

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra zoologie a rybářství**

**Nové poznatky o růstu, morfologii a rozšíření plazů a  
oobjívelníků a jejich parazitů**

.....  
doktorská disertační práce

(soubor vědeckých prací s komentářem)

Autor: **Ing. Daniel Kolečka**

Školitel: **prof. Ing. Iva Langrová, CSc.**

**Praha 2022**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem disertační práci " Na pokraji vyhynutí a na okraji zájmu: nové poznatky o morfologii a rozšíření plazů a obojživelníků" vypracoval samostatně pod vedením prof. Ing. Ivy Langrové, CSc. a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou v práci řádně citovány a uvedeny v seznamu literatury. Jako autor uvedené disertační práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Podpis

## **Poděkování**

Na tomto místě bych rád využil možnosti poděkovat lidem, kteří mě přivedli k myšlence studovat herpetofaunu. Především Mgr. Danielu Jablonski, PhD, který mě do světa herpetologie uvedl a jeho přátelství si velmi vážím. Prof. Ing. Ivě Langrové, CSc. za vedení a podporu během studia. Lucii Malé za všechny průšvihy, které si s námi musela vytrpět. Veronice, která je mi životní oporou, parťákem na cestách a umí formátovat obsah. Všem kolegům z katedry, kteří se se mnou podělili o své hodnotné zkušenosti a všem českým i zahraničním kamarádům, se kterými jsem měl tu čest pobývat na nejkrásnějších místech světa a pátrat s nimi po plazech a obojživelnících.

# Obsah

<b>1 ÚVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2 LITERÁRNÍ PŘEHLED</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1 OHROŽENÍ PLAZI A OBOJŽIVELNÍCI</b> .....	<b>2</b>
2.1.1 Ztráta habitatu .....	3
2.1.2 Znečištění .....	4
2.1.3 Globální změna klimatu .....	4
2.1.4 Obchod s volně žijícími druhy (wildlife trade) .....	4
2.1.5 Globální šíření onemocnění a parazitóz .....	6
2.1.5.1 Plísňová onemocnění .....	6
2.1.5.2 Ranaviry .....	6
2.1.5.3 Perkinsea .....	7
2.1.5.4 Parazitózy .....	7
2.1.6 Nepůvodní (invazní) druhy .....	7
2.1.7 Dopravní infrastruktura .....	8
<b>2.2 MORFOLOGIE</b> .....	<b>9</b>
2.2.1 Malformace obojživelníků .....	9
2.2.2 Malformace plazů .....	11
2.2.3 Růstové ploténky a ukončený/neukončený růst plazů .....	13
<b>2.3 DISTRIBUCE HERPETOFAUNY</b> .....	<b>14</b>
2.3.1 Balkánský poloostrov .....	15
2.3.2 Maroko .....	17
<b>2.4 PARAZITOFAUNA PLAZŮ A OBOJŽIVELNÍKŮ</b> .....	<b>20</b>
2.4.1 Mikrosporidie (Microsporidia) .....	20
2.4.2 Výtrusovci (Apicomplexa) .....	20
2.4.3 Tasemnice (Cestoda) .....	21
2.4.4 Motolice (Trematoda) .....	22
2.4.5 Hlístice (Nematoda) .....	23
2.4.6 Vrtejši (Acanthocephala) .....	24
2.4.7 Pijavky (Hirudinae) .....	24
2.4.8 Roztoči (Acari) .....	25
<b>3 HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>27</b>
<b>4 PUBLIKOVANÉ PRÁCE</b> .....	<b>28</b>
<b>5 DISKUZE</b> .....	<b>101</b>
<b>5.1 MORFOLOGIE A MALFORMACE U OBOJŽIVELNÍKŮ</b> .....	<b>101</b>
<b>5.2 MALFORMACE A RŮST U PLAZŮ</b> .....	<b>102</b>
5.2.1 Malformace u plazů .....	102
5.2.2 Růst plazů .....	103
<b>5.3 VYUŽITÍ MOLEKULÁRNÍ GENETIKY V ANALÝZE POTRAVNÍCH PREFERENCÍ</b> .....	<b>105</b>
<b>5.4 NOVÁ DISTRIBUČNÍ DATA HERPETOFAUNY EVROPY A SEVERNÍ AFRIKY</b> .....	<b>106</b>
<b>5.5 NOVÁ DISTRIBUČNÍ DATA PARAZITOFAUNY PLAZŮ</b> .....	<b>107</b>
<b>6 ZÁVĚRY</b> .....	<b>108</b>
<b>7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>109</b>



# 1 Úvod

Plazi a obojživelníci mají na prahu 21. století status dvou nejohroženějších skupin obratlovců. Jejich role pro terestrické i akvatické ekosystémy je však zásadní. Hlavními příčinami ohrožení jsou především ztráta biotopů, znečištění životního prostředí, globální změna klimatu, obchod s volně žijícími druhy, onemocnění a parazitózy, zavlečení nepůvodních druhů nebo rozrůstající se dopravní infrastruktura. Tyto faktory mohou působit synergicky a mít pro populace plazů a obojživelníků katastrofální následky. Obě skupiny jsou si vývojově vzdálené, a přece u nich můžeme najít z hlediska ochrany určité podobné znaky. Často spolu sdílejí stejný habitat a významné zásahy je mohou poškodit společně. Dlouhou dobu byly tyto skupiny opomíjeny a patřičné pozornosti se jim začalo dostávat ve druhé polovině 20. století. Od té doby se naše znalosti plazů a obojživelníků významně prohloubily, ale stále je toho dozajista mnoho, co ještě nevíme. Zajímavým fenoménem mizejících populací obojživelníků jsou kupříkladu morfologické anomálie končetin a další malformace, o jejichž vzniku se můžeme často jen dohadovat. S malformacemi se můžeme setkat i u plazů, kde např. deformované ocasy mohou významným způsobem ovlivňovat jejich životní potřeby.

V očích veřejnosti jsou plazi a obojživelníci vnímáni jako něco nedůležitého, z čehož pramení celkový nezájem o tyto dvě skupiny. Herpetologie ani zdaleka nedosahuje takové popularity jako např. ornitologie. Hůře dostupné či ne tolik „senzační“ lokality bývají navštěvovány mnohem méně a pozornost profesionálů i amatérů je zaměřena především na místa, kde předpokládají zajímavá pozorování. I proto nám z mnoha míst chybí přesnější faunistická data.

K plazům a obojživelníkům patří i jejich paraziti. Pokud chceme o herpetofauně (v širším slova smyslu, tedy o obojživelnících i plazech) mluvit jako o „zanedbané“ skupině, o jejich parazitech to platí hned několikanásobně. Parazitologie jako vědní disciplína se tradičně zabývala především parazity člověka a hospodářských zvířat, přičemž ostatní skupiny zůstávaly opomenuty. Přitom poznání a pochopení vztahů mezi organismy a jejich parazity nám může napovědět mnoho o jejich biologii. Nové poznatky je možné využít v problematice komplexní ochrany těchto skupin.

## 2 Literární přehled

### 2.1 Ohrožení plazi a obojživelníci

Na světě v současnosti rozeznáváme 11690 druhů plazů (Reptile Database, 2022) a 8434 druhů obojživelníků (Amphibiaweb, 2022). Jejich druhová diverzita je tedy značná. Nicméně obě skupiny větší pozornosti odborníků (potažmo veřejnosti) dlouho unikaly. Poté, co začaly ve druhé polovině 20. století přicházet zprávy o alarmujícím stavu populací obojživelníků, se k těmto skupinám začala obracet pozornost ve větším měřítku. Veřejnost často vnímá plazy a obojživelníky v lepším případě jako zbytečné či obtěžující (Zim & Smith, 1956) či v horším případě jako odporné a nebezpečné (Staňková et al., 2021). Obě skupiny ale mají stěžejní roli v rámci ekosystémů, které obývají.

Obojživelníci jsou v současnosti nejohroženější skupinou obratlovců (IUCN, 2021). Ve druhé polovině 20. století jsme byli smutnými svědky vyhynutí tak zajímavých druhů, jako byla např. tlamorodka zázračná, jejíž poslední jedinec uhynul v chovu v roce 1983 (Tyler & Davies, 1985). Poklesům populací obojživelníků je přikládána větší pozornost od konce 80. let 20. století, kdy proběhl první světový kongres herpetologie (First World Congress for Herpetology). Klesajícím počtům obojživelníků nebyla zpočátku přikládána taková pozornost a příčiny byly vysvětlovány např. přirozenými fluktuacemi populací (Blaustein et al., 1994; Pechmann et al., 1991; Pechmann & Wilbur, 1994). Nicméně alarmující zprávy o významných populačních poklesech se objevovaly v průběhu 90. let i na přelomu tisíciletí čím dál častěji (např. Laurance et al., 1996; Pounds et al., 1997; Lips, 1998; Houlahan et al., 2000), čímž se většina odborníků začala utvrzovat v přesvědčení, že se nejedná o náhodné jevy. V roce 2004 vyšla zásadní studie přinášející potvrzení obav, že vyhynutím je ohrožená více než třetina všech dosud známých obojživelníků, téměř polovina druhů prochází populačními poklesy, a jejich populace klesají mnohem rychleji, než je tomu u ptáků či savců (Stuart et al., 2004).

Plazi mají oproti obojživelníků výhodu nezávislosti na akvatickém prostředí a např. i lepší odolnosti vůči vnějším faktorům díky pokožce kryté šupinami nebo odolnějším vápenitým vaječným obalům. Mnoho z nich dokáže překonávat značné vzdálenosti jak terestricky, tak i akvaticky (např. mořské želvy, Ernst & Barbour, 1989). Plazi však s obojživelníky často obývají stejné prostředí a jsou jeho degradací ohroženi v podobné míře (Gibbons et al., 2000). Poklesy populací plazů a obojživelníků mohou být provázány i ekologicky, kdy je

jeden druh potravně závislý na druhém a při poklesech početnosti populace kořisti klesá i početnost populace predátora (např. Shine, 1991). V ČR pak plazy nejvíce ohrožuje zcelování zemědělských pozemků v nepřírodně velké monokulturní plochy, intenzivní chemizace zemědělství, plošné strojové sečení luk, neprůchodnost krajiny, zarůstání údolí neofyty, které zastiňují vhodná stanoviště nebo změny vodního režimu v krajině (Moravec, 2015).

Shrnutí hlavních příčin ohrožení plazů a obojživelníků v globálním měřítku je stručně popsáno v následujících podkapitolách.

### **2.1.1 Ztráta habitatu**

Zatímco v roce 1945 bylo na planetě pouze 2,5 miliardy obyvatel, v současné době se světová populace přehoupla přes 7,7 miliard. Rostoucí trend je předpokládán i pro další desetiletí. V roce 2050 má světová populace přesáhnout 9,7 miliard a v roce 2100 dokonce 10,9 miliard obyvatel (United Nations, 2019). Vlivem globalizace navíc dochází ke změně stravovacích návyků a zvýšení průměrné roční spotřeby potravin, které je potřeba někde pěstovat či chovat. Předpokládá se, že do roku 2050 bude poptávka po produktech živočišné výroby až o 50 % vyšší než v současné době, kdy živočišná výroba (včetně svých zdrojů) zabírá 30 % plochy zemského povrchu a využívá 8 % světové spotřeby vody (FAO 2011). Mimo jiné je tento sektor také jedním z hlavních producentů skleníkových plynů (Foley et al., 2011; Gerber et al., 2013), což je jednou z příčin globální změny klimatu.

Až třetina druhů terestrických obratlovců je zkoncentrovaná do 25 center biodiverzity („biodiversity hotspots“). Z těchto oáz biodiverzity celosvětově zbývá zhruba třetina původní rozlohy, která činí přibližně 1 % zemské souše. Mnoho autorů proto považuje ztrátu vhodných stanovišť za hlavní příčinu poklesu populací plazů a obojživelníků (Alford & Richards, 1999; Brooks et al., 2002). Závislost na akvatickém prostředí (obojživelníci a někteří semiakvatictí plazi) a relativní neschopnost přesunu na jiné lokality, kdy některé druhy obojživelníků svá stanoviště takřka neopouštějí, je činí velmi zranitelnými (Gibbons et al., 2000). Jako příklad uveďme jedno z center biodiverzity, Madagaskar. Ten je významný vysokou mírou endemismu – až 98 % druhů obratlovců bychom nenalezli nikde jinde na světě (Langrand & Wilmé, 1997). Madagaskar ztratil mezi lety 1950-2000 podle odhadů 80 – 90 % původních lesů a zbylé lesní porosty jsou jen fragmenty bez migračních koridorů. To

ohrožuje tisíce endemických druhů, mezi nimi i množství plazů a obojživelníků (Andreone et al., 2005; Harper et al., 2007).

### **2.1.2 Znečištění**

Znečištění chemickými polutanty je významným faktorem ohrožujícím především obojživelníky, kteří jsou svým životním cyklem vázáni na akvatické prostředí, kde se množství polutantů soustřeďuje. Obojživelníci se svým životním podmínkám přizpůsobili propustnou pokožkou, která umožňuje dýchání, či vodu propustnými obaly, které chrání jejich vejce. To samozřejmě usnadňuje vnikání polutantů. Podle Global Amphibian Assesment a některých autorů je znečištění prostředí považováno za druhou největší hrozbu pro populace obojživelníků (Stuart et al., 2004; IUCN, 2021).

### **2.1.3 Globální změna klimatu**

Teplota na naší planetě stoupá. V porovnání s hodnotami před zhruba 120 lety je vyšší o 1,2 °C, počet chladných dnů v roce se snížil a naopak teplých dnů v roce zvýšil (WMO, 2021). Změna klimatu nutí druhy vyhledávat optimální podmínky pro život jinde a zejména pro druhy s nižší schopností disperze a překonávání bariér (přírodních i člověkem vytvořených) je tak faktorem přímo je ohrožujícím vyhynutím (Thomas et al., 2004). Některé druhy ektotermních zvířat jsou na změny teplot velmi citlivé (Huey et al., 2009). Dlouhodobé oteplování klimatu zároveň vytváří vhodné podmínky pro šíření různých onemocnění (Epstein et al., 1998). Pro populace obojživelníků je tento faktor významný zejména z hlediska vytvoření vhodných podmínek pro šíření chytridiomykózy (Pounds et al., 2006).

### **2.1.4 Obchod s volně žijícími druhy (wildlife trade)**

Ilegální obchod se zvířaty je jednou ze tří nejvýnosnějších ilegálních činností. Na pomyslném žebříčku se tyčí na třetím místě za ilegálním obchodem s drogami a se zbraněmi (Nellemann et al., 2016). Oblíbenost terarijních zvířat jako domácích mazlíčků je na vzestupu, plazi a obojživelníci jsou rovněž žádaným artiklem pro tradiční medicínu či přímou konzumaci. Někteří autoři, i vzhledem k současné situaci ohledně pandemie koronaviru Covid-19, jejíž původ je přisuzován právě obchodu se zvířaty, vyzývají ke zpřísnění pravidel obchodování s volně žijícími druhy (Borzeé et al., 2020). Obchod se zvířaty je regulován Úmluvou o mezinárodním obchodu s ohroženými druhy volně žijících

živočichů a planě rostoucích rostlin (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, zkráceně CITES; CITES, 2022). Neregulovaný obchod se zvířaty může významným způsobem ohrožovat původní herpetofaunu ilegálním odchytům jedinců. Jedním z problémů ochrany plazů a obojživelníků je v takovém případě relativní „nepružnost“ legislativního aparátu, kdy v případě popsání nového druhu trvá poměrně dlouho, než se mu dostane adekvátního ochranného statusu. Není výjimkou, že se v nabídkách prodejců objeví nově popsané druhy (často s velmi omezeným areálem rozšíření) dříve než na IUCN Red List (Altherr & Lameter, 2020).

Jako nám známý příklad vlivu obchodu se zvířaty na původní faunu z našeho území může sloužit severoamerická želva *Trachemys scripta* a její poddruhy. Želva nádherná se do českých zverimexů dostala již v 60. letech (Brejcha et al., 2009), záhy jako nechtěná opustila akvária svých majitelů a ocitla se v přírodě. Tam dokáže přežívat desítky let a původní příslušníky fauny omezuje predací, zabíráním vhodných míst ke slunění (v případě ektotermních druhů) či vyháněním z hnízd v případě vodních ptáků (Cadi & Joly, 2003; Pešat, 2008). Dnes je na našem území poměrně značně rozšířená a není problém se s ní setkat na mnoha lokalitách (Šandera, 2022). Předpokládá se, že kvůli „wildlife trade“ se globálně rozšířila i plísňová onemocnění postihující obojživelníky i plazy (Lötters et al., 2020) – viz dále. Stejně tak je obchod se zvířaty potenciálním prostředkem pro šíření parazitů (Rataj et al., 2011).

Někteří autoři považují obchod s volně žijícími druhy za zásadní faktor z hlediska jejich ochrany (Altherr & Lameter, 2020), nicméně je jistě dobré neopomínat fakt, že chov v zajetí pomohl některým druhům doslova „vstát z mrtvých“ – týká se to např. leguána modravého (*Cyclura lewisi*), jehož odhadovaná populace ve volné přírodě čítala začátkem tisíciletí 5-15 jedinců (Alberts, 2004), což z tohoto druhu učinilo jednoho z nejohroženějších plazů planety. Díky chovatelskému úsilí v záchranné stanici přímo na ostrově Gran Cayman a součinnosti zoologických zahrad bylo do nově vzniklých rezervací navraceno několik stovek jedinců a populace se začala opět rozrůstat. IUCN v roce 2012 přehodnotila status leguána modravého z „kriticky ohrožený“ (CR) na „ohrožený“ (EN) (Burton, 2012). Dalším takovým příkladem je atraktivní žába atelopus panamský (*Atelopus zeteki*). Ten je dnes v přírodě pravděpodobně vyhynulý a jako druh přežívá pouze v chovech v lidské péči (McCaffery et al., 2015). V plánu je jeho navrácení do přírody. Kvůli setrvávajícímu výskytu chytridiomykózy (viz další kapitola) v původních oblastech obývaných tímto druhem

k návratu zpět do přírody zatím nedošlo. Chovatelství tedy v podobných případech sehrává zásadní roli.

## **2.1.5 Globální šíření onemocnění a parazitóz**

### **2.1.5.1 Plísňová onemocnění**

Plísňová onemocnění představují významnou hrozbu pro globální biodiverzitu (Fisher et al., 2012). Obojživelníci a plazi jsou toho jasným důkazem. V roce 1998 byla prokázána souvislost mezi poklesy počtů žab a infekcí houbou chytridiomycetou (Berger et al., 1998). Ta byla o rok později popsána jako *Batrachochytrium dendrobatidis* (česky snad „chytrida žabí“ podle Jirků & Baláž, 2021) a jí způsobené onemocnění dostalo pojmenování chytridiomykóza (Longcore et al., 1999). Zanedlouho bylo zjištěno, že se jedná o globální hrozbu (Morehouse et al., 2003), která má na svědomí pravděpodobně desítky vyhubených druhů a u stovek dalších může za populační poklesy (Scheele et al., 2019). Toto onemocnění způsobuje dýchací a osmoregulační potíže na kůži a následnou smrt během několika týdnů. Rovněž ocasatí obojživelníci mají svou chytridiomykózu způsobovanou druhem *B. salamandrivorans* (česky „chytrida mlokožravá“, opět podle Jirků & Baláž, 2021), která byla popsána až v roce 2013 (Martel et al., 2013). Ta decimuje ocasaté obojživelníky v Německu a Nizozemsku (Spitzen-van der Sluijs et al., 2016). Populace mloka skvrnitého (*Salamandra salamandra*) v západní Evropě kvůli tomuto onemocnění poklesly o 96 % (Martel et al., 2013). Oba původci chytridiomykózy pocházejí pravděpodobně z Asie a po světě se rozšířili kvůli globálnímu obchodu se zvířaty (Lötters et al., 2020), což je jeden z dalších bodů příčin úbytku obojživelníků. I hadi čelí velké hrozbě v podobě plísňového onemocnění způsobovaného *Ophidiomyces ophidiicola*. Ta ohrožuje populace hadů v Severní Americe a v Evropě (Franklinos et al., 2017). Projevuje se otoky a vředy na kůži, častější frekvencí svleků a změnami v chování, jako je např. častější vyhřívání (Lorch et al., 2015). Způsob přenosu této plísně zatím není zcela jasný a je předmětem současných výzkumů.

### **2.1.5.2 Ranaviry**

Ranaviry jsou vědě známy již od 60. let minulého století, větší pozornosti se jim ale začalo dostávat na přelomu tisíciletí, kdy byly prokázány jako původci masových úhynů obojživelníků (Daszak et al., 1999; Price et al., 2014). Podobně jako *B. dendrobatidis* jsou

ranaviry rozšířeny téměř po celém světě. Napadají všechna vývojová stadia obojživelníků a narušují epitel cév, což způsobuje vnitřní krvácení (Balseiro et al., 2009).

### **2.1.5.3 Perkinsea**

Prvokem rodu *Perkinsea* mohou být postižena larvální stadia žab. Kvůli infekci perkinseou jsou u nich pozorována výrazně zvětšená játra a následné problémy s pohybem (Davis et al., 2007). Dochází tak k hromadným úhynům pulců jako např. v USA, kde je *Perkinsea* udávána jako třetí nejčastější příčina masových vymírání žab po chytridiomykóze a ranaviru (Isidoro-Ayza et al., 2017).

### **2.1.5.4 Parazitózy**

Parazitismus je jednou z nejvíce rozšířených životních strategií organismů a hraje důležitou roli v evoluci. Snad každý druh na planetě má svého parazita. Někteří mohou za určitých podmínek zásadním způsobem ovlivňovat početnost populace svých hostitelů (Hudson et al., 1998). Paraziti plazů a obojživelníků však nejsou tak dobře prozkoumáni, jako např. u savců či ptáků, což jsou skupiny, které jsou pro člověka důležité jako hospodářská zvířata, proto je jejich parazitózám věnována mnohem větší pozornost. V posledních desetiletích prošla parazitologie významnými změnami a od převážně deskriptivních postupů využívajících především morfologii (která má ale stále svůj zásadní význam) došlo k přechodu na ekologické, imunologické a fylogenetické metody určování parazitů. Vyšetření importovaných zvířat do chovů ukazují, že plazi mohou být velice častými hostiteli pestré škály parazitů potenciálně přenositelných na člověka (Rataj et al., 2011). Mohou proto sloužit jako rezervoáry onemocnění (Dsouli et al., 2006), ale naopak i jako hostitel s „ředivým“ účinkem (Giery & Ostfeld, 2007; Ginsberg et al., 2021). U obojživelníků jsou parazitózy spojovány s hromadnými úhyny a považovány za faktor potenciálně ohrožující celé populace (Johnson & Lunde, 2005; Lannoo, 2008).

### **2.1.6 Nepůvodní (invazní) druhy**

Na naší planetě se nachází množství přirozených bariér (pohoří, moře, oceány...), které dlouhou dobu představovaly nepřekonatelné překážky pro množství druhů. Díky tomu se ekosystémy vyvíjely v relativní izolaci. Dnes je introdukce nepůvodních druhů snadná díky globalizaci světa. V rámci planety migrují lidé a s nimi migrují i zvířata a rostliny. Druhy se mohou mezi světadíly přesouvat doslova v rámci hodin. Za biologickou invazi je považováno

šíření organismu mimo místo svého původního výskytu, velmi často spojené s lidskou činností, při které dojde k záměrnému či neúmyslnému zavlečení organismu (Hulme, 2015). Vzhledem k absenci přirozených nepřátel, potravní kompetici, predaci, přenosu patogenů, hybridizaci a působení změn na stanovištích, působí invazní druhy negativně na druhovou pestrost a celkové fungování ekosystémů (Levine, 2008). Dopady nepůvodních druhů na původní faunu mohou být zcela zásadní a může docházet ke změnám celých ekosystémů a významnému poklesu populací (Lowe et al., 2000). Příkladem mohou být zdivočelé domácí kočky, které jako predátoři-generalisté loví menší obratlovce, a významně tak ohrožují především ostrovní populace původní fauny (Medina et al., 2011). Znamé jsou příklady ostrovních druhů, které byly vyhlazeny z některých míst výskytu po zavlečení nepůvodních druhů, které jim konkurují či je přímo ohrožují predací – za všechny případy uveďme příklad haterie novozélandské (*Sphenodon punctatus*), která se stala obětí potkanů a dalších nepůvodních druhů na ostrovech kolem Nového Zélandu (Daugherty et al., 1990) a dnes přežívá na několika lokalitách nebo případ, kdy původní druhy ještěřů (ale i ptáků a dalších menších obratlovců) začaly mizet po zavlečení nepůvodní bojgy *Boiga irregularis* na ostrov Guam (Rodda & Fritts, 1992). I nepůvodní druhy rostlin mohou způsobit zásadní přetváření ekosystémů, které nebude vyhovovat původním druhům, včetně obojživelníků a plazů, jako se to stalo v případě rostliny *Miconia calvescens* na pacifických ostrovech Tahiti a Hawai (Lowe et al., 2000). Global Invasive Species Database (GISD) řadí mezi 100 nejvýznamějších invazních druhů i několik plazů a obojživelníků – kromě zmíněných *B. irregularis* a želvy nádherné (*Trachemys scripta elegans*), je to ještě ropucha obrovská (*Rhinella marina*), středoamerická žába *Eleutherodactylus coqui* a skokan volský (*Lithobates catesbeianus*) (GISD, 2022).

### **2.1.7 Dopravní infrastruktura**

Dopravní infrastruktura na naší planetě neustále houstne. Efekt vlivu množících se dopravních komunikací je dvojitý: jednak dochází k fragmentaci krajiny a silnice je pro plazy a obojživelníky často nepřekonatelnou překážkou, jednak na silnicích mnoho jedinců umírá při pokusu o jejich překonání (Spellerberg, 2002; Andrews & Gibbons, 2005). Mortalitu na pozemních komunikacích ovlivňují i životní strategie druhů. Větší šanci, že je na silnici přejede automobil, mají druhy, které migrují, nemají stálý domovský okrsek nebo aktivně vyhledávají kořist (Meek, 2009). Pro ektotermní organismy může být rozehrátá silnice v podvečerních hodinách lákavým místem k nastřádání tepla (Bhandarkar & Paliwal, 2021).



V našich podmínkách jsou pro plazy a obojživelníky velmi nebezpečné i cyklostezky (Moravec, 2015).



Obr 1 Čerstvě přejetý jedinec trnorepa *Uromastyx nigriventris*. Jižní Maroko. Foto: Daniel Kolečka

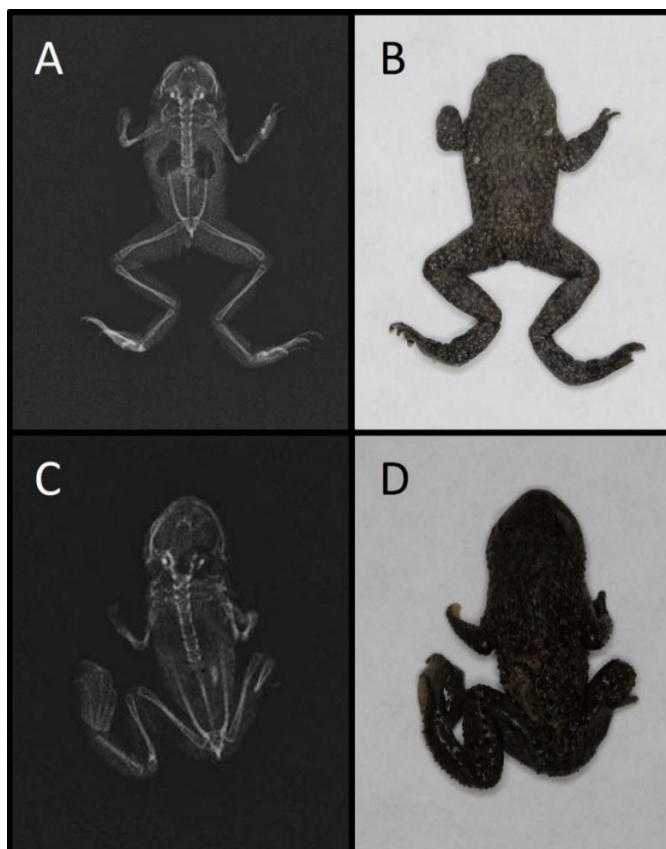
## 2.2 Morfologie

### 2.2.1 Malformace obojživelníků

Různé typy malformací obojživelníků jsou v literatuře publikovány již několik století (Ouellet, 2000). Vyšší počty publikovaných případů, které se v literatuře objevují v posledních desetiletích (např. Ouellet, 2000; Sessions, 2003; Mónico et al., 2016; Sousa & Costa-Campos 2016) souvisí pravděpodobně s větším zaměřením odborníků na tuto problematiku. Nicméně v některých oblastech jsou prokázány významné nárůsty malformací obojživelníků a poklesy jejich populací (např. Johnson et al., 2003). Představují tak významný faktor ohrožující tuto skupinu. Autoři vysvětlují vznik malformací různě – např. Ouellet et al. (1997) a Lannoo (2008) je přisuzují znečištění prostředí pesticidy a jejich následný vliv během ontogeneze obojživelníků. Nelze však opomenout možný vznik i kvůli předchozímu pokusu o predaci (Ballengeé & Sessions, 2009). Blaustein et al. (1997)

prokázali vliv UV-B záření na vznik deformit u žabích embryí. Johnson et al. (1999, 2002) a Kiesecker (2002) podávají zprávy o malformacích způsobených parazitickými motolicemi (Trematoda).

Malformace týkající se končetin jsou u žab nejčastěji pozorovanými morfologickými anomáliemi. Rozlišujeme tzv. polydaktylie (vyšší počet prstů), ektrodaktylie (zkrácení prstů nebo chybějící prsty), syndaktylie (srůst prstů), polymelie (vyšší počet končetin), ektromelie (zkrácení končetiny či chybějící končetina), symelie (srůst končetin) či klinomelie (pokřivení končetiny). Mezi další typy malformací a morfologických anomálií patří mikrocefalie (zmenšení hlavy), anophthalmie (chybějící oko/oči), makrophthalmie (zvětšené oko/oči), nestandardní tvar tympania (např. trojúhelník) nebo barevné anomálie jako je melanismus (tmavé zbarvení), zprůhlednění kůže („translucent skin“) či nestandardní zbarvení oka (Borkin & Pikulik, 1986; Rakhimizhanova & Kromov, 1998; Puky, 2006; Fayzulin et al., 2018). Ačkoli jednotlivé nálezy (do 5 % v populaci) jsou považovány za relativně přirozené, některé studie udávají až 90% výskyt malformací v populaci (Johnson et al., 2002), což už lze považovat za faktor ohrožující životaschopnost populace. Výskytu malformací u obojživelníků by tedy měla být věnována patřičná pozornost s ohledem na jejich komplexní ochranu.



Obr 2 Příklady ektromelie (zkrácení končetiny) přední končetiny (A) a zadní končetiny (D) u kuňky žlutobřiché (*Bombina variegata*) z Bosny a Hercegoviny. Nepublikovaná data. Foto: Daniel Kolečka, RTG: Karolína Hamzová.

### 2.2.2 Malformace plazů

Stejně jako u obojživelníků, i u plazů se setkáváme s rozličnými tělesnými malformacemi od chybějících prstů přes anophthalmie až po deformace ocasu, které mají za důsledek rozvětvení ocasu. K tzv. bifurkacím (rozdělení ocasu na dvě větve), případně vícečetným rozdělením ocasu, dochází při narušení míchy v ocasu např. při zranění drtivého charakteru důsledkem predace. Podle všeho jsou relativně běžné u druhů, které používají jako antipredační strategii kaudální autotomii (Bateman & Fleming, 2009). Autotomie je „dobrovolné“ odvržení některé, zpravidla periferní, části těla (končetiny, ocasu, chapadla...). Tuto strategii využívá poměrně velké množství druhů plazů, ale i některých ocasatých obojživelníků (např. Lynn, 1950; Mačát et al., 2015). Ne všichni plazi však touto schopností disponují. Obecně platí, že tam, kde má ocas nějakou významnou funkci (např. uchopovací u chameleonů, obrannou u varanů, lokomoční orgán pro pohyb ve vodě u krokodýlů, balanční orgán u agam), se autotomie nevyvinula. Bateman & Fleming (2009) udávají, že malformace ocasu vyvolané kaudální autotomií se neobjevují u čeledi Iguanidae.

Odvržený ocas je schopen prudkých pohybů daných stahy ocasních svalů, což obvykle odvrátí pozornost predátora od unikajícího živočicha, a může mu zachránit život. Proces autotomie v ocasní části probíhá v oblasti tzv. příčných zón zlomu, které u plazů neprobíhají v prostoru mezi obratli, nýbrž napříč obratlovým centrem a neurálním obloukem. Pouze u některých ocasatých obojživelníků probíhá zlomová zóna mezi obratli. Na povrchu obratle je zóna zlomu dobře pozorovatelná i makroskopicky. Kromě několika postsakrálních obratlů (bývá jich 4 – 9; větší počet je u beznohých forem, např. u slepýšů, blavora a dvouplazů) dělí zlomová zóna každý ocasní obratel, takže ocas se může odlomit těsně za kořenem stejně jako u špičky. Zmíněné postsakrální obratle zůstávají autotomií nedotčeny, protože je v jejich úrovni kloaka, u samců hemipenisy, a jsou na ně upevněny rovněž svaly účastnící se lokomoce (pohybu). Zlomová zóna není zcela stabilní – může být před příčnými výběžky obratle (pokud jsou vyvinuty), ale může být rovněž v úrovni příčného výběžku, takže jej může podélně štěpit. Příčný zlom obratle je doprovázen přerušением měkkých tkání, protože páteř obklopují podélné vrstvy tukového vaziva, svaly, cévy, nervy a kůže, uvnitř neurálního kanálu pak probíhá mícha. Vlastní mechanismus autotomie je velmi variabilní. Příčinou odlomení ocasu může být vnější síla (v přírodě je to většinou predátor), ale může k ní dojít rovněž výlučně činností ocasních svalů, bez vnějšího dotyku (tzv. spontánní autotomie). Je zajímavé, že k autotomii dochází těsně (nanejvýš tři obratle) před místem dotyku; tím se ztrácí jen nezbytná část ocasu. S autotomií souvisí regenerace, což je schopnost vytvářet relativně složité struktury, které byly v důsledku nejrůznějších příčin ztraceny. Regenerace je mnohem rozšířenější než autotomie (např. znovuvytvoření končetin po poranění) a touto schopností prosluli především obojživelníci. Regeneraci lze rozdělit do několika fází: hojení rány, vytvoření blastému, diferenciace a růst. Vlastní rána je zpravidla poměrně malé poškození. Krvácení se téměř ihned zastaví a svalstvo se zakryje během několika minut kůží, která se kolem rány stáhne. Pozoruhodné je, že konec odlomeného obratle v ocase je osteoklasty rozrušen (avšak v závislosti na charakteru poranění to nemusí být pravidlem – viz dále) a později spolu s nekrotizovaným vazivem odvržen. Konec pahýlu ocasu je tedy tvořen jen malým rudimentem původního obratle. Povrch rány je poté překryt vícevrstevným epitelem, který vytvoří apikální čepičku. Několik dní po autotomii se ependym obalující odlomený konec míchy začne prodlužovat a vytvářet tak jakousi trubici, která se dostane do styku s vnitřním povrchem apikální čepičky; celek tak vytváří útvar, který se nazývá blastém. Blastémové buňky jsou schopny proliferace a začnou mezi ně vrůstat krevní vlasečnice. Růst začíná asi 15 dní po autotomii a trvá přibližně tři měsíce. Výsledkem je regenerovaný

ocas, který může dosáhnout (někdy i přesáhnout) velikost původního, většinou však dosáhne jen zlomku původní velikosti (Roček, 1996). Při pokusu o únik s využitím autotomie se může stát, že ocas se neoddělí úplně a rána se opět zacelí. Při narušení obratlů však začne proces regenerace, čímž může dojít k bifurkaci (Dudek & Ekner-Grzyb, 2014), případně růstu dalších větví ocasu. Italský vědec Lorenzo Alibardi učinil zajímavý experiment, při kterém pomocí částí míchy uměle vpravených do rány došlo k růstu dalších větví ocasu (Alibardi, 2010). Právě rozdrčení míchy v ocasní části hraje pravděpodobně zásadní roli při vzniku těchto malformací (Bateman & Fleming, 2009). Podle Alibardiho (2010) se poranění ocasu a jeho malformace velmi často objevují u druhů, které žijí pospolitě a je u nich tedy i větší pravděpodobnost vnitrodruhové agrese a vzniku rozličných zranění právě na ocase (např. Koleska et al., 2017a).

### **2.2.3 Růstové ploténky a ukončený/neukončený růst plazů**

Postnatální růst kostry je tradičně rozdělen na ukončený a neukončený typ (Lincoln et al., 1982). Hlavní rozdíl mezi těmito dvěma typy je ten, že druhy s neukončeným růstem rostou po celý svůj život, zatímco u druhů s ukončeným růstem přestane tělo růst v době kolem dosažení pohlavní dospělosti (Reiss, 1989). Endotermní organismy (ptáci a savci) jsou považovány za skupiny s ukončeným růstem, kdežto plazi jsou jako ektotermní organismy (společně s rybami a obojživelníky) považováni za skupinu s neukončeným růstem (např. Kozłowski, 1996; Stamps et al., 1998). Lze však skutečně toto tvrzení zevšeobecnit na celou skupinu plazů? Skupina šupinatí (Squamata) jsou nejpočetnějším řádem plazů zahrnující přes 10000 druhů. V rámci této skupiny rozeznáváme podle pozice zubů na čelisti skupinu Acrodonta, kam bychom řadili starosvětské čeledi Chameleontidae a Agamidae, a skupinu Pleurodonta, kam bychom řadili čeleď Iguanidae *sensu lato* (Pyron et al., 2013).

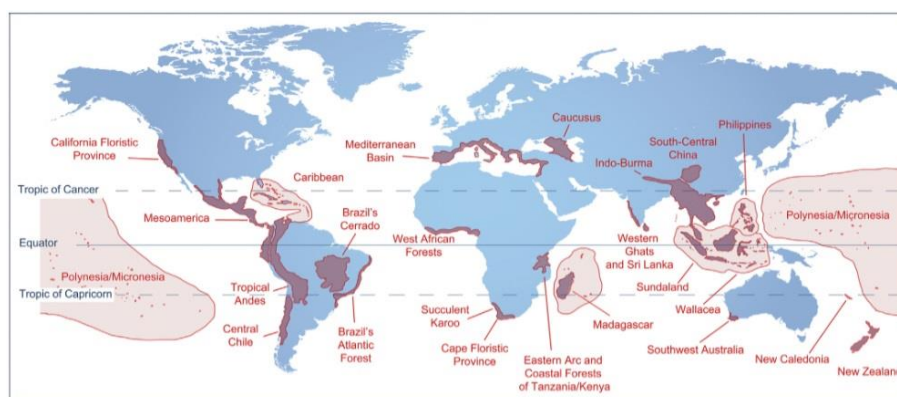
Růstové ploténky jsou chrupavčité destičky přítomné v dlouhých kostech, žebrech a obratlích a umožňují jejich růst do délky. Na dlouhých kostech se nacházejí mezi metafýzou a sekundárním osifikačním centrem (Farnum, 2007). Vyvinuly se u savců a u ještěřů. Podobná, ale zvlněná ploténka se nacházejí i v ptačích kostech a zřejmě byla přítomna i v kostech dinosaurů (Barreto et al., 1993). Růstové ploténky se nacházejí v oblastech metafýzy, tedy mezi koncovými epifýzami a střední částí. Chrupavkové buňky (chondrocyty) v ploténce se neustále dělí a ploténka tak na epifýzární straně přirůstá. Jedná se o tzv. intersticiální růst kosti. Na diafýzární straně je chrupavčitá tkáň ploténky stejným tempem odbourávána, resp. přeměňována na kostní tkáň. Proces růstu chrupavky a proces její přeměny na kost

jsou v rovnováze, a tak ploténka zůstává stále stejně silná. V určité fázi se však celá růstová ploténka změní na kostní tkáň a celá kost tak přestane růst (Marjit, 2016).

Podle novější literatury je pohled na univerzálnost tvrzení o ukončeném růstu pro Squamata přehodnocován (např. Frýdlová et al., 2017, Omeyer et al., 2018), a to na základě studia stavu růstových chrupavek (growth plate cartilage – GPC) dlouhých kostí, jejichž přetrvání či absence u starších jedinců jsou dobrým indikátorem ukončenosti či neukončenosti růstu. Zjednodušeně řečeno – podíváme-li se pomocí moderních zobrazovacích metod na dlouhé kosti a růstové chrupavky dospělých jedinců různých skupin šupinatých, můžeme dobře porovnat, zda u nich v době úmrtí stále docházelo k růstu, či nikoli. U dospělých jedinců je degradace růstových chrupavek jasným znakem zastavení růstu, jak bylo prokázáno např. u menších druhů varanů (Frýdlová et al., 2017).

## 2.3 Distribuce herpetofauny

Pro pochopení populačních fluktuací je nezbytně nutné mít přesná data o výskytu a denzitě konkrétních druhů. Rozšíření herpetofauny je v rámci naší planety značné, nicméně to stejné se nedá říct o odbornících, kteří se jim věnují. Je tedy nutné, aby se v rámci studia za objekty svého bádání vypravovali na nejruznější místa. Ta nejnedostupnější zůstávají logicky probádána méně než ta snadněji dostupná. Na naší planetě se nachází zhruba 25 center biodiverzity, kam je koncentrována mimořádně bohatá fauna a flora (Brooks et al., 2002).

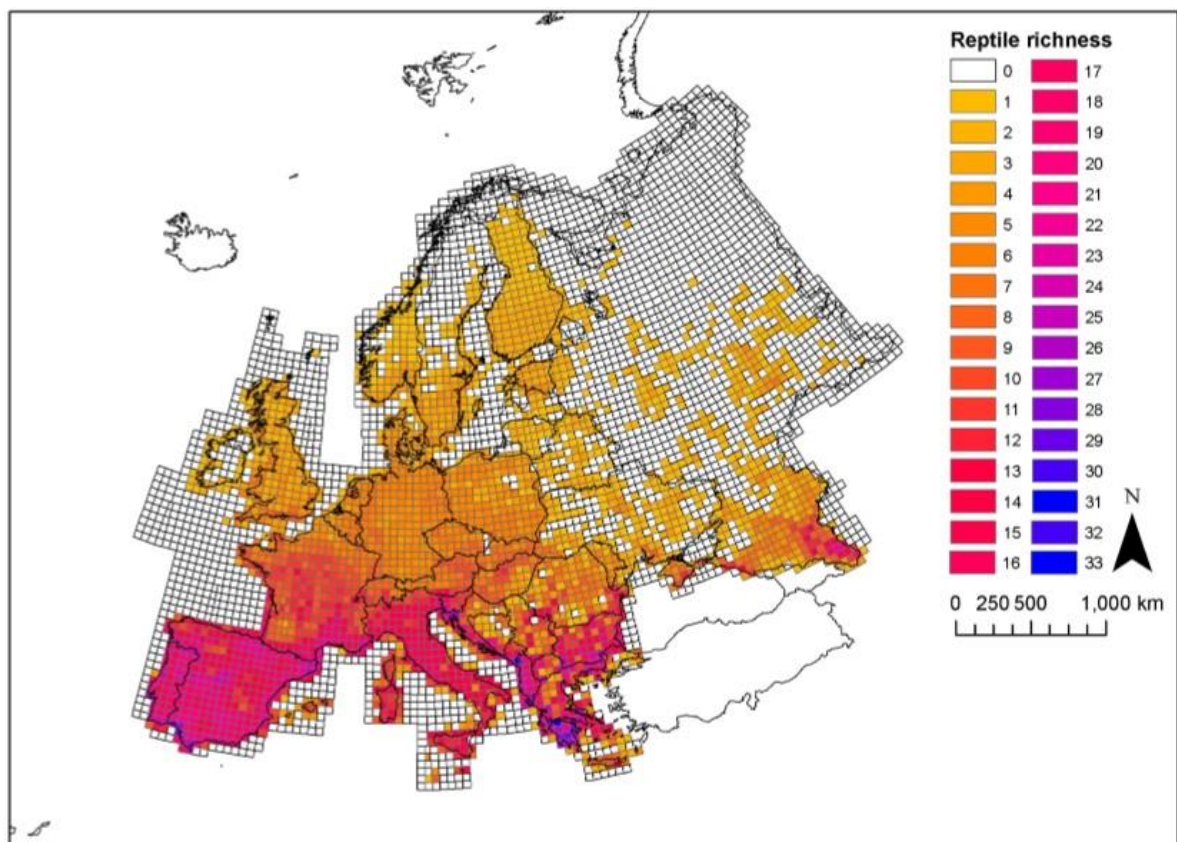


Obr 3 Světová centra biodiverzity podle Spicera (2017).



### 2.3.1 Balkánský poloostrov

Jedno z center biodiverzity se nachází i na jihu Evropského kontinentu. Na území Evropy se vyskytuje 301 druhů plazů a obojživelníků, a to včetně 14 nepůvodních druhů, které se zde adaptovaly (Speybroeck et al., 2020). Jejich distribuce v rámci kontinentu není rovnoměrná. Obecně se dá říci, že bohatost biodiverzity stoupá směrem na jih. Mediteránní pobřeží Evropy – Iberský, Apeninský a Balkánský poloostrov tak skýtá domov největšímu počtu druhů evropských plazů a obojživelníků. Druhová koncentrace herpetofauny v jižních částech Evropy je dobře ilustrována v mapě Sillero et al. (2014).



Obr 4 Druhová diverzita plazů v Evropě. Převzato ze Sillero et al. (2014).

Navzdory tomu, že máme k dispozici komplexní data o rozšíření evropské herpetofauny založená na dlouhodobém monitoringu různých skupin odborníků, stále se najdou místa, kde jsou informace nedostatečné. Takovým příkladem může být Makedonie (dnes správně „Severní Makedonie“, ale zůstaňme u staršího označení, aby nedošlo ke zmatení světovými stranami). Makedonie je stát uprostřed Balkánského poloostrova s rozlohou 25 713 km<sup>2</sup>. Svou polohou nemá přístup k moři jako jiné balkánské státy, nicméně i tak je její biodiverzita poměrně bohatá. Území této země zahrnuje několik významných geomorfologických

jednotek, jako je např. údolí řeky Vardar, Helenidy nebo Dinárské hory. Složení herpetofauny Makedonie je relativně dobře známé (např. Gasc et al., 1997; Sillero et al., 2014, Speybroeck et al., 2010), nicméně přesnější data o distribuci u některých druhů chybí. V současnosti se v Makedonii vyskytuje 14 druhů obojživelníků a 32 druhů plazů podle platné taxonomie (Speybroeck et al., 2020). Obsáhlejší shrnutí distribuce herpetofauny publikoval Sterijovski (2014). Během mapování herpetofauny Makedonie v ní zanechal českou stopu prof. Julius Komárek (rovněž působil na tehdejší Vysoké škole zemědělské), který jako zoolog tuto zemi navštívil v letech 1914, 1925 a 1930 a napsal o ní mj. fascinující knihu *Neznámá Makedonie* (Komárek, 1941). Makedonie je severní hranicí rozšíření některých druhů (např. *Eryx jaculus*, *Xerotyphlops vermicularis*). O tom, že tato země má stále ještě svá tajemství, svědčí i minimum záznamů plazů (především hadů) ve veřejně přístupné databázi iNaturalist.



Obr 5 Hroznýšek turecký (*Eryx jaculus*) je jeden z nejvzácnějších plazů Evropy. Makedonie.  
Foto: Daniel Kolečka



## 2.3.2 Maroko

Maroko je severoafrická země rozkládající se na ploše 446 550 km<sup>2</sup> (710 850 km<sup>2</sup>, počítáme-li i území Západní Sahara, které si Maroko nárokuje) s významnými geografickými prvky v podobě pohoří Atlas, pouště Sahara a pobřeží Atlantského oceánu. V rámci severoafrického regionu patří tato země mezi regiony s největší biodiverzitou. Rozšíření herpetofauny Maroka je opět poměrně dobře známé díky souhrnným pracem z přelomu tisíciletí (Bons & Geniez, 1996; Schleich et al., 1996), dílčím pozorováním (např. Funk et al., 2004; Barata et al., 2011; Kane et al., 2019) i novější publikaci shrnující dosavadní poznatky (del Mármol et al., 2019). K mapování herpetofauny Maroka a určování jednotlivých druhů významným způsobem napomáhá i veřejně přístupná webová aplikace [www.moroccoherps.com](http://www.moroccoherps.com) (Martínez et al., 2022).

Za jednoho z nejvzácnějších hadů Maroka je považována zmije *Echis leucogaster* (Spawls & Branch, 1995; Bons & Geniez, 1996; Schleich et al., 1996). Tato zmije dorůstající max. 83 cm bývá oblast západního Sahelu a několik izolovaných lokalit v severní Africe, včetně Maroka. Ideálním habitatem jsou vlhčí místa, jako jsou zahrady, oázy nebo koryta řek. Zajímavá je její schopnost zastrašování pomocí drsných šupin na boku těla. Při zastrašování o sebe tře boky, kde má zoubkované šupiny, které vydávají nečekaně hlasitý zvuk připomínající syčení (vlastní pozorování). Podobně jako jiné druhy zmijí rodu *Echis* je toxicky významná. Někteří autoři (Arnold et al., 2009, Pook et al., 2009) považují *E. leucogaster* za poddruh *E. pyramidum*. Nicméně Okuda et al. (2001) přinesli důkazy o samostatnosti druhu na základě rozboru jedu a revize celého rodu. Zajímavá je potravní preference *E. leucogaster* – zdá se, že převážnou část její potravy tvoří bezobratlí (stonohy), dále se živí hlodavci a obojživelníky (Mané & Trape, 2019). Ještě před 20 lety byla známá z jediné marocké lokality, kde byla roku 1963 objevena (Bons & Dakka, 1963). Ovšem počínaje rokem 1999 byly popisovány stále nové lokality na území Maroka a areál výskytu se zde rozšiřoval (Herrmann et al., 2000; Aymerich et al., 2004 a další). Dnes je výskyt *E. leucogaster* v Maroku fragmentovaný mezi městy Agdz na severovýchodě a Tigit na jihu. Zajímavé je, že většinu těchto lokalit propojuje řeka Draa, nejdelší vodní tok Maroka o délce 1100 km. Protéká od města Ouarzazate na severu, přes města Agdz a Zagora k hranicím s Alžírskem, odkud se táhne na západ přes město Tan Tan až do Atlantského oceánu a poskytuje zmijím vhodný vlhčí habitat s množstvím menších jezírek, kde se drží voda. Z hlediska ucelení znalostí o rozšíření *E. leucogaster* je údolí řeky Draa velmi zajímavé. S malým počtem nálezů může souviset i převážně noční aktivita tohoto druhu. Genetická

analýza vzorků *E. leucogaster* z Mauritánie a Maroka naznačuje, že jsou si blízce příbuzné. Lze tedy předpokládat, že v této oblasti mají zmije souvislý výskyt nebo se evolučně oddělily teprve v nedávné době (Escoriza et al., 2009).



Obr 6 Subadultní jedinec zmiije *Echis leucogaster* z nově objevené lokality v okolí města Assa. Maroko. Foto: Daniel Kolečka

Specifickým problémem ochrany herpetofauny Maroka jsou podzemní nádrže na vodu. Ty jsou hojně rozmístěné takřka po celém území země a mnoho z nich již dávno neplní původní funkci. Srážky se v některých oblastech Maroka pohybují i pod 100 mm za rok. Z tohoto důvodu byly (a stále jsou) budovány záchytné nádrže na dešťovou vodu. Tyto nádrže jsou zpravidla otevřené, aby do nich mohly ústít sběrné kanály. Tím se ale také stávají snadno přístupné pro zvířata, která do nich vnikají bez možnosti následného úniku zpět na povrch. Kromě druhů, kterým naopak tyto stavby vysloveně vyhovují (gekonu rodu *Tarentola* a *Ptyodactylus*, rosničky *Hyla meridionalis*), v nich většina uvězněných zvířat nalezne smrt dehydratací, vyhladověním nebo predací (del Marmol et al., 2019). Sami jsme se o tom přesvědčili během dvou herpetologicky zaměřených výprav do Maroka v květnu a září 2017. Ve studnách jsme v průběhu obou cest našli desítky zvířat, většinou ještěřů, hadů a žab,

ale i některé savce a např. i delší dobu uhynulé tele. Dalším významným problémem je desertifikace krajiny. Klimatické modely předpovídají pokles srážek a postupnou přeměnu mediteránní krajiny na poušť. Zprávy o úbytku vodních ploch, a tedy i prostoru pro rozmnožování obojživelníků, se objevují již nějakou dobu (např. Urama & Ozor, 2010). Maroko disponuje ještě jedním velmi specifickým faktorem ohrožujícím lokální herpetofaunu. Tím jsou tzv. „zaříkavači“ hadů. Historicky se snad jedná o příslušníky záhadného bratrstva Aissaoua, jehož příslušníci manipulací s jedovatými hady dokazovali svou nadvládu nad zvířaty a přírodou. Dnes je „zaříkavačství“ hadů především turistickou atrakcí, neboť Maroko je díky své poloze blízko Iberského poloostrova oblíbeným cílem evropských turistů. Problém spočívá v tom, že tito „zaříkavači“ získávají zvířata z přírody a drží je často v naprosto nevyhovujících podmínkách. Zvířata tak bohužel brzy umírají, což je záminka pro získání dalších jedinců z přírody (del Marmol et al., 2019). Sami jsme takto během cest Marokem viděli představení v pouštním kempu, kde měl „zaříkavač“ své sídlo nedaleko. Hned vedle jeho příbytku jsme viděli čerstvě zabitého jedince zmije *Daboia mauritanica*, který údajně nepřežil vystoupení.



Obr 7 Kontrola nádrže na dešťovou vodu. Maroko. Foto: Daniel Kolečka

## 2.4 Parazitofauna plazů a obojživelníků

Parazitofauna plazů a obojživelníků byla dlouho opomíjená, nicméně v posledních desetiletích se tento pohled mění a parazitům plazů a obojživelníků je věnována stále větší pozornost. Přes relativně velké množství publikovaných dat však dodnes neexistuje ucelený seznam parazitofauny evropských plazů a obojživelníků, který by ulehčil determinaci jednotlivých druhů a pomohl pochopit jejich ekologii. Každý další poznatek o rozšíření parazitů plazů a obojživelníků nám proto může pomoci doplnit chybějící informace o jejich vzájemných ekologických vztazích.

V kapitole popisující ohrožení plazů a obojživelníků jsme se krátce věnovali případům, kdy paraziti přímo ohrožují populace svých hostitelů. Na vztah plazů a obojživelníků a jejich parazitů však můžeme nahlížet i jinak. Vzhledem k tomu, že tyto dvě skupiny patří mezi nejohroženější skupiny obratlovců, je pro hostitelsky specifické druhy parazitů důležité, aby jejich hostitelské druhy přežily, jinak se samy ocitnou na hranici vyhynutí, protože nejsou schopni bez nich přežít. Ztratíme-li hostitele, ztratíme i jejich parazity.

### 2.4.1 Mikrosporidie (Microsporidia)

Jsou vnitrobuněční paraziti živočichů. Do hostitelské buňky pronikají dlouhou injekční trubicí (vlákem), kterou je injikován zárodek (sporoplasma). Uvnitř hostitelské buňky dochází ke dvěma vývojovým fázím - merogonii a sporogonii. Během merogonie se meronti (jednoduché buňky) dělí na dceřiné buňky. Tento cyklus se může několikrát opakovat. Při této fázi vznikají spory, které infikují okolní buňky, v nichž opět iniciují merogonii. V určité fázi se merogonie zastavuje a vzniká nová generace silnostěnných spor vyplňujících hostitelskou buňku, ze které se stává váček vyplněný spory. Tyto silnostěnné spory pak odcházejí do vnějšího prostředí s výkaly nebo se uvolňují po smrti hostitele (Volf & Horák, 2007).

### 2.4.2 Výtrusovci (Apicomplexa)

Jedná se opět o vnitrobuněčné parazity, méně často žijí na povrchu buněk hostitele. Během svého vývoje střídají nepohlavní generace (merogonie), pohlavní (gamogonie) a tvorbu spor (sporogonie) v závislosti na tom, je-li v jejich vývojovém cyklu přítomen mezihostitel (heteroxenní cyklus) či nikoli (homogenní cyklus). U plazů a obojživelníků se setkáváme s hemogregarinami (Haemogregarinidae) a kokcidiemi (Eimeriorina). U plazů parazitují



např. *Hemolivia mauritanica* (hostitelem je suchozemská želva *Testudo marginata*) nebo kokcidie rodu *Eimeria* a *Sarcocystys* (Volf & Horák, 2007). Kokcidie *Sarcocystys lacertae* využívá jako mezihostitele ještěrky (např. *Podarcis muralis*) a jako definitivní hostitel jí slouží hadi živící se jinými plazy (*Coronella austriaca*) (Volf et al., 1999). U obojživelníků je známých několik desítek kokcidií, především z rodu *Eimeria* (Duszynski et al, 2007).

### 2.4.3 Tasemnice (Cestoda)

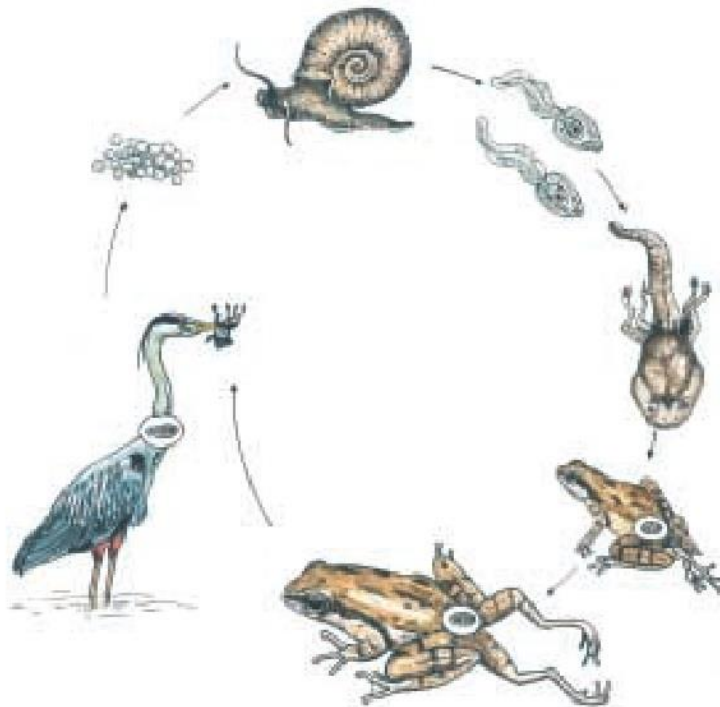
Paraziti, které nalezneme u všech skupin obratlovců. Dospělci tasemnic parazitují v trávicí soustavě, kde jsou přichyceny pomocí hlavičky (scolex) s přichytnými orgány. Scolex je významným determinačním znakem tasemnic. Zpravidla se jedná o hermafrodity, výjimečně o gonochoristy. Z těla definitivního hostitele odchází společně s trusem vajíčka tasemnic. V rámci jejich heteroxenního cyklu se dostávají do těla mezihostitele (Volf & Horák, 2007). U plazů jsou známé případy parazitace tasemnicí rodu *Oochoristica* z trávicího traktu trnorpů a leguánů (Rataj et al, 2011).



Obr 8 Tasemnice rodu *Oochoristica* z trávicího traktu trnorepa *Uromastyx nigriventris*. Jižní Maroko. Foto: Daniel Kolečka

## 2.4.4 Motolice (Trematoda)

Paraziti s oválným zploštělým tělem. Mají heteroxenní cyklus s dvěma a více hostiteli. Prvním mezihostitelem je zpravidla měkkýš. Do toho proniká obrvené stadium zvané miracidium. Mezihostitele opouští ve stadiu cercárie, jež aktivně vyhledává dalšího mezihostitele či definitivního hostitele. Cercárie nepřijímají potravu, jako zdroj energie mají zásoby glykogenu. V mezihostiteli vytváří metacercárie, které jsou uvnitř cysty ve tkáni mezihostitele. Zde vyčkávají na pozření mezihostitele definitivním hostitelem. Poté dochází k přeměně na dospělé a rozmnožení (Volf & Horák, 2007). Velice dobře prozkoumaný je životní cyklus motolice *Ribeiroa ondatrae* z USA a její vliv na své mezihostitele. *R. ondatrae* se v prvním mezihostiteli, kterým je vodní šnek rodu *Planorbella*, rozmnožuje nepohlavně. Z těla šneka se poté dostávají do vody tisíce cercárií. Cercárie proniká kůží mezihostitele (vyvíjejícího se pulce) do rostoucí nohy a vytváří odolnou metacercárii (cystu). Během metamorfózy pulce a následného dospívání dochází k vývojovým vadám (malformacím), nejčastěji na nohách. Takto malformovaný jedinec žije se zvýšenou pravděpodobností, že podlehne definitivnímu hostiteli, kterým je rybožravý pták (např. volavka). V definitivním hostiteli dochází k pohlavnímu rozmnožování motolice, produkci vajíček a opakování cyklu (Blaustein & Johnson, 2003).



Obr 9 Životní cyklus motolice *Ribeiroia ondatrae*, během kterého vznikají malformace končetin obojživelníků. Převzato z Blaustein & Johnston (2003).

### 2.4.5 Hlístice (Nematoda)

Jedná se o nejpočetnější a nejrozšířenější skupinu živočichů. Vědecky je popsanych více než 14000 druhů a mnoho dalších na svůj popis čeká. Odhaduje se, že by tato skupina mohla čítat kolem 40000 druhů (Zhang, 2013). Hlístice jsou zpravidla gonochoristé s pohlavním dimorfismem (determinační znak), ačkoli se můžeme setkat i s jinými reprodukčními strategiemi, jako je např. partenogeneze či hermafroditismus. Dospělci parazitujících druhů (ne všechny hlístice jsou paraziti) se vyskytují u bezobratlých, obratlovců i u rostlin. Některé druhy dokonce mohou střídat parazitující a volně žijící generace. Nejčastější lokalizací parazitujících hlístic v těle hostitele je trávicí trakt, ale můžeme je najít i v krevním oběhu, kůži, nervové soustavě apod. Hlístice prodělávají několik larválních stádií (L1-L4). Hostitelský cyklus může být monoxenní (geohelminti, kteří se vyvíjejí v půdě) nebo heteroxenní (biohelminti) s využitím mezihostitele (Volf & Horák, 2007). U plazů jsou známé případy parazitací hlísticemi např. rodu *Capillaria* a *Ophidascaris* u hadů a *Angusticaecum* u želv (Rataj et al., 2011).



Obr 10 Blíže neurčené hlístice (pravděpodobně škrkavky) z trávicího traktu čerstvě přejetého varana bengálského (*Varanus bengalensis*), Srí Lanka. Foto: Daniel Kolečka



### 2.4.6 Vrtejši (*Acanthocephala*)

Skupina s heteroxenním cyklem s využitím mezihostitele, kterým je bezobratlý. Definitivním hostitelem je obratlovec. Mezihositel pozře larvu, která se nazývá akantor. V mezihostiteli končí vývoj stadiem cystakant. Definitivní hostitel pozře mezihostitele a nakazí se infekčním stadiem vrtejše. Dospělý vrtejš se vyvíjí ve střevě definitivního hostitele, kde se uchycuje pomocí chobotku a háčků. Plazy a obojživelníky vrtejši zpravidla využívají jako tzv. paratenické hostitele, kde nedochází k vývoji parazita, ale je zde schopen přežít (na rozdíl od vnějšího prostředí) do doby, než jej pozře definitivní hostitel (Volf & Horák, 2007). Vrtejšům velmi vyhovuje akvatické prostředí, proto se s nimi můžeme setkat např. u ocasatých obojživelníků (zde jako definitivních hostitelů). Takovým příkladem může být vrtejš *Acanthocephalus anguillae balkanicus*, který byl pozorován u několika druhů na Balkánském poloostrově, a to včetně macaráta jeskynního (*Proteus anguinus*) (Amin et al., 2019).

### 2.4.7 Pijavky (*Hirudinae*)

Pijavky jsou známy u plazů z případů parazitace u vodních želv a krokodýlů. Je zde zřejmá afinita k vodnímu prostředí. Pijavky rodu *Placobdella* sají krev sladkovodních želv a jsou to hostitelé a přenašeči krevních výtrusovců rodu *Haemogregarina* (Telford, 2009). Zástupci tohoto rodu jsou zajímaví svou péčí o potomstvo. Rodiče (jedná se o hermafrodity) nosí mláďata přichycená na břišní straně a po určité době je nechají přelézt na jejich prvního hostitele (Bielecki et al., 2012). U obojživelníků jsou případy parazitace pijavkami častější a dokonce mohou významným způsobem přispět ke snižování populací (Stead & Pope, 2010). Zvláštní případ masivního napadení pijavkami u skokanů hnědých (*Rana temporaria*) a ropuch obecných (*Bufo bufo*) byl hlášen v letech 2020 a 2021 z Anglie. Obojživelníci byli nalezeni s očima, hrdelní částí těla a v oblastech kloubů s velkým množstvím pijavek (Julian, 2021).





Obr 11 Pijavka parazitující na ropuše berberské (*Sclerophrys mauritanica*), Maroko. Foto: Daniel Kolečka



Obr 12 Pijavka parazitující na želvě bahenní (*Emys orbicularis*), v tomto případě se jedná o velmi starého samce s „rozvolněnými“ štítky karapaxu. Bulharsko. Foto: Daniel Kolečka

### 2.4.8 Roztoči (Acari)

Z této skupiny jsou parazity plazů čmelíkovci (Mesostigmata), sametky (Prostigmata: Trombiculidae) a klíšťata (Ixodida). U sametek jsou parazitické pouze larvy, které parazitují sáním lýzové tkáně a tkáňového moku hostitele. Dospělci napadají jiné roztoče. Čmelíkovci jsou poměrně početná skupina, která využívá několik způsobů obživy zahrnující

parasitismus hmyzu a obratlovců (Volf & Horák, 2007). Životní cyklus je dobře popsán u čmelíkovce *Ophionyssus natricis*, který se vyskytuje u hadů. Larvy jsou volně žijící a po 1 – 2 dnech se svlékají do stadia protonymfy. Ty se už živí paraziticky a po 3 – 14 dnech se mění v deuteronymfy, které opouštějí tělo hostitele a po dalším dni se opět svlékají a mění v dospělé. Dospělá stadia jsou opět parazitická. Celkový vývoj z vajíčka k dospělci trvá 2 – 3 týdny, přičemž dospělci mohou žít dalších 40 dní. Vajíčka nakladená samičkou se za ideální teploty (25 °C) líhnou po asi dvou dnech (Wozniak & DeNardo, 2000). Vývoj klíšťat zahrnuje tři stadia – larvu, nymfu a dospělé. Larvy zpravidla parazitují na menších obratlovcích, jako jsou např. hlodavci nebo právě ještěrky, hadi či želvy. Dospělci si pak vybírají větší teplokrevné savce, včetně člověka (Volf & Horák, 2007). Klíšťata jsou přenašeči infekčních onemocnění přenositelných i na člověka. Týká se to například lymfské boreliózy, kterou způsobuje bakterie *Borrelia burgdorferi*. Existují předpoklady, že hadi mohou být významnými reducenty nákazy lymfskou boreliózou, jelikož se živí hostiteli klíšťat (s nimi žerou i samotná klíšťata jako přenašeče). Jeden chřestýš lesní (*Crotallus horridus*) ročně sežere s kořistí 2500-4500 klíšťat (Kabay, 2013). Zajímavý je i případ, kdy mohou plazi působit jako „ředící“ faktor onemocnění. V těle plazů se bakterii tolik nedaří a klíšťata, která na plazech sají, mají menší množství bakterií, než ta, která parazitují na jiných rezervoárových druzích, např. myších (Ginsberg et al., 2021).



Obr 13 Klíšťata parazitující na želvě žlutohnědé (*Testudo graeca*), Bulharsko. Foto: Daniel Kolečka

### 3 Hypotézy a cíle práce

Na základě studia dostupné literatury a zkušeností z práce v terénu lze předpokládat, že:

1. Různé skupiny plazů budou mít různé přetrvávání růstových plotének.
2. U sociálně žijících plazů a obojživelníků obývajících antropogenní lokality se budou vyskytovat tělesné malformace četněji než u soliterně žijících druhů.
3. Podrobným průzkumem málo probádaných oblastí Balkánského poloostrova (Makedonie) a severní Afriky (Maroko) lze doložit dosud neznámé údaje o rozšíření některých druhů plazů a obojživelníků.
4. U plazů a obojživelníků na nedostatečně prozkoumaných lokalitách lze očekávat potvrzení výskytu dosud neohlášených parazitů.

Cílů práce je několik:

1. Zhodnotit přetrvávání růstových plotének u dvou skupin plazů – Acrodonta a Pleurodonta.
2. Vyhledávat a popsat morfologické anomálie u plazů a obojživelníků, včetně jejich hlášení u druhů, kde nejsou popsány.
3. Přinést nové poznatky o rozšíření plazů a obojživelníků v Evropě a severní Africe.
4. Přinést nové poznatky o rozšíření parazitofauny plazů a obojživelníků v Evropě.

## 4 Publikované práce

### 4.1 Malformace obojživelníků

**4.1.1 Holer, T., & Koleska, D. 2018. A case of unilateral anophthalmia in an adult *Pelophylax* kl. *esculentus* (Linnaeus, 1758). *Herpetozoa*, 31(1-2): 103-104.**

U obojživelníků můžeme pozorovat rozličné morfologické abnormality po celém světě. Jednou z nich je i anophthalmie – morfologická abnormalita, při které jedinci chybí jedno či obě oči (Ouellet, 2000). 30. září 2017 jsme během studie populace zelených skokanů r. *Pelophylax* u Pacova (Vysočina, ČR) našli jedince, který se vyznačoval jednostrannou anophthalmií. Tento jedinec měl plně vyvinuté oko pouze na pravé straně. Na levé straně hlavy oko zcela chybělo. Zajímavé je, že navzdory zřejmým problémům s prostorovou orientací, byl jedinec v dobrém tělesném stavu bez známek podvýživy či zranění. Pozorování morfologických abnormalit u zelených skokanů je relativně běžné. Velká část popsanych případů se týká anomálií jako je polydaktylie (Borkin & Pikulchik, 1986), syndaktylie (Rakhimizhanova & Khromov, 1998) nebo anomálie ve zbarvení těla (Dubois, 1968; Murphy, 1980). O příčinách anophthalmie můžeme zatím pouze spekulovat – viz další případy morfologických anomálií obojživelníků. Toto pozorování je pravděpodobně první zdokumentovaný případ anophthalmie z našeho území.



A case of unilateral anophthalmia in an adult *Pelophylax* kl. *esculentus* (LINNAEUS, 1758)

Various types of morphological abnormalities are found in amphibians all over the world (OUELLET 2000). Among non-skeletal abnormalities that are not related to coloration, anophthalmia (the absence of the eye) and localized or generalized edema are most frequently detected (HENLE et al. 2017).

Out of a large number of documented instances of anuran and urodelan morphological malformations (HENLE et al. 2012; LANNOO 2009), anophthalmia was reported in 159 cases, involving 47 species of Anura and eight of Urodela. The rarity of anophthalmia in natural populations of urodeles was explained by their high capability of regeneration (HENLE et al. 2017).

Probably because they are easily detected, most teratological findings in natural populations of frogs of the hybridogenetic *Pelophylax* kl. *esculentus* (LINNAEUS, 1785) complex apply to malformations of the fingers, toes and limbs such as polydactyly (BORKIN & PIKULIK 1986), ectrodactyly, syndactyly (RAKHIMZHANOVA & KHROMOV 1998), polymely (DUMÉRIL 1865), symmely (BRUCH 1864), clinomely (PUKY 2006), phocomely (KURTYAK 2010) and polyphalangy (ZAMALETDINOV 2014) but also microcephaly (FLAX & BORKIN 2004), melanism, blue-colored individuals (MURPHY 1980), translucent skin (DUBOIS 1968) and anophthalmia. As to the genus *Pelophylax*, anophthalmia was described, e.g., in natural populations of *Pelophylax ridibundus* (PALLAS, 1771) (MARUSCHAK & MURAVYNETS 2013) and reproductive communities formed by individuals of *P. lessonae* (CAMERANO, 1882) and *P. kl. esculentus* (LINNAEUS, 1758) (BERGER & UZZEL 1977).

On September 30, 2017, during the study of water frogs, the authors found an adult male *Pelophylax* kl. *esculentus*, who had only one (right) eye. The frog was captured in a pond of about 4 m<sup>2</sup>, located in Pacov, in the Region of Vysocina, Czech Republic (GPS coordinates: 49.474 N, 14.999 E, 580 m a.s.l.). This and two more

ponds lie next to a narrow stream in a grassy area between the dams of large ponds 1-2 ha in size. Fields surrounding Pacov are used mainly for agricultural purposes providing a potential source of contamination by pesticides. No more malformed frogs were observed at this locality. The skin in the area of the missing eye did not show any visible signs of injury, suggesting that the left eye of this specimen had not developed at all or had been heavily injured during an early larval developmental stage. Nonetheless, the frog was in a good nutritional condition and thus, must have been able to hunt prey successfully despite its reduced spatial orientation. After closer examination, the specimen was photographed and released back to the pond. The causes of the observed monophthalmia remain unknown.

ACKNOWLEDGMENTS: This work was supported by the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA) through Project No. 20172002.

REFERENCES: BERGER, L. & UZZEL T. (1977): Viability and growth of progeny from different egg size classes of *Rana esculenta* L. (Amphibia, Salientia).- *Zoologica Poloniae*, Warsaw; 26: 292-317. BORKIN, L. J. & PIKULIK, M. M. (1986): The occurrence of polymely and polydactyly in natural populations of anurans of the USSR.- *Amphibia-Reptilia*, Leiden; 7: 205-216. BRUCH, C. (1864): Über Missbildungen der Chorda dorsalis (Dichordus), nebst Bemerkungen über Doppelbildungen.- *Würzburger Medicinische Zeitschrift*, Würzburg; 5: 1-35. DUBOIS, A. (1968): Sur deux anomalies de la grenouille verte (*Rana esculenta*).- *Bulletin Mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, Lyon; 37: 316-320. DUBOIS, A. (2017): Rostand's anomaly P in Palearctic green frogs (*Pelophylax*) and similar anomalies in amphibians.- *Mertensiella*, Rheinbach; 25: 49-56. DUMÉRIL, A. (1865): Observations sur la monstruosité dite polymélie ou augmentation du nombre des membres chez des batraciens anoures.- *Nouvelles Archives du Muséum d'Histoire Naturelle*, Paris; 1: 309-319. FLAX, N. L. & BORKIN L. J. (2004): Morphological abnormalities and heavy metal concentrations in anurans of contaminated areas, eastern Ukraine.- *Applied Herpetology*, Leiden; 1: 229-264. HENLE, K. & MESTER, B. & LENGYEL, S. & PUKY, M. (2012): A review of a rare type of anomaly in amphibians, tail duplication and bifurcation, with description of three new cases in European Species (*Triturus dobrogicus*, *Triturus carnifex*, and *Hyla arborea*).- *Journal of Herpetology*, Houston, etc.; 46: 451-455. HENLE, K. & DUBOIS, A. & VERSHININ V. (2017): A review of anomalies in natural populations of amphibians and their potential causes.- *Mertensiella*, Rheinbach; 25: 57-164. KURTYAK, F. F. [Куртяк Ф. Ф.] (2010): Аномалії розвитку *Pelophylax klepton esculenta* (LINNAEUS, 1758) (Amphibia, Anura, Ranidae) з теренів Закарпаття [Abnormal develop-



Fig. 1: The monophthalmic specimen of *Pelophylax kl. esculentus* (LINNAEUS, 1758) from Pacov, Czech Republic. Observe the complete absence of the left eye.  
Photo: Tomáš Holer.

ment in *Pelophylax klepton esculenta* (LINNAEUS, 1758) (Amphibia, Anura, Ranidae) from Zakarpattia (=Transcarpathia).- Науковий вісник Ужгородського університету [Scientific Messenger of the Uzhgorod University (= Transcarpathian State University), Series Biology] Uzhgorod; 28: 132-134. [in Ukrainian]. LANNOO, M. J. (2009): Amphibian malformations; pp. 3089-3111. In: HEATWOLE, H. & WILKINSON J. W. (Eds.): Amphibian biology. Volume 8: Amphibian decline: diseases, parasites, maladies and pollution. Chipping Norton (Surrey Beatty and Sons). MARUSCHAK, A. & MURAVYNETS A. (2013): Morphological abnormalities in natural populations of anurans (Amphibia, Anura) in Ukraine.- Praci Ukraïnskogo Gerpctologienogo Tovaristva [Proceedings of the Ukrainian Herpetological Society], Kyiv; 4: 87-94. MURPHY, J. C. (1980): Green, blue, and yellow frogs.- Bulletin of the Chicago Herpetological Society, Chicago; 15: 103-106. OUELLET, M. (2000): Amphibian deformities: current state of knowledge; pp. 617-661. In: SPARLING, D. W. & LINDER, G. & BISHOP C. A. (Eds.): Ecotoxicology of amphibians and reptiles. Pensacola (SETAC Press). PUKY, M. (2006): Amphibian deformity frequency and monitoring methodology in Hungary.- Froglog, Arlington; 74: 3-4. RAKHIMZHANOVA, A. K. & KHROMOV, V. A. (1998): Morphological study of the green frog (*Rana ridibunda* PALLAS, 1771) from eastern Khazakstan province.- Abstracts, page 31. Almaty

(Konzhyk Publishing House). Third Asian Herpetological Meeting, 1-5 September 1998 in Almaty, Kazakhstan. ZAMALETDINOV, R. I. (2014): Materials on the occurrence of morphological abnormalities in natural populations of anurans in the Tatarstan Republic. pp 105-111. In: VERSHININ, V. L. & DJUBUYA, A. & HENLE K. & PUKY M. (Eds.): Anomalii i patologii amfibii i reptilii [Аномалии и патологии амфибий и рептилий : методология, эволюционное значение, возможность оценки здоровья среды]. Ekaterinburg (Uralskii Federalnii Universitet).

KEY WORDS: Amphibia: Anura: Ranidae; *Pelophylax kl. esculentus*, malformation, teratology, monophthalmia, anophthalmia; veterinary medicine, Czech Republic

SUBMITTED: January 31, 2018

AUTHORS: Tomáš HOLER (Corresponding author < holer.tomas@gmail.com >) <sup>1)</sup> & Daniel KOLESKA <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, Praha 6 - Suchbátov, 165 00, Czech Republic.

<sup>2)</sup> Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiological Sciences, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, Praha 6 – Suchbátov, 165 00, Czech Republic.

**4.1.2. Koleska, D., & Jablonski, D. 2016. Two cases of unclear hindlimb malformation in *Bombina variegata*. *Ecologica Montenegrina*, 9: 56-58.**

V tomto článku prezentujeme dvě pozorování malformace končetiny u kuňky žlutobřiché (*Bombina variegata*). První nález byl učiněn v roce 2014 v jižní Albánii pod horou Shëndelli. Druhý nález pochází z roku 2016, kdy jsme pozorovali podobný případ u kuňky v Lacul Poiana Mărului v Rumunsku. Ač jsou obě lokality značně vzdáleny, jsou si pozorování velmi podobná. U obou případů jsme identifikovali tzv. ektromelii (zkrácení či nedostatečné vyvinutí) kostí – v prvním případě femuru a tibiofibuly, v druhém případě calcania a talu. V obou případech byl zbytek končetiny formován v jakýsi špičatý výrůstek, kloubní spojení bylo funkční. Oba jedinci byli opět ve velmi dobrém stavu a nejevili žádné známky zranění či podvýživy. Dá se tedy předpokládat, že zdárně unikali predátorům a dokázali si obstarat potravu. Podobná pozorování popsal již dříve např. Meteyer et al. (2000) u severoamerického skokana *Rana pipiens* či Hoppe (2000).



## Two cases of unclear hindlimb malformation in *Bombina variegata*

DANIEL KOLESKA<sup>1</sup> & DANIEL JABLONSKI<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiological, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 00, Praha, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Zoology, Comenius University in Bratislava, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15, Bratislava, Slovakia.

\*Corresponding author: Daniel Jablonski; e-mail: [daniel.jablonski@balcanica.cz](mailto:daniel.jablonski@balcanica.cz)

Received 30 November 2016 | Accepted 28 December 2016 | Published online 30 December 2016

Limb malformations in anurans are recently frequently reported worldwide (e. g. Ouellet 2000, Sessions 2003, Mónico *et al.* 2016, Sousa & Costa-Campos 2016). Although malformations are unlikely to cause major population declines, this problem might represent an emerging threat (Hoppe 2000). Herein we report noticeable limb malformations at *Bombina variegata* (Linnaeus, 1758), a small anuran species found throughout most of central and southern Europe from France through Balkans to southern Greece (Sillero *et al.* 2014). It occurs mostly on disturbed sunny habitats of temporary character such as flooded wheelrutts, cattle troughs or drainage ditches (Speybroeck *et al.* 2016).



**Figure 1.** Observed individuals of *Bombina variegata* with a hind limb malformations from Shëndelli Mts., Albania: (A) ventral view, (B) dorsal view; and Lacul Poiana Mărului, Romania: (C) ventral view, (D) dorsal view.



On 28<sup>th</sup> June 2014 in a small pond of the foothills of Shëndelli Mts., southern Albania (40.379°N, 20.030°E, 776 m elev.), we observed an adult female of *B. variegata* with a malformation of the right hind limb (Fig. 1A, B). Ectromelia of femur and tibiofibula with a presumably functional joint was present. Tarsal bones and digits were completely missing. Posterior part of the limb was shaped into a point with a tip part of soft tissue. Despite this malformation, observed individual was in a good nutritional condition, fully mobile, without any other visible injuries.

Second observation was made on 16<sup>th</sup> June 2016 near a road leading to Lacul Poiana Mărului (45.428°N, 22.466°E, 523 m elev.), Romania. We found an adult female of *B. variegata* with a limb malformation very similar to the one described above (Fig. 1C, D). Ectromelia of calcaneum and talus on the left hind limb was present. Digits were completely missing. Again, posterior part of the limb was shaped into a point with a tip part of soft tissue. Although malformed, this adult female seemed, again, to be capable of regular feeding, according to its nutritional condition. No additional injuries were present. Many more individuals (>50) of *B. variegata* were observed on the locality but none were malformed such as the one described.

Missing or malformed limbs as one of the most common anuran deformities (Ballengée & Sessions 2009) are considered to be a result of various possible teratogenous causes. Ouellet *et al.* (1997) and Lannoo (2008) discuss environmental pollution by pesticides and other chemicals used in agriculture as one of the factors causing malformed body parts during amphibian ontogenesis. Blaustein *et al.* (1997) proved UV-B radiation to be causing deformities of anuran embryos. Johnson *et al.* (1999) and Kiesecker (2002) blame parasitic infestation by trematodes for incorrect limb development; and there are other suggested causes discussed such as microbes or other diseases (Sessions & Ruth 1990). It was proven that some anuran species develop body malformations caused by nitrogenous fertilizers during larval stage and these deformities affect their movement after metamorphosis (e. g. Marco *et al.* 1999). However, missing part of a hind limb could be also caused by previous attempt of predation (Ballengée & Sessions 2009). The Yellow-bellied toad has several potential predators such as mammals, water birds, reptiles (Bajger 1980) or even invertebrates such as *Aeshna cyanea* (Vorndran *et al.* 2002) preying on tadpoles. Notwithstanding, in our records is remarkable a shape of the posterior parts of the malformed limbs; both are formed into a point. Considering this shape and similar previous findings of Meteyer *et al.* (2000), we may presume that the limbs were exposed to the teratogenous factor before metamorphosis. However, missing parts of limbs are obviously difficult to interpret due to various possible causes. Therefore we cannot be certain which factor (or factors) caused malformations we observed. Nevertheless, we lean to the environmental pollution by chemicals used in agronomy as a presumed cause of the origin.

**Acknowledgments.** We are very thankful to J. Christophoryová and D. Grul'a for their help during the fieldwork and to one anonymous reviewer for his corrections. This work was supported by Scientific Grant Agency of the Slovak Republic VEGA 1/0073/14 and by the Slovak Research and Development Agency under the contract no. APVV-0147-15.

## References

- Bajger, J. (1980) Diversity of defensive responses in populations of fire toads (*Bombina bombina* and *Bombina variegata*). *Herpetologica*, 133–137.
- Ballengée, B. & Sessions, S. K. (2009) Explanation for missing limbs in deformed amphibians. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 312 (7), 770–779.
- Blaustein, A. R., Kiesecker, J. M., Chivers, D. P. & Anthony, R. G. (1997) Ambient UV-B radiation causes deformities in amphibian embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94 (25), 13735–13737.
- Hoppe, D. M. (2000) History of Minnesota frog abnormalities: do recent findings represent a new phenomenon? *Journal of the Iowa Academy of Science*, 107, 86–89.
- Johnson, P. T., Lunde, K. B., Ritchie, E. G. & Launer, A. E. (1999) The effect of trematode infection on amphibian limb development and survivorship. *Science*, 284 (5415), 802–804.
- Kiesecker, J. M. (2002) Synergism between trematode infection and pesticide exposure: a link to amphibian limb deformities in nature? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99 (15), 9900–9904.

HINDLIMB MALFORMATION IN BOMBINA VARIEGATA

- Lannoo, M. (2008) The collapse of aquatic ecosystems: malformed frogs. University of California Press, Berkeley, 288 pp.
- Marco, A., Quilchano, C. & Blaustein, A. R. (1999) Sensitivity to nitrate and nitrite in pond-breeding amphibians from the Pacific Northwest, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18 (12), 2836–2839.
- Meteyer, C. U., Loeffler, I. K., Fallon, J. F., Converse, K. A., Green, E., Helgen, J. C., Kersten, S., Levey, R., Eaton-Poole, L. & Burkhart, J. G. (2000) Hind limb malformations in free-living northern leopard frogs (*Rana pipiens*) from Maine, Minnesota, and Vermont suggest multiple etiologies. *Teratology*, 62 (3), 151–171.
- Mônico, A. T., Silva-Soares, T. & Clemente-Carvalho, R. B. G. (2016) *Pipa carvalhoi* (Carvalho's Surinam Toad; Sapó d'água). Hindlimb malformation. *Herpetological Review*, 47 (1), 115.
- Ouellet, M., Bonin, J., Rodrigue, J., DesGranges, J. L., & Lair, S. (1997) Hindlimb deformities (ectromelia, ectrodactyly) in free-living anurans from agricultural habitats. *Journal of wildlife diseases*, 33 (1), 95-104.
- Ouellet, M. (2000) Amphibian deformities: current state of knowledge. 617–661. In: *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. D. W. Sparling, G. Linder, and C. A. Bishop (eds.). Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola, Florida.
- Sessions, S. K. & Ruth, S. B. (1990) Explanation for naturally occurring supernumerary limbs in amphibians. *Journal of Experimental Zoology*, 254 (1), 38–47.
- Sessions, S. K. (2003) What is causing deformed amphibians? 168–186. In: *Amphibian Conservation*. R. D. Semlitsch (ed.). Smithsonian Institution, Washington, D.C. 324 pp.
- Sillero, N., Campos, J., Bonardi, A., Corti, C., Creemers, R., Crochet, P.-A., Crnobrnja-Isailović, J., Denoël, M., Ficetola, G. F., Gonçalves, J., Kuzmin, S., Lymberakis, P., de Pous, P., Rodríguez, A., Sindaco, R., Speybroeck, J., Toxopeus, B., Vieites, D. R. & Vences, M. (2014) Updated distribution and biogeography of amphibians and reptiles of Europe. *Amphibia-Reptilia*, 35 (1), 1–31.
- Sousa, C. J. & Costa-Campos, C. E. (2016) *Leptodactylus podicipinus* (Pointedbelly Frog). Malformations. *Herpetological Review*, 47 (1), 112-113.
- Speybroeck, J., Beukema, W., Van Der Voort, J., Velikov, I. & Bok, B. (2016) *Field Guide to the Amphibians and Reptiles of Britain and Europe*. Bloomsbury Publishing. 432 pp.
- Vorndran, I. C., Reichwaldt, E. & Nürnberger, B. (2002) Does differential susceptibility to predation in tadpoles stabilize the *Bombina* hybrid zone? *Ecology*, 83 (6), 1648-1659.

## 4.2 Malformace plazů

### **4.2.1 Koleska, D., & Jablonski, D. 2018. A four-tailed *Iguana delicatissima* (Squamata: Iguanidae) on Petite Terre, Guadeloupe (Lesser Antilles, Caribbean region). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 17(1): 157-159.**

Na základě dříve publikovaných prací (viz další práce) o malformacích ocasu u ještěřů, jsme obdrželi fotografii leguána jedlého (též „chutného“, *Iguana delicatissima*) z ostrova Petite Terre, Guadeloupe. Pozorovatelé (F. Soto a F. Hedin) nás požádali o potvrzení, že se jedná o několikanásobné rozdělení ocasu, tzv. furkaci. Pozorován byl nedospělý jedinec *I. delicatissima* s ocasem rozděleným na celkem 4 větve – 3 z nich byly poměrně dlouhé, 1 kratší s tupým zakončením. Fotografie jedince je špatné kvality, jelikož při přiblížení pozorovatelů došlo k jeho útěku. Příčinu vzniku několikanásobného rozvětvení ocasu není možné stanovit bez bližšího prozkoumání. Nicméně pro rod *Iguana* bylo takové pozorování popsáno vůbec poprvé.

SHORT COMMUNICATION

## A four-tailed *Iguana delicatissima* (Squamata: Iguanidae) on Petite Terre, Guadeloupe (Lesser Antilles, Caribbean Region)

Daniel Koleska<sup>1</sup> and Daniel Jablonski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiological Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Czech Republic. E-mail: [koleska@af.czu.cz](mailto:koleska@af.czu.cz).

<sup>2</sup> Department of Zoology, Comenius University in Bratislava, Ilkovičova 6, Mlynská dolina, 842 15, Bratislava, Slovakia. E-mail: [daniel.jablonski@balcanica.cz](mailto:daniel.jablonski@balcanica.cz).

**Keywords:** Lesser Antillean Iguana, lizard, malformation, regeneration, supernumerary tail.

**Palavras-chave:** iguana-das-antilhas-menores, lagartos, malformação, múltiplas caudas, regeneração.

The Lesser Antillean Green Iguana, *Iguana delicatissima* Laurenti, 1768 occurs on 10 main islands of the northern Lesser Antilles (Knapp 2007). Because it is restricted to this relatively small area, the species survival is threatened by several factors such as habitat loss, traffic and hunting (Debrot and Boman 2014), as well as predation by domestic dogs and cats. Also, there is opportunistic hybridization with introduced *I. iguana* (Linnaeus, 1758) that results in fertile descendants (Vuillaume *et al.* 2015). The population of *I. delicatissima* on the Petite Terre Islands is important given the absence of *I. iguana* and therefore, the lack of hybridization (Breuil 2002).

We received a picture of an *Iguana delicatissima* with an oddly shaped tail. The photograph (Figure 1) was taken on 12 December 2017 around 11:00 h during a field trip on Petite Terre, Guadeloupe (16.171° N, 61.109° W; 5 m a.s.l.) by François Soto and Fanny Hedin. Given the poor quality of the photograph, we may only assume that the individual was a subadult (considering the height of the dorsal crest, bright green coloration and size of the head) of indistinguishable sex. The tail was clearly malformed into four branches. Three of them were long (approximately the size of a regular tail) and the fourth one was short and with a blunt tip. According to the observers, the individual did not look malnourished and lacked other visible deformations. It stayed almost completely still on the branch during the whole observation (ca. 10 min) until the observers approached it, whereupon it escaped. The animal was not manipulated in any way.

Received 02 February 2018  
Accepted 21 March 2018  
Distributed June 2018





**Figure 1.** The observed individual of *Iguana delicatissima* on Petite Terre, Guadeloupe. (A) Overview, (B) closer view of the malformation with a contour of the four tail branches that are also marked by numbers (1–4) from the basal split (1) to the most distant tail branch (4).

Supernumerary tails occur in lizards rather frequently. Two-branched tail malformations are called bifurcations and these have been reported in many lizard families (e.g., Koleska *et al.* 2017 and literature cited therein). Records of tail malformations with three branches (trifurcations) are more scarce (e.g., Koleska and Jablonski 2015, Passos *et al.* 2016) and malformations with more than four tails are rare (e.g., Mata-Silva *et al.* 2010, Pelegrin and Leão 2016).

Supernumerary tail malformations are usually thought to result from previous injury or an incomplete tail autotomy (Lynn 1950). Although some think that Iguanidae lack tail autotomy (e.g., Bateman and Fleming 2009), others, based on studies of skeletal adaptations, have provided evidence that members of the family Iguanidae can lose their tails during early development stages but lose this ability with age (Etheridge 1967). Therefore, the *I. delicatissima* observed may have suffered a non-specified tail injury as a juvenile. Moreover, tail breaks in iguanids can occur for several possible reasons: (1)

intraspecific aggression (Pérez-Buitrago *et al.* 2010) owing to crowding; (2) sexual aggression during mating (Iverson *et al.* 2004); or (3) failed predation attempts (Hayes *et al.* 2012) and incomplete tail autotomy (Pelegrin and Leão 2016). According to the observers, there were many *I. delicatissima* seen across the island. Although we may only guess the precise origin of this malformation, we suspect that intraspecific aggression may have contributed to this malformation. This is the first record of a supernumerary tail malformation for the genus *Iguana*.

*Acknowledgments.*—We thank François Soto and Fanny Hedin for sharing this remarkable observation with us. We also thank Linda Trueb and three anonymous reviewers for their comments that improved the quality of our manuscript. This work was supported by the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA) through Project N° 20172002. 🐸

---

## References

- Bateman, P. W. and P. A. Fleming. 2009. To cut a long tail short: a review of lizard caudal autotomy studies carried out over the last 20 years. *Journal of Zoology* 277: 1–14.
- Breuil, M. 2002. *Histoire Naturelle des Amphibiens et Reptiles Terrestres de l'Archipel Guadeloupéen: Guadeloupe, Saint-Martin, Saint-Bathélemy*. Paris. Publications Scientifiques du Muséum National d'Histoire Naturelle, France. 348 pp.
- Debrot, A. O. and E. B. Boman. 2014. *Iguana delicatissima* (Lesser Antillean Iguana). Mortality. *Herpetological Review* 45: 129.
- Etheridge, R. 1967. Lizard caudal vertebrae. *Copeia* 1967: 699–721.
- Hayes, W. K., J. B. Iverson, C. R. Knapp, and R. L. Carter. 2012. Do invasive rodents impact endangered insular iguana populations? *Biodiversity and Conservation* 21: 1893–1899.
- Iverson, J. B., G. R. Smith, and L. Pieper. 2004. Factors affecting long-term growth of Allen Cays Rock Iguana in the Bahamas. Pp. 176–192 in A. C. Alberts, R. L. Carter, W. K. Hayes, and E. P. Martins (eds.), *Iguanas: Biology and Conservation*. Berkeley. University of California Press.
- Koleska, D. and D. Jablonski. 2015. Tail trifurcation recorded in *Algyroides nigropunctatus* (Duméril and Bibron, 1839). *Ecologica Montenegrina* 3: 26–28.
- Koleska, D., V. Svobodová, T. Husák, M. Kulma, and D. Jablonski. 2017. Tail bifurcation recorded in *Sauromalus ater*. *Herpetology Notes* 10: 363–364.
- Knapp, C. 2007. Ecology and conservation of the Lesser Antillean Iguana (*Iguana delicatissima*). *Iguana* 14: 223–225.
- Lynn, W. G. 1950. A case of duplication of the tail in *Plethodon*. *Herpetologica* 6: 81–84.
- Mata-Silva, V., A. Rocha, A. Gandara and J. D. Johnson. 2010. *Cophosaurus texanus* (Greater Earless Lizard). Multiple tails. *Herpetological Review* 41: 352–353.
- Passos, D. C., P. H. M. Fonseca, P. R. R. Vivar, C. Y. Kanayama, V. P. A. Teixeira, and A. G. Martinelli. 2016. Tail trifurcation in the lizard *Salvator merianae* (Squamata: Teiidae) investigated by computer tomography. *Phyllomedusa* 15: 79–83.
- Pelegri, N. and S. M. Leão. 2016. Injured *Salvator merianae* (Teiidae) regenerates six tails in central Argentina. *Cuadernos de Herpetología* 30: 21–23.
- Pérez-Buitrago, N., A. M. Sabat, and W. O. McMillan. 2010. Spatial Ecology of the Endangered Mona Island Iguana *Cyclura cornuta stejnegeri*: does territorial behavior regulate density? *Herpetological Monographs* 24: 86–110.
- Vuillaume, B., V. Valette, O. Lepais, F. Grandjean, and M. Breuil. 2015. Genetic evidence of hybridization between the endangered native species *Iguana delicatissima* and the invasive *Iguana iguana* (Reptilia, Iguanidae) in the Lesser Antilles: management implications. *PloS ONE* 10: e0127575.

Editor: Jaime Bertoluci

**4.2.2 Koleska, D., & Jablonski, D. 2015. Tail trifurcation recorded in *Algyroides nigropunctatus* (Duméril & Bibron, 1839). *Ecologica Montenegrina*, 3: 26-28.**

Během herpetologické expedice do Kosova v roce 2015 jsme pozorovali vůbec první případ trifurkace u paještěrky dalmatské (*Algyroides nigropunctatus*) v okolí obce Dedaj v jihozápadní části Kosova. Po bližším prozkoumání odchyceného jedince (samec) jsme zjistili, že má ocas přibližně 10 mm za kloakou rozdělen do 3 větví. Nejdelší z ocasů měřil přibližně 30 mm, další 15 mm a poslední 10 mm. Původní ocas byl úplně oddělen. Žádné další známky zranění jsme na těle nepozorovali a jedince vypustili na místě nálezu. V souladu s poznatky Lorenza Alibardiho (2010), došlo ke vzniku trifurkace pravděpodobně drtivým zraněním ocasu v místě roztržení a následnému rozdrčení míchy.



## Tail trifurcation recorded in *Algyroides nigropunctatus* (Duméril & Bibron, 1839)

DANIEL KOLESKA<sup>1</sup> & DANIEL JABLONSKI<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, CZ-165 21 Praha, Czech Republic<sup>2</sup>Department of Zoology, Comenius University in Bratislava, Mlynská dolina B-1, 842 15, Bratislava, Slovakia.\*Corresponding author: Daniel Jablonski; e-mail: [daniel.jablonski@balcanica.cz](mailto:daniel.jablonski@balcanica.cz)

Received 13 July 2015 | Accepted 18 August 2015 | Published online 21 August 2015.

The Dalmatian *Algyroides*, *Algyroides nigropunctatus* (Duméril & Bibron, 1839), is a diurnal lizard belonging to the family Lacertidae. It occurs on the coasts of the Adriatic and Ionian seas from easternmost part of Italy (Istria) to southern Greece (Sillero *et al.* 2014). This species inhabits coastal areas as well as inland mountain regions, mainly in central-western Balkans (Albania, southern parts of Serbia/Kosovo – Metohija, eastern Macedonia and eastern Montenegro; Ajtić *et al.* 2005, Urošević *et al.* 2015) which reflects the strong influence of Mediterranean climate on these areas.

As other lacertid lizards, *A. nigropunctatus* uses caudal autotomy as widespread strategy to avoid being predated (Bateman & Fleming 2009; Pafilis *et al.* 2009). Bifurcation or more rarely trifurcation of tail is occasionally observed as a probable result of previous injury possibly caused by predation, not by developmental tail deformity (Lynn 1950). There are several previous records of tail bifurcation in lacertid lizards (e.g. Tamar *et al.* 2013; Dudek & Ekner-Grzyb 2014) and also in other families – e.g. Anguillidae (Conzendei *et al.* 2013) or Gekkonidae (Kumbar *et al.* 2011). Natural tail trifurcation in lizards seems to be more exceptional as there is few records in available literature (e.g. Pheasey *et al.* 2014).

On June 7th 2015 between 11.00 h and 12.00 h of local time we recorded and captured an adult *A. nigropunctatus* male (Fig. 1A) basking on a rocky place close to Dedaj village, Metohija, Serbia/Kosovo (42.28528°N 20.55711°E, 332 m a.s.l., DM68 in the 10 x 10 UTM geographic coordinate grid system – new locality record sensu Urošević *et al.* 2015). After a closer examination of the individual we found out that it has trifurcated tail. The tail was trifurcated approximately 10 mm posterior to the cloaca (Fig. 1B, C). The longest tail measured approximately 30 mm. The second longest tail measured approximately 15 mm with a smaller third tail growing from its base and measuring approximately 10 mm. The individual was in good condition without other deformities or injuries. As far as we know there are no other previously observed cases of tail trifurcation in this species. Total number of individuals observed on the locality was two adults.

As expected, tail bifurcation or trifurcation is usually considered as a result of previous injury caused by predation (Lynn 1950) and is probably relatively common deformity in species using tail autotomy. Most frequently, a predator may cause an injury but the tail sometimes stays attached which subsequently causes an incomplete caudal autotomy. This injury might be extensive enough to start the regeneration process and growing of a new tail in the place of injury while the original tail stays attached (Dudek & Ekner-Grzyb 2014). However, our specimen seemed to have its original tail completely removed considering different scalation on all of its regenerated tails (Fig. 1B, C). Alibardi (2010) describes an experiment leading into a formation of supernumerary tail using autotransplantation of spinal cord and ependyma (for details see the article). Spinal cord seems to be the essential element promoting the process of regeneration in supernumerary tail formations in natural conditions in reptiles (Evans & Bellairs 1983). We cannot be sure



which one of the two mechanisms described above was present during formation of this specific tail trifurcation and whether there were some other factors included. However considering findings of Alibardi (2010) we expect that specimen we observed could have suffered a major crushing injury resulting in fragmentation of the vertebrae and subsequent separation of individual regenerating tails. There are also records of bifurcated tails of approximately even length ("twin" tails) (Mitchell *et al.* 2012; Cordes & Walker 2013) which may indicate complete loss of original tail as well. However, the specimen was not collected and preserved therefore we cannot proceed with further examination by x-ray.



**Figure 1.** Recorded specimen of *Algyroides nigropunctatus* with trifurcated tail. A - overall view in natural condition; B - ventral view; C - dorsal view.

**Acknowledgments**

We would like to thank two anonymous reviewers for their comments.

**References**

- Ajtić, R., Tomović, L., Aleksić, I., Crnobrnja-Isailović, J. (2005) New Records of Dalmatian *Algyroides nigropunctatus* (Dumeril and Bibron, 1839) (Lacertidae) in Montenegro with Comment on its Conservation Status. *Acta Zoologica Bulgarica*, 57 (3), 385–390.
- Alibardi, L. (2010) Morphological and Cellular Aspects of Tail and Limb Regeneration in Lizards: A Model System with Implications for Tissue Regeneration in Mammals. *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology*, 207, 1–109.
- Bateman, P. W. & Fleming, P. A. (2009) To cut a long tail short: a review of lizard caudal autotomy studies carried out over the last 20 years. *Journal of Zoology*, 277, 1–14.
- Conzendey, P., Campos, S. P. S., Lanna, F. M., De Amorim, J. D. C. G. & De Sousa, B. M. (2013) *Ophiodes striatus* (Striped Worm Lizard). Bifurcated tail. *Herpetological Review*, 44 (1), 145–146.
- Cordes, J. E. & Walker, J. M. (2013) *Aspidoscelis velox* (Plateau Striped Whiptail). Bifurcation. *Herpetological Review*, 44 (2), 319.
- Dudek, K. & Ekner-Grzyb, A. (2014) Field observation of two-tailed sand lizard *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758 and a common lizard *Zootoca vivipara* (Jacquin, 1787) in Poland. *Natura Sloveniae*, 16 (1), 65–66.
- Evans, S. E. & Bellairs, A. D. (1983) Histology of a triple tail regenerate in a gecko, *Hemidactylus persicus*. *British Journal of Herpetology*, 6, 319–322.
- Kumbar, S. M., Ghadage, A. B. & Shendage, V. M. (2011) *Hemidactylus flaviviridis* (House Gecko). Bifurcation. *Herpetological Review*, 42 (1), 94.
- Lynn, W. G. (1950) A case of duplication of the tail in *Plethodon*. *Herpetologica*, 6, 81–84.
- Mitchell, J. C., McDaniel, W. & McDaniel, J. (2012) *Plestiodon inexpectatus* (Southeastern Five-lined Skink). Bifurcation. *Herpetological Review*, 43 (4), 650.
- Pafilis, P., Foufopoulos, J., Poulakakis, N., Lymberakis, P. & Valakos, E. D. (2009) Tail shedding in island lizards [Lacertidae, Reptilia]: Decline of antipredator defenses in relaxed predation environments. *Evolution*, 63 (5), 1262–1278.
- Pheasey, H., Smith, P., Brouard, J. P. & Atkinson, K. (2014) *Vanzosaura rubricauda* (Red-tailed Vanzosaur). Bifurcation and trifurcation. *Herpetological Review*, 45 (1), 138–139.
- Sillero, N., Campos, J., Bonardi, A., Corti, C., Creemers, R., Crochet, P.-A., Crnobrnja-Isailović, J., Denoël, M., Ficetola, G. F., Gonçalves, J., Kuzmin, S., Lymberakis, P., de Pous, P., Rodríguez, A., Sindaco, R., Speybroeck, J., Toxopeus, B., Vieites, D. R. & Vences, M. (2014) Updated distribution and biogeography of amphibians and reptiles of Europe. *Amphibia-Reptilia*, 35 (1), 1–31.
- Tamar, K., Maza, E. & Meiri, S. (2013) *Ophisops elegans* (Snake-Eyed Lizard). Bifurcation. *Herpetological Review*, 44 (1), 146.
- Urošević, A., Ljubisavljević, K., Tomović, L., Krizmanić, I., Ajtić, R., Simović, A., Labus, N., Jović, D., Golubović, A., Anđelković, M. & Džukić, G. (2015) Contribution to the knowledge of distribution and diversity of lacertid lizards in Serbia. *Ecologica Montenegrina*, 2 (3), 197–227.

**4.2.3 Koleska, D. 2018. First record of tail bifurcation in *Asaccus gallagheri* from the United Arabian Emirates. *Herpetology Notes*, 11: 115-116.**

Podobný případ jako u paještěrky dalmatské byl pozorován v roce 2017 u gekona *Asaccus gallagheri* ve Spojených Arabských Emirátech. Dva samci *A. gallagheri* byli krátce pozorováni na skalní stěně v údolí Wadi Shawkah, kde byly rovněž pozorovány další druhy plazů - např. zmije ománská (*Echis omanensis*), gekon *Trachydactylus hajarensis* či denní gekoni *Pristurus rupestris* a *P. celerimus*. Samec *A. gallagheri* s bifurkací ocasu byl vyfotografován bez další manipulace. Ocas byl rozdvojen přibližně v polovině délky na dvě větve (přibližně 30 a 25 mm). Obě měly žluté zbarvení, jak je u samců tohoto druhu běžné. Podle Pérez-Buitrago et al. (2010) jsou bifurkace ocasu běžné u druhů, které se vyskytují ve vysoké populační hustotě, a hrozí proto větší riziko vnitrodruhové agrese a následného zranění.

## First record of tail bifurcation in *Asaccus gallagheri* from the United Arab Emirates

Daniel Koleska<sup>1,\*</sup>

The genus *Asaccus* Dixon & Anderson 1973 (formerly *Phyllodactylus* Gray, 1828) includes Middle Eastern geckos of small or medium size. These nocturnal geckos have a slender body composition, paired terminal scancers in the digits that lack lamellae, are without femoral or preanal pores and the left oviduct and therefore lay only one egg at a time (Carranza et al., 2016). The systematics of the genus is not yet fully understood. This genus for nearly 20 years comprised only three species. However, research performed in the last two decades increased the number of species to current 18 (see Carranza et al., 2016 and citations therein). Four species are recently recognised in the UAE (Carranza et al., 2016), where *A. gallagheri* was the most commonly encountered during our fieldwork. *Asaccus gallagheri* is endemic to the Hajar Mountains in the eastern part of the country and can be found on sites at the sea level up to 1700 m a. s. l. (Gardner, 2013).

On January 11th, 2017 at around 2130 local time, I observed two individuals (both adult males) of *A. gallagheri* in Wadi Shawkah (25.102 °N 56.052 °E, 301 m a. s. l.), Ras al-Khaimah, United Arab Emirates, during a brief herpetological surveillance. The site was represented by a steep rocky slope without vegetation and with numerous cracks providing potential shelter. A water dam was present in the near surroundings. One of the observed individuals had a tail bifurcation (Fig. 1). The tail was forked approximately 30 mm posterior to the cloaca. The tails were approximately 30 and 25 mm long. One of the tails held a small residue of shed skin and had a grey colouration on the tip. Both tail branches were otherwise yellow-coloured as the rest of the

original part of the tail. Despite this malformation, the observed individual seemed to be in a good nutritional state without any other visible injuries. At the site, I also observed *Trachydactylus hajarensis*. During the day the site was occupied by the geckos of the genus *Pristurus* – namely *P. rupestris* and *P. celerimus*.

Tail bifurcations are considered to be a result of previous injuries (Lynn, 1950). According to Alibardi (2010), such deformities may be caused by an incomplete caudal autotomy and due to crushed spinal cord and ependyma within the tail. These malformations are rather frequent among lizards and are recorded in the families Agamidae (e.g. Ananjeva and Danov, 1991), Anguidae (e.g. Conzendei et al., 2013), Gekkonidae (e.g. Kumbar et al., 2011), Gymnothelmididae (e.g. Pheasey et al., 2014), Iguanidae (e.g. Mata-Silva et al., 2013), Lacertidae (e.g. Koleska and Jablonski, 2015), Mabuyidae (e.g. Vrcibradic and Niemeyer, 2013), Scincidae (e.g. Mitchell et al., 2012), Teiidae (e.g. Pelegrin and Leão, 2016) and Tropiduridae (e.g. Passos



Figure 1. Individual of *Asaccus gallagheri* with a bifurcated tail.

<sup>1</sup> Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 00, Praha, Czech Republic

\* Corresponding author. E-mail: koleska@af.czu.cz



et al., 2014). However, tail malformations apparently occur more often in lizard populations with higher densities (e.g. Pérez-Buitrago et al., 2010) and therefore with a higher chance of intraspecific interactions such as male-male competition or fights over food resources. Records of bifurcation in *A. gallagheri* are therefore noteworthy since population densities are usually rather low in this species. Moreover, as far as I am aware, this is the first record of tail bifurcation in this species.

**Acknowledgements.** I am very grateful to V. Vita for providing the photograph and also to J. Dohnal for his great help and amusing company during the fieldwork. This work was supported by the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA) through Project No. 20172002.

## References

- Alibardi, L. (2010): Morphological and Cellular Aspects of Tail and Limb Regeneration in Lizards: A Model System with Implications for Tissue Regeneration in Mammals. *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology* **207**: 1-109.
- Ananjeva, N.B., Danov, R.A. (1991): A rare case of bifurcated caudal regeneration in the Caucasian agama, *Stellio caucasicus*. *Amphibia-Reptilia*, **12**: 343-349.
- Carranza, S., Simó-Riudalbas, M., Jayasinghe, S., Wilms, T., Els, J. (2016): Microendemism in the northern Hajar Mountains of Oman and the United Arab Emirates with the description of two new species of geckos of the genus *Asaccus* (Squamata: Phyllodactylidae). *PeerJ* **4**: e2371. <https://doi.org/10.7717/peerj.2371>
- Conzendey, P., Campos, S.P.S., Lanna, F.M., De Amorim, J.D.C.G., De Sousa, B.M. (2013): *Ophiodes striatus* (Striped Worm Lizard). Bifurcated tail. *Herpetological Review*. **44**: 145-146.
- Gardner, A.S. (2013): The Amphibians and Reptiles of Oman and the UAE. Ed. Chimaira. Frankfurt am Main.
- Koleska, D., Jablonski, D. (2015): Tail trifurcation recorded in *Algyroides nigropunctatus* (Duméril & Bibron, 1839). *Ecologica Montenegrina*. **3**: 26-28.
- Kumbar, S.M., Ghadage, A.B., Shendage V.M. (2011): *Hemidactylus flaviviridis* (House Gecko). Bifurcation. *Herpetological Review*. **42**: 94.
- Mitchell, J.C., McDaniel, W., McDaniel, J. (2012): *Plestiodon inexpectatus* (Southeastern Five-lined Skink). Bifurcation. *Herpetological Review*. **43**: 650.
- Pérez-Buitrago, N., Sabat, A.M., McMillan, W.O. (2010): Spatial Ecology of the Endangered Mona Island Iguana *Cyclura cornuta stejnegeri*: Does Territorial Behavior Regulate Density?. *Herpetological Monographs*. **24**: 86-110.
- Pheasey, H., Smith, P., Brouard, J.-P., Atkinson, K. (2014): *Vanzosaura rubricauda* (Red-tailed Vanzosaur). Bifurcation and Trifurcation. *Herpetological Review*. **45**: 138-139.



**4.2.4 Koleska, D., Svobodova, V., Husák, T., Kulma, M., & Jablonski, D. 2017. Tail bifurcation recorded in *Sauromalus ater*. Herpetology Notes, 10: 363-364.**

Další případ bifurkace (rozdvojeného ocasu) jsme zaznamenali u čukvaly zavalité (*Sauromalus ater*) chované v Zooparku Zájezd v ČR. Čukvalu zoopark obdržel společně s dalším jedincem v roce 2015 z importu. U dospělé samice byla na první pohled patrná malformace ocasu, který byl evidentně zkrácený a v místě oddělení původní části rozdělen na 2 části (18 a 7 mm). Celková délka samice od hlavy ke kloace (SVL) činila 123 mm. Délka ocasu (od kloaky) činila 107 mm. Nutriční stav zvířete byl velmi špatný a bohužel do několika týdnů uhynula. Jedná se o první záznam bifurkace ocasu pro tento druh.

## Tail bifurcation recorded in *Sauromalus ater*

Daniel Koleska<sup>1,\*</sup>, Veronika Svobodová<sup>1</sup>, Tomáš Husák<sup>1</sup>, Martin Kulma<sup>1</sup> and Daniel Jablonski<sup>2</sup>

*Sauromalus ater* Duméril, 1856 is a desert member of the family Iguanidae distributed in the Sonoran and Mojave deserts in southwestern United States and northwestern Mexico, where it inhabits rocky flats and hillsides. It reaches a total length of approximately 50 cm, while the tail may reach half of this length. Herein, we report a case of tail bifurcation in an imported individual of *S. ater* held in captivity in Zoopark Zájezd, Zájezd, Czech Republic, recorded in this species for the first time.

On 24 October 2015 staff of Zoopark Zájezd received a shipment of two imported individuals of *S. ater*. One of the individuals (an adult female) had a bifurcated tail (Fig. 1A). According to the importer, the individual was already caught with this anomaly. The bifurcation was located 89 mm posterior to the cloaca. The supernumerary tails were of different length (Fig. 1B). The longer tail measured 18 mm while the shorter tail was 7 mm long. Snout-to-vent length (SVL) of the individual was 123 mm, vent-to-tail length (VTL) was 107 mm. Although the individual was in poor nutritional condition, it had no other visible malformations or injuries.

Tail bifurcation is considered to be a frequent malformation among lizards and is recorded in families Agamidae (Ananjeva and Danov, 1991), Anguillidae (Conzendey et al., 2013), Gekkonidae (Kumbar et al., 2011), Gymnophthalmidae (Pheasey et al., 2014), Iguanidae (Mata-Silva et al., 2013), Lacertidae (Dudek and Ekner-Grzyb, 2014; Tamar et al., 2013), Mabuyidae (Vrcibradic and Niemeyer, 2013), Scincidae (Mitchel et al., 2012), Teiidae (Pelegrin and Leão, 2016; Cordes

and Walker, 2013), Tropiduridae (Passos et al., 2014; Martins et al., 2013). Supernumerary tails are considered to be a result of a previous injury rather than congenital malformation (Lynn, 1950). Although e.g., Bateman and Fleming (2009) mention that caudal autotomy appears



Figure 1. Individual of *Sauromalus ater* with a bifurcated tail.

<sup>1</sup> Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 00, Praha, Czech Republic

<sup>2</sup> Department of Zoology, Comenius University in Bratislava, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15, Bratislava, Slovakia

\* Corresponding author e-mail: koleska@af.czu.cz

to be absent in the Iguanidae, there are several recent records of supernumerary tail malformations of lizards belonging to this family; e.g., *Cophosaurus texanus* (Mata-Silva *et al.*, 2010), *Cyclura carinata*, *C. cychlura*, *C. rileyi* (Hayes *et al.*, 2012) or *Urosaurus bicarinatus* (Mata-Silva *et al.*, 2013). Etheridge (1967) noted that juveniles of *Iguana iguana* have skeletal adaptations allowing tail autotomy, which disappear as they grow older and reach maturity. Therefore we presume that our specimen suffered a tail injury during an early stage of its life and the tail bifurcation developed as a result. Tail breaks in Iguanidae are considered as outcomes of intraspecific aggression (Pérez-Buitrago *et al.*, 2010), sexual aggression during mating (Iverson *et al.*, 2004) or failed attempts of predation (Hayes *et al.*, 2012). Nevertheless, as far as we know, this is the first record of tail bifurcation for this species and one of the few recorded in the Iguanidae. Tail regeneration is of recent interest as a comparative model for regenerative medicine (Alibardi, 2010; Delorme *et al.*, 2012). Therefore we believe that our observation on this anatomical anomaly could have certain value for future research.

**Acknowledgements.** We thank Jiří Marek from Zoopark Zájezd (Czech Republic) for providing access to the specimen. This work was supported by the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA) through Project No. 20172002.

## References

- Alibardi, L. (2010): Morphological and Cellular Aspects of Tail and Limb Regeneration in Lizards: A Model System with Implications for Tissue Regeneration in Mammals. *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology* **207**: 1-109.
- Ananjeva, N.B., Danov, R.A. (1991): A rare case of bifurcated caudal regeneration in the Caucasian agama, *Stellio caucasicus*. *Amphibia-Reptilia* **12**: 343-349.
- Bateman, P.W., Fleming, P.A. (2009): To cut a long tail short: a review of lizard caudal autotomy studies carried out over the last 20 years. *Journal of Zoology* **277**: 1-14.
- Conzendey, P., Campos, S.P.S., Lanna, F.M., De Amorim, J.D.C.G., De Sousa, B.M. (2013): *Ophiodes striatus* (Striped Worm Lizard). Bifurcated tail. *Herpetological Review* **44**: 145-146.
- Cordes, J.E., Walker, J.M. (2013): *Aspidoscelis velox* (Plateau Striped Whiptail). Bifurcation. *Herpetological Review* **44**: 319.
- Delorme, S.L., Lungu, I.M., Vickaryous, M.K. (2012): Scar-Free Wound Healing and Regeneration Following Tail Loss in the Leopard Gecko, *Eublepharis macularius*. *The Anatomical Record* **295**: 1575-1595.
- Dudek, K., Ekner-Grzyb, A. (2014): Field observation of two-tailed sand lizard *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758 and a common lizard *Zootoca vivipara* (Jacquin, 1787) in Poland. *Natura Sloveniae* **16**: 65-66.
- Etheridge, R. (1967): Lizard caudal vertebrae. *Copeia* **4**: 699-721.
- Hayes, W.K., Iverson, J.B., Knapp, C.R., Carter, R.L. (2012): Do invasive rodents impact endangered insular iguana populations? *Biodiversity and Conservation* **21**: 1893-1899.
- Iverson, J.B., Smith, G.R., Pieper, L. (2004): Factors affecting long-term growth of the Allen Cays rock iguana in the Bahamas. In: *Iguanas: biology and conservation*, p. 176-192. Alberts, A. C., Carter R. L., Hayes W. K., Martins E. P., Eds., Berkeley, USA, University of California Press.
- Kumbar, S.M., Ghadage, A.B., Shndage V.M. (2011): *Hemidactylus flaviviridis* (House Gecko). Bifurcation. *Herpetological Review* **42**: 94.
- Lynn, W.G. (1950): A case of duplication of the tail in *Plethodon*. *Herpetologica* **6**: 81-84.
- Martins, R.L., Peixoto, P.G., Fonseca, P.H.M., Martinelli, A.G., Silva, W.R., Pelli, A. (2013): Abnormality in the tail of the collated lizard *Tropidurus gr. torquatus* (Iguania, Tropiduridae) from Uberaba city, Minas Gerais State, Brazil. *Herpetology Notes* **6**: 369-371.
- Mata-Silva, V., Rocha, A., Gandara, A., Johnson, J.D. (2010): *Cophosaurus texanus* (Greater Earless Lizard). Multiple tails. *Herpetological Review* **41**: 352-353.
- Mata-Silva, V., Rocha, A., Johnson, J.D., Wilson, L.D. (2013): *Urosaurus bicarinatus* (Tropical Tree Lizard). Bifurcation. *Herpetological Review* **44**: 686-687.
- Mitchell, J.C., McDaniel, W., McDaniel, J. (2012): *Plestiodon inexpectatus* (Southeastern Five-lined Skink). Bifurcation. *Herpetological Review* **43**: 650.
- Passos, D.C., Pinheiro, L.T., Galdino, C.A.B., Rocha, C.F.D. (2014): *Tropidurus semitaeniatus* (Calango de Lagedo). Tail Bifurcation. *Herpetological Review* **45**: 138.
- Pelegri, N., Leão, S.M. (2016): Injured *Salvator merianae* (Teiidae) regenerates six tails in central Argentina. *Cuadernos de Herpetologia* **30**: 21-23.
- Pérez-Buitrago, N., Sabat, A.M., McMillan, W.O. (2010): Spatial Ecology of the Endangered Mona Island Iguana *Cyclura cornutastejnegeri*: Does Territorial Behavior Regulate Density? *Herpetological Monographs* **24**: 86-110.
- Phasey, H., Smith, P., Brouard, J.-P., Atkinson, K. (2014): *Vanzosaura rubricauda* (Red-tailed Vanzosaur). Bifurcation and Trifurcation. *Herpetological Review* **45**: 138-139.
- Tamar, K., Maza, E., Meiri, S. (2013): *Ophisops elegans* (Snake-Eyed Lizard). Bifurcation. *Herpetological Review* **44**: 146.
- Vrcibradic, D., Niemeyer, J. (2013): *Mabuya frenata*, *M. macrorhyncha*. Tail bifurcation. *Herpetological Review* **44**: 510-511.

*Accepted by Graham Walters*



## 4.3 Fyziologie plazů

**4.3.1 Frýdlová, P., Mrzílková, J., Šeremeta, M., Křemen, J., Dudák, J., Žemlička, J., Němec, P., Velenský, P., Moravec, J., Kolečka, D., Zahradníčková, V., Jirásek, T., Kodym, P., Frynta, D. & Zach, P. 2019. Universality of indeterminate growth in lizards rejected: the micro-CT reveals contrasting timing of growth cartilage persistence in iguanas, agamas, and chameleons. *Scientific Reports*, 9(1): 1-14.**

Šupinatí plazi (Squamata) jsou považováni za skupinu s neukončeným růstem. Současná literatura nicméně rozporuje dosavadní definice tohoto růstového typu, předkládá nové teoretické modely a zpochybňuje zevšeobecnění tvrzení neukončeného růstu pro všechny studenokrevné obratlovce. Navázali jsme na náš předchozí výzkum aplikací metody  $\mu$ CT na růstové chrupavky (growth plate cartilage – GPC) v epifýze dlouhých kostí, které jsou zodpovědné za podélný kosterní růst procesem endochondrální osifikace. Soustředili jsme se na početnou a rozmanitou skupinu Iguania zahrnující Acrodonta (agamy a chameleoni) a Pleurodonta („leguáni“). Dokládáme absenci růstové chrupavky u většiny dospělých jedinců skupiny Pleurodonta, což vysvětlujeme jako nezvratné zastavení procesu růstu kostí. Tento poznatek jasně vylučuje všeobecné tvrzení, že všichni ještěři mají neukončený růst. Na druhou stranu jsme zaznamenali přetrvávající růstové chrupavky u většiny dospělých jedinců skupiny Acrodonta. To pravděpodobně dokládá schopnost tělesného růstu po většinu jejich života. Tato zjevná rozdílnost mezi skupinami Acrodonta a Pleurodonta je velmi zajímavá a podrobněji se jí věnujeme v diskuzi článku.

OPEN

# Universality of indeterminate growth in lizards rejected: the micro-CT reveals contrasting timing of growth cartilage persistence in iguanas, agamas, and chameleons

Petra Frýdlová<sup>1,3</sup>, Jana Mrzilková<sup>2,3</sup>, Martin Šeremeta<sup>2,3</sup>, Jan Křemen<sup>2,3</sup>, Jan Dudák<sup>4</sup>, Jan Žemlička<sup>4</sup>, Pavel Němec<sup>1</sup>, Petr Velenský<sup>5</sup>, Jiří Moravec<sup>6</sup>, Daniel Kolečka<sup>7</sup>, Veronika Zahradníčková<sup>1</sup>, Tomáš Jirásek<sup>8</sup>, Petr Kodým<sup>9</sup>, Daniel Frynta<sup>1\*</sup> & Petr Zach<sup>2,3</sup>

Squamate reptiles are considered to exhibit indeterminate growth. Nevertheless, current literature disputes the available definitions of this growth type, presents new theoretical models, and questions its universality in cold-blooded vertebrates. We have followed up on our previous research employing micro-CT to explore growth plate cartilage (GPC) in the epiphysis of long bones, which is responsible for longitudinal skeletal growth by the endochondral ossification process. We focused on numerous and highly diversified group of the Iguania clade comprising Acrodonta (agamas and chameleons) and Pleurodonta ("iguanas"). We recorded the absence of GPC in most of the examined adult Pleurodonta specimens and interpret it as an irreversible arrest of skeletal growth. This finding clearly rejects the universality of indeterminate growth in lizards. On the other hand, we found apparent GPC preservation in most of the adult specimens belonging to Acrodonta. This suggests a preserved ability to continue body growth throughout most of their life. We discuss the uncovered disparity between Acrodonta and Pleurodonta and emphasize the importance of GPC degradation timing.

Postnatal skeletal growth connected with the increase in skeletal size is traditionally divided into the determinate and indeterminate type<sup>1</sup>. The main difference is in the ability to continue growth throughout the life in indeterminate growers, while the determinate ones cease their skeletal growth typically close to sexual maturation<sup>2</sup>. Sebens<sup>3</sup> brought more accurate definitions with a detailed description of growth curves which are variations on attenuating or asymptotic growth. Ectothermic vertebrates (fish, amphibians and reptiles) are considered as groups with indeterminate body growth<sup>4–9</sup> (but see<sup>10–16</sup>), while endotherms (birds and mammals) are determinate growers<sup>4,17</sup> (but see<sup>18–21</sup>). Nevertheless, current literature is pointing to the problematic classification of animal taxa to specific groups according to the available definitions of body growth<sup>22–25</sup>.

In our previous comparative study, we employed advanced imaging methods (micro-radiography and micro-computed tomography) to evaluate growth abilities in monitor lizards (Varanidae) according to the presence/absence of the growth plate cartilage (GPC) in the epiphysis of long bones<sup>22</sup>. In fully grown specimens of small-bodied species, we clearly demonstrated the degradation of GPC. It is a sign of determinate growth as it arrests the growth irreversibly (for the description of the cellular process of growth plate degradation see<sup>26–32</sup>

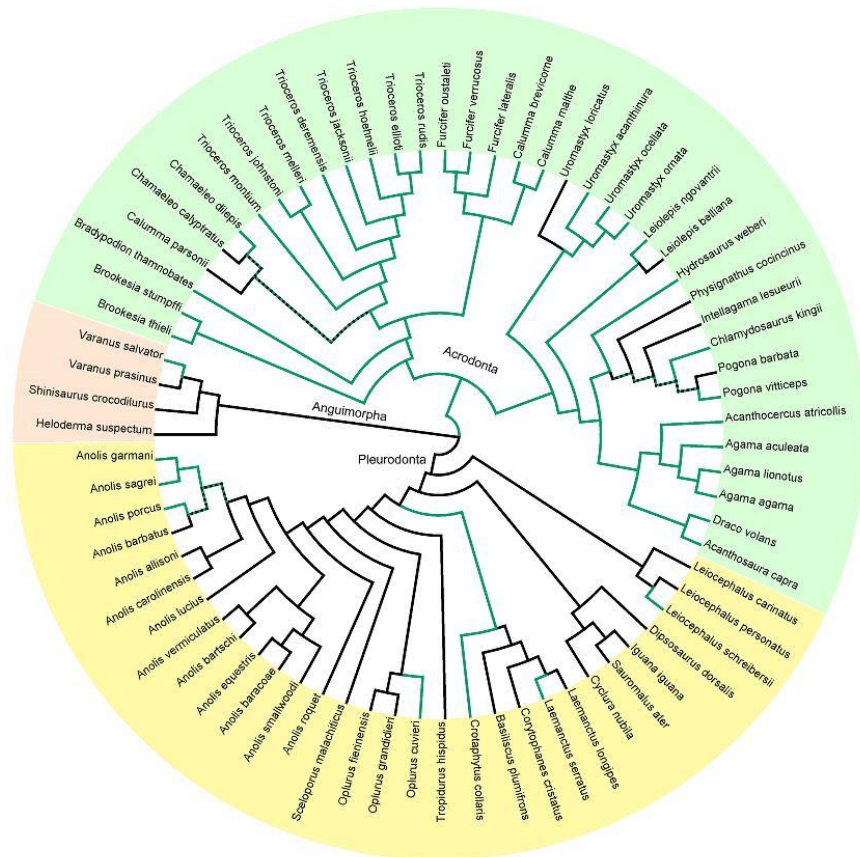
<sup>1</sup>Department of Zoology, Faculty of Science, Charles University, Viničná 7, CZ-12844, Prague, Czech Republic.

<sup>2</sup>Specialized laboratory of experimental imaging, Ruská 2411/87, CZ-10000, Prague, Czech Republic. <sup>3</sup>Department of Anatomy, Third Faculty of Medicine, Charles University, Ruská 2411/87, CZ-10000, Prague, Czech Republic. <sup>4</sup>Institute of Experimental and Applied Physics, Czech Technical University in Prague, Husova 5, CZ-11000, Prague, Czech Republic.

<sup>5</sup>Prague Zoo, U Trojského Zámku 3, CZ-17100, Prague, Czech Republic. <sup>6</sup>Department of Zoology, National Museum, Cirkusová 1740, CZ-19300, Prague, Czech Republic. <sup>7</sup>Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiological, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, CZ-16500, Prague, Czech Republic. <sup>8</sup>Zoological and Botanical Garden Pilsen, Pod Vinicemi 9, CZ-30116, Pilsen, Czech Republic.

<sup>9</sup>National Institute of Public Health, Šrobárova 48, CZ-10042, Prague, Czech Republic. \*email: frynta@centrum.cz





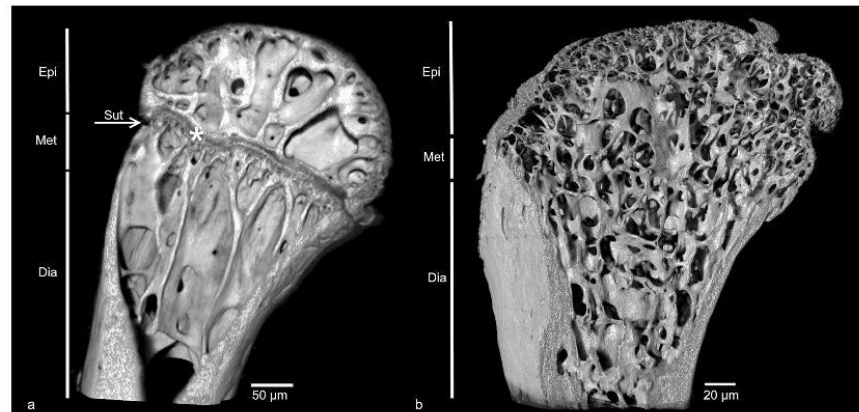
**Figure 1.** Phylogenetic pattern of the growth plate cartilage (GPC) across Iguania. Visualization of GPC presence (green) and absence (black) within the Iguania clade comprising Acrodonta and chamaeleons (Pleurodonta (“iguanas”). Reconstruction of ancestral states was done using the parsimony method implemented in Mesquite (Maddison and Maddison 2015). Monitor lizards (Varanidae), the beaded lizard (Helodermatidae) and Chinese crocodile lizard (Shinisauridae) were used as outgroup (Anguimorpha).

and references therein). In large-bodied species of monitor lizards, we found a contrasting growth pattern typical for indeterminate growers. Adults, except for very old senescent individuals, retained GPC nearly throughout their entire life. We interpreted this dual pattern of body growth in monitor lizards as an extreme case of heterochrony<sup>22</sup>.

The dual pattern of body growth in monitor lizards violates the universality of indeterminate growth in squamate reptiles. Nevertheless, the reported association of the growth pattern with the adult body size of the species may be attributed to an extreme evolution of body size in this otherwise homogeneous group of lizards. Thus, we searched for other clades of squamates with great variation in body size but exhibiting contrasting life strategies. We focused on Iguania (sensu<sup>33</sup>) comprising the subclades of Acrodonta (chamaeleons and agamas) and Pleurodonta (Iguanidae and related families, hereafter also called “iguanas”). Those two crown subclades of lizards (for phylogenetic relationships see Fig. 1) have undergone convergent evolution. They feature unique evolutionary history and specific ecological strategies, which makes it possible to search for the putative selective pressures involved in the regulation of body growth and its possible arresting. The goals of this study were (1) to employ advanced imaging techniques to evaluate the presence/absence of GPC in examined specimens; (2) to score the species according to the pattern of GPC persistence in adults; (3) to test the universality of the presumed indeterminate growth in this clade, and (4) to discuss the putative life-history parameters responsible for the body growth pattern.

### Results

We analysed 150 bones of agamid (38), chamaeleonid (46) and “iguanaid” (67) lizards to determine the presence/absence of epiphyseal growth plates in the femoral epiphysis. We confirmed that the employment of micro-radiography and micro-CT enables detailed visualization of epiphyseal growth plates (presence/absence/ the process of degradation; Figs. 2, S11). The presence of the growth plate cartilage was scored in the following



**Figure 2.** Visualisation of proximal part of the femur by micro-CT. Frontal cross-section of the proximal part of the femur. The epiphyseal growth plate is present in adult *Uromastyx ornatus* (a) and completely absent in adult old *Chamaeleo calytratus*. (b) Abbreviations: Epiphysis (Epi), Metaphysis (Met), Diaphysis (Dia), Suture (Sut), Epiphyseal growth plate (asterisk).

cases: (1) epiphysis and diaphysis separated by a wide radio-translucent band corresponding to non-calcified growth cartilage in the area near metaphysis; (2) the trabeculae not extended into the metaphysis; and (3) the suture between the epiphysis and the metaphysis was present (Figs. 2a, SI2, SI3). The absence of the growth plate cartilage was scored when: (1) the radio-translucent band corresponding to non-calcified growth cartilage was absent, which is a sign of growth plate senescence, degradation or even its complete absence; (2) the suture between the epiphysis and the metaphysis was not present; and (3) the whole proximal part of the femur was occupied by a continuous network of bone trabeculae (Figs. 2b, SI4, SI5). We detected the process of GPC degradation as well (labelled with  $\pm$  in Table 1). In that case, (1) the radio-translucent band corresponding to non-calcified growth cartilage was not present in whole cross-section of femoral epiphysis, but just partly; (2) the suture between the epiphysis and the metaphysis was present only on one side of the femoral epiphysis or was absent; (3) the area of primary and secondary ossification centres was mostly occupied by a network of bone trabeculae and partly encroached to metaphysis (SI1, SI6, SI7). For formal analyses, we used binary data concerning the GPC state (presence/absence). The results of micro-CT examinations and data on age, sex and body size of the studied specimens are summarized in Table 1 (for references concerning  $SVL_{max}$  see SI8).

We detected the presence of the growth plate cartilage in fully-grown individuals of the Acrodonta clade (Fig. 3a,b). GPC was present in almost all examined chameleons (42 individuals). Many of these animals were adults that have already reached a body size close to the upper limit reported for the species. In an old female of *Calumma parsonii*, we captured the process of GPC degradation (SI1). The only examined chameleons with completely absent GPCs were two old *Chamaeleo calytratus* (Fig. 2b), one *Furcifer oustaleti*, and one *Calumma parsonii*. A similar pattern was found in agamid species; GPC was present in 30 individuals. Most of these animals were mature and probably fully-grown. Nevertheless, we did not find GPCs in two extremely old males of *Uromastyx loricatus* (more than 28 and 30 years old) as well as in three large-bodied agamas (a male and two females of *Physignathus cocincinus* and a male of *Intellagama lesueurii*, which were also old animals kept for many years in Prague zoo). GPC was absent also in common bearded dragon (*Pogona barbata*) and one small-bodied common butterfly lizard (*Leiolepis belliana*).

We found a completely different pattern in Pleurodonta (Iguanidae and related families), where GPC was absent in most of the adult fully-grown specimens. This GPC degradation was most apparent in anole lizards (Dactyloidae). All small-bodied anoles arrest body growth via GPC degradation early in ontogeny. In large-bodied species of anoles, we detected GPC in 4 (two *Anolis baracoe*, one *A. garmani*, one *A. porcus*) of 10 examined adults ( $>2/3$  maximum body size). The analysis of GPC in the rest of “iguanas” revealed the absence of GPC in most of the species. We assume that in large-bodied species, similar to the pattern in monitor lizards, GPC is present for a longer time to allow growth to a bigger size. Nevertheless, in extremely old specimens kept in Prague zoo, growth is irreversibly arrested, and the GPC is completely missing (a male of *Iguana iguana* more than 23 years old, a female of *Cyclura nubila* more than 21 years old).

The disappearance of GPC in adulthood is probably coupled with a phylogenetic relationship. Acrodonta continue skeletal growth through most of their life. GPC is present even in fully-grown specimens (Fig. 3a,b), but is missing in very old/senescent individuals. In Pleurodonta, body growth arrests apparently earlier than in Acrodonta (Fig. 3c). In large-bodied members of Iguanidae, GPCs persist to adulthood and disappear just in senescent individuals.

To perform formal tests, we employed generalized linear models with a binomial distribution and phylogenetic generalized linear mixed model for binary data. The results of both models revealed a strong effect of the clade (Acrodonta versus Pleurodonta) and body size on the persistence of GPC (Table 2, Fig. 1).



Family	Species	GPC	SVL	SVL <sub>rel</sub>	Sex	Age	Source
Agamidae	<i>Acanthocercus atricollis</i>	+	131.5	78.7	M	A	CUNI
	<i>Acanthosaura capra</i>	+	132.1	95.8	M	A	CUNI
	<i>Agama aculeata</i>	+	89.7	76.7	M	A	CUNI
	<i>Agama agama</i>	+	138.0	100.7	M	A	CUNI
	<i>Agama lionotus dodomae</i>	+	138.0	101.0	M	A	Z. Prague
	<i>Agama lionotus dodomae</i>	+	140.0	102.4	M	A	Z. Prague
	<i>Agama lionotus dodomae</i>	+	115.0	84.1	F	A	Z. Prague
	<i>Agama lionotus dodomae</i>	+	125.0	91.4	F	A	Z. Prague
	<i>Agama lionotus dodomae</i>	±	105.0	76.8	F	A	Z. Prague
	<i>Agama lionotus dodomae</i>	±	129.0	94.4	F	A	Z. Prague
	<i>Agama somalica</i>	+	70.0	68.0	F	A	CUNI
	<i>Draco volans</i>	+	72.1	84.8	M	A	CUNI
	<i>Hydrosaurus weberi</i>	+	279.8	84.8	M	A	CUNI
	<i>Chlamydosaurus kingii</i>	+	234.0	92.1	M	A	CUNI
	<i>Intellagama lesueurii</i>	–	166.0	54.6	M	A	NMP
	<i>Leiolepis belliana</i>	–	135.0	75.9	F	A	CUNI
	<i>Leiolepis ngovantrii</i>	+	104.6	82.7	F	A	CUNI
	<i>Paralaudakia caucasia</i>	+	113.0	65.3	M	A	CUNI
	<i>Physignathus cocincinus</i>	–	165.0	82.5	F	A	Z. Prague
	<i>Physignathus cocincinus</i>	–	222.0	88.8	M	A	NMP
<i>Physignathus cocincinus</i>	–	227.0	113.5	F	A	CUNI	
<i>Physignathus cocincinus</i>	+	178.0	71.2	M	A	CUNI	
<i>Pogona barbata</i>	–	215.0	86.4	F	A	CUNI	
<i>Pogona vitticeps</i>	+	211.0	97.7	M	A	CUNI	
<i>Saara loricata</i>	–	285.0	98.3	M	A (>30)	CUNI	
<i>Saara loricata</i>	–	255.0	87.9	M	A (28)	CUNI	
<i>Uromastix acanthinura</i>	+	180.0	71.1	F	A	Z. Pilsen	
<i>Uromastix acanthinura</i>	+	189.0	74.7	M	A	Z. Prague	
<i>Uromastix acanthinura</i>	+	105.0	41.5	F	SA	Z. Prague	
<i>Uromastix acanthinura</i>	+	120.0	47.4	M	SA	Z. Prague	
<i>Uromastix acanthinura</i>	+	71.0	28.1	M	SA	Z. Prague	
<i>Uromastix aegyptia</i>	+	250.0	66.7	M	A (5)	CUNI	
<i>Uromastix ocellata</i>	+	173.0	99.4	F	A	Z. Dubeč	
<i>Uromastix ocellata</i>	+	168.0	96.6	M	A	Z. Dubeč	
<i>Uromastix ornata</i>	±	177.0	107.3	M	A	Z. Ústí	
<i>Uromastix ornata</i>	+	150.0	76.5	F	A	Z. Ústí	
<i>Uromastix ornata</i>	+	140.0	71.4	M	A	Z. Ústí	
<i>Uromastix ornata</i>	+	184.8	94.3	F	A	CUNI	
Corytophanidae	<i>Basiliscus plumifrons</i>	–	170.6	101.5	M	A	CUNI
	<i>Corytophanes cristatus</i>	–	110.8	88.6	F	A	CUNI
	<i>Laemantus longipes</i>	–	133.0	95.0	F	A	Z. Pilsen
	<i>Laemantus longipes</i>	–	112.0	80.0	F	A	Z. Pilsen
	<i>Laemantus longipes</i>	–	129.0	92.1	F	A (12)	CUNI
	<i>Laemantus serratus</i>	+	85	85	M	A	CUNI
Crotaphytidae	<i>Crotaphytus collaris</i>	±	85.0	78.6	M	A	Z. Dubeč
	<i>Crotaphytus collaris</i>	+	76.0	70.2	M	A	CUNI
	<i>Crotaphytus collaris</i>	+	85.0	89.6	F	A	CUNI
Dactyloidae	<i>Anolis allisoni</i>	–	55.0	73.3	F	A	CUNI
	<i>Anolis allisoni</i>	–	60.0	80.0	F	A	CUNI
	<i>Anolis allisoni</i>	–	80.0	80.0	M	A	CUNI
	<i>Anolis allisoni</i>	–	74.0	74.0	M	A	CUNI
	<i>Anolis baracoae</i>	+	116.0	74.8	F	A	CUNI
	<i>Anolis baracoae</i>	+	146.0	84.9	M	A	Z. Dubeč
	<i>Anolis baracoae</i>	–	141.0	91.0	F	A	CUNI
	<i>Anolis baracoae</i>	–	133.0	85.8	F	A	CUNI
	<i>Anolis barbatus</i>	+	123.0	72.4	M	A	CUNI
	<i>Anolis barbatus</i>	+	86.0	54.8	F	SA	CUNI

Continued

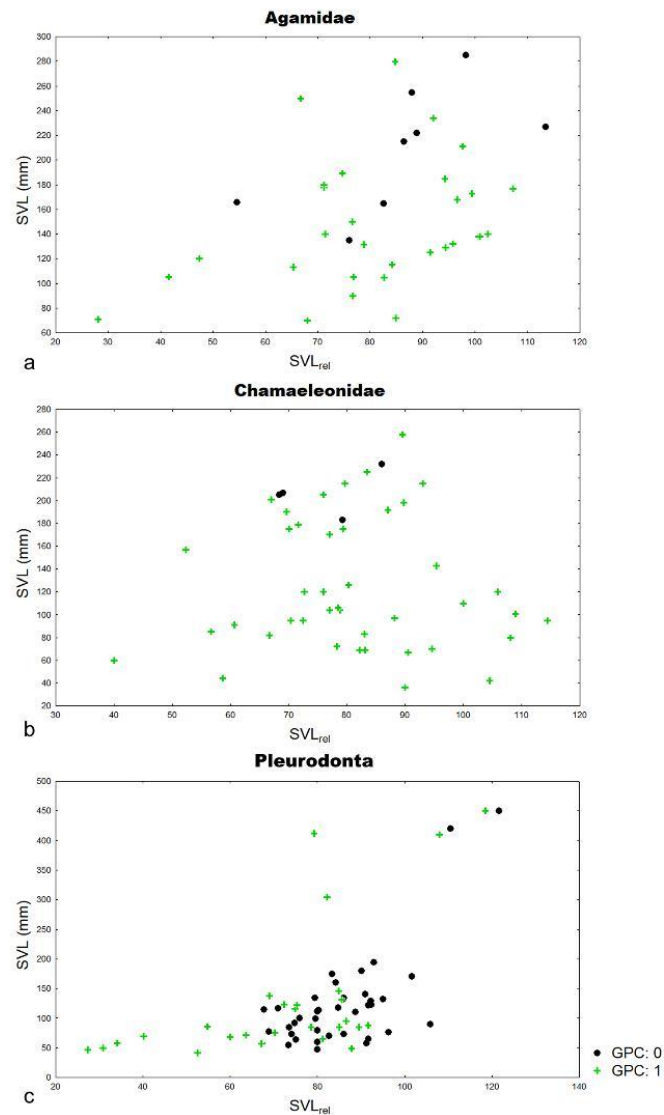
Family	Species	GPC	SVL	SVL <sub>red</sub>	Sex	Age	Source
	<i>Anolis barbatus</i>	+	58.0	34.1	M	SA	CUNI
	<i>Anolis barbatus</i>	-	135.0	86.0	F	A	CUNI
	<i>Anolis bartschi</i>	-	77.0	96.3	M	A	CUNI
	<i>Anolis bartschi</i>	+	65.0	81.3	M	A	CUNI
	<i>Anolis bartschi</i>	-	58.0	91.2	F	A	CUNI
	<i>Anolis bartschi</i>	+	42.0	52.5	M	SA	CUNI
	<i>Anolis carolinensis</i>	-	65.0	91.5	M	A	CUNI
	<i>Anolis equestris</i>	-	115.0	67.6	F	A	CUNI
	<i>Anolis equestris</i>	-	160.0	84.2	M	A	CUNI
	<i>Anolis equestris</i>	-	135.0	79.4	F	A	CUNI
	<i>Anolis garmani</i>	+	95.0	86.6	M	A	Z. Pilsen
	<i>Anolis lucius</i>	-	48.0	80.0	F	A	CUNI
	<i>Anolis porcus</i>	+	122.0	75.3	M	A	CUNI
	<i>Anolis porcus</i>	+	69.0	40.1	F	SA	CUNI
	<i>Anolis porcus</i>	+	50.0	30.9	M	SA	CUNI
	<i>Anolis porcus</i>	+	47.0	27.3	F	SA	CUNI
	<i>Anolis roquet</i>	+	57.8	67.2	M	SA	CUNI
	<i>Anolis roquet</i>	-	71.0	82.6	M	A	CUNI
	<i>Anolis sagrei</i>	+	49.1	87.8	M	A	CUNI
	<i>Anolis smallwoodi</i>	-	160.0	84.2	M	A	CUNI
	<i>Anolis smallwoodi</i>	-	117.0	70.9	F	A	CUNI
	<i>Anolis vermiculatus</i>	-	99.0	79.5	M	A	CUNI
	<i>Anolis vermiculatus</i>	+	57.0	67.1	F	SA	CUNI
Chamaeleonidae	<i>Bradypodion thammobates</i>	+	69.0	82.1	M	A	CUNI
	<i>Brookesia stumpffi</i>	+	42.0	104.6	M	A	Z. Zájezd
	<i>Brookesia thieli</i>	+	36.0	90.0	F	A	Z. Zájezd
	<i>Calumma brevicorne</i>	+	126.0	80.3	M	A	Z. Zájezd
	<i>Calumma malthe</i>	+	104.0	77.0	M	A	Z. Zájezd
	<i>Calumma malthe</i>	+	95.0	70.4	F	A	Z. Zájezd
	<i>Calumma parsonii</i>	+	215.0	93.1	F	A (>6)	Z. Zájezd
	<i>Calumma parsonii</i>	-	183.0	79.2	F	A	Z. Zájezd
	<i>Furcifer lateralis</i>	+	97.0	88.2	F	A	CUNI
	<i>Furcifer lateralis</i>	+	110.0	100.0	F	A	Z. Zájezd
	<i>Furcifer oustaleti</i>	+	205.0	76.0	M	A (>2.5)	Z. Prague
	<i>Furcifer oustaleti</i>	+	225.0	83.4	M	A (2)	Z. Prague
	<i>Furcifer oustaleti</i>	+	215.0	79.7	M	A (>2)	Z. Prague
	<i>Furcifer oustaleti</i>	+	175.0	79.3	F	A (>2)	Z. Prague
	<i>Furcifer oustaleti</i>	+	170.0	77.0	F	A	Z. Prague
	<i>Furcifer oustaleti</i>	-	232.0	86.0	M	A	CUNI
	<i>Furcifer oustaleti</i>	+	198.0	89.7	F	A	Z. Pilsen
	<i>Furcifer oustaleti</i>	±	192.0	87.0	F	A	Z. Zájezd
	<i>Furcifer pardalis</i>	+	175.0	70.0	M	A	Z. Zájezd
	<i>Furcifer pardalis</i>	+	179.0	71.6	M	A (>4.5)	CUNI
	<i>Furcifer verrucosus</i>	+	120.0	105.9	F	A	Z. Zájezd
	<i>Chamaeleo calypttratus</i>	+	157.0	52.3	M	A	CUNI
	<i>Chamaeleo calypttratus</i>	-	205.1	68.4	M	A	CUNI
	<i>Chamaeleo calypttratus</i>	-	207.0	69.0	M	A (4)	CUNI
	<i>Chamaeleo calypttratus</i>	±	200.9	67.0	M	A	CUNI
	<i>Chamaeleo dilepis</i>	+	85.0	56.7	M	A	Z. Zájezd
	<i>Chamaeleo dilepis</i>	+	143.0	95.3	F	A	Z. Zájezd
	<i>Chamaeleo dilepis</i>	+	91.0	60.7	F	A	Z. Zájezd
	<i>Chamaeleo dilepis</i>	+	60.0	40.0	F	A	Z. Zájezd
	<i>Kinyongia fischeri</i>	+	95.0	72.5	M	A	Z. Zájezd
	<i>Rieppelkon brevicaudatus</i>	+	44.0	58.7	F	A	CUNI
	<i>Trioceros deremensis</i>	+	120.0	72.7	M	A	Z. Zájezd
	<i>Trioceros deremensis</i>	+	120.0	75.9	F	A	Z. Zájezd
	<i>Trioceros ellioti</i>	+	72.0	78.3	M	A	Z. Zájezd
Continued							

Family	Species	GPC	SVL	SVL <sub>rel</sub>	Sex	Age	Source
	<i>Trioceros hoehnelii</i>	+	83.0	83.0	F	A (3)	Z. Zájedz
	<i>Trioceros jacksonii</i>	+	104.0	78.8	F	A	Z. Zájedz
	<i>Trioceros jacksonii</i>	+	82.0	66.7	M	A	Z. Zájedz
	<i>Trioceros johnstoni</i>	+	106.0	78.5	F	A	Z. Zájedz
	<i>Trioceros melleri</i>	+	190.0	69.6	F	A	Z. Zájedz
	<i>Trioceros melleri</i>	+	257.8	89.5	M	A	CUNI
	<i>Trioceros montium</i>	+	101.0	109.0	M	A (2)	Z. Prague
	<i>Trioceros montium</i>	+	95.0	114.5	F	A (2)	Z. Prague
	<i>Trioceros montium</i>	+	69.0	83.1	F	A	Z. Prague
	<i>Trioceros rudis</i>	+	70.0	94.6	M	A	Z. Zájedz
	<i>Trioceros rudis</i>	+	80.0	108.1	M	A	Z. Zájedz
	<i>Trioceros rudis</i>	+	67.0	90.5	F	A	Z. Zájedz
Iguanidae	<i>Cyclura nubila</i>	–	450.0	121.6	F	A (21)	NMP
	<i>Cyclura nubila</i>	+	304.0	82.2	F	A	Z. Dubeč
	<i>Cyclura nubila</i>	+	412.1	79.3	M	A	CUNI
	<i>Dipsosaurus dorsalis</i>	–	114.0	80.3	F	A	CUNI
	<i>Iguana iguana</i>	+	450.0	118.4	M	A	NMP
	<i>Iguana iguana</i>	–	420.0	110.5	M	A (>23)	Z. Prague
	<i>Sauromalus ater</i>	–	175.0	83.3	M	A (>6)	Z. Prague
	<i>Iguana iguana</i>	+	410.0	107.9	M	A	CUNI
	<i>Sauromalus ater</i>	–	195.0	92.9	M	A (>8)	Z. Prague
	<i>Sauromalus ater</i>	–	180.0	90.0	F	A (>10)	Z. Prague
	<i>Sauromalus ater</i>	+	138.0	69.0	F	A	Z. Zájedz
Leiocephalidae	<i>Leiocephalus carinatus</i>	–	122.0	91.6	M	A	Z. Dubeč
	<i>Leiocephalus carinatus</i>	–	123.0	92.3	M	A	Z. Dubeč
	<i>Leiocephalus carinatus</i>	–	85.0	73.4	F	A	CUNI
	<i>Leiocephalus carinatus</i>	–	101.0	75.8	F	A	CUNI
	<i>Leiocephalus personatus</i>	–	74.0	86.0	M	A	CUNI
	<i>Leiocephalus personatus</i>	–	64.5	75.0	M	A	CUNI
	<i>Leiocephalus schreibersi</i>	+	88.0	91.7	M	A	CUNI
Opluridae	<i>Oplurus cuvieri</i>	±	131.5	85.5	M	A	CUNI
	<i>Oplurus fierinensis</i>	–	92.0	74.8	M	A	Z. Pilsen
	<i>Oplurus grandidieri</i>	–	118.0	84.8	F	A	Z. Pilsen
Phrynosomatidae	<i>Sceloporus malachiticus</i>	–	89.9	105.8	F	A	CUNI
Tropiduridae	<i>Tropidurus hispidus</i>	+	68.0	60.0	F	SA	CUNI
	<i>Tropidurus hispidus</i>	+	72.0	63.5	F	SA	CUNI
	<i>Tropidurus hispidus</i>	–	78.0	68.8	F	A	CUNI

**Table 1.** Epiphyseal state in the proximal epiphysis of the femur in the examined species of the Iguania clade. Growth plate cartilage (GPC) presence (+), absence (–), and process of degradation (±), Snout-Vent Length (SVL) in millimetres, SVL<sub>rel</sub> is relative SVL (in % of maximal SVL from the literature; for references see S18), Sex and Age in years, where known. Abbreviations: Male (M), Female (F), Adult (A), Subadult (SA), Charles University (CUNI), National Museum (NMP), Zoo (Z), Private Breeders (PB). Catalogue numbers of specimens from National Museum, Prague: *Physignathus cocincinus* (NMP-P6V 75130); *Intellagama lesueurii* (NMP-P6j-29/96); *Iguana iguana* (NMP-P6V 71313).

GPC persistence in fully grown individuals of agamids and chameleons can be caused by reduced longevity limiting the time window available for the GPC degradation process. To test this hypothesis, we explored the longevities and their relationship with body size based on large-scale comparative data<sup>34</sup>. Small to medium-bodied species of chameleons are typically short living. It is possible that the mortality is so high that there is not enough time for GPC degradation. On the other hand, longevities recorded in agamids do not support this explanation. There are plenty of agamid species regularly attaining longevities permitting enough time for GPC resorption. Moreover, in anole lizards which are apparently short living, the resorption of GPC is not a problem. PGLS model revealed a positive relationship between log-transformed longevity and body size in agamid (slope = 0.308, SE = 0.05, P < 0.001) and pleurodont (slope = 0.422, SE = 0.09, P < 0.001) lizards. In contrast, this relationship (slope = 0.170) was not significant in chameleons (P = 0.275). Thus, the longevity of agamids with putatively indeterminate body growth does not differ from that reported in pleurodons which are determinate growers. This suggests that GPC degradation timing is more important than the available lifespan.





**Figure 3.** Relationship between growth plate cartilage state and body size. The presence (+GPC:1) and absence (● GPC:0) of growth plate cartilage (GPC) in agamas (a), chameleons (b), and Pleurodonta (c) plotted with respect to body size (SVL) and size relative to maximum SVL reported in the literature (SVL<sub>rel</sub>). This allows to check for the relationship between the state of GPC and body size (SVL) of the studied species, as well as between the state of GPC and the percent of attained maximal body size (SVL<sub>rel</sub> in %).

### Discussion

In our comparative study of epiphyseal growth plates, we found surprising disparity in the ability to grow throughout the lifespan within the Iguania clade. In Acrodonta, the growth plate cartilage (GPC) was present in most of the examined specimens of chameleons and agamas. The rare disappearance of GPC in senescent individuals is most probably connected with the gradual depletion of chondrocytic progenitor cells in the resting zone. This sharply contrasts with the pattern we found in Pleurodonta. Except for a few large-bodied species, GPC was resorbed in the majority of adult specimens. This suggests that pleurodonts typically resorb GPC and irreversibly arrest body growth in early adulthood. Thus, we can clearly reject the hypothesis that whole Iguania exhibit indeterminate growth.

	Df	Deviance	Df	Resid. Deviance	p-value GLM	p-value PGLMM
Clade	1	21.28	65	71.23	<0.001	<0.001
SVL	1	11.342	64	59.89	<0.001	<0.01

**Table 2.** GLM and PGLMM model of the relationship between the growth plate cartilage persistence, clade and body size. The generalized linear model exploring the relationship between the growth plate cartilage (GPC) presence/absence and two explanatory variables (Clade coded as Acrodonta versus Pleurodonta and SVL–Snout-Vent Length). Interaction was not significant; binomial distribution, Chi test. The phylogenetic generalized linear mixed model for binary data (PGLMM) revealed similar results, only p-values are presented.

Chameleons are a uniform and morphologically highly derived family with numerous specialized adaptations connected with their arboreal life style<sup>35</sup>. Members of this family covering dwarf as well as medium-sized species are early maturing and short-living lizards (e.g., the extremely short lifespan in *Furcifer labordi*<sup>36</sup>) with large clutch size (even up to 50 eggs) laid usually once or twice per year. In our study, we found preserved GPC in most of the studied chameleons, which points to their potential ability to grow throughout the life. The presence of GPC even in small-bodied species and the absence of a relationship between the preservation of GPC and body size (Fig. 3b) is in contrast to our findings in monitor lizards, where GPC was absent in all small-bodied species. It may be advantageous to preserve GPC in adulthood and keep the ability to grow, because larger body size is associated with higher survival probability and reproduction success (for a theoretical model see<sup>37</sup>). Moreover, chameleons exhibit pronounced sexual size dimorphism<sup>38,39</sup>. Sexual selection in males<sup>40</sup> as well as fecundity selection in females<sup>38</sup> appear as candidate ultimate mechanisms responsible for the apparent size and shape dimorphism in this family. Moreover, as many species of chameleons are seasonal<sup>35,36</sup>, the presence of GPC throughout the lifespan allows to alternate a period of dormancy with an active growth period, and supports the theoretical framework of Ejsmond<sup>41,42</sup> as well as the scarce long-term research in other reptiles with indeterminate growth<sup>37</sup>. Our results suggest no relationship of GPC degradation timing with sex (most of the studied animals were kept in pairs, see Table 1), which challenges the cost of reproduction hypothesis<sup>43–45</sup>. The only exceptions with arrested growth were an old male of *Furcifer oustaleti*, *Calumma parsonii* and two old males of *Chamaeleo calypttratus*. Nevertheless, the *Furcifer oustaleti* specimen had a metabolic bone disease manifested by bone decalcification, which is typical for old captive-bred chameleons<sup>46</sup>. The *Chamaeleo calypttratus* specimens were healthy with no signs of a metabolic bone disease. In this case, GPC degradation was probably connected with high age (one individual was 4 years old). *Chamaeleo calypttratus* is short-living<sup>46</sup>, males have a longer lifespan in captivity (3–5 years) than females (2–3 years). Despite these exceptional nearly senescent individuals, we assume that members of the family Chamaeleonidae preserved the GPC (and thus at least a theoretical growth ability) throughout their short life, because they usually die long before the eventual GPC resorption.

We found a similar distribution in agamid species, which preserved GPC throughout their life, as like in chameleons. This group with a wide spectrum of body sizes (from the smallest genus of *Draco* to the large-bodied *Intellagama*) comprises rather short-living (e.g., *Draco volans*<sup>47</sup>, *Ctenophorus isolepis*<sup>48</sup>, *C. maculosus*<sup>49</sup>) or even annual species (e.g., *C. fordii*<sup>50</sup>, *C. nuchalis*<sup>51</sup>). There are exceptions, as some medium and large-bodied species of the genus *Uromastyx*<sup>52</sup>, *Physignathus*<sup>53</sup> and *Hydrosaurus*<sup>54</sup>, are long-lived (>33 years old). The clutch is medium-sized (mean = 8.3 eggs) and appears once or twice per season (according to Scharf's review<sup>34</sup>). Our results revealed that GPC is present even in individuals which have already reached the maximum of the species-specific body size, and GPC presence is not dependent on the species-specific body size (GPC is present even in small-bodied species). GPC degradation appeared just in very old individuals, which were kept in Prague zoo and by private breeders for many years (*Physignathus cocincinus*, *Intellagama lesueurii* and *Uromastyx loricatus*) and two specimens of other species of unknown age. Two examined specimens of Iraqi spiny-tailed lizard (*U. loricatus*) were more than 28 years old. We assume that in those large-bodied individuals, GPC is present for a longer time to attain a larger body size, nevertheless, in such almost senescent individuals, there was enough time for its resorption through gradual depletion of chondrocytic progenitor cells in the resting zone of GPC. We found a similar pattern in the large-bodied senescent mangrove-dwelling monitor lizard (*Varanus indicus*<sup>22</sup>).

Surprisingly, we found a completely opposite pattern in the closely related Pleurodonta, where GPC disappears early in ontogeny (even in animals which reached only 70% of maximal SVL, Fig. 3c). This pattern was universal for all studied “iguanaid” families (Corytophanidae, Crotaphytidae, Dactyloidae, Iguanidae, Liocephalidae, Opluridae, Phrynosomatidae, Tropiduridae), but in anole lizards was most apparent. “Iguanas”, as a convergent lineage of agamas, feature a broad body size spectrum and various ecological strategies. The mean longevity is comparable in Acrodonta and Pleurodonta, but extreme longevities were recorded in Iguanidae (e.g., 60 years in *Conolophus pallidus* and *C. subcristatus*<sup>55</sup>; 54 years in *Cyclura nubila*<sup>56</sup> and 40 years in *C. cychlura*<sup>57</sup>). The mean clutch size is a bit smaller in “iguanas” (7.1 eggs according to Scharf's review<sup>34</sup>) and reaches the extreme in anoles, which produce invariant clutches (only one egg per clutch<sup>58,59</sup>).

In most of the examined anoles, GPC was not present, and they arrested growth irreversibly early in ontogeny (Fig. 3c). The exceptions were found in four specimens of large-bodied species (*Anolis baracoae*, *A. garmani* and *A. porcus*, which were almost fully-grown,  $SVL_{rel} = 75–90\%$ ). We analysed 32 individuals (13 species), and both sexes were usually available. Most of the animals were from one private breeder (V. Z.), regularly bred and were kept under standard common garden conditions. We predicted the difference in timing of GPC resorption according to the sex of the examined animal. Male anoles are territorial<sup>60–62</sup> and it should be advantageous to them to have the opportunity to invest in body growth for a longer period of ontogeny (i.e., preserve GPC to maintain the growth ability). On the other hand, the cost of reproduction is high in anole females and the



reduction to one egg per reproductive event is believed to reduce the female reproductive burden<sup>65</sup> (but see<sup>64</sup>). Even though there is only one egg per clutch, the number of broods per year can be very high (e.g., an extreme case of 25 egg layings per year in *A. roquet*<sup>66</sup>). Consecutive ovulation and egg laying bring elevated levels of progesterone and derivatives of oestrogen<sup>65,66</sup>. It was experimentally verified that elevated levels of female gonadal hormones (derivatives of oestrogen<sup>67,68</sup> and progesterone<sup>69</sup>) accelerate growth plate senescence. This proximate mechanism should enhance growth plate resorption and arrest skeletal growth in females earlier than in males. But we did not observe any sexual dimorphism in the timing of GPC resorption in our dataset.

We found remarkable results in chuckwallas (*Sauromalus*, Iguanidae) and spiny-tailed lizards (*Uromastix*, Agamidae). These desert herbivorous lizards share many life-history parameters and are considered as ecologically convergent species. But GPC is present in spiny-tailed lizards for a longer time in ontogeny than in chuckwallas. We don't know the exact age of some of the examined spiny-tailed lizards as these specimens were maintained by the zoo after their confiscation from illegal trade in 2008. Some of them were juveniles, most of them subadults. Thus, at the time of our analysis, they were more than 10 years old and still possessed GPC. The only exceptions found were the two senescent individuals of *Uromastix loricatus* mentioned above, which were more than 28 years old. In this case, GPC was fully resorbed. In *Sauromalus*, GPC was completely resorbed in two males, which were older than 6 and 8 years, respectively, and in a 10 years old female. This is another piece of evidence that the timing of GPC resorption differs in acrodonts and pleurodonts and is not primarily connected with their ecology.

The great difference we uncovered in the timing of GPC degradation between Acrodonta and Pleurodonta (Fig. 1) was unexpected. These sister clades diversified in parallel in the New and Old world, respectively, forming plenty of ecologically and morphologically corresponding forms. The absence of GPC in adults of the examined pleurodonts clearly suggests an irreversible arrest of growth in this clade. In contrast, GPC preservation in the vast majority of adult acrodonts provides less clear evidence for indeterminate growth. Putatively, the results may be biased by the composition of the examined material, namely by the precise stage of ontogeny, body size, age and their interactions. As the growth parameters may exhibit great interindividual variation<sup>70,71</sup>, it is difficult to control it. Nevertheless, there is a study strongly supporting indeterminate growth in an agamid lizard. Kumaş & Ayaz<sup>72</sup> studied longevity and long bone development in four wild populations of Roughtail Rock Agama (*Stellagama stellio*) in Turkey. Analysis of LAGs (Lines of Arrested Growth) revealed that these agamas grow throughout their life although the increments are much smaller in older age. Transverse cross sections of the epiphysis in different age groups revealed gradual resorption of GPC in the femur. The maximum age detected for both sexes was 7 years, and even in such old individuals, GPC was thinner but still present<sup>72</sup>. The finding that the preservation of GPC to adulthood is accompanied by continuation of body growth is especially remarkable. This provides independent evidence for the interpretation of our data.

Our results suggest that there are at least two modes of GPC resorption timing in squamate reptiles. The first one comprises early timing of GPC resorption. Although the final body size is typically attained after a certain delay, it is associated with the timing of sexual maturation (for a theoretical background see<sup>73</sup>). Such evidence was found in Pleurodonta as well as in small species of monitor lizards. It is also supported by the ontogenetic study of body growth in the Madagascar ground gecko (*Paroedura pictus*), which revealed an abrupt process of GPC degradation<sup>74</sup>. The second mode of GPC resorption timing is completely different. The resorption is either considerably postponed or it is not even realised. We found this pattern in Acrodonta and large-bodied monitor lizards. It may be labelled as indeterminate growth; however, it depends on the applied definition of this term<sup>3,10,25,75</sup>.

Our results support a large-scale comparative study of lepidosaurs, which was published recently<sup>34</sup>. Scharf and his colleagues corroborated the key prediction from life-history theory and suggested that: "reproducing more slowly and at older ages, being herbivorous and, plausibly, lowering metabolism, result in increased longevity." Nevertheless, body size explains far less of the variation in longevity than it does in mammals and birds, which is a surprising finding when squamates are considered as indeterminate growers. It is obvious that body growth is more plastic in squamate reptiles, and diverse ecology and life-history strategies affect it tremendously<sup>76–78</sup>.

We discuss our findings in a wider phylogenetic context. Our previous study of the Anguimorpha clade revealed determinate body growth in small and medium-bodied lizards (*Heloderma*, *Shinisaurus*, *Varanus*), while large-bodied monitor lizards were scored as indeterminate growers<sup>32</sup>. The visualisation of GPC in the Iguania clade supports these results, even though GPC presence/absence was not connected with body size so tightly. We found common absence of GPC also in other adult specimens of Squamata (Gekkota, Scincomorpha and Lacertoidea; unpublished results). Moreover, analysis of bone rings and growth data suggest determinate growth in tuataras (*Sphenodon punctatus*) as well<sup>14,79</sup>. Thus, the ancestor of Lepidosauria was most probably a determinate grower.

In conclusion, we were able to analyse a large number of femurs by micro-CT. The resolution is high (even 2 µm, according to the femur size) and make it possible to employ micro-CT in studies investigating the growth plate cartilage and the dynamics of its degradation. We found surprising disparity of GPC presence/absence in the Iguania clade. In Acrodonta, GPC is present nearly throughout the life and disappears in very old and senescent animals. Thus, growth is not completely blocked in agamas and chameleons (via GPC resorption) and they can be considered as indeterminate growers. On the other hand, Pleurodonta arrest skeletal growth earlier in ontogeny (GPC irreversibly disappears) and can be regarded as determinate growers. We interpret the uncovered GPC disparity as a unique switch in timing of growth arrest signalization leading to a postponed or even cancelled process of GPC resorption. Taken together with the evidence of determinate body growth in other squamate lineages and tuataras, we interpret our results as a significant challenge to the universality of indeterminate growth in Lepidosauria.

## Material and Methods

**Data collection.** We analysed 70 species/subspecies of lizards from the Iguania clade (for the list see Table 1) which were selected to capture most of the diversity of Iguania, comprising families Agamidae (21 species/37 individuals), Corytophanidae (4/6), Crotophytidae (1/3), Dactyloidae (13/33), Chamaeleonidae (22/46), Iguanidae (4/11), Leiocephalidae (3/7), Opluridae (3/3), Phrynosomatidae (1/1) and Tropiduridae (1/3). We aimed to cover the spectrum of body sizes, longevities, ecologies, and life strategies. Samples were collected in zoological gardens, collections of the Department of Zoology and museum collections from animals died of natural death. In addition, we used cadavers of lizards from another morphological study running at the Department of Zoology (34 individuals).

We were primarily interested in very large and/or old adult individuals approaching their maximal specific age and body size. We included also a few specimens that were younger and apparently still growing as controls. The snout-vent length (SVL) of each specimen was measured to the nearest 0.1 mm and expressed as an absolute (SVL) and relative (SVL<sub>rel</sub>) value. The latter represents a percent ratio of SVL of the examined specimen relative to the maximum SVL reported in the literature for the particular species and sex (the data concerning SVL are summarized in Table 1, SVL<sub>max</sub> and references in SI8). The maximal SVLs from the literature are often overestimated. In a plot of regressed SVL to SVL<sub>rel</sub> and the growth plate cartilage presence/absence as a categorical variable, it is possible to show a relationship between those variables in various species/clades and the timing of growth plate degradation. In some cases, our specimens are the largest or oldest ones ever reported, and thus, their relative size exceeds 100%. These represent additional evidence that we succeeded to include specimens reaching the upper limits of body size and/or age attainable by the examined species. Nevertheless, it is important to note that maximal body size is usually larger in captive-bred animals than in wild populations (e.g., compare body size in captive bred vs. wild *Varanus indicus*<sup>70,80</sup>).

The femur was used for analysis as it is the largest long bone in the body. The bone was dissected and mechanically purified. The proximal part of the bone was analysed. The presented measurements were carried out at micro-CT laboratory of the Institute of Experimental and Applied Physics (IEAP), Czech Technical University in Prague, and at Specialized Laboratory of Experimental Imaging (joint laboratory of the Third Faculty of Medicine, Charles University, IEAP and Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague). While the Specialized Laboratory of Experimental Imaging is equipped with a Bruker SkyScan 1275 micro-CT scanner and a customized micro-CT system designed for small animal imaging<sup>81</sup> the IEAP laboratory operates two in-house developed micro-CT systems utilizing large-area photon counting detectors based on Timepix technology<sup>82</sup>. The SkyScan 1275 was used for scanning of large samples as it is equipped with a highly efficient and fast CMOS flatpanel detector, while the custom systems at laboratory of IEAP were utilized for smaller samples since higher resolution and higher contrast-to-noise ratio could be achieved using these set-ups<sup>83,84</sup>.

The scan parameters were adjusted for each sample individually according to its size and attenuation properties. Generally, the samples were scanned in cone-beam geometry with angle step 0.2–0.4 degree and using 40–60 kVp unfiltered tungsten spectrum. The acquired micro-CT data were reconstructed using filtered back projection algorithm via NRecon software or Voxel reconstruction engine (courtesy of Fraunhofer-Allianz Vision, Germany) in the case of SkyScan 1275 or custom set-up respectively. The voxel-size of the reconstructed slices was within the range of 4–13 μm. The data analysis was carried out using Fiji<sup>85</sup> (video creation) and CTVox<sup>86</sup> (data survey and figure creation).

We evaluated the epiphyseal senescence and ossification status (the presence or absence of the growth plate) blindly by two independent observers. The criteria for senescence included a diminished chondrocytic area of the growth plate between the epiphysis and the metaphysis, and the absence of the suture between the metaphysis and epiphysis. In addition, the inner structure of the epiphysis was assessed in detail using 3D visualizations made from micro-CT scans. Juveniles and subadults possess a more dense epiphyseal structure lacking the typical trabecular architecture. Later, the endochondral ossification process in secondary ossification centres is completed and typical trabecular bone architecture appears in the epiphysis of older animals. Finally, the growth plate disappears, and the trabecular bone architecture fills up the space of metaphysis.

We complemented our analysis with additional data from literature concerning the maximal body size and longevity for the Iguania clade. Most data come from Scharf's large-scale comparative study<sup>34</sup>, which analysed the relationship of longevity, environmental characteristics and life-history traits.

**Statistical analyses.** We employed a generalized linear model (GLM) to explore the relationship between GPC presence/absence (binary coded) and two explanatory variables (body size expressed as snout-vent length and clade coded as Acrodonta versus Pleurodonta) and their interaction in R<sup>87</sup>. Since species cannot be considered as independent data points<sup>88</sup>, we run analysis accounting for the effect of phylogeny as well. We used phylogenetic generalized linear mixed model for binary data (PGLMM)<sup>89,90</sup> implemented in R package 'ape'<sup>91</sup>. We adopted a time-calibrated phylogeny of squamata<sup>33</sup> even though the relationships inside Pleurodonta remain uncertain. Because the pattern of GPC degradation is homogenous within pleurodonts (GPC usually resorbed), incompletely resolved pleurodont phylogeny does not significantly affect results of the analysis. In both types of models, we used only one individual per species and included only mature individuals (with SVL<sub>rel</sub> > 75%)<sup>73</sup> or those with resorbed GPC (final dataset contained 68 species). For visualisation of different timing in Acrodonta and Pleurodonta, we plotted the relationship between SVL and SVL<sub>rel</sub> with GPC presence/absence as a categorical variable in STATISTICA, version 6<sup>92</sup> (all specimens were included). The Mesquite programme (version 3.51) was employed for the ancestral state reconstruction of GPC on a phylogenetic tree<sup>93</sup> (the same dataset as for GLM models). Final circular cladogram was visualized in Dendroscope 3<sup>94</sup>. We scored the GPC binary as absent vs present (GPC clearly visible as well as nearly resorbed, but still a little bit present) in all analyses. Statistical



models concerning longevity were performed using PGLS method<sup>95,96</sup> implemented in R packages ‘ape’<sup>91</sup> and ‘nlme’<sup>97</sup>. The log-transformed data were adopted from Scharf<sup>34</sup>, phylogeny and branch lengths from Zheng and Wiens<sup>33</sup>.

### Data availability

All data generated or analysed during this study are included in this published article (and its Supplementary Information files).

Received: 4 April 2019; Accepted: 6 November 2019;

Published online: 12 December 2019

### References

- Lincoln, R. J., Boxhall, G. A. & Clark, P. F. A dictionary of ecology, evolution and systematics. (Cambridge University Press, 1982).
- Reiss, M. J. The Allometry of Growth and Reproduction. (Cambridge University Press, 1989).
- Sebens, K. P. The ecology of indeterminate growth in animals. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**, 371–407, <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.18.1.371> (1987).
- Haines, R. W. The evolution of epiphysis and of endochondral bone. *Biological Review* **17**, 267–292 (1942).
- Haines, R. W. Epiphysis and sesamoids. (ed Gans, C.) 81–115 (Academic Press, 1969).
- Kozłowski, J. Optimal allocation of resources explains interspecific life-history patterns in animals with indeterminate growth. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **263**, 559–566, <https://doi.org/10.1098/rspb.1996.0084> (1996).
- Kozłowski, J. & Uchmanski, J. Optimal individual growth and reproduction in perennial species with indeterminate growth. *Evolutionary Ecology* **1**, 214–230, <https://doi.org/10.1007/bf02067552> (1987).
- Stamps, J. A., Mangel, M. & Phillips, J. A. A new look at relationships between size at maturity and asymptotic size. *American Naturalist* **152**, 470–479, <https://doi.org/10.1086/286183> (1998).
- Sirbulescu, R. F., Iliu, I., Meyer, A. & Zupanc, G. K. H. Additive Neurogenesis Supported by Multiple Stem Cell Populations Mediates Adult Spinal Cord Development: A Spatiotemporal Statistical Mapping Analysis in a Teleost Model of Indeterminate Growth. *Developmental Neurobiology* **77**, 1269–1307, <https://doi.org/10.1002/dneu.22511> (2017).
- Karkach, A. S. Trajectories and models of individual growth. *Demographic Research* **15**, 348–+ (2006).
- Andrews, A. H., DeMartini, E. E., Brodziak, J., Nichols, R. S. & Humphreys, R. L. A long-lived life history for a tropical, deepwater snapper (*Pristipomoides filamentosus*): bomb radiocarbon and lead-radium dating as extensions of daily increment analyses in otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **69**, 1850–1869, <https://doi.org/10.1139/f2012-109> (2012).
- Campana, S. E., Valentin, A. E., MacLellan, S. E. & Groot, J. B. Image-enhanced burnt otoliths, bomb radiocarbon and the growth dynamics of redbait (*Sebastes mentella* and *S. fasciatus*) off the eastern coast of Canada. *Marine and Freshwater Research* **67**, 925–936, <https://doi.org/10.1071/mf15002> (2016).
- Bronikowski, A. M. & Arnold, S. J. The evolutionary ecology of life history variation in the garter snake *Thamnophis elegans*. *Ecology* **80**, 2314–2325, [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1999\)080\[2314:teohl\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1999)080[2314:teohl]2.0.co;2) (1999).
- Castanet, J., Newman, D. G. & Saintgirons, H. Skeletochronological data on the growth, age, and population-structure of the Tuatara, *Sphenodon punctatus*, on Stephens Island and Lady Island, New Zealand. *Herpetologica* **44**, 25–37 (1988).
- Congdon, J. D., Nagle, R. D., Kinney, O. M. & Sels, R. C. V. Hypotheses of aging in a long-lived vertebrate, Blanding’s turtle (*Emydoidea blandingii*). *Experimental Gerontology* **36**, 813–827, [https://doi.org/10.1016/s0531-5565\(00\)00242-4](https://doi.org/10.1016/s0531-5565(00)00242-4) (2001).
- Woodward, H. N., Horner, J. R. & Farlow, J. O. Osteohistological Evidence for Determinate Growth in the American Alligator. *Journal of Herpetology* **45**, 339–342 (2011).
- Carter, D. R., Mikic, B. & Padian, K. Epigenetic mechanical factors in the evolution of long bone epiphyses. *Zoological Journal of the Linnean Society* **123**, 163–178, <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1998.tb01298.x> (1998).
- Washburn, S. L. The sequence of epiphyseal union in the Opossum. *Anatomical Record* **95**, 353–363, <https://doi.org/10.1002/ar.1090950311> (1946).
- Lowrance, E. W. Variability and growth of the Opossum skeleton. *Journal of Morphology* **85**, 569–593, <https://doi.org/10.1002/jmor.1050850310> (1949).
- Ciancio, M. R., Castro, M. C., Galliari, F. C., Carlini, A. A. & Asher, R. J. Evolutionary Implications of Dental Eruption in Dasypus (*Xenarthra*). *Journal of Mammalian Evolution* **19**, 1–8, <https://doi.org/10.1007/s10914-011-9177-7> (2012).
- Quesnel, L., King, W. J., Coulson, G. & Festa-Bianchet, M. Tall young females get ahead: size-specific fecundity in wild kangaroos suggests a steep trade-off with growth. *Oecologia* **186**, 59–71, <https://doi.org/10.1007/s00442-017-4003-4> (2018).
- Frydlova, P. et al. Patterns of growth in monitor lizards (Varanidae) as revealed by computed tomography of femoral growth plates. *Zoomorphology* **136**, 95–106, <https://doi.org/10.1007/s00435-016-0338-3> (2017).
- Omeyer, L. C. M., Fuller, W. J., Godley, B. J., Snape, R. T. E. & Broderick, A. C. Determinate or indeterminate growth? Revisiting the growth strategy of sea turtles. *Marine Ecology Progress Series* **596**, 199–211, <https://doi.org/10.3354/meps12570> (2018).
- Werner, J., Sfakianakis, N., Rendall, A. D. & Griebeler, E. M. Energy intake functions and energy budgets of ectotherms and endotherms derived from their ontogenetic growth in body mass and timing of sexual maturation. *Journal of Theoretical Biology* **444**, 83–92, <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2018.02.007> (2018).
- Johansson, J., Brannstrom, A., Metz, J. A. J. & Dieckmann, U. Twelve fundamental life histories evolving through allocation-dependent fecundity and survival. *Ecology and Evolution* **8**, 3172–3186, <https://doi.org/10.1002/ece3.3730> (2018).
- Kronenberg, H. M. Developmental regulation of the growth plate. *Nature* **423**, 332–336, <https://doi.org/10.1038/nature01657> (2003).
- Hall, B. K. & ebrary Inc. Bones and cartilage developmental and evolutionary skeletal biology. (Elsevier Academic Press, 2005).
- Hunziker, E. B. Mechanism of longitudinal bone growth and its regulation by growth plate chondrocytes. *Microscopy Research and Technique* **28**, 505–519, <https://doi.org/10.1002/jemt.1070280606> (1994).
- van der Eerden, B. C. J., Karperien, M. & Wit, J. M. Systemic and local regulation of the growth plate. *Endocrine Reviews* **24**, 782–801, <https://doi.org/10.1210/er.2002-0033> (2003).
- Baron, J. et al. Catch-up growth after glucocorticoid excess – a mechanism intrinsic to the growth plate. *Endocrinology* **135**, 1367–1371, <https://doi.org/10.1210/en.135.4.1367> (1994).
- Marino, R. et al. Catch-up growth after hypothyroidism is caused by delayed growth plate senescence. *Endocrinology* **149**, 1820–1828, <https://doi.org/10.1210/en.2007-0993> (2008).
- Weise, M. et al. Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**, 6871–6876, <https://doi.org/10.1073/pnas.121180498> (2001).
- Zheng, Y. & Wiens, J. J. Combining phylogenomic and supermatrix approaches, and a time-calibrated phylogeny for squamate reptiles (lizards and snakes) based on 52 genes and 4162 species. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **94**, 537–547, <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.10.009> (2016).
- Scharf, I. et al. Late bloomers and baby boomers: ecological drivers of longevity in squamates and the tuatara. *Global Ecology and Biogeography* **24**, 396–405, <https://doi.org/10.1111/geb.12244> (2015).



35. Tolley, K. & Herrell, A. *The Biology of Chameleons*. (California University Press, 2013).
36. Karsten, K. B., Andriamandimbarisoa, L. N., Fox, S. F. & Raxworthy, C. J. A unique life history among tetrapods: An annual chameleon living mostly as an egg. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**, 8980–8984, <https://doi.org/10.1073/pnas.0802468105> (2008).
37. Armstrong, D. P., Keevil, M. G., Rollinson, N. & Brooks, R. J. Subtle individual variation in indeterminate growth leads to major variation in survival and lifetime reproductive output in a long-lived reptile. *Functional Ecology* **32**, 752–761, <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13014> (2018).
38. Stuart-Fox, D. A test of Rensch's rule in dwarf chameleons (*Bradypodion* spp.), a group with female-biased sexual size dimorphism. *Evolutionary Ecology* **23**, 425–433, <https://doi.org/10.1007/s10682-008-9242-8> (2009).
39. Karsten, K. B., Andriamandimbarisoa, L. N., Fox, S. F. & Raxworthy, C. J. Sexual selection on body size and secondary sexual characters in 2 closely related, sympatric chameleons in Madagascar. *Behavioral Ecology* **20**, 1079–1088, <https://doi.org/10.1093/beheco/arp100> (2009).
40. da Silva, J. M., Herrell, A., Measey, G. J. & Tolley, K. A. Sexual Dimorphism in Bite Performance Drives Morphological Variation in Chameleons. *Plos One*, 9, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086846> (2014).
41. Ejsmond, M. J., Czarnoleski, M., Kapustka, F. & Kozłowski, J. How to Time Growth and Reproduction during the Vegetative Season: An Evolutionary Choice for Indeterminate Growers in Seasonal Environments. *American Naturalist* **175**, 551–563, <https://doi.org/10.1086/651589> (2010).
42. Ejsmond, M. J., Varpe, O., Czarnoleski, M. & Kozłowski, J. Seasonality in Offspring Value and Trade-Offs with Growth Explain Capital Breeding. *American Naturalist* **186**, E111–E125, <https://doi.org/10.1086/683119> (2015).
43. Shine, R. Costs of reproduction in reptiles. *Oecologia* **46**, 92–100, <https://doi.org/10.1007/bf00346972> (1980).
44. Schwarzkopf, L. & Shine, R. Costs of reproduction in lizards – escape tactics and susceptibility to predation. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **31**, 17–25, <https://doi.org/10.1007/bf00167812> (1992).
45. Cox, R. M., Stenquist, D. S. & Calsbeek, R. Testosterone, growth and the evolution of sexual size dimorphism. *Journal of Evolutionary Biology* **22**, 1586–1598, <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01772.x> (2009).
46. Stahl, S. J. Captive management, breeding, and common medical problems of the veiled chameleon (*Chamaeleo calyptratus*). *Proceedings of the Fourth Annual Conference of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians*, 29–40 (1997).
47. Alcalá, A. C. Population biology of the 'flying' lizard, *Draco volans*, on Negros Island, Philippines. *Natural and Applied Science Bulletin* **20**, 335–372 (1967).
48. Pianka, E. R. Ecology of agamid lizard *Amphibolurus isolepis* in Western Australia. *Copeia*, 527–& (1971).
49. Mitchell, F. J. Studies on the ecology of the agamid lizard *Amphibolurus maculosus* (Mitchell). *Transactions of the Royal Society of South Australia* **97**, 47–76 (1973).
50. Cogger, H. G. A study of the ecology and biology of the mallee dragon (*Amphibolurus fordi*) and its adaptations to survival in an arid environment, Macquarie University, (1969).
51. Bradshaw, S. D., Girons, H. S. & Bradshaw, F. J. Patterns of breeding in two species of agamid lizards in the arid subtropical Pilbara region of Western Australia. *General and Comparative Endocrinology* **82**, 407–424, [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(91\)90316-x](https://doi.org/10.1016/0016-6480(91)90316-x) (1991).
52. Bringsoe, H. Observations on growth and longevity in *Uromastix aegyptia* (Forsskal, 1775) in the Negev Desert, southern Israel (Reptilia: Sauria: Agamidae). *Faunistische Abhandlungen, Staatliches Museum für Tierkunde, Dresden* **21**, 19–21 (1998).
53. Brown, D. A guide to Australian dragons in captivity. (ABK Publications, 2012).
54. Slavens, F. L. & Slavens, K. Reptiles and amphibians in captivity: breeding, longevity, and inventory. (Slaveware Publishing, 1999).
55. Charles Darwin Research Station Fact Sheet <http://web.archive.org/web/20070606214921/http://www.darwinfoundation.org/files/species/pdf/land-iguana-en.pdf> (2019)
56. Henderson, R. W. & Powell, R. Natural history of West Indian reptiles and amphibians. (University Press of Florida, 2009).
57. Iverson, J. B., Hines, K. N. & Valiulis, J. M. The nesting ecology of the Allen Cays rock iguana, *Cyclura Cychlura Inornata* in the Bahamas. *Herpetological Monographs* **18**, 1–36, [https://doi.org/10.1655/0733-1347\(2004\)018\[0001:tneota\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1655/0733-1347(2004)018[0001:tneota]2.0.co;2) (2004).
58. Licht, P. & Gorman, G. C. Reproductive and fat cycles in Caribbean Anolis lizards. *Univ. Calif. Publ. Zool.* **95**, 1–52 (1970).
59. Smith, H. M., Sinelnik, G., Fawcett, J. D. & Jones, R. E. A survey of the chronology of ovulation in Anoline lizard genera. *Trans. Kans. Acad. Sci.* **75**, 107–120 (1973).
60. Decourcy, K. R. & Jenssen, T. A. Structure and use of male territorial headbob signals by the lizard anolis carolinensis. *Animal Behaviour* **47**, 251–262, <https://doi.org/10.1006/anbe.1994.1037> (1994).
61. Tokarz, R. R. Body size as factor determining dominance in staged agonistic encounters between male brown anoles (*Anolis sagrei*). *Animal Behaviour* **33**, 746–753, [https://doi.org/10.1016/s0003-3472\(85\)80006-3](https://doi.org/10.1016/s0003-3472(85)80006-3) (1985).
62. Paterson, A. V. Effects of an individual's removal on space use and behavior in territorial neighborhoods of brown anoles (*Anolis sagrei*). *Herpetologica* **58**, 382–393, [https://doi.org/10.1655/0018-0831\(2002\)058\[0382:eoairo\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1655/0018-0831(2002)058[0382:eoairo]2.0.co;2) (2002).
63. Kratochvil, L. & Kubická, L. Why reduce clutch size to one or two eggs? Reproductive allometries reveal different evolutionary causes of invariant clutch size in lizards. *Functional Ecology* **21**, 171–177, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01202.x> (2007).
64. Cox, R. M. & Calsbeek, R. Severe costs of reproduction persist in Anolis lizards despite the evolution of a single egg clutch. *Evolution* **64**, 1321–1330, <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00906.x> (2010).
65. Jones, R. E., Guillette, L. J., Summers, C. H., Tokarz, R. R. & Crews, D. The relationship among ovarian condition, steroid-hormones, and estrous behavior in *Anolis carolinensis*. *Journal of Experimental Zoology* **227**, 145–154, <https://doi.org/10.1002/jez.1402270119> (1983).
66. Zena, L. A. et al. Seasonal changes in plasma concentrations of the thyroid, glucocorticoid and reproductive hormones in the tegu lizard *Salvator merianae*. *General and comparative endocrinology* **273**, 134–143 (2018).
67. Wronski, T. J., Lowry, P. L., Walsh, C. C. & Ignaszewski, L. A. Skeletal alterations in ovariectomized rats. *Calcified Tissue International* **37**, 324–328, <https://doi.org/10.1007/bf0254882> (1985).
68. Kalu, D. N. et al. Skeletal response of ovariectomized rats to low and high doses of 17-beta-estradiol. *Bone and Mineral* **14**, 175–187, [https://doi.org/10.1016/0169-6009\(91\)90021-q](https://doi.org/10.1016/0169-6009(91)90021-q) (1991).
69. Schmidt, I. U., Wakley, G. K. & Turner, R. T. Effects of estrogen and progesterone on tibia histomorphometry in growing rats. *Calcified Tissue International* **67**, 47–52, <https://doi.org/10.1007/s00223001096> (2000).
70. Frynta, D. et al. Ontogeny of Sexual Size Dimorphism in Monitor Lizards: Males Grow for a Longer Period, but not at a Faster Rate. *Zoological Science* **27**, 917–923, <https://doi.org/10.2108/zsj.27.917> (2010).
71. Frydlova, P. et al. Easy life of males? Indirect evidence that growth is easier than egg production in mangrove-dwelling monitor lizards (*Varanus indicus*). *Acta Herpetologica* **8**, 105–113 (2013).
72. Kumas, M. & Ayaz, D. Age determination and long bone histology in *Stellagama stellio* (Linnaeus, 1758) (Squamata: Sauria: Agamidae) populations in Turkey. *Vertebrate Zoology* **64**, 113–126 (2014).
73. Shine, R. & Chamov, E. L. Patterns of survival, growth, and maturation in snakes and lizards. *American Naturalist* **139**, 1257–1269, <https://doi.org/10.1086/285385> (1992).
74. Tureček, A. The effect of steroid hormones on sexually dimorphic bone growth in geckos. Master thesis, Charles University, (2017).
75. Charnov, E. L., Turner, T. F. & Winemiller, K. O. Reproductive constraints and the evolution of life histories with indeterminate growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**, 9460–9464, <https://doi.org/10.1073/pnas.161294498> (2001).

76. Sinervo, B. & Adolph, S. C. Growth plasticity and thermal opportunity in Sceloporus lizards. *Ecology* **75**, 776–790, <https://doi.org/10.2307/1941734> (1994).
77. Bonnet, X., Shine, R., Naulleau, G. & Thiburce, C. Plastic vipers: influence of food intake on the size and shape of Gaboon vipers (*Bitis gabonica*). *Journal of Zoology* **255**, 341–351, <https://doi.org/10.1017/s0952836901001443> (2001).
78. Tanaka, K. Phenotypic plasticity of body size in an insular population of a snake. *Herpetologica* **67**, 46–57, <https://doi.org/10.1655/herpetologica-d-10-00022.1> (2011).
79. Dawbin, W. H. The tuatara *Sphenodon punctatus*: aspects of life history, growth and longevity. NZ Wildlife Service, Department of Internal Affairs. (1982).
80. Wikramanayake, E. D. & Dryden, G. L. The reproductive ecology of *Varanus indicus* on Guam. *Herpetologica* **44**, 338–344 (1988).
81. Dudak, J. et al. X-ray micro-CT scanner for small animal imaging based on Timepix detector technology. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section a-Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment* **773**, 81–86, <https://doi.org/10.1016/j.nima.2014.10.076> (2015).
82. Jakubek, J. et al. Large area pixel detector WIDEPIX with full area sensitivity composed of 100 Timepix assemblies with edgeless sensors. *Journal of Instrumentation*, **9**, <https://doi.org/10.1088/1748-0221/9/04/c04018> (2014).
83. Jakubek, J., Holy, T., Jakubek, M., Vavrik, D. & Vykydal, Z. Experimental system for high resolution X-ray transmission radiography. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section a-Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment* **563**, 278–281, <https://doi.org/10.1016/j.nima.2006.01.033> (2006).
84. Dudak, J., Karch, J., Holcova, K. & Zemlicka, J. X-ray imaging with sub-micron resolution using large-area photon counting detectors Timepix. *Journal of Instrumentation*, **12**, <https://doi.org/10.1088/1748-0221/12/12/c12024> (2017).
85. Schindelin, J. et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods* **9**, 676–682, <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019> (2012).
86. CTVox, B. <http://bruker-microct.com/products/ctvox.htm>.
87. R: a language and environment for statistical computing (Vienna, Austria, 2012).
88. Felsenstein, J. Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist* **125**, 1–15, <https://doi.org/10.1086/284325> (1985).
89. Ives, A. R. & Helmus, M. R. Generalized linear mixed models for phylogenetic analyses of community structure. *Ecological Monographs* **81**, 511–525, <https://doi.org/10.1890/10.1264.1> (2011).
90. Ives, A. R. & Garland, T., Jr. Phylogenetic regression for binary dependent variables (ed. Garamszegi, L. Z.) 231–261 (Springer-Verlag, 2014).
91. Paradis, E., Claude, J. & Strimmer, K. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* **20**, 289–290, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg412> (2004).
92. StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 6. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com) (2001).
93. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis v. 3.51 (2018).
94. Huson, D. H. & Scornavacca, C. Dendroscope 3: An Interactive Tool for Rooted Phylogenetic Trees and Networks. *Systematic Biology* **61**, 1061–1067, <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys062> (2012).
95. Grafen, A. The phylogenetic regression. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences* **326**(1233), 119–157, <https://doi.org/10.1098/rstb.1989.0106> (1989).
96. Martins, E. P., Hansen & Thomas, F. Phylogenies and the Comparative Method: A General Approach to Incorporating Phylogenetic Information into the Analysis of Interspecific Data. *The American Naturalist* **149**(4), 646–667, <https://doi.org/10.1086/286013> (1997).
97. Pinheiro, J. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-96. <http://cran.r-project.org/web/packages/nlme/>.

### Acknowledgements

We thank Nataša Velenská and Ivan Reháč (Prague Zoo), Jiří Marek (Zoopark Zájezd), Jan Konáš (Zoological and Botanical Garden Pilsen), Antonín Hnízdil (Zoological Garden and Terrarium Prague), Jan Hříbal (Stanice přírodovědců DDM Prague), Kristýna Sedláčková (Charles University), Kristýna Šifnerová (Institute of Geology of the Czech Academy of Sciences), František Šubík (Zoological Garden Ústí nad Labem) for providing specimens. We are grateful to Martin Převorovský, who kindly improved the English. This project was supported by the European Regional Development Fund Project “Engineering applications of microworld physics” (No. CZ .02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000766) and the Czech Science Foundation (Project No. 18–15020S). The participation of P. F. was supported by the Charles University Research Centre program No. 204069. The participation of D. K. was supported by the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA) through Project No. 20172002.

### Author contributions

P.F. and D.F. conceptualized and designed the project. P.F., P.N., P.V., J.M., D.K., V.Z., T.J., P.K. and D.F. provided the material. P.F. was responsible for data collection and curation. J.D., J.M. and J.Ž. were responsible for performing micro-CT scans and data processing. P.F. and D.F. analysed the data. P.F. prepared the figures. J.M., M.Š., J.K., J.D., J.Ž., P.N. and P.Z. obtained funding acquisition. P.F. and D.F. wrote the original manuscript. All authors reviewed the draft.

### Competing interests

The authors declare no competing interests.

### Additional information

**Supplementary information** is available for this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54573-5>.

**Correspondence** and requests for materials should be addressed to D.F.

**Reprints and permissions information** is available at [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints).

**Publisher’s note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2019

#### 4.4 Ekologie plazů

**4.4.1 Jablonski, D., & Koleska, D. 2017. Molecular identification of *Eremias stummeri* (Squamata: Lacertidae) as a prey for *Gloydius halys* complex (Serpentes: Viperidae) from Kyrgyzstan. *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 16(1): 121-124.**

Rod *Gloydius* dnes sestává z více než 13 druhů, jak je uváděno v článku, který vycházel z informací tehdy aktuálních prací (např. Orlov et al., 2014; Kropachev et al., 2016; Wagner et al., 2016). Popisy nových druhů proběhly relativně nedávno – viz např. Shi et al. (2018), Shi et al. (2021) nebo Wang et al. (2019). V květnu roku 2016 jsme se vypravili do Kyrgyzstánu za účelem herpetologického průzkumu některých méně známých lokalit. 13. května jsme v okolí obce Jeti-Ögüz v severovýchodní části země našli čerstvě zabitého jedince *G. halys* complex. Na těle hada nebyla žádná viditelná zranění. Během ohledání těla jsme odhalili obsah v břišní dutině. Tím se ukázal být neúplně strávený zbytek paještěrky rodu *Eremias*. Následná genetická analýza prokázala, že se jedná o druh *E. stummeri*.



SHORT COMMUNICATION

## Molecular identification of *Eremias stummeri* (Squamata: Lacertidae) as a prey for *Gloydius halys* complex (Serpentes: Viperidae) from Kyrgyzstan

Daniel Jablonski<sup>1</sup> and Daniel Koleska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Zoology, Comenius University in Bratislava, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovakia. E-mail: [daniel.jablonski@balcanica.cz](mailto:daniel.jablonski@balcanica.cz).

<sup>2</sup> Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiological Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, Praha 6-Suchbát, 165 21, Czech Republic. E-mail: [koleska@af.czu.cz](mailto:koleska@af.czu.cz).

**Keywords:** 16S rRNA, diet, Halys Pit Viper, lizard, necrophagy.

**Palavras-chave:** 16S rRNA, dieta, lagarto, necrofagia, víbora-de-halys.

The genus *Gloydius* comprises 13 species of venomous Asian pit vipers (Wagner *et al.* 2016) that range from east of the Ural Mountains to Japan and the Ryukyu Islands (McDiarmid *et al.* 1999). The *Gloydius halys* (Pallas, 1776) complex occurs from Azerbaijan, Iran, through Central Asia to eastern Siberia, Mongolia, and China. Traditionally, *Gloydius halys* from Kyrgyzstan has been considered a subspecies—i.e., *G. halys caraganus* (Eichwald, 1831). However, given recent descriptions of cryptic taxa from Kyrgyzstan and unresolved phylogenetic relationships, they are called a species complex (Wagner *et al.* 2016). These snakes usually prey on small vertebrates, including rodents and lizards, but several kinds of invertebrates also were found in the digestive tract of this taxon (reviewed by Joger and Stümpel 2005).

Racerunners (Lacertidae: *Eremias*) are widely distributed lizards occurring from southeastern Europe throughout most of the Asian continent (Ananjeva *et al.* 2006). Their systematic status is not yet fully resolved owing to their morphological resemblance to one another and the syntopic occurrence of several species (Pouyani *et al.* 2012, Liu *et al.* 2014, Poyarkov Jr. *et al.* 2014). These lizards often occur in the same localities as pit vipers (cf. Sindaco and Jeremcenko 2008) and are eaten by snakes of the *G. halys* complex (e.g., Yakovleva 1964).

On 13 May 2016 we found a dead, freshly killed subadult male of the *Gloydius halys* complex near Jeti-Ögüz village (42.403° N, 78.221° E; 1888 m a.s.l.), Issyk-Kul Region in northeastern Kyrgyzstan. The snake was 285 mm long with a head that was 12 mm long and 9 mm wide. We did not observe any superficial wounds on the snake's body. The site features a slight rocky slope that has sparse vegetation and no trees or shrubs. The pit viper was found in an area frequently used for grazing; thus, the

Received 16 September 2016  
Accepted 24 January 2017  
Distributed June 2017



individual might have been killed by local farmers. We cannot exclude the possibility of predation by a larger vertebrate, possibly a bird of prey as they are known to mob crotaline snakes (Sazima 2015); however, the body was not damaged. On inspecting the cadaver, we noticed that the abdomen contained an incompletely digested lizard (~100 mm long) of the genus *Eremias* (Figure 1). The lizard was sufficiently decomposed to preclude species determination. However, based on distribution (Sindaco and Jeremcenko 2008), the slightly visible color pattern back of the body, and our observation of several individuals of *E. stummeri* Wettstein, 1940 at the locality, we assume that the prey item may have been this species of racerunner.

Comparative DNA sequence analysis confirmed our supposition. A tissue sample (a piece of the tail and digit) was collected at the locality, preserved in 96% ethanol, and deposited in the private tissue collection of the first author at the Department of Zoology, Comenius University in Bratislava under the number 3981. Total genomic DNA, obtained from the tissue sample of the specimen was extracted using the NucleoSpin Tissue kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) following the protocols of the respective manufactures. DNA was amplified by widely used *16S* ribosomal RNA marker (*16S*) with

primers 16Sar-L and 16Sbr-H (Palumbi *et al.* 2002) and sequenced by Macrogen Inc. (Amsterdam, Netherlands). The *16S* fragment (528 bp) was aligned using the Clustal W algorithm (Thompson *et al.* 1994) as implemented in BioEdit (Hall 1999) and compared via the BLAST algorithm (Altschul *et al.* 1990). Our resulting sequence alignment corresponded to 99% with the *16S* part of the mitochondrion of *E. stummeri* originating from Kazakhstan (GenBank accession number KT372881; Zhou *et al.* 2015). Sequence divergence between our sample from Kyrgyzstan and that published from Kazakhstan is 0.4% (uncorrected *p*-distances using MEGA 7.0; Kumar *et al.* 2016). This documents the genetic affiliation of our sample to *E. stummeri*; the sequence is deposited in the GenBank sequence database under accession number KY486773.

There are several recent taxonomic and distributional studies of *Gloydus* from various parts of Asia (Orlov *et al.* 2014, Kropachev *et al.* 2016, Wagner *et al.* 2016). We can supplement these reports by providing some ecological information about these pit vipers. The food spectrum of *G. halys* depends on the type of habitat in which they occur and the age of the snake (Simonov 2009). The diet of adult snakes mainly consists of warm-blooded prey, such as small mammals, but observations of individuals




**Figure 1.** Dissected specimen of *Gloydus halys* complex with part of the body of *Eremias stummeri*. (A) Ventral view (dorsal view of the lizard's remains). (B) Dorsal view (ventral view of the lizard's remains).

with snout–vent lengths less than 400 mm revealed that smaller snakes prefer invertebrates, especially Orthoptera (from 35–61%) and small lizards (Lesnyak 1964, Yakovleva 1964, Bogdanov 1970). This supports our observation. *Eremias arguta* (Pallas, 1773), *E. multiocellata* Günther, 1872, and *E. velox* (Pallas, 1771) have been reported in the diet of *G. halys* from Kyrgyzstan (Yakovleva 1964), but this is the first record of the racerunner *E. stummeri*. Given the abundance of *E. stummeri* at the locality, we can assume that these lizards are one of the main prey items of subadult pit vipers. Similarly, species of *Eremias* also have been recorded as a prey item of *Eryx miliaris* (Pallas, 1773), *E. tataricus* (Lichtenstein, 1823) or *Vipera renardi* (Christoph, 1861) (Yakovleva 1964, Rodríguez-Robles *et al.* 1999).

The body of the racerunner was incomplete, which suggests that the lizard might have been dead before it was eaten. Similarly, Yakovleva (1964) documented part of a limb of *Eremias arguta* found in male *Gloydius halys* with a snout–vent length of 205 mm. Therefore, it seems likely that *G. halys* consumes lizard cadavers, which might indicate occasional necrophagy. This is a rare behavior in Viperidae (Sazima and Strussman 1990).

Direct observation of feeding events is impractical and invasive approaches are inappropriate for protected or rare species. Contents of the digestion tract of freshly killed individuals (e.g., on the road or killed by man) may provide direct information about food preference. Molecular techniques are useful to identify prey items that are quickly destroyed by digestive processes. Dietary composition can provide valuable knowledge about the interaction of these pit vipers with other reptile species, as well as elucidate the composition of local herpetofauna.

**Acknowledgments.**—We would like to thank J. Pollakova for her lab support, D. Hegner, Z. Hiadlovská, M. Kulma and R. Smolinský for their assistance in the field, E. Simonov for

providing literature, J. Bogart and L. Trueb for editing of the text and two anonymous reviewers for their useful comments. This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract number APVV-15-0147, and the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA) through Project number 20172002. 

## References

- Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers, and D. J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403–410.
- Ananjeva, N. B., N. L. Orlov, R. G. Khalikov, I. S. Darevsky, S. A. Ryabov, and A. V. Barabanov. 2006. *The Reptiles of Northern Eurasia. Taxonomic Diversity, Distribution, Conservation Status*. Sofia. Pensoft Publishers. 245 pp.
- Bogdanov, O. P. 1970. Diet of *Agkistrodon halys* in central Asia. *Zoologicheskii Zhurnal, Moscow* 49: 1851–1856.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.
- Joger, U. and N. Stümpel (eds). 2005. *Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas, Band 3/IIB: Schlangen (Serpentes) III: Viperidae*. Wiebelsheim. AULA-Verlag. 420 pp.
- Kropachev, I. I., N. L. Orlov, and V. F. Orlova. 2016. *Gloydius ussuriensis* (Emelianov, 1929) (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). A new snake species for the herpetofauna of Mongolia. *Russian Journal of Herpetology* 23: 108–114.
- Kumar, S., G. Stecher, and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870–1874.
- Lesnyak, A. P. 1964. Ecology and maintenance in captivity of Halys pit viper *Ancistrodon halys* (Pallas, 1776). Unpublished Ph.D. Dissertation. Tashkent, USSR.
- Liu, J., N. A. Ananjeva, M. A. Chirikova, K. D. Milto, and X. Guo. 2014. Molecular assessment and taxonomic status of the rapid racerunner (*Eremias velox* complex) with particular attention to the populations in Northwestern China. *Asian Herpetological Research* 5: 12–25.
- McDiarmid, R. W., J. A. Campbell, and T. A. Touré. 1999. *Snake Species of the World: A Taxonomic and Geo-*



- graphic Reference, Volume 1.* Washington. Herpetologists' League. 511 pp.
- Orlov, N. L., Y. N. Sundukov, and I. I. Kropachev. 2014. Distribution of Pitvipers of “*Gloydus blomhoffii*” complex in Russia with the first records of *Gloydus blomhoffii blomhoffii* at Kunashir Island (Kuril Archipelago, Russian Far East). *Russian Journal of Herpetology* 21: 169–178.
- Palumbi, S., A. Martin, S. Romano, W. O. McMillan, L. Stice, and G. Grabowski. 2002. *The Simple Fool's Guide to PCR, Version 2.* Honolulu. Department of Zoology and Kewalo Marine Laboratory, University of Hawaii. 45 pp.
- Pouyani, E. R., S. K. Nouredini, N. R. Pouyani, U. Joger, and M. Wink. 2012. Molecular phylogeny and intraspecific differentiation of the *Eremias velox* complex of the Iranian Plateau and central Asia (Sauria, Lacertidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 50: 220–229.
- Poyarkov Jr, N. A., V. F. Orlova, and M. A. Chirikova. 2014. The mitochondrial phylogeography and intraspecific taxonomy of the Steppe Racerunner, *Eremias arguta* (Pallas) (Lacertidae: Sauria, Reptilia), reflects biogeographic patterns in Middle Asia. *Zootaxa* 3895: 208–224.
- Rodríguez-Robles, J. A., C. J. Bell, and H. W. Greene. 1999. Gape size and evolution of diet in snakes: feeding ecology of erycine boas. *Journal of Zoology* 248: 49–58.
- Sazima, I. 2015. A bird assemblage mobs an adult Pitviper in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Ornitologia* 23: 9–11.
- Sazima, I. and C. Strüssman. 1990. Necrofagia em serpentes brasileiras. Exemplos e previsões. *Revista Brasileira de Biologia* 50: 463–468.
- Simonov, E. 2009. Differences in habitat use, daily activity patterns and preferred ambient temperatures of adult and neonate *Gloydus halys halys* from an isolated population in southwest Siberia: preliminary data. *Herpetology Notes* 2: 1–7.
- Sindaco, R. and V. K. Jeremcenko. 2008. *The Reptiles of the Western Palearctic. Annotated Checklist and Distributional Atlas of the Turtles, Crocodiles, Amphisbaenians and Lizards of Europe, North Africa, Middle East and Central Asia. Volume 1.* Latina. Monografie della Societas Herpetologica Italica I, Edizioni Belvedere. 579 pp.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins, and T. J. Gibson. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673–4680.
- Wagner, P., A. Tiutenko, G. Mazepa, L. J. Borkin, and E. Simonov. 2016. Alai! Alai! A new species of the *Gloydus halys* (Pallas, 1776) complex (Viperidae, Crotalinae), including a brief review of the complex. *Amphibia-Reptilia* 37: 15–31.
- Yakovleva, I. D. 1964. *Presmykayushchiesya Kirgizii (Reptiles of Kirghizia)*. Llim. Frunze. 264 pp.
- Zhou, T., D. Li, T. N. Dujsebajeva, J. Liu, and X. Guo. 2015. Complete mitochondrial genome of Stummer's Racerunner (*Eremias stummeri*) from Kazakhstan. *Mitochondrial DNA Part A* 27: 4340–4341.

Editor: James Bogart

#### 4.5 Distribuce plazů a obojživelníků

**4.5.1 Uhrin, M., Havaš, P., Minařík, M., Kodejš, K., Bugoš, I., Danko, S., Husák, T, Koleska, D. & Jablonski, D. 2016. Distribution updates to amphibian and reptilian fauna for the Republic of Macedonia. Herpetology Notes, 9: 201-220.**

Balkánský poloostrov je považován za jedno ze světových center biodiverzity (Gaston and David, 1994; Džukić and Kalezić, 2004; Griffiths et al., 2004; Hewitt, 2011). Některé oblasti Balkánu jsou však dosud nedostatečně prozkoumány, což se týká především rozšíření některých druhů zvířat. Makedonie je, jakožto vnitrozemský stát, situována v centrální části Balkánu. Rozloha Makedonie činí 25,713 km<sup>2</sup> a zahrnuje několik významných geomorfologických jednotek, jako je např. údolí řeky Vardar, Helenidy nebo Dinárské hory. Složení herpetofauny Makedonie je relativně dobře známé (např. Gasc et al., 1997; Sillero et al., 2014, Speybroeck et al., 2010), nicméně přesnější data o distribuci u některých druhů chybí. V současnosti se v Makedonii vyskytuje 14 druhů obojživelníků a 32 druhů plazů podle platné taxonomie (Speybroeck et al., 2020). Obsáhlejší shrnutí distribuce herpetofauny publikoval Sterijovski (2014). V této práci uvádíme výsledky krátkého intenzivního terénního průzkumu výskytu plazů a obojživelníků v Makedonii s novými nálezy pro některé druhy.

## Distribution updates to amphibian and reptile fauna for the Republic of Macedonia

Marcel Uhrin<sup>1\*</sup>, Peter Havaš<sup>2</sup>, Martin Minařík<sup>3</sup>, Karel Kodejš<sup>3</sup>, Imrich Bugoš<sup>2</sup>, Stanislav Danko<sup>2</sup>, Tomáš Husák<sup>4</sup>, Daniel Koleska<sup>4</sup> and Daniel Jablonski<sup>5</sup>

**Abstract.** Macedonia, as a part of the Balkan Peninsula, ranks among the most important regions in terms of amphibian and reptile biodiversity. Thus far, 14 amphibian and 32 reptile species have been found to occur in Macedonia, but with some exceptions among reptiles, the distribution of most of taxa is poorly understood and/or records have only rarely been published. We report here records on 10 amphibian and 28 reptile taxa from 85 different localities covering most of the habitats in Macedonia. Despite the field survey was conducted during two weeks in June 2014 only, we have recorded new distribution data for 22 reptile species.

**Keywords.** Amphibia, Reptilia, new records, Balkan Peninsula, mapping, chorology.

### Introduction

The Balkan Peninsula is considered to be a biodiversity hotspot for European biotas (Gaston and David, 1994; Džukić and Kalezić, 2004; Griffiths et al., 2004; Hewitt, 2011). However, many regions of the Balkans are still poorly evaluated in terms of basic zoological research, i.e. species distributions and their occurrence patterns. Macedonia is an inland country situated in the central part of the Balkans. The territory of Macedonia covers an area of 25,713 km<sup>2</sup> and includes several important geomorphological units, such as the Vardar River valley, the Helenides, the Dinaric range and the Thrace-Macedonian massif within three main biogeographic-climate regions extending in the country: Alpine, Continental and Mediterranean (Král, 2001; Reed et al., 2004; Melovski et al., 2013). For herpetofauna, this part of the Balkans has presumably served as microrefugia for some species (e.g. *Lacerta viridis* complex, Marzahn et al., 2016), as a contact zone of different evolutionary lineages of species after the Last Glacial Maximum (e.g., *Triturus* spp., Wielstra et al., 2014; *Natrix natrix*, Kindler et al., 2013) or as a presumable migration corridor for several Mediterranean elements (e.g. *Testudo graeca*, *Mediodactylus kotschyi*, *Platyceps najadum*, *Zamenis situla*; Crnobrnja-Isailović and Aleksić, 1999; Tomović et al., 2014; Sterijovski et al., 2014).

Species composition of amphibians and reptiles in the Republic of Macedonia is fairly well known (e.g. Gasc et al., 1997; Sillero et al., 2014, 2015) but the exact distribution of most of the species in the country is not very well documented. Based on present knowledge, the fauna of Macedonia includes 14 amphibian species and 32 reptile species with respect to current taxonomy (sensu Speybroeck et al., 2010).

There were some recent advances on new records published (e.g. Rot-Nikčević et al., 2001; Džukić et al., 2005, 2008; Vukov et al., 2006; Sidorovska, 2010; Žagar et al., 2013; Wielstra et al., 2014), especially for

<sup>1</sup> Institute of Biology and Ecology, Faculty of Science, P.J.

Šafárik University, Moyzesova 11, 040 01 Košice, Slovakia.

<sup>2</sup> Fauna Carpatica, Mađarská 5, 040 13 Košice, Slovakia.

<sup>3</sup> Department of Zoology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Viničná 7, 128 44 Prague 2, Czech Republic.

<sup>4</sup> Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, CZ– 165 21 Prague 6, Czech Republic.

<sup>5</sup> Department of Zoology, Comenius University in Bratislava, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovakia.

\* Corresponding author e-mail: marcel.uhrin@gmail.com



reptiles, where a comprehensive review has just recently been provided (Sterijovski *et al.*, 2014). However, there are still species whose occurrence is poorly known. Therefore, we present here the results of short but extensive field study on amphibians and reptiles in the country with a distribution updates for several species.

### Material and methods

A herpetological field survey conducted across the whole country was carried out during two weeks in June 2014. Altogether, 86 localities representing most regions of Macedonia (Table 1) were surveyed. We recorded the geographic coordinates (WGS84 system) and altitude of all visited localities as well as other relevant faunistic data. The distribution data of individual species or species complexes are presented in Universal Transverse Mercator (UTM) grid maps with the resolution of squares of 10×10 km (Figures 1–3). All herpetological findings were properly documented in the field and most of them were photographed (individuals and habitats).

Records were compared with data presented in summary accounts (Gasc *et al.*, 1997; Sterijovski *et al.*, 2014; Sillero *et al.*, 2014, 2015) and with other works related to regional herpetofauna (Džukić *et al.*, 2005, 2008; Vukov *et al.*, 2006; Sidorovska, 2010; Jelić *et al.*, 2013; Žagar *et al.*, 2013). Species identification followed Arnold and Ovenden (2002), taxonomy and nomenclature were adopted from Speybroeck *et al.* (2010), considering also recent taxonomical revisions pertaining to batrach- and herpetofauna of this region (e.g. Wielstra *et al.*, 2013; Hedges *et al.*, 2014).

### Results and discussion

A list of all recorded species is presented in Table 1. In total, we obtained 289 amphibian and reptile records of 38 species (79% of the total number of known species of Macedonia). Ten of them were amphibians and 28 reptiles, which represent 64% and 85% of all species known from Macedonia. In comparison with the results of Sterijovski *et al.* (2014) we have found 62 new grid records in a resolution of 10×10 UTM for 22 reptile species (Figures 2 and 3).

Below we provide a list of recorded species (arranged by taxonomic groups and families) with a number of records given in parentheses after scientific taxa name and with a short description of the species distribution in the country and a list of new sites with information on the site altitude. When appropriate, comments on the circumstances of the record and/or biological, ecological and biogeographical notes were added.

### Amphibia

#### Salamandridae

*Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758) (N=4) (Tab. 1, Fig. 1)

Occurrence in Macedonia: According to reported chorological data (Gasc *et al.*, 1997; Sillero *et al.*, 2014, 2015), fire salamanders are probably widespread mostly in the mountain regions of the country.

Comments: We recorded fire salamanders at four sites; three records were made at higher altitude (887, 929, 1,680 m) and one (Treska river Gorge; Figs 4A and 5A) represented a relatively low elevation for this species in the Balkans region (319 m; cf. Jablonski *et al.*, 2013). The latter site is situated out of the species range delineated by available chorological data (Gasc *et al.*, 1997; Sillero *et al.*, 2014, 2015).

*Triturus* sp. (N=1) (Tab. 1, Fig. 1)

Occurrence in Macedonia: From the genus *Triturus* Rafinesque, 1815, two species occur in Macedonia, *T. ivanbureschi* Arntzen & Wielstra, 2013 and *T. macedonicus* (Karaman, 1922), but accurate data on their distribution are still lacking (Wielstra *et al.*, 2014). Both species have a contact zone of their ranges in the eastern part of the country (Wielstra *et al.*, 2014).

Comments: We recorded several newt larvae in Dojran Lake, near Mrdaja village (153 m). Species affiliation of the specimens was not possible to confirm but so far only *T. macedonicus* was reported to occur in the vicinity of Dojran Lake (Wielstra *et al.*, 2014).

#### Bombinatoridae

*Bombina variegata* (Linnaeus, 1758) (N=5) (Tab. 1, Fig. 1)

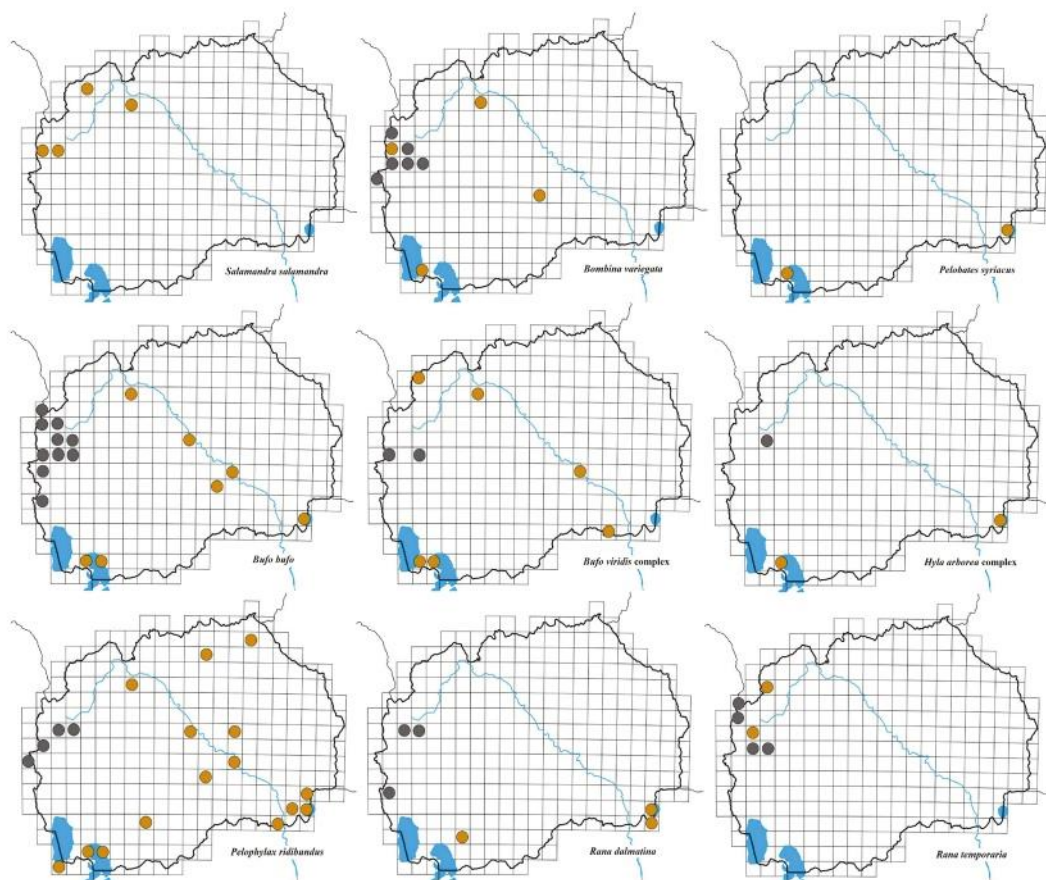
Occurrence in Macedonia: Probably a widespread species over the entire country (Gasc *et al.*, 1997; Sillero *et al.*, 2014, 2015).

Comments: We recorded yellow-bellied toads at five sites in four 10×10 km quadrates in altitudes from 303 (Treska River Gorge) to 1,601 (Baba in Galičica Mts.) metres. The record in the central part of the country (Toplica village, 677 m) is situated out of previously delineated range (Gasc *et al.*, 1997; Sillero *et al.*, 2014, 2015).

#### Pelobatidae

*Pelobates syriacus* Boettger, 1889 (N=2) (Tab. 1, Fig. 1)

Occurrence in Macedonia: Probably a widespread low-



**Figure 1.** Maps of the distribution of amphibian species. Records are presented in the 10×10 km UTM mapping quadrates covering the territory of Macedonia. Dark orange circles – our records; grey circle – data by Sidorovska (2010). For precise site data, see Table 1.

land species, missing only from the mountain ranges in the north of the country (Gasc et al., 1997; Sillero et al., 2014, 2015). Data about the occurrence are concentrated along the Vardar River including its tributaries and near larger lakes (Dojran, Prespa and Ohrid regions; Džukić et al., 2005, 2008).

Comments: We recorded *P. syriacus* at two previously known localities (Dojran and Prespa Lakes) (Džukić et al., 2008).

#### Bufoidea

*Bufo bufo* (Linnaeus, 1758) (N=8) (Tab. 1, Fig. 1)

Occurrence in Macedonia: Widespread in the eastern and southern parts of the country (Gasc et al., 1997; Sil-

lero et al., 2014, 2015).

Comments: We recorded *B. bufo* at eight sites in the regions of two large lakes (Dojran and Prespa Lakes) and along the Vardar River valley prevailing on lower altitudes (120–854 m). Records near Glumovo (282 m) and Dolna Matka villages (316 m) are situated out of previously delineated range (Gasc et al., 1997; Sillero et al., 2014, 2015) of this species in Macedonia.

*Bufo viridis* Laurenti, 1768 complex (N=6) (Tab. 1, Fig. 1)

Occurrence in Macedonia: The distribution pattern is not yet fully known (Gasc et al., 1997; Sillero et al., 2014, 2015).



Comments: We found specimen of this species complex at six sites in Macedonia, among them record near Dolna Matka village (352 m) is situated out of previously delineated species range in this region (Gasc *et al.*, 1997; Sillero *et al.*, 2014, 2015). Because two species of the “*viridis*” complex probably occur in the area of Macedonia, *B. variabilis* (Pallas, 1769) in the eastern part and *B. viridis* s. str. in the western part of the country (cf. Stöck *et al.*, 2009), exact species affiliation is not possible applying morphological identification only.

#### Hylidae

*Hyla arborea* (Linnaeus, 1758) complex (N=2) (Tab. 1, Fig. 1)

Occurrence in Macedonia: The current distribution knowledge is limited to eastern and southern parts of the country (Sillero *et al.*, 2014, 2015).

Comments: We recorded this species at two sites (Nikolić village, Stenje village) near large lakes (Dojran Lake and Prespa Lake). *Hyla arborea* s. str. occurs in Macedonia; however, the occurrence of *H. orientalis* Bedriaga, 1890, in the eastern part of the country could not be excluded (cf. Stöck *et al.*, 2012; Gvoždik *et al.*, 2015). The distribution status of the latter species is generally not well known.

#### Ranidae

*Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (N=17) (Tab. 1, Fig. 1)

Occurrence in Macedonia: The marsh frog is widespread in different types of water habitats throughout the whole country (Gasc *et al.*, 1997; Sillero *et al.*, 2014, 2015), similarly as in neighbouring countries (cf. Haxhiu, 1994; Krizmanić, 2008; Vukov *et al.*, 2013).

Comments: Our observations (altogether 17 site records) together with several exactly located records available from Macedonia (Sidorovska, 2010) considerably supplemented the pattern of distribution of this species previously delineated in 50×50 km quadrates only (Gasc *et al.*, 1997; Sillero *et al.*, 2014, 2015).

*Rana dalmatina* Fitzinger, 1838 (N=4) (Tab. 1, Fig. 1)

Occurrence in Macedonia: The occurrence of the agile frog in Macedonia is limited to the mountainous regions on the eastern and western country borders (Gasc *et al.*, 1997; Sillero *et al.*, 2014, 2015). The lack of occurrence data from the central part of the country could be due to the low level of surveillance since the species is commonly widespread in neighbouring countries from

sea level to 1,500 metres (Albania, Bulgaria, Greece, and Serbia: Haxhiu, 1994; Valakos *et al.*, 2008; Jablonski, 2011; Stojanov *et al.*, 2011; Vukov *et al.*, 2013).

Comments: We recorded this species at four sites in two regions, Dojran and Mrdaja villages near Dojran Lake and near Magarevo village in Pelister Mts. Latter records were made at altitudes of 1,286 and 1,626 metres, that are relatively high compared with the altitude data from Albania or Bulgaria (Haxhiu, 1994; Stojanov *et al.*, 2011).

*Rana temporaria* Linnaeus, 1758 (N=2) (Tab. 1, Fig. 1)

Occurrence in Macedonia: Precise data from Macedonia are missing; the species is reported to occur in northern mountain regions only (Gasc *et al.*, 1997; Sillero *et al.*, 2014, 2015).

Comments: We reported this species at two already known sites (Šar Planina Mt., Popovac Šapka, 2,241 m; Vrben village, 1,289 m) in the western part of the country, where the species was recently reported as common by Sidorovska (2010).

#### Reptilia

##### Testudinidae

*Testudo graeca* Linnaeus, 1758 (N=7) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: A widespread species found all over the country, with fewer records from the southern parts (Sterijovski *et al.* 2014). Records from the western part of the country should be considered carefully due to the species range limit; records in neighbouring Albania were considered doubtful (Haxhiu, 1998; Haxhiu and Oruçi, 2001; Buskirk *et al.*, 2001; Jablonski, 2011).

New records: Krivolak village (155 m), Kurija village (167 m), Raec River gorge (211 m) (Fig. 4B).

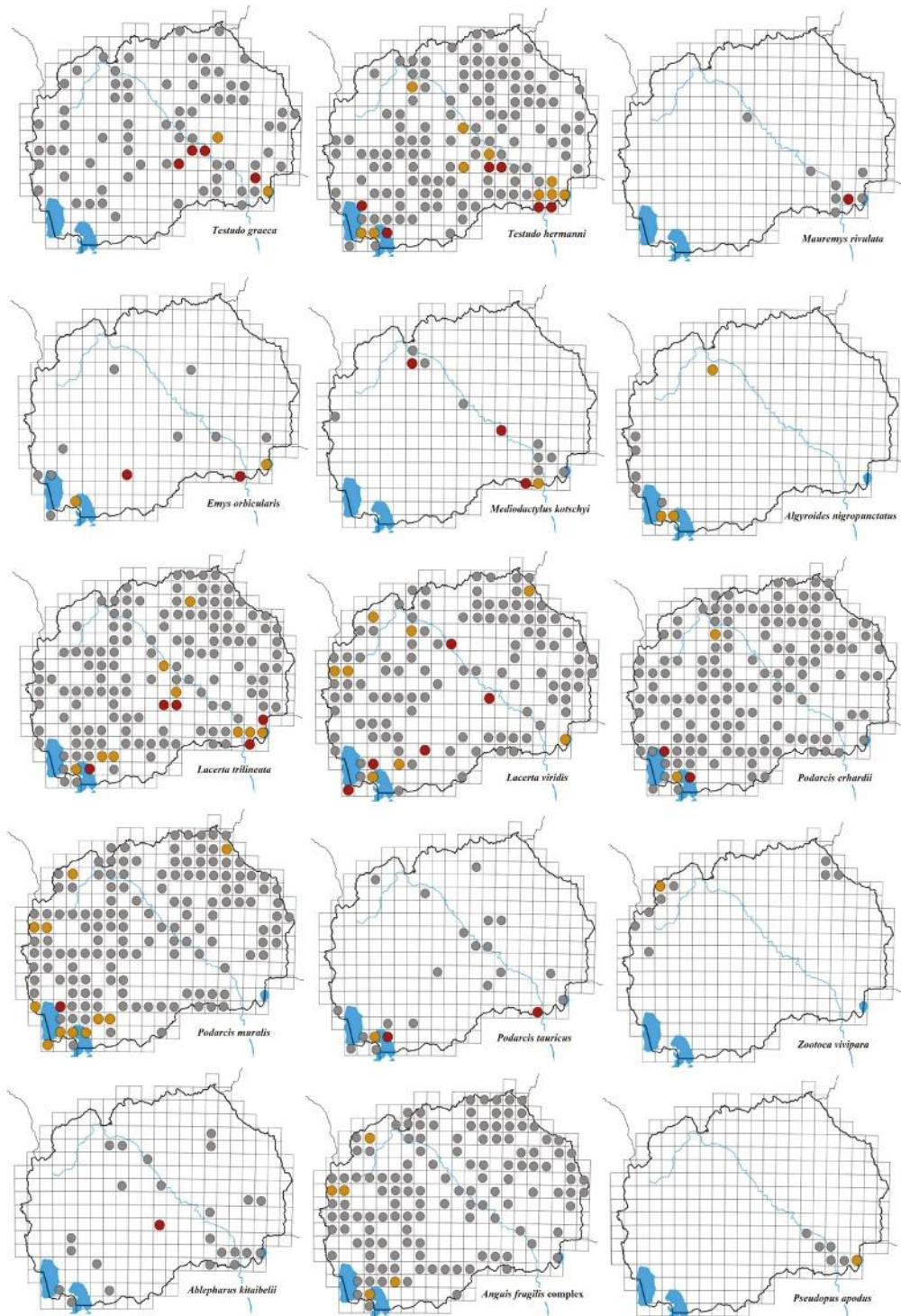
Comments: We made altogether seven observations of this species in the south-eastern region; new records considerably supplement the pattern of known species range in the south-eastern region of the country.

*Testudo hermanni* Gmelin, 1789 (N=20) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: A widespread and relatively abundant species, absent in the highest mountains (Ljubisavljević *et al.*, 2014; Sterijovski *et al.*, 2014).

New records: Gevgelija near Vardar River (58 m), Gjavato village (58 m), Gorni Disan village (406 m), Kosel village (770 m), Pretor village (854 m), Tikveš Lake (290 m), Vataša village (350 m), Vataša village (Luda Mara river) (401 m).

Comments: Hermann's tortoise seems to be a common



**Figure 2.** Maps of the distribution of reptile species with new records. Records are presented in 10×10 km UTM mapping quadrates covering the territory of Macedonia and comparing with previously known species distribution patterns (grey colour; sensu Sidorovska, 2010; Žagar et al., 2013; Sterijovski et al., 2014). Dark orange circles – records re-confirmed occurrence in quadrates by new records of this study; red circles – new occupied quadrates based on our new records. For precise site data, see Table 1.



species in the country; we made twenty observations covering the range provided by Sterijovski *et al.* (2014). At four sites we recorded syntopic occurrence of *T. hermanni* and *T. graeca*: Dedeli village, Kurija village, Nikolić village and Pretor village.

#### Geoemydidae

*Mauremys rivulata* (Valenciennes, 1833) (N=1) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: The Balkan terrapin is probably a very rare species in Macedonia, where only a few records are known from across the Vardar River valley and in the surroundings of Dojran Lake (cf. Sterijovski *et al.*, 2014).

New record: Dedeli village (205 m).

Comments: We observed one killed adult female (Fig. 4C) ca. 1.6 km south of Dedeli village. This finding, together with records from Dojran Lake from 2010 (Žagar *et al.*, 2013) confirm the contemporary occurrence of this rare species in this region.

#### Emydidae

*Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) (N=3) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: The range of the European pond turtle in Macedonia is represented by scarce data dispersed almost all over the country where species occurrence is limited to suitable water habitats and laying sites (Sterijovski *et al.*, 2014).

New records: Gevgelija near Vardar River (58 m), Radobor village (588 m).

Comments: Sterijovski *et al.* (2014) reported this species for eleven UTM squares. We recorded it at three sites, two of which could be considered as new.

#### Gekkonidae

*Mediodactylus kotschy* (Steindachner, 1870) (N=6) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: The species range in Macedonia is limited to the Vardar River valley (Sterijovski *et al.*, 2014; Sillero *et al.*, 2014, 2015). Outside this region only one observation was reported, from the western part of the country (Debar; Sidorovska, 2010).

New records: Krivolak village (120 m), Dolna Matka village (309 m), Novo Konsko village (Konska reka river) (198 m), Pepelište village (126 m) (Fig. 4D).

Comments: Our records at six sites supported the general occurrence pattern (e.g. Sterijovski *et al.*, 2014),

with the new record as the northernmost site at Dolna Matka village.

#### Lacertidae

*Algyroides nigropunctatus* (Duméril and Bibron, 1839) (N=3) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: A rare species with a southern distribution limit between Ohrid and the Prespa Lakes region and with a possibly isolated population recorded in the Treska River valley (Sterijovski *et al.*, 2014).

Comments: We recorded this species in relatively high abundance (tens of individuals) at three already known sites (Dolna Matka village, Trpejca village, north of Stenje village).

*Lacerta trilineata* Bedriaga, 1886 (N=18) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: The species is among the most common representatives of Macedonian reptilian fauna and is widespread all over the country (Sterijovski *et al.*, 2014).

New records: Asamati village (878 m), Gjavato village (58 m), Nikolić village (288 m), Raec River gorge (211 m), Toplica village (577 m, 677 m).

Comments: We made observations at 18 different sites in various parts of Macedonia which corresponded with the previous view on the species distribution. Records from new quadrates supplemented the species distribution mainly in the southern part of the country.

*Lacerta viridis* (Laurenti, 1768) complex (N=15) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: The green lizard is a common, abundant and widespread species in Macedonia (Sterijovski *et al.*, 2014).

New records: Gorno Perovo vilage (859 m), Kastiljo (Pčinja River) (274 m), Nikolić village (160 m, 199 m), Radobor village (580 m), Sveti Naum (695 m).

Comments: We documented this species at 21 sites throughout the country; five new records contributed to new data for five UTM quadrates. The species is locally abundant; we observed tens of individuals in several sites (Kurija village, Dolna Matka village, Nikolić village, Radobor village, Stenje village).

*Podarcis erhardii* (Bedriaga, 1876) (N=5) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: Erhard's wall lizard is

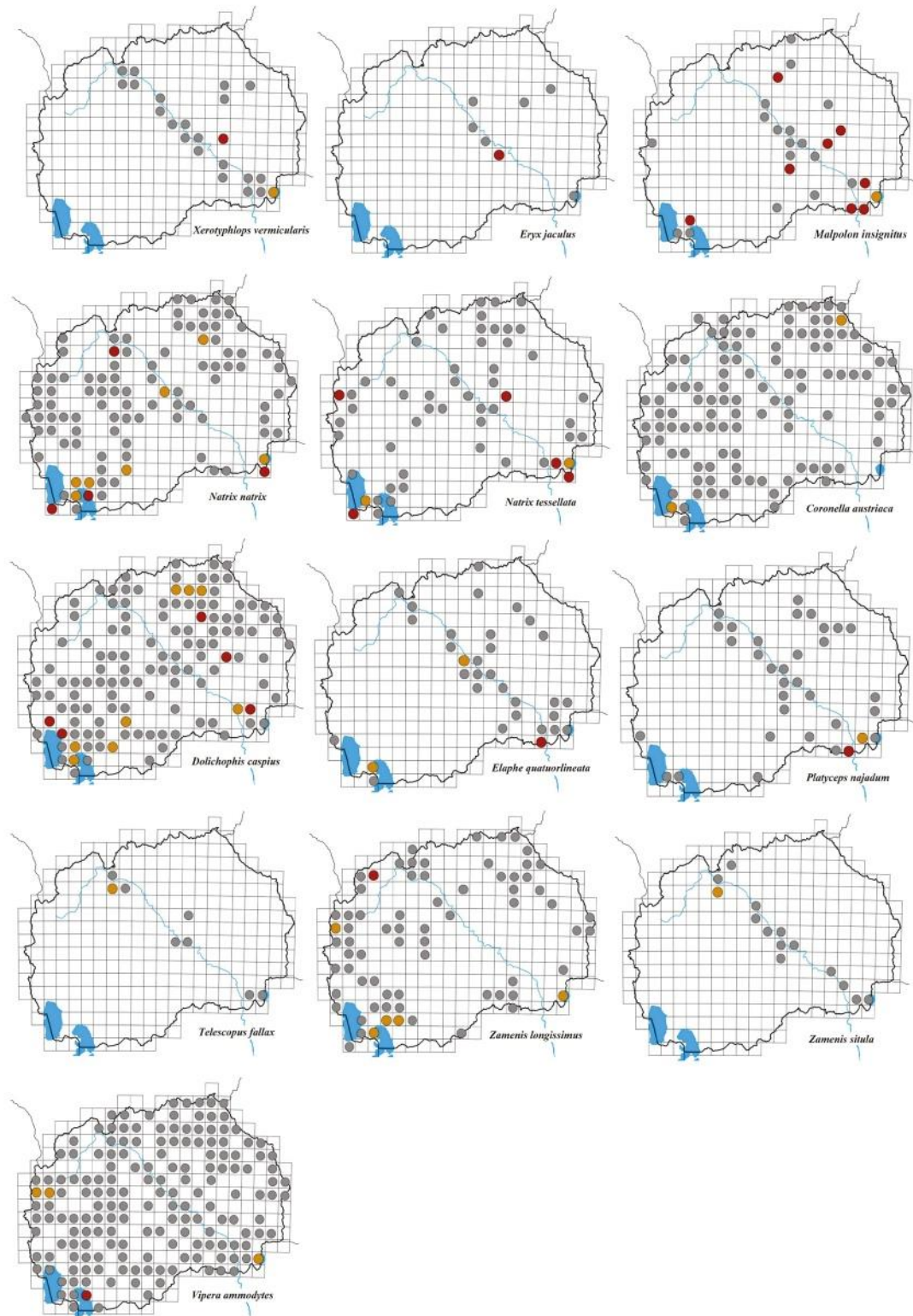


Figure 3. Maps of the distribution of reptile species with new records. See the legend to Figure 2 for more details.



a common and locally abundant species in Macedonia (Sterijovski *et al.*, 2014).

New records: Kosel village (777 m), Pretor village (854 m).

Comments: We recorded this species at five sites only, with two localities situated in new UTM quadrates. The species was found at some sites in abundant (more than ten observed individuals) populations (Pretor village, Dolna Matka village).

*Podarcis muralis* (Laurenti, 1768) (N=18) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: As with the previous species, the common wall lizard is widespread and found locally abundant in Macedonia (Sterijovski *et al.*, 2014).

New records: Kosel village (770 m), Ohrid (old town) (729 m).

Comments: We recorded 18 sites in 12 quadrates, which confirm the common occurrence of this species in Macedonia.

*Podarcis tauricus* (Pallas, 1814) (N=4) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: Records of the Balkan wall lizard are dispersed throughout the central and south-western parts of the country (Sterijovski *et al.*, 2014).

New records: Gevgelija near the Vardar River (58 m), Pretor village (854 m).

Comments: We recorded this lizard at four sites within three quadrates, two of them being new. Abundant populations were observed, e.g. near Stenje village, where the species occurred in syntopy with two other taxa (Fig. 4E).

*Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) (N=1) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: The viviparous lizard represents a Euro-Siberian faunal element with a range limited to the highest mountains in the northern and north-western parts of Macedonia (Sterijovski *et al.*, 2014).

Comments: We recorded this species at an only site (Popova Šapka) in already known area at high elevation (2,057 and 2,157 metres) at the Šar Planina Mt.

#### Scincidae

*Ablepharus kitaibelii* Bibron and Bory de Saint-Vincent, 1833 (N=1) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: The scarcity of snake-eyed skink distribution in Macedonia (Sterijovski *et al.*, 2014) was recently supplemented by one record from

2010 reported from the Dojran Lake region (Žagar *et al.*, 2013).

New record: Trojaci village (549 m).

Comments: Our observation in Trojaci village from central Macedonia represents a new site outside the previously delineated range (Fig. 4F and 5C).

#### Anguidae

*Anguis fragilis* Linnaeus, 1758 complex (N=5) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: Two species of slow worms occur in Macedonia (Jablonski *et al.*, 2016) where are they considered as common (Sterijovski *et al.*, 2014).

Comments: In total, we found this taxon on five sites in the western part of the country at altitudes of 920–1,630 meters within the previously known range. Based on external morphology inspection only, these records could not be assigned to any of two species of slow worms, *Anguis fragilis* Linnaeus, 1758 s. str. and *A. graeca* Bedriaga, 1881, which occur in this part of Macedonia (Jablonski *et al.*, 2016). However, according to the distribution pattern presented by Jablonski *et al.* (2016) we can expect that both recorded localities in SW Macedonia (Magarevo and Stenje villages) inhabits *A. graeca*.

*Pseudopus apodus* (Pallas, 1775) (N=2) (Tab. 1, Fig. 2)

Occurrence in Macedonia: The glass lizard has a very limited range in Macedonia, with confirmed occurrence in the southern part of the Vardar River valley, including the region of Dojran Lake only, where it was confirmed from at beginning of the herpetological research in the country (Doflein, 1921) as well as recently (Sterijovski *et al.*, 2014).

Comments: We only re-confirmed the occurrence of this species at two known sites in the vicinity of Dojran Lake (Nikolić village, Nov Dojran).

#### Typhlopidae

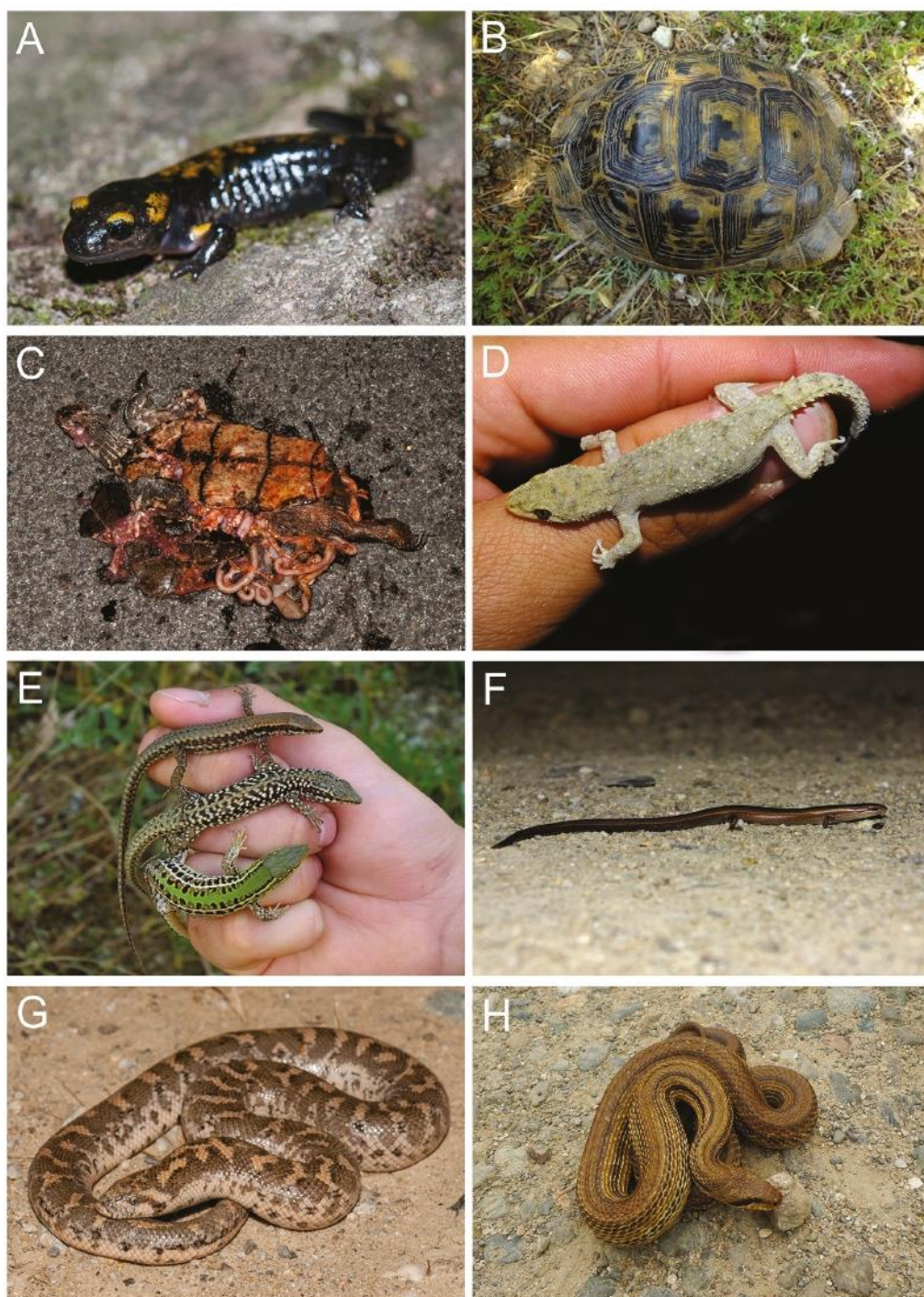
*Xerotyphlops vermicularis* (Merrem, 1820) (N=2) (Tab. 1, Fig. 3)

Occurrence in Macedonia: The range of the worm snake in Macedonia is limited to the Vardar River valley and isolated occurrences in the north-east part (Sterijovski *et al.*, 2014).

New record: Baltalija village (332 m).

Comments: Large numbers of individuals were recorded near Nikolić village. At the new locality in Baltalija village, one dead specimen was found on the road.





**Figure 4.** Some representatives of batrachofauna and herpetofauna from Macedonia. A – *Salamandra salamandra*, a juvenile individual from the Treska River Gorge near Dolna Matka village. B – *Testudo graeca*, an adult individual from Krivolak village. C – *Mauremys rivulata*, an adult female killed near Dedeli village. D – *Mediodactylus kotschy*, an adult individual from Krivolak village. E – *Podarcis tauricus* (bottom), *P. erhardii* (middle), *P. muralis* (top), adult individuals occurring in syntopy near Stenje village (Prespa Lake). F – *Ablepharus kitaibelii*, an adult male from Trojaci village. G – *Eryx jaculus*, a subadult individual from the Kurija village vicinity. H – *Elaphe quatuorlineata*, an adult female from Gevgelija near the Vardar River.



Table 1. A review of amphibian and reptile records from Macedonia (June 2014). An asterisk (\*) represents a new species site for Macedonia as compared with previously published data (for details see the species accounts in the text).

Site name	Date	Coordinates N/E	Altitude [m a. s. l.]	<i>Salamandra salamandra</i>	<i>Triturus</i> sp.	<i>Bombina variegata</i>	<i>Pelobates sylvaticus</i>	<i>Bufo bufo</i>	<i>Bufo viridis</i> complex	<i>Hyla arborea</i> complex	<i>Pelophylax rindbundu</i>	<i>Rana dalmatina</i>	<i>Rana temporaria</i>	<i>Testudo graeca</i>	<i>Testudo hermanni</i>	<i>Mauremys rivulata</i>	<i>Emys orbicularis</i>	<i>Mediodactylus kotschyi</i>	<i>Alytrodes nigropunctatus</i>	<i>Lacerta bilineata</i>	<i>Lacerta viridis</i> complex	<i>Podarcis erhardii</i>	<i>Podarcis muralis</i>
Avarani village (Prispa Lake)	8. 6. 2014	40°58' 21" 03"	860																	1*			
Baba (Galičica Mt.)	8. & 10. 6. 2014	40°57' 20" 48"	1,600	9					1											1			
Babuna village	5. 6. 2014	41°11' 21" 48"	172					1															
Belača village	7. 6. 2014	41°37' 22" 15"	333											2									
Blag (Korab Mt.)	9. 6. 2014	41°43' 20" 37"	1,175																				
Bibal Kamen (Bibla)	7. 6. 2014	41°02' 21" 18"	676																				
Bri Kamen (Galičica Mt.)	10. 6. 2014	40°57' 20" 48"	1,353																				
Buđile village	6. 6. 2014	41°56' 22" 11"	387																				
Carina village	8. 6. 2014	40°57' 20" 53"	1,053																				
Crkveno village	5. 6. 2014	41°39' 21" 48"	276–356								1				2								
Crničani village	6.–8. 6. 2014	41°14' 22" 38"	176–256												1								
Dedeli village 1	7. 6. 2014	41°18' 22" 36"	165												1								
Dedeli village 2	5. 6. 2014	41°16' 22" 36"	205													1*							
Devenska klisura Gorge	7. 6. 2014	41°37' 22" 17"	371																				
Dojani (Nov Dojani, Star Dojani) (Dojani Lake)	6.–8. 6. 2014	41°12' 22" 42"	143–178					1															
Dojna Matka village 1 (Traska River Gorge)	6., 7. & 9. 6. 2014	41°57' 21" 17"	296–450																				
Dojna Matka village 2 (Traska River Gorge)	9. 6. 2014	41°56' 21" 18"	296–450	1				1	1														
Frangovo village	9. 6. 2014	41°08' 20" 37"	752																				
Gevgelija (Vardar River)	9. 6. 2014	41°09' 22" 30"	58												1*								
Gaveto village	8. 6. 2014	41°10' 22" 32"	58												2*								
Gjaveto village (Vardar River)	9. 6. 2014	41°11' 22" 31"	60													1							
Glumovo village	9. 6. 2014	41°59' 21" 19"	282																				
Goma Bela Crkva village	11. 6. 2014	41°03' 21" 01"	862																				
Gomi Dizan village	9. 6. 2014	41°24' 22" 06"	406													1*							
Gomo Perovo village	8. & 11. 6. 2014	41°01' 20" 59"	859																				
Headee Lynceatis (Blota)	12. 6. 2014	41°00' 21" 20"	614–630																				
Kalin Kamen (Sveta voda) (Osogovski Planini Mts.)	6. 6. 2014	42°11' 22" 23"	1,285																				
Kaslijo (Pčinje River)	5. 6. 2014	41°50' 21" 41"	274																				
Kontski rid (Galičica Mt.)	8. 6. 2014	40°58' 20" 48"	1,353–1,422																				

Table I. Continued.

Site name	Date	Coordinates NE	Altitude (m a. s. l.)	<i>Salamandra salamandra</i>	<i>Triturus</i> sp.	<i>Bombina variegata</i>	<i>Pelobates sylvaticus</i>	<i>Bufo bufo</i>	<i>Bufo viridis</i> complex	<i>Hyla arborea</i> complex	<i>Pelophylax ridibundus</i>	<i>Rana dalmatina</i>	<i>Rana temporaria</i>	<i>Testudo graeca</i>	<i>Testudo hermanni</i>	<i>Maurusmys rivulata</i>	<i>Emys orbicularis</i>	<i>Mediodactylus kotschyi</i>	<i>Algyroides nigropunctatus</i>	<i>Lacerta trilineata</i>	<i>Lacerta viridis</i> complex	<i>Podarcis ehardii</i>	<i>Podarcis muralis</i>
Kosel village	10. & 13. 6. 2014	41°10' 20' 50"	770					1*							1*							1*	1*
Krajna plot (Galibca Mt.)	13. 6. 2014	40°58' 20' 52"	1,287					1															>5
Kratovo (Kratovska reka River)	6. 6. 2014	41°04' 22' 10"	620																				
Kriva Palanka (Kriva reka River)	6. 6. 2014	42°12' 22' 19"	694						2														
Krivopal village	13. 6. 2014	41°32' 22' 08"	1,20-155					1	1		>5			1*				7*					
Kurija village	5. & 7. 6. 2014	41°32' 22' 02"	167											1*	>10								>10
Lesleoc village	12. 6. 2014	41°08' 20' 49"	739																				
Magarevo village (Levdica, Pelister Mts.)	7. 6. 2014	41°02' 21' 13"	1,286, 1,626						2												1		>10
Mavrovi Anovi village 1	8. 6. 2014	41°43' 20' 37"	929	5																			>5
Mavrovi Anovi village 2	9. 6. 2014	41°43' 20' 37"	887	1																			>5
Mon village	8. 6. 2014	41°08' 22' 27"	120-151																				
Mrdaja village 1 (Dojran Lake)	6. 6. 2014	41°10' 22' 44"	153		>5				>10		1												
Mrdaja village 2 (Dojran Lake)	6. 6. 2014	41°13' 22' 41"	178								1												
Mrzenci village	9. 6. 2014	41°09' 22' 30"	61-84															2					
Naseba Damjan	7. 6. 2014	41°38' 22' 22"	480																				
Nikolić village 1 (Dojran Lake)	6. 6. 2014	41°15' 22' 44"	190-280						2	>10				2	2								>10*
Nikolić village 2 (Dojran Lake)	6. 6. 2014	41°14' 22' 42"	180																				
Novo Koneko village (Koneka reka River)	8. 6. 2014	41°09' 22' 25"	198						2									1*					>5*
Ohrid (old town)	13. 6. 2014	41°06' 20' 47"	729																				
Orasac village	14. 6. 2014	42°04' 21' 48"	330																				
Orasac village (Prespa Lake)	8. 6. 2014	40°59' 20' 55"	862-890																		2		1
Pepešite village	12. 6. 2014	41°31' 22' 07"	126															1*					
Prava village	5. 6. 2014	41°18' 22' 32"	97																				
Pokrenik village (Prespa Lake)	8. 6. 2014	41°00' 20' 57"	860																				
Popova Šapla 1 (Šar Planina Mt.)	7. 6. 2014	42°00' 20' 51"	2,050-2,300						1														
Popova Šapla 2 (Šar Planina Mt.)	7. 6. 2014	41°59' 20' 47"	2,241										>5										
Popova Šapla 3 (Šar Planina Mt.)	8. 6. 2014	42°00' 20' 55"	1,680	1																	3		>5
Pretor village (Prespa Lake)	7. 6. 2014	40°57' 21' 04"	854					1		>10				3	>10*								>10*
Raboci village	7. 6. 2014	41°23' 22' 36"	367																				

Table I. Continued.

Site name	Date	Coordinates NE	Altitude (m a. s. l.)	<i>Salamandra salamandra</i>	<i>Triturus</i> sp.	<i>Bombina variegata</i>	<i>Pelobates syntacus</i>	<i>Bufo bufo</i>	<i>Bufo viridis</i> complex	<i>Hyla arborea</i> complex	<i>Pelophylax ridibundus</i>	<i>Rana dalmatina</i>	<i>Rana temporaria</i>	<i>Testudo graeca</i>	<i>Testudo hermanni</i>	<i>Mauremys rivulata</i>	<i>Emys orbicularis</i>	<i>Mediodactylus kotschy</i>	<i>Agryrotis hygroplunctatus</i>	<i>Lacerta trilineata</i>	<i>Lacerta viridis</i> complex	<i>Podarcis ehardii</i>	<i>Podarcis muralis</i>
Rabrovo village	7. 6. 2014	41°19' 22'36"	344																				
Radobor village	10.–11. 6. 2014	41°06' 21'25"	573–588						>10								7			3	>6*		
Rač River gorge	10. 6. 2014	41°26' 21'52"	211											1*						1*			
Rančevce village	6. 6. 2014	42°09' 22'05"	529–543																	1			
Ribnica village 1	9. 6. 2014	41°43' 20'36"	971–1,096																				
Ribnica village 2	9. 6. 2014	41°43' 20'37"	1,242																				
Rosoman village	7. 6. 2014	41°30' 21'56"	157																				
Rotno village	7. 6. 2014	41°03' 21'12"	1,003																				
Soflari village, Kriva Lakanica River	6.–7. 6. 2014	41°42' 22'09"	258						>5														
Stenje village 1	8. & 11.–12. 6. 2014	40°57' 20'53"	850–870			2	2	2	>5	>5					6			5		>10	>10	>10	>10
Stenje village 2	13. 6. 2014	40°58' 20'54"	858												>5						>10	>10	>10
Svet Naum	8. & 10. 6. 2014	40°54' 20'44"	694																		1*		>10
Šušterci village (Prespa Lake)	8. 6. 2014	41°00' 20'56"	855												1								
Tkveško Ezero Lake	10. 6. 2014	41°23' 21'58"	290												2*								
Toplica village	10. 6. 2014	41°24' 21'44"	577–677		1																		
Topolčani village	10. 6. 2014	41°13' 21'26"	599																				
Trebeništa village	13. 6. 2014	41°12' 20'45"	725																				
Tmovač village	6. 6. 2014	42°08' 22'05"	516																				
Tmovač village (Pešter Mt.)	7. 6. 2014	41°02' 21'15"	833																				
Trojaro village	12. 6. 2014	41°22' 21'44"	549																				
Trepača village	9. 6. 2014	40°57' 20'46"	702–720																				
Vaindovo village	7. 6. 2014	41°19' 22'34"	143																				
Vataša village 1 (Luda Mara River)	9.–10. 6. 2014	41°23' 22'02"	401					1							1*								
Vataša village 2 (Luda Mara River)	10. 6. 2014	41°24' 22'01"	350												1*								
Vojnik village	5. 6. 2014	42°09' 21'53"	329																				
Vojnik village (Kovča reka River)	6. 6. 2014	42°09' 21'51"	326						2														
Vožard village (Crna reka River)	10. 6. 2014	41°25' 21'55"	171																				
Vrben village	13.–14. 6. 2014	41°43' 20'44"	1,289–1,418																				
No of sites				4	1	5	2	8	6	2	17	4	2	7	20	1	3	6	3	18	15	5	18
No of specimen				8	>5	>17	>7	9	8	>7	>102	5	>6	12	>53	1	18	>26	>25	>48	>58	>41	>107



Table 1. Continued.

Site name	Date	Coordinates N/E	Altitude [m a. s. l.]	<i>Podarcis tauricus</i>	<i>Zootoca vivipara</i>	<i>Ambystoma italicum</i>	<i>Anguilla frasi</i> complex	<i>Pseudopus apodus</i>	<i>Xerotryphops vermicularis</i>	<i>Eryx jaculus</i>	<i>Malpion insignitus</i>	<i>Natrix natrix</i>	<i>Natrix tessellata</i>	<i>Coronella austriaca</i>	<i>Dolichophis caspius</i>	<i>Elaphe quatuorlineata</i>	<i>Platyceps najadum</i>	<i>Telescopus fallax</i>	<i>Zamenis longicaudus</i>	<i>Zamenis sibilatrix</i>	<i>Vipera ammodytes</i>
Asenati village (Prispa Lake)	8.6.2014	40°58' 21.03"	880								1*										1*
Baba (Galbica Mt.)	8. & 10.6.2014	40°57' 20'48"	1,600																		
Babuna village	5.6.2014	41°41' 21'48"	172																		
Batalja village	7.6.2014	41°37' 22'15"	333						1*		1*										
Bboj (Korab Mt.)	9.6.2014	41°43' 20'37"	1,175																		
Bibi Kamen (Bibla)	7.6.2014	41°02' 21'18"	678												1						
Bili kamen (Galbica Mt.)	10.6.2014	40°57' 20'48"	1,353																		
Budilka village	6.6.2014	41°50' 22'11"	387												1*						
Carina village	8.6.2014	40°57' 20'53"	1,053																		
Crkveno village	5.6.2014	41°39' 21'48"	276-356								1										
Crnčani village	6.-8.6.2014	41°14' 22'38"	176-256								1										1
Dedeli village 1	7.6.2014	41°16' 22'36"	165								1*										
Dedeli village 2	5.6.2014	41°16' 22'36"	205																		
Devenska klaura Gorge	7.6.2014	41°37' 22'17"	371								1*										
Dojran (Nov Dojran, Star Dojran) (Dojran Lake)	6.-8.6.2014	41°12' 22'42"	143-178								1										
Dojna Matka village 1 (Treska River Gorge)	6., 7. & 9.6.2014	41°57' 21'17"	206-450								1	2*									1
Dojna Matka village 2 (Treska River Gorge)	9.6.2014	41°56' 21'18"	296-450									1*									
Frangovo village	9.6.2014	41°08' 20'37"	752																		
Gevelija (Vardar River)	9.6.2014	41°09' 22'30"	59																		1*
Gjaveto village	8.6.2014	41°10' 22'32"	58																		1*
Gjaveto village (Vardar River)	9.6.2014	41°11' 22'31"	60																		
Glumovo village	9.6.2014	41°59' 21'19"	262																		
Gomo Bela Crkva village	11.6.2014	41°03' 21'01"	682																		1
Gomi Dizan village	9.6.2014	41°24' 22'06"	408																		
Gomo Perovo village	6. & 11.6.2014	41°01' 20'59"	859																		1*
Herdea Lycealis (Blida)	12.6.2014	41°00' 21'20"	614-630																		1
Kalin Kamen (Sveta voda) (Osopovski Planini Mts.)	6.6.2014	42°11' 22'23"	1,285																		1
Kastilo (Pčinja River)	5.6.2014	41°50' 21'41"	274																		
Koritaki rd (Galbica Mt.)	8.6.2014	40°58' 20'48"	1,353-1,422																		1

Table I. Continued.

Table I. Continued.

Site name	Date	Coordinates NE	Altitude [m a. s. l.]	<i>Podarcis tauricus</i>	<i>Zootoca vivipara</i>	<i>Abiepharus ktabei</i>	<i>Anguis fragilis</i> complex	<i>Pseudopus apodus</i>	<i>Xerophylops vermicularis</i>	<i>Eryx jaculus</i>	<i>Malpion insignitus</i>	<i>Natrix natrix</i>	<i>Natrix tessellata</i>	<i>Cornelia austriaca</i>	<i>Dolichocephalus caspius</i>	<i>Elaphe quatuorlineata</i>	<i>Platycephalus najadum</i>	<i>Telescopus fallax</i>	<i>Zamenis longissimus</i>	<i>Zamenis sibilus</i>	<i>Vipera ammodytes</i>
Kosele village	10. & 13. 6. 2014	41°10'20"50'	770																		
Krajna plog (Galičica Mt.)	13. 6. 2014	40°58'20"52'	1,287																		
Kratorvo (Kratorvska reka River)	6. 6. 2014	41°04'22"10'	620									1									
Kriva Palanka (Kriva reka River)	6. 6. 2014	42°12'22"19'	694																		
Krivodak village	13. 6. 2014	41°32'22"08'	120–155																		
Kurija village	5. & 7. 6. 2014	41°32'22"02'	167							1*											
Leskovec village	12. 6. 2014	41°08'20"49'	739												1*						
Majarevo village (Izdvičnica, Pelister Mts.)	7. 6. 2014	41°02'21"13'	1,286, 1,626	5															1		
Mavrovi Anovi village 1	8. 6. 2014	41°43'20"37'	929	1									1*								
Mavrovi Anovi village 2	9. 6. 2014	41°43'20"37'	887	1							1*										
Mon village	8. 6. 2014	41°08'22"27'	120–151																		
Mrdaja village 1 (Dojran Lake)	6. 6. 2014	41°10'22"44'	153									5	1*								
Mrdaja village 2 (Dojran Lake)	6. 6. 2014	41°13'22"41'	178																		
Mrzenci village	9. 6. 2014	41°09'22"30'	61–84								2*										
Naseba Danjani	7. 6. 2014	41°38'22"22'	480								1*										
Nikolić village 1 (Dojran Lake)	6. 6. 2014	41°15'22"44'	190–280																		1
Nikolić village 2 (Dojran Lake)	6. 6. 2014	41°14'22"42'	180					1													
Novo Koneško village (Koneška reka River)	8. 6. 2014	41°09'22"25'	198																		
Ohrid (old town)	13. 6. 2014	41°06'20"47'	729																		
Orasac village	14. 6. 2014	42°04'21"48'	330								2*										
Oslavo village (Prespa Lake)	8. 6. 2014	40°59'20"55'	862–890																		
Popališta village	12. 6. 2014	41°31'22"07'	126																		
Prava Village	5. 6. 2014	41°16'22"32'	97																		1
Pokrenik village (Prespa Lake)	8. 6. 2014	41°00'20"57'	860																		1
Popova Šapla 1 (Šar Planina Mt.)	7. 6. 2014	42°00'20"51'	2,050–2,300	2																	
Popova Šapla 2 (Šar Planina Mt.)	7. 6. 2014	41°59'20"47'	2,241																		
Popova Šapla 3 (Šar Planina Mt.)	8. 6. 2014	42°00'20"55'	1,680	1																	1*
Pretor village (Prespa Lake)	7. 6. 2014	40°57'21"04'	854																		1*
Rabarci village	7. 6. 2014	41°23'22"36'	367																		

Table I. Continued.

Site name	Date	Coordinates NE	Altitude [m a. s. l.]	<i>Podarcis tauricus</i>	<i>Zootoca vivipara</i>	<i>Ablepharus klabellii</i>	<i>Anguils fragilis complex</i>	<i>Pseudopus apodus</i>	<i>Xerophyllaps vermicularis</i>	<i>Eryx jaculus</i>	<i>Malpoin insignitus</i>	<i>Natrix natrix</i>	<i>Natrix tessellata</i>	<i>Coronella austriaca</i>	<i>Dolichophis caspius</i>	<i>Elaphe quatuorlineata</i>	<i>Platyceps najadum</i>	<i>Telescopus fallax</i>	<i>Zamenis longissimus</i>	<i>Zamenis sylvia</i>	<i>Vipera ammodytes</i>	
Rabrovo village	7. 6. 2014	41°19' 22' 36"	344												1*							
Radobor village	10.–11. 6. 2014	41°06' 21' 25"	573–588									2										
Račic River gorge	10. 6. 2014	41°26' 21' 52"	211							1*												
Ranikovec village	6. 6. 2014	42°09' 22' 05"	529–543												2							
Ribnica village 1	9. 6. 2014	41°43' 20' 36"	971–1,096																3		1	
Ribnica village 2	9. 6. 2014	41°43' 20' 37"	1,242																		3	
Rosoman village	7. 6. 2014	41°30' 21' 56"	157																			
Rolino village	7. 6. 2014	41°03' 21' 12"	1,003																			
Sofliari village, Kriva Lakavica River	6.–7. 6. 2014	41°42' 22' 09"	258									2			1*							
Stenje village 1	8. & 11.–12. 6. 2014	40°57' 20' 53"	860–870	>10																	2	
Stenje village 2	13. 6. 2014	40°58' 20' 54"	858	>5																		
Sveti Naum	8. & 10. 6. 2014	40°54' 20' 44"	694									4*			1*							
Šurleinci village (Prespa Lake)	8. 6. 2014	41°00' 20' 56"	855																			
Tikveško Ezero Lake	10. 6. 2014	41°23' 21' 58"	290																			
Toplica village	10. 6. 2014	41°24' 21' 44"	577–677																			
Topolčani village	10. 6. 2014	41°13' 21' 26"	599																		1	
Trebeništa village	13. 6. 2014	41°12' 20' 45"	725																			
Trnovac village	6. 6. 2014	42°08' 22' 05"	516																		1*	
Trnovo village (Pešister Mt.)	7. 6. 2014	41°02' 21' 15"	833																			
Tropeo village	12. 6. 2014	41°22' 21' 44"	549			1*																
Tropejca village	9. 6. 2014	40°57' 20' 46"	702–720																		>10	
Vaindovo village	7. 6. 2014	41°19' 22' 34"	143																		1*	
Valeša village 1 (Luda Mara River)	9.–10. 6. 2014	41°23' 22' 02"	401																			
Valeša village 2 (Luda Mara River)	10. 6. 2014	41°24' 22' 01"	350																			
Vojnik village	5. 6. 2014	42°09' 21' 53"	329																		1	
Vojnik village (Kivaračka River)	6. 6. 2014	42°09' 21' 51"	326																			
Vozard village (Cmačka River)	10. 6. 2014	41°25' 21' 55"	171																			
Vrben village	13.–14. 6. 2014	41°43' 20' 44"	1,289–1,418																		1	
<b>No of sites</b>				4	1	1	1	5	2	2	1	13	12	8	2	14	3	2	1	6	1	6
<b>No of specimen</b>				>35	2	1	8	2	>11	1	15	22	>16	2	19	6	2	2	9	1	8	

## Erycidae

*Eryx jaculus* (Linnaeus, 1758) (N=1) (Tab. 1, Fig. 3)

**Occurrence in Macedonia:** This species is very rare in Macedonia, with only six recorded quadrates without any recent records (Sterijovski *et al.* 2014). Historically, this species was recorded in central Macedonia, in the Babuna River gorge, Bašino village (both Veles region) and Ulanci village in the Gradsko region (Dimovski, 1971; Sterijovski *et al.*, 2014).

**New record:** Kurija village (166 m).

**Comments:** The historical record from Ulanci village (Dimovski, 1971) is the closest to our new record located near Kurija village. One subadult specimen (male, ca 30 cm) was found on a local road in a dry habitat with soft soil conditions (Fig. 4G).

## Psammophiidae

*Malpolon insignitus* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1827) (N=13) (Tab. 1, Fig. 3)

**Occurrence in Macedonia:** The distribution of the Eastern Montpellier snake is probably not yet well documented; most records were so far from the eastern part of the country (Sterijovski *et al.* 2014).

**New records:** Baltalija village (333 m), Dedeli village (164 m), Dervenska klisura gorge (371 m), Gjavato village (58 m), Gorno Perovo village (859 m), Mojini village (151 m), Mrzenci village (84 m), Naselba Damjan (480 m), Orašac village (330 m), Raec River gorge (211 m), Valandovo (143 m).

**Comments:** Many new records found with our survey suggest that species' distribution in the country is still under-estimated. Only two of our 13 observations were situated in previously known UTM quadrates; thus, our findings considerably supplement the view on the species range in Macedonia. Almost all of our records (10) were specimens found killed on the road, thus we can assume that the detectability of live individuals is difficult. It could be the main reason behind the poor distributional knowledge on this species.

## Natricidae

*Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) (N=12) (Tab. 1, Fig. 3)

**Occurrence in Macedonia:** A common and an abundant species widely distributed throughout the whole country but lacking from the southern part (Sterijovski *et al.* 2014).

**New records:** Asamati village (878 m), Dolna Matka village (309 m), Mrdaja village (153 m), Pretor village

(854 m), Star Dojran (156 m), Sveti Naum (694 m).

**Comments:** Four of the 12 records present observations in new quadrates. Among these records, the most surprising are the observations near Dojran Lake, which is a region with a long-term tradition of herpetological research (for review see Sterijovski *et al.*, 2014); only in 2010 was the occurrence of this species confirmed here by Žagar *et al.* (2013).

*Natrix tessellata* (Laurenti, 1768) (N=8) (Tab. 1, Fig. 3)

**Occurrence in Macedonia:** A widespread and relatively common species all over the country with a scattered distribution pattern (Sterijovski *et al.*, 2014).

**New records:** Crničani village (226 m), Mavrovi Anovi village (926 m), Mrdaja village (153 m), Sofilari village (Kriva Lakavica river) (258 m), Sveti Naum (694 m).

**Comments:** During the survey, a total of seven records were made with five records in quadrates where the occurrence of the species was not previously known.

## Colubridae

*Coronella austriaca* Laurenti, 1768 (N=2) (Tab. 1, Fig. 3)

**Occurrence in Macedonia:** The smooth snake is a common species in Macedonia distributed across the country (Sterijovski *et al.*, 2014).

**Comments:** We made two observations that only confirmed previously known species occurrence in the north-eastern and south-western parts of the country.

*Dolichophis caspius* (Gmelin, 1789) (N=14) (Tab. 1, Fig. 3)

**Occurrence in Macedonia:** This is a common snake species in Macedonia occurring throughout the country (Sterijovski *et al.*, 2014).

**New records:** Bučište village (387 m), Leskoec village (739 m), Naselba Damjan (480 m), Rabrovo village (344 m), Trebeništa village (725 m).

**Comments:** We recorded the Caspian whip snake at 14 sites; in eight quadrates we confirmed previously reported observations, while five records are in new UTM quadrates. We have observed frequent cases of road kills in this species (53% of all finds).

*Elaphe quatuorlineata* (Bonnaterre, 1790) (N=3) (Tab. 1, Fig. 3)

**Occurrence in Macedonia:** The range of the four-lined snake in Macedonia is distributed in two distinct parts;





**Figure 5.** Localities of selected batrachofauna and herpetofauna records from Macedonia. A – Treska River Gorge near Dolna Matka village as a habitat of *Salamandra salamandra*, *Podarcis erhardii*, *Algyroides nigropunctatus* and *Telescopus fallax*. B – Vicinity of Dojran Lake near Nikolić village as a habitat of *Lacerta viridis* complex, *Podarcis muralis*, *Pseudopus apodus* and *Vipera ammodytes*. C – New locality of *Ablepharus kitaibelii* near Trojaci village. D – New locality of *Elaphe quatuorlineata* from Gevgelija.

the western and the central part, with most records from along the Vardar River valley. An additional region lies in the Ohrid and Prespa regions, where only a few records have been reported (Sterijovski et al., 2014).

New record: Gevgelija near the Vardar River (58 m).

Comments: We recorded a new locality of the species occurrence in the southernmost part of the Vardar River region (Fig. 4H and 5D).

*Platyceps najadum* (Eichwald, 1831) (N=2) (Tab. 1, Fig. 3)

Occurrence in Macedonia: *Platyceps najadum* has a distinct distribution in Macedonia, with most records situated in the eastern part of the country (Sterijovski et al., 2014).

New record: Mrzenci village (84 m).

Comments: We confirmed this species at two sites in the south only. Mrzenci village near the Vardar River is a new site reported from this part of the species range.

*Telescopus fallax* (Fleischmann, 1831) (N=1) (Tab. 1, Fig. 3)

Occurrence in Macedonia: The cat snake is very rare in Macedonia, being confirmed in only eight mapping quadrates (Sterijovski et al., 2014). Records near the Dolna Matka village represent the northern distribution limit for the species in Macedonia.

Comments: Our record (two observations) confirmed species occurrence near the Dolna Matka village (Treska River Gorge), where *T. fallax* was recorded only recently in 2009 (Sterijovski et al., 2014). Probably the range of this species is not yet fully known due to its rarity with only occasional finds.

*Zamenis longissimus* (Laurenti, 1768) (N=6) (Tab. 1, Fig. 3)

Occurrence in Macedonia: The Aesculapian snake belongs among the most common reptiles in Macedonia,

with most of the data concentrated in the western and northern parts of the country (Sterijovski *et al.*, 2014).

New record: Popova Šapka (1279 m).

Comments: We recorded this species at six sites. They well confirmed the distribution patterns of the species in the western part of Macedonia. Our new record is from a higher elevation in the north of the country.

*Zamenis situla* (Linnaeus, 1758) (N=1) (Tab. 1, Fig. 3)

Occurrence in Macedonia: According to published data (Sterijovski *et al.*, 2014), the range of the species in Macedonia is limited to the region along the Vardar river. Considering the overall species range, occurrence in the western part of the country cannot be excluded (cf. Sillero *et al.*, 2014, 2015).

Comments: We recorded the leopard snake at a single site in the Treska River Gorge (Dolna Matka village). This observation confirmed species occurrence in the area ten years after the last record (Sterijovski *et al.*, 2014).

#### Viperidae

*Vipera ammodytes* (Linnaeus, 1758) (N=6) (Tab. 1, Fig. 3)

Occurrence in Macedonia: The nose-horned viper belongs among the most common reptile species in Macedonia (Sterijovski *et al.* 2014), with a very wide altitudinal distribution (from sea level up to more than 2,000 m) and with a peak around 400–800 m (Jelić *et al.*, 2013).

New record: Asamati village (878 m).

Comments: We recorded this species at six sites at altitudes from 190–1,418 m; two records in new quadrates supplement the distribution knowledge in the western part of the country.

#### Conclusion

During the short field surveillance we were able to confirm the occurrence of almost the entire batrachian and herpetofauna of Macedonia, only seven species were not observed (*Ichthyosaura alpestris*, *Lissotriton vulgaris*, *Rana graeca*, *Lacerta agilis*, *Hierophis gemonensis*, *Vipera berus*, and *V. ursinii*). On the other hand, despite the shortness of our field work, we reported here several significant additions and confirmations to chorological data on the amphibian and reptile fauna of the country.

New species site records are constantly being added to the known species' ranges, indicating that the full distri-

bution of many of them is still not sufficiently known. Our updates on the distribution of amphibians and reptiles in Macedonia showed that limits of ranges of several species are present there (e.g. *Eryx jaculus*, *Xerotyphlops vermicularis*) and thus the special care should be taken to preserve their habitats. Therefore, further efforts should primarily focus, in particular, on the study of current distribution status and potential habitats of, e.g. *Emys orbicularis*, *Mauremys rivulata*, *Mediodactylus kotschy*, *Pseudopus apodus*, *Algyroides nigropunctatus*, *Zootoca vivipara*, *Eryx jaculus*, *H. gemonensis*, *Telescopus fallax*, *Zamenis situla* and *V. ursinii*, which are considered to be extremely rare reptile species of Macedonia (Sterijovski *et al.*, 2014). This is also true for all amphibian species occurring in the country because of scarcity of recent data and only limited available current records (e.g. Sidorovska, 2010).

As shown above, several of our data confirmed the occurrence of many species at sites where they have never been reported before (e.g. *Pelophylax ridibundus*, *Testudo graeca*, *M. rivulata*, *M. kotschy*, *Lacerta* spp., *E. jaculus*, *Malpolon insignitus*). In the case of *E. jaculus*, our new record confirmed this rare species in central Macedonia after more than forty years. Also in some wide-spread and common species, like e.g. *Lacerta viridis* complex, *M. insignitus*, *Natrix tessellata*, we were able to find additional new data that contributed to filling the missing gaps in their distribution maps.

Historically, some species were recorded at single localities without subsequent confirmations (e.g. *E. jaculus* near Skopje or *T. fallax* near Tetovo; Radovanović, 1964; Grillitsch and Grillitsch, 1999). The distribution patterns of *M. rivulata*, *P. apodus* or *H. gemonensis* are interesting in view of the limited records in the southern part of the country (cf. Sterijovski *et al.*, 2014), even though their overall distribution in other regions of the Balkans extends more northerly (e.g. in Croatia; see Sillero *et al.*, 2014). An explanation for this occurrence cannot be clearly provided yet. A specific question remains the distribution and borders of contact zones of morphologically uniform species complexes detected by genetics which do not allow their determination in the field (e.g. *Triturus ivanbureschi* / *macedonicus*, *Hyla arborea* / *orientalis*, *Bufo viridis* / *variabilis*, *Anguis fragilis* / *graeca*). We cannot precisely identify these distribution areas here but an extensive field study in combination with an analysis of molecular data would be necessary for understanding the general biogeographical patterns of batrachian and herpetofauna of Macedonia as well as whole central Balkans.



**Acknowledgements.** We thank Bogoljub Sterijovski (Republic of Macedonia) and Nikolay Tzankov (Bulgaria) for their support in our field records assessment. The work of DJ was supported by the Comenius University grant UK/20/2014 and a grant of the Scientific Grant Agency of the Slovak Republic VEGA 1/0073/14.

## References

- Arnold, N., Oviden, D.W. (2002): Collins field guide to the reptiles and amphibians of Britain and Europe. London, Harper Collins Publishers.
- Buskirk, J.R., Keller, C., Andreu, A.C. (2001): *Testudo graeca* (Linnaeus, 1758) – Maurische Landschildkröte. In: Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas. Band 3/IIIa: Schildkröten (Testudines) I, p. 125–178. Fritz, U., Ed., Wiebelsheim, Aula Verlag.
- Crnobrnja-Isailović, J., Aleksić, I. (1999): First record of *Coluber najadum* Eichwald (1831) in Serbia. Archives of Biological Sciences **51**: 47–48.
- Dimovski, A. (1971): Zoocenološki istraživanja na stepskite predeli vo Makedonija. Godišen Zbornik Prirodno-Matematičkog Fakulteta, Univerziteta u Skoplju, Biologija **23**: 25–54.
- Doflein, F. (1921): Mazedonien. Erlebnisse und Beobachtungen eines Naturforschers im Gefolge des deutschen Heeres, Jena, Verlag von Gustav Fischer.
- Džukić, G., Beškov, V., Sidorovska, V., Cogălniceanu, D., Kalezić, M.L. (2008): Contemporary chorology of the spadefoot toads (*Pelobates* spp.) in the Balkan peninsula. Zeitschrift für Feldherpetologie **15**: 61–78.
- Džukić, G., Beškov, V., Sidorovska, V., Kalezić, L.M. (2005): Historical and contemporary ranges of the spadefoot toads *Pelobates* spp. (Amphibia: Anura) in the Balkan peninsula. Acta Zoologica Cracoviensia **48**: 1–9.
- Džukić, G., Kalezić, M.L. (2004): The biodiversity of amphibians and reptiles in the Balkan peninsula. In: Balkan biodiversity. Pattern and process in the European hotspot, p. 167–192. Griffiths, H.I., Kryštufek, B., Reed, J.M., Ed., Dordrecht, Kluwer Academic Publisher.
- Gasc, J.-P., Cabela, A., Crnobrnja-Isailović, J., Dolmen, D., Grossenbacher, K., Haffner, P., Lescure, J., Martens, H., Martinez Rica, J.P., Maurin, H., Oliveira, M.A., Sofianidou, T.S., Veith, M., Zuiderwijk, A. (1997): Atlas of amphibians and reptiles in Europe [Collection Patrimoine Naturels 29], Bonn & Paris, Societas Europaea Herpetologica & Museum National d'Histoire Naturelle & Service du Patrimoine Naturel.
- Gaston, K.J., David, R. (1994): Hotspots across Europe. Biodiversity Letters **2**: 108–116.
- Griffiths, H.I., Kryštufek, B., Reed, J.M., Eds. (2004): Balkan biodiversity. Pattern and process in the European hotspot, Dordrecht, Kluwer Academic Publisher.
- Grillitsch, H., Grillitsch, B. (1999): *Telescopus fallax* (Fleischmann, 1831) – Europäische Katzenatter. In: Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas. Band 3/IIa: Schlangen II Serpentes II: Colubridae 2 (Boiginae, Natricinae), p. 757–788. Böhme, W., Ed., Wiebelsheim, Aula Verlag.
- Gvoždik, V., Canestrelli, D., García-Paris, M., Moravec, J., Nascetti, G., Recuero, E., Teixeira, J., Kotlík, P. (2015): Speciation history and widespread introgression in the European short-call tree frogs (*Hyla arborea* sensu lato, *H. intermedia* and *H. sarda*). Molecular Phylogenetics and Evolution **83**: 143–155.
- Haxhiu, I. (1994): The herpetofauna of Albania. Amphibia: Species composition, distribution, habitats. Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Geographie und Biologie der Tiere **121**: 321–334.
- Haxhiu, I. (1998): The reptilia of Albania: Species composition, distribution, habitats. Bonner zoologische Beiträge **48**: 35–57.
- Haxhiu, I., Oruçi, S. (2001): Current status of *Testudo* genus in Albania. In: Proceedings of the international congress on *Testudo*. March 7–10, 2001. Chelonii 3, p. 190–192. Anonymus, Ed., Hyères – France.
- Hedges, S.B., Marion, A.B., Lipp, K.M., Marin, J., Vidal, N. (2014): A taxonomic framework for typhlopoid snakes from the Caribbean and other regions (Reptilia, Squamata). Caribbean Herpetology **49**: 1–61.
- Hewitt, G.M. (2011): Mediterranean peninsulas: The evolution of hotspots. In: Biodiversity hotspots, p. 123–147. Zachos, F.E., Habel, J.C., Ed., Berlin Heidelberg, Springer Publishers.
- Jablonski, D. (2011): Reptiles and amphibians of Albania with new records and notes on occurrence and distribution. Acta Societatis Zoologicae Bohemicae **75**: 223–238.
- Jablonski, D., Balej, P., Jüna, F., Homolka, M. (2013): Low altitudinal distribution of *Salamandra salamandra* from the balkan peninsula. Herpetology Notes **6**: 563–566.
- Jablonski, D., Jandzik, D., Mikuliček, P., Džukić, G., Ljubisavljević, K., Tzankov, N., Jelić, D., Thanou, E., Moravec, J., Gvoždik, V. (2016): Contrasting evolutionary histories of the legless lizards slow worms (*Anguis*) shaped by the topography of the Balkan Peninsula. BMC Evolutionary Biology **16**: 99.
- Jelić, D., Ajtić, R., Sterijovski, B., Crnobrnja-Isailović, J., Lelo, S., Tomović, L. (2013): Distribution of the genus *Vipera* in the western and central Balkans (Squamata: Serpentes: Viperidae). Herpetozoa **25**: 109–132.
- Kindler, C., Böhme, W., Corti, C., Gvoždik, V., Jablonski, D., Jandzik, D., Metallinou, M., Široký, P., Fritz, U. (2013): Mitochondrial phylogeography, contact zones and taxonomy of grass snakes (*Natrix natrix*, *N. megalcephala*). Zoologica Scripta **42**: 458–472.
- Král, V. (2001): [Physical geography of Europe], Praha, Academia (in Czech).
- Krizmanić, I.I. (2008): Water frogs (*Rana esculenta* complex) in Serbia – morphological data. Archives of Biological Sciences **60**: 449–457.
- Ljubisavljević, K., Džukić, G., Vukov, T.D., Kalezić, M.L. (2014): Distribution patterns of Hermann's tortoise *Testudo hermanni* Gmelin, 1789, in the region of former Yugoslavia. Herpetozoa **26**: 125–138.
- Marzahn, E., Mayer, W., Joger, U., Ilgaz, Ç., Jablonski, D., Kindler, C., Kumlutaş, Y., Nistri, A., Schneeweiß, N., Vamberger, M., Žagar, A., Fritz, U. (2016): Phylogeography of the *Lacerta viridis* complex: mitochondrial and nuclear markers provide taxonomic insights. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research **54**: 85–105.
- Melovski, L., Markovski, B., Hristovski, S., Jovanovska, D., Anastasovski, V., Klincharov, S., Veleviski, M., Velkovski, N., Trendafilov, A., Matevski, V., Kostadinovski, M., Karadelev, M., Levkov, Z., Kolchakovski, D. (2013): Regional division of

- the Republic of Macedonia for the needs of biological databases. *Macedonian Journal of Ecology and Environment* **15**: 81–111.
- Radovanović, M. (1964): Die Verbreitung der Amphibien und Reptilien in Jugoslawien. *Senckenbergiana Biologica* **45**: 553–561.
- Reed, J.M., Kryštufek, B., Eastwood, W.J. (2004): The physical geography of the balkans and nomenclature of place names. In: *Balkan biodiversity. Pattern and process in the european hotspot*, p. 9–22. Griffiths, H., I., Kryštufek, B., Reed, J.M., Ed., Dordrecht, Kluwer Academic Publisher.
- Rot-Nikčević, I., Sidorovska, V., Džukić, G., Kalezić, M.L. (2001): Sexual size dimorphism and life history traits of two European spadefoot toads (*Pelobates fuscus* and *P. syriacus*) in allopatry and sympatry. *Annales Series Historia Naturalis* **11**: 107–120.
- Sidorovska, V. (2010): Study on assessment and evaluation of amphibians & reptiles within the protected area National Park Mavrovo. Skopje.
- Sillero, N., Campos, J., Bonardi, A., Corti, C., Creemers, R., Crochet, P.-A., Isailović, J.C., Denoël, M., Ficetola, G.F., Gonçalves, J., Kuzmin, S., Lymberakis, P., De Pous, P., Rodríguez, A., Sindaco, R., Speybroeck, J., Toxopeus, B., Vieites, D.R., Vences, M. (2014): Updated distribution and biogeography of amphibians and reptiles of Europe. *Amphibia-Reptilia* **35**: 1–31.
- Sillero, N., Oliveira, M.A., Sousa, P., Sousa, F., Gonçalves-Seco, L. (2015): NA2RE: New Atlas of Amphibians and Reptiles of Europe. Available at: <http://na2re.ismai.pt/index.html>. Accessed on January 2015.
- Speybroeck, J., Beukema, W., Crochet, P.-A. (2010): A tentative species list of the European herpetofauna (Amphibia and Reptilia) – an update. *Zootaxa* **2492**: 1–27.
- Sterijovski, B., Tomović, L., Ajić, R. (2014): Contribution to the knowledge of the reptile fauna and diversity in FYR of Macedonia. *North-Western Journal of Zoology* **10**: 83–92.
- Stöck, M., Dufresnes, C., Litvinchuk, S.N., Lymberakis, P., Biollay, S., Berroneau, M., Borzée, A., Ghali, K., Ogielska, M., Perrin, N. (2012): Cryptic diversity among western palearctic tree frogs: postglacial range expansion, range limits, and secondary contacts of three european tree frog lineages (*Hyla arborea* group). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **65**: 1–9.
- Stöck, M., Litvinchuk, S.N., Lymberakis, P., Cogălniceanu, D., Ogielska, M., Ghali, K., Dumas, Z., Perrin, N. (2009): Distribution and secondary contacts of amphibians in Greece and eastern Europe – similarities and differences of phylogeographic patterns in green toads (*Bufo viridis* subgroup) and tree frogs (*Hyla arborea* group). In: 11th ICZEGAR Abstracts. International Congress on the Zoogeography, Ecology and Evolution of Eastern Mediterranean. 21–25 september 2009, Herakleion, Crete, Greece, p. 81–82. Poulakakis, N., Vardinoyannis, K., Ed., Hellenic Zoological Society.
- Stojanov, A., Tzankov, N., Naumov, B. (2011): Die Amphibien und Reptilien Bulgariens, Frankfurt am Main, Edition Chimaira.
- Tomović, L., Ajić, R., Ljubisavljević, K., Urošević, A., Jović, D., Krizmanić, I., Labus, N., Đorđević, S., Kalezić, M.L., Vukov, T. (2014): Reptiles in Serbia. Distribution and diversity patterns. *Bulletin of the Natural History Museum* **7**: 129–158.
- Valakos, E.D., Pafilis, P., Sotiropoulos, K., Lymberakis, P., Maragou, P., Foufopoulos, J. (2008): The amphibians and reptiles of Greece. Frankfurt am Main, Edition Chimaira.
- Vukov, T., Kalezić, M.L., Tomović, L., Krizmanić, I., Jović, D., Labus, N., Džukić, G. (2013): Amphibians in Serbia: distribution and diversity patterns. *Bulletin of the Natural History Museum* **6**: 90–112.
- Vukov, T.D., Džukić, G., Lelo, S., Borkin, L.J., Litvinchuk, S.N., Kalezić, M.L. (2006): Morphometrics of the yellow-bellied toad (*Bombina variegata*) in the central Balkans: implications for taxonomy and zoogeography. *Zoological Studies* **45**: 213–222.
- Wielstra, B., Litvinchuk, S.N., Naumov, B., Tzankov, N., Arntzen, J.W. (2013): A revised taxonomy of crested newts in the *Triturus karelinii* group (Amphibia: Caudata: Salamandridae), with the description of a new species. *Zootaxa* **3682**: 441–453.
- Wielstra, B., Sillero, N., Vörös, J., Arntzen, J.W. (2014): The distribution of the crested and marbled newt species (Amphibia: Salamandridae: *Triturus*) – an addition to the new atlas of amphibians and reptiles of Europe. *Amphibia-Reptilia* **35**: 376–381.
- Žagar, A., Cafuta, V., Drašler, K., Jagar, T., Krofel, M., Lužnik, M., Ostanek, E., Petkovska, V., Planinc, G., Sopotnik, M., Vamberger, M. (2013): A review of eleven short-term reptile surveys in the western Balkans. *Hyla* **2013**: 3–21.



**4.5.2 Koleska, D., Karhánek, J., Martinez del Marmol Marin, G., & Sassoè-Pognetto, M. 2018. New records of *Echis leucogaster* in Morocco. Herpetology Notes, 11: 655-657.**

Zmije *Echis leucogaster* je považována za jednoho z nejvzácnějších hadů Maroka (Spawls & Branch, 1995; Bons & Geniez, 1996; Schleich et al., 1996). Obývá oblast západního Sahelu a několik izolovaných lokalit v severní Africe, včetně Maroka. Ještě před 20 lety byla známá z jediné marocké lokality, kde byla roku 1963 objevena (Bons & Dakka, 1963). Ovšem počínaje rokem 1999 byly popisovány stále nové lokality na území Maroka. (Herrmann et al., 2000; Aymerich et al., 2004 a další). Dnes je výskyt *E. leucogaster* v Maroku fragmentovaný mezi městy Agdz na severovýchodě a Tiglit na jihu. Naše práce přináší popis nové lokality z okolí města Assa, která je 40 km dosud nejbližší známé lokalitě Aouinet Lahna.

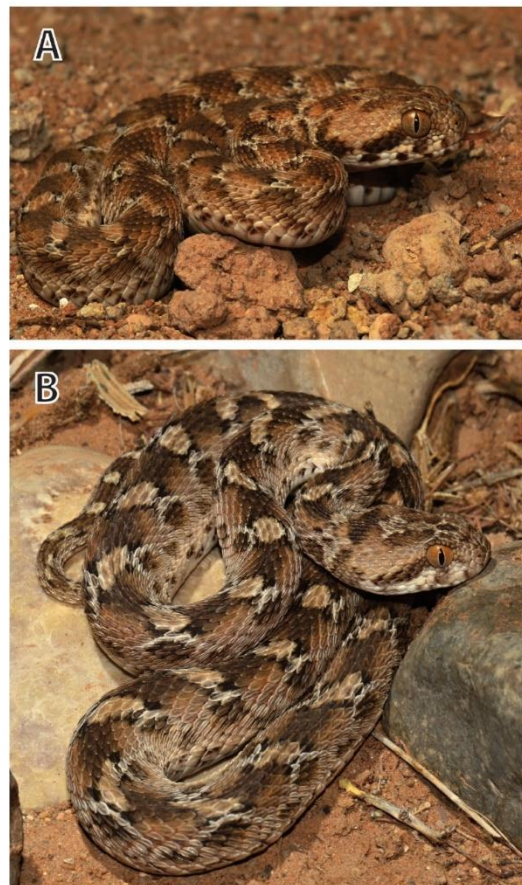
## New records of *Echis leucogaster* in Morocco

Daniel Koleska<sup>1</sup>, Jaroslav Karhánek<sup>2</sup>, Gabriel Martinez del Marmol Marin<sup>3</sup>, and Marco Sassoè-Pognetto<sup>4,\*</sup>

The white-bellied carpet (or saw-scaled) viper *Echis leucogaster* ROMAN, 1972 is considered one of the rarest snakes in Morocco (Spawls and Branch, 1995; Bons and Geniez, 1996; Schleich et al., 1996). Recent genetic studies have subdivided the genus *Echis* into four main clades consisting of the *E. ocellatus*, *E. coloratus*, *E. pyramidum* and *E. carinatus* groups (Arnold et al., 2009; Pook et al., 2009). Within the *E. pyramidum* clade, *E. leucogaster* inhabits the western Sahel region, with possibly isolated populations in the Algerian Hoggar (or Ahaggar) massif, in southern Morocco and in Tunisia (Pook et al., 2009; Geniez, 2015). Due to low genetic variability, it has been proposed that *E. leucogaster* should be regarded as a subspecies of *E. pyramidum* (Arnold et al., 2009; Sindaco et al., 2013; Geniez 2015).

Until less than two decades ago, *E. leucogaster* was known in Morocco from only a single locality near Aouinet Torkoz (presently Aouinet Lahna), where it was discovered in 1963 (Bons and Dakka, 1963). However, starting from 1999 observations were made at other locations, resulting in a fragmented distribution with three major known populations: in Aouinet Lahna, which has been confirmed by several observations over the years (Herrmann et al., 2000; Aymerich et al., 2004; personal observations by M. Berroneau, T. Charlton, S. Clerc, D. Herrero, B. Rebollo, M. Sassoè, G.J. Verspui and M. Wilson); another one in a region located between Agdz and Bou Azzer and extending south to Allougoum,

which comprises the northernmost record of the species in Morocco (Maran and Geniez, 1999; Aymerich et al., 2004; Escoriza et al., 2009; Pook et al., 2009); and in the Zemmour region near Amgala, which is known from only one dead individual and may be contiguous with populations in northern Mauritania (Aymerich



**Figure 1.** Photographs of the two *Echis* individuals found near Assa. (A) juvenile. (B) male.

<sup>1</sup> Department of Zoology and Fisheries, Czech University of Life Sciences Prague (CULS), Kamýčká 129, 165 00 Praha 6, Czech Republic.

<sup>2</sup> Nopova 56, 61500 Brno, Czech Republic.

<sup>3</sup> Cl. Pedro Antonio de Alarcon 34, 18002 Granada, Spain.

<sup>4</sup> Department of Neuroscience “Rita Levi Montalcini”, University of Torino, C.so Massimo d’Azeglio 52, 10126 Torino, Italy.

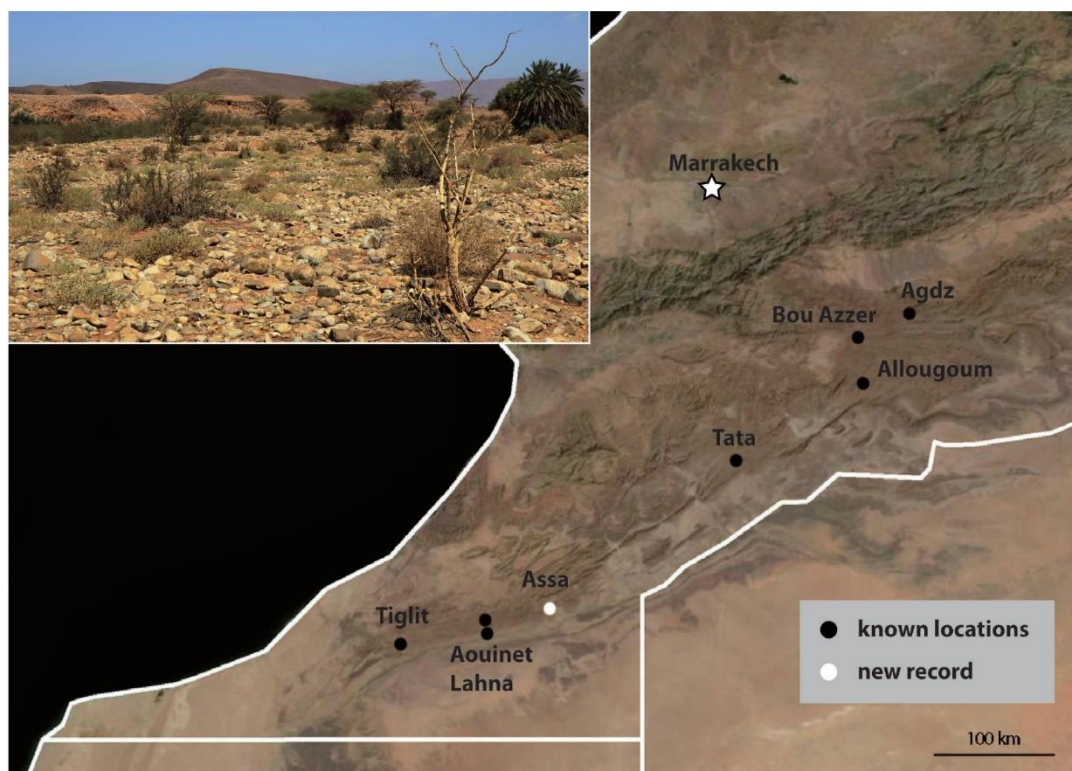
\* Corresponding author. E-mail: marco.sassoè@unito.it

et al., 2004). More recently, a juvenile *E. leucogaster* has been found near Tata, suggesting that there could be a continuous distribution between the population of Aouinet Lahna and that of Agdz along the Drâa valley (Martinez del Marmol and Rebollo Fernandez, 2012).

In support of this idea, we report here two novel observations of the species near the town of Assa. A juvenile specimen (approximately 20 cm in length) of *E. leucogaster* was located at the southern exit of Assa (28.58°N 9.41°W) on May 5, 2017 (Fig. 1A). The snake was found active at night in a dry river bed with sparse vegetation forming potential shelter (Fig. 2). Another individual, a male of approximately 45 cm in total length, was spotted in the same area inside a small bush on the night of September 28, 2017 (Fig. 1B). The habitat in which the vipers were found is bordered by plantations, which corresponds with previous records of this species (see Martinez del Marmol and Rebollo Fernandez, 2012). Other reptiles and amphibians observed in the

surroundings include *Chalcides ocellatus*, *Ptyodactylus oudrii*, *Stenodactylus mauritanicus*, *Tarentola boehmei*, and *Pelophylax saharicus* and *Sclerophrys mauritanica* in a nearby water pond.

This novel locality of *E. leucogaster* is located 40 km east of the well-known population of Aouinet Lahna. The species has been recorded further down the Drâa valley, south of Tigit (Aymerich et al., 2004), suggesting that its distribution embraces the lower course of the Drâa river. This region is found within an area of high occurrence probability as predicted by niche modelling analysis (Escoriza et al., 2009; Brito et al., 2011). North of Assa, the closest locality in which the species has been recorded is Tata at 200 km (Martinez del Marmol and Rebollo Fernandez, 2012), which is halfway from the populations situated west of Agdz (Fig. 2). Further exploration is needed to understand whether the lack of data in intermediate areas between these localities is due to poor sampling or rather reflects a fragmentary



**Figure 2.** Summary of the known distribution of *Echis leucogaster* in Morocco. Black dots indicate known localities, based on published reports (see text). The site of the new observations near Assa is marked with a white dot. The inset shows the habitat where the two individuals were found.



distribution of the species in isolated populations. Similarly, it will be interesting to establish whether the Moroccan populations of *E. leucogaster* are connected to those of the Sahel or whether they should be regarded as relict populations. Genetic analyses have indicated that Moroccan *Echis* are very closely related to those found in southern Mauritania, suggesting that these populations either have a continuous distribution or have been separated in recent times (Escoriza et al., 2009). A better knowledge of the distribution of *E. leucogaster* in Morocco is required for predicting factors that may negatively impact the survival of its populations under scenarios of climatic and environmental changes (Brito et al., 2011).

One factor that may influence the distribution of *E. leucogaster* in Morocco is the interaction with other viperids (see for example Herrmann et al., 2000). The southwestern part of Morocco in which *Echis* has been found is an environmental transition zone with potential sympatry of five distinct species of vipers (Brito et al., 2011). Indeed, *Cerastes cerastes* has been found (e.g. two adult individuals observed by M. Sassoe in May 2017) at sites near Aouinet Lahna where *Echis* has also been recorded. Moreover, coexistence between *C. cerastes* and *Daboia mauritanica* has been reported in the vicinity of Aouinet Lahna (Martínez-Freiria et al., 2016), suggesting that three species of vipers with distinct biogeographical affinities occur in sympatry in the same region. Fieldwork is needed to determine how these species partition habitat resources in this contact zone.

**Acknowledgements.** We would like to thank S. Borský, D. Hegner, J. Lehký and V. Vita for their help during the fieldwork and to Fernando Martínez-Freiria for his comments to the manuscript. This work was supported by the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA) through Project No. 20172002, by Turin University (grant RIL0 17) and by Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca – MIUR project “Dipartimenti di Eccellenza 2018 – 2022” to Dept. of Neuroscience “Rita Levi Montalcini”.

## References

- Arnold, N., Robinson, M., Carranza, S. (2009): A preliminary analysis of phylogenetic relationships and biogeography of the dangerously venomous Carpet Vipers, *Echis* (*Squamata*, *Serpentes*, *Viperidae*) based on mitochondrial DNA sequences. *Amphibia-Reptilia* **30**: 273–282.
- Aymerich, M., Borof-Aymerich, E., Geniez, P. (2004): Neufunde der seltenen Weißbäuchigen Sandrasselotter *Echis leucogaster* Roman, 1972 in Marokko (*Serpentes: Viperidae*). *Herpetozoa* **16**: 157–162.
- Bons, J., Dakka, M. (1963): Capture au Maroc de la vipère des Pyramides *Echis carinatus* (Schneider, 1801). *C. R. Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc*, Rabat **29**: 55–57.
- Bons, J., Geniez, P. (1996): Amphibiens et reptiles du Maroc (Sahara Occidental compris). Atlas Biogéographique. Barcelona, Asociación Herpetológica Española.
- Brito, J.C., Fahd, S., Geniez, P., Martínez-Freiria, F., Pleguezuelos, J.M., Trape, J.-F. (2011): Biogeography and conservation of viperids from North-West Africa: An application of ecological niche-based models and GIS. *Journal of Arid Environments* **75**: 1029e1037.
- Escoriza, D., Metallinou, M., Donaire-Barroso, D., Amat, F., Carranza, S. (2009): Biogeography of the White-Bellied Carpet Viper *Echis leucogaster* Roman, 1972 in Morocco, a study combining mitochondrial DNA data and ecological niche modeling. *Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia* **18**: 55–68.
- Geniez, P. (2015): Serpents d'Europe, d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient. Paris, Delachaux et Niestlé.
- Herrmann, H.-W., Herrmann, P.A., Geniez, P.H. (2000): Zur Verbreitung von *Echis leucogaster* Roman, 1972 in Marokko. *Salamandra* **36**: 203–207.
- Maran, J., Geniez, P.H. (1999): Nouvelles observations sur l'herpétofaune du Maroc, 7. Redécouverte de l'Echide à ventre blanc, *Echis leucogaster* ROMAN, 1972 (*Reptilia*, *Serpentes*, *Viperidae*) au Maroc. *Bulletin de la Société Herpétologique de France*, Paris **90**: 63–64.
- Martínez del Marmol Marin, G., Rebollo Fernandez, B. (2012): An important new record of *Echis leucogaster* Roman, 1972 from Morocco. *Herpetology Notes* **5**: 229–231.
- Martínez-Freiria, F., Stols, V.F., García-Cardenete, L. (2016): Human-mediated syntopy between *Cerastes cerastes* and *Daboia mauritanica* in the lower Drâa Valley, Morocco. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española* **27**: 2.
- Pook, C.E., Joger, U., Stümpel, N., Wüster, W. (2009): When continents collide: phylogeny, historical biogeography and systematics of the medically important viper genus *Echis* (*Squamata: Serpentes: Viperidae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **53**: 792–807.
- Schleich, H.H., Kastle, W., Kabisch, K. (1996): Amphibians and reptiles of North Africa. Koenigstein, Koeltz Scientific Publishers.
- Sindaco, R., Venchi, A., Grieco, C. (2013): The Reptiles of the Western Palearctic. Vol 2: Annotated checklist and distribution atlas of the snakes of Europe, North Africa, Middle East and Central Asia. Latina, Edizioni Belvedere.
- Spawls, S., Branch, B. (1995): The dangerous snakes of Africa. London, Blanford.

Accepted by Hendrik Müller

## 4.6 Parazitologie

**4.6.1 Jablonski, D., Koleska, D., Goldberg, S. R., & Bursey, C. R. 2017. Two new records of ascarid parasites observed in snakes (Colubridae) of Albania. *Ecologica Montenegrina*, 11: 20-22.**

Ačkoli herpetofauna Evropy, potažmo Albánie, je poměrně dobře popsána (Mizsei et al., 2017; Speybroeck et al., 2020), o parazitofauně plazů mnoho informací publikováno není (Jablonski et al., 2015). V této práci předkládáme nálezy dvou druhů endoparazitů (Nematoda) - *Ophidascaris schikhobalovi* u štíhlovky balkánské (*Hierophis gemonensis*) a *Hexametra quadricornis* u skvrnovky kočičí (*Telescopus fallax*) z Albánie. U *O. schikhobalovi* se jedná o vůbec první nález z Evropy.

## Two new records of ascarid parasites observed in snakes (Colubridae) of Albania

DANIEL JABLONSKI<sup>1\*</sup>, DANIEL KOLESKA<sup>2</sup>, STEPHEN R. GOLDBERG<sup>3</sup>, CHARLES R. BURSEY<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Comenius University in Bratislava, Department of Zoology, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovakia

<sup>2</sup>Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 00, Praha, Czech Republic

<sup>3</sup>Department of Biology, Whittier College, Whittier, California 90608, U.S.A.

<sup>4</sup>Department of Biology, Pennsylvania State University, Shenango Campus, Sharon, Pennsylvania 16146, U.S.A.

\*Corresponding author: Daniel Jablonski, [daniel.jablonski@balcanica.cz](mailto:daniel.jablonski@balcanica.cz)

Received: 10 June 2017 | Accepted by V. Pešić: 5 July 2017 | Published online: 6 July 2017.

While the terrestrial reptile fauna of Albania is well described (Mizsei *et al.* 2017), information about the diversity of helminth parasites in these reptiles are poorly known (Jablonski *et al.* 2015). Forty species of reptiles occur in Albania including 17 species of snakes. Snakes are well known as hosts for intestinal parasites with a number of different parasite groups recorded (Baker 1987).

Herein we present records of parasites collected during our research work in Albania in 2015 (Fig. 1A). These parasites were collected in two snake species of the family Colubridae – *Hierophis gemonensis* (Laurenti, 1768) and *Telescopus fallax* (Fleischmann, 1831). Both species are common snakes in Mediterranean parts of Albania but exhibit different ecology and life histories (Mizsei *et al.* 2017). For example *H. gemonensis* is diurnal and feeds on lizards and small mammals, *T. fallax* is nocturnal feeding mainly on geckos or other small lizards (Kreiner 2007).

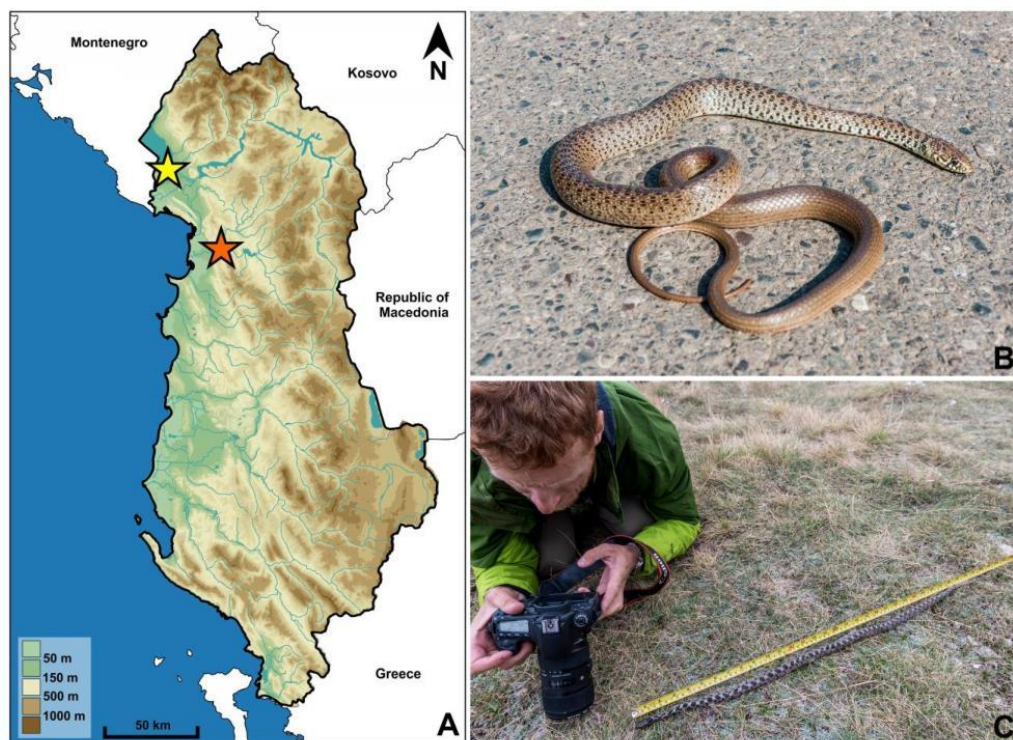
First record consists of: one *H. gemonensis* (adult male, total length 910 mm) found on 9 June 2015 near Zogaj village (42.06921°N, 19.41103°E, 30 m elevation, WGS84). The second record was a *T. fallax* (adult female, total length 825 mm) found on 20 September 2015 close to Skuraj village (41.69926°N, 19.76684°E, 29 m elevation, WGS84). Both snakes were fresh road-kills (Fig. 1B, C) found in the Mediterranean areas. The body cavity of both specimens was opened in the field and the digestive tract was removed. The esophagus, stomach, small and large intestine and lungs were opened and visually examined for helminths. Six and three Nematoda individuals were found in the small intestine of the first and the second snake, respectively. The Nematoda were fixed in 70% ethanol and were sent to CRB at the Department of Biology, Pennsylvania State University to determine the species. The specimens were cleared in a drop of glycerol and studied using a compound microscope. These Nematoda were identified based on Sprent (1978, 1988) and Anderson *et al.* (2009) as *Ophidascaris schikhobalovi* (Mozgovoy, 1950) from *H. gemonensis* and *Hexameta quadricornis* (Wedl, 1861) from *T. fallax*. These Nematoda were subsequently deposited in the Harold W. Manter Museum, University of Nebraska at Lincoln, USA (voucher numbers HWML 110054 for *O. schikhobalovi* and 110055 for *H. quadricornis*, respectively).

*Ophidascaris schikhobalovi* originally described as *Amplificaecum schikhobalovi* by Mozgovoy (1950) is known from a variety of snakes and lizards including representatives of the Colubridae: *Hemorrhhois* (as *Coluber*) *ravergieri*, *Elaphe dione*; Natricidae: *Natrix natrix*, *Natrix tessellata*; Elapidae: *Naja oxiana*; Viperidae: *Macrovipera* (as *Vipera*) *lebetina*; Agamidae: *Phrynocephalus mystaceus* and



Lacertidae: *Eremias velox* from Central Asia and Russia (Baker 1987). It should be noted that Sprent (1988) suggested *O. schikhobalovi* as a synonym of *O. excavata* Hsu and Hoeppli, 1931, however he was unable to verify synonymy based upon different spicule to body length ratio reported in the original descriptions. Sharpilo (1976) considered the host list for *O. schikhobalovi* to contain *N. natrix*, *N. tessellata*, *E. dione* and *H. ravergeri*. Sprent (1988) suggested that other species, i.e., *O. najae*, occur in elapid snakes of Asia; *O. excavata* in terrestrial reptiles of Asia. *Ophidascaris schikhobalovi* in *H. gemonensis* is a new host record. Albania is a new locality record and the first country in Europe where this parasite was recorded.

*Hexametra quadricornis* is widespread and has been reported from snakes (Colubridae, Elapidae, Typhlopidae, Viperidae) and lizards (Agamidae, Lacertidae) from southern Europe, Africa, Asia, Oceania and Russia (see Baker 1987). *Hexametra quadricornis* was previously reported in *T. fallax* from Bulgaria by Biserkov (1995). Albania is a new locality record for *H. quadricornis*. Additional parasitological research is needed to ascertain the diversity of the parasites in the reptiles of Albania.



**Figure 1.** A – the map of Albania with records of *Ophidascaris schikhobalovi* (yellow star) and *Hexametra quadricornis* (orange star) collected from *Hierophis gemonensis* (B) and *Telescopus fallax* (C), respectively.

#### Acknowledgements

We would like to thank Daniel Gruša, Ivan Stolárik and Márton Szabolcs for their help with the fieldwork and two reviewers for their comments. Permits were provided by the Ministry of Environment of Albania (Research Permit Request No. 6584). This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract no. APVV-15-0147 and by the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA) through Project No. 20172002.

**References**

- Anderson, R. C., Chabaud, A. G. & Willmott S. (2009) *Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates*, Archival Volume, CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK. 463 pp.
- Baker, M. R. (1987) Synopsis of the Nematoda parasitic in amphibians and reptiles. Memorial University of Newfoundland, *Occasional Papers in Biology*, 11, 1–325.
- Biserkov, V. Y. (1995) New records of nematodes and acanthocephalans from snakes in Bulgaria. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, 48, 87–89.
- Jablonski, D., Vági, B. & Kardos, G. (2015) *Abbreviata abbreviata* (Rudolphi, 1819) as a new nematode parasite for *Malpolon insignitus* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1827) recorded in Albania. *Ecologica Montenegrina*, 2, 194–196.
- Kreiner, G. (2007) *Snakes of Europe*. Edition Chimaira, Frankfurt am Main, Germany. 317 pp.
- Mizsei, E., Jablonski, D., Végvári, Z., Lengyel, S. & Szabolcs, M. (2017) Distribution and diversity of reptiles in Albania: a novel database from a Mediterranean hotspot. *Amphibia-Reptilia*, 38, 157–173.
- Mozgovoy, A.A. (1950) [On the anisakid fauna of fishes and reptiles]. *Trudy Gel'mintologicheskoi Laboratorii*, 3, 102–118 (In Russian).
- Sharpilo, V. P. (1976) [Parasitic worms of the reptilian fauna of the USSR; systematics, chorology, biology.] Love. Mailpva Dila. 287 pp (In Russian).
- Sprent, J. F. A. (1978) Ascaridoid nematodes of amphibians and reptiles: *Polydelphis*, *Travassoascaris* n. g. and *Hexametra*. *Journal of Helminthology*, 52, 355–384.
- Sprent, J. F. A. (1988) Ascaridoid nematodes of amphibians and reptiles: *Ophidascaris* Baylis, 1920. *Systematic Parasitology*, 11, 165–213.

**4.6.2 Koleska, D., Svobodová, V., & Husák, T. 2016. Larva of the tick *Ixodes ricinus* found attached in the oral cavity of a green lizard (*Lacerta viridis*). Herpetological Bulletin, 138: 34-35.**

V červnu roku 2015 jsme pozorovali u dospělého samce ještěrky zelené (*Lacerta viridis*) larvu klíštěte obecného (*Ixodes ricinus*) uchycenou v ústní dutině. Jedinec byl zpozorován poblíž vinice Šobes (Znojmo) při vyhřívání na okraji borového lesa a kamenitého svahu nad frekventovanou cyklostezkou. Při zběžné prohlídce jedince jsme si všimli černého bodu v tlamě, což se ukázalo jako larva klíštěte obecného. K našemu překvapení byla pevně přisátá a po extrakci z dutiny ústní jevila známky života. Klíšťata se zpravidla snaží najít na těle hostitele místo, kde je malá pravděpodobnost, že se jich hostitel zbaví. U ještěrek je to zpravidla v prostoru za předními nohami a kolem ušního otvoru (Nelson et al., 1975). Klíšťata jsou schopná přežít i delší dobu ve vodním prostředí, dokonce i v pračce na praní prádla (Carroll, 2003). Některé druhy klíšťat jsou schopné využít i kyslík přítomný ve vodě a přežít tak i několik dní (Fielden et al., 2011).



## Larva of the tick *Ixodes ricinus* found attached in the oral cavity of a green lizard (*Lacerta viridis*)

DANIEL KOLESKA\*, VERONIKA SVOBODOVA & TOMAS HUSAK

Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Czech Republic

\*Corresponding author Email: koleska@af.czu.cz

The Green lizard (*Lacerta viridis*) is a member of the family Lacertidae and is widely distributed throughout the central and south-eastern part of Europe from southern Greece up to central Germany and Poland (Sillero et al., 2014). This species inhabits mostly lowland south-facing slopes and prefers xerothermic areas with rather sparse vegetation. The Castor bean tick (*Ixodes ricinus*) is a common parasite of reptiles or other smaller vertebrates distributed from northern Africa to Scandinavia and from Ireland to central Russia (Gern & Humair, 2002). This note reports an *I. ricinus* larva found attached to the mucous membrane inside the oral cavity of *L. viridis*. Such a case has not been previously reported.

On 13 June 2015 around 12:00h local time, one of us (DK) found an adult male of *L. viridis* near the Šobes vineyards, Znojmo, southern Czech Republic. The individual was found basking on the border of a sparse pinewood and a low rocky slope near a busy cycle path (48.81669°N, 15.97550°E; 300 m a. s. l.) in the Dyje river valley. After capturing the individual, it was closely inspected. During manipulation of the lizard it demonstrated some defensive behaviour including defecation, attempts to bite and opening the mouth as a threat. With the individual's mouth open we noticed a significant dark spot inside its oral cavity (Fig. 1A). This spot proved to be an *I. ricinus* larva firmly attached to the lizard's mucous membrane (Fig. 1B). After removing the *I. ricinus* larva it proved to be alive and moving. Together with this larva we observed several more

on the lizard's body, mainly around its forelimbs. As far as our knowledge goes, observation of *I. ricinus* parasitizing inside an oral cavity of a lizard has not been previously reported.

The distribution of ticks on their host's body seems to be mainly determined by finding a suitable spot with minimal disturbance (Nelson et al., 1975). The ticks seem to choose spots with thin skin providing more firm attachment (Bauwens et al., 1983). Ticks are usually found on a lizard's body around forelimbs, arm-pits and sides of their heads. These spots also offer ectoparasites to be partly protected from being scratched off by their host or being brushed against vegetation. The mucous membrane of oral cavity seems a very unusual spot for ticks to attach to. We assume this was a rather rare case with very poor chances of the tick's successful survival.

However, all stages of ticks are able to survive in extreme environmental conditions. The oral cavity is a wet and low oxygenated place. Although ability of anaerobic respiration of ticks has not been reliably proven yet, there are reports of resistance to hypoxia and anoxia (Fielden et al., 2011). It was also reported, that some ticks are able to survive quite a long time e. g. under water or even in the automatic washing machine (Cançado et al., 2006; Carrol, 2003; Smith, 1973). Fielden et al. (2011) reported that the American dog tick (*Dermacentor variabilis*) is able to utilise dissolved oxygen in the water. Oxygen is obtained via a plastron formed by the complex spiracular plates.



**Figure 1.** *L. viridis* male with an *I. ricinus* larva attached to its mucous membrane. **A** – wider view with noticeable dark stain inside lizard's oral cavity. **B** – close up view with a detail of *I. ricinus* larva.

However, even with the plastron disabled or in water with very low oxygen content, *D. variabilis* can still survive for several days. Mihalca et al. (2012) report the European pond turtle (*Emys orbicularis*), a predominantly aquatic species, as a host of *I. ricinus*.

Lizards play an important role in the life cycle of *I. ricinus* (Dantas-Torres, 2015; Földvári et al., 2009). Their infections by ticks is currently being investigated because of the large number of tick-borne diseases potentially able to affect humans (e. g. Gryczyńska-Semiątkowska et al., 2007; Majláthová et al., 2013). Many tick-borne diseases have shown a significant increase in parts of Europe in the last two decades (Jones et al., 2008) and therefore any new observations might have value.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We are very grateful to Tomáš Caska for taking and providing presented pictures and Tomáš Holer for help during field work. We would also like to thank Dr. Roger Avery and an anonymous reviewer for their valuable comments on a previous version of the manuscript.

#### REFERENCES

- Bauwens, D., Strijbosch, H. & Stumpel, A.H.P. (1983). The lizards *Lacerta agilis* and *L. vivipara* as hosts to larvae and nymphs of the tick *Ixodes ricinus*. *Holarctic Ecology* 6: 32–40.
- Carroll, J.F. (2003). A cautionary note: survival of nymphs of two species of ticks (Acari: Ixodidae) among clothes laundered in an automatic washer. *Journal of Medical Entomology* 40: 732–736.
- Cançado, P.H.D., Chacón, S.C., Piranda, E.M., Paula, A.R. & Faccini, J.L.H. (2006). Efeito daimersão de larvas e ninfas ingurgitadas de *Amblyomma dubitatum* Neumann, 1899 (Acari: Ixodidae) em água destilada. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 15: 17–22.
- Dantas-Torres, F. (2015). Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: The butterfly effect. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 4: 452–461.
- Fielden, L.J., Knolhoff, L.M., Villarreal, S.M. & Ryan, P. (2011). Underwater survival in the dog tick *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Insect Physiology* 57: 21–26.
- Földvári, G., Rigó, K., Majláthová, V., Majláth, I., Farkas, R. & Peřko, B. (2009). Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in lizards and their ticks from Hungary. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 9: 331–336.
- Gern, L. & Humair, P.F. (2002). Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe. In *Lyme borreliosis: Biology, Epidemiology and Control*, pp. 169–174. Gray, J., Kahl, O., Lane, R.S. & Stanek, G. (Eds.). Wallingford, Oxon, UK: CAB International.
- Gryczyńska-Semiątkowska, A., Siedlecka, A., Stańczak, J. & Barkowska, M. (2007). Infestation of sand lizards (*Lacerta agilis*) resident in the Northeastern Poland by *Ixodes ricinus* (L.) ticks and their infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Acta Parasitologica* 52: 165–170.
- Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L. et al. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451: 990–993.
- Majláthová, V., Majláth, I., Hromada, M., Tryjanowski, P., Bona, M., Antczak, M., Vichová, B., Dzimko, S., Mihalca, A. & Peřko, B. (2013). The role of the sand lizard (*Lacerta agilis*) in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *International Journal of Medical Microbiology* 298: 161–167.
- Mihalca, A.D., Dumitrache, M.O., Magdaş, C., Gherman, C.M., Domşa, C., Mircean, V., Ghira, I.V., Pocora, V., Ionescu, D.T., Sikó Barabási, S., Cozma, V. & Sándor, A.D. (2012). Synopsis of the hard ticks (Acari: Ixodidae) of Romania with update on host associations and geographical distribution. *Experimental and Applied Acarology* 58: 183–206.
- Nelson, W.A., Keirans, J.E., Bell, J.F. & Clifford, C. M. (1975). Host-ectoparasite relationships. *Journal of Medical Entomology* 12: 143–166.
- Sillero, N., Campos, J., Bonardi, A., Corti, C., Creemers, R., Crochet, P.-A., Crnobrnja Isailovic, J., Denoël, M., Ficetola, G.F., Gonçalves, J., Kuzmin, S., Lymberakis, P., de Pous, P., Rodríguez, A., Sindaco, R., Speybroeck, J., Toxopeus, B., Vieites, D.R. & Vences, M. (2014). Updated distribution and biogeography of amphibians and reptiles of Europe. *Amphibia-Reptilia* 35: 1–31.
- Smith, M.W. (1973). The effect of immersion in water on the immature stages of the Ixodid ticks *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann, 1901 and *Amblyomma variegatum* Fabricius. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 67: 483–492.

Accepted: 12 October 2016

## 5 Diskuze

Druhová bohatost naší planety čelí vážným hrozbám. Plazi a obojživelníci jsou nejohroženějšími skupinami obratlovců a jejich význam pro fungování terestrických i akvatických ekosystémů je zásadní (IUCN, 2021). Globalizace světa, neustále rostoucí lidská populace a potřeba prostoru pro zemědělskou půdu, intenzivní chemizace nebo plísňová onemocnění zahnala mnoho druhů plazů a obojživelníků na pokraj vyhynutí, desítky druhů byly již nenávratně ztraceny. Hledání příčin a především způsobů, jakými lze tento trend zvrátit či alespoň zmírnit je problematikou, kterou se zabývají odborníci na všech úrovních. Základním požadavkem pro účinnou ochranu organismů je komplexní porozumění mechanismu ztráty biodiverzity, ekologickým potřebám jednotlivých druhů a také tomu, jak tyto druhy reagují na nastávající změny (Gilman et al. 2010).

### 5.1 Morfologie a malformace u obojživelníků

Kromě hlavních příčin poklesů v populacích obojživelníků, jako jsou ztráta habitatu, klimatická změna, znečištění, obchod s volně žijícími druhy zvířat či infekční onemocnění, je jednou z nich i relativně nově pozorovaný zvýšený počet malformací. Jejich příčiny nejsou vždy zcela objasněné (Ouellet, 2000) a mohou být souborem několika synergicky působících faktorů, jako jsou znečištění prostředí pesticidy (Ouellet et al., 1997; Lannoo, 2008), UV-B záření Blaustein et al. (1997), infestace parazity (Johnson et al., 1999; Johnson et al., 2002; Kiesecker, 2002). Nelze však opomenout možný vznik i kvůli předchozímu pokusu o predaci (Ballengeé & Sessions, 2009).

Popsali jsme několik případů malformací u žab. U skokana zeleného (*P. cl. esculentus*) se jedná o tzv. anophthalmii, kdy dochází k nedostatečnému či úplnému nevyvinutí oka. Pozorovaný jedinec z malého jezírka v obci Pacov na Vysočině měl úplně nevyvinuté oko na levé straně (Holer & Koleska, 2018). Jedinec byl jinak ve velmi dobrém stavu, což naznačuje, že mu malformace nebránila v normálním shánění potravy. U stejného druhu byla pozorována i malformace zadní končetiny u juvenilního jedince na lokalitě Horní Radouň, rovněž na Vysočině. Na končetině byly zkráceny kosti calcaneus a talus s přítomností jediného prstu (Koleska & Holer, 2018). U kuněk žlutobříchých (*B. variegata*) jsme pozorovali dva jedince s malformacemi na zadních končetinách na dvou lokalitách v Albánii a Rumunsku (Koleska & Jablonski, 2016). Pokaždé se jednalo o jednoho jedince z lokality. U stejného druhu jsme pozorovali 6 jedinců s malformacemi na dvou lokalitách



(Rujšte a Visočica) v Bosně a Hercegovině (Koleska & Zimić, nepublikovaná data). Na lokalitě Rujšte probíhal batrachologický průzkum, v rámci kterého bylo odchyceno 117 jedinců. 5 z nich mělo nějakou formu malformace končetiny, což činí 5,85 % případů v populaci. Všechna tato pozorování spojuje fakt, že jedinci byli v dobrém zdravotním a nutričním stavu. Malformace je tedy zřejmě neomezovány při obstarávání potravy. Příčinu těchto případů malformací nelze s jistotou určit. Nicméně v literatuře je dobře popsán princip vzniku některých malformací způsobených parazity, kteří obojživelníky využívají jako meziphostitele. Malformace končetin parazitované obojživelníky zpomalují či jinak omezují v pohybu a tím zvyšují pravděpodobnost, že dojde k predaci a parazit se dostane do těla definitivního hostitele, kterým bývá zpravidla pták, do jehož jídelníčku obojživelníci přirozeně patří. Takový parazit pak může populaci postihovat až v 90 % případů v rámci jedné populace (Johnson et al., 2002; Blaustein & Johnson, 2003). Vzhledem k tomu, že jsme u žádného ze zmiňovaných případů nezaznamenali výraznější omezení pohybu a jedinci byli v dobrém stavu, považujeme možnost způsobení malformací parazity za nepravděpodobnou, ačkoli vyloučit ji nelze. Vzhledem k charakteru malformací je pravděpodobnější, že jsou následkem pokusu o predaci či znečištění prostředí. Lokality výskytu kuněk byly v době průzkumu plně exponované bez zastínění vodní hladiny a v případě lokality Rujšte probíhala v bezprostřední blízkosti stavba silnice. Nicméně bez dalšího vyšetření nelze přesnou příčinu vzniku určit.

## **5.2 Malformace a růst u plazů**

### **5.2.1 Malformace u plazů**

S rozličnými malformacemi se můžeme setkávat i u plazů. Některé druhy disponují schopností kaudální autotomie, která jim slouží jako antipredační strategie. Tuto strategii využívá poměrně velké množství druhů plazů, ale i některých ocasatých obojživelníků (např. Lynn, 1950; Mačát et al., 2015). Při napadení dojde k „dobrovolnému“ odvržení části ocasu, který má za úkol nalákat predátora a umožnit tak svému bývalému majiteli útěk do bezpečí. Ocas se odděluje v příčných zónách lomu, které vedou napříč obratlovým centrem a neurálním obloukem. Následně dochází k regeneraci tkáně a opětovnému růstu ocasu. Celý proces výborně a jednoduše shrnul Roček (1996). V případě, že se ocas neoddělí úplně a zůstane částí přichycen k původnímu ocasu, může dojít k zahájení procesu regenerace a růstu nové větve (příp. větví) při zachování té původní (Dudek & Ekner-Grzyb, 2014). K procesu tvoření vícečetných malformací ocasu dochází při narušení míchy v ocasu např.

při zranění drtivého charakteru důsledkem predace (Bateman & Fleming, 2009). Případy se dvěma větvemi jsou nazývány bifurkace, se třemi trifurkace atd. Při našich průzkumech jsme narazili na několik zajímavých případů malformací ocasu u různých druhů ještěřů. Prvním z nich byla trifurkace ocasu u dospělého samce paještěrky dalmatské (*A. nigropunctatus*) v okolí obce Dedaj v jihozápadní části Kosova (Koleska & Jablonski, 2015). Původní část ocasu byla zcela oddělena a v místě oddělení vyrůstaly tři různě dlouhé větve (30, 15 a 10 mm). K oddělení ocasu tedy zřejmě došlo po drtivém dopadu, pravděpodobně po útoku predátora. Jedinec nejevil žádné další známky poranění. Dalším případem byla bifurkace u gekona *Asaccus gallagheri* ze Spojených Arabaských Emirátů. Ve Wadi Shawkah jsme pozorovali samce s rozdvojenou špičkou ocasu (Koleska, 2018). Gekoni tohoto druhu obývají skalní stěny s četnými puklinami. O vhodná stanoviště mezi sebou samci svádějí souboje. Vzhledem k charakteru bifurkace a její lokalizaci na konci ocasu proto předpokládáme, že vznikla v důsledku vnitrodruhové agrese. *A. gallagheri* nicméně nevytváří husté populace jako jiné druhy (Gardner, 2013). Třetím případem je bifurkace ocasu u čukvaly zavalité (*Sauromalus ater*), kterou jsme pozorovali v chovném zázemí Zooparku Zájezd (Koleska et al., 2017b). Zvíře pocházelo z importu, bylo již odchyceno s rozdvojeným ocasem. V době obdržení zásilky importu bylo již ve velmi špatné výživové kondici, ne však vinou malformace. Nejevilo žádné další známky poranění. Čtvrtým případem je vícenásobná malformace ocasu u leguána jedlého (též chutného, *Iguana delicatissima*) z ostrova Petite Terre, Guadeloupe (Koleska & Jablonski, 2018). Pozorován byl nedospělý jedinec s ocasem rozděleným na celkem 4 větve – 3 z nich byly poměrně dlouhé, 1 kratší s tupým zakončením. Jako dokladový materiál sloužila fotografie pořízená pozorovateli. Všechny případy byly u těchto druhů popsány vůbec poprvé. Ačkoli Bateman & Fleming (2009) udávají, že vícečetné malformace ocasů se neobjevují u čeledi Iguanidae, novější pozorování, včetně těch našich, toto tvrzení vyvrací (např. Hayes et al., 2012; Koleska et al., 2017b; Koleska & Jablonski, 2018; Mata-Silva et al., 2010, Mata-Silva et al., 2013). Nová revize těchto malformací určila, že malformace ocasů se vyskytují přibližně u 3 % ještěřů (Barr et al., 2020). Z hlediska konkrétního jedince může být velmi nepraktické mít dva (nebo více) ocasy místo jednoho. Taková malformace může mít významný vliv na lokomoci i na reprodukční úspěšnost.

## 5.2.2 Růst plazů

Plazi jsou jako ektotermní organismy (společně s rybami a obojživelníky) považováni za skupinu s neukončeným růstem (např. Kozłowski, 1996; Stamps et al., 1998). Lze však

skutečně toto tvrzení zevšeobecnit na celou skupinu plazů? Růstové ploténky se na dlouhých kostech nachází v oblastech metafýzy, tedy mezi koncovými epifýzami a střední částí (Marjit, 2016). Dělí se na tři vrstvy – zónu s pomalu množícími se chondrocyty, proliferativní zónu s rychleji se množícími chondrocyty a hypertrofickou zónu, která obsahuje velké nemnožící se chondrocyty. Ztráta funkce růstových plotének přichází se zvyšujícím se věkem po dosažení pohlavní dospělosti. Tento proces se nazývá stárnutí růstových plotének (Marino et al., 2008). Následkem stárnutí růstových plotének dochází k osifikaci epifýzy. Kostnatá epifýza se nezávisle vyvinula u většiny skupin dnešních obratlovců (Teleostei, Anura, Lepidosauria, Aves a Mammalia). Jedná se tak o dobrý příklad konvergentní evoluce (Dollo, 1884; Haines, 1942, 1969; Carter et al., 1998; Geiger et al., 2014). Autoři zabývající se přetrváváním růstových chrupavek u plazů i po dosažení pohlavní dospělosti tento fakt považovali za důkaz neukončeného růstu. Výzkumné práce zabývající se varany ale přinesly důkazy o tom, že u některých druhů s menším vzrůstem růstové ploténky v pozdějším věku zanikají (de Buffrénil et al., 2008; Frýdlová et al., 2017). U větších druhů varanů přetrvávají až do velmi pokročilého věku a zanikají u velmi starých jedinců (ve studii 23-letý *Varanus indicus*, což je na tento druh extrémně vysoký věk). Částečná degradace některých zón růstových plotének však nemusí znamenat nevratné zastavení růstu. Zachování růstových plotének i v pokročilém věku u velkých druhů varanů autoři spojují s tlakem na pohlavní výběr, kdy jsou jedinci s velkým tělesným rámcem úspěšnější. Snímky pořízené  $\mu$ CT (metoda použitá pro zmíněnou analýzu kostí varanů) nám umožnily analyzovat přetrvávání růstových plotének i u dalších skupin plazů. Zaměřili jsme se na nadčeleď Iguania, konkrétně skupiny Pleurodonta („leguáni“) a Acrodonta (agam a chameleoni). Tyto dvě skupiny prošly konvergentní evolucí. Vzorky poskytli soukromí chovatelé a zoologické zahrady. Celkem jsme zanalyzovali 151 kostí agam (38), chameleonů (46) a „leguánů“ (67). Analýza metodou  $\mu$ CT ukázala, u většiny vzorků ze skupiny Acrodonta byly růstové ploténky zachovány i do pokročilejšího věku (až na skutečně letité výjimky). U skupiny Pleurodonta bylo schéma jiné – většina vzorků byla bez růstových plotének, které byly zaniklé, a to i u jedinců, kteří nedosáhli maximální délky (70 %). Toto bylo patrné především u menších druhů, jako jsou anolisové. U větších druhů (*Cyclura*, *Iguana*) byly růstové ploténky zachovány i u dospělých jedinců, což koresponduje s výsledky získanými od varanů. Výsledky tak vyvracejí „univerzálnost“ tvrzení o neukončeném růstu u plazů. Minimálně u některých skupin toto tvrzení neplatí a je nezbytné upravit náš pohled na koncept růstových strategií u plazů. Ostatně, není tomu tak dlouho, co jsme za zvířata s neukončeným růstem považovali slony (Jarman, 1983; Lindeque & Vanjaarsveld, 1993).



## 5.3 Využití molekulární genetiky v analýze potravních preferencí

Během herpetologické expedice v roce 2016 jsme našli čerstvě zabitého jedince ploskolebce z druhového komplexu *Gloydius halys* (Wagner et al., 2016) poblíž obce Jeti-Ögüz ve východním Kyrgyzstánu. Zabitý jedinec nejevil žádné významné známky poranění. Nicméně lokalita nálezu byla hojně využívána k pasení dobytka, proto se domníváme, že byl had zaměrně ubit jako prevence uštknutí. Během ohledání kadaveru jsme zjistili, že má v břišní dutině částečně strávenou kořist. Po vyjmutí z břišní dutiny bylo jasné, že se jedná o zástupce rodu *Eremias*. Jeho tělo bylo již částečně strávené a znemožňovalo tak jistou identifikaci na základě vnějších znaků. Na základě částečně viditelného barevného vzoru a distribučních dat jsme předpokládali, že se jedná o druh *E. stummeri*, nicméně jisti jsme si být nemohli. Z kadaveru jsme tedy odebrali vzorek tkáně a uložili do 96% ethanolu. Následná genetická analýza na Univerzitě Jana Amose Komenského v Bratislavě naši domněnku potvrdila. Výsledek byl porovnán se sekvencí *E. stummeri* z Kazachstánu z databáze GenBank a potvrzen s 99% pravděpodobností. Ploskolebci rodu *Gloydius* běžně loví menší teplokrevné obratlovce, nicméně u menších jedinců nepřesahujících délku 40 cm jsou doložena pozorování predace plazů, např. právě ještěrek rodu *Eremias*. Jsou však známé i případy predace na bezobratlých, především rovnokřídlých (Lesnyak, 1964; Yakovleva, 1964; Bogdanov, 1970; Joger & Stümpel, 2005). Přímá pozorování predace jsou z hlediska praktického využití velmi nepraktická a invazivní metody analýzy potravy u chráněných druhů jsou přinejmenším neetické. Analýza obsahu gastrointestinálního traktu u nalezených čerstvě zabitých jedinců (např. v důsledku automobilové dopravy) tak může poskytnout hodnotné informace o potravních preferencích. Molekulárně-genetické metody jsou užitečné při analýze tkání, které agresivní prostředí v trávicím traktu jinak rychle rozloží. Poznatky o potravních preferencích konkrétních druhů nám mohou prozradit leccos o interakcích s jinými druhy plazů a stejně tak objasnit složení lokální herpetofauny, kterou bychom jinak měli pramalou šanci objevit. Podobným způsobem byl prof. Campbellem nedávno popsán velmi zvláštní had *Cenaspis aenigma* z útrob korálovce (Campbell et al., 2018).

## 5.4 Nová distribuční data herpetofauny Evropy a severní Afriky

V rámci herpetologického průzkumu jsme získali nová data o rozšíření herpetofauny Makedonie v roce 2016 (Uhrin et al., 2016). Podařilo se nám nalézt a zdokumentovat téměř všechny druhy herpetofauny vyskytující se v Makedonii, pouze 7 druhů jsme nepozorovali (*Ichthyosaura alpestris*, *Lissotriton vulgaris*, *Rana graeca*, *Lacerta agilis*, *Hierophis gemonensis*, *Vipera berus* a *V. ursinii*). Některé druhy mají v Makedonii severní hranici svého areálu (*Eryx jaculus*, *Xerotyphlops vermicularis*), proto by měla být věnována patřičná pozornost především zachování jejich vhodných habitatů. Z uvedených map rovněž vyplývá, že mnoho našich pozorování přineslo nové poznatky o rozšíření některých druhů (*Pelophylax ridibundus*, *Testudo graeca*, *Mauremys rivulata*, *Mediodactylus kotschyi*, *Lacerta* spp., *E. jaculus*, *Malpolon insignitus*). V případě *E. jaculus* naše pozorování potvrdilo výskyt tohoto druhu v Makedonii po 40 letech. I u některých běžně rozšířených druhů jsme přinesli poznatky o jejich výskytu na nových lokalitách (*Lacerta viridis* complex, *M. insignitus*, *Natrix tessellata*) a přispěli tak k doplnění chybějících míst v jejich mapách výskytu. Doložené rozšíření *M. rivulata*, *P. apodus* a *H. gemonensis* takřka striktně na jihu Makedonie je zajímavé z hlediska toho, že jinak jsou tyto druhy v rámci Balkánského poloostrova rozšířeny i severněji, než je Makedonie (Sillero et al., 2014; Speybroeck et al., 2020). Přesnější vysvětlení pro tento fakt nemáme a jistě bude nezbytné věnovat průzkumu herpetofauny Makedonie bližší pozornost.

Maroko patří v rámci severoafrického regionu mezi země s největší biodiverzitou. Rozšíření herpetofauny Maroka je poměrně dobře známo díky souhrnným pracem z přelomu tisíciletí (Bons & Geniez, 1996; Schleich et al., 1996), dílčím pozorováním (např. Barata et al., 2011; Kane et al., 2019) i novější publikaci shrnující dosavadní poznatky (del Mármol et al., 2019). Nicméně některé druhy jsou stále známy pouze z roztroušených lokalit bez dostatečného počtu pozorování. Naše práce přináší nová pozorování zmiije *Echis leucogaster* z okolí města Assa. Námi popsaná nová lokalita je 40 km východně od nejbližší známé lokality Aouinet Lahna (Koleska et al., 2018). Nejbližší lokalita severním směrem (Tata) je vzdálená 200 km. Zajímavé je, že většinu lokalit výskytu *E. leucogaster* propojuje řeka Draa, nejdelší vodní tok Maroka o délce 1100 km. Táhne se od města Ouarzazate na severu, přes města Agdz a Zagora k hranicím s Alžírskem, odkud teče na západ přes město Tan Tan až do Atlantského oceánu a poskytuje zmijím vhodný vlhčí habitat s množstvím menších jezírek, kde se drží voda. Z hlediska ucelení znalostí o rozšíření *E. leucogaster* je údolí řeky Draa

velmi zajímavé. S malým počtem nálezů může souviset i převážně noční aktivita tohoto druhu. Genetická analýza vzorků *E. leucogaster* z Mauritanie a Maroka naznačuje, že jsou si blízce příbuzné. Lze tedy předpokládat, že v této oblasti mají zmije souvislý výskyt nebo se evolučně oddělily teprve v nedávné době (Escoriza et al., 2009).

## 5.5 Nová distribuční data parazitofauny plazů

O rozšíření parazitofauny plazů přinášíme několik nových informací. První je pozorování parazitace larvy klíštěte obecného (*Ixodes ricinus*) v ústní dutině ještěrky zelené (*Lacerta viridis*) na jižní Moravě (Podyjí). Toto chování larvy klíštěte u živého hostitele bylo popsáno vůbec poprvé. Schopnost přežití v prostředí s minimálním nebo žádným kyslíkem byla popsána v literatuře (Carroll, 2003; Fielden et al., 2011), což potvrzuje naši domněnku, že larva byla schopná na ještěrce skutečně parazitovat či se o to minimálně pokoušet. Klíšťata si však běžně vybírají na svém hostiteli místa s nejmenší pravděpodobností odstranění (Nelson et al., 1975), proto tento případ můžeme považovat spíše za shodu okolností.

Dále jsme popsali výskyt škrkavky *Ophidascaris schikhobalovi* u štíhlovky balkánské (*Hierophis gemonensis*) a škrkavice *Hexametra quadricornis* u skvrnovky kočičí (*Telescopus fallax*) z Albánie. *O. schikhobalovi* byla dříve popsána u *Hemorrhoids ravergeri*, *Elaphe dione*, *Natrix natrix*, *Natrix tessellata*, *Naja oxiana*, *Macrovipera lebetina*, *Phrynocephalus mystaceus* a *Eremias velox* ve střední Asii a Rusku (Baker, 1987). *H. quadricornis* je široce rozšířená a popsána u hadů (Colubridae, Elapidae, Typhlopidae, Viperidae) a ještěrů (Agamidae, Lacertidae) z jižní Evropy, Afriky, Asie, Oceánie a Ruska (Baker, 1987). Z Bulharska byla popsána u *T. fallax* Biserkov (1995). Pro oba tyto parazity jsou to první záznamy z Albánie. U *O. schikhobalovi* se jedná o vůbec první nález z Evropy. Je tedy zřejmé, že výskyt parazitů plazů by si zasloužil více pozornosti.



## 6 Závěry

Tato závěrečná práce je předložena jako soubor vědeckých prací s komentářem. Zaměřena je na 4 základní oblasti – (1) morfologické anomálie u obojživelníků, (2) morfologické anomálie a růst plazů, (3) nové distribuční poznatky o herpetofauně Balkánského poloostrova a severní Afriky a (4) nové poznatky o parazitofauně evropských plazů.

Přinesli jsme nové poznatky o morfologických malformacích u plazů a obojživelníků u druhů, u kterých dosud nebyly známé. Analýzou růstových chrupavek pomocí metody  $\mu$ CT byl vyvrácen obecný předpoklad, že plazi mají neukončený růst – u skupiny Pleurodonta v dospělosti růstové chrupavky zpravidla mizí a dochází k zastavení růstu. Byla tedy potvrzena naše hypotéza, že u různých skupin plazů bude různé přetrvávání růstových plotének. Byly nalezeny nové lokality výskytu (59) plazů a obojživelníků v Makedonii, mezi nimi i nejsevernější výskyt (*M. kotschyi*) nebo nález po 40 letech (*E. jaculus*). Popsali jsme novou lokalitu *E. leucogaster* v Maroku. Těmito nálezy byla potvrzena hypotéza doložení dosud neznámých údajů o distribuci plazů a obojživelníků na méně probádaných lokalitách. Byl poprvé popsán výskyt 2 druhů parazitů (*O. schikobalovi* a *H. quadricornis*) na území Albánie, které potvrdilo naši hypotézu.

Pokles biodiverzity v kontextu globálních změn krajiny a šíření onemocnění je potvrzeným fenoménem, jenž by v budoucnosti mohl ohrozit fungování celého světového ekosystému. Je proto nezbytně nutné přinést veškeré možné poznatky o životě a ohrožení konkrétních skupin organismů. Plazi a obojživelníci si jako nejohroženější skupiny obratlovců získávají čím dál více pozornosti. Poznatky o jejich biologii budou klíčové v boji za jejich záchranu. Za naprosto zásadní považuji ve snaze o ochranu biodiverzity popularizaci a práci s veřejností. Bez kladného přístupu veřejnosti bude ochrana herpetofauny těžkým úkolem. Díky své činnosti vzdělávacího pracovníka ale vidím, že se situace lepší a především děti mají o přírodu kolem sebe zájem. Pevně věřím, že tu s námi plazi i obojživelníci ještě dlouho vydrží, prozradí nám mnoho zajímavého ze své biologie a nepřestanou nás fascinovat.

## 7 Seznam použité literatury

- Alberts, A. 2004. The Grand Cayman Blue Iguana – Species Recovery Plan 2001–2006. Grand Cayman: Blue Iguana Recovery Program.
- Alford, R. A. & Richards, S. J. 1999. Global amphibian declines: a problem in applied ecology. *Annual review of Ecology and Systematics*, **30(1)**: 133-165.
- Alibardi, L. 2010. Morphological and Cellular Aspects of Tail and Limb Regeneration in Lizards: A Model System with Implications for Tissue Regeneration in Mammals. *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology*, **207**: 1–109.
- Altherr, S., & Lameter, K. 2020. The rush for the rare: Reptiles and amphibians in the European pet trade. *Animals*, **10(11)**: 2085.
- Amphibiaweb. 2022. Amphibian Species By the Numbers. Dostupné na: <https://amphibiaweb.org/amphibian/speciesnums.html>. Citováno dne [26. 2. 2022].
- Amin, O. M., Heckmann, R. A., Fišer, Ž., Zakšek, V. & Herlyn, H. 2019. Description of *Acanthocephalus anguillae balkanicus* subsp. n. (Acanthocephala: Echinorhynchidae) from *Proteus anguinus* Laurenti (Amphibia: Proteidae) and the cave ecomorph of *Asellus aquaticus* (Crustacea: Asellidae) in Slovenia. *Folia parasitologica*, **66**: 1-13.
- Andreone, F., Cadle, J. E., Cox, N., Glaw, F., Nussbaum, R. A., Raxworthy, C. J., Stuart, S. N., Vallan, D. & Vences, M. 2005. Species review of amphibian extinction risks in Madagascar: conclusions from the Global Amphibian Assessment. *Conservation Biology*, **19(6)**: 1790-1802.
- Andrews, K. M. & Gibbons, J. W. 2005. How do highways influence snake movement? Behavioural response to roads and vehicles. *Copeia* **2005**: 772–782.
- Arnold, N., Robinson, M. & Carranza, S. 2009. A preliminary analysis of phylogenetic relationships and biogeography of the dangerously venomous Carpet Vipers, *Echis* (Squamata, Serpentes, Viperidae) based on mitochondrial DNA sequences. *Amphibia-Reptilia*, **30(2)**: 273-282.
- Aymerich, M., Borof-Aymerich, E. & Geniez, P. 2004. Neufunde der seltenen Weißbäuchigen Sandrasselotter *Echis leucogaster* Roman, 1972 in Marokko (Serpentes: Viperidae). *Herpetozoa*, **16**: 157–162.
- Baker, M. R. 1987. Synopsis of the Nematoda parasitic in amphibians and reptiles. Memorial University of Newfoundland, Occasional Papers in Biology, **11**: 1–325.

- Ballengée, B. & Sessions, S. K. 2009. Explanation for missing limbs in deformed amphibians. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, **312(7)**: 770–779.
- Balseiro, A., Dalton, K. P., del Cerro, A., Marquez, I., Cunningham, A. A., Parra, F., Prieto, J. M. & Casais, R. 2009. Pathology, isolation and molecular characterisation of a ranavirus from the common midwife toad *Alytes obstetricans* on the Iberian Peninsula. *Diseases of Aquatic Organisms*, **84(2)**: 95-104.
- Barata, M., Perera, A., Harris, D. J., Van der Meijden, A., Carranza, S., Ceacero, F., García-Munoz, E., Goncalves, D., Henriques, S., Jorge, F., Marshall, J. C., Pedraja, L. & Sousa, P. 2011. New observations of amphibians and reptiles in Morocco, with a special emphasis on the eastern region. *Herpetological Bulletin*, **116**: 4-14.
- Barr, J. I., Somaweera, R., Godfrey, S. S., Gardner, M. G. & Bateman, P. W. 2020. When one tail isn't enough: abnormal caudal regeneration in lepidosaurs and its potential ecological impacts. *Biological Reviews*, **95(5)**: 1479-1496.
- Barreto, C., Albrecht, R. M., Bjorling, D. E., Horner, J. R. & Wilsman, N. J. 1993. Evidence of the growth plate and the growth of long bones in juvenile dinosaurs. *Science*, **262(5142)**: 2020-2023.
- Bateman, P. W. & Fleming, P. A. 2009. To cut a long tail short: a review of lizard caudal autotomy studies carried out over the last 20 years. *Journal of Zoology*, **277**:1-14.
- Berger, L., Speare, R., Daszak, P., Green, D. E., Cunningham, A. A., Goggin, C. L., Slocombe, R., Ragan, M. A., Hyatt, A. D., McDonald, K. R., Hines, H. B., Lips, K. R., Marantelli, G. & Parkes, H. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **95(15)**: 9031-9036.
- Bhandarkar, S. & Paliwal, G. 2021. Road kill of Snakes (Squamata: Serpents) on state highway 276: a case study in protected forest area of Deori Forest range Gondia. *New Biological Reports*, **10(1)**: 7-10.
- Bielecki, A., Cichocka, J. M., Jablonski, A., Jelen, I., Ropelewska, E., Biedunkiewicz, A., Terlecki, J., Nowakowski, J. J., Pakulnicka, J., Szlachciak, J. 2012. Coexistence of *Placobdella costata* (Fr. Muller, 1846) (Hirudinida: Glossiphoniidae) and mud turtle *Emys orbicularis*. *Biologia*, **67**: 731-738.
- Biserkov, V. Y. 1995. New records of nematodes and acanthocephalans from snakes in Bulgaria. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, **48**: 87-89.

- Blaustein, A. R., Wake, D. B. & Sousa, W. P. 1994. Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation biology*, **8(1)**: 60-71.
- Blaustein, A. R., Kiesecker, J. M., Chivers, D. P. & Anthony, R. G. 1997. Ambient UV-B radiation causes deformities in amphibian embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **94(25)**: 13735-13737.
- Blaustein, A. R. & Johnson, P. T. 2003. The complexity of deformed amphibians. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **1(2)**: 87-94.
- Bogdanov, O. P. 1970. Diet of *Agkistrodon halys* in central Asia. *Zoologicheskii Zhurnal*, Moscow, **49**: 1851–1856.
- Bons, J., Dakka, M. 1963. Capture au Maroc de la vipère des Pyramides *Echis carinatus* (Schneider, 1801). *C. R. Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc*, Rabat **29**: 55–57.
- Bons, J., Geniez, P. 1996. Amphibiens et reptiles du Maroc (Sahara Occidental compris). *Atlas Biogéographique*. Barcelona, Asociación Herpetológica Española.
- Borkin, L. J., & Pikulik, M. M. 1986. The occurrence of polymely and polydactyly in natural populations of anurans of the USSR. *Amphibia-Reptilia*, **7(3)**: 205-216.
- Borzée, A., McNeely, J., Magellan, K., Miller, J. R., Porter, L., Dutta, T., Krishnakumar, P. K., Sharma, S., Shahabuddin, G., Aprilinayati, F., Ryan, G. E., Hughes, A., Mutalib, A. H. A., Wahab, A. Z. A., Bista, D., Chavanich, S. A., Chong, J. L., Gale, G. A., Ghaffari, H., Ghimirey, Y., Jayaraj, V. K., Khatiwada, A. P., Khatiwada, M., Krishna, M., Lwin, N., Paudel, P. K., Sadykova, C., Savini, T., Shrestha, B. B., Strine, C. T., Suttchacheep, M., Wong, E. P., Yeemin, T., Zahirudin, N. Z. & Zhang, L. 2020. COVID-19 highlights the need for more effective wildlife trade legislation. *Trends in Ecology & Evolution*, **35(12)**: 1052-1055.
- Brejcha, J., Miller, V., Jeřábková, L., Šandera, M. 2009. Výskyt *Trachemys scripta* na území ČR. *Herpetologické informace*, **8(1)**: 14-30.
- Brooks, T. M., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A., Rylands, A. B., Konstant, W. R., Flick, P., Pilgrim, J., Oldfield, S., Magin, G. & Hilton-Taylor, C. 2002. Habitat loss and extinction in the hotspots of biodiversity. *Conservation biology*, **16(4)**: 909-923.
- Burton, F. 2012. Grand Cayman Blue Iguana takes step back from extinction. IUCN. [https://web.archive.org/web/20121111041424/http://www.iucn.org/news\\_homepage/](https://web.archive.org/web/20121111041424/http://www.iucn.org/news_homepage/)



- all\_news\_by\_theme/species\_news/?11299%2FGrand-Cayman-Blue-Iguana-takes-step-back-from-extinction. Citováno dne [22. 2. 2022].
- Cadi, A. & Joly, P. 2003. Competition for basking places between the endangered European pond turtle (*Emys orbicularis galloitalica*) and the introduced red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*). Canadian Journal of Zoology, **81(8)**: 1392-1398.
- Campbell, J. A., Smith, E. N. & Hall, A. S. 2018. Caudals and calyces: the curious case of a consumed Chiapan colubroid. Journal of Herpetology, **52(4)**: 458-471.
- Carroll, J. F. 2003. A cautionary note: survival of nymphs of two species of ticks (Acari: Ixodidae) among clothes laundered in an automatic washer. Journal of Medical Entomology, **40**: 732–736.
- Carter, D. R., Mikic, B., Padian, K. 1998. Epigenetic mechanical factors in the evolution of long bone epiphysis. Zool J Linn Soc, **123**: 163–178.
- Chambouvet, A., Gower, D. J., Jirků, M., Yabsley, M. J., Davis, A. K., Leonard, G., Maguire, F., Doherty-Bone, T. M., Bittencourt-Silva, G. B., Wilkinson, M. & Richards, T. A. 2015. Cryptic infection of a broad taxonomic and geographic diversity of tadpoles by *Perkinsea* protists. Proceedings of the National Academy of Sciences, **112(34)**: E4743-E4751.
- CITES. 2022. What is CITES? Dostupné na: <https://cites.org/eng/disc/what.php>. Citováno dne [14. 2. 2022].
- Daszak, P., Berger, L., Cunningham, A. A., Hyatt, A. D., Green, D. E. & Speare, R. 1999. Emerging infectious diseases and amphibian population declines. Emerging infectious diseases, **5(6)**: 735-748.
- Daugherty, C. H., Cree, A., Hay, J. M. & Thompson, M. B. 1990. Neglected taxonomy and continuing extinctions of tuatara (*Sphenodon*). Nature, **347(6289)**: 177-179.
- Davis, A. K., Yabsley, M. J., Kevin Keel, M. & Maerz, J. C. 2007. Discovery of a novel alveolate pathogen affecting southern leopard frogs in Georgia: description of the disease and host effects. EcoHealth, **4(3)**: 310-317.
- de Buffrénil, V., Houssaye, A. & Böhme, W. 2008. Bone vascular supply in monitor lizards (Squamata: Varanidae): influence of size, growth, and phylogeny. Journal of Morphology, **269(5)**: 533-543.
- del Marmol, G. M., Harris, D. J., Geniez, P., de Pous, P. & Salvi, D. 2019. Amphibians and Reptiles of Morocco. Edition Chimaira. 478 pp.
- Dollo, M. L. 1884. Sur les epiphysis des lacertiliens. Zool Anz, **7**: 65–70.

- Dsouli, N., Younsi-Kabachii, H., Postic, D., Nouira, S., Gern, L. & Bouattour, A. 2006. Reservoir role of lizard *Psammotromus algirus* in transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Spirochaetaceae) in Tunisia. *Journal of Medical Entomology*, **43(4)**: 737-742.
- Dubois, A. 1968. Sur deux anomalies de la grenouille verte (*Rana esculenta*). *Publications de la Société Linnéenne de Lyon*, **37(7)**: 316-320.
- Dudek, K. & Ekner-Grzyb, A. 2014. Field observation of two-tailed sand lizard *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758 and a common lizard *Zootoca vivipara* (Jacquin, 1787) in Poland. *Natura Sloveniae*, **16 (1)**: 65–66.
- Duszynski, D. W., Bolek, M. G. & Upton, S. J. 2007. Coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) of amphibians of the world. *Zootaxa*, **1667(1)**: 1-77.
- Džukić, G. & Kalezić, M. L. 2004: The biodiversity of amphibians and reptiles in the Balkan peninsula. In: *Balkan biodiversity. Pattern and process in the European hotspot*, p. 167–192. Griffiths, H. I., Kryštufek, B. & Reed, J. M., Ed., Dordrecht, Kluwer Academic Publisher.
- Epstein, P. R., Diaz, H. F., Elias, S., Grabherr, G., Graham, N. E., Martens, W. J., Thompson, E. M. & Susskind, J. 1998. Biological and physical signs of climate change: focus on mosquito-borne diseases. *Bulletin of the American Meteorological Society*, **79(3)**: 409-418.
- Ernst, C. H. & Barbour, R. W. 1989. *Turtles of the World*. Washington (DC). Smithsonian Institution Press.
- Escoriza, D., Metallinou, M., Donaire-Barroso, D., Amat, F. & Carranza, S. 2009: Biogeography of the White-Bellied Carpet Viper *Echis leucogaster* Roman, 1972 in Morocco, a study combining mitochondrial DNA data and ecological niche modeling. *Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia*, **18**: 55–68.
- Farnum, C. E. 2007. Postnatal growth of fins and limbs through endochondral ossification. In: Hall, B. K. (ed.) *Fins into limbs: evolution, development, and transformation*. University of Chicago Press, Chicago, pp 118–151.
- Fayzulin, A. I., Chikhlyayev, I. V., Mineev, A. K., Kuzovenko, A. E., Mihaylov, R. A., Zaripova, F. F., Popov, A. I. & Ermakov, O. A. 2018. New data on the anomalies of tailless amphibians of the Volga Basin. *KnE Life Sciences*, 29-35.
- Fielden, L. J., Knolhoff, L. M., Villarreal, S. M. & Ryan, P. 2011. Underwater survival in the dog tick *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Insect Physiology*, **57**: 21-26.

- Fisher, M. C., Henk, D., Briggs, C. J., Brownstein, J. S., Madoff, L. C., McCraw, S. L., & Gurr, S. J. 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*, **484(7393)**: 186-194.
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., Mueller, N. D., O'Connell, C., Ray, D. K. & West, P. C.. 2011. Solutions for a cultivated planet. *Nature*, **478**:337–342.
- Franklinos, L. H., Lorch, J. M., Bohuski, E., Rodriguez-Ramos Fernandez, J., Wright, O. N., Fitzpatrick, L., Petrovan, S., Durrant, C., Linton, C., Baláž, V., Cunningham, A. A. & Lawson, B. 2017. Emerging fungal pathogen *Ophidiomyces ophiodiicola* in wild European snakes. *Scientific Reports*, **7(1)**: 1-7.
- Frýdlová, P., Nutilová, V., Dudák, J., Žemlička, J., Němec, P., Velenský, P., Jirásek, T. & Frynta, D. 2017. Patterns of growth in monitor lizards (Varanidae) as revealed by computed tomography of femoral growth plates. *Zoomorphology*, **136(1)**: 95-106.
- Frýdlová, P., Mrzílková, J., Šeremeta, M., Křemen, J., Dudák, J., Žemlička, J., Němec, P., Velenský, P., Moravec, J., Kolečka, D., Zahradníčková, V., Jirásek, T., Kodým, P., Frynta, D. & Zach, P. 2019. Universality of indeterminate growth in lizards rejected: the micro-CT reveals contrasting timing of growth cartilage persistence in iguanas, agamas, and chameleons. *Scientific Reports*, **9(1)**: 1-14.
- Funk, A., Vrabec, V., Velechovský, M., Sejkora, R., Polák, B. 2004: Herpetologická pozorování v Maroku. *Herpetologické informace*, **2004(1)**: 18-21.
- Gardner, A. S. 2013. *The Amphibians and Reptiles of Oman and the UAE*. Ed. Chimaira. Frankfurt am Main.
- Gasc, J.-P., Cabela, A., Crnobrnja-Isailović, J., Dolmen, D., Grossenbacher, K., Haffner, P., Lescure, J., Martens, H., Martinez Rica, J. P., Maurin, H., Oliveira, M. A., Sofianidou, T. S., Veith, M. & Zuiderwijk, A. 1997. *Atlas of amphibians and reptiles in Europe* [Collection Patrimoines Naturels 29], Bonn & Paris, Societas Europaea Herpetologica & Museum National d'Histoire Naturelle & Service du Patrimoine Naturel.
- Gaston, K. J. & David, R. 1994. Hotspots across Europe. *Biodiversity Letters*, **2**: 108–116.
- Geiger, M., Forasiepi, A. M., Koyabu, D., Sanchez-Villagra, M. R. 2014. Heterochrony and post-natal growth in mammals—an examination of growth plates in limbs. *J Evol Biol*, **27**: 98–115.
- Gerber, P. J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., Falcucci, A. & Tempio, G. 2013. Tackling climate change through livestock: a global assessment of

- emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.
- Gibbons, J. W., Scott, D. E., Ryan, T. J., Buhlmann, K. A., Tuberville, T. D., Metts, B. S., Greene, J. L., Mills, T., Leiden, Y., Poppy, S. & Winne, C. T. 2000. The Global Decline of Reptiles, Déjà Vu Amphibians: Reptile species are declining on a global scale. Six significant threats to reptile populations are habitat loss and degradation, introduced invasive species, environmental pollution, disease, unsustainable use, and global climate change. *BioScience*, **50(8)**: 653-666.
- Giery, S. T. & Ostfeld, R. S. 2007. The role of lizards in the ecology of Lyme disease in two endemic zones of the northeastern United States. *Journal of Parasitology*, **93(3)**: 511-517.
- Gilman, S. E., Urban, M. C., Tewksbury, J., Gilchrist, G. W. & Holt, R. D. 2010. A framework for community interactions under climate change. *Trends in Ecology & Evolution*, **25**: 325–331.
- Ginsberg, H. S., Hickling, G. J., Burke, R. L., Ogden, N. H., Beati, L., LeBrun, R. A., Arsnoe, I. M., Gerhold, R., Han, S., Jackson, K., Maestas, L., Moody, T., Pang, G., Ross, B., Rulison, E. L. & Tsao, J. I. 2021. Why Lyme disease is common in the northern US, but rare in the south: The roles of host choice, host-seeking behavior, and tick density. *PLoS biology*, **19(1)**: e3001066.
- GISD. 2022 Global Invasive Species Database. Dostupné na: [http://www.iucngisd.org/gisd/100\\_worst.php](http://www.iucngisd.org/gisd/100_worst.php). Citováno dne [23. 2. 2022].
- Haines, R. W. 1942. The evolution of epiphysis and of endochondral bone. *Biol Rev*, **17**: 267–292.
- Haines, R. W. 1969. Epiphysis and sesamoids. In: Gans, C. (ed.). *Biology of the Reptilia, Morphology A*, vol 1. Academic Press, London, pp 81–115.
- Harper, G. J., Steininger, M. K., Tucker, C. J., Juhn, D. & Hawkins, F. 2007. Fifty years of deforestation and forest fragmentation in Madagascar. *Environmental conservation*, **34(4)**: 325-333.
- Hayes, W. K., Iverson, J. B., Knapp, C. R. & Carter, R. L. 2012. Do invasive rodents impact endangered insular iguana populations? *Biodiversity and Conservation*, **21**: 1893-1899.
- Herrmann, H.-W., Herrmann, P. A. & Geniez, P. H. 2000. Zur Verbreitung von *Echis leucogaster* Roman, 1972 in Marokko. *Salamandra*, **36**: 203–207.



- Hewitt, G. M. 2011. Mediterranean peninsulas: The evolution of hotspots. In: Biodiversity hotspots, p. 123–147. Zachos, F.E. , Habel, J.C., Ed., Berlin Heidelberg, Springer Publishers.
- Holer, T., & Koleska, D. 2018. A case of unilateral anophthalmia in an adult *Pelophylax kl. esculentus* (Linnaeus, 1758). *Herpetozoa*, **31(1/2)**: 103-104.
- Hoppe, D. M. 2000 History of Minnesota frog abnormalities: do recent findings represent a new phenomenon? *Journal of the Iowa Academy of Science*, **107**: 86–89.
- Houlahan, J., Findlay, C. S., Schmidt, B. R., Meyer, A. H. & Kuzmin, S. L. 2000. Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, **404(6779)**: 752-755.
- Hudson, P. J., Dobson, A. P. & Newborn, D. 1998. Prevention of population cycles by parasite removal. *Science*, **282(5397)**: 2256-2258.
- Huey, R. B., Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Vitt, L. J., Hertz, P. E., Álvarez Pérez, H. J. & Garland Jr, T. 2009. Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **276(1664)**: 1939-1948.
- Hulme, P. E. 2015. Invasion pathways at a crossroad: policy and research challenges for managing alien species introductions. *Journal of Applied Ecology*, **52**:1418–1424.
- Isidoro-Ayza, M., Lorch, J. M., Grear, D. A., Winzeler, M., Calhoun, D. L. & Barichivich, W. J. 2017. Pathogenic lineage of *Perkinsea* associated with mass mortality of frogs across the United States. *Scientific Reports*, **7(1)**: 1-10.
- IUCN. 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-3. Dostupné na: <https://www.iucnredlist.org>. Citováno dne [14. 2. 2022].
- Jablonski, D., Vági, B. & Kardos, G. 2015. *Abbreviata abbreviata* (Rudolphi, 1819) as a new nematode parasite for *Malpolon insignitus* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1827) recorded in Albania. *Ecologica Montenegrina*, **2**: 194-196.
- Jablonski, D., & Koleska, D. 2017. Molecular identification of *Eremias stummeri* (Squamata: Lacertidae) as a prey for *Gloydus halys* complex (Serpentes: Viperidae) from Kyrgyzstan. *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, **16(1)**: 121-124.
- Jablonski, D., Koleska, D., Goldberg, S. R., & Bursey, C. R. 2017. Two new records of ascarid parasites observed in snakes (Colubridae) of Albania. *Ecologica Montenegrina*, **11**: 20-22.
- Jarman, P. 1983. Mating system and sexual dimorphism in large terrestrial mammalian herbivores. *Biol Rev*, **58**: 485–520.
- Jirků, M., Baláž, V. 2021. Soumrak obojživelníků. *Živa*, **5**: 259-263.

- Joger, U. & Stümpel, N. 2005. Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas, Band 3/IIB: Schlangen (Serpentes) III: Viperidae. Wiebelsheim. AULA-Verlag. 420 pp.
- Johnson, P. T., Lunde, K. B., Ritchie, E. G. & Launer, A. E. 1999. The effect of trematode infection on amphibian limb development and survivorship. *Science*, **284(5415)**: 802–804.
- Johnson, P. T., Lunde, K. B., Thurman, E. M., Ritchie, E. G., Wray, S. N., Sutherland, D. R., Kapfer, J. M., Frest, T. J., Bowerman, J. & Blaustein, A. R. 2002. Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the western United States. *Ecological Monographs*, **72(2)**: 151-168.
- Johnson, P. T., Lunde, K. B., Zelmer, D. A. & Werner, J. K. 2003. Limb deformities as an emerging parasitic disease in amphibians: evidence from museum specimens and resurvey data. *Conservation Biology*, **17(6)**: 1724-1737.
- Johnson, P. T. & Lunde, K. B. 2005. Parasite infection and limb malformations: a growing problem in amphibian conservation. *Amphibian declines: the conservation status of United States species*. University of California Press, Berkeley, 124-138.
- Julian, A. 2021. A new report of leech predation on amphibians. <https://www.arguk.org/get-involved/news/a-new-report-of-leech-predation-on-amphibians>. Citováno dne [24. 2. 2022].
- Kabay, E. 2013. Timber Rattlesnakes may reduce incidence of Lyme disease in the Northeastern United States. Dostupné na: <https://eco.confex.com/eco/2013/webprogram/Paper44305.html>. Citováno dne [24. 2. 2022].
- Kane, D., Goodwin, S., Verspui, G. J., Tump, A. & del Mármol Marín, G. M. 2019. Reptile diversity of southern Morocco: range extensions and the role of the Djebel Ouarkiz as a biogeographical barrier. *Herpetology Notes*, **12**: 787-793.
- Kiesecker, J. M. 2002. Synergism between trematode infection and pesticide exposure: a link to amphibian limb deformities in nature? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99(15)**: 9900–9904.
- Koleska, D., & Jablonski, D. 2015. Tail trifurcation recorded in *Algyroides nigropunctatus* (Duméril & Bibron, 1839). *Ecologica Montenegrina*, **3**: 26-28.
- Koleska, D., & Jablonski, D. 2016. Two cases of unclear hindlimb malformation in *Bombina variegata*. *Ecologica Montenegrina*, **9**: 56-58.

- Koleska, D., Svobodová, V., & Husák, T. 2016. Larva of the tick *Ixodes ricinus* found attached in the oral cavity of a green lizard (*Lacerta viridis*). *Herpetological Bulletin*, **138**: 34-35.
- Koleska, D., Kulma, M., & Vrabec, V. 2017a. *Teira dugesii* (Madeiran Wall Lizard) Tail bifurcation. *Herpetological Review*, **48(2)**: 440-441.
- Koleska, D., Svobodova, V., Husák, T., Kulma, M., & Jablonski, D. 2017b. Tail bifurcation recorded in *Sauromalus ater*. *Herpetology Notes*, **10**: 363-364.
- Koleska, D. 2018. First record of tail bifurcation in *Asaccus gallagheri* from the United Arabian Emirates. *Herpetology Notes*, **11**: 115-116.
- Koleska, D., & Jablonski, D. 2018. A four-tailed *Iguana delicatissima* (Squamata: Iguanidae) on Petite Terre, Guadeloupe (Lesser Antilles, Caribbean region). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, **17(1)**: 157-159.
- Koleska, D. & Holer, T. 2018. Hind limb malformation of juvenile Edible frog (*Pelophylax kl. esculentus*) from south Czech Republic. Pages 32-36. In Š. Kubík and M. Barták (eds): 10th Workshop on Biodiversity. Česká zemědělská univerzita v Praze, Jevany.
- Koleska, D., Karhánek, J., Martínez del Marmol Marin, G., & Sassoè-Pognetto, M. 2018. New records of *Echis leucogaster* in Morocco. *Herpetology Notes*, **11**: 655-657.
- Komárek, J. 1941. Neznámá Makedonie. Nakladatelství Pražské Akciové Tiskárny. Praha. 304 pp.
- Kozłowski, J. 1996. Optimal allocation of resources explains interspecific life-history patterns in animals with indeterminate growth. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **263(1370)**: 559-566.
- Kropachev, I. I., N. L. Orlov, and V. F. Orlova. 2016. *Gloydus ussuriensis* (Emelianov, 1929) (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). A new snake species for the herpetofauna of Mongolia. *Russian Journal of Herpetology* **23**: 108–114.
- Langrand, O. & Wilme, L. 1997. Effects of forest fragmentation on extinction patterns of the endemic avifauna on the central high plateau of Madagascar. In: Goodman, S. M. & Patterson, B. D. (eds.) *Natural Change and Human Impact in Madagascar*. pp. 280-305. Smithsonian Institution Press, Washington DC.
- Lannoo, M. 2008. *The collapse of aquatic ecosystems: malformed frogs*. University of California Press, Berkeley, 288 pp.
- Laurance, W. F., McDonald, K. R. & Speare, R. 1996. Epidemic disease and the catastrophic decline of Australian rain forest frogs. *Conservation Biology*. **10(2)**: 406-413.

- Lesnyak, A. P. 1964. Ecology and maintenance in captivity of Halys pit viper *Ancistrodon halys* (Pallas, 1776). Unpublished Ph.D. Dissertation. Tashkent, USSR.
- Levine, J. M. 2008. Biological invasions. *Current biology*, **18**: R57-60.
- Lincoln, R. J., Boxhall, G. A. & Clark, P. F. 1982. A dictionary of ecology, evolution and systematics. Cambridge University Press.
- Lindeque, M. & Jaarsveld, A. V. 1993. Post-natal growth of elephants *Loxodonta africana* in Etosha National Park, Namibia. *Journal of Zoology*, **229(2)**: 319-330.
- Lips, K. R. 1998. Decline of a tropical montane amphibian fauna. *Conservation Biology*. **12(1)**: 106-117.
- Longcore, J. E., Pessier, A. P. & Nichols, D. K. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*. **91(2)**: 219-227.
- Lorch, J. M., Lankton, J., Werner, K., Falendysz, E. A., McCurley, K., & Blehert, D. S. 2015. Experimental infection of snakes with *Ophidiomyces ophiodiicola* causes pathological changes that typify snake fungal disease. *MBio*, **6(6)**: e01534-15.
- Lötters, S., Wagner, N., Albaladejo, G., Böning, P., Dalbeck, L., Düssel, H., Feldmeier, S., Guschal, M., Kirst, K., Ohlhoff, D., Preissler, K., Reinhardt, T., Schlüpmann, M., Schulte, U., Schulz, V., Steinfartz, S., Twietmeyer, S., Veith, M., Vences, M., Wegge, J. 2020. The amphibian pathogen *Batrachochytrium salamandrivorans* in the hotspot of its European invasive range: past – present – future. *Salamandra*, **56**: 173–188.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S. & De Poorter, M. 2000. 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database (Vol. 12). Auckland: Invasive Species Specialist Group.
- Lynn, W. G. (1950) A case of duplication of the tail in *Plethodon*. *Herpetologica*, **6**: 81–84.
- Mačát, Z., Mizsei, E., Jablonski, D. 2015. *Triturus macedonicus* (Macedonian Crested Newt). Tail autotomy. *Herpetological Review*, **46(1)**: 71-72.
- Mané, Y. & Trape, J. F. 2019. Le régime alimentaire des vipères du Sénégal. *Bull. Soc. Herp. France*, **170**: 49-83.
- Marino, R., Hegde, A., Barnes, K. M., Schrier, L., Emons, J. A., Nilsson, O. & Baron, J. 2008. Catch-up growth after hypothyroidism is caused by delayed growth plate senescence. *Endocrinology*, **149(4)**: 1820-1828.
- Marjit, B. 2016. General anatomy, genetics, histology and embryology. Academic publishers.
- Martel, A., Spitzen-van der Sluijs, A., Blooi, M., Bert, W., Ducatelle, R., Fisher, M. C., Woeltjes, A., Bosman, W., Chiers, K., Bossuyt, F. & Pasmans, F. 2013.



- Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **110(38)**: 15325-15329.
- Martínez, G., León, R., Jiménez-Robles, O., González De la Vega, J.P., Gabari, V., Rebollo, B., Sánchez-Tójar, A., Fernández-Cardenete, J.R., Gállego, J. (Eds.). *Moroccoherps. Amphibians and Reptiles of Morocco*. Dostupné na: [www.moroccoherps.com](http://www.moroccoherps.com). Citováno dne [26. 2. 2022].
- Mata-Silva, V., Rocha, A., Gandara, A. & Johnson, J. D. 2010. *Cophosaurus texanus* (Greater Earless Lizard). Multiple tails. *Herpetological Review*, **41**: 352-353.
- Mata-Silva, V., Rocha, A., Johnson, J. D. & Wilson, L. D. 2013. *Urosaurus bicarinatus* (Tropical Tree Lizard). Bifurcation. *Herpetological Review*, **44**: 686-687.
- McCaffery, R., Richards-Zawacki, C. L. & Lips, K. R. 2015. The demography of *Atelopus* decline: Harlequin frog survival and abundance in central Panama prior to and during a disease outbreak. *Global Ecology and Conservation*, **4**: 232-242.
- Medina, F. M., Bonnaud, E., Vidal, E., Tershy, B. R., Zavaleta, E. S., Josh Donlan, C., Keitt, B. S., Corre, M., Horwath, S. W., & Nogales, M. 2011. A global review of the impacts of invasive cats on island endangered vertebrates. *Global Change Biology*, **17(11)**: 3503-3510.
- Meek, R. 2009. Patterns of reptile road-kills in the Vendée region of western France. *The Herpetological Journal*, **19(3)**: 135-142.
- Meteyer, C. U., Loeffler, I. K., Fallon, J. F., Converse, K. A., Green, E., Helgen, J. C., Kersten, S., Levey, R., Eaton-Poole, L. & Burkhart, J. G. 2000. Hind limb malformations in free-living northern leopard frogs (*Rana pipiens*) from Maine, Minnesota, and Vermont suggest multiple etiologies. *Teratology*, **62(3)**: 151–171.
- Mizsei, E., Jablonski, D., Végvári, Z., Lengyel, S. & Szabolcs, M. 2017. Distribution and diversity of reptiles in Albania: a novel database from a Mediterranean hotspot. *Amphibia-Reptilia*, **38**: 157–173.
- Mônico, A. T., Silva-Soares, T. & Clemente-Carvalho, R. B. G. 2016. *Pipa carvalhoi* (Carvalho's Surinam Toad; Sapo d'água). Hindlimb malformation. *Herpetological Review*, **47(1)**: 115.
- Moravec (ed.) 2015. *Fauna ČR. Plazi*. Academia.
- Morehouse, E. A., James, T. Y., Ganley, A. R., Vilgalys, R., Berger, L., Murphy, P. J. & Longcore, J. E. 2003. Multilocus sequence typing suggests the chytrid pathogen of amphibians is a recently emerged clone. *Molecular Ecology*, **12(2)**: 395-403.

- Murphy, J. C. 1980. Green, blue, and yellow frogs. *Bulletin of the Chicago Herpetological Society* **15**: 103-106.
- Nellemann, C., Henriksen, R., Kreilhuber, A., Stewart, D., Kotsovou, M., Raxter, P., Mrema, E. & Barrat, S. 2016. The Rise of Environmental Crime – A Growing Threat To Natural Resources Peace, Development And Security. A UNEP-INTERPOL Rapid Response Assessment. United Nations Environment Programme and RHIPTO Rapid Response–Norwegian Center for Global Analyses. <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/7662>.
- Nelson, W. A., Keirans, J. E., Bell, J. F. & Clifford, C. M. 1975. Host-ectoparasite relationships. *Journal of Medical Entomology*, **12**: 143-166.
- Okuda, D., Nozaki, C., Sekiya, F. & Morita, T. 2001. Comparative biochemistry of disintegrins isolated from snake venom: consideration of the taxonomy and geographical distribution of snakes in the genus *Echis*. *The Journal of Biochemistry*, **129(4)**: 615-620.
- Omeyer, L. C., Fuller, W. J., Godley, B. J., Snape, R. T. & Broderick, A. C. 2018. Determinate or indeterminate growth? Revisiting the growth strategy of sea turtles. *Marine Ecology Progress Series*, **596**: 199-211.
- Orlov, N. L., Sundukov, Y. N., & Kropachev, I. I. 2014. Distribution of pitvipers of "*Gloydius blomhoffii*" complex in Russia with the first records of *Gloydius blomhoffii blomhoffii* at Kunashir Island (Kuril Archipelago, Russian Far East). *Russian Journal of Herpetology*, **21**: 16-178..
- Ouellet, M., Bonin, J., Rodrigue, J., DesGranges, J. L., & Lair, S. 1997. Hindlimb deformities (ectromelia, ectrodactyly) in free-living anurans from agricultural habitats. *Journal of wildlife diseases*, **33(1)**: 95-104.
- Ouellet, M. 2000. Amphibian deformities: current state of knowledge, pp. 617-661. In: Sparling, D. W., Linder, G. & Bishop, C. A. (Eds.): *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. Pensacola (Setac Press).
- Pechmann, J. H., Scott, D. E., Semlitsch, R. D., Caldwell, J. P., Vitt, L. J. & Gibbons, J. W. 1991. Declining amphibian populations: the problem of separating human impacts from natural fluctuations. *Science*, **253(5022)**: 892-895.
- Pechmann, J. H. & Wilbur, H. M. 1994. Putting declining amphibian populations in perspective: natural fluctuations and human impacts. *Herpetologica*. **50(1)**: 65-84.

- Pérez-Buitrago, N., Sabat, A. M., McMillan, W. O. 2010. Spatial Ecology of the Endangered Mona Island Iguana *Cyclura cornuta stejnegeri*: Does Territorial Behavior Regulate Density?. *Herpetological Monographs*, **24**: 86-110.
- Pešat J., 2008. Želvy ohrožují hnízdění vodního ptactva. *Živa*, **5**: 229–230
- Pook, C. E., Joger, U., Stümpel, N. & Wüster, W. 2009. When continents collide: phylogeny, historical biogeography and systematics of the medically important viper genus *Echis* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **53(3)**: 792-807.
- Pounds, J. A., Fogden, M. P., Savage, J. M. & Gorman, G. C. 1997. Tests of null models for amphibian declines on a tropical mountain. *Conservation biology*, **11(6)**: 1307-1322.
- Pounds, J. A., Bustamante, M. R., Coloma, L. A., Consuegra, J. A., Fogden, M. P., Foster, P. N., La Marca, E., Masters, K. L., Merino-Viteri, A., Puschendorf, R., Ron, S. R., Sánchez-Azoleifa, G. A., Still, C. J. & Young, B. E. 2006. Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, **439(7073)**: 161-167.
- Price, S. J., Garner, T. W., Nichols, R. A., Balloux, F., Ayres, C., de Alba, A. M. C. & Bosch, J. 2014. Collapse of amphibian communities due to an introduced *Ranavirus*. *Current Biology*, **24(21)**: 2586-2591.
- Puky, M. 2006. Amphibian deformity frequency and monitoring methodology in Hungary. *FrogLog*, **74**: 3-4.
- 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)**: 1-54.
- Rakhimzhanova, A. K., & Khromov, V. A. 1998. Morphological study of the green frog (*Rana ridibunda* Pallas, 1771) from eastern Khazakstan province. *Asian Herpetol. Meet. Almaty Abstracts*, **3**: 31.
- Rataj, A. V., Lindtner-Knific, R., Vlahović, K., Mavri, U. & Dovč, A. 2011. Parasites in pet reptiles. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **53(1)**: 1-21.
- Reiss, M. J. 1989. *The Allometry of Growth and Reproduction*. Cambridge University Press.
- Reptile Database. 2022. Dostupné na: <https://reptile-database.reptarium.cz/>. Citováno dne [26. 2. 2022].
- Roček, Z., 1996. Jak ještěrka přichází o ocásek? Jak to, že se ocásek ulomí, jen když se to ještěrce „hodí“?. *Vesmír*, **75(11)**: 643.

- Rodda, G. H. & Fritts, T. H. 1992. The impact of the introduction of the colubrid snake *Boiga irregularis* on Guam's lizards. *Journal of herpetology*, **26(2)**: 166-174.
- Sessions, S. K. 2003. What is causing deformed amphibians? 168–186. In: *Amphibian Conservation*. R. D. Semlitsch (ed.). Smithsonian Institution, Washington, D.C. 324 pp.
- Scheele, B. C., Pasmans, F., Skerratt, L. F., Berger, L., Martel, A., Beukema, W., Acevedo, A. A., Burrowes, P. A., Carvalho, T., Catenazzi, A., De la Riva, I., Fisher, M. C., Flechas, S. V., Foster, C. N., Frías-Álvarez, P., Garner, T. W. J., Gratwicke, B., Guayasamin, J. M., Hirschfeld, M., Kolby, J. E., Kosch, T. A., La Marca, E., Lindenmayer, D. B., Lips, K. R., Longo, A. V., Maneyro, R., McDonald, C. A., Mendelson, III J., Palacios-Rodriguez, P., Parra-Olea, G., Richards-Zawacki, C. L., Rödel, M., Rovito, S. M., Soto-Azat, C., Felipe Toledo, L., Voyles, J., Weldon, C., Whitfield, S. M., Wilkinson, M., Zamudio, K. R. & Canessa, S. 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science*, **363**: 1459–1463.
- Schleich, H. H., Kastle, W. & Kabisch, K. 1996. *Amphibians and reptiles of North Africa*. Koenigstein, Koelts Scientific Publishers.
- Shi, J., Yang, D., Zhang, W., Peng, L., Orlov, N. L., Jiang, F., Li, D., Mian, H., Xinlei, H., Song, H. & Li, P. 2018. A new species of the *Gloydus strauchi* complex (Crotalinae: Viperidae: Serpentes) from Qinghai, Sichuan, and Gansu, China. *Russian Journal of Herpetology*, **25(2)**: 126-138.
- Shi, J. S., Liu, J. C., Giri, R., Owens, J. B., Santra, V., Kuttalam, S., Selvan, M., Guo, K. J. & Malhotra, A. 2021. Molecular phylogenetic analysis of the genus *Gloydus* (Squamata, Viperidae, Crotalinae), with description of two new alpine species from Qinghai-Tibet Plateau, China. *ZooKeys*, **1061**: 87-108.
- Shine, R. 1991. *Australian snakes: a natural history*. Reed, Sydney. New South Wales, Australia.
- Sillero, N., Campos, J., Bonardi, A., Corti, C., Creemers, R., Crochet, P.-A., Isailović, J. C., Denoël, M., Ficetola, G. F., Gonçalves, J., Kuzmin, S., Lymberakis, P., De Pous, P., Rodríguez, A., Sindaco, R., Speybroeck, J., Toxopeus, B., Vieites, D. R. & Vences, M. 2014. Updated distribution and biogeography of amphibians and reptiles of Europe. *Amphibia-Reptilia*, **35**: 1–31.
- Sousa, C. J. & Costa-Campos, C. E. 2016. *Leptodactylus podicipinus* (Pointedbelly Frog). Malformations. *Herpetological Review*, **47(1)**: 112-113.



- Spawls, S., Branch, B. 1995. The dangerous snakes of Africa. London, Blandford.
- Spellerberg, I. F. 2002. Ecological Effects of Roads. Enfield, New Hampshire: Science Publishers.
- Speybroeck, J., Beukema, W. & Crochet, P.-A. 2010. A tentative species list of the European herpetofauna (Amphibia and Reptilia) – an update. *Zootaxa*, **2492**: 1–27.
- Speybroeck, J., Beukema, W., Dufresnes, C., Fritz, U., Jablonski, D., Lymberakis, P., Martínez-Solano, I., Razzetti, E., Vamberger, M., Vences, M., Voros, J. & Crochet, P. A. 2020. Species list of the European herpetofauna–2020 update by the Taxonomic Committee of the Societas Europaea Herpetologica. *Amphibia-Reptilia*, **41(2)**: 139-189.
- Spicer, R. A. 2017. Tibet, the Himalaya, Asian monsoons and biodiversity – In what ways are they related?. *Plant Diversity*, **39(5)**: 233-244.
- Spitzen-van der Sluijs, A., Martel, A., Asselberghs, J., Bales, E. K., Beukema, W., Bletz, M. C., Dlabek, L., Goverse, E., Kerres, A., Kinet, T., Kirst, K., Laudelout, A., Marin da Fonte, L. F., Nollert, A., Ohlhoff, D., Sabino-Pinto, J., Schmidt, B. R., Speybroeck, J., Spikmans, F., Steinfartz, S., Veith, M., Vences, M., Wagner, N., Pasmans, F. & Lötters, S. 2016. Expanding distribution of lethal amphibian fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe. *Emerging infectious diseases*, **22(7)**: 1286.
- Stamps, J. A., Mangel, M. & Phillips, J. A. 1998. A new look at relationships between size at maturity and asymptotic size. *The American Naturalist*, **152(3)**: 470-479.
- Staňková, H., Janovcová, M., Peléšková, Š., Sedláčková, K., Landová, E. & Frynta, D. 2021. The ultimate list of the most frightening and disgusting animals: negative emotions elicited by animals in Central European respondents. *Animals*, **11(3)**: 747
- Stead, J. E. & Pope, K. L. 2010. Predatory leeches (Hirudinida) may contribute to amphibian declines in the Lassen, California. *Northwestern Naturalist*, **91**:30-39.
- Sterijovski, B., Tomović, L. & Ajtić, R. 2014. Contribution to the knowledge of the reptile fauna and diversity in FYR of Macedonia. *North-Western Journal of Zoology* **10**: 83–92.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S., Fischman, D. L. & Waller, R. W. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, **306(5702)**: 1783-1786.
- Šandera, M. 2022. Mapa rozšíření *Trachemys scripta* v České republice. In: Zicha O. (ed.) Biological Library – BioLib. Dostupné na: <https://www.biolib.cz/cz/taxonmap/id84/>. Citováno dne [21. 2. 2022].

- Telford, S. R., Jr. 2009. Hemoparasites of the Reptilia: Color Atlas and Text. CRC Press, 376 pp.
- Thomas, C. D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., Erasmus, B. F. N., Ferreira de Siqueira, M., Grainger, A., Hannah, L., Hughes, L., Huntley, B., van Jaarsveld, A. S., Midgley, G. F., Miles, L., Ortega-Huerta, M. A., Peterson, A. T., Phillips, O. L. & Williams, S. E. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature*, **427(6970)**: 145-148.
- Tyler, M. J. & Davies, M. 1985. "The Gastric Brooding Frog." *Biology of Australasian Frogs and Reptiles*. G. Grigg, R. Shine, and H. Ehmann, eds., Royal Zoological Society of New South Wales, Sydney, 469-470.
- Uhrin, M., Havaš, P., Minařík, M., Kodejš, K., Bugoš, I., Danko, S., Husák, T., Koleska D. & Jablonski, D. 2016. Distribution updates to amphibian and reptilian fauna for the Republic of Macedonia. *Herpetology Notes*, **9**: 201-220.
- United Nations. 2019. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Population Prospects: 2019. Highlights. ST/ESA/SER.A/423. Dostupné na: [https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019\\_Highlights.pdf](https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf). Citováno dne [27. 2. 2022].
- Urama, K. C. & Ozor, N. 2010. Impacts of climate change on water resources in Africa: the role of adaptation. *African Technology Policy Studies Network*, **29**: 1-29.
- Volf, J., Modry, D., Koudela, B. & Slapeta, J. R. 1999. Discovery of the life cycle of *Sarcocystis lacertae* Babudieri, 1932 (Apicomplexa: Sarcocystidae), with a species redescription. *Folia Parasitologica*, **46(4)**: 257-262.
- Volf P. & Horák P. 2007. Paraziti a jejich biologie. Triton, Praha/Kroměříž, pp. 318.
- Wagner, P., Tiutenko, A., Mazepa, G., Borkin, L. J. & Simonov, E. 2016. Alai! Alai! A new species of the *Gloydus halys* (Pallas, 1776) complex (Viperidae, Crotalinae), including a brief review of the complex. *Amphibia-Reptilia*, **37**: 15–31.
- Wang, K., Ren, J., Dong, W., Jiang, K., Shi, J., Siler, C. D., & Che, J. 2019. A New Species of Plateau Pit Viper (Reptilia: Serpentes: Gloydus) from the Upper Lancang (= Mekong) Valley in the Hengduan Mountain Region, Tibet, China. *Journal of Herpetology*, **53(3)**: 224-236.
- WMO. 2021. State of the Global Climate 2020. WMO-No. 1264. Geneva. ISBN 978-92-63-11264-4.

- Wozniak, E. J. & DeNardo, D. F. 2000. The biology, clinical significance and control of the common snake mite, *Ophionyssus natricis*, in captive reptiles. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, **10**: 4-10.
- Yakovleva, I. D. 1964. *Presmykayushchiesya Kirgizii (Reptiles of Kirghizia)*. Llim. Frunze. 264 pp.
- Zhang, Z. 2013. Animal biodiversity: An update of classification and diversity in 2013. In: Zhang, Z.-Q. (Ed.) *Animal Biodiversity: An Outline of Higher-level Classification and Survey of Taxonomic Richness (Addenda 2013)*. *Zootaxa*, **3703(1)**: 5–11.
- Zim, H. S. & Smith, H. M. 1956. *Reptiles and amphibians: a guide to familiar American species*. Golden Books.