalearthdata.com/downloads/> [cit. 8. 5. 2018].

Příloha A

Doplňující analýzy

Tabulka 20. Reakce na konkrétní pachové stimuly v rámci populací v interakci s proměnnou stimul.

	Hodnota	SE	t-value	p-value
Rho	0.8919573			
Intercept	4.825	0.520	9.275	<0.0001
Hřbet	-0.235	0.388	-0.606	0.547
Ethanol	1.130	0.388	2.913	0.005
Kloaka	0.036	0.388	0.092	0.927
Merauke	0.406	1.293	0.314	0.755
Tanimbar	0.551	2.361	0.233	0.816
Halmahera	-1.596	1.223	-1.299	0.199
Hřbet:Merauke	-0.615	0.601	-1.023	0.310
Ethanol:Merauke	0.410	0.601	0.683	0.498
Kloaka:Merauke	-1.392	0.601	-2.316	0.024
Hřbet:Tanimbar	2.428	1.098	2.212	0.030
Ethanol:Tanimbar	0.999	1.098	0.910	0.366
Kloaka:Tanimbar	2.03	1.098	1.849	0.069
Hřbet:Halmahera	0.277	0.571	0.484	0.63
Ethanol:Halmahera	-0.347	0.571	-0.607	0.546
Kloaka:Halmahera	-0.019	0.571	-0.033	0.973

A.1 Shluková analýza pro jednotlivé populace

Tabulka 21. Shluková analýza (CVA), procenta meziskupinové variability pro všechny populace druhů *T. gigas* a *T. scincoides*.

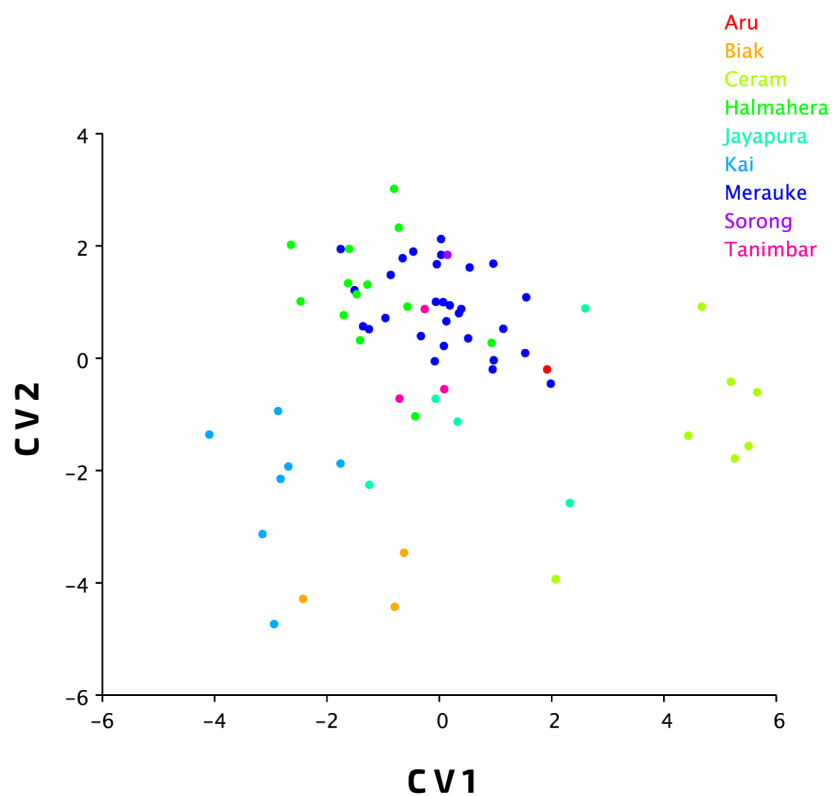
	Eigen values	% Variability
1.	4.06767840	41.961
2.	2.49441845	25.731
3.	1.44490123	14.905

Tabulka 22. Hodnoty p pro Mahalanobisovy vzdálenosti u všech populací na základě shlukové analýzy

	Aru	Biak	Ceram	Halmahera	Jayapura	Kai	Merauke	Sorong
Biak	0.0855							
Ceram	0.2543	0.0107						
Halmahera	0.1299	0.0003	<0.0001					
Jayapura	0.1657	0.0157	0.0034	0.0002				
Kai	0.0939	0.0037	0.0002	<0.0001	0.0008			
Merauke	0.3031	<0.0001	<0.0001	0.0079	<0.0001	<0.0001		
Sorong	1	<0.0001	0.1270	0.1673	0.1471	0.0158	0.7664	
Tanimbar	0.4085	<0.0001	0.0075	0.0015	0.0087	<0.0001	0.0002	0.1690

Tabulka 23. Hodnoty p pro Prokrustovy vzdálenosti u všech populací *T. gigas* a *T. scincoides* v rámci shlukové analýzy.

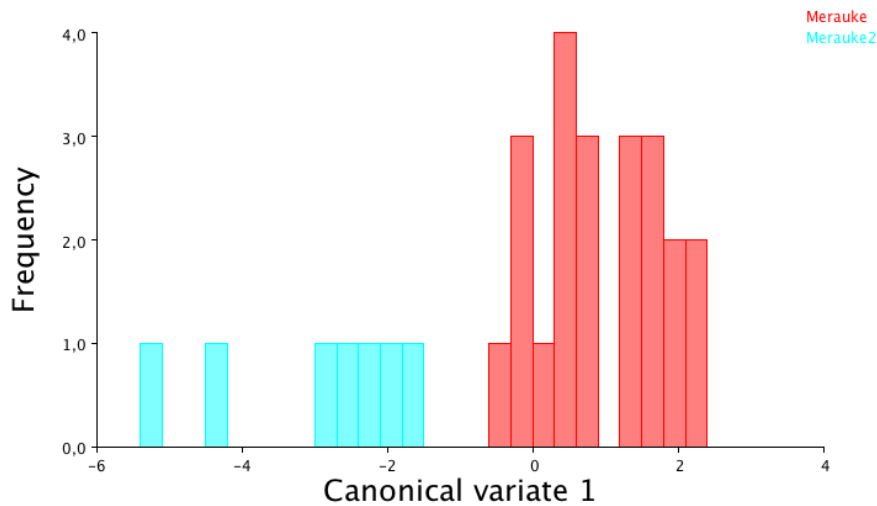
	Aru	Biak	Ceram	Halmahera	Jayapura	Kai	Merauke	Sorong
Biak	0.0860							
Ceram	0.2484	0.0108						
Halmahera	0.1425	0.0325	<0.0001					
Jayapura	0.1682	0.0178	0.0121	0.0050				
Kai	0.0633	0.0099	<0.0001	0.0032	0.0032			
Merauke	0.1614	0.0874	0.0007	0.1225	0.0314	0.0005		
Sorong	1	0.5008	0.2547	0.2094	0.1515	0.2594	0.7352	
Tanimbar	0.4085	0.0969	0.0163	0.0791	0.0199	0.0189	0.1978	0.7505

**Obrázek 72.** Shluková analýza (CVA) pro všechny zkoumané populace druhů *T. gigas* a *T. scincoides*.

A.2 Shluková a diskriminační analýza pro populace Merauke a Merauke se znaky *scincoides*

Tabulka 24. Shluková analýza (CVA), procenta meziskupinové variability mezi Merauke a Merauke se znaky *scincoides*

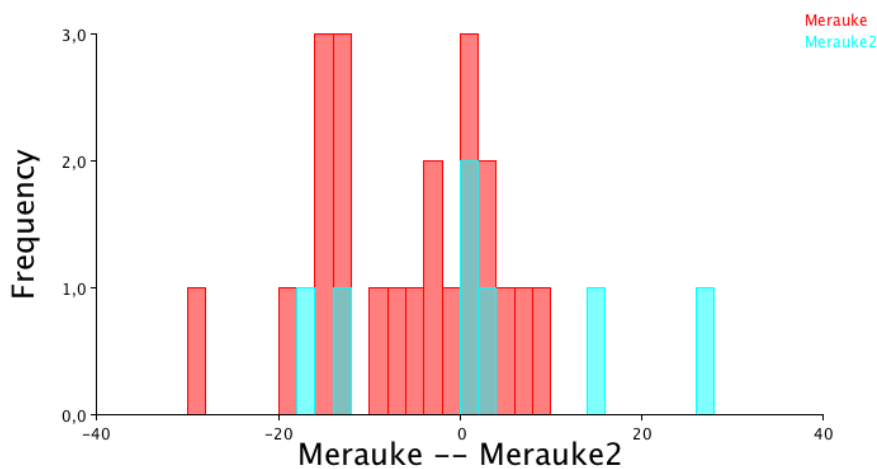
	Eigen values	% Variability
1.	3.03357587	100.000



Obrázek 73. Shluková analýza pro populaci Merauke a Merauke se znaky *scincoides* (Mahalanobisovy vzdálenosti: $p < 0.0001$, Prokrustovy vzdálenosti: $p = 0.0828$).

Tabulka 25. Klasifikační tabulka na základě křížového porovnání (cross-validation) pro skupiny Merauke a Merauke se znaky *scincoides* (Merauke 2) v diskriminační analýze.

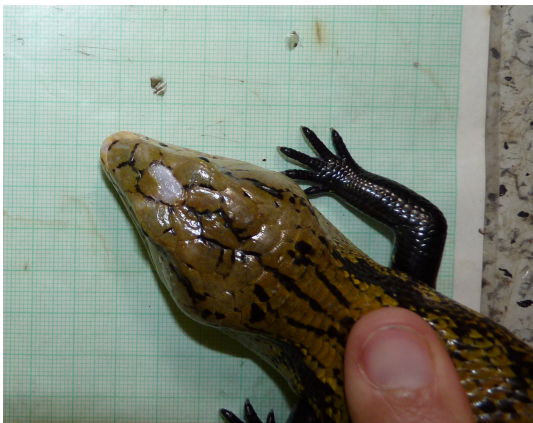
Skupina	Merauke	Merauke 2	Celkem
Merauke	14	8	22
Merauke 2	2	5	7



Obrázek 74. Diskriminační analýza pro populaci Merauke a Merauke se znaky *scincoides* (1000 permutací, Prokrustovy vzdálenosti=0.092, $p = 0.076$)

Příloha B

Obrázky



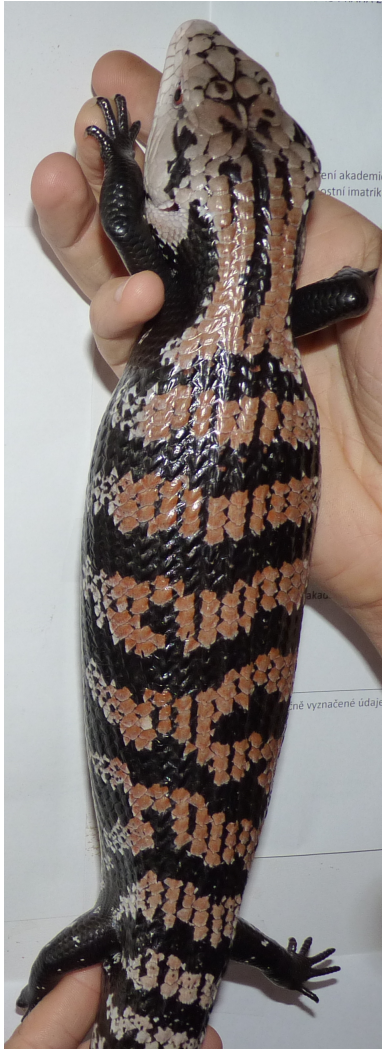
Obrázek 75. Fotografie hlavy jedince ID 522 z populace ceram



Obrázek 76. Fotografie hlavy jedince ID 509 z populace ceram.



Obrázek 77. Barevný vzor populace Kai (vlastní foto).



Obrázek 78. Barevný vzor populace Halma-hera..



Obrázek 79. Barevný vzor populace Merauke. (vlastní foto).



Obrázek 80. Barevný vzor populace Sorong
(vlastní foto).



Obrázek 81. Barevný vzor populace Ceram
(vlastní foto).



Obrázek 82. Barevný vzor populace Jayapura (vlastní foto).



Obrázek 83. Barevný vzor populace Biak (vlastní foto).