10.13147/NYME.2017.003

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

AZ ELEVENSZÜLŐ GYÍK (*ZOOTOCA VIVIPARA* LICHTENSTEIN, 1823) FILOGEOGRÁFIAI VIZSGÁLATA A KÁRPÁT-MEDENCÉBEN

ÍRTA

VELEKEI BALÁZS ATTILA

TÉMAVEZETŐK

DR. LAKATOS FERENC

DR. PUKY MIKLÓS

SORSZÁM: 389

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM
ROTH GYULA ERDÉSZETI ÉS VADGAZDÁLKODÁSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLÁJA
E1 ERDEI ÖKOSZISZTÉMÁK ÖKOLÓGIÁJA ÉS DIVERZITÁSA PROGRAM

SOPRON, 2015

10.13147/NYME.2017.003

AZ ELEVENSZÜLŐ GYÍK (*ZOOTOCA VIVIPARA* LICHTENSTEIN, 1823) FILOGEOGRÁFIAI VIZSGÁLATA A KÁRPÁT-MEDENCÉBEN

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében,
a Nyugat-magyarországi Egyetem Roth Gyula Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok Doktori Iskolája, E1 Erdei Ökoszisztémák Ökológiája és Diverzitása programja keretében.

Írta:
Velekei Balázs Attila

Témavezető: Dr. Lakatos Ferenc

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton …..... % -ot ért el,

Sopron, ….....

a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr. …..... ….....) igen /nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr. …..... ….....) igen /nem

(aláírás)

(Esetleg harmadik bíráló (Dr. …..... ….....) igen /nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján….....% - ot ért el

Sopron,

……..

a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése….....

……..

Az EDHT elnöke

10.13147/NYME.2017.003

Tartalomjegyzék

Kivonat 5

Abstract 6

1. Bevezetés 7

2. Irodalmi áttekintés 8

2.1. A pikkelyes hüllők szaporodása 8

2.2. Az elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara* LICHTENSTEIN, 1823) 17

2.2.1. Nevezéktan 17

2.2.2. Általános jellemzők 18

2.2.3. Elterjedés 18

2.2.4. Élőhely 19

2.3. Az elevenszülő gyík filogeográfiajának kutatási háttere 22

2.4. Az elevenszülő gyík eddigi kutatási eredményeinek rövid összefoglalása 36

3. Célkitűzés 43

4. Anyag és módszer 44

4.1. Mintavételezés 44

4.2. DNS kivonás 47

4.3. PCR (Polimeráz Láncreakció) 47

4.4. Szekvenálás 49

4.5. Adatfeldolgozás 49

5. Eredmények 52

5.1. Citokróm *b* 52

5.2. 16s rRNS 60

6. Az eredmények megvitatása 66

6.1. Az elterjedési terület aktualizálása 66

6.2. Forgatókönyvek az új klád reproduktív módjaihoz és kariológiai státuszához 66

10.13147/NYME.2017.003

6.3. A vizsgált gének közötti különbség 69

6.4. Demográfiai és evolúciós forgatókönyvek 69

6.5. A mai állapot 73

7. Összefoglalás, tézisek 76

8. Köszönetnyilvánítás 79

9. Felhasznált irodalom 80

10.13147/NYME.2017.003

Kivonat

Az elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara* LICHTENSTEIN, 1823) a legnagyobb elterjedési területű gyíkfaj. Európai filogeográfiáját hét haplocsoport jelenléte jellemzi. Korábban több publikáció is született a faj elevenszülő és tojásrakó kládjainak genetikai vizsgálatáról, a kutatások kimutatták négy haplocsoport kárpát-medencei jelenlétét is.

A szerző vizsgálata 18 populáció 161 egyedét érintette a Kárpát-medencében. A minták Magyarországon belül a Hanságból, a Duna-Tisza közéről és az ország északkeleti részéből, valamint Erdély közép- és magashegységi régióiból származtak. A mintavételezés során új populációk feltérképezésével sikerült bővíteni a faj elterjedésével kapcsolatos ismereteket.

A vizsgálatba két mitokondriális génszakasz került: egy 429 bázispár hosszúságú fragment, mely a fehérjekódoló *citokróm b* gén 406 bázispár hosszúságú szakaszát tartalmazza, amit egy ehhez kapcsolódó Glu-tRNA 23 bázispár hosszúságú szakasz egészít ki, valamint a nem fehérjekódoló 16s rRNS gén egy körülbelül (haplotípustól függően) 480 bázispár hosszúságú szakasza. Megállapítást nyert, hogy a faj „F” kládjának két fő elterjedési területe között nem létezik összeköttetés. Az „E” klád balkáni és nyugat-európai populációi között feltételezett folyosó meglétét szintén cáfolta a szerző. Korábbi kutatások által feltételezett új klád azonosítása a Déli-Kárpátokban lévő Fogarasi-Havasokban és Bucsecsben történt meg. A filogeográfiai elemzések mindegyike mindkét vizsgált génszakaszon magas „posterior” valószínűségi és „bootstrap” értékek mellett támogatta az új klád meglétét. A vizsgálatok szerint az újonnan felfedezett klád a korábban azonosított „A” kláddal kb. 1,7 millió éves közös és kb. 3,4 millió éves különálló fejlődésre tekint vissza.

10.13147/NYME.2017.003

Abstract

Phylogeographical study of the Common Lizard, *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) in the Carpathian Basin

The Common Lizard, *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823), has the largest distribution of all known lizard species. In the European continent the intraspecific phylogeographical pattern of *Zootoca vivipara* is characterized by seven haplogroups. Several previous studies were published about the phylogenetic relationships of viviparous and oviparous haplogroups of the species, according to them in the Carpathian Basin there are four haplogroups present.

Samples were collected from 161 individuals in eighteen locations in the Carpathian Basin, during the collection period some new populations were found at different locations.

Two target genes were selected for the phylogenetic analysis: a 429 bp segment of mtDNA, that contains 406 bp from protein-coding cytochrome *b* and 23 bp from the adjacent Glu-tRNA genes, as well as about 500 bp (depending on the haplotype) of the non-protein-coding 16S rRNA gene.

According to the results, there is no evidence to the existence of the connection between the two main distribution areas of clade „F". A north-south corridor of clade „E" across eastern Hungary and western Romania has recently been suggested, but the distribution area was found discontinuous between Western Europe and the Balkan. The populations studied in the Făgăraş Mountains and Bucegi Mountains were characterised as a new, previously undescribed presumably ancient haplogroup.

10.13147/NYME.2017.003

1. Bevezetés

Az állatvilágban megjelenő szaporodási formák többnyire olyan látványosak és gyakran olyan közvetlenül érintették az emberiséget, hogy sok esetben már a tudomány hajnalától kezdve kutatták ezt a témakört. Míg a gerinctelen csoportoknál sem minden esetben elhanyagolható az emberiségre kifejtett közvetlen hatás (például a növényvédelem esetében a rovarkártevők gradációján keresztül), addig a gerinces osztályok kutatása önmagunk evolúcióban betöltött helyének kutatása is egyben.

A magzatburkos gerinces (*Amniota*) kládok többsége kizárólag vagy tojásrakó (ovipar, ilyenek a teknősök, krokodilok, madarak, tojásrakó emlősök) vagy elevenszülő (vivipar, ilyenek az erszényes és a méhlepényes emlősök).

A pikkelyes hüllők (*Squamata* – gyíkok, kígyók és ásógyíkfélék) ezzel szemben a szaporodási formák egy komplex rendszerét mutatják be a tojásrakástól a „hagyományos" értelemben vett álelevenszülésen át az elevenszülésig számos átmeneti alakkal tarkítva, melyek nem csupán egy családon vagy nemzetségen belül, hanem akár egy faj különböző populációiban is megfigyelhetőek (Blackburn 2006, Tinkle és Gibbons 1977, Shine 1983, 1985). Ezek a fajok és populációik egyedülálló lehetőséget biztosítanak az elevenszülés kialakulásának és így evolúciós léptékű kérdések tanulmányozására (Arrayago et al. 1996, Guillaume et al. 1997).

Az elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara* LICHTENSTEIN, 1823) intenzív kutatásának hátterében szaporodásmódja áll. A faj a jelenlegi ismeretek szerint egyike annak a mindössze három gyíkfajnak, melyeken belül tojásrakó és elevenszülő populációk is megkülönböztethetők (Arrayago et al. 1996, Heulin et al. 1993, Guillaume et al. 1997, Qualls et al. 1995, Qualls és Shine 1998, Smith és Shine 1997, Smith et al. 2001, Surget-Groba et al. 2001, 2006).

A faj esetében végzet korábbi kutatások arra engednek következtetni, hogy Közép-Európa a faj szempontjából nézve genetikailag rendkívül diverz (Surget-Groba et al. 2001, 2006). Ennek ellenére ezen kutatások többsége csak kevés figyelmet fordított erre a területre, aminek következtében több jelentős kérdés is nyitva maradt, valamint a faj filogeográfiai kutatásaira alapozott elterjedési térképe is több tekintetben pontatlan maradt.

10.13147/NYME.2017.003

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A pikkelyes hüllők szaporodása

A magzatburkos (*Amniota*) gerinces fajok szaporodási formáinak leírására tradícionálisan három kifejezést használnak: tojásrakó (ovipar), álelevenszülő (ovovivipar) és elevenszülő (vivipar).

A tojásrakást a legtöbb szerző röviden úgy jellemzi, hogy az embriófejlődés korai szakaszában a nőstény tojásokat rak le, melyeknek ezután a nőstény állat szaporítószerveitől független fejlődési fázisra is szüksége van (Guillette 1993). Ezt azért célszerű kihangsúlyozni, mert egyes szerzők a tojásrakó (ovipar) szaporodási formát kizárólag a külső megtermékenyítésű állatok esetében tárgyalják, tehát ezt a megtermékenyítetlen tojás lerakásaként értelmezik (Guillette 1991). Ezzel szemben ezek a szerzők az elevenszülést (viviparizmus) úgy határozzák meg, mint a fiatal állat „világra jöttét" teljesen függetlenül annak fejlődési állapotától, így ebben az értelmezésben egy megtermékenyített tojás (tehát már fejlődő embrió) lerakása (a legtöbb hüllőfaj és a madarak esetében) is elevenszülésnek számítana (Blackburn 1992, Guillette 1991).

Az álelevenszülés fogalmát több oldalról is megközelíthetjük. Megfogalmazhatjuk egyszerűen úgy is, mint egy tojásrakás és elevenszülés közötti átmeneti állapotot (Guillette 1991), de legáltalánosabban olyan folyamatként jellemezhető, amely során a tojást az anyaállat egészen a fiatal állat kikeléséig a petevezetőben tartja vissza. Emellett gyakran megemlítik, hogy az embriófejlődés során semmilyen tápanyagtranszport nem zajlódik le az anyaállat és az embrió között. Ennek ellenére – és erről sok szerző nem vesz tudomást – víz- és gázcsere viszont történik, ami mindenképpen speciális anatómiai struktúrákat és élettani modifikációt igényel az anyaállat részéről (Blackburn 1992, Guillette 1993). Bár legtöbbször nagyon egyszerű felépítésű, de placenta is jelen van ebben az esetben, ez segíti elő a víz- és gázcserét, egyes esetekben bizonyos ionok transzportját is (Blackburn 1992, Guillette 1993, Thompson és Speake 2006).

Az elevenszülés legegyszerűbben úgy definiálható, hogy az utód az embrionális fejlődés végéig az anyaállat testében marad (Guillette 1993). Az anyaállatnak egy olyan belső környezetet kell „biztosítania" a fejlődő embrió számára, ami lehetővé teszi a fejlődéshez szükséges anyagok átadását – ez gyakorlatilag a placenta evolúciójának mozgatórugója (Blackburn 1992, Guillette 1993, Thompson és Speake 2006).

A pikkelyes hüllők (*Squamata* – gyíkok, kígyók és ásógyíkfélék) ősi állapotát alapvetően tojásrakással jellemzik, ebből az elevenszülés számos alkalommal alakult ki az idők folyamán

10.13147/NYME.2017.003

(Blackburn, 1999). Egyes szkink fajoknál ez olyan extrém jelenségekhez vezetett, mint placentális hipertrófia, gyakorlatilag emlős-szerű embriófejlődés és „vemhesség” (Blackburn és Vitt 2002, Blackburn et al. 1984, Guillette 1993, Thompson és Speake 2006).

Egy tojásrakó hüllő embriófejlődésének teljes időtartama két fontosabb szakaszra bontható. Az első szakaszban a tojás a petevezetőben visszatartva fejlődik, majd ezután következik a tojás lerakását követő periódus (Shine 1983a). Ugyanakkor Shine (1983a) hangsúlyozza, hogy a „tojásrakó” kifejezés valójában különböző helyzetek egész sorát magában foglalja azzal kezdődően, hogy egyes fajok nőstényei rövid idővel az ovulációt követően lerakják tojásaikat egészen addig, amikor az embriófejlődés nagy részében visszatartják azokat. Ez utóbbi állapotot már az elevenszülés határának is nevezhetjük. Shine (1983a) szerint a tojásrakó pikkelyes hüllők többsége e két végpont között félúton foglal helyet, a tojást az embriófejlődés teljes időtartamának körülbelül feléig tartják vissza.

A fentiekből könnyen következik az, hogy az „álelevenszülés”, mint fogalom meglehetősen félrevezető a hüllők esetében, hiszen a tojásrakás sem zárja ki azt az lehetőséget, hogy a tojást egészen sokáig tartsa vissza a nőstény, ugyanakkor ha bármilyen fejlettségű placenta jelen van az embriófejlődés során, azt már az elevenszülés kategóriájába is sorolhatjuk (Blackburn 1992, Guillette 1993). Természetesen érdemes megjegyezni, hogy az eredeti „ovovivipar” kifejezés nem szó szerint jelent „álelevenszülést” magyar nyelven, éppen ezért a nyelvi eltérések is bonyolítják a kifejezés helyes használatát.

Az álelevenszülés fogalmát már Blackburn 1992-ben is „félretette” a hüllők szaporodási módjainak felsorolásában, Guillette (1993) pedig már egyértelműen az elevenszülés fogalma alá helyezte át azt. Blackburn 1994-ben javaslatokat tett új kifejezések használatára, ilyen például az „aplacentális elevenszülés” vagy „lecitotrófikus elevenszülés”, de említi a „pseudoviviparity” kifejezést is, ami könnyebben megfeleltethető a magyar terminológiával. Mindenesetre szerzők túlnyomó többsége már nem használja ezt a kifejezést (vagy ha igen, az elevenszülés fogalmába ágyazva), disszertációmban éppen ezért az „álelevenszülés” fogalmát külön nem megkülönböztetve az „elevenszülés” megnevezés alatt tárgyalom én is.

Az Uetz és Hosek által rendszeresen frissített herpetológiai adatbázis (Uetz és Hosek, 2015) szerint az ismert hüllőfajok száma jelenleg 10038. Az elevenszülés jelensége az összes hüllőfaj csak mintegy 15-20%-ánál figyelhető meg, ugyanakkor kijelenthető, hogy földrajzilag rendkívül elterjedt jelenségről van szó, ami egymástól függetlenül több hüllőcsaládnál is kialakult az evolúció folyamán (Blackburn 1985, Packard et al. 1977, Tinkle és Gibbons 1977). Fontos megemlíteni, hogy az elevenszülés a pikkelyes hüllőkön kívül más hüllő rendben (teknősök – *Testudines*, krokodilok – *Crocodylia* és felemásgyíkok –

Sphenodontia) egyáltalán nem fordul elő, ennek oka teljes mértékben még nem tisztázott, de több elmélet is ismeretes (Packard et al. 1977, Tinkle és Gibbons 1977). A pikkelyes hüllők (*Squamata*) ismert fajszáma jelenleg 61 családban 9671 faj, amiből 5987 a gyík- (*Sauria*), 3496 a kígyó- (*Serpentes*) és 188 az ásógyíkfaj (*Amphisbaenia*) (Uetz és Hosek, 2014). Mivel a hüllőfajok túlnyomó többsége pikkelyes hüllő, ezért az arány nem módosul különösebben: a rend elevenszülő képviselői az összes *Squamata* faj megközelítőleg 20%-át teszik ki (Blackburn 1985, Blackburn és Vitt 2002, Sites et al. 2011).

A *Squamata* renden belül az elevenszülés 115 különböző eredetét mutatták ki (Pyron és Burbrink 2014). Ez a szám különösen akkor tűnik nagynak, ha összevetjük azzal a körülbelül 141-el, amit a gerinceseken belül összesen feltételeznek (Sites et al. 2011). A rendelkezésre álló adatokból az is világosan látszik, hogy az elevenszülés eredete a pikkelyes hüllőknél egészen a krétakorig nyúlik vissza (Wang és Evans 2011).

Az elevenszülés kialakulását a hüllőknél több evolúciós előnnyel is magyarázzák. Ezek közül néhány példát kiemelve (Tinkle és Gibbons 1977 után):

1. A tojások védelmezése több környezeti eredetű mortalitási tényezőtől. Az anyaállat – testében a tojásokkal – könnyedén odébbállhat, elbújhat.
2. A fejlődő embriók számára kedvező hőszabályozás biztosítása. A napozó anyaállat mindig magasabb hőmérsékletű, mint a talaj. A hőmérsékletkülönbség Shine (1983b) szerint átlagosan 7 °C.
3. A nőstény olyan helyen hozhatja világra utódait, ami kedvező számukra.

Fontos kihangsúlyozni, hogy – bár evolúciós értelemben legtöbbször magasabb szinten értelmezik – az elevenszülésnek legalább annyi hátránya lehet a tojásrakással szemben, mint előnye. Érdemes megemlíteni a legfontosabbakat (Tinkle és Gibbons 1977 után):

1. Egy elevenszülő nőstény fekunditása potenciálisan alacsonyabb egy tojásrakóénál. Ez annak köszönhető, hogy hosszú ideig fejlődnek testében az embriók. Ez idő alatt egy tojásrakó nőstény több fészekaljat is lerakhat.
2. Míg a tojásrakók esetében a tojások az anyaállattól függetlenül fejlődnek, addig egy elevenszülő nőstény egyed halála egyben az összes testében fejlődő utód halálát is jelenti.

3. Amíg egy elevenszülő nőstény testében embriók fejlődnek, addig egy tojásrakó nőstény több hímmel is párosodhat, ezáltal a genetikai diverzitás magasabb lehet egy tojásrakó populációban.

A kutatók többsége egyetért abban, hogy az elevenszülés aligha alakulhatott ki egyetlen lépésben a tojásrakásból (Andrews és Mathies 2000, Blackburn 1982, Packard et al. 1977, Shine 1985, Shine és Bull 1979, Tinkle és Gibbons 1977, Shine és Guillette 1988), köztes – átmeneti – formák megléte mindenképpen szükségszerű volt a kettő között (Blackburn 2006, Shine 1983a, Shine és Guillette 1988, Thompson és Speake 2006). Ez gyakorlati szempontból nézve tulajdonképpen azt jelenti, hogy az evolúciós folyamatok előrehaladtával a tojás egyre hosszabb ideig maradt visszatartva, valamint ezzel párhuzamosan a tojáshéj vastagsága is csökkent, hogy a víz- és gázcsere az anya és utód szövetei között leegyszerűsödjön (Andrews és Mathies 2000, Parker et al. 2010, Shine és Guillette 1988). Több olyan hüllőfaj is ismert, amelyeknél jellemzőek ezek az átmeneti formák, mi több, a fajon belül eltérések tapasztalhatóak az egyes populációk között (konkrét fajok esetében lásd: Guillaume et al. 1997, Guillette és Jones 1985, Heulin et al. 1993, Qualls és Shine 1998, Shine és Guillette 1988, Smith et al. 2001, Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006).

Az elevenszülés nagyszámú független eredete miatt régóta élvez viszonylagos érdeklődést a mechanizmus anatómiai és élettani háttere (Shine és Guillette 1988). Disszertációm fő irányvonala nem engedi meg a részletes irodalom-feldolgozást ebben a témában, ennek ellenére azt érdemes megemlíteni, hogy az elmúlt évtizedekben jelentős kutatások zajlottak a pikkelyes hüllők szaporodásának anatómiai struktúráiról és hormonális szabályozásáról (Blackburn 2000, Blackburn et al. 1984, Jones és Guillette 1982, Jones et al. 1983, Parker et al. 2010, Shine és Guillette 1988, Thompson és Speake 2006). Röviden azonban érdemes megemlíteni azt, hogy mivel már egyes kutatások korábban is összefüggést találtak a megemelkedett progeszteronszint és a tojás késleltetett lerakása között (Jones és Guillette 1982), Shine és Guillette 1988-ban új elmélettel álltak elő. Véleményük szerint a mellékvese által termelt progeszteron szintjének emelkedése az emlősökhöz hasonlóan egyfajta válasz a stresszhelyzetekre (Shine és Guillette 1988). Blackburn 2000-ben publikált cikkében megerősíti a progeszteron szerepét, azonban hangsúlyozza, hogy az elevenszülés egymástól függetlenül olyan nagy számban alakult ki az evolúció folyamán a pikkelyes hüllőkön belül, hogy aligha lehet egy sémára építeni az elevenszülés anatómiai és élettani mechanizmusát.

Ennek ellenére a környezeti stressz szerepe az ökológia oldaláról nézve is fontos tényezője lett a téma kutatásának.

Több elmélet is született ugyanis arra vonatkozóan, hogy milyen szelektív nyomások vezettek az elevenszülés kialakulásához a hüllőknél. Egyike ezeknek az az elmélet, amely a legkézenfekvőbb, és emiatt a legelfogadottabb hipotézissé vált: az elevenszülés kialakulása egyfajta adaptáció a hűvösebb klímához (Packard et al. 1977, Shine 1983a, 1983b, 1985, Shine és Bull 1979, Tinkle és Gibbons 1977). Azaz, Tinkle és Gibbons (1977) után kicsit pontosabban fogalmazva, a szelektív tényező ez esetben a hűvösebb klíma alatt megnövekedett inkubációs idő.

A téma kutatása több mint száz éves múltra tekint vissza (Blackburn 2000, Tinkle és Gibbons 1977). Egyes kutatók már a 19. század végén is úgy vélték, hogy a pikkelyes hüllők tanulmányozása az elevenszülés kialakulásának evolúciójába enged bepillantást (Blackburn 2000). A 20. század első felében főként Észak-Amerikában és Ausztráliában végeztek kutatásokat, és több esetben már párhuzamot is vontak a nagyobb földrajzi szélességek, tengerszint feletti magasságok és az elevenszülő fajok nagyobb aránya között (Blackburn 2000, Tinkle és Gibbons 1977).

Az, hogy milyen sokszor idézték ezeket a kutatásokat, jól jelzi, hogy az elmélet milyen széles körben elfogadottá vált a 20. század második felére. Szerzők egész sora kezelte ekkorra nyilvánvaló összefüggéssel a hűvös klíma és az elevenszülés viszonyát (Tinkle és Gibbons 1977).

Ennek ellenére több kutató sem volt teljesen meggyőződve arról, hogy okozati kapcsolat áll fenn a kettő között. A jávai hüllőfaunát tanulmányozva Kopstein már 1938-ban is kijelentette, hogy mivel ugyanolyan ökológiai viszonyok között, sőt ugyanabban a habitatban is több tojásrakó és elevenszülő fajt talált egymás mellett, az elevenszülés oka ismeretlen, a földrajzi és tengerszint feletti magasság nem játszik szerepet benne (Tinkle és Gibbons 1977). Bauchot szerint az elevenszülés földrajzilag annyira elterjedt jelenség, hogy klimatikus viszonyokkal nem magyarázható, Tinkle pedig 1967-ben azt állította, hogy az elevenszülő fajok ugyan előnyhöz juthatnak hűvösebb klímával jellemezhető területeken, de az elevenszülés evolúciójában ennek nem feltétlen volt szerepe (Tinkle és Gibbons 1977).

Shine szerint az eltelt idő miatt nehezen bizonyítható az összefüggés, hiszen az elevenszülő fajok jelenlegi elterjedési területei valószínűleg nem azok, ahol annak idején az elevenszülés kialakulhatott. Más szóval nem feltétlenül a hűvös klíma alatt alakult ki az elevenszülés, de előnyei miatt ilyen területeken terjedt el inkább (Shine 1983b, Shine és Berry 1978.).

Ahhoz, hogy a témában átfogóbb képet kaphassunk, érdemes áttekinteni a legfontosabb kutatások eredményeit.

Az első komolyabb kvantitatív vizsgálatokat Sergeev végezte 1940-ben eurázsiai fajokon. Eredményeiből világosan látszik, hogy az elevenszülő fajok százalékos aránya növekszik észak felé és a nagyobb tengerszint feletti magasságok irányába, sőt a legészakabbi területeken már majdnem minden faj elevenszülő. Az elevenszüléshez vezető szelektív tényezők kérdésében Sergeev világos magyarázattal szolgált: szerinte az alacsonyabb hőmérsékletű élőhelyen talajba rakott tojások alacsonyabb hőmérsékleten fejlődnének (Tinkle és Gibbons 1977). Ennek eredményeképpen pedig a fejlődés elnyújtottá válik, a tojások nagyobb eséllyel esnek áldozatul predációnak és kiszáradásnak, valamint a teljes kifejlődéshez valószínűleg nem állna rendelkezésre elegendő idő a hideg évszak beköszönte előtt (Tinkle és Gibbons 1977). Ezzel szemben egy elevenszülő nőstény aktívan képes szabályozni a testhőmérsékletét azzal, hogy napközben sütkérezik, éjszaka pedig földalatti üregekbe húzódik, és ezzel végső soron az embriófejlődés szempontjából is jóval kedvezőbb viszonyokat teremt (Tinkle és Gibbons 1977). Packard 1966-os munkájában lényegében ugyanerre a következtetésre jutott, de a tojásrakás és elevenszülés evolúciójának köztes állomásairól részletesebb magyarázattal szolgált.

Sergeev térképeket készített, melyeken az eurázsiai fajok elterjedését mutatta be. A térképeken jól látszik, hogy az elevenszülő fajok aránya alacsony a délen található területeken (például 2% körüli a Krím-félszigeten) és északon akár a 100%-ot is elérheti. Ehhez nagyon hasonló mintázatot mutat a kínai elevenszülő fajokat bemutató kutatás is. Sergeev emellett a tengerszint feletti magassággal járó változásokat is jól dokumentálta, és az előzőhöz hasonlóan a legmagasabb területeken is 100%-ig növekedett az elevenszülő fajok aránya (Tinkle és Gibbons 1977).

A témában legátfogóbb kutatást Tinkle és Gibbons 1977-ben végezte el Sergeev munkáját nagymértékben alapul véve. Kutatásaikban elsősorban észak-amerikai és ausztrál fajokat vizsgáltak, a gyík- és kígyófajokat külön-külön és együtt is tárgyalták.

Az észak-amerikai gyíkok esetében az elevenszülő fajok aránya egészen a 45. szélességi fokig 10% alatt marad és gyakorlatilag állandó, a 45.-50. szélességi fokok között ezután hirtelen 22%-ra emelkedik. A kígyóknál az elevenszülő fajok aránya nagyobb, és gyakorlatilag állandó az 50. szélességi fokig. Efölött hirtelen 63%-ra emelkedik, majd az 55. szélességi fokon túl már eléri a 100%-ot (Tinkle és Gibbons 1977). Ugyan ezek az adatok nagyon meggyőzőnek tűnnek, a teljes képhez természetesen az is hozzátartozik, hogy délről észak felé a hüllőfajok teljes száma csökken. Tinkle és Gibbons (1977) szerint az 50.

szélességi fok fölött már mindössze csak 10 *Squamata* faj él. Ez egyben azt jelenti, hogy bár az elevenszülő fajok aránya a legészakabbi területeken emelkedik meg hirtelen (akár 100%-ra), nem a fajszámuk növekszik, hanem a tojásrakó fajok száma csökken, vagy tűnik el teljesen (Tinkle és Gibbons 1977).

Ugyan Sergeev és más kutatók egyaránt a hőmérséklet szerepét hangsúlyozzák az elevenszülés evolúciójában, a földrajzi szélesség nem korrelál tökéletesen a hőmérsékleti tényezőkkel. Ezért Tinkle és Gibbons (1977) izoterma térképeket is felhasznált az elevenszülő fajok földrajzi elterjedésének vizsgálatakor, és gyakorlatilag ugyanazokat az eredményeket kapták, mint a földrajzi szélesség esetében.

A nagyobb léptékű vizsgálatok után Tinkle és Gibbons (1977) sokkal kisebb kiterjedésű, de részleteiben jobban vizsgált területek felé fordult. Az Egyesült Államokból Alabama és Michigan állam herpetofaunáját hasonlították össze. Eredményeik szerint az összes *Squamata* fajt nézve az elevenszülők aránya 39% Alabamában (dél) és 56% Michiganben (észak). Ugyanakkor nem szabad figyelmen kívül hagyni azt a tényt sem, hogy Michigan herpetofaunája jóval szegényebb, és még elevenszülő fajból is csak mintegy fele annyi található, mint Alabamában. Mindkét államról elmondható, hogy az elevenszülő fajok mindegyike kígyó (Tinkle és Gibbons 1977).

Ausztráliára rendkívül gazdag pikkelyes hüllő fauna jellemző (Cogger 2014), de a gyíkok között csak a szkinkeknél találhatóak elevenszülő fajok (Tinkle és Gibbons 1977). A szkinkfajok száma az északi trópusi és a déli mérsékeltövi területeken alacsonyabb, a kettő közötti szélességi körökön a legfajgazdagabb a csoport (Cogger 2014, Tinkle és Gibbons 1977). Az elevenszülő szkinkek aránya a trópusi területektől dél felé haladva egyenletesen növekszik, Tasmániában az összes gyíkfaj 70%-a elevenszülő (Tinkle és Gibbons 1977). Ugyanakkor itt is elmondható, hogy az összes fajszámot nézve hatalmas csökkenés tapasztalható déli irányban haladva, tehát nem az elevenszülő fajok száma növekszik drasztikusan, hanem a tojásrakó fajok száma csökken nagyobb mértékben (Cogger 2014, Tinkle és Gibbons 1977). Az Ausztráliában honos kígyófajok esetében is hasonló jelenséget tapasztalhatunk, az elevenszülő fajok aránya a trópusi északi területekre jellemző 26%-ról nagyjából egyenletesen növekszik dél felé, Tasmániában már eléri a 100%-ot is. Észak-Amerikához hasonlóan a kígyók között minden szélességi körön több elevenszülő faj él (Tinkle és Gibbons 1977).

A trópusi területek herpetofaunája kevésbé ismert, mint a mérsékelt övé. A rendelkezésre álló információk alapján Tinkle és Gibbons (1977) azonban több trópusi terület hüllőfaunáját is megvizsgálta. Eredményeik szerint a Borneóban akkor ismert összes pikkelyes hüllőfaj

10,5%-a elevenszülő volt, Costa Ricában ez az arány 11,9%, Ecuadorban pedig 13,3% volt. Uganda, Kambodzsa és Vietnám esetében csak kígyófajokra vonatkozó adatok álltak rendelkezésre, ez alapján az értékek 11,3, 27,1 és 21,6%-ot tettek ki (Tinkle és Gibbons 1977). Ezen területekről rendelkezésre álló adatok szerint tehát az összes ismert trópusi faj 14,2%-a volt elevenszülő. Ez az arány jóval kisebb, mint az általuk vizsgált mérsékeltövi területeken, ahol a közepes szélességeken a fajok körülbelül egyharmadát, a legészakabbi/legdélebbi területeken pedig túlnyomó többségét (vagy mindegyikét) elevenszülőnek találták (Tinkle és Gibbons 1977).

A földrajzi szélességhez hasonlóan a tengerszint feletti magasság esetében is történtek vizsgálatok. Greer (1968) Kelet-Afrikában gyík- és kígyófajokat vizsgált három tengerszint feletti magasság által elkülöníthető habitat zónában. Bár kutatása idején nem csak, hogy kevesebb fajt ismertek még a térségből, hanem a leírt fajok szaporodási módja sem volt minden esetben jól dokumentált, megállapításai többé-kevésbé ma is helytállóak. A parti síkságon (3-300 méter magasság) ismert 93 *Squamata* faj mintegy 11%-a, a fennsíkok szavannáin (300-2000 méter magasság) ismert 119 faj 10%-a elevenszülő volt. A legmagasabban található hegyvidéki zónában (4000 méter magasságig) élő 14 hüllőfajból 11 volt elevenszülő, de az egyetlen faj, amelyet Greer endemikusnak tartott nagy magasságokban, tojásrakónak bizonyult (Greer 1968).

Green (1970) korábbi mexikói kutatások eredményeit is felhasználva írt a tengerszint feletti magasság és az elevenszülés kapcsolatáról. Kimutatta, hogy a tengerszinttől indulva a 2000 méter fölötti Gomez Farias régióig nagyjából egyenletesen növekszik az elevenszülő fajok aránya. A legfelső régiókban már 100%-ban kizárólag elevenszülő hüllőfajok élnek. A kutatás eredményei között az is feltűnő, hogy az 1250 és 2000 méter tengerszint feletti magasság között nem csak az elevenszülők aránya növekszik, hanem az abszolút fajszámuk is (Green 1970).

Annak ellenére, hogy ezek a kutatások meggyőzőnek tűnnek, többnyire azonos habitatban élő, egymással nem közeli rokon fajokat hasonlítottak össze. Ezért már Tinkle és Gibbons (1977) is előnyben részesítette azokat az adatokat, melyek közeli rokon fajok (leginkább egy nemzetségen belül) vagy még inkább egy fajon belüli populációkon végzett kutatásokban születtek. Kutatásaik idején már több tucat olyan nemzetséget tartottak számon, amelyeken belül tojásrakó és elevenszülő fajok egyaránt ismeretesek voltak (Tinkle és Gibbons 1977). A szerzők szerint közeli rokon fajok által elfoglalt habitatok ökológiai viszonyait vizsgálva sokkal közelebb kerülhetünk a tojásrakás-elevenszülés evolúciós folyamatának megértéséhez.

Párhuzamosan azzal, ahogyan a hüllőfajokkal kapcsolatos ismeretek bővültek, egyre több információ állt rendelkezésre azok szaporodásmódjával kapcsolatban is. Amíg az 1970-es években még sokszor nagy elterjedési területű hüllőfajoknál is bizonytalanságokat lehetett tapasztalni az egyes szakirodalmakban (pl. Tinkle és Gibbons 1977), addig a század végére jelentősen nőtt a tojásrakás-elevenszülés kontinuummal kapcsolatos ismeretanyag.

A 20. század végén és a 21. század elején már több szerző határozottan állást foglalt amellett, hogy az elevenszülés evolúciójának tanulmányozásához azok a fajok a legmegfelelőbbek, melyek tojásrakó és elevenszülő populációkkal egyaránt rendelkeznek, azaz reproduktívan bimodálisak (Blackburn 2006, Guillaume et al. 1997, Guillette és Jones 1985, Heulin et al. 1993, Shine 1983, 1985, Qualls és Shine 1998, Shine és Guillette 1988, Smith et al. 2001, Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006, Tinkle és Gibbons 1977).

Tinkle és Gibbons 1977-ben még 12 olyan fajról ír, amik – irodalmi adatok alapján – kapcsolatba hozhatóak a reproduktív bimodalitással (az adatok nagy részét a szerzők is kételkedve fogadták), valamint a 80-as és 90-es években is születtek reproduktív bimodalitással foglalkozó olyan tudományos eredmények, melyeket ma már nem fogadnak el (Guillette 1981, Pinilla és Laurent 1996).

Az ismeretek bővülésének eredményeként elmondható, hogy jelenleg mindössze három ilyen fajt ismerünk a Földön (Arrayago et al. 1996, Heulin et al. 1993, Guillaume et al. 1997, Qualls és Shine 1998, Qualls et al. 1995, Smith és Shine 1997, Smith et al. 2001, Surget-Groba et al. 2001, 2006).

E három közül kettő Ausztráliában élő szkinkfaj. Egyikük a *Lerista bouganvillii*, melynek tojásrakó, elevenszülő és átmeneti formákat mutató populációi is ismeretesek (Qualls és Shine 1998, Qualls et al. 1995). A kutatások során azt is bebizonyították, hogy a tojásrakó populációk magasabb, az elevenszülő populációk alacsonyabb átlaghőmérséklettel jellemezhető területeken fordulnak elő, ami egybevág a fent kifejtett „cold climate theory" néven elhíresült elmélettel (Qualls és Shine 1998).

A másik szkinkfaj a *Saiphos equalis* (Smith és Shine 1997, Smith et al. 2001). A fajt részletesen vizsgálták mind ökológiai, mind filogenetikai szempontból (Smith és Shine 1997, Smith et al. 2001). A szkinkfajok többségére relatíve hosszú (>30 nap) inkubációs idő jellemző, ellenben a *Saiphos equalis* különböző populációiban három különböző típusú reproduktív stratégia is megtalálható: a tojásrakók egyik típusa 15 napos inkubációs idővel, a tojásrakók másik típusa 5 napos inkubációs idővel jellemezhető, míg a harmadik típus elevenszülő (Smith et al. 2001).

10.13147/NYME.2017.003

A reproduktív bimodalitással jellemezhető hüllőfajok közül alighanem a harmadik faj volt (és van) leginkább az elevenszülés kutatásának középpontjában. Ez minden kétséget kizáróan annak köszönhető, hogy ez a faj a legnagyobb elterjedési területtel rendelkező gyíkfaj a Földön, tojásrakó és elevenszülő populációi számtalan különböző ökológiai paraméterrel jellemezhető élőhelyen megtalálhatóak Eurázsiában. A faj neve: elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara*).

2.2. Az elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara* LICHTENSTEIN, 1823)

2.2.1. Nevezéktan

Az elevenszülő-, más néven hegyi gyík (angolul common lizard, azaz „közönséges gyík" vagy viviparious lizard, azaz a magyar elnevezéssel megegyező „elevenszülő gyík") nevezéktanának és ezzel párhuzamosan rendszertani besorolásának kérdése több, mint kétszáz éves múltra tekint vissza (Schmidtler és Böhme 2011). Tudományos körökben mindaddig elfogadott volt a „*Lacerta vivipara* (Jacquin 1787)" elnevezés, amíg J. F. von Jacquin természettudós eredeti leírását újra át nem tanulmányozták (Schmidtler és Böhme 2011). Ekkor derült ki, hogy a Semmering melletti helyszínen rögzített érdekes megfigyelésről (miszerint egy gyík eleven utódokat hozott világra) a tudós csak általánosságban számolt be latin nyelven, és az általa használt kifejezést („lacerta vivipara", szó szerinti fordításban „elevenszülő gyík") nem a kettős nevezéktan Linné által lefektetett szabályrendszere szerint közölte, valamint nem is önálló fajként utalt rá (Schmidtler és Böhme 2011). A faj következő említése Lichtenstein-nak tulajdonítható 1823-ból, szintén „*Lacerta vivipara"*-ként, de már a kettős nevezéktan szabályait követve, és bár szinonim elnevezésként használja a „*Lacerta muralis"*-ra, különálló fajként számol be róla (Schmidtler és Böhme 2011). A „*Zootoca"* nemzetségnév először 1830-ban bukkant fel Wagler említésében (Schmidtler és Böhme 2011), majd Mayer és Bischoff (1996) újra önálló monotipikus nemzetségként utalnak rá (Mayer és Bischoff, 1996). A fajt ezután néhány évig a „*Zootoca vivipara* (Mayer & Bischoff, 1996)" néven említik, de Lichtenstein leírását újra áttanulmányozva végleg eldőlt, hogy a szabályoknak megfelelően elsőként ő említette a taxont különálló fajként (Schmidtler és Böhme 2011). Az elmúlt két évszázadban több mint egy tucat elnevezést aggattak a fajra, ezek közül – a faj ökológiájának ismeretében – érdekességként megemlíthető, hogy Tschudi (1837) mint „*Zootoca alpina*" írta le (Schmidtler és Böhme 2011).

Az elmúlt másfél évtizedben a szakirodalom a *Lacerta* és a *Zootoca* nemzetségnevet egyaránt használta. Speybroeck et al. (2010) európai kétéltű- és hüllőfajokat tartalmazó megújult listáján már kizárólag a *Zootoca vivipara* elnevezést használja, de a fajnév mellett leíróként a következő szerepel: „(Jacquin, 1787) or (Lichtenstein, 1823)”.
Schmidtler és Böhme (2011) részletes munkája ezt a kérdést is eldöntötte.
A faj hivatalos neve jelenleg: *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823).

2.2.2. Általános jellemzők

Kis- illetve közepes termetű gyíkfaj, a kifejlett egyedek testhossza 6,5-7 cm (Arnold 2004, Kwet 2009), teljes hossza 12-17 cm (Beebee és Griffith 2000, Dely 1983). A nőstények hosszabb törzsűek és rövidebb farkúak, mint a hímek (Marián 1960). A lábak aránylag rövidek, a fej kisméretű (Arnold 2004).

A szín és a mintázat rendkívül változatos (Arnold 2004, Kwet 2009). A hátoldal a legtöbb egyednél barnás alapszínű (Arnold 2004, Kwet 2009), de lehet szürke (Arnold 2004, Kwet 2009), olajzöld (Arnold 2004), bronz (Kwet 2009) és bizonyos esetekben teljesen fekete (Arnold 2004, Kwet 2009, Puky et al. 2004). A fiatalok sötét színezetűek (Arnold 2004). A hasoldal a hímeknél sokszor sötéten foltozott, ami a nőstényeknél is előfordulhat, de kisebb számban (Arnold 2004, Kwet 2009). A has színezete szintén változatos, fehértől a sárgán és a narancssárgán át egészen pirosig változhat (Arnold 2004, Kwet 2009). A gerinc vonalában sötétbarna csík húzódik (Arnold 2004). Az állat hátának és oldalának találkozásánál sötétbarna foltokból álló csík található, a foltok között világos pontsor figyelhető meg (Arnold 2004, Kwet 2009), ez a mintázat különösen a hímeken szembetűnő (Arnold 2004). (*1. ábra*).

2.2.3. Elterjedés

Az elevenszülő gyík a legnagyobb elterjedési területű gyíkfaj Eurázsiában (Gasc et al. 1997). A mediterrán régió kivételével Európa nagy részén megtalálható, délen Észak-Spanyolországig és Észak-Olaszországig húzódik le, legdélebbi előfordulása a bulgáriai Rodope-hegységből ismeretes (Arnold 2004, Guillaume et al. 1997, Kwet 2009). Északon nem csupán Írország és az Egyesült Királyság területén található meg, hanem Skandináviában a sarkkörtől akár 350 kilométerre északra is előfordul (Arnold 2004). Keleti irányban Szibérián és Észak-Mongólián át egészen a Csendes-óceán partvidékéig, a Szahalin-szigetekig és Hokkaido-ig húzódik areája (Arnold 2004, Guillaume et al. 1997, Kwet 2009), így elterjedési területe kelet-nyugati irányban több mint 11000 kilométert ölel fel (Kwet

10.13147/NYME.2017.003

2009). Északon inkább síkvidéki előfordulású, azonban délen – néhány kivételtől eltekintve – hegyvidéki, Kwet (2009) szerint a Pireneusokban 2400 méter, az Alpokban akár 3000 méter tengerszint feletti magasságig is felhatol. Saját megfigyeléseim a Kárpátokban 1900 méter, az Alpokban 2000 méter, a Pireneusokban 2200 méter magasságban voltak. (*2-3. ábra*)

Magyarországon ritka. A Kárpát-medence szomszédságában található populációk hegyvidékiek, azonban hazánkban minden ismert előfordulási helye síkvidéki (Puky et al. 2004, 2005). Többnyire jégkori maradványlápokhoz és azok környezetéhez kötődik, amilyen a Hanság és a nyírségi, szatmár-beregi lápok, valamint a Duna-Tisza közei Ócsa térségében is előfordul (Dely 1983, Marián 1960, Puky et al 2004, 2005). (*4. ábra*)

1. Ábra: Elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara* LICHTENSTEIN, 1823), Madarasi-Hargita (A szerző felvétele)

2.2.4. Élőhely

Mind síkvidéki, mind hegyvidéki előfordulási helyein leginkább hűvös, nedves élőhelyekhez vonzódik, például nedves kaszálórétek, erdőszegélyek, mocsárerdők, magashegyi legelők (Arnold 2004). Előfordul rizsföldeken, tengerparti homokdűnéken és

10.13147/NYME.2017.003

sziklafalakon, de akár vasúti töltéseken és kertekben is megtelepszik (Arnold 2004). Nagyon jól úszik, menekülés közben gyakran választja a víztesteket (Arnold 2004, Kwet 2009). Mivel nagyon jól alkalmazkodott a hűvös és párás környezethez, gyakran olyan időjárási viszonyok között is megfigyelhető, amiben semmilyen másik hüllőfaj. Bizonyos területeken, főleg Észak-Európában hektáronként akár 100-1100 egyed is előfordul (Arnold 2004).

Magyarországon nedves réteken, erdőszegélyekben, tőzegmohalápokban, lápréteken, nádasok mentén, zsombékos mocsarakban figyelhető meg (Dely 1983, Puky et al. 2004). A hazai populációk egyedsűrűsége 10-50 egyed hektáronként (Puky et al. 2004).

2. Ábra: Az elevenszülő gyík élőhelye a Páringban (Déli-Kárpátok) (A szerző felvétele)

10.13147/NYME.2017.003

3. Ábra: Az elevenszülő gyík élőhelye a Pettorina-völgyben (Dolomitok) (A szerző felvétele)

4. Ábra: Az elevenszülő gyík élőhelye a Hanságban (A szerző felvétele)

2.3. Az elevenszülő gyík filogeográfiajának kutatási háttere

Érdekességképpen megemlítem, hogy bár szóbeszéd szintjén a faj reproduktív bimodalitása már régóta ismert tudományos körökben, Tinkle és Gibbons (1977) még úgy említi alapmunkájában, mint további kutatást igénylő bizonytalan információt. Az 1980-as évek végén már minden kutatás egyértelműen bizonyított tényként tekint a Pireneusok és a Cordillera Cantabrica térségében élő tojásrakó populációkra, valamint egyedülálló lehetőségnek tekinti a faj kutatását az elevenszülés evolúciójának tanulmányozására (Arrayago et al. 1996, Guillaume et al. 1997).

A faj biogeográfiájának kutatása tehát a kezdetektől szorosan összefügg a faj szaporodásmódjának tanulmányozásával és annak evolúciós léptékű kérdéseivel. Heulin és társainak 1993-ban publikált kutatásában egy lehetséges biogeográfiai forgatókönyvet vázoltak fel. Elméletük az volt, hogy a jégkorszakban a faj délre húzódó populációi (melyek ekkor még feltételezhetően mind tojásrakóak voltak) a földrajzi sajátosságok miatt délkeleti és délnyugati irányba kényszerültek Európa déli részén. Véleményük szerint a keleti területeken alakult ki az elevenszülés, ami nagymértékben hozzásegítette a fajt ahhoz, hogy a jégkorszak elmúltával rendkívül gyorsan rekolonizálja Európát és Ázsiát. A rekolonizációs folyamat során a sikeres elevenszülő vonal nem találkozott többé az Ibériai-félszigetre korlátozódott tojásrakó vonallal, melynek populációi azóta is izoláltan élnek. A Pireneusok térsége és a Central-Massif között egy széles sávban nem találtak elevenszülő gyík populációkat, feltételezhetően az ökológiai viszonyok nem kedveznek a fajnak ezen a területen, így az egy ökológiai barrierként akadályozza meg a tojásrakó és elevenszülő vonal találkozását (Heulin et al. 1993).

Arrayago és munkatársainak 1996-ban publikált kutatásában francia tojásrakó és elevenszülő populációk egyedeinek hibridizációjával foglalkoztak. Megállapították, hogy az F_1 generáció hibrid nőstényei által lerakott tojásokban lévő embriók fejlettsége (35.-36. stádium) átmeneti alakot mutatott a tojásrakóknál (31.-34. stádium) és az elevenszülőknél (40. stádium) tapasztaltakkal.

A témakörben felhalmozódó ismeretanyag következő mérföldköve Guillaume és társainak 1997-es munkája. A kutatás elvégzésének idején már nagy ismeretanyag állt rendelkezésre a faj eurázsiai elterjedési területéről, azonban tojásrakó populációk mindössze a Pireneusok, a Cordillera Cantabrica és Aquitaine tengerparti területeiről voltak ismertek. A tanulmányban leszögezik, hogy a laboratóriumi hibridizációs vizsgálatok eredményeképpen nagyon szoros rokonság feltételezhető a faj tojásrakó és elevenszülő populációi között. A közeli rokonságból

ők is arra következtettek, hogy az elevenszülés kialakulása evolúciós léptékben csak a közelmúlt eseménye volt a faj esetében, és ez feltételezhetően az utolsó jégkorszak idejére eshetett.

A szerzők kutatásukban nem csupán a délnyugati tojásrakó populációkkal foglalkoztak, hanem elméleteik további bizonyítása miatt a Bulgáriában ismert, akkoriban szintén izoláltnak tartott *Z. vivipara* populációkat is megvizsgálták. Korábban semmilyen ismeretanyag nem állt rendelkezésre a bulgáriai populációk szaporodásmódjáról, ezért a Pireneusok térségében élő tojásrakó populációkkal nagyjából egy szélességi körön található populációk vizsgálata szükséges volt ahhoz, hogy elméleteiket igazolni tudják. Egy délkeleti tojásrakó populáció megléte érdekes irányba terelte volna a jégkor után keletről szétterjedt elevenszülő vonallal kapcsolatos elképzeléseket, de földrajzi szimmetria miatt sem tartották lehetetlennek egy ősi tojásrakó vonal meglétét.

Kutatásaik során nem csak az nyert bizonyítást, hogy a bulgáriai magashegységekben élő populációk elevenszülők, hanem az is, hogy azok fehérjeelektroforézis vizsgálatok alapján rendkívül hasonlítanak a francia elevenszülő populációkra. Az ATA-100 allél mind a francia, mind a bolgár populációkra egyaránt jellemző volt, míg az ATA-150 és ATA-200 allél egyértelműen a tojásrakó csoport sajátosságának bizonyult. Eredményeik szerint a genetikai távolság a francia és bolgár elevenszülő populációk között (Nei genetikai távolság D=0.056) mindössze a fele annak, ami a francia elevenszülő és tojásrakó populációk között (D=0.102).
Odierna és társai (1998) más megközelítésben vizsgálták a *Z. vivipara* biogeográfiáját. Kupriyanova és Rudi (1990) kutatása óta volt közismert az a tény, hogy a *Z. vivipara* különböző földrajzi léptékben elhelyezkedő populációi kariológiailag is jól elkülönülnek. Az elevenszülő populációkban (a hímek n = 36 akrocentrikus makrokromoszómával, a nőstények n = 35, Z_1Z_2W nemikromoszóma-szerkezettel) két különböző nemi kromoszómát találtak, melyek elterjedése földrajzi sajátosságokat is mutatott (Kupriyanova és Rudi 1990). Az egyik típus egykarú W kromoszómával rendelkezik, ezzel a korábban Ázsiában, Oroszország európai oldalán és a Kárpátok északi részén talált populációk jellemezhetőek, valamint ezt a W kromoszómatípust mutatták ki a *Z. vivipara pannonica* alfaj Ausztriában talált példányaiban is. A másik típus kétkarú W kromoszómákat hordoz, ilyen populációkkal Európa középső felében, Bulgáriában és Svédországban találkoztak (Odierna et al. 1998).

Odierna és társai (1998) a kutatásba több, kariológiailag korábban nem, vagy alig vizsgált populációt is bevontak a Pireneusokból (tojásrakó populációk) és az Alpok déli részéből (elevenszülő populációk). Megállapították, hogy mindkét helyről származó mintákban a hímek 2n = 36, a nőstények 2n = 35 kromoszómát mutattak. A kromoszómaszerkezetben

10.13147/NYME.2017.003

azonban eltéréseket tapasztaltak, az Alpok déli részéből származó egyedek kétkarú, a Pireneusokból származó egyedek egykarú W kromoszómával rendelkeztek. Az eredmény meglepő volt, hiszen egykarú W kromoszómát korábban csak Európa keleti feléből mutattak ki (bár a két egykarú W kromoszóma között különbségeket is találtak a heterokromatintartalomban).

Benoit Heulin és társainak 1999-ben publikált tanulmánya óriási ugrásnak számított a témában, a későbbi filogeográfiai vizsgálatok alapjait fektették le. Kutatásukban Guillaume és társainak 1997-es megállapításait vették alapul, azonban a pontosabb eredmények reményében egy mitokondrális DNS szakaszt is bevontak a vizsgálatba: választásuk a nem fehérjekódoló 16s RNS gén egy 336 bázispár hosszúságú szakaszára esett.

A genetikai anyagot 6 tojásrakó és 16 elevenszülő példányból nyerték. A tojásrakó egyedek a Pireneusokból és a Cordillera Cantabrica-ból származtak, az elevenszülő példányok pedig francia, svájci, cseh, bolgár, holland és svéd populációkat képviseltek.

Az összesen 22 példány esetében 18 helyen találtak különbséget a vizsgált génszakaszon. Ebből 12 polimorf volt a tojásrakó csoportban, de monomorf az elevenszülőben, 2 polimorfnak bizonyult az elevenszülő csoportban, és 4 jelentett különbséget a tojásrakó és az elevenszülő csoportok között.

A 6 tojásrakó gyíkpéldány 3 elkülönülő haplotípust mutatott. Ezeket OH1, OH2 és OH3 jelöléssel illették (=Oviparous Haplotype). A 16 elevenszülő példány esetében 4 különböző haplotípust azonosítottak, ezeket VH1, VH2, VH3 és VH4 kódokkal illették (=Viviparous Haplotype).

A haplotípusok bootstrap ágrajza határozottan aláhúzta a *Zootoca vivipara* faj monofiletikus jellegét (100% bootstrap érték), a tojásrakó és az elevenszülő csoport azonban világosan különböző ágra szakadt. Meglepő módon az eredmények egyértelműen nem támogatták a tojásrakó haplotípusok monofiletikusságát (65%-os bootstrap értékkel) oly mértékben, mint az elevenszülők esetében (95%-os bootstrap értékkel). Ugyanakkor ezzel megerősítették Guillaume és társainak (1997) eredményeit, miszerint a két csoport genetikai szerkezete alapján is határozott eltéréseket mutat.

Heulin és társainak eredményei is egyértelmű filogeográfiai hézagot mutattak ki a kontinens délnyugati részén lévő tojásrakó csoport és az elevenszülő, a kontinens nagy részét elfoglaló csoport között. Ez a tanulmány is rámutatott arra, hogy ez az aszimmetrikus mintázat azt bizonyíthatja, hogy az elevenszülés a keleti populációkban alakult ki és innen terjedt el a jégkorszak után.

10.13147/NYME.2017.003

A kialakult képet 2000-ben egymástól függetlenül két kutatás is felborította. Heulin és társai (2000) valamint Mayer és társai (2000) egyaránt ugyanarról a jelentős felfedezésről publikáltak: Szlovénia magashegyi régióiban talált *Z. vivipara* populációk egyedei tojásrakónak bizonyultak a vizsgálatok során.

Heulin és társai 4 szlovén (és egy horvátországi) populáció egyedeit (n = 15) vizsgálták laboratóriumi terráriumi megfigyelések és az ATA enzim sajátosságai alapján. A tojások lerakásának folyamatát és a tojások kikelését a laboratóriumban korábban tanulmányozott francia tojásrakó egyedekkel és azok tojásaival hasonlították össze.

Az elektroforézis vizsgálatok az ATA-150 és ATA-200 allélek jelenlétét mutatták ki, melyek korábban a délnyugat-európai tojásrakó populációkban is azonosítottak. A Horvátországból származó egyedek esetében nem tudták sem terepi, sem laboratóriumi megfigyelésekkel igazolni, hogy tojásrakó populációból származnak, de az ATA-150 és ATA-200 allélek jelenléte ezeknél is arra utalt, hogy tojásrakóak.

A terráriumban lerakott tojásokban lévő embriók a 30-32. stádiumban voltak. A tojások inkubációs ideje 22,5 °C-on 34,6±1,3 nap volt. 2 nőstény a tojások lerakása után ismét párosodott és újabb fészekaljat is lerakott.

A francia-spanyol tojásrakó egyedekkel való nyilvánvaló hasonlóságok ellenére több lényeges különbséget is megfigyeltek. A korábban vizsgált francia tojásokban lévő embriók átlagban szignifikánsan fejlettebbek voltak a tojás lerakásakor, mint a szlovén tojásokban lévők. Ez valószínűleg megmagyarázza azt is, hogy a francia tojások inkubációs ideje miért volt rövidebb (28,6±1,8 nap) ugyanazon a hőmérsékleten. Mindez arra utal, hogy a szlovéniai populációk a „tojásrakás-elevenszülés kontinuum” egy evolúciós értelemben „korábbi” szakaszán foglalnak helyet.

Mayer és társai (2000) szintén Szlovéniában, valamint a dél-ausztriai Karintiában bukkantak tojásrakó populációkra. Kutatásukban a tojáshéj szerkezetét hasonlították össze a francia-spanyol tojásrakó populációk tojáshéjával, valamint mitokondriális DNS szakaszokat is vizsgáltak. A tojáshéj szerkezetében nem találtak lényeges eltéréseket a két csoport között, azonban a szlovén populációk tojáshéjának átlagos vastagsága nagyobbnak bizonyult.

A genetikai vizsgálatokhoz a 12s rRNS gén egy 460 bázispár hosszúságú és a 16s rRNS gén egy 410 bázispár hosszúságú szakaszát választották ki. Megállapították, hogy a vizsgált szakaszok alapján a délnyugat-európai tojásrakó populációk genetikailag közelebbi rokonságban vannak az elevenszülő populációkkal, mint az újonnan felfedezett tojásrakó populációkkal. Azt a következtetést vonták le, hogy az elevenszülés jelensége valószínűleg egyszer alakult ki a faj evolúciójában és inkább nyugatról származik, mint keletről. A szerzők

10.13147/NYME.2017.003

továbbá javasolták a szlovén és karintiai tojásrakó populációk alfaji szintre emelését *Zootoca vivipara carniolica* néven.

Odierna és munkatársai (2001) a legújabb felfedezések tükrében ismételt kariológiai vizsgálatokról publikáltak. Ahogyan korábban is említettem, egy ideje már köztudott volt, hogy a *Z. vivipara* evolúciója során egy részleges kariológiai esemény következett be: egy ősi W nemi kromoszóma egy autoszómával történő fúziója miatt a nőstények kromoszómaszáma (2n = 35) eltér a hímekétől (2n = 36) (Kupriyanova és Rudi 1990, Odierna et al. 1993, 1998). A kromoszómaszerkezet a nőstényeknél így 32 autoszóma + Z_1Z_2W, a hímeknél 32 autoszóma + $Z_1Z_1Z_2Z_2$ (Kupriyanova és Rudi 1990, Odeirna et al. 1993, 1998). Azonban a W kromoszóma és az autoszóma fúziója előtti állapotra (2n = 36, a nőstény állatoknál) nézve eddig semmilyen bizonyítékot nem találtak. A Szlovéniában felfedezett tojásrakó populációkat is bevonták az új vizsgálatba, ami során bizonyságot nyert, hogy ezek a populációk egy ősibb evolúciós állomást képviselnek, mivel kromoszómaszámuk 2n = 36-nak bizonyult mindkét nemnél, a hímeknél 34 autoszóma + ZZ, a nőstényeknél 34 autoszóma + ZW kromoszómaszerkezettel. A szerzők leszögezik, hogy a rendelkezésre álló adatok szerint az elevenszülés nem nyugaton alakult ki, a legvalószínűbb forgatókönyv az, hogy a frissen felfedezett szlovén populációk játszhatnak ebben valamilyen szerepet.

A kétezres évek elejére igen sok információ gyűlt össze a *Zootoca vivipara* biogeográfiájával kapcsolatban, azonban az ismeretanyag szükségszerűen sok esetben még több kérdést vetett fel, mint amennyit megválaszolt. A morfológiai, ökológiai és kariológiai ismeretek mellett szükség volt egy olyan átfogó kutatásra, amit a faj teljes elterjedési területén könnyedén összehasonlíthatóvá tette a populációkat, így egyes kutatások ismét a genetikai markerekhez nyúltak. A molekuláris filogeográfia (Avise et al. 1987) alkalmas módszernek tűnt az elevenszülés tanulmányozására és ezzel összhangban a *Zootoca vivipara* biogeográfiájának feltárására (Surget-Groba et al., 2001).

Yann Surget-Groba és munkatársainak 2001-ben publikált kutatásában a korábbi kariológiai vizsgálatok (elsősorban Odierna és társainak 1998-as és 2001-es kutatásának) eredményeit és Heulin és társainak 1999-es mitokondriális DNS szekvenciák összehasonlításából származó megállapításait vették alapul. A kromoszómamorfológiai vizsgálatok rámutattak arra, hogy a *Z. vivipara* faj jóval változatosabb, mint azt korábban gondolták (Odierna et al., 1998). Kiderült, hogy a spanyol/francia tojásrakó populációk, az elevenszülő nyugat-európai, kelet-európai és ázsiai, valamint egyes közép-európai populációk is sajátos kromoszómaszerkezettel bírnak (Odierna et al., 1998, 2001). Ez a különbség felvetette azt a kérdést, hogy az elevenszülés többször kialakult esemény is lehetett. Heulin és

10.13147/NYME.2017.003

társai (1999) megállapították, hogy a tojásrakó és az elevenszülő populációk között jelentős különbség tapasztalható az általuk vizsgált mitokondriális génszakaszon.

Surget-Groba és társai (2001) jóval nagyobb elemszámmal (n = 144) dolgoztak, mint Heulin és társai, valamint másik génszakaszt vontak be a vizsgálatba. Választásuk a *cytokróm b* gén egy 406 bázispár hosszúságú szakaszára esett, valamint egy 23 bázispár hosszúságú szakaszra az ehhez kapcsolódó Glu-tRNS génből. A minták szlovén, spanyol, francia, belorusz, román, orosz, angol, svájci, belga, holland, dán, svéd, cseh, olasz, lengyel, bolgár, osztrák és magyar populációkból származtak, tehát messze a legátfogóbb addigi filogeográfiai kutatásnak számított a faj esetében.

A 429 bázispáron összesen 132 variábilis pozíciót találtak, az egyes haplotípusok közötti távolságok 0,2 és 6,3% között variáltak. A haplotípusok filogenetikai vizsgálatához MP (maximum-parsimony) és NJ (neighbour-joining) analízist használtak.
Az analízis erősen támogatta a *Zootoca vivipara* faj monofiletikus jellegét (*p* = 100 bootstrap értékkel). A fajon belül 5 különböző klád különült el.

Az „A” kládot az OS betűkóddal jelölt haplotípus alkotta, ez a szlovén tojásrakó populációkat jelentette (ekkor még csak egy haplotípust ismertek ezen a kládon belül). Mind az MP, mind az NJ analízis ágrajza esetében az első elágazás az OS haplotípus által jellemzett „A” kládnál található, a másik ágon foglalt helyet az összes többi klád.

Ezek sorban:
„B” klád, a nyugati tojásrakó populációk OC és OF betűkódú haplotípusokkal.
„C” klád, az Ausztria és Magyarország határán élő elevenszülő *Z. v. pannonica* alfaj PA betűkóddal.
„D” klád, az egykarú W kromoszómával rendelkező keleti elevenszülő populációk VU betűkóddal.
„E” klád, a kétkarú W kromoszómával rendelkező nyugati elevenszülő populációk VB betűkódú haplotípusokkal.

Az elevenszülő csoport (C, D és E kládok) monofiletikus természetét sem az MP, sem az NJ analízis nem támogatta a *Z. v. pannonica* alfaj tisztázatlan pozíciója miatt. A nyugati és keleti elevenszülő kládok (D és E) viszont mindkét analízis szerint monofiletikusak.
A „B” kládon belül két filogeográfiailag jól elkülönülő haplocsoport jelenik meg, az egyik egy délnyugati elterjedésű csoport (ezeket jelölték OC kóddal) a Cordillera Cantabrica és a

Nyugati-Pireneusok területéről, valamint egy északkeleti csoport (OF kóddal) Aquitaine északi és a Pireneusok középső és keleti feléből.

Surget-Groba és munkatársainak (2001) kutatás előtti hipotézise az volt, hogy a szlovén tojásrakó populációk alkothatják azt a vonalat - vagy annak a vonalnak legközelebbi rokonát - , ahonnan az elevenszülés elterjedt. Ez a hipotézis a szerzők szerint ezekkel az eredményekkel megdőlt, hiszen az „A" klád a filogenetikai fa alapjánál külön ágra szakadt a többitől. Ez az eredmény egybevágott a korábbi kariológiai adatokkal is, hiszen ez a klád a kromoszómaszerkezetében is jelentősen eltér a többitől (Odierna et al., 2001).

A kutatásban publikált filogenetikus ágrajzok topológiája azt mutatta, hogy az elevenszülés valószínűleg csak egyszer alakult ki, valamint semmilyen bizonyíték nem támasztotta alá azt, hogy ez visszafelé valaha is megtörtént.

A kérdés továbbra is az maradt, hogy hol található meg az a tojásrakó populáció, amiből az elevenszülés kialakult. Az egykarú W kromoszóma megléte a tojásrakó nyugati („B"), elevenszülő közép-európai („C") és keleti („D") kládban arra utalt, hogy az elevenszülés nem nyugaton alakult ki, hanem inkább egy keleti tojásrakó kládban. Mivel a filogenetikai kutatás szerint nem is a szlovén populációkból származik, Surget-Groba-ék azt feltételezték, hogy az ismeretlen tojásrakó klád (egykarú W kromoszómával) már kihalt, vagy pedig még keletebbre él.

A filogenetikus törzsfa megerősítette azt, hogy a W kromoszóma egykarú formája pleziomorf jelleg, a kétkarú forma pedig apomorf, ez nyilvánvalóan később alakult ki. A feltételezések szerint egy pericentrikus inverzió okozta azt, hogy a W kromoszóma kétkarúvá vált (Kupriyanova és Rudi 1990, Odierna et al., 1998). Heulin és munkatársai (1993) is azt feltételezték, hogy Európa nyugati felét később kolonizálták az elevenszülő populációk, melyek keleten fejlődtek ki. A nyugati elevenszülő kládon („E") belül két csoport különböztethető meg, egy parafiletikus csoport, amely a klád legkeletibb előfordulási területein található (Bulgáriában), illetve egy monofiletikus csoport, amely a kontinens nyugati részén fordul elő.

Ugyan nem találtak közvetlen kapcsolatot az elevenszülés kialakulása felé a fajon belül, a frissen felfedezett tojásrakó klád érthető módon mégis a figyelem középpontjában maradt. Yann Surget-Groba és munkatársainak 2002-ben publikált kutatása kimondottan *Z. v. carniolica*, azaz az „A" klád vizsgálatát helyezte előtérbe. A kutatás kiszélesítésének az adott különös jelentőséget, hogy Észak-Olaszországban újabb tojásrakó populációkat fedeztek fel – nem csak a szlovén határ közelében, hanem attól nagy távolságra is, Lombardia-Piemonte régióban, és érdekes módon nem csak hegyvidéken, hanem síkvidéki élőhelyeken is.

Surget-Groba és munkatársai (2002) 14 populációból származó 124 egyedet vizsgáltak. Öt populáció Északnyugat-Olaszországból, két populáció Északkelet-Olaszországból és hét populáció Szlovéniából származott. A legfőbb kérdés az volt, hogy a frissen felfedezett tojásrakó populációk milyen rokonsági kapcsolatban állhatnak a *Z. v. carniolica* alfajjal. A kutatás eszközéül ismét a mitokondriális genomot választották. A *citokróm b* gén 408 bázispár és a hozzá kapcsolódó Glu-tRNS gén 21 bázispár hosszúságú szakaszával korábban már sok tapasztalatot szereztek a különböző kládok vizsgálatánál, így ebben a kutatásban is ezeket használták fel. A maximum parsimony törzsfa felrajzolásához a korábbi kutatásból (Surget-Groba et al., 2001) származó szekvenciákat is felhasználták, a VB haplocsoportból („E" klád) és a VU haplocsoportból („D" klád) négy haplotípust, az OC és OF haplocsoportokból („B" klád) kettő-kettő haplotípust.

Az eredmények egyértelműen igazolták, hogy a szlovén és az újonnan felfedezett olaszországi tojásrakó populációk ugyanabba a kládba tartoznak, így az új haplotípusokat is OS betűkóddal jelölték. Megállapították, hogy az eddig ismert egyetlen haplotípus (OS1) nem csak Szlovéniában, hanem Észak-Olaszország keleti felében is előfordul. Ezen kívül még hat különböző haplotípust azonosítottak, amik több meglepetéssel is szolgáltak. Az új OS2-es haplotípust az olasz/szlovén határ mentén azonosították, mind az olasz, mind a szlovén oldalról. A maradék öt haplotípus viszont mind egy-egy populációt jellemzett, ezzel bebizonyosodott, hogy Olaszországban sokkal nagyobb genetikai diverzitással van jelen ez az alfaj (klád), mint Szlovéniában. A centrális haplotípusnak az OS7-es bizonyult (a Pó-síkságról származó populáció), minden további haplotípus innen vezethető le mind nyugati, mind keleti irányba. Mindebből azt a következtetést vonták le, hogy ez a haplotípus egyben a legősibb is, tehát a klád eredete nem Szlovéniához kötődik.

Ezt az is bizonyítja, hogy a genetikai diverzitás jóval magasabb Észak-Olaszországban, mint Szlovéniában a *Z. v. carniolica* alfajon belül. Az eredmények szerint Észak-Olaszország nyugati részén található tojásrakó csoportban a nukleotid diverzitás jóval magasabb (π = 1,03%), mint a Szlovéniában és Észak-Olaszország keleti felében található csoportban (π = 0,06%). Ez megfeleltethető azoknak az elméleteknek is, melyek szerint az ősi állapotú polimorfizmus jobban jellemzi a refúgiumterületeket, míg a később kolonizált területeken a variabilitás csökkenésével vagy elvesztésével kell számolni (Austerlitz et al. 1997, Surget-Groba et al. 2002). Surget-Groba és munkatársai (2002) így arra a következtetésre jutottak, hogy Szlovéniát egy „fiatalabb" haplotípus csak később kolonizálta.

Surget-Groba és munkatársai (2002) tanulmányukban arra is felhívják a figyelmet, hogy amíg a Pireneusokban található tojásrakó populációk ökológiailag izoláltak az elevenszülő

VB haplocsoporttól, addig az észak-olasz és szlovén, Alpokban élő tojásrakó populációk feltehetően kontaktzónákat alakíthattak ki az északabbra előforduló elevenszülő populációkkal. Kutatásukban továbbá ismét rávilágítottak arra, hogy a keleti tojásrakó „A-klád" tojásai valamivel vastagabb héjúak és az embriók fejletlenebbek, mint a nyugati tojásrakó „B-kládéi".

A következő jelentős kutatás ismét a kromoszóma-analízis területéről érkezett. Jellegében hasonlóan komoly eredményekről számolt be, mint az előzőek, és a filogeográfiai vizsgálatok előrehaladtával egyre érdekesebbnek tetsző Közép-Európára irányította a figyelmet.

Odierna és munkatársai (2004) a magyarországi Ócsa mellől származó populáció egyedeit (egy hím és két nőstény) vizsgálták meg és meglepő eredményeket kaptak. A W kromoszóma és az autoszóma fúziója előtti állapotra (2n = 36, a nőstény állatoknál) nézve eddig csupán a *Z. v. carniolica* esetében találtak példát (Odierna et al., 2001), ami egyértelműen az alfaj (más szóval az „A" klád) ősi jellegét bizonyítja (Odierna et al., 2001). Ugyanakkor az új vizsgálat rámutatott arra, hogy az Ócsa mellől származó egyedek esetében ehhez hasonlóan mindkét nemnél egyaránt 2n = 36 a kromoszómák száma.

Mivel az ócsai populáció egyértelműen elevenszülő (Puky et al., 2004), Odierna és munkatársai (2004) az eredmények tükrében azt az elméletet állították fel, hogy az elevenszülés kétszer alakult ki, egyik esetben az ócsai populációban, a másik esetben pedig valahol a többi klád egyikében.

Ugyan a '90-es évek második felétől több kutatás is felkavarta a tojásrakás-elevenszülés evolúciós folyamatáról alkotott nézetek állóvizét, egyik sem tudott meggyőző bizonyítékkal előállni a leglényegesebb kérdéseket tekintve. A legklasszikusabb álláspont szerint az elevenszülés ugyan számtalan alkalommal alakult ki a pikkelyes hüllők evolúciója során, de a fordított átalakulás lehetetlen vagy rendkívül ritka (Tinkle és Gibbons 1977). Ezt a tradícionális elméletet kezdték megdönteni többek között de Fraipont és munkatársainak (1996, 1999) valamint Smith és munkatársainak (2001) munkái, melyeket többen is bíráltak például a helytelen módszer vagy a kis elemszám miatt (Blackburn 1999, Shine és Lee 1999). Mindenesetre egyre több kutató foglalt állást amellett, hogy visszafelé irányú (azaz elevenszülésből tojásrakó forma kialakulása) tranzíció is lehetséges és ez számtalan esetben meg is történhetett az evolúció során (Schulte at al. 2000, Surget-Groba et al. 2006).

Yann Surget-Groba és munkatársainak 2006-ban publikált kutatásában központi szerep jutott ennek az elképzelésnek, az elevenszülő gyík evolúciós és filogeográfiai kutatásának legfontosabb lépcsőfokán. Minden korábbinál nagyobb szabású filogenetikai vizsgálatukban igyekeztek elkerülni a korábbi kutatásokat ért kritikákat, ezért jóval nagyobb területről

származó, és számadatait tekintve is nagyobb elemszámmal dolgoztak, mint korábban bárki, kutatásukban több és hosszabb génszakaszt használtak fel. Mintáik között frissen felfedezett ázsiai és közép-európai populációk is szerepeltek, ez utóbbiak fontosságát külön hangsúlyozták azzal a kijelentéssel, hogy a genetikai diverzitás a korábbi vizsgálatok szerint Közép-Európában a legnagyobb.

A kutatáshoz összesen 142 populációból vettek mintákat mintegy 522 egyedből (71 populációból közvetlen megfigyelési eredmények is rendelkezésre álltak arra vonatkozóan, hogy a populáció tojásrakó vagy elevenszülő). Külcsoportoknak – csakúgy, mint korábban – két fajt, a *Podarcis muralis*-t és a *Lacerta bilineata*-t választották ki.

A molekuláris genetikai vizsgálatokhoz a már korábban is használt szakaszokhoz fordultak, de ezúttal kettőhöz is: a 429 bp hosszúságú szakaszhoz (23 bp Glu tRNS és 406 bp *citokróm b*), melynek segítségével mind az 522 egyed haplotípusát meghatározhatták az előző kutatás tükrében (Surget-groba et al. 2001), valamint felhasználtak egy körülbelül 500 bp (a haplotípustól függően 479-484 bp) hosszúságú szakaszt a 16S rRNS génből. Hogy a vizsgálat még pontosabb legyen, az egyetlen példány által képviselt haplotípusok (N = 48) további vizsgálatához a teljes *citokróm b* gént is felhasználták.

A vizsgálat számtalan újdonsággal szolgált a szerzők 2001-es eredményeivel összehasonlítva. A nagyobb elemszámnak köszönhetően nem csak több klád filogenetikai pozíciójában történt változás, hanem egy új kládot is felfedeztek azon közép-európai populációk (például Ócsa térségéből) vizsgálatával, melyekről Odierna és munkatársai (2004) is beszámoltak korábban.

Az eredmények alapján tehát továbbra is két tojásrakó, de korábbiakkal szemben négy elevenszülő kládot tudtak megkülönböztetni a fajon belül, a kládokon belül több új haplotípust azonosítottak:

1. „A” klád: keleti tojásrakó csoport (OS betűkóddal) hét haplotípussal. Ez a vonal a *Z. vivipara carniolica* alfajjal (Mayer et al., 2000) egyezik meg. Populációi Olaszországban, Szlovéniában, Ausztria déli részén, Szlovéniában és Horvátország egyes Szlovéniával határos területein fordulnak elő.
2. „B” klád: nyugati tojásrakó csoport (OC és OF betűkóddal) nyolc haplotípussal. Ezen populációk a Pireneusok és a Cordillera Cantabrica mentén élnek Dél-Franciaországban és Észak-Spanyolországban.
3. „C” klád: elevenszülő csoport (PA betűkóddal) két haplotípussal. Északkelet-Ausztria és Magyarország Fertő menti és hansági területei (összesen öt populációt vizsgáltak).

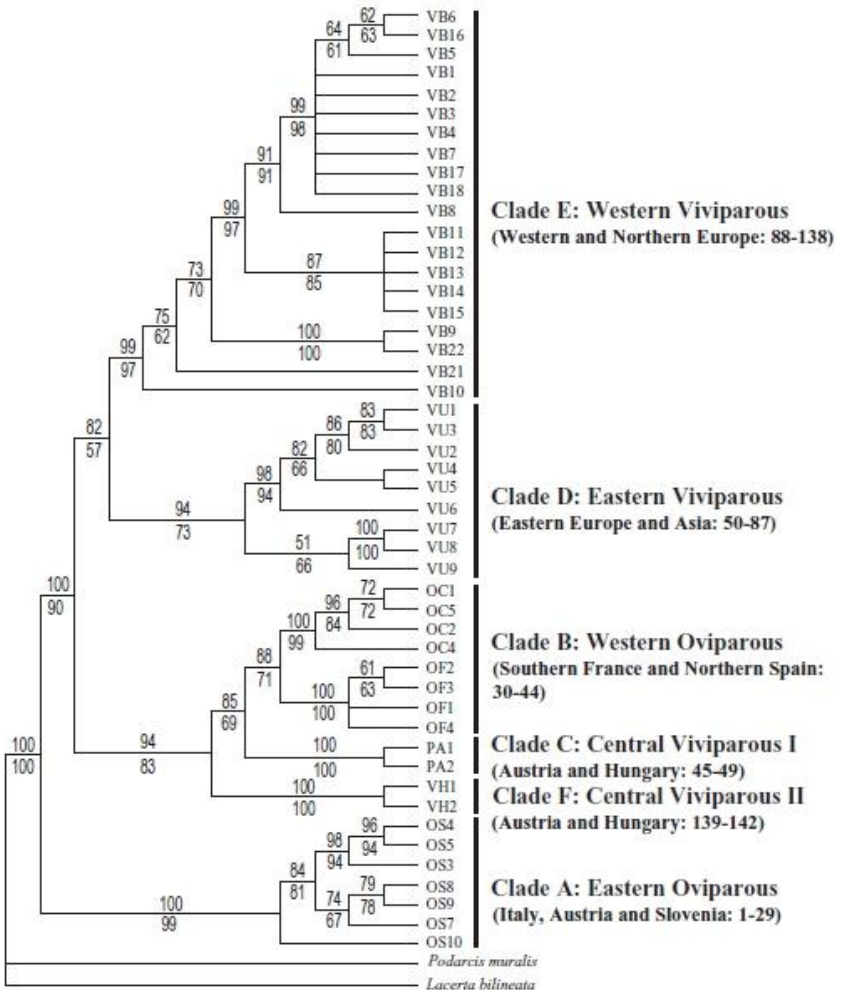
4. „F” klád: az újonnan felfedezett elevenszülő csoport (VH betűkóddal) két haplotípussal. A magyarországi Duna-Tisza közéről és Délkelet-Ausztriából származó négy vizsgált populációval feleltethető meg.
5. „D” klád: a keleti elevenszülő csoport (VU betűkóddal) kilenc haplotípussal. Rendkívül elterjedt csoportról van szó, populációi Magyarország keleti részétől Ázsiáig élnek.
6. „E” klád: a nyugati elevenszülő csoport (VB betűkóddal) húsz haplotípussal. Populációi Nyugat-Európában élnek, valamint egy különálló csoport Bulgáriában és Szerbiában.

Minden vizsgált *Z. vivipara* haplotípus monofiletikus csoportot alkotott. Az „A” klád (*Z. v. carniolica*) a Maximum Parsimony ágrajz alapjánál foglalt helyet, a másik ágon az összes többi haplotípussal. Ez utóbbi csoport két nagy ágra szakadt, az egyiken a két közép-európai elevenszülő és a nyugati tojásrakó, a másikon a nyugati és a keleti elevenszülő vonal található. Jól láthatóan sem a tojásrakó, sem az elevenszülő csoportok nem képeztek monofiletikus vonalat, sőt, a nyugati tojásrakó klád a „C” elevenszülő klád testvércsoportjának bizonyult, a kettő együttese pedig az „F” elevenszülő klád testvércsoportjának. A „B” + „C” + „F” kládok monofiletikusságát erősen támogatta az analízis, és a „D” + „E” kládok is monofiletikusnak bizonyultak (*5. ábra*).

A szerzők korábban úgy gondolták, hogy az elevenszülő kládok monofiletikusak és az elevenszülés mindössze egyszer alakult ki a faj evolúciójában (Surget-Groba et al., 2001). Ezen új ismeretek birtokában korábbi elméletüket elvetették és több új forgatókönyvet is felvázoltak.

Az első forgatókönyv szerint az elevenszülés csak egyszer alakult ki, de ezt egy reverz átalakulás követte, ami a nyugati tojásrakó kládot hozta létre („B” klád). A második forgatókönyv az elevenszülés három elkülönült kialakulásával számol, az első a „C” klád esetében, a második a „D” + „E” klád, a harmadik pedig az „F” klád esetében.

10.13147/NYME.2017.003



5. ábra: Az egyes haplotípusok és kládok Maximum Parszimónia törzsfája (Surget-Groba et al. 2006)

Kupriyanova és munkatársainak 2006-ban publikált kutatásában a kromoszómamorfológia oldaláról is megvizsgálták ezeket az elméleteket. Mintáikat 6 osztrák és 1 németországi populációból gyűjtötték be. Megállapították, hogy a kromoszómamorfológia oldaláról nézve a térség nagyon diverz. Munkájuk során több kládot is azonosítottak. Észrevételük szerint kutatásuk is megerősítette azt a hipotézist, hogy az elevenszülés kialakulása többszöri esemény volt a faj evolúciója során. A legvalószínűbb forgatókönyvük azt valószínűsítette, hogy az egyik ilyen átmenet egy 2n=36, ZW kromoszómaszerkezettel rendelkező tojásrakó populációban ment végbe (mint amilyen a tojásrakó *Z. v. carniolica* Olaszországban és Szlovéniában), a másik pedig egy 2n=35, Z_1Z_2W szerkezetűben (mint amilyen a tojásrakó populációk a Pireneusokban és a Cordillera Cantabrica-ban). A szerzők szerint a kromoszómaszerkezet kutatása során szerzett ismeretek nem támogatják a reverz átalakulást.

Arribas 2009-ben morfológiai kutatásainak eredményeit hozta nyilvánosságra, melyeket az elevenszülő gyík cantabro-pireneusi populációiban végzett el. Vizsgálatai egyértelműen alátámasztották a korábbi genetikai vizsgálatok eredményeit is, ezért a populációk vizsgálatát egy új alfaj leírásával egészítette ki, ami tulajdonképpen a „B" (azaz nyugati tojásrakó) kládnak feleltethető meg. Az új alfaj a *Zootoca vivipara louislantzi* nevet kapta (Arribas 2009).

Lindtke és munkatársai 2010-ben írtak tojásrakó és elevenszülő populációk kontaktzónáival kapcsolatos kutatásaik eredményeiről. Surget-Groba és munkatársai már 2002-ben felhívták a figyelmet arra, hogy bár a Pireneusokban élő tojásrakó populációk ökológiailag izoláltak a kontinens nyugati részén előforduló elevenszülő populációktól, az Alpokban feltehetőleg kontaktzónákat alakíthattak ki a *Z. v. carniolica* tojásrakó és a *Z. v. vivipara* elevenszülő populációi, azonban erre mindezidáig semmilyen bizonyítékot nem találtak.

A szerzők 37 „vemhes" nőstényt gyűjtöttek be Karintiában, a feltételezett kontaktzónában. Az állatokat ezután terráriumban tartották megfigyelés alatt, a lerakott tojásokat vagy világra hozott fiatal állatokat pedig begyűjtötték további vizsgálat céljából.

Az eredmények megerősítették a természetes úton történő hibridizáció lehetőségét. A 37 nőstény közül ugyan egy példány megtermékenyítetlennek bizonyult, azonban többi 36 nőstény fészekaljának vizsgálata határozott eredményeket mutatott. 14 példány esetében lehetett szabályos (azaz ez esetben a *carniolica* alfajara jellemző) tojásrakó reprodukciós módról, 20 esetében pedig elevenszülésről beszélni. Két nőstény által lerakott tojások a további vizsgálatok során átmeneti jellegűnek bizonyultak, csakúgy, ahogyan korábban a terráriumi kísérletek esetében (Arrayago et al. 1996).

A tojásrakó nőstények által lerakott tojásokban lévő embriók fejlettsége átlagosan 31,5-ös volt (30,5 és 32,5 szélsőértékekkel), a hibrid embrióké pedig 34,5 és 35,5. Ebből következően az utóbbiak inkubációs ideje is rövidebbnek bizonyult.

A tojáshéjak szerkezetének vizsgálata ezzel összevágó eredményeket hozott. A hibrid tojások héja jóval vékonyabb volt (22,0-28,8 µm), mint a szabályos tojásrakók által lerakottaké (70,4-78,3 µm).

Heulin és munkatársainak 2011-ben megjelenő publikációjában a „B" klád két haplocsoportját vizsgálták meg közelebbről. Mitokondriális DNS (Cyt b) szakaszok alapján megállapították, hogy az OF és OC csoportok („szubkládok") között az utolsó jégkorszakban erőteljesen eljegesedő Pireneusok képezett ökológiai barriert, ennek lett eredménye a két haplocsoport létrejötte a kládon belül. A jégkorszak elmúltával a hegylánc gleccserei

10.13147/NYME.2017.003

visszahúzódtak, ezért jelenleg a magashegység nem képez akadályt a populációk terjeszkedésének. A Nyugat-Pireneusokban a kutatók felfedeztek egy nagyon keskeny kontaktzónát is. A publikációban a szerzők egy térképet is közöltek: a faj haplocsoportjainak elhelyezkedése és elterjedése figyelhető meg ezen az ábrán a tudományos kutatások legújabb eredményeinek figyelembevételével.

Milá és munkatársai szintén a cantabro-pireneusi populációkat vizsgálták (Milá et al. 2013). Kutatásaikhoz a *citokróm b* gén mellé az AFLP markert is bevonták. Két új kontaktzónát írtak le az OC és OF csoportok között, valamint részletesen foglalkoztak a Pireneusok barrier-szerepével is.

A japán *Zootoca vivipara* populációk genetikai vizsgálatával foglalkoztak Takeuchi és munkatársai, eredményeikről 2013-ban publikáltak. Kutatásukhoz a mitokondriális *citokróm b* gént választották. Megállapították, hogy a japán populációk genetikai diverzitása rendkívül alacsony, mindössze egyetlen haplotípust azonosítottak a három helyszínről begyűjtött 24 mintából. Ez a japán haplotípus a vizsgált szakaszon mindössze egy nukleotid különbséget mutat az orosz és a (több mint 7000 kilométer távolságban azonosított) fehérorosz VU1 és VU3 haplotípusokkal. Ezek az eredmények egy rendkívül gyors expanziót feltételeznek, ami az utolsó jégkorszak elmúltával ment végbe Európa felől Ázsia keleti pereméig (Takeuchi et al. 2013). A szerzők szerint a faj azon a szárazföldi hídon kolonizálta Japánt, ami jégkorszakban jött létre a Szahalin-szigeteken keresztül Hokkaido és a szárazföld között (Takeuchi et al. 2013).

Horváthová és munkatársai 2013-ban publikálták eredményeiket. Kutatásukban arra keresték a választ, hogy a faj különböző populációi között tapasztalható nagy testméretbeli variabilitást milyen környezeti tényezők okozzák. Vizsgálataik eredménye szerint a nyári aktív időszak hossza eredményezi a különbségeket, és nem a környezet hőmérsékleti értékei. Vizsgálataikat filogenetikai kutatással is kiegészítették. Ezen eredmények közül az egyik legfontosabb az, hogy a Bosznia-Hercegovinában gyűjtött mintáik a VB, azaz a nyugati elevenszülő haplocsoport, „E”-klád jellegzetességeit mutatták.

A közelmúlt legfontosabb filogenetikai kutatási eredményeit 2014-ben jelentették meg, Cornetti és munkatársai a Keleti-Alpok olaszországi szakaszán kutatták a *Z. v. carniolica* alfaj genetikai mintázatát. Vizsgálatukhoz 200 egyedből vettek szövetmintákat, a genetikai vizsgálatokhoz a *citokróm b* mitokondriális gén egy szakaszát, valamint 64 egyed esetében három nukleáris gént választottak ki. Vizsgálataikban először alkalmaztak nukleáris DNS markereket a faj kutatása során. A vizsgálatokat kiegészítették 17 *Z. v. louislantzi* egyed és 11 további változatos geográfiai régiókból származó *Z. vivipara* egyed vizsgálatával is.

10.13147/NYME.2017.003

Eredményeik megerősítették a *carniolica* alfaj monofiletikus jellegét, valamint a kutatás feltárta, hogy az alfaj evolúciós leágazása mintegy 4,5 millió évvel ezelőtt ment végbe. A szerzők ennek ismeretében kijelentik, hogy az alfaj önálló evolúciós egységet képez az elkülönülés hosszú evolúciós történetével (Cornetti et al. 2014). (Érdekes adalékként említem meg azt, hogy bár a szerzők eredményeikkel kapcsolatban nagyon óvatosan fogalmaztak, Larissa Kupriyanova 2014-ben publikált cikkében olyan kontextusban hivatkozik erre a kutatásra, miszerint az alfaj hamarosan faji státuszba emelkedhet. Ez a jelen kutatásomat is komolyan érintheti.)

Kupriyanova és munkatársai 2014-ben skandináv populációk kromoszómamorfológiai vizsgálatáról publikáltak. A szerzők először találtak olyan populációkat a Baltikumban, melyek a szerzők által „orosz formának" nevezett kromoszómamorfológiai egységbe tartoztak, ez a forma a VU haplocsoportnak, azaz a „D" kládnak feleltethető meg. Továbbá kontaktzónákat is azonosítottak a „nyugati forma" (azaz a VB haplocsoport, „E" klád) és az „orosz forma" között. Eredményeik között említésre méltó, hogy Finnországban az „orosz", míg Észak-Svédországban mindkét formát azonosították (Kupriyanova et al. 2014).

2.4. Az elevenszülő gyík eddigi kutatási eredményeinek rövid összefoglalása

Klád	**„A"**	**„B"**	**„C"**	**„D"**	**„E"**	**„F"**
Szaporodási forma	o	o	v	v	v	v
Betűkód	OS	OC/OF	PA	VU	VB	VH
2n ♂/♀	36/36	36/35	36/35	36/35	36/35	36/36
Szexkromoszóma mérete	m	M	M	M	M	m
Szexkromoszóma szerkezete	ZW	Z_1Z_2W	Z_1Z_2W	Z_1Z_2W	Z_1Z_2W	ZW
Szexkromoszóma-morfológia	a	a, a/st	st, a/st	a	sm	a
Kariotípus-forma	1.	2.	2.	2.	2.	1.
Alfaj	*Z. v. carniolica*	*Z. v. louislantzi*	*Z. v. vivipara (Z. v. pannonica)*	*Z. v. vivipara*	*Z. v. vivipara*	*Z. v. vivipara*

1. táblázat: az egyes kládok összefoglaló táblázata. Jelmagyarázat: o=tojásrakó, v=elevenszülő, m=mikrokromoszóma, M=makrokromoszóma, a=akrocentrikus, st=szubtelocentrikus, sm=szubmetacentrikus (Heulin et al. 1993, 2000, Mayer et al. 2000, Surget-Groba et al. 2001, 2006, Kupriyanova et al. 2014, Arribas 2009).

1. **„A” klád:**

   Populációi Olaszországban, Szlovéniában, Ausztria déli részén, Szlovéniában és Horvátország egyes Szlovéniával határos területein fordulnak elő. (*6. ábra*)

2. **„B” klád**

   A két szubklád populációi a Pireneusok és a Cordillera Cantabrica mentén, valamint Aquitaine régió atlantikus partvidékén élnek Dél-Franciaországban és Észak-Spanyolországban. (*6. ábra, 12-13. ábra*)

3. **„C” klád:**

   A klád populációi Északkelet-Ausztria és Magyarország Fertő menti és hansági területein fordulnak elő. A korábban *Z. v. pannonica* néven ismert alfaj létjogosultságát újabban megkérdőjelezik (Arribas 2009), mivel az eredetileg „sztyeppi forma”-ként azonosított alfajt a kelet-szlovákiai Botany-ban írták le először (Arribas 2009). Ez a földrajzi megjelölés VB haplocsoport elterjedési területén található, így a modern filogenetikai osztályozás szerint nem megfeleltethetőek egymással (Arribas 2009) annak ellenére, hogy a szerzők egy része egyértelműen a Fertő-medencére és az Alpok keleti peremére (Semmering környéke) értelmezi a *pannonica* alfaj elterjedését (Surget-Groba et al. 2006, 2011, Kupriyanova 2006, 2014). (*6. ábra, 11. ábra*)

4. **„D” klád:**

   Rendkívül elterjedt csoportról van szó, populációi Magyarország keleti részétől Ázsián keresztül egészen Japánig fordulnak elő (Surget-Groba et al 2006, Takeuchi et al. 2013). Északon a Baltikumon keresztül Svédország északi részéig azonosították (Kupriyanova et al. 2014). Kupriyanova (2014) „orosz forma”-ként említi. (*6. ábra, 7-10. ábra*)

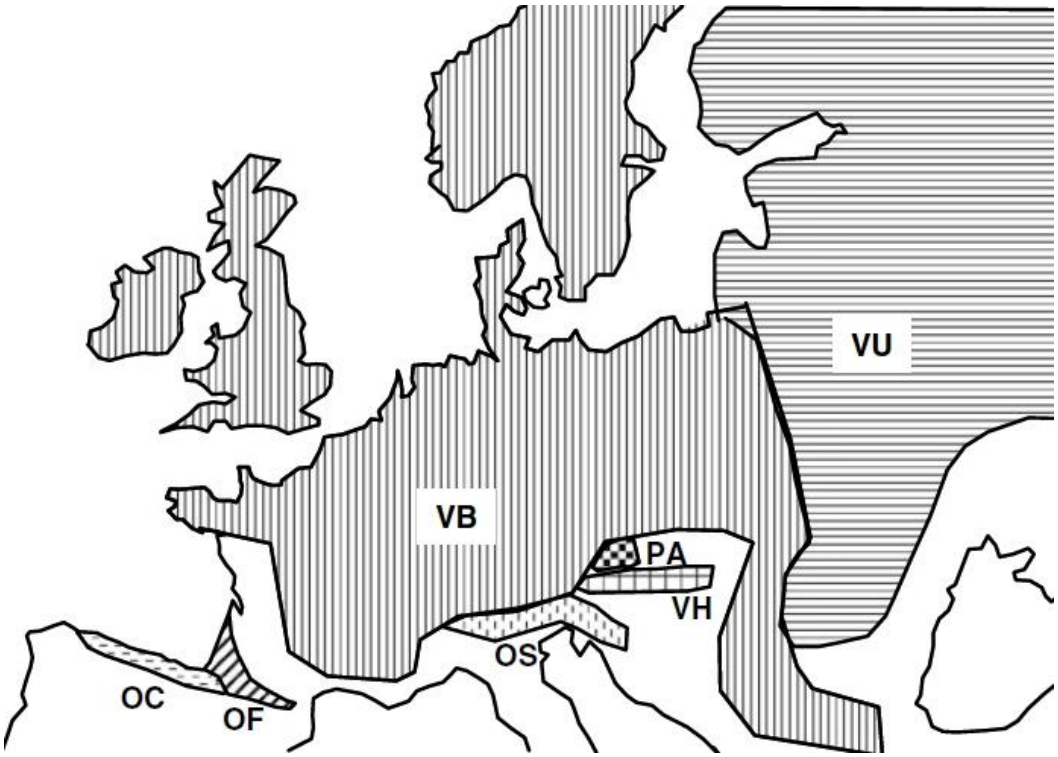
5. **„E” klád:**

   Populációi Észak- és Nyugat-Európában élnek, valamint egy különálló csoport a Balkán-félszigeten fordul elő. Kupriyanova (2014) „nyugati forma”-ként említi. (*6. ábra, 14. ábra*)

6. **„F” klád:**

   A magyarországi Duna-Tisza közéről és Délkelet-Ausztriából ismert különleges klád, melyet Arribas 2009-ben úgy említ, mint „a *carniolica* elevenszülő variánsa”.(*6. ábra*)

10.13147/NYME.2017.003



6. Ábra: Az egyes haplocsoportok elterjedési térképe (Heulin et al. 2011) (OS="A" klád, OC+OF="B" klád, PA="C" klád, VU="D" klád, VB="E" klád, VH="F" klád).

7. Ábra: Elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara*, LICHTENSTEIN 1823), „D" klád, Bátorliget (Dr. Puky Miklós felvétele)

10.13147/NYME.2017.003

8. Ábra: A „D” klád élőhelye Bátorligeten (Dr. Puky Miklós felvétele)

9. Ábra: A „D” klád élőhelye a Hargitán (Keleti-Kárpátok) (A szerző felvétele)

10. Ábra: A „D” klád élőhelye a Hargitán (Keleti-Kárpátok) (A szerző felvétele)

11. Ábra: Elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara*, LICHTENSTEIN 1823), „C” klád, Hanság (A szerző felvétele)

10.13147/NYME.2017.003

12. Ábra: Elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara,* LICHTENSTEIN 1823), „B” klád, Aubisque-hágó (Pireneusok) (A szerző felvétele)

13. Ábra: A „B” klád élőhelye a Tentes-hágó alatt (Pireneusok) (A szerző felvétele)

10.13147/NYME.2017.003

14. Ábra: Az „E” klád élőhelye a Giau-hágón (Dolomitok) (A szerző felvétele)

10.13147/NYME.2017.003

3. Célkitűzés

A téma alapos kutatásához az alábbi célokat tűztem ki:

I. A faj elterjedésével kapcsolatos ismeretanyag bővítése - új populációk felkutatása

II. A faj filogeográfiai vonatkozású elterjedési térképeinek aktualizálása genetikai vizsgálatok segítségével, különös tekintettel az alábbi témakörökben:

1. Az „F” klád (VH haplocsoport) dél-dunántúli „folyosója”
2. Az „E” klád (VB haplocsoport) balkáni „folyosója”
3. Egy keleti ősi (tojásrakó) - eddig ismeretlen - klád felkutatása

10.13147/NYME.2017.003

4. Anyag és módszer

4.1. Mintavételezés

A mintavételezés 2002 és 2012 között zajlott le és mintegy 18 populáció 161 egyedét érintette a Kárpát-medencében. Mintáink Magyarországon belül a Hanságból, a Duna-Tisza közéről és az ország északkeleti részéből, valamint Erdély közép- és magashegységi régióiból származnak (*2. táblázat*).

	Populáció	Ország	n
1	Bősárkány	Magyarország	2
2	Lébény	Magyarország	3
3	Kiskőrős 1	Magyarország	2
4	Kiskőrös 2	Magyarország	3
5	Bátorliget	Magyarország	10
6	Sényő	Magyarország	10
7	Fülöp	Magyarország	7
8	Garbolc	Magyarország	7
9	Csaroda	Magyarország	5
10	Broscauti	Románia	12
11	Transfagarasan/ Transzfogaras	Románia	13
12	Frumoasa/ Csíkszépvíz	Románia	11
13	Lacul Sfanta Ana/ Szent Anna-tó	Románia	10
14	Muntii Gurghiu/ Görgényi-havasok	Románia	14
15	Muntii Semenic/ Szemenik-hegység	Románia	13
16	Muntii Tibles/ Cibles	Románia	10
17	Predeal	Románia	15
18	Stana de Vale	Románia	14

2. táblázat: Mintavételi helyek és mintaszámok

A 15. ábrán a mintavételi helyeket térképen ábrázoltam. A korábban publikált (Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006) adatok megjelenítése a 3. táblázatban összefoglalt sorrendben történt.

A mintavételi helyek kiválasztásánál elsődleges szempont volt az, hogy a gyűjtési munkákat a korábbi kutatásokkal (Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006) összhangba állítsuk, illetve hogy minden ismert elterjedési területről gyűjtsünk. A kutatási eredmények pontosítására való törekvés miatt a keresést olyan területekre is kiterjesztettük, ahol eddig nem találták meg a faj egyedeit. Ennek eredményeként új populációit sikerült megtalálni a Duna-Tisza közén és Kelet-Magyarországon egyaránt.

10.13147/NYME.2017.003

15. ábra: Mintavételi helyek térképes megjelenítése. Zöld/piros korongok: saját minták, kék/sötétkék korongok: korábban publikált kutatások mintavételi helyei (Surget-Groba et al. 2001, 2006). Sorszámok magyarázata: 2. és 3. táblázat. (Forrás: Google Maps – maps.google.com és ScribbleMaps – www.scribblemaps.com).

10.13147/NYME.2017.003

A Hanságban a korábbi gyűjtések helyszínétől keletebbre, a Duna-Tisza közén délebbre zajlott a mintavétel.

Kelet-Magyarországon mind észak-déli, mind kelet-nyugati irányban szélesebb sávot mintáztunk meg. Erre azért volt szükség, hogy a Heulin és munkatársainak 2011-ben publikált elterjedési térképén szereplő, az észak-nyugat európai és a balkáni VB haplotípusokat (E-klád) összekötő „híd" létezését alá tudjuk támasztani – illetve meg tudjuk cáfolni.

Az erdélyi területeken az előző kutatások által elkerült helyszínekre koncentráltunk. Egyik fő irányvonalunk volt Románia nyugati részének összes ismert populációjából gyűjteni, hogy a fent említett összeköttetés nyomait megtaláljuk az „E"-kládban, azonban új populációkat itt nem sikerült találni (Covaciu-Marcov et al. 2008). Másik kiemelten fontos területünk a Déli-Kárpátok és a Keleti-Kárpátok déli része volt. Ennek az volt az oka, hogy több korábbi kutatás (Guillaume et al. 1997, Surget-Groba et al. 2001) által sejtetett, de eddig meg nem talált keleti ősi klád meglétére kerestünk bizonyítékokat. Az „A"-klád megtalálásával az érdeklődés ugyan elhalt ezzel kapcsolatban, azonban Surget-Groba és munkatársai 2001-ben publikált kutatásukban nem tartották lehetetlennek egy, még az „A" kládnál is keletebbre elhelyezkedő ősi csoport meglétét (ahol akár az elevenszülés is kialakulhatott). Mivel Törökország északi részének magashegységeiben és a Kaukázusban nem ismertek elevenszülő gyík populációk, erre utaló nyomokat csak a Déli- és a Keleti-Kárpátokban találhattunk.

1	Fertő tó
2	Ócsa
3	Bátorliget
4	Fábiánháza
5	Mánd-Fülesd
6	Tarpa
7	Marghita
8	Valdeasa
9	Óradna
10	Eremitu
11	Retyezát
12	Sureanu

3. táblázat: Korábban publikált adatok mintavételi helyei (Surget-Groba et al. 2001, 2006)

A szövetmintákat a farok végének kb. 1 cm-es lemetszésével nyertük. A 2002-2003-ban Erdélyben gyűjtött mintákat 95%-os, a 2010 és 2012 között begyűjtött magyarországi mintákat 99,7%-os etanolban tároltuk.

10.13147/NYME.2017.003

4.2. DNS kivonás

A DNS kivonását Sigma-Aldrich GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit-tel végeztem. A kivonás során a gyártó „Rodent Tail Preparation" protokollját követtem. A mintákból egy kivonás alkalmával maximum 3-4 mm-es darabokat használtam fel. A minták proteináz-K enzim segítségével végbemenő emésztődési folyamata 5-6 óra alatt ment végbe. A kivont DNS-t 100 µl „Elution Solution" folyadékkal oldottam le a membránról.

A kapott PCR termékből 2,5 µl-t 1%-os agaróz gélen lefuttatott elektroforézissel ellenőriztem a kivonás sikerességét.
A kivont DNS-t a további munkáig -20 °C-on tároltuk.

4.3. PCR (Polimeráz Láncreakció)

A kutatáshoz 2 mitokondriális DNS szakaszt választottunk ki.

(Döntésünk oka az volt, hogy a korábbi jelentős kutatások (Heulin et al. 1999, Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006, Takeuchi et al. 2013, Cornetti al. 2014) többsége ezen szakaszokat alkalmazta, több mint száz szekvencia érhető el a GenBank adatbázisából. Munkánkat így a korábbiakhoz tudtuk igazítani.)

A kiválasztott szakaszok:

1. Egy 429 bázispár hosszúságú fragment, mely a fehérjekódoló *citokróm b* gén 406 bázispár hosszúságú szakaszát tartalmazza, valamint ezt egy ehhez kapcsolódó Glu-tRNA 23 bázispár hosszúságú szakasz egészíti ki.
2. A nem fehérjekódoló 16s rRNS gén egy körülbelül (haplotípustól függően) 480 bázispár hosszúságú szakasza. Ugyan az elmúlt 10 évben már nem alkalmazták, Heulin és társainak (1999), valamint Surget-Groba és társainak kutatásaiból (2001, 2002) származó szekvenciákat a *citokróm b* szakasz elemzésének megerősítésére használhattam fel.

Felhasznált primerek:

1. *Citokróm b*: MVZ05 (L14115) 5' – CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG – 3'
   MVZ04 (H14542) 5' – GCAGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTC – 3'

(Smith és Patton 1991)

2. 16s rRNS: 16sar-L 5' – CGCCTGTTTATCAAAAACAT – 3'
   16sbr-H 5' – CCGGTCTGAACTCAGATCACGT – 3'
   (Palumbi et al. 2002)

Reakcióelegy összetétele 35 µl végtérfogatban:

ddH_2O	22,84 µl
Buffer (Fermentas)	3,50 µl
$MgCl_2$ (Fermentas)	2,10 µl
dNTPs (10mM) (Fermentas)	0,98 µl
F (10µM) (Bio-Science)	0,55 µl
R (10µM) (Bio-Science)	0,55 µl
Taq DNA Polimeráz (Fermentas)	0,28 µl
DNS minta	4,20 µl

A PCR-reakciókat egy Eppendorf Mastercycler gradient készüléken végeztem el. A reakciók lefuttatásánál az alábbi programot állítottam be:

1. *Citokróm b*: Kezdeti denaturációs lépés 94 °C 3 perc
   35 ciklus denaturáció 95 °C 30 másodperc
   „annealing" 50 °C 1 perc
   extenzió 72 °C 30 másodperc
   befejező extenzió 72 °C 10 perc

2. 16s rRNS: Kezdeti denaturációs lépés 94 °C 3 perc
   35 ciklus denaturáció 94 °C 30 másodperc
   „annealing" 47 °C 1 perc
   extenzió 72 °C 1 perc
   befejező extenzió 72 °C 10 perc

A kapott PCR termékből 2,5 µl-t 1%-os agaróz gélen elektroforetizálva ellenőriztem a reakció sikerességét.

10.13147/NYME.2017.003

4.4. Szekvenálás

A DNS szekvenálást az Eurofin Laboratórium végezte el. Mindkét gén esetében egyirányos leolvasást végeztettünk el.

A szekvenálás eredményét SnapGene szoftverrel (GSL Biotech, SnapGene.com) ellenőriztem, az esetlegesen előforduló hibákat manuálisan javítottam. A „double peak" tartalmú szekvenciákat a további adatelemzésből kizártam.

4.5. Adatfeldolgozás

A szekvenciák illesztését ClustalX szoftverrel (Thompson et al. 1997) végeztem el.
Az egyes haplotípusok leszármazásviszonyainak meghatározásához MEGA 6.06 (Tamura et al. 2013) szoftvert használtam Neighbor-Joining statisztikai módszerrel, Bootstrap eljárással, Gamma eloszlás és 1000 Bootstrap ismétlés mellett. A begyűjtött minták filogenetikai státuszának meghatározása a GenBank adatbázisából letöltött szekvenciák (Surget-Groba et al. 2002, 2006) segítségével történt (*4. táblázat*).

Haplotípus	*cytb*	16s rRNS	Haplotípus	*cytb*	16s rRNS
OS3	AF444038.1	AY714971.1	VU7	AY714908.1	AY714956.1
OS4	AF444039.1	AY714972.1	VU8	AY714909.1	AY714957.1
OS5	AF444040.1	AY714973.1	VU9	AY714910.1	AY714958.1
OS7	AF444042.1	AY714974.1	VB1	AY714882.1	AY714930.1
OS8	AY714927.1	AY714975.1	VB2	AY714883.1	AY714931.1
OS9	AY714928.1	AY714976.1	VB3	AY714884.1	AY714932.1
OF1	AY714919.1	AY714967.1	VB4	AY714885.1	AY714933.1
OF2	AY714920.1	AY714968.1	VB5	AY714886.1	AY714934.1
OF3	AY714921.1	AY714969.1	VB6	AY714887.1	AY714935.1
OF4	AY714922.1	AY714970.1	VB7	AY714888.1	AY714936.1
OC1	AY714915.1	AY714963.1	VB8	AY714889.1	AY714937.1
OC2	AY714916.1	AY714964.1	VB9	AY714890.1	AY714938.1
OC4	AY714917.1	AY714965.1	VB10	AY714891.1	AY714939.1
OC5	AY714918.1	AY714966.1	VB11	AY714892.1	AY714940.1
VH1	AY714913.1	AY714961.1	VB12	AY714893.1	AY714941.1
VH2	AY714914.1	AY714962.1	VB13	AY714894.1	AY714942.1
PA1	AY714911.1	AY714959.1	VB14	AY714895.1	AY714943.1
PA2	AY714912.1	AY714960.1	VB15	AY714896.1	AY714944.1
VU1	AY714902.1	AY714950.1	VB16	AY714897.1	AY714945.1
VU2	AY714903.1	AY714951.1	VB17	AY714898.1	AY714946.1
VU3	AY714904.1	AY714952.1	VB18	AY714899.1	AY714947.1
VU4	AY714905.1	AY714953.1	VB21	AY714900.1	AY714948.1
VU5	AY714906.1	AY714954.1	VB22	AY714901.1	AY714949.1
VU6	AY714907.1	AY714955.1			

4. táblázat: A korábbi kutatásokból származó szekvenciák GenBank-i azonosítoszáma (Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006)

Külcsoportokként egy-egy megegyező szekvenciát használtam fel a *Podarcis muralis* és *Lacerta bilineata* fajokból, melyeket szintén a GenBank adatbázisából töltöttem le.
Az azonosított, valamint az újonnan felfedezett egyedi haplotípusokból ezután már csak egy-egy szekvenciát használtam fel a további analízisekhez.

Külcsoportok

1. *Citokróm b*: *Podarcis muralis* (GenBank azonosító szám: HQ652924.1)
   Lacerta bilineata (GenBank azonosító szám: DQ646344.1)

2. 16s rRNS: *Podarcis muralis* (GenBank azonosító szám: DQ081106.1)
   Lacerta bilineata (GenBank azonosító szám: AY714979.1)

A Bayesian filogenetikai törzsfa BEAST v1.8.2 programcsomaggal (Drummond et al. 2012) készült. Az alapbeállításokat a programcsomag részét képező BEAUti szoftveren hajtottam végre a citokróm *b* esetében Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) modellel, Gamma eloszlással MCMC (Markov Chain Monte Carlo) analízis mellett, 100 millió generációval, 10000-es mintavételi sűrűséggel és 10%-os „Burn in" értékkel. A 16s rRNS szakaszon Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) modellel, G+I (Gamma + Invariant sites) eloszlással MCMC (Markov Chain Monte Carlo) analízis mellett, 100 millió generációval, 10000-es mintavételi sűrűséggel és 10%-os „Burn in" értékkel.

A megfelelő nukleotidszubsztitúciós modell kiválasztásához a JModelTest szoftver (Darriba et al. 2012, Guindon és Gascuel 2003) 2.1.7 verzióját használtam fel, és az AIC kritérium (Akaike Information Criterion) (Akaike 1974, Posada és Crandall 1998) alatt legmegfelelőbbnek talált modellt alkalmaztam.

Mivel a citokróm *b*-re legjobbnak talált HKY+G szubsztitúciós modell megegyezett a Takeuchi és munkatársai (2013), de eltért a Cornetti és munkatársai (2014) által kiválasztottól (GTR+G – General Time Reversible + Gamma Distribution), a modell helyességét MEGA 6.06 (Tamura et al. 2013) szoftverrel is ellenőriztem.

A BEAST v1.8.2 által lefuttatott eredmények helyességét Tracer v1.6 szoftverrel (Rambaut et al. 2014) ellenőriztem. Az eredményeket TreeAnnotator (Drummond et al. 2012) programmal összegeztem „maximum clade credibility" törzsfaként és FigTree v1.4.2 szoftverrel (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree) dolgoztam fel.

MEGA 6.06 (Tamura et al. 2013) programmal Maximum Likelihood filogenetikai törzsfákat is előállítottam, Bootstrap módszerrel, HKY+G szubsztitúciós modellel, 1000-

szeres Bootstrap ismétlés mellett. A citokróm *b* szakaszon ugyanezen beállításokkal a „divergence time" kiszámítását is elvégeztem. Az elemzés kalibrálására a *Podarcis peloponnesiaca* és a *Podarcis cretensis* fajok (Lymberakis et al. 2008) divergenciájának feltételezhető idejét használtam fel (Cornetti et al. 2014). Ez a divergencia mintegy 5,2 +/- 0,1 millió évvel ezelőtt, a messinai sókrízis végén következhetett be, a Földközi-tenger medencéjének vízzel való újbóli feltöltődése és ezáltal Kréta szigetének kialakulása révén (Beerli et al. 1996). A felhasznált szekvenciák GenBank-i azonosítószáma: *P. peloponnesiaca*: AY896117, *P. cretensis*: AF4861220.

„Median-Joining" algoritmus felhasználásával a NETWORK szoftver 4.6.1.3-as verziójának segítségével (Bandelt et al. 1999) *citokróm b* mtDNS haplotípus hálózatot készítettem. A hálózat létrehozásához szintén felhasználtam a korábbi kutatásokból (Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006) származó haplotípusok szekvenciáját.

A Maximum Likelihood kombinált filogenetikai törzsfát MEGA 6.06 (Tamura et al. 2013) programmal készítettem, Bootstrap módszerrel, HKY+G szubsztitúciós modellel, 1000-szeres Bootstrap ismétlés mellett. A szekvenciák összeillesztésénél első helyre a citokróm *b* szakasz került. Mivel az egyes populációkból, több példányból származó minták esetében nem mindig volt átfedés a sikeres citokróm b és 16s rRNS minták esetében, így ilyenkor két (azonos populációból származó) különböző egyedek mintáit kombináltam. A Cibles és a Semenic-hegységből származó mintáknál nem volt sikeres 16s rRNS szekvencia, ezeket így kihagytam a kombinált törzsfából.

10.13147/NYME.2017.003

5. Eredmények

5.1. Citokróm *b*

A begyűjtött 161 mintából a DNS-kivonást, PCR-t és szekvenálást követően 74 minta esetében került sor további elemzésre a fehérjekódoló mitokondriális citokróm *b* gén 385 bázispár hosszúságú szakaszán.

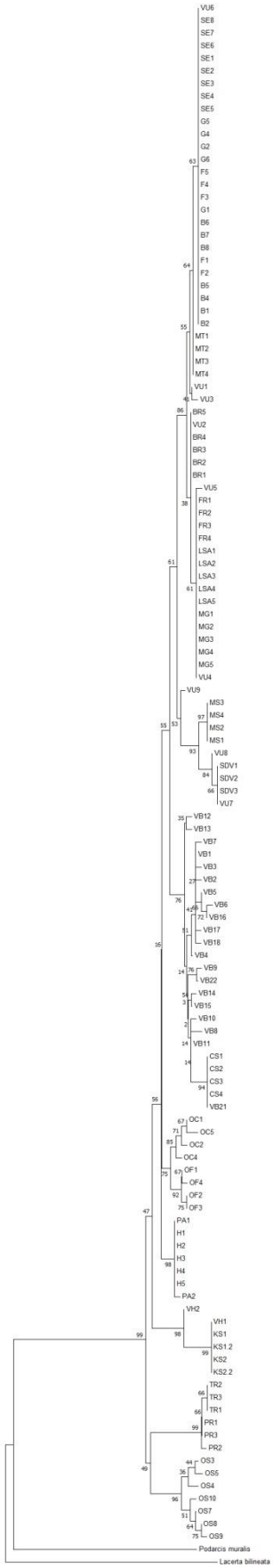
A vizsgált szakasz 128 aminosavat kódol. Az átlagos nukleotidösszetétel a következőképpen alakult: T: 35,9%, C: 25,0%, A: 26,7%, G: 12,5%. A becsült tranzíció/transzverzió arány 8,15.

A Neighbor-Joining filogenetikai törzsfa (*16. ábra*) elkészítésével a begyűjtött mintákból összesen 12 haplotípus azonosítása történt meg. Ebből 5 haplotípus bizonyult újnak a tudomány számára, mivel semmilyen egyezést sem sikerült találni az elmúlt évek publikált GenBank-i adataival. A magyarországi és erdélyi szekvenciák többségének filogenetikai státusza egyértelműen meghatározható volt és a következőképpen alakult (*5. táblázat*):

Mintavételi hely	Minták kódjai	Azonosított klád*	Azonosított haplotípus*
Bősárkány	H1, H2	C	PA1
Lébény	H3, H4, H5	C	PA1
Kiskőrös1	KS1, KS1.2	F	VH1
Kiskőrös2	KS2, KS2.2	F	VH1
Bátorliget	B1, B2, B4, B5, B6, B7, B8	D	VU6
Sényő	SE1, SE2, SE3, SE4, SE5, SE6, SE7, SE8	D	VU6
Fülöp	F1, F2, F3, F4, F5	D	VU6
Garbolc	G1, G2, G4, G5, G6	D	VU6
Csaroda	CS1, CS2, CS3, CS4	E	VB21
Broscauti	BR1, BR2, BR3, BR4, BR5	D	VU2
Transfagarasan/ Transzfogaras	TR1, TR2, TR3	Új klád	Új haplotípus
Frumoasa/ Csíkszépvíz	FR1, FR2, FR3, FR4	D	VU4
Lacul Sfanta Ana/ Szent Anna-tó	LSA1, LSA2, LSA3, LSA4, LSA5	D	VU4
Muntii Gurghiu/ Görgényi-havasok	MG1, MG2, MG3, MG4, MG5	D	VU4
Muntele Semenic/ Szemenik-hegység	MS1, MS2, MS3, MS4	D	Új haplotípus
Muntii Tibles/ Cibles	MT1, MT2, MT3, MT4	D	Új haplotípus
Predeal	PR1, PR3	Új klád	Új haplotípus
	PR2	Új klád	Új haplotípus
Stana de Vale	SDV1, SDV2, SDV3	D	VU7

5. táblázat: Azonosított kládok és haplotípusok (*Surget-Groba et al. 2001, 2006)

10.13147/NYME.2017.003



16. ábra: Neighbor-Joining filogenetikai törzsfa (citokróm *b*)

Annak ellenére, hogy a Magyarországon gyűjtött minták a korábbi kutatásokhoz képest földrajzilag nagyobb területről származnak, az esetek többségében a várt eredményt hozták. A hansági minták a PA1-es, a Duna-Tisza közén gyűjtött minták pedig egyértelműen a korábban Ócsán leírt VH1-es haplotípus jellegzetességeit mutatták. Kiterjedt kutatásunk által sem Zala, sem Somogy és Tolna megye területén nem sikerült új populációkat találnunk. Így kijelenthető, hogy a Heulin és munkatársai által 2011-ben publikált elterjedési térképen ábrázoltakkal ellentétben a Délkelet-Ausztriában leírt VH2-es és a Duna-Tisza közi VH1-es haplotípusok között semmilyen földrajzi kapcsolat nincsen.

A kelet-magyarországi minták elemzése két klád azonosítására is lehetőséget adott. A Tiszától északra, Csaroda mellett gyűjtött mintákból a VB21-es haplotípust („E" klád) azonosítottuk, csakúgy ahogyan a korábbi kutatások Tarpa mellett. A két helyszín közötti távolság mindössze 6 kilométer.

A Tiszától délre azonban minden korábbi kutatás a „D" klád egyedeit találta meg, az összes mintában a VU6-os haplotípust azonosítva (Surget-Groba et al. 2006, Yann Surget-Groba személyes írásbeli közlése). Ehhez hasonlóan az általunk Bátorligeten, Sényőn, Fülöpön és Garbolcon gyűjtött minden minta a VU6-os haplotípusba tartozott. A Tiszától délre egyetlen helyen sem azonosítottunk VB haplotípust Magyarországon, az ország keleti részén nem is ismert Fülöptől délre található elevenszülő gyík populáció (Puky et al. 2005, illetve Puky Miklós személyes szóbeli közlése), és ezen kutatás sem tárt fel újabbakat.

Románia nyugati felén elhelyezkedő pannon Alföldön mindössze a magyar populációk közvetlen közelében, a síkság északi részén ismertek populációk (Covaciu-Marcov et al. 2008), ezek mindegyike a VU haplocsoportba, azaz „D"-kládba tartozik a korábbi kutatások szerint (Surget-Groba et al. 2001, 2006). Az országban gyűjtött mintáink legnyugatabbi része így az Erdélyi-Szigethegységre (Stana de Vale, lásd: Anyag és módszer) és a Déli-Kárpátok legnyugatibb tagjára, a Szemenik-hegységre (lásd: Anyag és módszer) korlátozódott földrajzilag. Ezutóbbi területről egyetlen korábbi kutatás sem rendelkezett adatokkal (Surget-Groba et al. 2001, 2006).

A vizsgálatok eredményeképpen a Stana de Vale-ban gyűjtött mintáink a VU7-es haplotípusba tartoznak, hasonlóan a korábban Valdeasa-ban gyűjtött mintákhoz (Surget-Groba et al. 2006). A Szemenik-hegységben élő populáció egy új haplotípust adott, azonban egyértelműen a VU-haplocsoporton, azaz „D"-kládon belül. Az új haplotípus filogenetikai pozíciója jól láthatóan a Retyezátban és a Kudzsiri-havasokban (Sureanu) azonosított VU8 és VU9-es haplotípus (Surget-Groba et al. 2006) mellett található a Neighbor-Joining törzsfán, ez a földrajzi szomszédsággal is összhangban van.

VB haplocsoportba („E”-klád) tartozó populációt sehol sem azonosítottunk. Ez alapján kijelenthető, hogy a Heulin és munkatársai (2011) által sugallt „folyosó” a klád nyugat-európai és balkáni populációi között sem Kelet-Magyarországon, sem Nyugat-Romániában nem létezik (Velekei et al. 2014). Az „E” klád balkáni haplotípusai így a klád fő elterjedési területétől teljesen elszigetelt populációkat alkotnak.

Az ország északkeleti, moldvai részén, Broscautiban gyűjtött minta a Kelet-Európában és Ázsiában rendkívül elterjedt VU2-es haplotípus (Surget-Groba et al. 2006) jellegzetességeit mutatta.

A Ciblesben gyűjtött mintákban szintén új haplotípust azonosítottunk. A haplotípus Neighbor-Joining filogenetikai pozíciója a Kelet-Magyarországon és Északnyugat-Romániában elterjedt VU6-os haplotípus mellett található.

A Keleti-Kárpátokban (Csíkszépvíz – Frumoasa, Szent Anna-tó – Lacul Sfanta Ana, Görgényi Havasok – Muntii Gurghiu) gyűjtött minták a korábban Surget-Groba és munkatársai (2006) által Nyárádremete (Eremitu) mellett azonosított VU4-es haplotípus tulajdonságait mutatták.

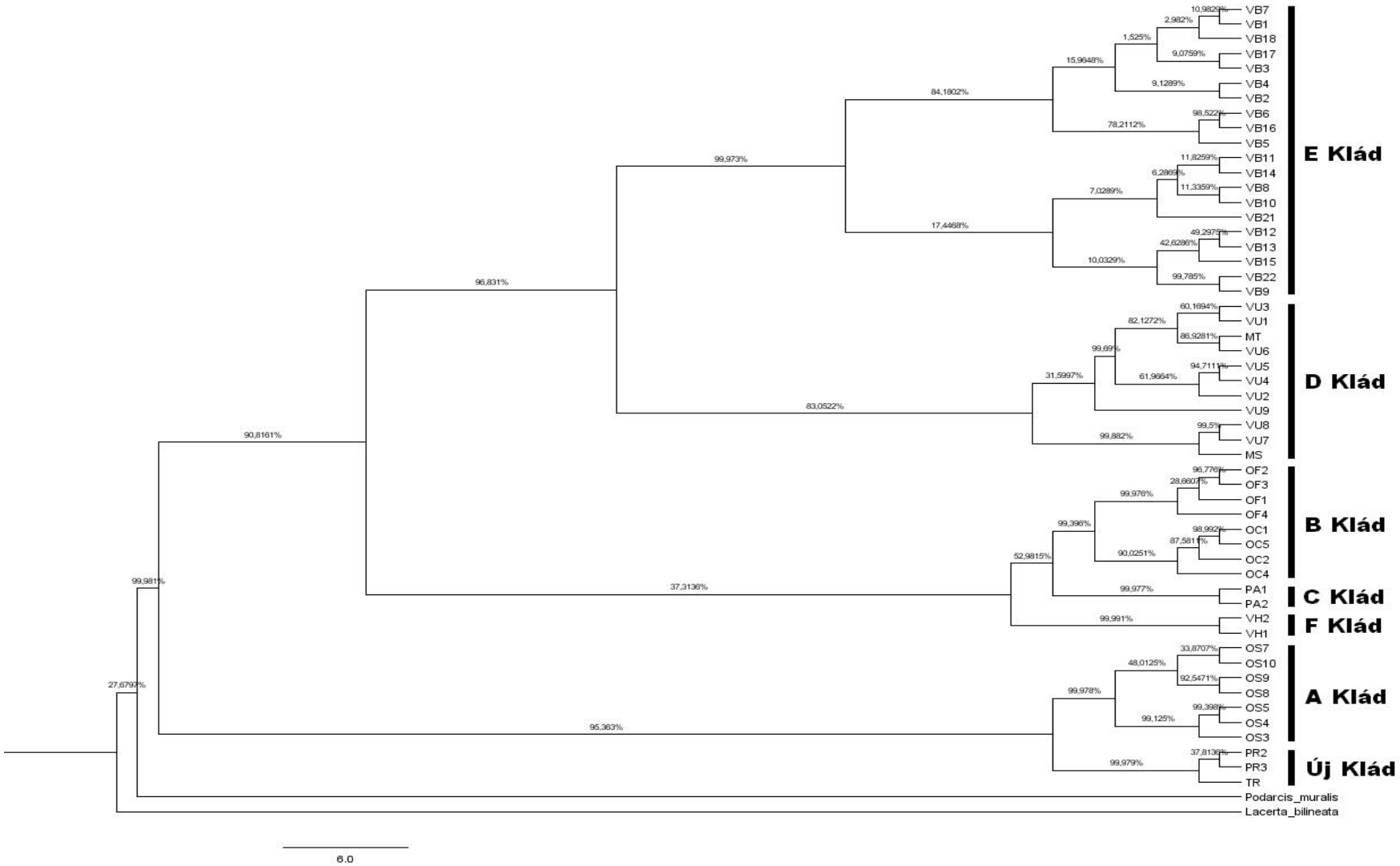
A Déli-Kárpátok nyugati tagjaiban, a Fogarasi-Havasokban (Transzfogaras) és a Bucsecsben (Predeal) mintázott populációk rendkívül érdekes eredménnyel szolgáltak. Az innen gyűjtött szekvenciák nem csak új haplotípusoknak bizonyultak, hanem a Neighbor-Joining törzsfán betöltött pozíciójuk arra enged következtetni, hogy egy eddig teljesen ismeretlen kládba tartoznak.

A BEAST Bayesian analízisben minden haplotípusból csak egyetlen szekvenciát használtam fel. Az elkészült törzsfa (*17. ábra*) topológiailag hasonló, mint a korábban publikált kutatásokban ábrázolt filogenetikai törzsfák (Cornetti et al. 2014, Horváthová et al. 2013, Surget-Groba et al. 2001, 2006, Takeuchi et al. 2013).

A kládok többségében nagy „posterior probability” értékkel jelennek meg, az újként azonosított MT és MS haplotípusok a Neighbor-Joining analízistől nem lényegesen eltérő helyen találhatóak meg a „D” kládon belül.

A legfőbb különbség a törzsfa alapjánál található. Az „A” klád itt is világosan elkülönül az összes többi kládtól, azonban itt egy újabb csoport jelenik meg a Fogarasi-Havasokban és a Bucsecsban élő populációk által, melyeket a PR és TR kódjelű minták képviselnek. A Bucsecsből két haplotípussal, a Fogarasi-Havasokból egy haplotípussal képviselteti magát ez az új, pozíciója alapján az „A” tojásrakó kládhoz hasonló, feltételezhetően ősi klád, méghozzá nagyon jól támogatott „posterior” valószínűségi értékkel.

10.13147/NYME.2017.003



17. ábra: A Bayesian analízis során létrehozott „maximum clade creditibility” filogenetikai törzsfa. A „posterior probability” értékek az ágak felett láthatóak. A kládok elnevezése Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006 alapján.

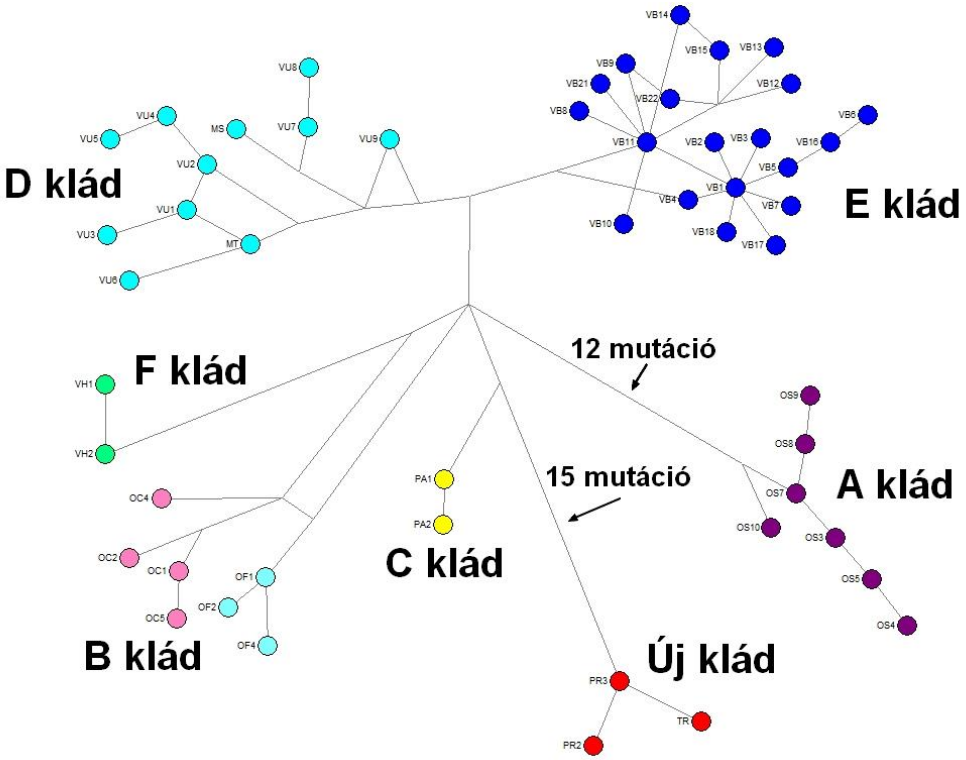
10.13147/NYME.2017.003

A vizsgálat alapján egyértelműen kijelenthető, hogy egy olyan új kládot sikerült azonosítani, melynek létezését régóta sejtik (Guillaume et al. 1997, Surget-Groba et al. 2001), azonban erre vonatkozóan mindezidáig egyetlen kutatás sem tudott bizonyítékkal előállni (Velekei et al. 2015).

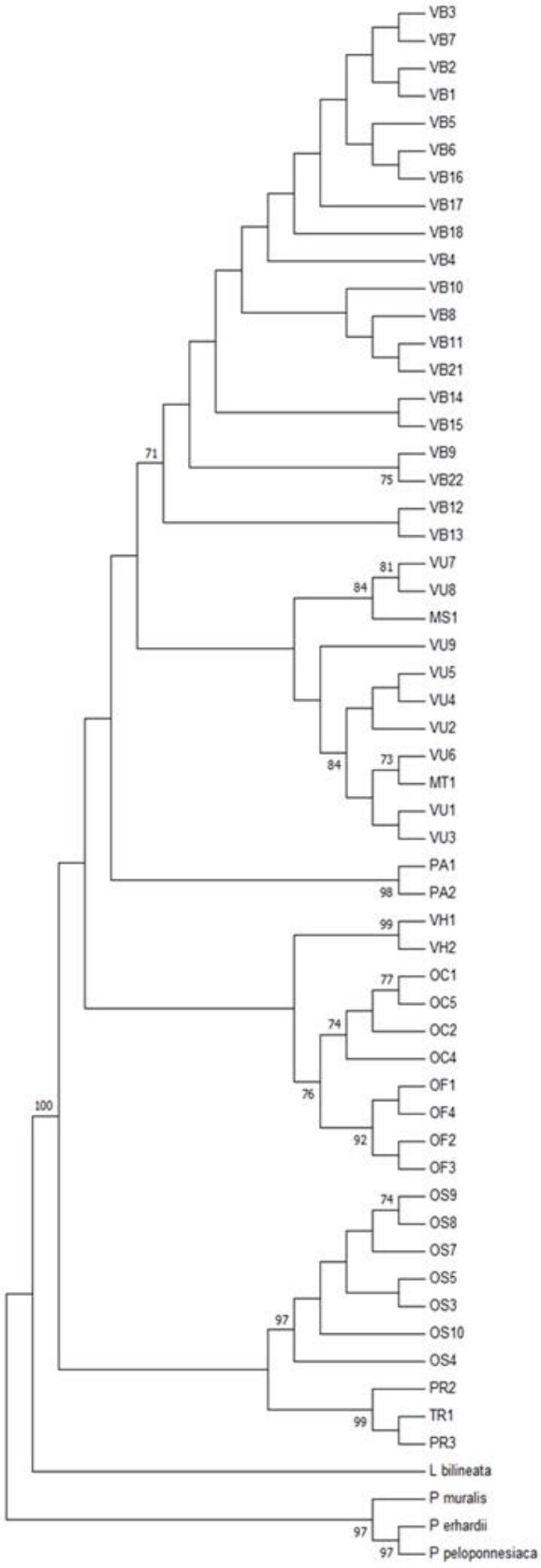
Az ellenőrzésképpen lefuttatott Maximum Likelihood analízis topológiailag hasonló törzsfát eredményezett, ezáltal megerősítette a Bayesian vizsgálat eredményének helyességét (*19. ábra*), a legfontosabb elágazásokban magas „bootstrap" értékek mellett.

A divergencia idejének kiszámítása során a korábbi vizsgálatokkal (Cornetti et al. 2014) összecsengő eredmények születtek (*20. ábra*). Az „A" klád és az összes többi klád „divergence time" értéke ugyan magasabb lett (kb. 5,1 millió év középértékkel), mint Cornetti és munkatársainak vizsgálata során született eredmény (kb. 4,5 millió év középértékkel), ugyanakkor a többi klád divergenciájának hozzávetőleges ideje nem mutat jelentős különbségeket. A vizsgálat szerint az újonnan felfedezett klád mintegy 3,4 millió évvel ezelőtt ágazott le az „A" kládról.

A kládok egyértelmű elkülönülését a Median-Joining hálózat is megerősítette, köztük az újonnan felfedezett kládét is (*18. ábra*). A létrehozott ábra – leszámítva az új klád megjelenését – topológiailag lényegében megegyezik a Cornetti és munkatársai által készítettel.

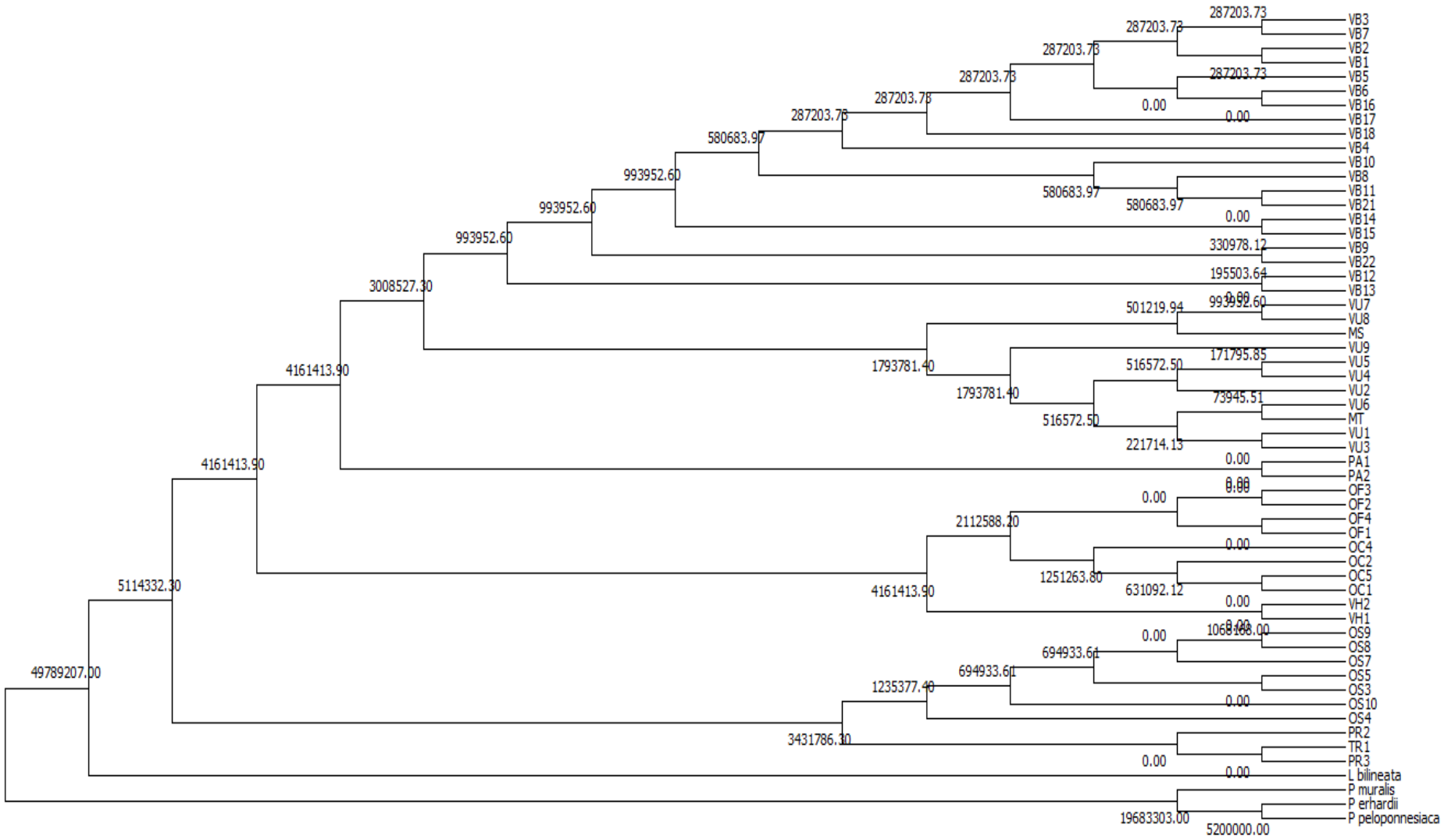


18. ábra: Median-Joining haplotípushálózat. A korongok a haplotípusokat, a színek az egyes kládokat jelölik (a „B" klád esetében a két haplocsoportot is külön színek jelölik).



19. ábra: Maximum Likelihood filogenetikai törzsfa. A „bootstrap” értékek (>70) az ágak mellett láthatóak.

10.13147/NYME.2017.003



20. ábra: Maximum Likelihood filogenetikai törzsfa. A „divergence time” értékek az elágazásokban láthatóak.

10.13147/NYME.2017.003

5.2. 16s rRNS

Összesen 43 minta esetében történt elemzés a nem fehérjekódoló 16s rRNS génszakaszon. A *citokróm b* gén elemzéséhez felhasznált populációkkal összehasonlítva három populáció esetében nem került sor semmilyen szintű vizsgálatra: a Szemenik-hegységből, a Ciblesből és a Fülöp mellől gyűjtött mintákat – feltételezhetően a PCR vagy a szekvenálás során elkövetett hiba miatt – a további analízisekből kizártam.

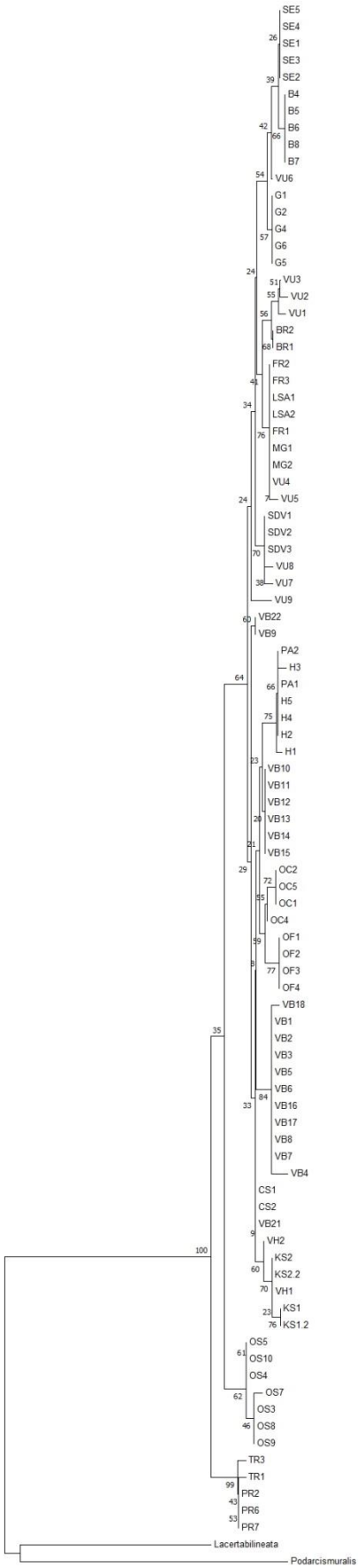
Az átlagos nukleotidösszetétel a következőképpen alakult: T: 24,7%, C: 24,2%, A: 32,5%, G: 18,6%.

A Neighbor-Joining filogenetikai törzsfa (*21. ábra*) elkészítésével a begyűjtött mintákból összesen 15 haplotípus azonosítása történt meg. Ebből 10 haplotípus bizonyult újnak.

A magyarországi és erdélyi szekvenciák filogenetikai státusza a következőképpen alakult (*6. táblázat*):

Mintavételi hely	Minták kódjai	Azonosított klád*	Azonosított haplotípus*
Bősárkány	H1	C	Új haplotípus
	H2	C	PA1
Lébény	H3	C	Új haplotípus
	H4, H5	C	PA1
Kiskőrös1	KS1, KS1.2	F	Új haplotípus
Kiskőrös2	KS2, KS2.2	F	VH1
Bátorliget	B4, B5, B6, B7, B8	D	Új haplotípus
Sényő	SE1, SE2, SE3, SE4, SE5	D	Új haplotípus
Garbolc	G1, G2, G4, G5, G6	D	Új haplotípus
Csaroda	CS1, CS2	E	VB21
Broscauti	BR1, BR2	D	Új haplotípus
Transfagarasan/ Transzfogaras	TR1	Új klád	Új haplotípus
	TR2	Új klád	Új haplotípus
Frumoasa/ Csíkszépvíz	FR1, FR2, FR3	D	VU4
Lacul Sfanta Ana/ Szent Anna-tó	LSA1, LSA2	D	VU4
Muntii Gurghiu/ Görgényi-havasok	MG1, MG2	D	VU4
Predeal	PR2, PR6, PR7	Új klád	Új haplotípus
Stana de Vale	SDV1, SDV2, SDV3	D	Új haplotípus

6. táblázat: Azonosított kládok és haplotípusok (*Heulin et al. 1999, Surget-Groba et al. 2001, 2006)



21. ábra: Neighbor-Joining filogenetikai törzsfa (16s rRNS)

A citokróm *b* génnel ellentétben a 16sRNS gén Neighbor-Joining vizsgálata kevésbé egyértelmű. Annak ellenére, hogy a 16s rRNS gén jóval konzervatívabb a fehérjekódoló citokróm *b*-nél (Simon et al. 1994), több új haplotípust azonosítottunk, ráadásul szinte minden populáció más haplotípusnak bizonyult.

A Hansági minták többsége a korábban azonosított PA1-es haplotípusba tartozik, azonban emellett két új haplotípust is találtunk.

A Duna-Tisza közén mintázott két populáció közül az egyik a VH1-es haplotípus jellegzetességeit mutatta, a másik populációból új haplotípust azonosítottunk.

A kelet-magyarországi minták is meglepetéssel szolgáltak ezen a téren. A csarodai minták ugyan a VB21-es haplotípusba tartoznak a vizsgálat szerint, azonban a Tiszától délre gyűjtött minták nem egyeznek meg a VU6-os haplotípussal, bár annak közvetlen szomszédságában helyezkednek el az ágrajzon. Itt minden populáció új haplotípusnak bizonyult.

A romániai minták egy részét sikerült egy, a korábbi kutatások által felfedezett haplotípusként azonosítani. A hargitai Csíkszépvízből, Görgényi-havasokból és a Szent Anna tó mellől gyűjtött minták minden kétséget kizáróan a VU4-es haplotípusba tartoznak.
A Stana de Vale mellől mintázott populáció is új haplotípusnak bizonyult, azonban a törzsfán nagyon közel helyezkedik el a VU7-eshez.

A Moldva északi részén, Broscauti-ban gyűjtött minták szintén új haplotípust eredményeztek, ugyanakkor erről is elmondható, hogy a törzsfa alapján igen közel helyezkedik el a VU2-es haplotípushoz.

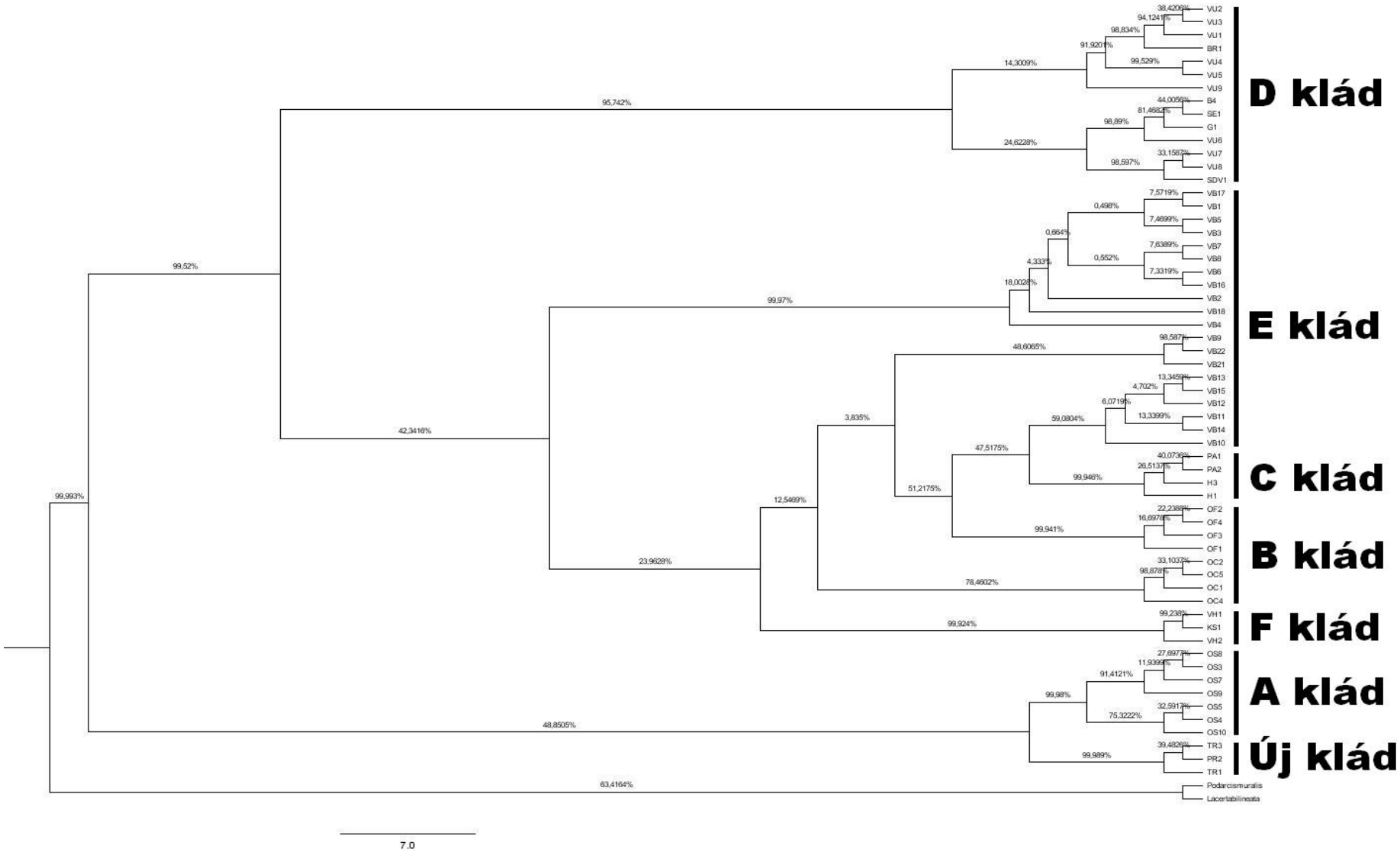
A vizsgálat két legfontosabb populációja esetében azonban egyértelmű megerősítést hozott a 16s rRNS Neighbor-Joining filogenetikai törzsfa: a Bucsecsban található Predaelban és a Fogarasi-havasokban gyűjtött minták egy új kládhoz tartoznak.

A BEAST Bayesian analízisben minden haplotípusból már csak egyetlen szekvenciát használtam fel. Az elkészült törzsfa (*22. ábra*) csak részben egyeztethető össze a citokróm *b* törzsfával. Az új, valamint az „A” és „E” (keleti) kládok egyértelmű, magas „posterior” valószínűségi értékek melletti elkülönülése a citokróm *b* törzsfát idézi.

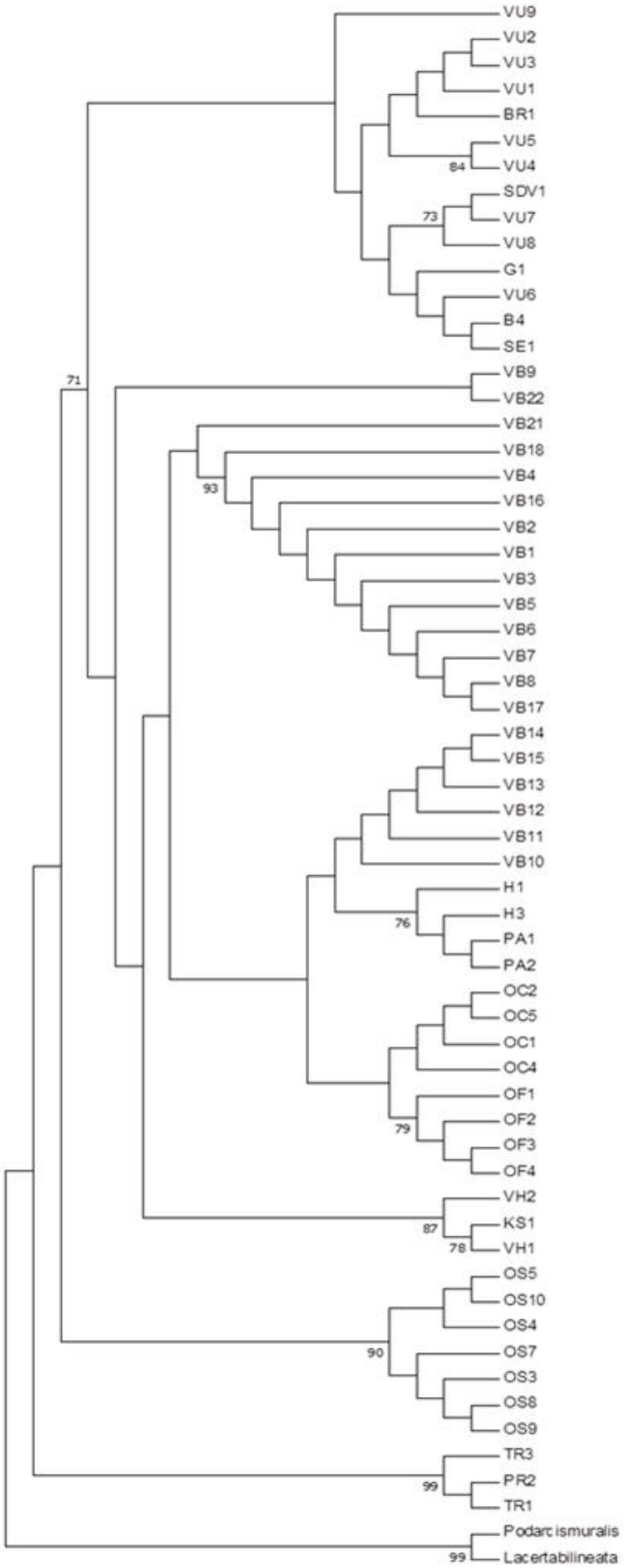
A legfontosabb különbség az, hogy az „E” (nyugati) klád ezen a génszakaszon nem bizonyult monofiletikusnak. Az egyik ágon magas „posterior” valószínűségi érték mellett jelenik meg egy csoport, amely haplotípusait Nyugat-Európában azonosították. A másik ágon találhatóak a kelet-európai és balkáni haplotípusok a „B”, a „C” és az „F” kládok haplotípusai mellett.

Az ellenőrzésképpen lefuttatott Maximum Likelihood törzsfa topológiailag hasonló törzsfát eredményezett (*23. ábra*).

10.13147/NYME.2017.003

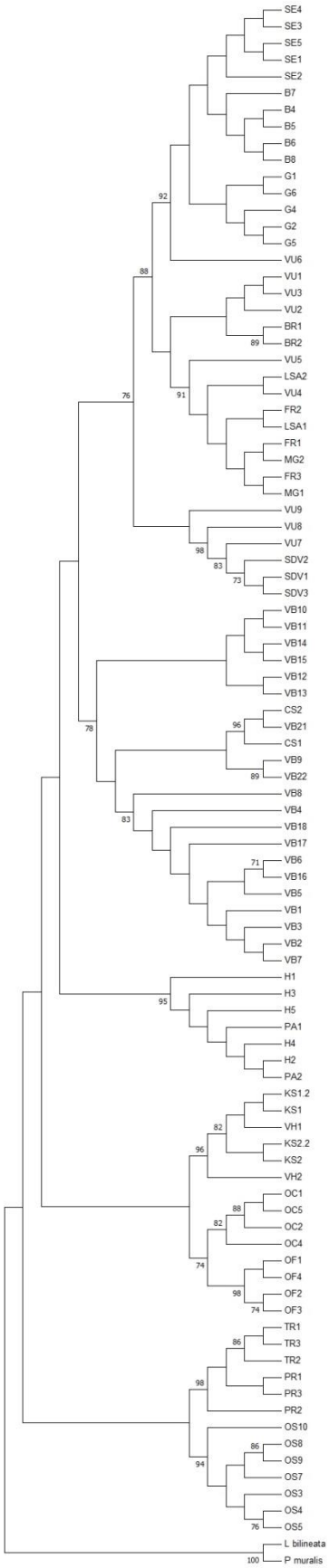


22. ábra: A Bayesian analízis során létrehozott „maximum clade creditibility” filogenetikai törzsfa. A „posterior probability” értékek az ágak felett láthatóak. A kládok elnevezése Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006 alapján.



23. ábra: Maximum Likelihood filogenetikai törzsfa. A „bootstrap” értékek (>70) az ágak mellett láthatóak.

10.13147/NYME.2017.003



24. ábra: Az összevont adatsor Maximum Likelihood filogenetikai törzsfája. A „bootstrap” értékek (>70) az ágak mellett láthatóak.

10.13147/NYME.2017.003

6. Az eredmények megvitatása

6.1. Az elterjedési terület aktualizálása

A mintavételi helyek kiválasztásával és az új populációk felkutatására tett kísérletekkel meggyőzően állíthatjuk, hogy az „F” klád két alapvető haplotípusa (VH1, VH2) által fémjelzett populációk között nincsen földrajzi kapcsolat. Mivel minden analízis közeli rokonságukat bizonyítja, valószínűleg egy a múltban földrajzilag jóval elterjedtebb klád két szigetszerű maradványáról van szó. A két populáció élőhelyének ökológiai sajátosságai közötti különbség azonban figyelemreméltó, így a jövőben célszerű lenne egy külön kutatás keretei között, más genetikai markerrel is nagyobb figyelmet fordítani erre a kládra.

A kelet-magyarországi populációk felkutatása során több új populációt is találtunk, ilyen például a sényői és a fülöpi. A minták elemzése során minden kétséget kizáróan bebizonyosodott, hogy a Tiszától délre elhelyezkedő populációk a „D”, azaz „keleti” kládhoz tartoznak, csakúgy, ahogyan a román oldalon is (Covaciu-Marcov et al. 2008). Így megállapítható, hogy a Heulin és társai (2011) által az „E”, azaz „nyugati” kládon belül sugallt folyosó a balkáni és a szlovákiai/észak-magyarországi populációk között nem létezik (Velekei et al. 2014). Az „E” klád nyomaira a Déli-Kárpátok délnyugati nyúlványán, a Szemenik-hegységben sem bukkantunk. Ez azt valószínűsíti, hogy a nyugat-európai és a Balkánon található VB haplotípusú populációk inkább a Dinári-hegységben valaha fennálló folyosón érintkezhettek egymással, és ebben a Kárpátoknak semmilyen szerepe nem volt.

6.2. Forgatókönyvek az új klád reproduktív módjaihoz és kariológiai státuszához

A korábbi kutatásokhoz hasonlóan, eredményeink mindkét génszakaszon erősen alátámasztják a *Zootoca vivipara* monofiletikus jellegét.

Az eredmények legnagyobb újdonsága a Déli-Kárpátokban (Fogarasi-Havasok és Bucsecs) megtalált eddig ismeretlen klád megjelenése. A klád magas „posterior” valószínűségi és „bootstrap” értékek mellet ágazik el mindkét vizsgált génszakaszon valamennyi vizsgálatunk szerint. Az „A” kládról történt leválása és önálló evolúciós útra történő lépése körülbelül 3,4 millió évvel ezelőtt következhetett be. Ez az időintervallum relatíve hosszúnak mondható evolúciós léptékben, azonban célszerű megemlíteni, hogy mind a vizsgálat kalibrálására felhasznált adatok, mind az analízist lefuttató szoftver esetében számolni kell egyes bizonytalansági tényezőkkel.

10.13147/NYME.2017.003

Bár az eredmények alapján kijelenthető, hogy az új klád minden bizonnyal az „A” tojásrakó klád testvérkládja, fontos kihangsúlyozni, hogy létezésén kívül jelenleg semmilyen információ nem áll rendelkezésre róla. A populációkon ugyanis nem végeztek sem morfológiai, sem kariológiai, sem ökológiai vizsgálatokat és ami talán a legfontosabb: a szaporodásmódja is teljesen ismeretlen.

Ennek tükrében – és a többi klád tulajdonságainak ismeretében – célszerűnek tűnik több valószínű forgatókönyvet is felvázolni arra vonatkozóan, hogy mire is számíthatunk majd ezen új klád mélyebb vizsgálatával.

A legvalószínűbb forgatókönyvek részben az irodalmi feldolgozás végén található összefoglalás szerkezetét követik (*7. táblázat*):

Forgatókönyv	**1.**	**2.**	**3.**	**4.**
Szaporodási forma	o	v	o	v
2n ♂/♀	36/36	36/36	36/35	36/35
Szexkromoszóma mérete	m	m	M	M
Szexkromoszóma szerkezete	ZW	ZW	Z_1Z_2W	Z_1Z_2W
Szexkromoszóma-morfológia	a	a	a	a

7. táblázat: az egyes kládok összefoglaló táblázata. Jelmagyarázat: o=tojásrakó, v=elevenszülő, m=mikrokromoszóma, M=makrokromoszóma, a=akrocentrikus, st=szubtelocentrikus, sm=szubmetacentrikus

1. **Forgatókönyv:**

Ez a forgatókönyv a legvalószínűbb eshetőséggel számol. Mivel az új klád feltételezhetően az „A” klád testvérkládja, a klád jellemzői valószínűleg megegyeznek azzal.

2. **Forgatókönyv:**

A 2. forgatókönyvünk szerint az új klád kromoszómaszerkezete a tojásrakó „A” kládéra hasonlít, azonban szaporodásmódja szerint elevenszülő. Erre a lehetőségre az „F” klád a kiváló példa.

10.13147/NYME.2017.003

3. Forgatókönyv:

Ez a forgatókönyv a „B” kládéhoz hasonló tulajdonságú klád meglétével számol azzal a különbséggel, hogy a szexkromoszóma-szerkezet szerint kizárólag akrocentrikus, azaz a szomszédos „D” elevenszülő kládéhoz hasonló szerkezetű, viszont attól eltérően tojásrakó. Egy ilyen, vagy ehhez hasonló tulajdonságú klád meglétével Surget-Groba és munkatársai (2001) is számoltak, méghozzá földrajzi vonatkozásban tekintve az „A” kládtól keletre, ahogyan az új klád is elhelyezkedik. A szerzők szerint egy ilyen ősi jellegű, tojásrakó, de már az elevenszülő kládokhoz hasonló kromoszómaszerkezetű klád megléte az elevenszülés kialakulásának közvetlen előzményét jelentené, azonban eredményeink szerint a filogenetikai törzsfákon betöltött pozíciója erre nem utal.

4. Forgatókönyv

A 4. forgatókönyv egy olyan lehetőséggel számol, ami szerint az új klád elevenszülő és kromoszómaszerkezete is a szomszédos „D” (keleti) kládéhoz hasonló.

A felvázolt négy különböző forgatókönyvön kívül természetesen még számtalan lehetőség elképzelhető, a kromoszómaszerkezetre vonatkozó további variációk illetve a tojásrakás-elevenszülés kontinuumban betöltött egyes pozíciók szerint.

A különbségek ellenére mindegyik forgatókönyvről elmondható, hogy egyik sem számol azzal a lehetőséggel, hogy az új klád egyfajta hiányzó láncszem lenne az elevenszülés kialakulásának evolúciójában. Ennek az az oka, hogy a filogenetikai törzsfákon betöltött pozíciója és a „divergence time” értéke ezt nem valószínűsíti. Az új klád a törzsfa alapjánál szakad külön ágra az „A” kláddal, így evolúciós értelemben valószínűleg hasonló helyet foglalhat el. A divergencia ideje (kb. 3,4 millió év) pedig a vizsgálat szerint kevesebb, mint a két legelterjedtebb elevenszülő klád divergenciájának ideje (kb. 4,16 millió év – ez az érték Cornetti és munkatársainak (2014) eredményei szerint sem lényegesen különböző: kb. 3,9 millió év).

Kétségtelenül meglepő eredmény lenne, ha egy újabb tojásrakó klád felfedezése történt volna meg az új klád megtalálásával, azonban a legérdekesebb forgatókönyvek mindenképpen azok, melyek az elevenszülés lehetőségével számolnak a felvázoltak közül. Ennek az az oka, hogy ezek a forgatókönyvek – bár nem számolnak azzal, hogy az új kládból eredne az elevenszülés – valószínűsíthetnek egy olyan harmadik (minden bizonnyal kipusztult) ősi testvérkládot, melynek egyes tulajdonságait az újonnan felfedezett klád is hordozza, és ahonnan az elevenszülés valóban szétterjedt.

6.3. A vizsgált gének közötti különbség

Annak ellenére, hogy ezen kutatást érintő leglényegesebb pontokon a citokróm *b* és a 16s rRNS gének vizsgálatával felrajzolt filogenetikai fák nagyon hasonlóak, a vizsgálatok több különbségre is rámutatnak.

A 16s rRNS gént először Heulin és munkatársai (1999) alkalmazták a *Zootoca vivipara* filogenetikai vizsgálatához. 2001-ben Surget-Groba és munkatársai a citokróm *b* gén felé fordultak, hogy a konzervatív riboszómális RNS gén mellett egy sokkal gyorsabb evolúciós fejlődésű fehérjekódoló gént (Burbrink et al. 2000, Poulakakis et al. 2008, Simon et al. 1994) is tanulmányozzanak. Azóta egyetlen *Zootoca vivipara*-val foglalkozó kutatás sem alkalmazta a 16s rRNS gént, bár más taxonoknál előszeretettel használták és több esetben a citokróm *b* génnel párosítva (Kartavtsev et al. 2007, Poulakakis et al. 2008, Sotiropoulos et al. 2007).

Jelen kutatás során elkészített 16s rRNS filogenetikai törzsfák az „A” és az új klád esetében határozottan mutatják a kládok elkülönülését magas „posterior” valószínűségi és „bootstrap” értékek mellett, valamint a „D” klád elágazását magas „posterior” valószínűségi, de alacsony „bootstrap” értékek mellett. Az összes többi klád egy közös különálló ágra szakad. A „B”, „C”, és „F” kládokat ezen belül magas „posterior”, de alacsony „bootstrap” értékek mellet támogatja mindkét analízis, azonban az „E” klád több ágra szakadva nem monofiletikus jellegű.

Ennek több, nehezen megmagyarázható oka is lehet. Simon és munkatársai (1994) szerint a riboszómális RNS gének evolúciójával kapcsolatban olyan keveset tudunk, hogy már önmagában ezért is megfelelőbbnek tűnnek a sokkal jobban ismert evolúciójú fehérjekódoló gének filogenetikai vizsgálatokban történő alkalmazása. Egyes kutatások szerint a mitokondriális genom evolúciója szoros összefüggésben áll az ökológiai paraméterek változásával, különösen a változó testhőmérsékletű állatok esetében, azonban ennek evolúcióban betöltött szerepéről nagyon keveset tudunk (Ballard és Whitlock 2004). Mindenesetre az evolúciósan konzervatív 16s rRNS gén az ősi jellegű „A”, és feltehetően ősi jellegű új klád esetében megerősítő eredményeket hozott.

6.4. Demográfiai és evolúciós forgatókönyvek

Vizsgálatunk túlnyomóan a Kárpát-medencére és a Kárpát-koszorúra koncentrált (mindössze egy kitérővel a Kárpátokon túlra – Broscauti mintavétellel). Elmondható, hogy a korábbi kutatások (Heulin et al. 1999, Surget-Groba et al. 2001, 2002, 2006) eredményeivel

összeillesztve adatainkat, az eddigi egyik legátfogóbb filogeográfiai vizsgálatra nyílt lehetőség.

Közép-Európa a legnagyobb genetikai diverzitású terület a *Zootoca vivipara* elterjedési területén (Surget-Groba et al. 2006). Csak a Kárpát-medencén belül (beleértve a Kárpát-koszorút is) az eddig ismert 6 kládból 4-et is megtalálhattunk (Surget-Groba et al. 2006), azonban ez a szám eggyel nőtt az új klád megtalálásával (Velekei et al. 2015). A tojásrakó „A" klád legkeletebbre fekvő szlovéniai populációi is rendkívül közel helyezkednek el a medencéhez (Surget-Groba et al. 2002), így elmondható, hogy Közép-Európában csak egyetlen klád, a tojásrakó „B" klád nem képviselteti magát (Surget-groba et al. 2006).

Korábban az az elmélet lett meghatározó, amely szerint az elevenszülés a pleisztocénben alakult ki, és ez a reproduktív forma segítette elő a faj jégkorszak utáni rendkívül gyors expanzióját (Guillaume et al. 1997, Heulin et al. 1993, 1999). Vizsgálatunk szerint az „A" és az új klád közös leágazásának ideje kb. 5,1 millió (Cornetti és munkatársai szerint kb. 4,5 millió) év, a két klád divergenciája mintegy 3,4 millió évvel ezelőtt ment végbe. A többi klád divergenciájának ideje is kb. 3 és 4,1 millió évvel ezelőttre tehető az eredményeink szerint. Az „A" és az új klád divergenciája így az alsó-pliocénra, az utóbbi időintervallum a középső- és felső-pliocénra esik, még jóval a jégkorszak kezdete előtt. Érdekes adalék, hogy az utóbbi években például egyre több kétéltű faj esetében sikerült bebizonyítani, hogy a jégkorszak előtt lezajlódott fajon belüli divergencia jóval nagyobb arányú volt a korábban sejtettnél (Sotiropoulos et al. 2007).

A Föld klímája körülbelül 60 millió évvel ezelőtt kezdett hűlni, az antarktiszi jégsapka 35 millió évvel ezelőtt alakult ki (Hewitt 2004). Az európai magashegységekben az első állandó gleccserek és az Arktisz jégtakarója mintegy 3 millió évvel ezelőtt, a pliocén végén alakultak ki a fokozatos lehűlés által (Hewitt 2004).

Európában négy nagy jégkori refúgiumterületet tartanak számon: az Ibériai-félszigetet, az Appennin-félszigetet és a Balkánt, kiegészülve a Kaszpi-Kaukázusi régióval (Hewitt 1996, 2004).

A pliocén kori fokozatos lehűlés során korábban akár nagy elterjedési területű fajok populációi déli irányba vándorolva ezeken a refúgiumterületeken elszakadtak egymástól (Hewitt 1996, 2004, Paulo et al. 2001, Sotiropoulos et al. 2007).

Újabban nagy figyelem hárul a jégkori klimatikus oszcillációra, valamint az egymást követő glaciális és interglaciális időszakok fajon belüli divergenciára kifejtett hatására (Hewitt 1996, 2004, Paulo et al. 2001). Az elméletek szerint az interglaciálisok felmelegedő stádiumaiban már 5-10 év alatt is drasztikusan, akár 10-12 °C-kal változott a kontinens

átlaghőmérséklete, ami lehetővé tette, hogy az egyes fajok populációi a refúgiumterületekről északi irányba, valamint nagyobb tengerszint feletti magasságokba terjedjenek, majd a visszatérő glaciálisok miatt újabb és újabb, de egymástól nagy mértékben izolálódott refúgiumterületeket hódítsanak meg (Hewitt 1996). Ez a jelenség jelentősen hozzájárult fajokon belüli divergenciához a pleisztocén során (Hewitt 1996, 2004, Paulo et al. 2001, Sotiropoulos et al. 2007). Ezt igencsak elősegítette az európai magashegységek elhelyezkedése is, Hewitt (1996) szerint az európai fajok filogeográfiájának alakulásában az Alpok volt az egyik legfontosabb faktor.

Eredményeink szerint az „A" és az új klád nem sokkal a pliocén kezdete után ágazott le a többi kládról. A másik ágon elhelyezkedő összes többi klád divergenciájának ideje arra enged következtetni, hogy az elevenszülés már a pliocén során kialakulhatott, és ebben a fokozatosan hűvösödő klíma játszhatta a legfőbb szelekciós tényezőt. A kialakulás pontos helyét természetesen nem lehet biztosan meghatározni, azonban a kládok jelenlegi elhelyezkedéséből ítélve (a balkáni kládot kivéve az elevenszülők a tojásrakóktól északabbra élnek) valószínűleg valahol a kontinens északi részén történt. A délre húzódó tojásrakó és a tőlük északabbra elhelyezkedő elevenszülő populációk aztán a félszigetekre érve részben elszigetelődtek egymástól – különösen igaz lehet ez a hidegre érzékenyebb tojásrakókra. Ez utóbbiak divergenciája így kb. 3,4 millió évvel ezelőtt következhetett be, amikor a mai „A" klád őse az Appennini, az újonnan felfedezett klád őse pedig a Balkáni-félszigetre húzódott. Surget-Groba és munkatársai (2002) kutatásának egyik legfontosabb eredménye, hogy a jelenlegi „A" klád a Pó-síkságról terjedt el északi és északkeleti irányba az utolsó jégkorszak után, és a jelenlegi szlovéniai populációk is ebből az irányból kerültek a Balkán északkeleti részére.

A gondolatmenetben tovább haladba az elevenszülő populációk egy része a dél felé terjedés során eljutott az Ibériai-félszigeten található refúgiumterületre, ahol a későbbiekben egy reverz tranzíció által ismét tojásrakók lettek (Surget-Groba et al. 2006). Itt a két szubklád divergenciájában pedig a Pireneusok glaciálisokban nagy mértékben eljegesedő tömbje játszott szerepet (Heulin et al. 2011).

Az elevenszülő populációk másik részének a Kárpát-medence, a Balkán és esetleg a Déli-Alpok egyes részei jelenthették a refúgiumterületeket, ahol az interglaciálisok és glaciálisok váltakozása miatt elszigetelődött refúgiumterületeken fejlődött populációk révén alakult ki a Közép-Európában ma ismert változatos genetikai szerkezet.

Elképzelhető, hogy az utolsó jégkorszak után a legsikeresebb haplotípusok gyors expanziója által a faj elevenszülő populációi gyorsan kolonizálták a kontinens északi részét és ennek

köszönhető az, hogy Nyugat- és Észak-Európában alig néhány haplotípust azonosítottak mind a „D”, mind az „E” kládból (Surget-Groba et al. 2006).

Nagyon kevés ismeret áll rendelkezésre arról, hogy az egyes taxonok milyen sebességgel terjedtek szét az utolsó jégtakaró visszahúzódása után. Például a *Chorthippus parallelus* szöcskefaj a dél-európai refúgiumterületeiről még elérte a mai Angliát mielőtt az a tengerszint emelkedése révén elszigetelődött a kontinenstől, de az Ír-szigetet már nem (Hewitt 1996). Ebből azt a következtetést vonták le, hogy a faj terjedési sebessége 300 és 500 m/év között lehetett (Hewitt 1996). Csak a citokróm *b* génszakaszt tekintve két új VU haplotípussal nőtt az Erdélyben megismert haplotípusok száma a „D” kládon belül. Mivel a Kárpátokon túl északra Skandináviáig és keletre a Csendes-óceánig gyakorlatilag már mindössze csak két (VU1 és VU2) haplotípus „uralja” a kontinenst (Surget-Groba et al. 2001, 2006, Takeuchi et al. 2013), a „D” klád legnagyobb genetikai diverzitással valószínűleg a Kárpát-medencében fordul elő. Mivel az ősi állapotú polimorfizmus jobban jellemzi a refúgiumterületeket, és a később kolonizált területeken a variabilitás csökkenésével vagy elvesztésével kell számolni (Austerlitz et al. 1997), ez arra enged következtetni, hogy a „D” klád refúgiuma a Kárpát-medence vagy annak közvetlen közelében elhelyezkedő terület volt. Takeuchi és munkatársai (2013) rávilágítottak arra, hogy a *Zootoca vivipara* japán populációi mindössze egy nukleotid különbséget mutatnak az orosz és fehérorosz VU1 és VU2 haplotípusokhoz képest, ami egy rendkívül gyors jégkorszak utáni expanziót feltételez. Ezt megerősíti az a tény, hogy a faj csakis a jégkorszak idején fennálló szárazföldi összeköttetésen juthatott az ázsiai kontinensről Hokkaido-ra (Takeuchi et al. 2013). Amennyiben a klád jégkori refúgiumterületei valóban a Kárpát-medencében voltak, a jégkorszak elmúltával több, mint 7000 km-t (Takeuchi et al. 2013) kellett megtennie a fajnak a kontinens másik feléig, mielőtt a szárazföldi híd megszűnt. Takeuchi-ék azonban nem számoltak azzal a ténnyel, hogy az utolsó (Würm) jégkorszakban az ázsiai kontinensre korántsem húzódott rá olyan mértékben a jégtakaró, mint Európára és Észak-Amerikára (Hewitt 2004), így a faj (különösen egy elevenszülő klád) számára az európainál akár jóval északabbra is ökológiailag megfelelő körülmények uralkodtak. Ezen forgatókönyv szerint a „D” klád már a Würm eljegesedés idején is szétterjedhetett kelet felé.

Az elevenszülés kialakulására vonatkozó másik forgatókönyv szerint a pleisztocén előtt olyan populációk terjedtek szét az ősi tojásrakó kládtól (a mai „A” + az új klád) északra, melyek még nem voltak elevenszülők, de a tojásrakás-elevenszülés kontinuum egy evolúciósan fejlettebb lépcsőfokán helyezkedtek el a „valódi” tojásrakóknál rövidebb inkubációs idővel. Ez az állapot a mai „B” kládhoz hasonlíthatott, sőt ezen forgatókönyv szerint a „B” klád is ennek a maradványa az ibériai refúgiumterületen. A populációk többi része pedig a közép-

európai refúgiumterületeken az erős szelekciós nyomásnak köszönhetően váltak elevenszülővé a pleisztocén során, ahogyan azt Heulin és munkatársai (1993) is feltételezték.

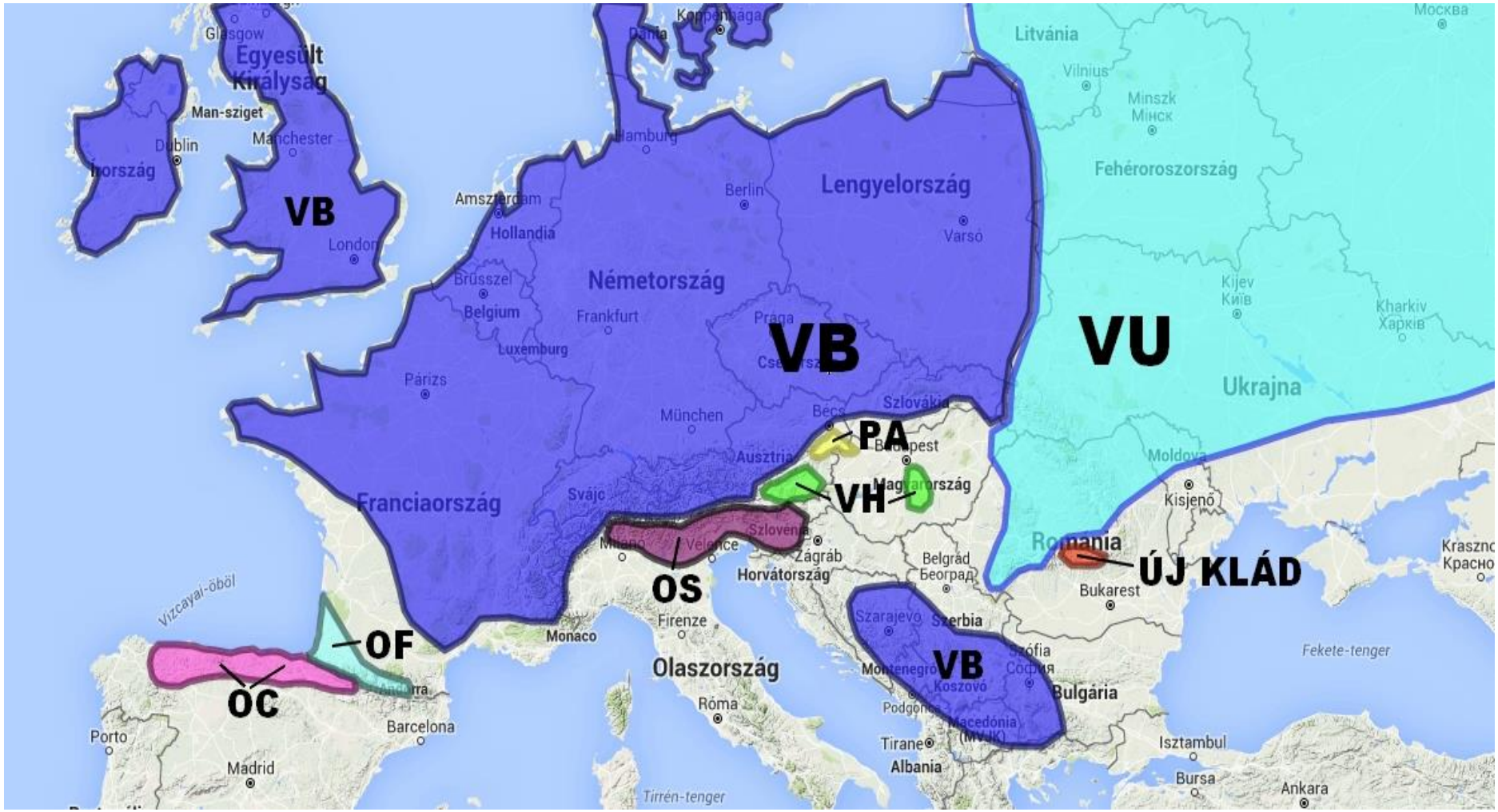
6.5. A mai állapot

Jelen kutatás által ez eddig ismert kládok száma 6-ról 7-re nőtt.

- Az „A” tojásrakó klád Észak-Olaszországban és Szlovéniában fordul elő.
- A szintén tojásrakó, de az előzőhöz képest számtalan különbséggel rendelkező „B” klád az Ibériai-félsziget északi részén, és a Pireneusok francia oldalán található.
- A „C” elevenszülő klád mindössze Ausztria északkeleti és Magyarország északnyugati területein fordul elő. A kutatás új populációkat nem tárt fel.
- Az „F” elevenszülő klád Ausztria délkeleti és Magyarország középső területein él. A két elterjedési terület között a kutatás nem talált újabbakat.
- A „D” elevenszülő klád rendelkezik a legnagyobb elterjedési területtel, ezen a területen belül a legnagyobb genetikai diverzitás valószínűleg a Kárpát-medencében van.
- Az „E” elevenszülő kládot két elszigetelt csoport alkotja. Az egyik a Balkánon található, míg a másik Nyugat- és Észak-Európa nagy részét elfoglalja.
- Az új, eddig ismeretlen klád a Déli-Kárpátokban él (*26-27. ábra*). Szaporodásmódja ismeretlen.

A jelenlegi és korábbi kutatások eredményeit felhasználva az egyes haplocsoportok (kládok+szubkládok) térbeli elterjedését térképen ábrázoltam (*25. ábra*).

10.13147/NYME.2017.003



25. ábra: a *Zootoca vivipara* haplocsoportjainak térbeli elhelyezkedése Európában, Heulin et al. 2011 alapján (OS=”A” klád, OC+OF=”B” klád, PA=”C” klád, VU=”D” klád, VB=”E” klád, VH=”F” klád). (Forrás: Google Maps – maps.google.com és ScribbleMaps – www.scribblemaps.com).

10.13147/NYME.2017.003

26. Ábra: Az új klád élőhelye a Bucsecsben (Déli-Kárpátok) (A szerző felvétele)

27. Ábra: Az új klád élőhelye a Fogarasi-havasokban (Déli-Kárpátok) (A szerző felvétele)

10.13147/NYME.2017.003

7. Összefoglalás, tézisek

A pikkelyes hüllők rendje (Squamata) egyedülálló lehetőségét hordoz az evolúció tanulmányozására azáltal, hogy mind tojásrakó, mind elevenszülő fajok képviseltetik magukat a renden belül. Számtalan olyan közeli rokon taxon (esetenként egy nemzetségen belül) fordul elő, melyek különböző reproduktív móddal rendelkeznek, azonban a fajon belüli bimodalitás rendkívül ritka.

Ezen fajok egyike az elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara*), melynek minden más pikkelyes hüllőfajnál nagyobb elterjedési területén több tojásrakó és elevenszülő populációt is ismernek. A populációk ökológiai és morfológiai kutatásával számtalan érdekességre derült fény, azonban a molekuláris filogeográfiai módszerek fejlődése tette lehetővé azt, hogy a fajon belüli nagy genetikai diverzitást, és ezáltal a faj biogeográfiáját és evolúcióját tanulmányozni tudjuk.

A kétezres évek első felében több nagyon részletes kutatás született a *Zootoca vivipara* filogeográfiájának témakörében, amelyek számtalan újdonságot tártak fel. Bebizonyosodott, hogy a faj több, mind filogenetikailag, mind kariológiailag, mind pedig a szaporodásmódot tekintve jól elkülöníthető kládra oszlik. A kutatások főleg a tojásrakó kládok, más esetekben pedig a kládok között esetlegesen meglévő hibridzónák tanulmányozásának irányába tolódtak el. Az egyes kutatások által sugallt meglátás, miszerint a közép-európai régió számít a genetikai értelemben legdiverzebb területnek a faj elterjedésén belül, kevés figyelmet kapott, holott új, evolúciós értelemben véve ősibb klád(ok) további felfedezésének lehetőségét sem tartották kizártnak. Ezzel párhuzamosan – különösen a Kárpát-medencén belül – a már megismert kládok elterjedési területe sem volt maradéktalanul ismert, csak sejtéseken alapuló, elnagyolt térképek készültek.

Jelen vizsgálat során magyarországi területeken kiterjedt terepi kutatás zajlott le, hogy új populációk felfedezése által (is) finomítani lehessen az ismereteken. Végül 17 kárpát-medencei és 1 Kárpátokon túli populációban zajlott mintavétel, a korábbi kutatások mintavételi helyszíneit szem előtt tartva. A magyarországi helyszíneken a Kiskőrös közelében mintázott két populáció, a Sényő és a Fülöp melletti populációk is eddig ismeretlenek voltak, míg a Dél-Dunántúlon a negatív eredménynek (egyetlen populációt sem találtunk) volt komoly hozadéka.

A romániai mintavételi területek gondos megválasztása által sikerült megtalálni azt a filogenetikai tulajdonságai miatt ősi jellegű kládot, melynek létezését korábban is valószínűsítették.

10.13147/NYME.2017.003

A klád további kutatása elsődleges fontosságú. Először is tisztázni kell elterjedési területének határait, mert ugyan nyugat felé ez egyértelműnek látszik (a Páringban már másik klád található), azonban keleti irányban (földrajzilag a Keleti-Kárpátok Kárpát-kanyar nevű tájegységében) igen nagy területekről semmit sem tudunk. Az elterjedési terület határain meg kell vizsgálni azt, hogy a szomszédos kláddal kialakulhatott-e hibridzóna.

A legfontosabb kérdés az újonnan felfedezett klád reproduktív módjának kiderítése. Ez komoly terepi munkát igényel, melyet szükség esetén laboratóriumi módszerekkel is ki kell egészíteni.

A kiterjedt terepi, valamint a két genetikai markerrel történő laboratóriumi vizsgálatok segítségével a faj minden eddiginél pontosabb közép-európai elterjedési térképe készülhetett el.

Tézisek

1. tézis: A szerző pontosította a faj magyarországi elterjedésével kapcsolatos ismereteket.

A Duna-Tisza közén a korábbi mintavételektől délebbre, Kiskőrös közelében sikerült új, eddig nem ismert populációkat találni.
Kelet-Magyarországon a Sényő és a Fülöp melletti populációk eddig ismeretlenek voltak, az utóbbi egyben a Kelet-Magyarországon ismert legdélebbre előforduló populáció.

2. tézis: Az „F" kládon belül, Kelet-Ausztriában és a Duna-Tisza közén előforduló VH haplotípusok között nincsen összeköttetés

A Dél-Dunántúlon egyetlen új populációt sem találtunk, ez összhangban van a korábbi ismeretekkel. Heulin és munkatársai (2011) földrajzi összeköttetést sejtettek a két ismert haplotípus között, amit ezáltal cáfoltunk.

3. tézis: Kelet-Magyarországon és Nyugat-Romániában nem létezik olyan „E" kládon belüli „folyosó", amely a balkáni és a nyugat/közép-európai populációkat köti össze

Heulin és munkatársai (2011) egy olyan folyosó meglétét valószínűsítették, mely az „E" klád balkáni és nyugat/közép-európai populációit köti össze, a folyosó meglétére azonban nem

sikerült bizonyítékot találni. Így kijelenthető, hogy a klád balkáni populációi a klád fő elterjedési területétől elszigeteltek.

4. tézis: A „D" klád az egész elterjedési területén belül genetikailag a Kárpát-medencében a legváltozatosabb

A vizsgált citokróm *b* génszakaszon két új haplotípust találtunk a Szemenik-hegységben és a Ciblesben. Az Erdélyben már eddig ismert 7 haplotípus így 9-re emelkedett. A Kárpátokon túl, mind északi, mind keleti irányban mindössze két haplotípus ismert.

5. tézis: Egy újabb ősi klád azonosítása

A korábbi kutatások által feltételezett új kládot a Déli-Kárpátokban lévő Fogarasi-Havasokban és Bucsecsben azonosítottuk. A filogeográfiai elemzések mindegyike mindkét vizsgált génszakaszon magas „posterior" valószínűségi és „bootstrap" értékek mellett támogatta az új klád meglétét. Az „A" klád *Zootoca viviapara carniolica* néven alfaji szintű státuszt képvisel (Mayer et al. 2000). Ez felveti az újonnan felfedezett, a *carniolica* alfajjal kb. 1,7 millió éves közös és kb. 3,4 millió éves különálló fejlődésű klád taxonómiai státuszának kérdését is.

6. tézis: A szerző az egyes kládok divergencia idejének megállapításával új evolúciós forgatókönyveket vázolt fel

Az ősi „A" és az új klád mintegy 5,1 millió évvel ezelőtt ágazott le a többi kládról. E két klád divergenciájának ideje kb. 3,4 millió év. A többi klád divergenciájának ideje kb. 3 és 4,16 millió év között található: a „B", a „C" és az „F" klád kb. 4,16 millió évvel ezelőtt ágazott le a „D" és „E" kládokról, ez utóbbiak mintegy 3 millió évvel ezelőtt ágaztak szét.
Ezen eredmények alapján valószínűsíthető, hogy az elevenszülés nem a pleisztocénben, hanem már a pliocénban kialakult.

10.13147/NYME.2017.003

8. Köszönetnyilvánítás

Először is a legnagyobb köszönetemet fejezem ki Kalocsa Bélának és Mezeiné Dr. Kopasz Máriának azért, mert elindítottak azon az úton, aminek ez a dolgozat az egyik legjelentősebb mérföldköve. Bármilyen utat is nézzünk, elindulni a legnehezebb, és ők pont a kezdeti lépéseknél segítettek a legtöbbet. Sajnos Mezeiné Dr. Kopasz Máriának személyesen már nem tudok köszönetet mondani ezért.

Rengeteg köszönet jár témavezetőmnek, Dr. Lakatos Ferencnek. A kutatás és az abból megszületett disszertáció meglehetősen rögös utat járt be, de ő mindig segített felülkerekedni a nehézségeken.

Nehéz szavakat találni ahhoz, hogy másik témavezetőmnek, Dr. Puky Miklósnak is köszönetet mondjak. Kimondhatatlan hálával tartozom optimizmusáért és kiváló meglátásaiért, de leginkább azért a baráti viszonyért, amiben mindig egyenrangú partnerként kezelt. Fájóan fiatalon és váratlanul távozott el közülünk.

Köszönöm Tóth Viktóriának jó ötleteit és számtalan egyéb formában nyújtott segítségét.

Köszönöm Rákos Lillának azt a kitartást, amivel végig mellettem állt, és mindig mindenben segített.

Végezetül, de egyáltalán nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani Májercsákné Zelenák Andreának azért, mert a korántsem lebecsülendő nehézségű adminisztrációs útvesztőben mindig igyekezett megtalálni a legkönnyebb utat.

9. Felhasznált irodalom

Akaike, H. (1974): A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19: 716–723.

Andrews, R. M., Mathies, T. (2000): Natural history of reptilian development: constraints of the evolution of viviparity. *BioScience* 50: 227-238.

Arnold, E. N. (2004): A field guide to the reptiles and amhibians of Britain and Europe. *HarperCollins Publishers, London*, 144-145. pp.

Arrayago, M-J., Bea, A., Heulin, B. (1996): Hybridization Experiment between Oviparous and Viviparous Strains of *Lacerta vivipara*: A New Insight into the Evolution of Viviparity in Reptiles. *Herpetologica* 52: 333-342.

Arribas, O. J. (2009): Morphological variability of the Cantabro-Pyrenean populations of *Zootoca vivipara* (JACQUIN, 1787) with description of a new subspecies. *Herpetozoa* 21: 123-146.

Austerlitz, F., Jung-Muller, B., Godelle, B., Gouyon, P. H. (1997): Evolution of coalescence times, genetic diversity and structure during colonization. *Theoretical Population Biology* 51:148-164.

Avise, J. C., Arnold, J., Ball, M. R., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A., Saunders, N. C. (1987): Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 489-522.

Bandelt, H. J., Forster, P. Röhl, A. (1999): Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37-48.

Beebee, T. J. C., Griffith, R. A. (2000): Amphibians and reptiles. A natural history of the British herpetofauna. *The New Naturalist Library, Harper Collins Publishers, London*, 270 pp.

Beerli, P., Hotz. H., Uzzell, T. (1996): Geologically dated sea barriers calibrate an average protein clock in water frogs of the Aegean region. *Evolution* 50: 1676–1687.

Blackburn, D. G. (1982): Evolutionary Origins of Viviparity in the Reptilia. I. Sauria. *Amphibia-Reptilia* 3: 185-205.

Blackburn, D. G., Vitt, L. J., Beuchat, C. A. (1984): Eutherian-like reproduction specializations in a viviparous reptile. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 81: 4860-4863.

Blackburn, D. G. (1985): Evolutionary Origins of Viviparity in the Reptilia. II. Serpentes, Amphisbaenia, and Ichthyosauria. *Amphibia-Reptilia* 6: 259-291.

Blackburn, D. G. (1992): Convergent Evolution of Viviparity, Matrotrophy and Specializations for Fetal Nutrition in Reptiles and Other Vertebrates. *American Zoologist* 32: 313-321.

Blackburn, D. G. (1994): Discrepant usage of the term "ovoviviparity" in the herpetological literature. *Herpetological Journal* 4: 65–72.

Blackburn, D. G. (1999): Are viviparity and egg-guarding evolutionarily labile in squamates? *Herpetologica* 55: 556-573.

Blackburn, D. G. (2000): Reptilian viviparity: past research, future directions, and appropriate models. *Comparative Biochemistry and Phisiology* 127:391-409.

Blackburn, D. G., Vitt, L. J. (2002): Specializations of the chorioallantoic placenta in the Brazilian scincid lizard, *Mabuya heathi*: a new placental morphotype for reptiles. *Journal of Morphology* 254:121-131.

Blackburn, D. G. (2006): Squamate reptiles as model organisms for the evolution of viviparity. *Herpetological Monographs* 20:131-146.

Burbrink, T. F., Lawson, R., Slowinski, B.J. (2000): Mitochondrial DNA phylogeography of the polytypic North American rat snake (*Elaphe obsoleta*): a critique of the subspecies concept. *Evolution* 54: 2107–2118.

Cogger, H. (2014): Amhibians and Reptiles of Australia. *CSIRO Publishing, Sydney*, 1064 pp.

Cornetti, L., Menegon, M., Giovine, G., Heulin, B., Vernesi, C. (2014): Mitochondrial and Nuclear DNA Survey of *Zootoca vivipara* across the Eastern Italian Alps: Evolutionary Relationships, Historical Demography and Conservation Implications. *PLoS ONE 9(1): e85912. doi:10.1371/journal.pone.0085912*

Covaciu-Marcov, S. D., Cicort-Lucaciu, A. S., Ferenti, S., David, A. (2008): The distribution of lowland *Zootoca vivipara* populations in North-Western Romania. *North-Western Journal of Zoology* 4: 72-78.

Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. (2012): jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.

de Fraipont, M., Clobert, J., Barbault, R. (1996): The evolution of oviparity with egg-guarding and viviparity in lizards and snakes: a phylogenetic analysis. *Evolution* 50:391-400.

de Fraipont, M., Clobert, J., Meylan, S., Barbault, R. (1999): On the evolution of viviparity and egg-guarding in squamate reptiles: a reply to R. Shine and M. S. Y. Lee. *Herpetologica* 55: 550-555.

Dely, O. Gy. (1983): Hüllők – Reptilia. Magyarország Állatvilága. *Fauna Hungariae.* XX. – Akadémiai Kiadó, Budapest, 120 pp.

Dely, O. Gy., Böhme, W. (1984): *Lacerta vivipara* JACQUIN, 1787 – Waldeidechse; pp 362-393. In: Böhme, W. (ed.): *Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas* vol. 2/1 (Echsen II.), Wiesbaden (Aula).

Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., Rambaut, A. (2012): Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology And Evolution* 29: 1969-1973.

Gasc, J. P., Cabela, A., Crnobrnja-Isalovic, J., Dolmen, D., Grossenbacher, K., Haffner, P., Lescure, J., Martens, H., Martínez Rica, J. P., Maurin, H., Oliveira, M. E., Sofianidou, T. S., Veith, M., Zuiderwijk, A. (1997): Atlas of Amphibians And Reptiles in Europe. Collection Patrimoines Naturels29. *Societas Europa Herpetologica*, Muséum National d'Histoire Naturelle & Service du Petrimone Naturel, Paris, 496. pp.

Guillaume, C. P., Heulin, B., Beshkov, V. (1997): Biogeography of *Lacerta (Zootoca) vivipara*: reproductive mode and enzyme phenotypes in Bulgaria. *Ecography* 20:240-246.

Guillette, L. J. (1981): On the occurrence of oviparous and viviparous forms of the mexican lizard *Sceloporus aeneus. Herpetologica* 37: 11-15.

Guillette, L. J., Jones, R. E. (1985): Ovarian, oviductal and placental morphology of the reproductively bimodal lizard, *Sceloporus aeneus*. *Journal of Morphology* 184: 85-98.

Guillette, L. J. (1991): The evolution of viviparity in amniote vertebrates: new insights, new questions. *Journal of Zoology* 223: 521-526.

Guillette, L. J. (1993): The Evolution of Viviparity in Lizards. *BioScience* 43: 742-751.

Guindon, S., Gascuel, O. (2003): A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood". *Systematic Biology* 52: 696-704.

Green, H.W. (1970): Modes of reproduction in lizards and snakes of the Gomez Farias region, Tamaulipas, Mexico. *Copeia* 1970: 565-568.

Greer, A.E. (1968): Mode of reproduction in the squamate faunas of three altutudionally correlated life zones in East Africa. *Herpetologica* 24:229-232.

Heulin, B., Guillaume, C. P., Bea, A., Arrayago, M. J. (1993): Interprétation biogéographique de la bimodalité de reproduction du lézard *Lacerta vivipara*: un modéle pour l'étude de l'évolution de la viviparité. *Biogeographica* 69: 1-11.

Heulin, B., Surget-Groba, Y., Guiller, A., Guillaume, C.P., Deunff, J., (1999): Comparisons of mtDNA sequences (16S rRNA gene) between oviparous and viviparous strains of *Lacerta vivipara*: a preliminary study. *Molecular Ecology* 8: 1627–1631.

Heulin, B., Guillaume, C. P., Vogrin, N., Surget-Groba, Y., Tadic, Z. (2000): Further evidence of the existence of oviparous populations of *Lacerta (Zootoca) vivipara* in the NW of the Balkan Peninsula. *Life Sciences* 323: 461-468.

Heulin, B., Surget-Groba, Y., Sinervo, B., Miles, D., Guiller, A., (2011): Dynamics of haplogroup frequencies and survival rates in a contact zone of two mtDNA lineages of the lizard Lacerta vivipara. *Ecography* 34: 436-447

Hewitt, G. M. (1996): Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* 58: 247-276.

Hewitt, G. M. (2004): Genetic consequences of climatic oscillations in the quaternary. *Philosophical transactions of the Royal Society* 359: 183-195.

Horváthová, T., Cooney, C. R., Fitze, P. S., Oksanen, T. A., Jelic, D., Ghira, I., Uller, T., Jandzik, T. (2013): Length of acivity season drives geographic variation in body size of a widely distributed lizard. *Ecology and Evolution* 3: 2424-2442.

Jones, R. E., Guillette, L. J. (1982): Hormonal control of oviposition and parturition in lizards. *Herpetologica* 38: 80-93.

Jones, R. E., Guillette, L. J., Summers, C. H., Tokarz, R. R., Crews, D. (1983): The Relationship Among Ovarian Conditions, Steroid Hormones, and Estrous Behavior in *Anolis carolinensis. The Journal of Experimental Zoology* 227: 145-154.

Kartavtsev, Y.P., Jung, S-O., Lee, Y-M., Byeon, H-K., Lee, J-S. (2007): Complete mitochondrial genome of the bullhead torrent catfish, *Liobagrus obesus* (Siluriformes, Amblycipididae): Genome description and phylogenetic considerations inferred from the Cyt b and 16S rRNA genes. *Gene* 396: 13–27.

Kupriyanova, L.A., Rudi, E.R., (1990): Comparative karyological analysis of *Lacerta vivipara* (Lacertidae, Sauria) populations. *Zoologicheski Zhurnal* 69: 93-101.

Kupriyanova, L.A., Mayer, W., Böhme, W. (2006): Karyotype diversity of the Eurasian lizard *Zootoca vivipara* (Jacquin, 1787) from Central Europe and the evolution of viviparity. *Herpetologia Bonnensis II.Proceedings of the 13th Congress of the Societas Europaea Herpetologica* pp. 67-72.

Kupriyanova, L.A., Niskanen, M., Oksanen, T. A. (2014): Karyotype dispersal of the common lizard *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) in eastern and northeastern Fennoscandia. *Memoranda Soc. Fauna Flora Fennica* 90: 83-90.

Kwet, A. (2009): European Reptile and Amphibian Guide. *New Holland Publishers*, London, 178-179. pp.

Lindtke, D., Mayer, W., Böhme, W. (2010): Identification of a contact zone between oviparous and viviparous common lizards (*Zootoca vivipara*) in central Europe: reproductive strategies and natural hybridization. *Salamandra* 46: 73-82.

Lymberakis, P., Poulakakis, N., Kaliontzopoulou, A., Valakos, E., Mylonas, M. (2008): Two new species of Podarcis (Squamata; Lacertidae) from Greece. *Systematic Biodiversity* 6: 307–318.

Marián, M. (1960): Adatok a Felső-Tisza herpetofaunájához, *Móra Ferenc Múzeum évkönyve* 1958-1959, különnyomat, 270-271 pp.

Mayer, W., Bischoff, W. (1996): Beiträge zur taxonomischen Revision der Gattung *Lacerta* (Reptilia: Lacertidae), Teil I: *Zootoca, Omanosaura, Timon* und *Teira* als eigenständige Gattungen. *Salamandra 3*2: 163 – 170.

Mayer, W., Böhme, W, Tiedelmann, F., Bischoff, W. (2000): On oviparous populations of *Zootoca vivipara* (Jacquin, 1787) in south-eastern Central Europe and their phylogenetic relationship to neighbouring viviparious and South-west European oviparous populations. *Herpetozoa* 13(1/2):59-69.

Milá, B., Surget-Groba, Y., Heulin, B., Gosá, A., Fitze, P. S. (2013): Multilocus phylogeography of the common lizard *Zootoca vivipara* at the Ibero.Pyrenean suture zone reveals lowland barriers and high-elevation introgression. *BMC Evolutionary Biology* 13: 192.

Odierna, G., Kupriyanova, L. A., Capriglione, T., Olmo, E. (1993): Further data on sex chromosomes of Lacertidae and a hypothesis on their evolutionnary trend. *Amphibia-Reptilia* 14:1-11.

Odierna G., Aprea G., Capriglione T., Arribas O. J., Kupriyanova L. A., Olmo E. (1998): Progressive differentiation of the W sex-chromosome between oviparous and viviparous populations of *Zootoca vivipara* (Reptilia, Lacertidae). *Italian Journal of Zoology* 65: 295-302.

Odierna G., Heulin, B., Guillaume, C. P., Vogrin, N., Aprea, G., Capriglione, T., Surget-Groba, Y., Kupriyanova, L. (2001): Evolutionary and biogeographical implications of the karyological variations in the oviparous and viviparous forms of the lizard *Lacerta (Zootoca) vivipara*. *Ecography* 24: 332-340.

Odierna, G., Aprea, G., Capriglione, T., Puky, M. (2004): Chromosomal evidence for the double origin of viviparity in the european common lizard, *Lacerta (Zootoca) vivipara*. *Herpetological Journal* 14: 157-160.

Packard, G. C. (1966): The influance of ambient temperature and aridity on modes of reproduction and extretion of amniote vertebrates. *The American Naturalist* 100: 677-682.

Packard, G. C., Tracy, C. R., Roth, J. J. (1977): The physiological ecology of reptilian eggs and embryos, and the evolution of viviparity within the class Reptilia. Biological Reviews 52: 71-105.

Palumbi, S., Martin, A., Romano, S., McMillan, W. O., Stice, L., Grabowski, G. (2002): The Simple Fool's Guide to PCR Version 2.0. University of Hawaii, Department of Zoology and Kewalo Marine Laboratory, Honolulu.

Parker, S. L., Murphy, C. R., Thompson, M. B. (2010): Uterine Angiogenesis in Squamate Reptiles: Implications for the Evolution of Viviparity. *Herpetological Conservation and Biology* 5(2): 330-334.

Paulo, O. S., Dias, C., Bruford, M. W., Jordan, W. C., Nichols, R. A. (2001): The persistence of Pliocene populations through the Pleistocene climatic cycles: evidence from the phylogeography of an Iberian lizard. *Philosophical transactions of the Royal Society* 268: 1625-1630.

Pinilla, M. P. R., Laurent, R. (1996): Apparent reproductive bimodality in *Liolaemus alticolor alticolor* (Reptilis: Sauria). *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 32: 1-13.

Posada, D., Crandall, K. A. (1998): Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.

Poulakakis, N., Pakaki, V., Mylonas, M., Lymberakis, P. (2008): Molecular phylogeny of the Greek legless skink *Ophiomorus punctatissimus* (Squamata: Scincidae): The impact of the Mid-Aegean trench in its phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47: 396–402.

Puky, M., Hajdú, Á., Surget-Groba, Y., Heulin, B., Odierna, G. (2004): Fajvédelmi programok létjogosultsága és feladatai Magyarországon: az elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara* Mayer & Bischoff, 1996) vizsgálatának eredményei és tanulságai. *Természetvédelmi Közlemények* 11: 411-418.

Puky, M., Schád, P., Szövényi, G. (2005): Magyarország herpetológiai atlasza. Varangy Akciócsoport Egyesület, Budapest. 122-127 pp.

Qualls, C. P., Shine, R., Donnellan, S., Hutchinson, M. (1995): The evolution of viviparity within the Australian scincid lizard *Lerista bougainvillii*. *Journal of Zoology* 237: 13–26.

Qualls, C. P., Shine, R. (1998): *Lerista bougainvillii*, a case study for the evolution of viviparity in reptiles. *Journal of Evolutionary Biology* 11: 63-78.

Rambaut, A., Suchard, M. A., Xie, D., Drummond, A. J. (2014): Tracer v1.6, Available from http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer

Schmidtler, J. F., Böhme, W. (2011): Synonymy and nomenclatural history of the Common or Viviparous Lizard, by this time: *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823). *Bonn Zoological Bulletin* 60 (2): 214–228.

Schulte, J. A., Macey, J. R., Espinoza, R. E., Larson, A. (2000): Phylogenetic relationships in the iguanid lizard genus *Liolaemus*: multiple origins of viviparious reproduction and evidence for recurring Andean vicariance and dispersal. *Biological Journal of the Linnean Society* 69: 75-102.

Shine, R., Berry, J. F. (1978): Climatic correlates of live-bearing in squamate reptiles. *Oecologia* 33: 261-268.

Shine, R., Bull, J. J. (1979): The evolution of live-bearing in lizards and snakes. *The American Naturalist* 113: 905-923.

Shine, R. (1983a): Reptilian reproductive modes: the oviparity-viviparity continuum. *Herpetologica* 39: 1-8.

Shine, R. (1983b): Reptilian viviparity in cold climates: testing the assumption of an evolutionary hypothesis. *Oecologica* 57: 397-405.

Shine, R. (1985): The evolution of viviparity in reptiles: an ecological analysis. Biology of the Reptilia, Wiley, New York, pp. 605-694.

Shine, R., Guillette, L. J. (1988): The Evolution of Viviparity in Reptiles: A Physiological Model and its Ecological Consequences. *Journal of Theoretical Biology* 39: 1-8.

Shine, R., Lee, M. S. Y. (1999): A reanalysis of the evolution of viviparity and egg-guarding in squamate reptiles. *Herpetologica* 55: 538-549.

Simon, C., Fraiti, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., Flook, P. (1994): Evolution, Weighting and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. Annals Of the Entomological Society of America 87(6): 651-701.

Sites, J. W., Reeder, T. W., Wiens, J. J. (2011): Phylogenetic insights on evolutionary novelties in lizards and snakes: sex, birth, bodies, niches and venom. The Annual Review of Ecology. *Evolution and Systematics* 42: 227-244.

Smith, M. F., Patton, J. L. (1991): Variation in Mitochondrial Cytochrome *b* Sequence in Natural Populations of South American Akodontine Rodents (Muridae: Sigmodontinae). *Molecular Biology and Evolution* 8: 85-103.

Smith, S. A., Shine, R. (1997): Intraspecific variation in reproductive mode within the scincid lizard *Saiphos equalis*. *Australian Journal of Zoology* 45: 435–445.

Smith S. A., Austin, C. C., Shine, R. (2001): A phylogenetic analysis of variation in reproductive mode within an Australian lizard (*Saiphos equalis*, Scincidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 74: 131-139.

Sotiropoulos, K., Eleftherakos, K., Dzukic, G., Kalezic, M.L., Legakis, A., Polymeni, R.M. (2007): Phylogeny and biogeography of the alpine newt *Mesotriton alpestris* (Salamandridae, Caudata), inferred from mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45: 2011-226.

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.

Surget-Groba, Y., Heulin B., Guillaume C-P., Thorpe RS., Kupriyanova L., Vogrin. N., Maslak, R., Mazzotti, S., Venczel, M., Ghira, I., Odierna, G., Leontyeva, O., Monney, J. C., Smith, N., (2001): Intraspecific phylogeography of *Lacerta vivipara* and the evolution of viviparity. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18: 449–459.

Surget-Groba, Y., Heulin, B., Ghielmi, S., Guillaume, C. P., Vogrin, N. (2002): Phylogeography and conservation of the populations of *Zootoca vivipara carniolica. Biological Conservation* 106: 365-372.

Surget-Groba, Y., Heulin, B., Guillaume, C-P., Puky, M., Semenov, D., Orlova, V., Kupriyanova, L.., Ghira, I., Smajda, B., (2006): Multiple origins of viviparity, or reversal from viviparity to oviparity? The European common lizard (*Lacerta vivipara*, Lacertidae) and the evolution of parity. *Biological Journal of the Linnean Society* 87: 1-11.

Takeuchi, H., Takeuchi, M., Hikida, T. (2013): Extremely low Genetic Diversity in the Japanese Population of *Zootoca vivipara* (Squamata: Lacertidae) Revealed by Mitochondrial DNA. *Current Herpetology* 32: 66-70.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D. G.,(1997) The clustal–x windows interface–flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876–4882.

Thompson, M. B, Speake, B. K. (2006): A review of the evolution of viviparity in lizards: structure, function and physiology of the placenta. *Journal of Comparative Physiology* 176: 179-189.

Tinkle, D. W., Gibbons, J. W. (1977): The Distribution and Evolution of Viviparity in Reptiles. Museum of Zoology, University of Michigan.

Uetz, P., Hosek, J. (eds, 2015): The Reptile Database, http://www.reptile-database.org

Velekei, B., Lakatos, F., Bíró, P., Ács, É., Puky, M. (2014): The genetic structure of *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) populations did not support the existence of a north-south corridor of the VB haplogroup in eastern Hungary. *North-Western Journal of Zoology* 10: 187-189.

Velekei, B., Lakatos, F., Covaciu-Marcov, S. D., Sas-Kovács, I., Puky, M. (2015): New *Zootoca vivipara* haplogroup in the Carpathians. *North-Western Journal of Zoology* Arcticle number: 152502

Wang, Y., Evans, S. E. (2011): A gravid lizard from the Cretaceous of China and the early history of squamate viviparity. *Naturwissenschaften* 98: 739-743.