

**Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta  
Katedra Ekologie**

**Charles University in Prague, Faculty of Science  
Department of Ecology**

Doktorský studijní program: Ekologie  
Ph.D. study program: Ecology

Autoreferát disertační práce  
Summary of the Ph.D. Thesis



**Fylogeneze vybraných rodů gekonů Mediteránu  
a přilehlých oblastí**

**Phylogeny of selected genera of geckos in the Mediterranean  
and adjacent regions**

**Jan Červenka**

Školitel/Supervisor: doc. Mgr. Lukáš Kratochvíl, Ph.D.

Praha, květen / Prague, May (2014)

## Abstrakt

Disertační práce, jejímž základem jsou tři již publikované práce a jeden rukopis, je zaměřena na fylogenezi vybraných rodů gekonů z oblasti Mediteránu a oblastí přilehlých. Cílovou skupinu taxonů spojuje z morfologického hlediska absence přísavných lamel na prstech a z hlediska historie výzkumu skupiny také jejich předpokládaná blízká fylogenetická příbuznost. Na problematiku studovanou v této práci byly aplikovány především metody molekulární fylogenetiky s využitím sekvenčních dat získaných z mitochondriálních genů. Morfologické znaky, u ještěřů tradičně používané, byly zkoumány zejména v souvislosti s ekologií studovaných forem. Práce umožnila první podrobnější náhled na fylogenezi zkoumaných taxonů. Ze zjištěných výsledků vyplývá, že rod *Cyrtopodion*, dříve považovaný za monofyletický, monofylem není, neboť rody *Bunopus* a *Agamura* tvoří jeho vnitřní skupiny. Jeho podrod *Mediodactylus* tvoří monofylum, nikoli však blízce příbuzné ostatním zástupcům rodu a byl povýšen na samostatný rod *Mediodactylus*. Enigmatický a doposud poměrně málo prozkoumaný rod *Carinatogekko* tvoří se všemi svými zástupci vnitřní skupinu rodu *Mediodactylus*. Na základě vnější morfologie a ekologických charakteristik bylo též doporučeno přeradit recentně popsany druh *Cyrtopodion dehakroense* z Pákistánu do rodu *Mediodactylus*. Fylogenetickou analýzou sekvenčních dat, doplněnou ekologickým modelováním nik, byl podpořen druhový status obou známých poddruhů druhu *Bunopus spatalurus*.

## Abstract

This Ph.D. thesis is composed of three published articles and one manuscript, and is focused on the phylogenetic relationships of selected species of geckos from the Mediterranean and surrounding areas. The group of geckos of interest shares the common characteristic of an absence of adhesive lamellas on their toes. Historically, it was assumed that these species were closely related. Molecular-phylogenetic approaches were used in order to reveal the phylogenetic relationships within this group, especially using the sequence data from mitochondrial genes. Morphological characteristics commonly used in lizards were studied in connection with the ecology of the group. This thesis provides the first more detailed view of the phylogeny of the studied species. The results show that the genus *Cyrtopodion*, previously considered as monophyletic, in fact is not monophyletic as the genera *Bunopus* and *Agamura* represent its inner groups. *Mediodactylus*, the subgenus of *Cyrtopodion*, forms monophylum but is not closely related to the other members of the genus and so was reclassified as the independent genus. The enigmatic and yet so far very poorly studied genus *Carinatogecko* was discovered to be the inner group of the genus *Mediodactylus*. The recently described species *Cyrtopodion dehakroense* was therefore transferred to the genus *Mediodactylus* based on ecological and morphological data. Phylogenetic analysis of sequence data enhanced by ecological niche modelling supported the specific status of the two recognized subspecies of *Bunopus spatalurus*.

## Úvod

Disertační práce je zaměřena především na rekonstrukci fylogeneze druhově bohatého rodu *Cyrtopodion sensu lato* (čeleď Gekkonidae) a několika dalších potenciálně blíže příbuzných rodů ze skupiny takzvaných palearktických „nahoprstých“ gekonů z Mediteránu a přilehlých oblastí. Tito gekoni postrádající na prstech adhezivní lamely tvoří významnou složku noční herpetofauny ve většině oblastí svého výskytu. Zástupce je možno nalézt od Mediteránu přes Blízký Východ a jihozápadní Asii až po severní Indii a úpatí Himálaje, na severu se vyskytují až ve Střední Asii. Většina druhů z této skupiny gekonů je dobře přizpůsobena životu v aridních oblastech. Jednotlivé formy se liší nejen svou morfologií, ale také v preferovaných biotopech (skály, stromy, písčité, sprašové či kamenité biotopy), některé druhy žijí i synantropně (např. Anderson 1999).

Fylogeneze nejen vlastního rodu *Cyrtopodion*, ale i celé skupiny, byla donedávna prakticky neznámá. Založena byla pouze na morfologickém a areálovém srovnání jednotlivých taxonů, bez podpory ve fylogenetické analýze. Rovněž taxonomie skupiny byla a je vlivem absence známé fylogeneze značně komplikovaná a dosud neustálená. Samotný rod *Cyrtopodion sensu lato* zahrnoval dříve téměř 40 druhů (viz např. seznam druhů v Uetz a Hošek 2014). Szczerbak a Golubev (1986) ve své shrnující práci předložili jeden z možných náhledů na fylogenezi rodu, kdy uvažovali rod *Cyrtopodion* s podrody *Cyrtopodion*, *Mediodactylus* a *Tenuidactylus*. Část druhů z Tibeto-Himálajské oblasti nicméně do žádného podrodu zařazena nebyla. Po předchozích historických nomenklatorických peripetiích byla nakonec toto ustálená představa, jejíž platnost byla více či méně akceptována po zhruba následující dvě desetiletí.

Dalším významným milníkem v pohledu na fylogenezi rodu *Cyrtopodion* byla souhrnná práce Andersona (1999). Autor v rámci rodu nerozlišoval podrody, ale čtyři ne nutně monofyletické, avšak morfologicky dobře odlišitelné skupiny druhů. Těmto skupinám (*agamuroides*, *caspium*, *kotschy* a *scabrum*) následně přiřadil určité potenciální synapomorfie charakterizující jednotlivé skupiny.

Nejasnosti v zařazení druhů z Tibeto-Himálajské oblasti se pokusil osvětlit Khan (2003) ustanovením nových rodů *Altigekko*, *Indogekko* a *Sivaligekko*, především pak v souvislosti s neurčitým rodovým řazením řady nově popisovaných druhů z oblasti. Přínos k objasnění celkové situace v rámci diverzity rodu však byl jen částečný, vzhledem k absenci podpůrné fylogenetické analýzy.

Určitou odlišnost druhů řazených do podrodu *Mediodactylus* (odpovídající skupině *kotschyi* dle práce Anderson 1999) naznačila fylogenetická analýza alozymových dat (Macey et al. 2000). Studované druhy z tohoto podrodu tvořily samostatnou skupinu, oddělenou od ostatních zástupců rodu *Cyrtopodion*. Autory bylo proto navrženo povýšení podrodu *Mediodactylus* na rodovou úroveň, nicméně tato taxonomická úprava nebyla obecně přijata.

Dobře definovaný rod *Bunopus* s recentně řazenými čtyřmi zástupci a monotypický rod *Agamura* byly považovány za fylogeneticky blízce příbuzné gekonům z rodu *Cyrtopodion* (viz např. Szczerbak a Golubev 1986 a Anderson 1999). Osvětlení příbuznosti všech výše zmiňovaných rodů na základě fylogenetické analýzy založené na sekvenčních datech je obsahem první publikace zařazené do disertační práce.

Rod *Carinatogeko* ustanovili Golubev a Szczerbak (1981) a zahrnuli do něj dva druhy endemické pro oblast úpatí Zagrosu Iráku a Íránu. Ve stejné práci však na základě morfologických znaků zařadili rod *Carinatogeko* do sesterské pozice k druhu *Mediodactylus heterocercus*, dříve *Cyrtopodion heterocercum*. Nynější rod *Mediodactylus* se tak stal parafyletickým. Objasnění fylogenetického postavení rodu *Carinatogeko*, opět na základě analýzy sekvencí, je tématem druhé studie z předkládané disertační práce.

Třetí kapitolu této disertační práce tvoří publikace, zabývající se rodovým řazením a validitou arboreálního druhu z jižního Pákistánu, který v rodě *Cyrtopodion* na základě morfologických znaků popsal Masroor (2009).

Obsahem čtvrté kapitoly je připravovaný rukopis, zaměřený na taxonomii a biogeografii druhu *Bunopus spatalurus* z jihu Arabského poloostrova. V rámci tohoto druhu s disjunktním areálem jsou recentně rozlišovány dva morfologicky odlišné poddruhy. S využitím fylogenetické analýzy sekvencí řeší tato studie vzájemný vztah mezi oběma poddruhy. Rozšiřující analýza vhodných klimatických podmínek výskytu těchto dvou forem v současnosti a v době posledního maximálního zalednění je diskutována s výsledky fylogenetické analýzy.

## **Cíle práce**

Primárním cílem disertační práce bylo osvětlit fylogenetické vztahy ve skupině potenciálně blízce příbuzných gekonů rodů *Agamura*, *Bunopus*, *Carinatogeko* a především v rámci druhově bohatého rodu *Cyrtopodion*. Pomocí fylogenetického přístupu analyzovat nově získaná sekvenční data metodami fylogenetickými, což bylo u studované skupiny

„nahoprstých“ gekonů dosud prakticky opomíjeno. Dalším z cílů pak bylo prozkoumat monofylii morfologicky odlišných skupin druhů (*agamuroides*, *caspium*, *kotschyi* a *scabrum*) dle Andersona (1999) a podrodů *Cyrtopodion*, *Mediodactylus* a *Tenuidactylus* v rámci rodu *Cyrtopodion*, jak jej chápe Szczerbak a Golubev (1986), zejména v souvislosti s ekologickou diverzitou studovaných druhů.

## **Materiál a metodika**

Výchozím materiálem celé studie byl zejména bohatý sbírkový materiál pocházející ze sbírek Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Materiál z této kolekce obsahuje i některé unikátní zástupce studované skupiny gekonů. Ze sbírkového materiálu byly odebrány vzorky DNA, a byl také využit pro získání morfologických a morfometrických znaků, klasicky používaných v taxonomii ještěřů. Pro fylogenetické analýzy sekvenčních dat byly zvoleny částečné sekvence mitochondriálních genů pro malou ribosomální podjednotku (12S rRNA) a protein kódující sekvence cytochromu *b*. Oba tyto geny jsou již tradičně využívány pro studium fylogeneze ještěřů a plazů vůbec. Získaná sekvenční data byla podrobena analýze metodami klasické fylogenetiky a Bayesovské analýze. V poslední kapitole disertační práce byly využity také sekvence jaderného *C-mos* genu pro analýzu haplotypů a byly zde také aplikovány metody modelování ekologických nik studovaných taxonů.

## **Výsledky a diskuse**

Fylogenetická analýza sekvenčních dat z první kapitoly disertační práce upozornila zejména na skutečnost, že rod *Cyrtopodion sensu lato* není monofyletický. Gekoni rodů *Agamura* a *Bunopus* se ukázali být blíže příbuzní studovaným zástupcům ze skupin *agamuroides*, *caspium* a *scabrum*, než skupině *kotschyi*, odpovídající podrodu *Mediodactylus*. Odlišnost druhů z podrodu *Mediodactylus* tak byla v souladu s dřívější analýzou alozymových dat (Macey et al. 2000). Naše práce potvrdila oprávněnost rodového statutu podrodu *Mediodactylus*.

V rámci vlastního rodu *Cyrtopodion sensu stricto* se podařilo podpořit monofylii jednotlivých skupin druhů dle Andersona (1999) a s výjimkou podrodu *Cyrtopodion* také monofylii jednotlivých podrodů uvažovaných v práci Szczerbak a Golubev (1986).

Nejednoznačné výsledky analýzy vzhledem k pozici jednotlivých forem zahrnutých do skupiny *agamuroides* naznačily, že se zde patrně jedná o komplex několika druhů. Použití sekvencí mitochondriálních genů se ukázalo jako dostačující k odhalení fylogenetických vztahů uvnitř jednotlivých linií, nicméně pro získání celkového obrazu příbuznosti mezi liniemi tomu tak již nebylo. Bauer et al. (2013) ve své revidující a druhově rozšiřující studii použili pro svou analýzu geny nukleární a podpořili naše výsledky, podařilo se jim však také potvrdit monofylii všech tří dřívějších podrodů rodu *Cyrtopodion* (*Cyrtopodion*, *Mediodactylus* a *Tenuidactylus*) a navrhují jejich rodový status.

Fylogenetická pozice rodu *Agamura* zůstává nejasná, rod je však zřejmě blíže příbuzný studované skupině gekonů s výjimkou rodu *Mediodactylus*. Dříve předpokládanou bližší fylogenetickou příbuznost s druhy ze skupiny *agamuroides* se nepodařilo ověřit. Nicméně ani použití nukleárních genů nebylo v tomto ohledu úspěšnější (Bauer et al. 2013). Stejně tak nepotvrzeno zůstává řazení dosud dobře podpořeného monofyletického rodu *Bunopus* do příbuzenstva gekonů rodu *Cyrtopodion sensu stricto*. Tuto skutečnost nepotvrdila ani analýza nukleárního *C-mos* genu (Han et al. 2004), použitím většího počtu jaderných genů však Bauer et al. (2013) podpořili umístění rodu *Bunopus* do blízkosti rodu *Agamura*. Naše výsledky nicméně naznačily, že široce rozšířený druh *Bunopus tuberculatus* může být parafyletický vzhledem k druhu *Bunopus crassicauda*.

V druhé kapitole disertační práce jsme provedli fylogenetickou analýzu s využitím sekvencí stejných genů jako v předchozí práci zaměřené zejména na rod *Cyrtopodion* s cílem osvětlit fylogenetickou pozici gekonů rodu *Carinatogekko*. Výsledky prokázaly zařazení rodu *Carinatogekko* do rodu *Mediodactylus* a potvrdily tak hypotézu, kterou ve své práci nastínili Golubev a Szczerbak (1981). Rod *Carinatogekko* tak bylo možné synonymizovat s rodem *Mediodactylus*, kam tito gekoni spadají také na základě své vnější morfologie. Pro rod *Mediodactylus* je charakteristická synapomorfie určující umístění a počet ocasních tuberkulů, které v počtu šesti na každém segmentu netvoří jejich terminální linii, ale jsou umístěny uprostřed těchto segmentů (podle Anderson 1999). Tento znak sdílejí i zástupci rodu *Carinatogekko*. Typickou výraznou kýlnatost prakticky všech šupin těla těchto gekonů lze také chápat jako pouhé rozšíření jistého evolučního trendu charakteristického pro celý rod *Mediodactylus*.

Na základě podrobného rozboru klíčových znaků folidózy definujících oba druhy (*Mediodactylus aspratilis* a *Mediodactylus heteropholis*) nebylo možné jednoznačně druhově určit nám dostupné jedince, tito byli proto v naší práci původně označeni jako *Carinatogekko* cf. *heteropholis*. Ani recentní popis (Torki 2011) morfologicky velmi podobného druhu

*Mediodactylus stevenandersoni* nám neumožnil dostupné jedince přesně identifikovat. Vzhledem k tomu, že klíčové znaky určující jednotlivé druhy byly stanoveny na základě studia velmi malého počtu jedinců, není možné s určitostí vyloučit, že se v případě druhů *M. aspratilis*, *M. heteropholis* a *M. stevenandersoni* nejedná o jeden druh. Analýza sekvenčních dat, především typového materiálu nebo materiálu z oblastí typových lokalit, která by v tomto případě mohla být nápomocná, však není dosud k dispozici.

Ve třetí publikaci zařazené do disertační práce jsme se pokusili poukázat na důležitost náležitého komparativního mezidruhového srovnání při popisech nových druhů pouze na základě vnější morfologie. Masroor (2009) popsal v rodě *Cyrtopodion* na základě morfologických znaků nový arboreální druh z jižního Pákistánu. Tento popis však zcela korespondoval s přejatou definicí rodu *Mediodactylus*, jak ji uvádí Anderson (1999). Nový druh *Cyrtopodion dehakroense* také sdílel předpokládanou synapomorfii rodu, definovanou počtem a umístěním ocasních tuberkulů na jednotlivých segmentech ocasu. Pečlivý rozbor dalších morfologických a morfometrických znaků ukázal, že popisovaný druh je jednoznačně zástupcem rodu *Mediodactylus*, se kterým jej pojí i podobná ekologie. Arborealita tohoto druhu je totiž relativně častá u zástupců rodu *Mediodactylus*, není však vůbec typická pro gekony rodu *Cyrtopodion*. Zjevná podobnost nově popsaného druhu s také arboreálním druhem *Mediodactylus sagittifer* z iránského Balúčistánu nás vedla k důkladnému srovnání těchto dvou druhů. Na základě dostupných údajů pak nebylo možné vyloučit, že se zde jedná o zástupce jediného druhu *M. sagittifer*. Velká vzdálenost typových lokalit obou forem však vyžaduje pro definitivní rozhodnutí o druhové příslušnosti zevrubnější studii, nejlépe doplněnou analýzou molekulárních dat.

Čtvrtá kapitola ve formě rukopisu shrnuje výsledky studie zaměřené na objasnění vzájemného vztahu mezi dvěma morfologicky odlišnými poddruhy gekona druhu *Bunopus spatalurus*. Fylogenetická analýza částečných sekvencí mitochondriálního genu pro 12S rRNA odhalila značnou odlišnost obou poddruhů s genetickými vzdálenostmi na úrovni dobře oddělených druhů. Výsledky podpořila i analýza haplotypů jaderného *C-mos* genu vzhledem k absenci sdílených haplotypů. V práci proto navrhuje povýšit poddruh *B. s. hajarensis* na druh *Bunopus hajarensis*.

Doplňující analýza modelování ekologických nik s vhodnými klimatickými podmínkami pro výskyt druhů *B. hajarensis* a *B. spatalurus* ukázala, že ačkoli se niky obou druhů signifikantně liší, je jejich podobnost značná. Oba druhy vyžadují relativně chladnější a vlhčí klima, což může být důvodem jejich recentního výskytu v relativně izolovaných horských oblastech a jejich absencí v pouštních aridních nížinách. Modely distribuce druhů



sice naznačily možnost většího rozšíření v době posledního maximálního zalednění než je recentní, ovšem i tehdy zřejmě existovalo v oblasti nynějšího centrálního Ománu území s nevyhovujícími klimatickými podmínkami, které tak pravděpodobně přispělo k prostorovému oddělení obou druhů.

## Závěry

Poznání fylogeneze skupiny „nahoprstých“ gekonů představuje jeden z mnoha dílčích cílů studia evoluce fauny Mediteránu a Palearktu vůbec. Tato disertační práce ukázala, že diverzifikovaný a druhově velmi bohatý rod *Cyrtopodion sensu lato* není monofyletický. Byla potvrzena odlišnost monofyletické linie dřívějšího podrodu *Mediodactylus* a tento byl povýšen na úroveň rodu. Málo známý a enigmatický rod *Carinatogeko* byl synonymizován s rodem *Mediodactylus* a byla diskutována validita druhů dříve řazených do rodu *Carinatogeko*. Význam důsledné komparativní analýzy při popisu nových druhů pouze na základě morfologických znaků byl demonstrován na případu popisu nového druhu z Pákistánu. Fylogenetická analýza sekvencí spolu s doplňujícím modelováním ekologických nik prokázala, že dva morfologicky odlišné poddruhy druhu *Bunopus spatulurus* jsou dobře definovanými druhy. Práce zároveň poukázala na důležitost analýzy molekulárních znaků vedle klasicky používaných znaků morfologických. Významnost použití molekulárních dat bude při poznávání druhové diverzity jistě stále patrnější, klíčovým prvkem pak bude zřejmě i nadále dostupnost vhodného materiálu pro studie tohoto typu.

## Použitá literatura

- Anderson S.C. (1999) *The Lizards of Iran*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca, New York, USA, 442 pp.
- Bauer A.M., Masroor R., Titus-Mcquillan J., Heinicke M.P., Daza J.D., Jackman T.R. (2013) A preliminary phylogeny of the Palearctic naked-toed gekkos (Reptilia: Squamata: Gekkonidae) with taxonomic implications. *Zootaxa* 3599: 301-324.
- Golubev M.L., Szczerbak N.N. (1981) *Carinatogeko* gen. n. (Reptilia, Gekkonidae) – Novyj rod gekkonovykh jashcheric iz jugo-zapadnoj Asii. *Vestnik Zoologii* 1981(5): 34-41. [in Russian]

- Han D., Zhou K., Bauer A.M. (2004) Phylogenetic relationships among gekkotan lizards inferred from *C-mos* nuclear DNA sequences and a new classification of the Gekkota. *Biological Journal of the Linnean Society* 83: 353-368.
- Khan M.S. (2003) Questions of generic designation of angular-toed geckos of Pakistan with descriptions of three new genera (Reptilia: Gekkonidae). *Journal of Natural History and Wildlife* 2: 1-9.
- Macey J.R., Ananjeva N.B., Wang Y., Papenfuss T.J. (2000) Phylogenetic relationships among Asian gekkonid lizards formerly of the genus *Cyrtodactylus* based on cladistic analyses of allozymic data: monophyly of *Cyrtopodion* and *Mediodactylus*. *Journal of Herpetology* 34: 258-265.
- Masroor R. (2009) A new arboreal species of *Cyrtopodion* (Squamata: Gekkonidae) from Deh Akro-II Wetlands Complex, Sindh, Pakistan. *Zootaxa* 2243: 57-67 [erratum in *Zootaxa* 2307: 68].
- Szczerbak N.N., Golubev M.L. (1986) *Gekkony fauny SSSR i sopredelnych stran*. Naukova Dumka, Kiev, 234 pp. [in Russian]
- Torki F. (2011) Description of a new species of *Carinatogekko* (Squamata: Gekkonidae) from Iran. *Salamandra* 47: 103-111.
- Uetz P., Hošek J. (eds.), The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org>, accessed May 1, 2014.

## Introduction

This Ph.D. thesis is focused on exploring the phylogenetic relationships of the species-rich genus *Cyrtopodion sensu lato* (family Gekkonidae) and several potentially closely related genera from the group of Palearctic, so-called “naked-toed” geckos of the Mediterranean and adjacent regions. These geckos lack adhesive lamellas on their toes and represent a very important part of the nocturnal herpetofauna in their distribution areas. Members of this group can be found in areas from the Mediterranean, across the Near East and southeast Asia up to north India and the foot of the Himalayan mountains, in the north they live up to Middle Asia. The vast majority of these species are well adapted to life in arid areas. Individuals differ not only in morphology but also in their preference for certain biotopes (rocks, stones, sand, loess or trees), with some species even living syntropically (e.g. Anderson 1999).

The phylogenetic relationships inside the genus *Cyrtopodion* and also of the whole group were until recently basically unknown. The understanding of relationships inside this group was based only on the comparison of the morphology and distribution of individual taxa without the support of phylogenetic analyses. The taxonomy of this group also suffered from a lack of knowledge of the phylogenetic relationships and so remains complicated and unstable. The genus *Cyrtopodion sensu lato* earlier included almost 40 species (e.g. list of species in Uetz and Hošek 2014). Szczerbak and Golubev (1986) presented a possible scenario for the phylogeny inside the genus. In their publication they considered the genus *Cyrtopodion* to include the subgenera *Cyrtopodion*, *Mediodactylus* and *Tenuidactylus*. Part of the species from the Tibet-Himalayan region was not however incorporated into any of these subgenera. Despite this, after previous nomenclatural efforts, this scenario finally became fully established and accepted for approximately the next two decades.

Another important breakthrough in the view of the phylogeny of the *Cyrtopodion* genus came from the publication of Anderson (1999). The author did not distinguish subgenera but four, not necessarily monophyletic, but morphologically well differentiated groups of species. Possible synapomorphies were later attributed to each of these groups (*agamuroides*, *caspium*, *kotschyi* and *scabrum*).

Khan (2003) tried to resolve the inconsistencies present due to the inclusion of species of the Tibet-Himalayan region by establishing the new genera *Altigekko*, *Indogekko* and *Siwaligekko*, particularly in connection with the uncertain positions of the many newly described species from this area. The contribution to the clarity of the entire diversity of the genus was however only limited due to the lack of supporting phylogenetic analysis.

Specific differences between the species listed in the subgenus of *Mediodactylus* (corresponding to the *kotschy* group based on Anderson 1999) were suggested by the phylogenetic analysis of allozyme data (Macey et al. 2000). Studied species of this subgenus created an independent group separated from other members of the *Cyrtopodion* genus. Therefore the authors suggested moving the subgenus *Mediodactylus* up to the genus level. This taxonomical change was however not generally accepted.

The well-defined genus *Bunopus*, with four members recently listed, and the monotypic genus *Agamura*, were considered to be phylogenetically closely related to the geckos from the genus *Cyrtopodion* (e.g. Szczerbak and Golubev 1986 and Anderson 1999). Clear identification of the phylogenetic relationships of all the mentioned genera based on analysis of sequences represents the content of the first chapter of this thesis.

The genus *Carinatogecko* was established by Golubev and Szczerbak (1981) and consists of two species endemic for areas at the foot of the Zagros Mountains in Iraq and Iran. The same article however presented the genus *Carinatogecko* at the sister position to the species *Mediodactylus heterocercus*, earlier *Cyrtopodion heterocercum*, based on morphological characteristics. The genus *Mediodactylus* as recognized in the present thus becomes paraphyletic. The clarification of the phylogenetic position of the genus *Carinatogecko*, again based on analysis of sequences, is the topic of the second chapter of this thesis.

The third chapter of this thesis is based on the publication focused on the genus assignment and species validity of an arboreal species from southern Pakistan from the genus *Cyrtopodion*, as described by Masroor (2009).

Fourth chapter of the thesis, which is a manuscript in preparation, is focused on taxonomy and biogeography of the species *Bunopus spatulurus* from the southern Arabian Peninsula. Currently, two morphologically distinct subspecies are recognized in this species with disjunctive distribution. Based on phylogenetic analysis of sequences, the study is attempting to uncover relationship between the two subspecies. Ecological analysis of suitable climatic conditions for the distribution of these forms at present and also during the period of the last glacial maximum is discussed with the results of phylogenetic analysis.

## **Aims of the study**

The aim of this thesis is to shed light onto the phylogenetic relationships of the possibly closely related species of genera *Agamura*, *Bunopus*, *Carinatogekko* and especially inside the species-rich genus *Cyrtopodion*. It was important to test the newly obtained data from phylogenetic approaches which was omitted from the studied group of “naked-toed” geckos. Another important aim is to explore the monophyly of the morphologically diversified groups of geckos (*agamuroides*, *caspium*, *kotschyi* and *scabrum*) based on Anderson (1999) and subgenera *Cyrtopodion*, *Mediodactylus* and *Tenuidactylus* of the genus *Cyrtopodion* as described by Szczerbak and Golubev (1986) and to compare the findings especially with the ecological diversity of the geckos in interest.

## **Material and methods**

Most of the material for the whole study came from the extensive collection of the Faculty of Science, Charles University in Prague, containing many unique specimens of geckos from the group of interest. The collection was used not only for DNA samples but also to gather morphological characteristics traditionally used in the taxonomy of lizards. Phylogenetic analyses of sequence data were performed based on partial sequences of mitochondrial genes for small ribosomal compartment (12S rRNA) and protein coding sequences of cytochrome *b*. Both genes are traditionally used for phylogenetic studies in lizards and in reptiles in general. Sequence data were subsequently analysed using classical phylogenetic and Bayesian approaches. For the purposes of the fourth chapter, the nuclear *C-mos* gene for haplotype analysis was sequenced. The methods of environmental niche modelling were also applied on the taxa from this study.

## **Results and discussion**

Phylogenetic analysis of sequence data from the first chapter of the thesis importantly uncovered the fact that the genus *Cyrtopodion sensu lato* is not monophyletic. Geckos from the genera *Agamura* and *Bunopus* were discovered to be related closer to the studied members of the groups *agamuroides*, *caspium* and *scabrum*, than the *kotschyi* group which corresponds to the subgenus *Mediodactylus*. The difference of the species from *Mediodactylus* subgenus

then correlates with the allozyme analysis (Macey et al. 2000). Our article thus confirms the legitimacy of the generic status of *Mediodactylus*.

Inside the genus *Cyrtopodion sensu stricto* we succeeded in supporting the monophyly of the individual groups as described by Anderson (1999) and, with the exception of the subgenus *Cyrtopodion*, we also confirmed the monophyly of the subgenera suggested by Szczerbak and Golubev (1986). With regard to the position of particular lineages included in the group *agamuroides*, the inconsistent results suggest that there is most likely a species complex. Using mitochondrial gene sequences proved sufficient to uncover the phylogenetic relationships inside individual lineages, however it was not strong enough to obtain the whole view of the relationships between the lineages. Bauer et al. (2013) in their revising and expanding study used for their analysis nuclear genes and supported our results, they also confirmed the monophyly of the three former subgenera of the genus *Cyrtopodion* (*Cyrtopodion*, *Mediodactylus* and *Tenuidactylus*) and suggested their generic status.

The phylogenetic position of the genus *Agamura* remains unresolved. The genus is however most likely closely related to the geckos of the studied group, with the exception of the geckos from genus *Mediodactylus*. The previously suggested close phylogenetic relationship with species from the *agamuroides* group was not confirmed, not even the analysis of the nuclear genes was successful in this respect (Bauer et al. 2013). Similarly, the position of the well supported monophyletic genus *Bunopus* in the respect of the close relationship to *Cyrtopodion sensu stricto* continues to be unresolved. The relationship was not supported even by analysis of the nuclear *C-mos* gene (Han et al. 2004). By analysing a higher number of the nuclear genes Bauer et al. (2013) later supported the close phylogenetic position of the genera *Bunopus* and *Agamura*. Our results however show that the widespread *Bunopus tuberculatus* can be paraphyletic in the respect of *Bunopus crassicauda*.

In the second chapter of the thesis we analysed the same genes as previously described to resolve the phylogenetic position of geckos from the genus *Carinatogekko*. Our results suggest the insertion of the genus *Carinatogekko* inside the genus *Mediodactylus* and therefore support the earlier view suggested by Golubev and Szczerbak (1981). The genus *Carinatogekko* was thus synonymized with the genus *Mediodactylus*, supported also by the morphological characteristics of these geckos. The geckos from the genus *Mediodactylus* share the synapomorphy of the position and number of the tail tubercles. The tubercles in groups of six on each segment of the tail do not form a terminal line but are spread in the middle of the segments (Anderson 1999). This characteristic is common also for the geckos of the *Carinatogekko* genus. The typical keel shape of basically all scales on the body of these

geckos could be regarded as an extension of the evolutionary trend characteristic for the whole genus *Mediodactylus*.

Based on the detailed analysis of the key marks on the pholidosis which define the species *Mediodactylus aspratilis* and *Mediodactylus heteropholis* we were not able to unequivocally identify the specimens of these two species in our collection. In our original article these geckos were therefore assigned as *Carinatogekko cf. heteropholis*. Not even the recent description (Torki 2011) of the morphologically very similar species *Mediodactylus stevenandersoni* helped us to identify the species in our material. Taking into account that the key characteristics for identification of the particular species were derived from a very small number of specimens, we cannot exclude the possibility that the currently recognized species *M. aspratilis*, *M. heteropholis* and *M. stevenandersoni* are not in fact one species. Unfortunately the analysis of sequences which would be very helpful in this case, especially if performed from type material or material from type localities, is not available.

In the third article included in this thesis we attempt to convey the importance of detailed interspecific comparison when species are described based only on morphological characteristics. Masroor (2009) described a new arboreal species of the genus *Cyrtopodion* from southern Pakistan. This description however corresponds exactly to the definition of the genus *Mediodactylus* based on Anderson (1999). New species *Cyrtopodion dehakroense* also shares the suggested synapomorphy of the whole genus *Mediodactylus* – the number and position of the tubercles of the tale segments. Detailed analysis of other morphological and morphometric characteristics proved that the newly described species is unequivocally a member of the genus *Mediodactylus* sharing even the ecological characteristics of the geckos from this genus. Arboreality of this species is rather common in members of genus *Mediodactylus*, but it is never present in the genus *Cyrtopodion*. The obvious similarity of the newly described species with *Mediodactylus sagittifer* from Baluchistan, Iran, led us to make a detailed comparison of these two species. Based on this comparison we can conclude that with high probability the newly described *C. dehakroense* may in fact be *M. sagittifer*. The large geographical distance of the type localities however do not allow the unequivocal synonymization of these two species and requires further analyses especially with the inclusion of molecular techniques.

The fourth chapter represents the study, which is attempting to clarify the relationship between two morphologically distinct subspecies of the gecko *Bunopus spatulurus*. Phylogenetic analysis of partial sequences of mitochondrial 12S rRNA gene revealed significant differences between both subspecies with genetic distances at level of separated

species. The results were also supported by haplotype analysis of nuclear *C-mos* gene due to the absence of shared haplotypes. Therefore, we recommend elevating the subspecies *B. s. hajarensis* at species *Bunopus hajarensis*.

Additional ecological niches modelling focused on suitable climatic conditions for the distribution of species *B. hajarensis* (distributed mainly in Hajar Mountains in Oman) and *B. spatalurus* (distributed in Dhofar Mountains and in Yemen) suggest that although the niches of both species are significantly different, their similarity is quite high. Both species require relatively cooler and wet climate, which may be reason for their recent distribution in isolated mountain ranges and their absence in arid desert lowlands between them. Species distribution models indicated at the time of the last glacial maximum possibility of more widespread distribution ranges than at present. Nevertheless, then could be in current central Oman unsuitable climatic conditions, which probably contributed to larger spatial separation of these species.

## Conclusions

Understanding the phylogenetic relationships of the “naked-toed” geckos is one of the many aims in the study of the evolution of fauna in the Mediterranean and the whole Palearctic area. This Ph.D. thesis reveals that the species rich and highly diversified genus *Cyrtopodion sensu lato* is in fact not monophyletic. The morphological difference of the subgenus *Mediodactylus* has been confirmed and the subgenus has been reclassified as an independent genus. The little-known endemic genus *Carinatogekko* has been synonymized with the genus *Mediodactylus* and the validity of the species previously included in the genus *Carinatogekko* has been questioned. The importance of interspecific comparison when describing species based on morphology has been discussed in detail using the description of a new species from Pakistan as an example. Phylogenetic analysis of sequences together with additional ecological niche modelling showed that morphologically distinct subspecies of *Bunopus spatalurus* are well-defined species. Although the accessibility of sample material, especially from the areas studied here, will still remain a key factor, the inclusion of molecular analyses for exploring species diversity will be essential for future studies.



## References

- Anderson S.C. (1999) *The Lizards of Iran*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca, New York, USA, 442 pp.
- Bauer A.M., Masroor R., Titus-Mcquillan J., Heinicke M.P., Daza J.D., Jackman T.R. (2013) A preliminary phylogeny of the Palearctic naked-toed geckos (Reptilia: Squamata: Gekkonidae) with taxonomic implications. *Zootaxa* 3599: 301-324.
- Golubev M.L., Szczerbak N.N. (1981) *Carinatogekko* gen. n. (Reptilia, Gekkonidae) – Novyj rod gekkonovykh jashcheric iz jugo-zapadnoj Asii. *Vestnik Zoologii* 1981(5): 34-41. [in Russian]
- Han D., Zhou K., Bauer A.M. (2004) Phylogenetic relationships among gekkotan lizards inferred from *C-mos* nuclear DNA sequences and a new classification of the Gekkota. *Biological Journal of the Linnean Society* 83: 353-368.
- Khan M.S. (2003) Questions of generic designation of angular-toed geckos of Pakistan with descriptions of three new genera (Reptilia: Gekkonidae). *Journal of Natural History and Wildlife* 2: 1-9.
- Macey J.R., Ananjeva N.B., Wang Y., Papenfuss T.J. (2000) Phylogenetic relationships among Asian gekkonid lizards formerly of the genus *Cyrtodactylus* based on cladistic analyses of allozymic data: monophyly of *Cyrtopodion* and *Mediodactylus*. *Journal of Herpetology* 34: 258-265.
- Masroor R. (2009) A new arboreal species of *Cyrtopodion* (Squamata: Gekkonidae) from Deh Akro-II Wetlands Complex, Sindh, Pakistan. *Zootaxa* 2243: 57-67 [erratum in *Zootaxa* 2307: 68].
- Szczerbak N.N., Golubev M.L. (1986) *Gekkony fauny SSSR i sopredelnych stran*. Naukova Dumka, Kiev, 234 pp. [in Russian]
- Torki F. (2011) Description of a new species of *Carinatogekko* (Squamata: Gekkonidae) from Iran. *Salamandra* 47: 103-111.
- Uetz P., Hošek J. (eds.), The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org>, accessed May 1, 2014.

## **Životopis / Curriculum Vitae**

**Narozen / Born** 13. 6. 1980 v Hranicích, Československo / *June 13, 1980; Hranice, Czechoslovakia*

### **Vzdělání / Education**

od / *since* 2005 postgraduální studium, katedra ekologie, Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta / *Ph.D. study, Department of Ecology, Charles University in Prague, Faculty of Science*

2000 - 2005 magisterské studium, katedra zoologie, Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta / *MSc. study, Department of Zoology, Charles University in Prague, Faculty of Science*

### **Pedagogická činnost / Teaching**

2010 Účast na praktiku „Terénní cvičení z ekologie“ / *Participation in the „Field course in ecology“*

### **Výzkumné cesty / Research Expeditions**

2002 - Írán / *Iran*

2006 - Jordánsko / *Jordan*

2007 - Maroko / *Morocco*

2007 - Jemen / *Yemen*

### **Granty / Grants**

2007 - 2009 hlavní řešitel grantového projektu GAUK (Grantová agentura Univerzity Karlovy) č. 65107 / *principal investigator of the project GAUK (Grant Agency of Charles University) No. 65107*

### **Členství ve vědeckých organizacích / Membership in scientific societies**

Česká herpetologická společnost / *Czech Herpetological Society*

### **Publikace / Publications**

Červenka J., Kratochvíl L. (2010) Generic reassignment and validity of the recently described species *Cyrtopodion dehakroense*. *Herpetology Notes* 3: 135-137.

Červenka J., Frynta D., Kratochvíl L. (2010) Phylogenetic relationships of the gecko genus *Carinatogecko* (Reptilia: Gekkonidae). *Zootaxa* 2636: 56-94.

Červenka J., Kratochvíl L., Frynta D. (2008) Phylogeny and taxonomy of the Middle Eastern geckos of the genus *Cyrtopodion* and their selected relatives. *Zootaxa* 1931: 25-36.

de Pous P., Paschou N., Červenka J., Kratochvíl L., Mazuch T., Šmíd J., Machado L., Simó-Riudalbas M., Sanuy D., Carranza S. (2014) Revisiting the taxonomy and biogeography of *Bunopus spatalurus* (Reptilia; Gekkonidae) from the Arabian Peninsula. *Manuscript in preparation*.

### **Vybrané konferenční příspěvky / Selected conference presentations**

Červenka J., Kratochvíl L., Frynta D. (2007) Phylogeny and ecomorphology of the gecko genus *Cyrtopodion* and its relatives. First Mediterranean Herpetological Congress, Marrakech, Maroko / *Morocco*.

### **Seznam publikací / Selected publications**

**Červenka J., Kratochvíl L., Frynta D. (2008) Phylogeny and taxonomy of the Middle Eastern geckos of the genus *Cyrtopodion* and their selected relatives.**

*Zootaxa* 1931: 25-36.

Representatives of the gekkonid genus *Cyrtopodion* and related genera form a highly diversified group of Palearctic geckos, whose taxonomy is still unstable and phylogeny little known. This study tries to improve this situation by attempting to reconstruct the phylogeny based on two molecular markers (partial sequences of mitochondrial cytochrome *b* and 12S rRNA genes) in the Middle Eastern species of the genus *Cyrtopodion* and members of the genera *Agamura* and *Bunopus*. The results support the monophyly of the species groups within the genus *Cyrtopodion* as defined by Anderson (1999), but relationships between these groups remain largely unresolved. The *kotschyi* group (= subgenus *Mediodactylus*) is not closely related to the rest of the genus *Cyrtopodion* and should be treated as an autonomous

genus. *Agamura persica* forms a monophyletic group with *agamuroides* + *caspium* + *scabrum* species groups. The genus *Bunopus* does not seem to be closely related to this clade. We briefly discuss the implications of our findings and stress the importance of further molecular studies in Palearctic geckos.

**Červenka J., Frynta D., Kratochvíl L. (2010) Phylogenetic relationships of the gecko genus *Carinatogekko* (Reptilia: Gekkonidae).**

*Zootaxa* 2636: 56-94.

The gecko genus *Carinatogekko* comprises two species endemic to the foothills of the Zagros Mountains, in Iran and Iraq. Both species are poorly known and to date they are known only from very few records. The phylogenetic affiliation of the genus has been only hypothesized. The aim of this study was to clarify the phylogenetic relationships of the genus by analyzing partial sequences of the mitochondrial 12S rRNA and cytochrome *b* genes. All phylogenetic analyses performed support placing the genus *Carinatogekko* within the genus *Mediodactylus*. Taxonomic relevance of both species of the genus *Carinatogekko* based on morphological characters is discussed along with nomenclatural implications of our findings.

**Červenka J., Kratochvíl L. (2010) Generic reassignment and validity of the recently described species *Cyrtopodion dehakroense*.**

*Herpetology Notes* 3: 135-137.

The new arboreal gecko species from Pakistan, *Cyrtopodion dehakroense* Masroor, 2009, was recently described. Here we document that based on external morphology (meristic and measurable morphological characters), this form is a member of the genus *Mediodactylus*. Moreover, the newly described species is morphologically and ecologically very similar to *Mediodactylus sagittifer*, which suggests that both forms could be conspecific.

**de Pous P., Paschou N., Červenka J., Kratochvíl L., Mazuch T., Šmíd J., Machado L., Simó-Riudalbas M., Sanuy D., Carranza S. (2014) Revisiting the taxonomy and biogeography of *Bunopus spatalurus* (Reptilia; Gekkonidae) from the Arabian Peninsula.**

*manuscript in preparation*

The southern Arabian Peninsula provides an interesting area to study historical biogeography due to high reptile species richness and endemism, and interesting geological history of this region; however, studies on biodiversity patterns of this area are still rare. A notable pattern, yet not fully understood, is the divergence in reptile fauna between north (Hajar Mountains) and south (Dhofar Mountains) Oman. In this study, we use a molecular phylogenetic analysis using partial sequences of the *12S* mtDNA, a haplotype network of the nuclear *cmos* gene, and species distribution modelling (SDM) for the present and past (Last Glacial Maximum) climatic conditions, to uncover the taxonomy and biogeography of the gecko *Bunopus spatalurus*. This species contains two subspecies (*B. spatalurus spatalurus* and *B. s. hajarensis*) distributed in southern Arabia. The results of the phylogenetic and networks analyses show that the two subspecies form two well-supported reciprocally monophyletic groups that do not share any alleles in the *cmos* nuclear gene. The level of genetic divergence in the *12S* between *B. s. spatalurus* and *B. s. hajarensis* is very high ( $13 \pm 2\%$ ). The level of genetic variability within *B. s. hajarensis* is also very high and contains three clades with geographical structure across the Hajar Mountains. Due to morphological differences, high level of genetic differentiation in the *12S* mitochondrial gene, and the results of the phylogenetic and *cmos* haplotype network analysis, we elevate *Bunopus spatalurus hajarensis* to the species level, *Bunopus hajarensis* **stat. nov.** Arnold, 1980. The niche overlap analysis reveals significant differences between niches of the species, but at the same time it shows their higher than random similarity. The SDM indicates a large potential distribution for *B. hajarensis* extending well beyond the current distribution range and shows that the range of *B. spatalurus* has climatic conditions suitable for *B. hajarensis* as well. However, at the same time, the SDMs indicate a gap with unsuitable climatic conditions between ranges of both species and suggest that this gap was already present during the Last Glacial Maximum. This longer-lasting gap between areas with suitable climatic conditions could be the cause of separation ranges of *B. spatalurus* and *B. hajarensis*.