

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Učitelství biologie pro střední školy

Studijní obor: UN-BCH



Bc. Veronika Majerová

Kožní lipidy a jejich význam pro ztráty vody výparem u gekonů čeledi Eublepharidae

Skin lipids and their role in evaporative water loss in geckos from the family Eublepharidae

Diplomová práce

Vedoucí práce: Mgr. Zuzana Starostová, Ph.D.

Praha, 2024

Prohlášení:

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

V Praze, 12. 12. 2024

Bc. Veronika Majerová

Poděkování

Ze srdce bych ráda poděkovala své rodině a přátelům za jejich podporu, trpělivost a také za to, že tu pro mě vždy byli a vyslechli mě, když jsem potřebovala.

Jmenovitě bych pak chtěla poděkovat prof. Lukáši Kratochvílovi a Mgr. Martinu Hlubeňovi za cenné rady a pomoc se statistickou analýzou.

Dále bych ráda poděkovala RNDr. Petru Žáčkovi, Ph.D. za lipidovou analýzu, veškerou pomoc a odborné konzultace.

Zvláštní poděkování patří vedoucí mé diplomové práce, Mgr. Zuzaně Starostové, Ph.D., která mi ochotně pomáhala ve všech fázích práce. Děkuji za všechny odborné rady, předané dovednosti a za její trpělivost a shovívavost během psaní. Velmi si vážím jejího času, který věnovala mně a této práci, a všech konzultací, které mi poskytla.

Abstrakt

Regulace celkových ztrát vody výparem (TEWL) je zásadní pro adaptace a přežití plazů v různých typech prostředí. Tyto ztráty se mezi druhy liší v závislosti na vlhkosti obývaného habitatu. Zástupci čeledi Eublepharidae, gekoni obývající prostředí od pouští po deštné pralesy, byli nedávno detailně zkoumáni z hlediska regulace TEWL. Výsledky těchto studií ukázaly výraznou variabilitu v hodnotách TEWL mezi jednotlivými druhy, přičemž tato variabilita je silně ovlivněna ariditou prostředí, ve kterém druhy žijí. Zdá se, že klíčovou roli v regulaci TEWL hraje permeabilita pokožky a velikost šupin má na tuto variabilitu pouze minimální vliv.

Tato diplomová práce se zaměřuje na ztrátu vody pokožkou u gekonů čeledi Eublepharidae, s důrazem na roli lipidů. Cílem je zanalyzovat obsahu lipidů v pokožce gekončků a jeho vliv na TEWL v kontextu adaptací na různé typy prostředí. Práce se dále zabývá kvalitativním lipidovým složením pokožky a jeho rozdíly mezi druhy žijícími v jednotlivých typech prostředí.

Výsledky analýz ukazují výrazné mezidruhové rozdíly v množství lipidů obsažených v analyzovaných svlečkách. Druhy se významně liší množstvím lipidů na dorzální i ventrální části těla. Množství lipidů negativně koreluje s indexem aridity prostředí, což znamená vyšší množství lipidů v pokožce u druhů žijících v aridních oblastech. Množství ventrálních lipidů se ukázalo jako nejlepší testovaný prediktor pro vysvětlení rozdílů v TEWL mezi druhy. Analýza lipidů extrahovaných ze svleček gekončků z prostředí s různou ariditou pomocí hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením metodou přímého nástřiku a dvourozměrné komprehensivní plynové chromatografie s hmotnostní detekcí ukázala, že lipidové složení se mezi druhy liší bez zřetelného klastrování podle typu prostředí nebo fylogenetické příbuznosti.

Klíčová slova:

Aridita prostředí, Eublepharidae, kůže, lipidy, plazi, ztráty vody výparem

Abstract

Regulation of total evaporative water loss (TEWL) is crucial for the adaptation and survival of reptiles in diverse environmental conditions. These losses vary among species depending on the humidity of their habitats. Species of the family Eublepharidae, geckos inhabiting environments ranging from deserts to rainforests, have recently been studied in detail regarding TEWL regulation. Results from these studies revealed significant variability in TEWL values among species, strongly influenced by the aridity of their habitats. Skin permeability appears to play a key role in regulating TEWL, while scale size seems to have minimal impact on this variability.

This thesis focuses on cutaneous water loss in geckos of the family Eublepharidae, with an emphasis on the role of lipids. The aim is to analyze the lipid content in the skin of these geckos and its impact on TEWL in the context of adaptations to various environmental conditions. Additionally, the thesis examines the qualitative lipid composition of the skin and its differences among species from distinct habitats.

The results show significant interspecific differences in the amount of lipids contained in the analyzed shed skin. The species differ significantly in the amount of lipids on both the dorsal and ventral parts of the body. The amount of lipids negatively correlates with the habitat aridity index, indicating a higher lipid content in the skin of species living in arid regions. The amount of ventral lipids was identified as the best predictor for explaining differences in TEWL among species. High-resolution mass spectrometry using direct infusion and two-dimensional comprehensive gas chromatography with mass spectrometric detection was used to analyze lipids extracted from the shed skins of geckos from environments with varying aridity. The results showed that lipid composition differs among species, without clear clustering based on habitat type or phylogenetic relatedness.

Key words

Eublepharidae, evaporative water loss, habitat aridity, lipids, reptiles, skin

Obsah

1	Úvod.....	8
1.1	Adaptace na terestrický život u plazů	9
1.2	Mechanismy ovlivňující ztráty vody výparem plazů.....	11
1.3	Role lipidů v propustnosti pokožky	14
1.4	Tělní pokryv plazů	15
1.5	Modelová skupina gekonů čeledi Eublepharidae.....	18
1.5.1	Gekončíci a ztráty vody výparem.....	19
1.6	Cíle	22
2	Metodika.....	23
2.1	Zástupci gekončků zahrnutí do diplomové práce a charakteristika druhů z hlediska ztrát vody výparem a aridity přirozeného prostředí	23
2.1.1	<i>Aeluroscalabotes felinus</i> (Günther, 1864).....	23
2.1.2	<i>Coleonyx elegans</i> Gray, 1845.....	24
2.1.3	<i>Coleonyx mitratus</i> (Peters, 1863).....	24
2.1.4	<i>Coleonyx variegatus</i> (Baird, 1858)	25
2.1.5	<i>Eublepharis angramainyu</i> Anderson & Leviton, 1966.....	25
2.1.6	<i>Eublepharis hardwickii</i> Gray, 1827	26
2.1.7	<i>Eublepharis macularius</i> (Blyth, 1854).....	27
2.1.8	<i>Goniurosaurus araneus</i> Grismer, Viets & Boyle, 1999.....	28
2.1.9	<i>Goniurosaurus catbaensis</i> Ziegler, Truong, Schmitz, Stenke, Rösler, 2008 ...	28
2.1.10	<i>Goniurosaurus huuliensis</i> Orlov, Ryabov, Nguyen & Ho, 2008	29
2.1.11	<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i> (Mocquard, 1897)	29
2.1.12	<i>Goniurosaurus luii</i> (Grismer, Viets & Boyle, 1999)	30
2.1.13	<i>Goniurosaurus sengokui</i> (Honda & Ota, 2017)	30
2.1.14	<i>Goniurosaurus splendens</i> (Nakamura & Uéno, 1959).....	31
2.1.15	<i>Goniurosaurus yamashinae</i> (Okada, 1936)	31
2.1.16	<i>Hemitheconyx caudicinctus</i> (Duméril, 1851).....	32
2.1.17	<i>Holodactylus africanus</i> Boettger, 1893.....	33
2.2	Sběr materiálu	33
2.3	Kvantitativní analýza.....	34
2.3.1	Pilotní měření a úprava metodiky	34
2.3.2	Sběr svleček.....	34
2.3.3	Extrakce lipidů	36
2.3.4	Data o TEWL, CWL a ariditě prostředí pro zástupce čeledi Eublepharidae ...	38
2.3.5	Statistické zpracování dat kvantitativní analýzy	38
2.4	Kvalitativní analýza.....	39

2.4.1	Sběr svleček.....	39
2.4.2	Vlastní analýza.....	40
2.4.3	Analýza výsledků a jejich statistické zpracování.....	41
3	Výsledky.....	44
3.1	Kvantitativní část.....	44
3.1.1	Sběr svleček.....	44
3.1.2	Souvislost mezi množstvím lipidů, ztrátami vody výparem a ariditou prostředí 47	
3.2	Kvalitativní část.....	50
3.2.1	DI-HRMS	50
3.2.2	GCxGC-TOF/MS	55
3.2.3	Statistická analýza	58
4	Diskuze.....	64
5	Závěr.....	70
6	Přehled literatury a použitých zdrojů	72
7	Přílohy	84

1 Úvod

Prostředí, která živočichové obývají, jsou mimořádně rozmanitá a liší se svými podmínkami a charakteristikami. Každé z těchto prostředí představuje jedinečné výzvy, na které se organismy musí adaptovat. Schopnost udržovat rovnováhu tělních tekutin a regulovat ztráty vody byla zásadní adaptací, kterou si živočichové vyvinuli při přechodu života na souš (Bentley & Schmidt–Nielsen, 1966). Díky různorodým strategiím vedoucím ke snížení ztrát vody si terestriční živočichové dokáží udržet stabilní vnitřní prostředí a přežít i v extrémně suchých podmínkách (Schmidt–Nielsen, 1977; Mautz, 1982; Williams & Tieleman, 2005; Schwimmer & Haim, 2009; Van Sant et al., 2012)

U všech suchozemských živočichů dochází k přirozeným ztrátám vody výparem (Bentley & Schmidt–Nielsen, 1966; Dantzler & Bradshaw, 2008). Celkové ztráty vody výparem (*total evaporative water loss*, TEWL) zahrnují převážně ztrátu vody skrze pokožku (*cutaneous water loss*, CWL) a dýcháním (*respiratory water loss*, RWL), jak znázorňuje Obr. 1, přičemž poměr mezi CWL a RWL se u různých druhů liší (Mautz, 1982; Le Galliard, 2021).

Ztráty vody výparem jsou silně ovlivněny ariditou prostředí. Druhy obývající sušší prostředí vykazují zpravidla nižší míru výparu vody než druhy žijící ve vlhčích oblastech, což je adaptací na vysoké okolní teploty, nízkou relativní vlhkost vzduchu a omezený přístup k vodě (Schmidt–Nielsen, 1977; Mautz, 1982; Dmi`el, 2001; Tieleman et al., 2003; Van Sant et al., 2012; Khan et al., 2013). Z obratlovců byly tyto adaptace pozorovány u plazů (např. Duvdevani & Borut, 1974; Mautz, 1982; Donoso et al., 2021), ptáků (Williams & Tieleman, 2005; Muñoz – Garcia & Williams, 2005; Champagne et al., 2012; Khan et al., 2013) i savců (Schmidt–Nielsen, 1972; Schwimmer & Haim, 2009; Van Sant et al., 2012; Asres & Amha, 2014) a zahrnují především fyziologické a behaviorální mechanismy, které pomáhají minimalizovat ztráty vody.

U některých druhů žijících v aridních oblastech, zejména mezi ptáky a savci, byla potvrzena snížená intenzita metabolismu, což snižuje potřebu kyslíku a výměnu plynů, a tím i respirační ztráty vody (Williams & Tielman, 2005; Duvdevani & Borut, 1974; Schwimmer & Haim, 2009). Nižší metabolismus navíc snižuje produkci tepla, což je důležité pro minimalizaci potřeby dalších termoregulačních mechanismů, které jsou často spojeny s vyššími ztrátami vody (McNab, 1968; Haim & Izhaki, 1993; Schwimmer & Haim, 2009).

Ztráty vody výparem jsou do velké míry způsobeny právě termoregulačními mechanismy. Aby se živočichové vypořádali s rozdíly teplot, využívají různé termoregulační mechanismy, které však často vedou ke ztrátám vody. Například zrychlené dýchání je

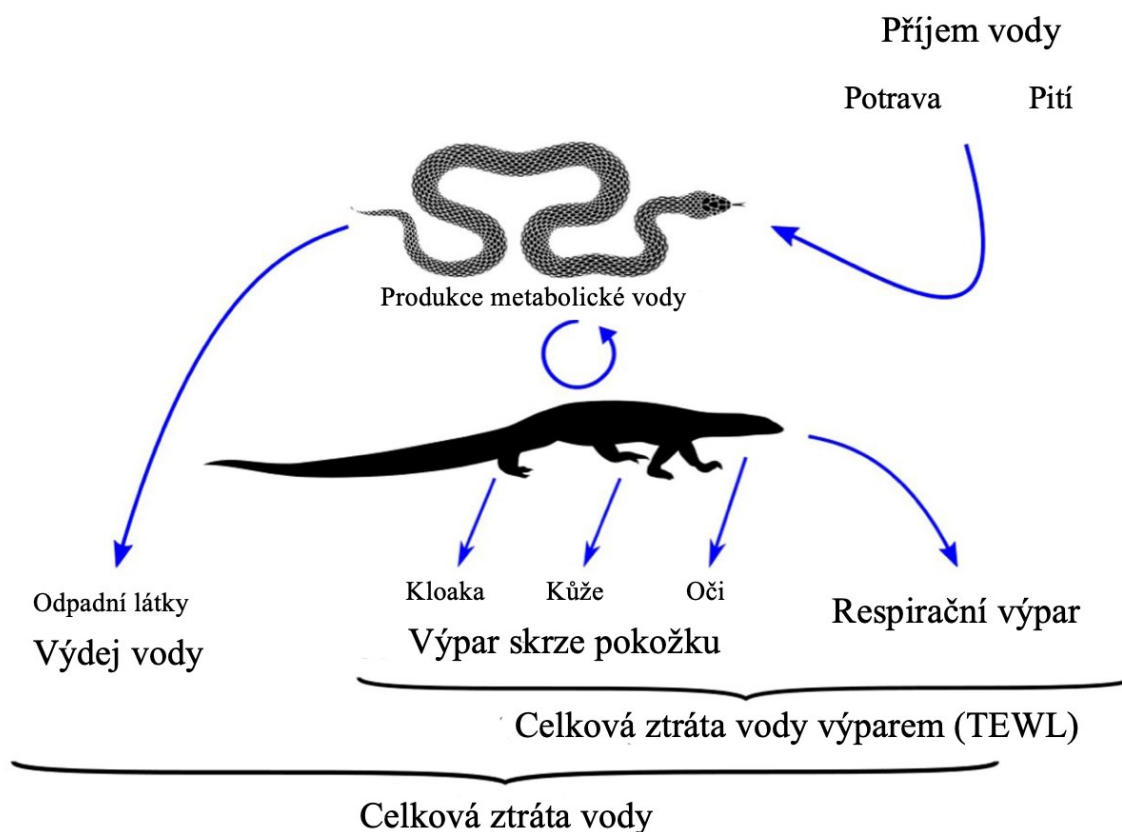
efektivním způsobem chlazení, které zvyšuje odpařování vody z dýchacích cest. Tento mechanismus je typický zejména pro menší savce, ptáky a některé plazy (Dawson, 1982; Loughran & Wolf, 2023). U větších druhů savců je hlavním mechanismem chlazení pocení (Asres & Amha, 2014). Přestože pocení pomáhá odvádět přebytečné teplo, zvyšuje ztráty vody (Schmidt–Nielsen, 1964).

Naopak hypertermie, pozorovaná u savců, pomáhá tyto ztráty omezit snížením teplotního gradientu mezi tělem a okolím, čímž tyto ztráty snižuje (Walsberg, 2000). Dalším příkladem mechanismu vedoucího ke snížení ztrát vody je její reabsorpce v dýchacích cestách (Schmidt–Nielsen et al., 1970; Walsberg, 2000). Kromě toho mnohé pouštní druhy využívají adaptace ke snížení ztrát vody vylučováním – zvýšení koncentrace moči a snížení jejího objemu jsou zásadní pro zachování vody (Palgi & Haim, 2003; Shanas & Haim, 2004).

Behaviorální strategie, jako je vyhledávání stínu, úkryt v norách nebo noční aktivita, dále omezují tepelné zatížení a snižují potřebu chlazení během dne (Costa, 1995). Tyto kombinované přístupy umožňují živočichům z aridních oblastí efektivně hospodařit s vodou a zároveň regulovat tělesnou teplotu (Schmidt–Nielsen, 1997; Tieleman et al., 2002; Careau et al., 2007). I přes odlišnosti konkrétních mechanismů jsou principy regulace ztrát vody výparem mezi obratlovci podobné a jsou klíčové pro jejich přežití v různých typech prostředích (Bentley & Schmidt–Nielsen, 1966; Khan et al., 2013; Cox & Cox, 2015).

1.1 Adaptace na terestrický život u plazů

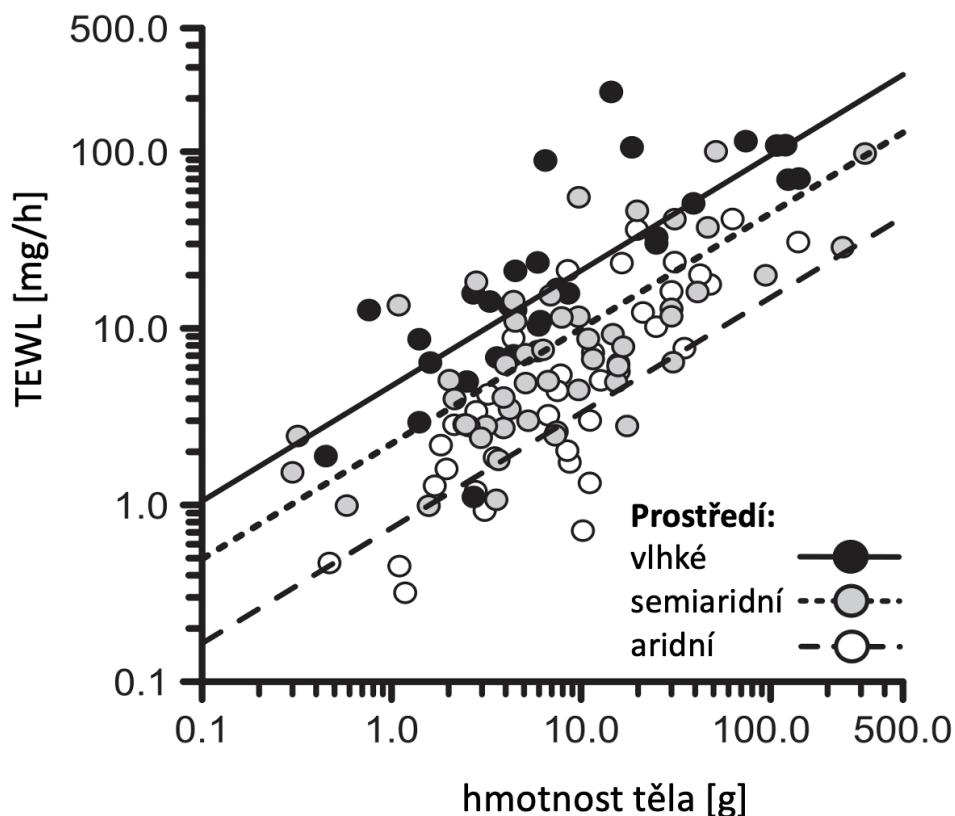
První skupinu obratlovců, která se plně adaptovala na život na souši, představují plazi (např. Gray, 1928; Bentley & Schmidt–Nielsen, 1966). Celkové hospodaření s vodou je i u plazů klíčovým faktorem jejich přežití v různorodých suchozemských podmínkách. Toto hospodaření je charakterizováno maximálním využitím dostupných zdrojů a vysokou účinností v minimalizaci ztrát vody, ke které přirozeně v různé míře dochází (Pirtle et al., 2019; Le Galliard et al., 2021; viz Obr. 1). Významnou složkou těchto ztrát vody je výpar, u plazů pak CWL tvoří hlavní podíl (až 2/3 či více) TEWL (Bentley & Schmidt–Nielsen, 1966; Mautz, 1982).



Obr. 1: Schéma znázorňující celkovou bilanci vody u plazů, cesty jejího příjmu i výdeje. Celková vodní bilance jedince závisí na rovnováze mezi příjmem a ztrátou vody kůží, skrze odpadní látky a respiračním výdejem. Celková ztráta vody výparem je součet celkové respirační ztráty a ztrát vody skrze pokožku. Převzato a upraveno z Le Galliard et al. (2021).

Plazi si vyvinuli různé fyziologické a morfologické adaptace i behaviorální strategie pro minimalizaci ztrát vody. Patří mezi ně například zúžené nosní otvory, které snižují odpařování vody při dýchání, omezená aktivita během nejteplejších částí dne nebo schopnost reabsorbovat vodu z močového měchýře (Heatwole & Taylor, 1987; Davis & DeNardo, 2007). Kromě toho mají plazi vysoce účinné ledviny a dusíkaté odpadní produkty vylučují v podobě koncentrované kyseliny močové, která na rozdíl od močoviny vyžaduje jen minimální množství vody k vyloučení (Braun, 1998). Tyto mechanismy jim umožňují efektivně hospodařit s vodou v prostředí s omezeným přístupem k vodním zdrojům. Některé druhy dokonce dokáží reabsorbovat vodu z vlhkého substrátu prostřednictvím kloaky (Junqueira et al., 1966; Bradshaw, 1997). Pro regulaci ztráty vody výparem, které, jak již bylo zmíněno, jsou v terestrickém prostředí zásadní, bylo však potřeba dalších adaptací. Tyto adaptace umožňují

plazům přežít a prosperovat v široké škále suchozemských prostředí, včetně těch nejvíce aridních oblastí na Zemi (Pianka, 1967; Cox & Cox, 2015). I u plazů platí, že ztráty vody výparem jsou silně ovlivněny ariditou prostředí. Druhy obývající sušší prostředí vykazují nižší míru výparu vody než druhy žijící ve vlhčích oblastech, viz Obr. 2 (Schmidt–Nielsen, 1977; Mautz, 1982; Dmi'el, 2001; Cox & Cox, 2015; Belasen et al., 2017; Hlubeň et al., 2021). Vzhledem k tomu, jaké jsou hlavní cesty, kterými dochází k nejvyšším ztrátám vody, se usuzovalo, že u plazů může TEWL ovlivňovat především povrch těla či intenzita metabolismu (shrnuje Mautz 1982).



Obr. 2: Graf zobrazující závislost celkových ztrát vody výparem (TEWL) na hmotnosti těla a ariditě prostředí. Převzato a upraveno z Cox & Cox (2015).

1.2 Mechanismy ovlivňující ztráty vody výparem plazů

Ačkoliv je známo, že TEWL u plazů souvisí s ariditou prostředí, stále není zcela jasné, které mechanismy tyto rozdíly způsobují. Nedávné studie se proto zaměřily na zkoumání vztahu mezi ariditou prostředí, intenzitou metabolismu a TEWL u šupinatých plazů, kde často i blíže

příbuzné druhy žijí ve velmi odlišných prostředích a představují tak ideální skupinu pro testování různých hypotéz.

Jedním z nejdiskutovanějších mechanismů ovlivňujících ztráty vody u plazů je role intenzity metabolismu, která úzce koreluje s RWL. Výsledky některých studií naznačují, že intenzita metabolismu se podobně jako u ptáků či savců (Williams & Tielman, 2005; Duvdevani & Borut, 1974) i u plazů může měnit v závislosti na ariditě prostředí. Konkrétně se zdá, že v aridním prostředí dochází ke snižování intenzity metabolismu, kdy snížení intenzity metabolismu může snižovat dehydrataci a energetické náklady (Duvdevani & Borut, 1974; Dupoué et al., 2017). Duvdevani & Borut (1974) například zjistili, že druhy ještěrek rodu *Acanthodactylus* žijící v aridnějších oblastech vykazovaly nižší spotřebu kyslíku než ty z vlhčích oblastí. To podporuje hypotézu adaptace prostřednictvím snížení metabolické aktivity (Duvdevani & Borut, 1974). Podobné závěry uvádí Dupoué et al. (2017) ve studii zaměřené na hady. Ve své studii na 90 druzích hadů zkoumali vliv množství srážek a dalších environmentálních faktorů na metabolickou aktivitu, přičemž zjistili, že nižší metabolismus v aridních oblastech může snižovat ztráty vody a energetické náklady.

Odlíšné závěry přináší studie Hlubeň et al. (2021), která se zaměřila na TEWL u gekončků žijících v různých prostředích a zkoumala řadu faktorů, včetně intenzity metabolismu, které mohou TEWL ovlivnit. Publikované výsledky ukazují, že u skupiny gekonů Eublepharidae intenzita metabolismu silně koreluje s tělesnou hmotností, jak vnitrodruhově, tak i mezidruhově, avšak nevykazuje závislost na typu prostředí, ve kterém daný druh žije (Hlubeň et al., 2021). Podobné závěry pak ukazuje i Myslíková (2020) v diplomové práci zaměřené na madagaskarské gekony rodu *Paroedura*, taktéž obývajících prostředí s výrazně odlišnou ariditou. Druhy se výrazně liší v hodnotách TEWL, ale tuto variabilitu nelze vysvětlit rozdíly v intenzitě metabolismu. Jiné výsledky pak přináší studie Schwarz et al. (2023), dle které se mezi jedinci gekona druhu *Ptyodactylus guttatus* žijícího v různých prostředích v rámci Izraele nenašly rozdíly v intenzitě metabolismu, ale ani v TEWL.

Dostupné studie tedy poskytují smíšené výsledky a naznačují, že roli metabolismu v regulaci TEWL je třeba dále zkoumat. Přesto se zdá, že na základě studií, v nichž autoři podrobně zkoumali mezidruhové rozdíly u druhů žijících v velmi odlišných typech prostředí a analyzovali různé faktory potenciálně ovlivňující TEWL, nelze rozdíly v TEWL mezi druhy jednoznačně vysvětlit pouze intenzitou metabolismu (Myslíková, 2020; Hlubeň et al., 2021). Naopak CWL, která u plazů tvoří nezanedbatelnou část TEWL pravděpodobně hraje klíčovou roli v těchto rozdílech (Bentley & Schmidt–Nielsen, 1966; Mautz, 1982). Pokožka se tedy jeví

jako významný faktor v regulaci ztrát vody a mohla by poskytnout hlubší vysvětlení mezidruhových rozdílů v TEWL.

Šupiny byly v tomto kontextu vždy považovány za jednu z hlavních adaptací plazů k terestrickému způsobu života a k osídlení nejrůznějších typů prostředí (Alibardi, 2003; Oufiero et al., 2011; Wegener et al., 2014). Morfologie šupin, zejména pak jejich velikost, bývá diskutována jako další možný faktor ovlivňující ztráty vody. Existuje široká škála názorů a výsledků ohledně toho, jakým způsobem velikost a struktura šupin ovlivňují tyto ztráty. Například Soulé a Kerfoot (1972) ve své studii zjistili, že větší šupiny u druhu *Sceloporus graciosus* jsou adaptivní odpovědí na suché a horké podmínky, ve kterých pomáhají snižovat ztrátu vody a napomáhají termoregulaci. Tento závěr podpořily další studie, které ukázaly, že druhy žijící v suchých oblastech mají tendenci mít méně, ale větších šupin ve srovnání s druhy z vlhkých oblastí (Calsbeek et al., 2006; Wegener et al., 2014). Naproti tomu některé práce dospěly k opačným výsledkům, podle nichž jsou velké šupiny spojovány s vyššími hodnotami CWL a vyskytují se spíše u druhů žijících ve vlhku (Horton, 1972, Malhotra & Thorpe, 1997).

Dalším faktorem ovlivňujícím CWL pak může být plocha mezi šupinami. Menší šupiny vytvářejí větší volnou plochu obnažené kůže, což může vést k vyšším potenciálním ztrátám vody (Horton, 1972). Calsbeek et al. (2006) svými výsledky také ukázali, že variabilita počtu šupin u rodu *Anolis* je významně ovlivněna nejen klimatickými podmínkami, ale i strukturálním prostředím jejich habitatů jako je vegetační pokryv. Tyto odlišné struktury prostředí ovlivňují mikroklimatické podmínky (například teplotu a vlhkost), což má pak vliv na uvedené adaptivní morfologické změny.

Studie zaměřené na bezšupinaté jedince poskytují další pohled na roli šupin v regulaci TEWL. Maderson et al. (1978) ukázali, že odstranění šupin výrazně zvyšuje ztráty vody pokožkou. Podobně Sakich et al. (2021) zjistili, že jedinci agamy vousaté (*Pogona vitticeps*) formy „*silkback*“, kteří jsou díky genetické mutaci bez šupin, vykazují až dvojnásobně větší kožní výpar oproti normálním jedincům stejného druhu s šupinami. Na základě těchto výsledků se tedy zdá, že šupiny hrají roli v omezení ztrát vody výparem. K odlišným závěrům však dospěli Licht a Bennett (1972), když srovnávali jedince s šupinami a bez šupin u užovky druhu *Pituophis catenifer*. Zjistili, že míra ztráty vody byla v obou případech srovnatelná. Podobné výsledky přinesla také jejich studie z roku 1975 na druhu *Nerodia sipedon*, kde byla míra ztráty vody u jedinců bez šupin na základě velikosti povrchu dokonce nižší než u šupinatých jedinců. V obou studiích byli jedinci bez šupin, podobně jako u agamy vousaté, z důvodu genetické mutace způsobující ztrátu šupin, v tomto případě šlo o absenci dorzálních a laterálních šupin (Licht & Bennett, 1972; Bennett & Licht, 1975). Tyto výsledky naznačují, že přítomnost či

absence šupin nemá u hadů významný vliv na ztrátu vody výparem. Hlavní funkcí šupin může být spíše mechanická ochrana než fyziologická regulace ztráty vody. Křehkost kůže jedinců bez šupin také poukazuje na to, že šupiny poskytují spíše onu mechanickou oporu (Licht & Bennett, 1972; Bennett & Licht, 1975).

To podporují i závěry studie Hlubeň et al. (2021), která se zaměřila na měření hodnot TEWL a CWL u gekončků z čeledi Eublepharidae. Přestože se jednotlivé druhy liší mírou výparu, výsledky naznačují, že velikost šupin tyto rozdíly nevysvětluje a nepřispívá významně k variabilitě v TEWL (viz níže). Podobné výsledky byly zaznamenány také u gekonů rodu *Paroedura*, kde velikost šupin rovněž nevysvětluje rozdíly v TEWL (Myslíková, 2020). Skutečnost, že gekoni rodu *Paroedura* a zástupci čeledi Eublepharidae vykazují rozdíly v TEWL i CWL, přičemž role šupin nebyla prokázána a absence šupin u jedinců způsobila pouze dvojnásobný nebo žádný rozdíl v TEWL, ukazuje, že pro permeabilitu pokožky bude klíčový jiný faktor než velikost šupin (Myslíková, 2020, Hlubeň, et al., 2021).

Výsledky dosavadních studií zaměřených na vliv šupin na regulaci TEWL nejsou jednoznačné a často vykazují protichůdné závěry. Nicméně na základě nedávných studií lze předpokládat, že rozdíly v CWL u gekonů patrně nesouvisí s velikostí či tvarem šupin, ale spíše odrážejí specifické vlastnosti kůže plazů. Variabilita ve ztrátách vody tak pravděpodobně souvisí především s její permeabilitou

1.3 Role lipidů v propustnosti pokožky

Charakteristikou, která se zdá být důležitá pro permeabilitu pokožky, jsou lipidy (např. Roberts & Lillywhite, 1980; Burken et al., 1985 Khan et al., 2013; Torri et al., 2020). Bylo zjištěno, že právě lipidy v epidermis hrají klíčovou roli v bariérové funkci kůže napříč různými skupinami obratlovců (Roberts & Lillywhite, 1980; Lillywhite, 2006; Akat et al., 2022). U plazů a savců jsou lipidy nezbytné pro omezení ztráty vody, zatímco u ptáků zajišťují nejen bariérovou funkci, ale i další důležité ochranné role (Champagne et al., 2012; Khan et al., 2013; Akat et al., 2022). V rybí epidermis lipidy nejsou tak výrazně zmiňovány, což by mohlo naznačovat jejich menší význam pro bariérovou funkci ve srovnání se suchozemskými obratlovcí (Akat et al., 2022).

V návaznosti na tato zjištění se tedy zdá, že dalším klíčovým faktorem, který by mohl ovlivňovat CWL, je obsah a složení lipidů v epidermis. Studie Roberts a Lillywhite (1980) poskytuje důležité poznatky o této lipidové bariéře u plazů. Jejich výzkum ukázal, že různé druhy mají přirozeně odlišnou propustnost kůže pro vodu, ale po odstranění lipidů se tyto rozdíly vyrovnaly a výrazně (patnáctinásobně) se tak zvýšila CWL. Srovnání rozdílů v CWL

po extrakci lipidů potvrzuje i studie Kattan & Lilywhite (1989). Množství lipidů v epidermis se mezi různými druhy plazů liší, přičemž druhy přizpůsobené aridním habitatům mají obecně vyšší obsah lipidů ve srovnání s druhy z oblastí s vyšší vlhkostí (Roberts & Lillywhite, 1983; Weldon & Bagnall, 1987; Miller & Lutterschmidt, 2014)

Další analýzy lipidových extraktů ukázaly, že epidermis obsahuje komplexní směs polárních a neutrálních lipidů, které se nacházejí především v mezos vrstvě zrohovatělé epidermis (Roberts & Lillywhite, 1980). Konkrétní látky, které byly z plazí kůže extrahovány a identifikovány jsou steroly (zejména cholesterol), deriváty cholesterolu, volné mastné kyseliny (nasyčené i nenasycené) nebo například alkoholy, jednosytné i vícesytné (Chunfu et al., 2019; Andonov et al., 2023). Polární lipidy jako fosfatidylcholinu a fosfatidylethanolaminy byly přítomny v různé míře u většiny druhů (Weldon & Bagnall, 1987). Podobné výsledky vychází ze studie autorů Torri et al. (2020), kteří zkoumali složení lipidové složky u druhu *Heloderma suspectum*, jenž žije ve velmi aridním prostředí. Cholesterol a jeho deriváty pravděpodobně hrají důležitou roli při stabilizaci a kompaktnosti mezos vrstvy, což by opět mohlo hrát roli v omezení ztrát vody (Roberts & Lillywhite, 1980; Torri et al., 2020).

Schopnost lipidů regulovat permeabilitu vody je poměrně dobře zdokumentována a byla mnohokrát studována. Bylo zjištěno, že lipidy zpomalují průchod vody skrze pokožku (Weldon & Bagnall, 1987) a s rostoucí teplotou mění své uspořádání a tato strukturální reorganizace snižuje průchodnost vody přes epidermis (Torri et al., 2014). Všechny tyto výsledky tak naznačují, že lipidy hrají klíčovou roli v regulaci CWL a jsou důležité pro adaptace plazů na různá prostředí, zejména na suchozemská prostředí s vyšší ariditou, kde je udržení vody nezbytné (Roberts & Lillywhite 1980; Burken et al., 1985; Weldon & Bagnall, 1987; Tori et al., 2014; Torri et al., 2020).

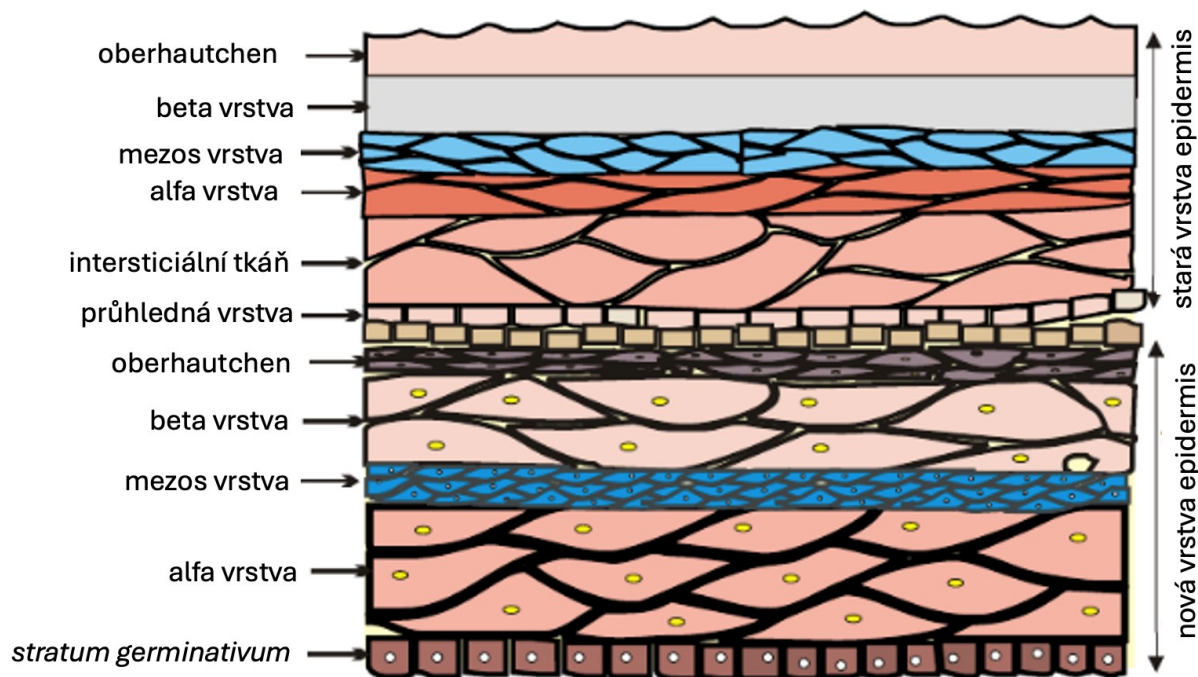
1.4 Tělní pokryv plazů

Evoluce obratlovců, kteří jsou plně přizpůsobeni k terestrickému způsobu života, je spjata s vývojem kůže, která je relativně nepropustná pro vodu. Tato adaptace umožňuje lépe udržovat tělesnou tekutinu a snáze regulovat ztráty vody (Gray, 1928; Bentley & Schmidt–Nielsen, 1966). U plazů se také vyvinuly šupiny, které mají vícero funkcí. Jsou to jakési mechanické štíty, které poskytují pevnost a ochranu těla před zraněním, chrání jedince před ultrafialovým zářením, pomáhají mu v pohybu, hrají důležitou roli v termoregulaci a není zcela vyloučena jejich role v regulaci ztrát vody výparem (Lillywhite & Maderson, 1982; Alibardi 2003; Abdel–Aal et al., 2011b; Rutland et al., 2019). Plazí šupiny jsou nedílnou součástí kůže, jedná se o

záhyb povrchové epidermis, tedy o epidermální šupiny (na rozdíl od ryb, jejichž šupiny jsou dermálního původu) (Rutland et al., 2019). Počet šupin se během života nemění, šupiny se mohou pouze zvětšovat a měnit tvar (Abdel–Aal et al., 2011a).

Kůže plazů má dvě základní vrstvy – dermis a epidermis. Epidermis nemá krevní zásobení a skládá se až ze sedmi podvrstev, těsně nahromaděných buněk, které tvoří vnější ochranný povrch těla (Abdel–Aal et al., 2011a). *Stratum germinativum* je nejhlubší vrstva, která se skládá z buněk, které mají schopnost rychlého dělení a které produkují keratin. Dochází k produkci dvou forem keratinu: pružného α -keratinu a β -keratinu, který poskytuje pevnost a tvrdost a je jedinečný pro plazy. Šest zbylých vrstev tvoří každou z epidermální generaci – starou a novou vrstvu kůže (viz Obr. 3). Jsou to dvě vrstvy, které dozrávají v rámci staré kůže, zatímco pod ní vzniká nová kůže; alfa vrstva, mezos vrstva a beta vrstva se skládají z buněk, které keratenizují produkcí dvou typů keratinu (alfa a beta) – tyto buňky se pak transformují do tvrdé ochranné vrstvy. Poslední vrstvou je vrstva „oberhautchen“, která tvoří nejpevnější vnější vrstvu a skládá se z vysoce keratinizovaného povrchu (Abdel–Aal et al., 2011a; Abdel–Aal et al., 2011b; Rutland et al., 2019).

Pod epidermis se nachází dermis, která se skládá z vazivové tkáně, krevních a lymfatických cév, nervů a pigmentových buněk. Pod dermis najdeme subkutánní vrstvu, tedy vrstvu tkáně, která se skládá zejména z fibroblastů, tukových buněk a makrofágů. Podkožní tuk není u plazů tak dobře vyvinutý jako u savců, ale například ocas u gekonů může být dobrým úložištěm tukových zásob (Price, 2017; Rutland et al., 2019). Plazi nemají mnoho žláz, většinou jsou omezeny na určité oblasti těla, např. femorální žlázy zejména u samců. Při absenci potních žláz u plazů se voda ve formě páry ztrácí pasivně kůží (Bentley & Schmidt –Nielsen, 1966; Dmi'el ,2001; Rutland et al., 2019).



Obr. 3: Obecné schéma struktury epidermis u plazů. Převzato a upraveno z Abdel–Aal et al., 2011b.

Svlékání kůže

Kůže u plazů neroste společně s jejich tělem, musí ji pravidelně měnit a v důsledku toho u nich dochází ke svlékání, tzv. ekdyse, kdy se odlupují velké kusy zrohovatělé kožní vrstvy (Seufer et al., 2005). Ekdyse má řadu funkcí – nahradí se stará a opotřebovaná kůže, ale také například pomáhá zbavit se parazitů. Svlékání závisí na různých faktorech, včetně věku jedince, jeho zásobení vitamíny a celkovém nutričním stavu (Alibardí, 2003; Seufer et al., 2005). Svlékání kůže může probíhat buď vcelku (u hadů) či postupně ve více kusech (např. gekoni), kdy jedinci často starou kůži požírají (Weldon et al., 1993). Důvod požíráání může být vysvětlen tím, že si chtějí zachovat užitečné látky ze staré svlečky nebo proto, aby po sobě nezanechávali žádné stopy, které by mohly přilákat potenciální predátory (Seufer et al., 2005).

V nejhlubších vrstvách buněk (*stratum germinativum*) periodicky probíhá buněčné dělení (Abdel–Aal et al. 2011b). Duplikují se hlubší vrstvy epidermis, které se tlačí pod vrstvy starší. Během tohoto procesu jsou všechny vrstvy nad *stratum germinativum* (směrem ven) zcela nahrazeny. Jedinec si tedy pod starou epidermis tvoří novou a tu starou následně „shodí“. Buňky v nejhlubších vrstvách staré epidermis a ve vrstvě „oberhautchen“ (nové kůže) dozrávají a dochází k vyloučení tekutiny, která dělí novou a starou epidermis. V této tekutině jsou enzymy, které pomáhají rozkládat spojení mezi těmito dvěma vrstvami (Abdel–Aal et al. 2011b). Svou roli zde také hrají bílé krvinky, které napadají dočasnou vrstvu mezi starou a

novou kůží (tzv. *stratum intermedium*) a podporují tak oddělení a ztrátu staré povrchové vrstvy kůže. V momentě, kdy jedinec zešedne (objeví se mléčné zbarvení), přichází svlékání – stará kůže se začne odlupovat a nový epitel ztvrdne, čímž se sníží propustnost a epitel se stává novou kůží (Rutland et al., 2019; viz Obr. 4). Aby podpořili oddělení staré kůže od nové, otírají se o různé tvrdé předměty, aby pak následně ústy starou kůži stáhli (Seufer et al., 2005).



Obr. 4.: *Hemitheconyx caudicinctus* před svlekem.

Část kůže, kterou plazi svlékají (nazývaná svlečka) obsahuje 4 vrstvy a to vrstvu „oberhautchen“, beta vrstvu, mesos vrstvu a vnitřní alfa vrstvu (Abdel–Aal et al. 2011a; viz Obr. 3). Beta vrstva plní funkci mechanické ochrany, je většinou zrohovatělá a obsahuje velké množství proteinů. Mesos vrstva je vrstva, která je velmi bohatá na lipidy a hraje důležitou roli v propustnosti kůže. Poslední vrstvou je tenká a nejspodnější vrstva alfa buněk, i zde jsou přítomny lipidy (Abdel–Aal et al. 2011a; Torri et al., 2020).

1.5 Modelová skupina gekonů čeledi Eublepharidae

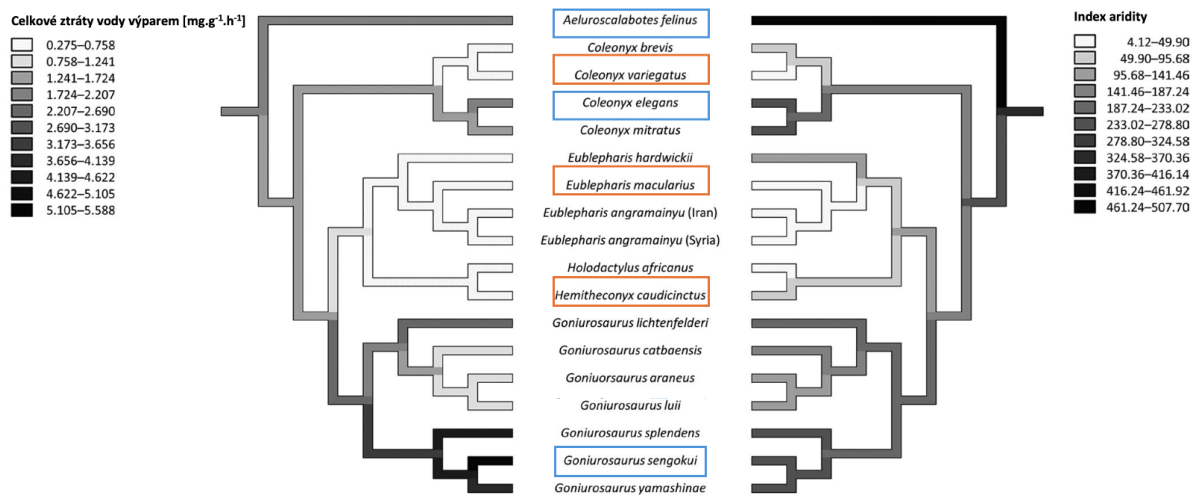
Gekončící čeledi Eublepharidae žijí v tropických a subtropických oblastech Afriky, Ameriky a Asie a vyskytují se v různých typech prostředí, od aridních pouští až po vlhké tropické oblasti (Grismer, 1988; Dial & Grismer 1992; Seufer et al., 2005). V rámci čeledi Eublepharidae je v současnosti popsáno 48 druhů řazených do šesti rodů (*Aeluroscalabotes*, *Coleonyx*,

Eublepharis, *Goniurosaurus*, *Hemitheconyx* a *Holodactylus*) (Grismer 1988; Uetz et al. 2024). Jednotlivé druhy se výrazně liší svou velikostí – od drobných druhů, jako je *Coleonyx brevis* či *C. variegatus* vážící méně než 5 g, až po poměrně robustní druhy, jako je *Eublepharis angramainyu*, vážící i přes 100 g (Starostová et al., 2005; Hlubeň et al. 2021; tato diplomová práce), ale jinak se vyznačují (kromě stromového druhu *Aeluroscalabotes felinus*) velmi podobným tvarem těla – robustní tělo a silné nohy i pozemním způsobem života. Jedná se převážně o noční tvory, kteří se živí hmyzem a jinými malými bezobratlými. Jsou charakterističtí také svými dobře vyvinutými a pohyblivými očními víčky, vertikálními zornicemi a nepřítomností adhezivních lamel na prstech (Grismer, 1988; Kratochvíl & Frynta, 2002; Karamiani, 2023).

Jednou z významných výhod této čeledi, díky které bývá využívána pro různé komparativní studie, je to, že se jedná o monofyletickou skupinu ještěřů s dobře známými fylogenetickými vztahy (Ota et al. 1999, Liang et al. 2018, Obr. 5). Také díky poměrně snadnému chovu a dostupnosti genomických dat (Gao et al., 2022) se zejména gekončík noční (*Eublepharis macularius*) stal významným plazím modelovým druhem pro vědecký výzkum (Vickaryous et al. 2019; Wise et al. 2009)

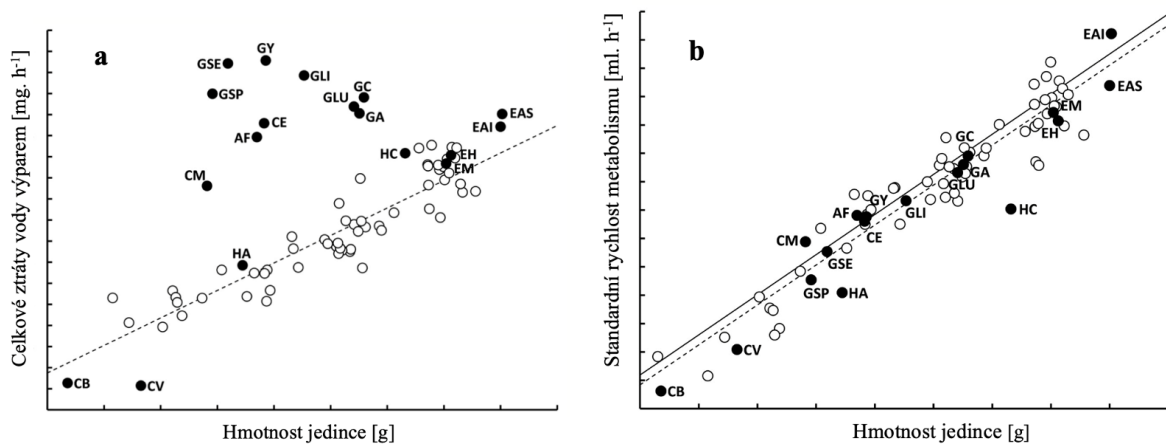
1.5.1 Gekončíci a ztráty vody výparem

Vzhledem k tomu, že druhy čeledi Eublepharidae obývají prakticky celou škálu biotopů a že mezi těmito druhy byla pozorována značná variabilita v TEWL (Obr. 5), jsou ideální skupinou pro zkoumání změn v TEWL a faktorů, které je ovlivňují (Dial & Grismer 1992; Hlubeň et al., 2021). První rozsáhlejší analýzu zaměřenou především na zástupce rodu *Coleonyx* obývajících různá prostředí provedli Dial a Grismer (1992). Jejich studie ukázala, že zástupci amerického rodu *Coleonyx* se liší v TEWL a že druhy z aridního pouštního prostředí jako *C. brevis* či *C. variegatus* mají výrazně nižší TEWL než druhy z vlhkých tropických lesů (*C. mitratus* a *C. elegans*) (Dial & Grismer 1992). Jejich výsledky v nedávné době potvrdili a rozšířili o další druhy zahrnující všechny rody čeledi Eublepharidae a zároveň ještě větší rozsah aridity obývaného prostředí Hlubeň et al. (2021). Výsledkem této podrobnější studie bylo, že gekončíci se mezidruhově výrazně (až dvacetkrát) liší v TEWL. Rekonstrukce ancestrálního stavu tohoto znaku naznačuje, že ancestrální hodnota TEWL (na gram tělesné hmotnosti) dosahuje středních hodnot a v evoluci této skupiny tak docházelo ke zvyšování i snižování TEWL (Obr. 5)

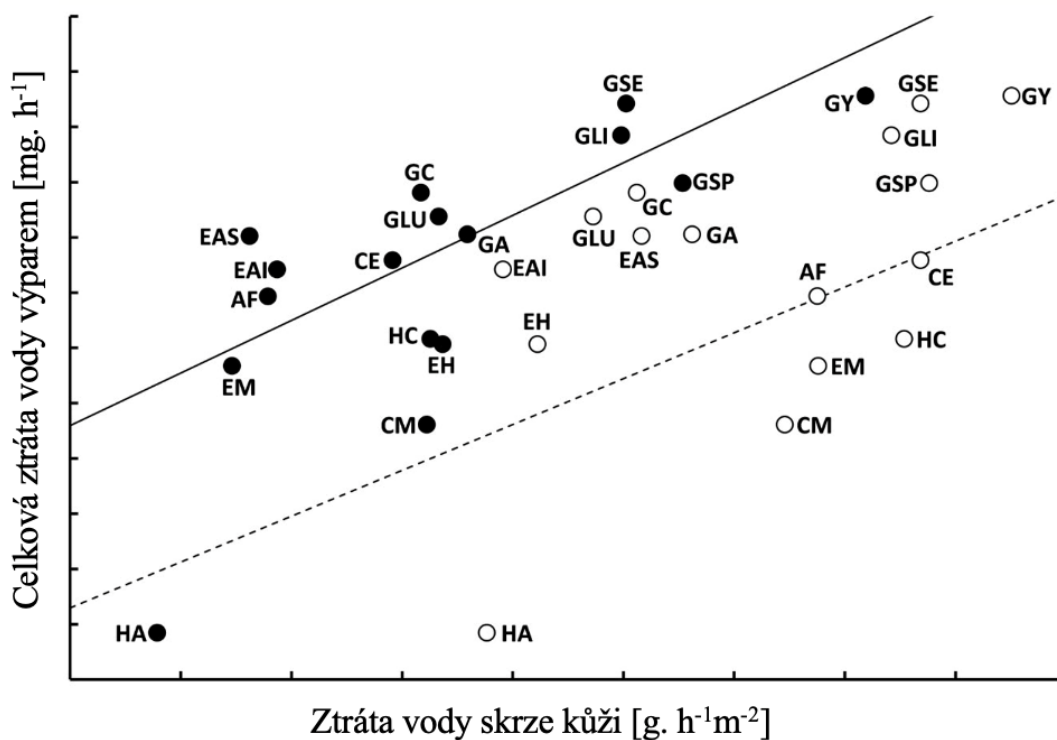


Obr. 5.: Celkové ztráty vody výparem a index aridity zobrazeny na fylogenetický strom druhů čeledi Eublepharidae (Hlubeň et al., 2021). Barevně jsou zvýrazněny druhy zahrnuté do kvalitativní analýzy této diplomové práce. Oranžově jsou zvýrazněny aridní druhy, modře pak druhy, které žijí v prostředí s vyšší vlhkostí.

Jak bylo uvedeno výše, hlavními složkami TEWL jsou ztráty vody dýcháním (úzce spjaté s intenzitou metabolismu) a CWL. Z tohoto důvodu se autoři studie zaměřili nejen na porovnání TEWL mezi gekončíky obývajícími různá prostředí, ale zaměřili se také na studium intenzity metabolismu, přímé měření CWL, ale i na rozdíly ve velikosti šupin či přítomnosti kožních tuberkulů. Hlubeň a kolektiv (2021) tak zjistili, že TEWL koreluje s hmotností těla, ale na rozdíl od vnitrodruhového porovnání na podobné hmotnostní škále, je zde vysoká variabilita (Obr. 6a). Dalším zjištěním bylo, že velikost šupin a rychlost metabolismu přispívají k variabilitě v hodnotách TEWL jen minimálně. Rychlost metabolismu nevysvětluje hlavní variabilitu v TEWL, jelikož je úzce spjata s tělesnou hmotností (Obr. 6b). Velikost šupin a přítomnost tuberkulů silně koreluje s velikostí těla (jsou přítomny převážně u velkých druhů a chybí u malých druhů gekončiků) a nejsou tedy hlavním faktorem ovlivňujícím TEWL. Pozorovanou variabilitu v TEWL u gekončiků nejlépe vysvětloval model zahrnující hmotnost a index aridity prostředí. Po odfiltrování vlivu hmotnosti se TEWL snižuje s rostoucí ariditou prostředí (se snižováním indexu aridity) (Obr. 5). Výsledky přímého měření CWL také ukazují silnou korelaci s TEWL (Obr. 7), což naznačuje klíčovou roli propustnosti pokožky při adaptaci na aridní prostředí. Adaptivní změny v TEWL lze tedy z velké části přičíst právě propustnosti kůže, přičemž se nezdá, že by v tom hrály velkou roli šupiny (Hlubeň et al., 2021).



Obr. 6: Graf (a) zobrazující vztah mezi celkovou ztrátou vody vypařováním a tělesnou hmotností a graf (b) zobrazující vztah mezi standardní rychlostí metabolismu (měřenou jako produkce CO₂) a tělesnou hmotností u gekonů čeledi Eublepharidae. Průměry jednotlivých druhů jsou vyznačeny jako černými puntíky, jednotlivá vnitrodruhová měření pro druh *Eublepharis macularius* pak jako prázdné kroužky. Značení jednotlivých druhů: AF – *Aeluroscalabotes felinus*; CB – *Coleonyx brevis*; CE – *Coleonyx elegans*; CM – *Coleonyx mitratus*; CV – *Coleonyx variegatus*; EAI – *Eublepharis angramainyu* (Iran); EAS – *Eublepharis angramainyu* (Syria); EH – *Eublepharis hardwickii*; EM – *Eublepharis macularius*; GA – *Goniurosaurus araneus*; GC – *Goniurosaurus catbaensis*; GLI – *Goniurosaurus lichtenfelderi*; GLU – *Goniurosaurus luyi*; GSE – *Goniurosaurus sengokui*; GSP – *Goniurosaurus splendens*; GY – *Goniurosaurus yamashinae*; HC – *Hemitheconyx caudicinctus*; HA – *Holodactylus africanus*. Převzato a upraveno z Hlubeň et al., 2021.



Obr. 7: Vztah mezi celkovou ztrátou vody výparem a ztrátou vody skrze kůži měřenou na dorzální (plné kruhy) a ventrální (prázdné kruhy) straně těla. Zkratky pro jednotlivé druhy vysvětleny viz Obr. 6. Převzato a upraveno z Hlubeň et al., 2021.

1.6 Cíle

V návaznosti na publikované výsledky týkající se TEWL zástupců čeledi Eublepharidae je cílem této diplomové práce komplexně analyzovat a shrnout:

1. Relevanci obsahu lipidů v pokožce gekončků a jeho vliv na TEWL a CWL v souvislosti s jejich adaptací na různé typy prostředí.
2. Lipidové složení pokožky a jeho rozdíly mezi druhy gekončků žijícími v odlišných environmentálních podmínkách.

Tato práce se zaměří na pochopení, jak kvantitativní i kvalitativní aspekty lipidového obsahu v pokožce ovlivňují schopnost plazů regulovat ztráty vody a adaptovat se na prostředí o různé ariditě.

2 Metodika


2.1 Zástupci gekončků zahrnutí do diplomové práce a charakteristika druhů z hlediska ztrát vody výparem a aridity přirozeného prostředí

Do diplomové práce byly zahrnuti zástupci všech rodů čeledi Eublepharidae žijící v prostředí od pouští po deštné pralesy. U každého druhu zahrnutého do diplomové práce jsou v tabulce uvedeny průměrné hodnoty pro hmotnost, délku těla od špičky rostra po kloaku (SVL), TEWL, medián hodnoty CWL pro dorzální a ventrální stranu těla a index aridity (Q), tak jak byly pro zástupce těchto druhů publikovány v práci Hlubeň et al. (2021) a s těmito daty je také počítáno v dílčích analýzách této práce. Index aridity Q je vypočítán pro typovou lokalitu každého druhu (populace pro *E. angramainyu*) z dat o ročním srážkovém úhrnu, minimální teplotě v nechladnějším měsíci a nejvyšší teplotě v nejteplejším měsíci (viz Hlubeň et al., 2021). Hodnota Q se snižuje se zvyšující se ariditou prostředí.

2.1.1 *Aeluroscalabotes felinus* (Günther, 1864)

Druh vyskytující se v jihovýchodní Asii, včetně západní Malajsie, jižního Thajska a Indonésie a na ostrově Borneo (Grismer, 1988; Seufer et al. 2005). Jedná se o středně velkého gekona s velkýma očima a štíhlým tělem. Obývá tropické deštné lesy, kde preferuje vlhké a hustě zalesněné prostředí. Tito gekoni jsou noční a na rozdíl od ostatních zástupců gekončků, kteří jsou pozemní, tráví většinu času na stromech a v keřích (Seufer et al., 2005).


Tabulka č. 1: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Aeluroscalabotes felinus*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	24,757	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 9,720	
	Dorzální: 5,487	
Q	461,922	
SVL [mm]	101,728	
Hmotnost [g]	13,783	

2.1.2 *Coleonyx elegans* Gray, 1845

Pro tento druh jsou typické nápadné pruhované vzory a relativně malé rozměry. Tito gekoni preferují nížinné tropické lesy a jejich okraje v oblasti jižního Mexika a Střední Ameriky. Často se schovávají pod kameny, spadány listy či ve štěrbinách (Grismer, 1988; Dial & Grismer 1992; Seufer et al., 2005).


Tabulka č. 2: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Coleonyx elegans*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	28,773	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 10,820	
	Dorzální: 6,247	
Q	241,519	
SVL [mm]	94,263	
Hmotnost [g]	14,624	

2.1.3 *Coleonyx mitratus* (Peters, 1863)

C. mitratus se nachází ve Střední Americe, zejména v Nikaragui, Hondurasu a Kostarice. Obývá tropické nížinné lesy a křovinaté oblasti, kde se žije zejména v listovém opadu, pod kameny, v trhlinách a jiných vlhčích mikrohabitátech (Grismer, 1988; Dial & Grismer, 1992; Seufer et al., 2005).


Tabulka č. 3: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Coleonyx mitratus*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	14,518	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 9,393	
	Dorzální: 6,473	
Q	235,910	
SVL [mm]	79,875	
Hmotnost [g]	9,196	

2.1.4 *Coleonyx variegatus* (Baird, 1858)

C. variegatus se nachází na jihozápadě Spojených států amerických a v severním Mexiku. Tito gekoni jsou známí svou přizpůsobivostí k drsným pouštním podmínkám v aridním prostředí, a proto je najdeme ve velmi suchých pouštních či polopouštních oblastech. *C. variegatus* je drobný druh s výraznými pruhovanými vzory. Jedná se převážně o noční živočichy, což jim umožňuje vyhnout se extrémnímu dennímu horku a využívat nočního chladu pro svou aktivitu (Grismer, 1988; Seufer et al., 2005).


Tabulka č. 4: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL) a index aridity (Q) pro druh *Coleonyx variegatus*. Ztráty vody pokožkou (CWL) nebyly pro tento druh změřeny z důvodu malých rozměrů jedince.

TEWL [mg.h ⁻¹]	1,641	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: -	
	Dorzální: -	
Q	4,124	
SVL [mm]	67,365	
Hmotnost [g]	5,377	


2.1.5 *Eublepharis anagramainyu* Anderson & Leviton, 1966

Tento druh patří mezi jeden z největších z čeledi Eublepharidae. Vyskytuje v Íránu, Iráku, Turecku a Sýrii. Obývá suché a polosuché oblasti, často v horských a kamenitých biotopech, kde se ukrývá pod kameny a v malých jeskyních. Preferuje oblasti s teplým klimatem a nízkou vlhkostí, zejména vápencová a sádrovcová podloží, suché travnaté pláně a stepi (Anderson, 1999; Seufer et al., 2005; Karamiani, 2023). V diplomové práci jsou jedinci pocházející ze dvou oddělených vzdálených lokalit z Íránu a Sýrie uváděni odděleně jako *E. anagramainyu* – Írán (EAI) a *E. anagramaynyu* – Sýrie (EAS).

Tabulka č. 5: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Eublepharis anagramainyu* (Íran).

TEWL [mg.h ⁻¹]	31,825	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 6,164	
	Dorzální: 5,967	
Q	16,138	
SVL [mm]	154,513	
Hmotnost [g]	101,273	


Tabulka č. 6: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Eublepharis angramaynyu* (Sýrie).

TEWL [mg.h ⁻¹]	27,700	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 6,892	
	Dorzální: 5,540	
Q	8,346	
SVL [mm]	162,214	
Hmotnost [g]	99,933	

2.1.6 *Eublepharis hardwickii* Gray, 1827

Tento druh se vyskytuje ve střední a východní Indii a Bangladéši. Obývá různé biotopy, od lesů po otevřená prostranství, včetně vápencových a sádrovcových podloží, suchých travnatých plání a stepí. Jedná se o nočního živočicha, který je přizpůsobený relativně suchému klimatu s nízkým množstvím srážek (Grismer, 1988; Seufert et al., 2005).


Tabulka č. 7: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Eublepharis hardwickii*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	20,282	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 6,264	
	Dorzální: 6,930	
Q	95,997	
SVL [mm]	123,940	
Hmotnost [g]	66,823	

2.1.7 *Eublepharis macularius* (Blyth, 1854)

E. macularius je původem z jižní a střední Asie, včetně oblastí Pákistánu, Afghánistánu, Íránu, Indie a Nepálu (Rawat et al., 2019; Karamiani, 2023). Obývá suché a polosuché oblasti, často kamenité, skalnaté či hustěji porostlé. Nachází se jak v horských biotopech, tak i v nížinách. Přes den se skrývají pod kameny či v dírách v zemi a aktivní bývají v noci (Seufer et al., 2005; Fuller et al., 2011). Co se týče šupin, zbarvení a vzorování, jedná se o extrémně proměnlivý druh (Seufert et al., 2005).


Tabulka č. 8: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Eublepharis macularius*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	18,529	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 9,727	
	Dorzální: 5,287	
Q	25,962	
SVL [mm]	137,476	
Hmotnost [g]	64,262	

2.1.8 *Goniurosaurus araneus* Grismer, Viets & Boyle, 1999

G. araneus se vyskytuje v severním Vietnamu a v Čínské provincii Guangxi. Obývá vlhké lesní oblasti a jeskyně. Vyznačuje se štíhlým tělem a dlouhými končetinami. (Grismer et al., 1999; Seufer et al., 2005; Uetz et al., 2024).


Tabulka č. 9: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Goniurosaurus araneus*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	32,049	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 8,530	
	Dorzální: 6,753	
Q	127,568	
SVL [mm]	121,328	
Hmotnost [g]	31,769	

2.1.9 *Goniurosaurus catbaensis* Ziegler, Truong, Schmitz, Stenke, Rösler, 2008

G. catbaensis je druh gekona, který se vyznačuje štíhlým tělem a charakteristickými pruhy. Má tmavě šedé až černé tělo s oranžovými až žlutými pruhy. Tento druh je endemický pro ostrov Cát Bà v severním Vietnamu. Ostrov Cat Ba je známý svými hustými tropickými a subtropickými lesy, které poskytují vlhké, stinné prostředí a vápencové krasové útvary, které vytvářejí množství jeskyní, skalnatých štěrbin a úkrytů, jež jsou typickými biotopy gekonů tohoto rodu (Ngo et al., 2019).


Tabulka č. 10: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Goniurosaurus catbaensis*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	38,169	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 8,053	
	Dorzální: 6,433	
Q	184,033	
SVL [mm]	116,371	

2.1.10 *Goniurosaurus huuliensis* Orlov, Ryabov, Nguyen & Ho, 2008

Tento druh je endemický pro severní Vietnam, konkrétně pro přírodní rezervaci Huu Lien v provincii Lang Son. Tyto oblasti se vyznačují vysokou vlhkostí a stabilními teplotami. Jeho prostředí zahrnuje skalnaté terény a lesní porosty, což poskytuje úkryty a vhodné podmínky pro přežití. Jedná se o gekona střední velikosti s dlouhým a tenkým ocasem s pruhovaným vzorem (Ngo et al., 2021).

Tabulka č. 11: Průměrné hodnoty hmotnosti a délky těla (SVL) pro druh *Goniurosaurus huuliensis*.


TEWL [mg.h ⁻¹]	–	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: –	
	Dorzální: –	
Q	–	
SVL [mm]	*115,54	
Hmotnost [g]	*25,27	

*Tento druh nebyl zahrnut v práci Hlubeň et al. (2021), proto jsou použity údaje z této diplomové práce.

2.1.11 *Goniurosaurus lichtenfelderi* (Mocquard, 1897)

G. lichtenfelderi se vyskytuje v severním Vietnamu, jižní Číně a na okolních ostrovech. Obývá zde vlhké lesní oblasti a jeskyně, převážně krasové útvary, které se nacházejí v soutěskách a protékají jimi říčky. Jsou vázáni především na níže položená místa (Seufert et al., 2005).


Tabulka č. 12: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Goniurosaurus lichtenfelderi*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	48,452	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální:	
	10,497	
	Dorzální: 7,923	
Q	204,104	
SVL [mm]	111,817	
Hmotnost [g]	30,842	

2.1.12 *Goniurosaurus luii* (Grismer, Viets & Boyle, 1999)

Tento druh obývá lesní oblasti v Číně a severním Vietnamu, kde se vyskytuje na skalnatých plochách v blízkosti jeskyní. Vyhledává prostředí s vyšší vlhkostí (Grismer et al., 1999; Ngo et al., 2023). Jedná se o středně velkého gekona s výrazným vzorováním a dlouhými a štíhlými končetinami (Seufert et al., 2005).


Tabulka č. 13: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Goniurosaurus luii*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	34,526	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 7,697	
	Dorzální: 6,553	
Q	109,395	
SVL [mm]	86,345	
Hmotnost [g]	13,879	

2.1.13 *Goniurosaurus sengokui* (Honda & Ota, 2017)

Jedná se o druh, který byl popsán relativně nedávno. *G. sengokui* se vyskytuje v Japonsku, konkrétně na ostrově Tokashikijima. Jedná se o druh, který vyhledává prostředí s vyšší vlhkostí, typické jsou stinné a vegetací bohaté lokality (Honda & Ota, 2017; Uetz et al., 2024).


Tabulka č. 14: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Goniurosaurus sengokui*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	55,265	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 10,820	
	Dorzální: 7,967	
Q	259,667	
SVL [mm]	85,054	
Hmotnost [g]	11,460	

2.1.14 *Goniurosaurus splendens* (Nakamura & Uéno, 1959)

Jedná se o endemický druh gekončika vyskytující se na ostrově Tokunoshima v Japonsku. Obývá vlhké lesy a skalnaté oblasti, kde se skrývá mezi kameny a v jeskyních. Má tmavé zbarvení s výrazným pruhovaným vzorem, který mu poskytuje maskování v jeho přirozeném prostředí (Seufert et al., 2005).


Tabulka č. 15: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Goniurosaurus splendens*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	39,680	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 10,917	
	Dorzální: 8,447	
Q	243,007	
SVL [mm]	84,253	
Hmotnost [g]	10,122	

2.1.15 *Goniurosaurus yamashinae* (Okada, 1936)

Jedná se o středně velkého gekončika s tmavým zbarvením a nápadným žlutavým pruhovaným vzorováním, přičemž mladí jedinci mají bělavé pruhy. *G. yamashinae* je endemitem na ostrově Okinawa v Japonsku. Tento druh obývá vlhké lesy, kde se skrývá v podrostu a mezi skalami (Grismer, 1988; Seufert et al., 2005).


Tabulka č. 16: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Goniurosaurus yamashinae*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	57,141	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 11,893	
	Dorzální: 10,217	
Q	241,135	
SVL [mm]	94,461	
Hmotnost [g]	20,348	

2.1.16 *Hemitheconyx caudicinctus* (Duméril, 1851)

H. caudicinctus se vyskytuje v západní Africe, kde obývá tři vegetační zóny: suchý Sahel na severu, suchou savanu v oblasti Súdánu uprostřed a guinejskou savanu na jihu. Tento gekon žije v biotopech s dostatkem úkrytů, často pod listy, kameny nebo pod padlými kmeny stromů. Preferuje prostředí s mírnou vlhkostí a s mírným teplotním poklesem v noci (Seufer et al., 2005; Ullenbruch et al., 2010).


Tabulka č. 17: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Hemitheconyx caudicinctus*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	20,728	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 10,637	
	Dorzální: 6,497	
Q	68, 224	
SVL [mm]	125,050	
Hmotnost [g]	46,075	

2.1.17 *Holodactylus africanus* Boettger, 1893

H. africanus je původem z východní Afriky, konkrétně oblasti jihovýchodní Etiopie, Keňi, Somálska a severozápadní Tanzanie. Obývá suché a polosuché oblasti, často bychom ho našli na písčitém podloží či v blízkosti termištů. Tento gekon je aktivní převážně v noci (Seufert et al. 2005, Uetz et al., 2024).

Tabulka č. 18: Průměrné hodnoty celkových ztrát vody výparem (TEWL), hmotnosti a délky těla (SVL), index aridity (Q) a medián ztrát vody pokožkou (CWL) pro druh *Holodactylus africanus*.

TEWL [mg.h ⁻¹]	6,098	
CWL [g.h ⁻¹ .m ⁻²]	Ventrální: 6,890	
	Dorzální: 4,890	
Q	41,819	
SVL [mm]	76,300	
Hmotnost [g]	12,271	

2.2 Sběr materiálu

Sběr svleček vybraných zástupců čeledi Eublepharidae probíhal v experimentálních chovech obratlovců na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy, kde jsou studované druhy chovány v zajetí v podmínkách, které odpovídají jejich přirozeným podmínkám (Grismer, 1988; Seufer et al., 2005). Zejména je v chovu brán zřetel na vhodnou teplotu, vlhkost a typ substrátu. Svlečky byly sbírány od adultních jedinců dlouhodobě držných v chovném zařízení. Jedinci zahrnutí do diplomové práce byli po odběru svlečky změřeni od špičky rostra po kloaku (hodnota SVL) s přesností na 0,01 mm posuvným měřidlem a zváženi s přesností na 0,001 g (váha Vibra AJ-320; Shinko Denshi, Japonsko).

2.3 Kvantitativní analýza

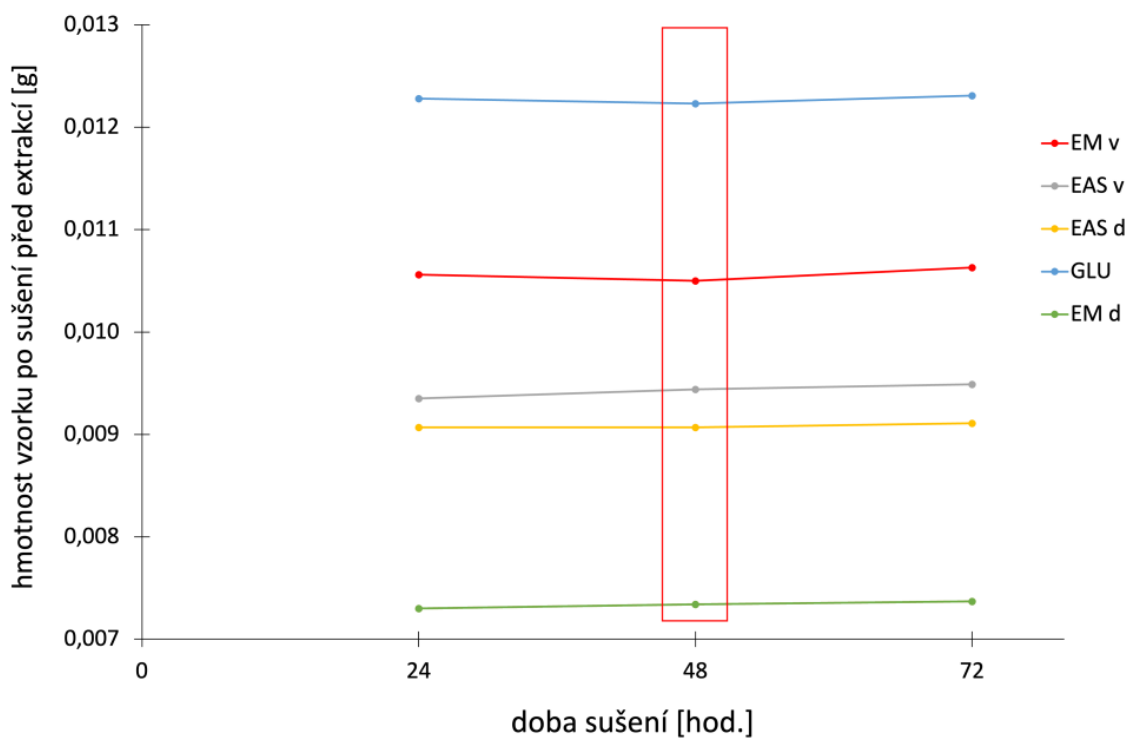
Kvantitativní analýza se zaměřuje na měření celkového množství lipidů přítomných ve vzorcích pokožky. V tomto kontextu jde o stanovení procentuálního lipidového obsahu ve ventrální a dorzální části pokožky jednotlivých jedinců.

2.3.1 Pilotní měření a úprava metodiky

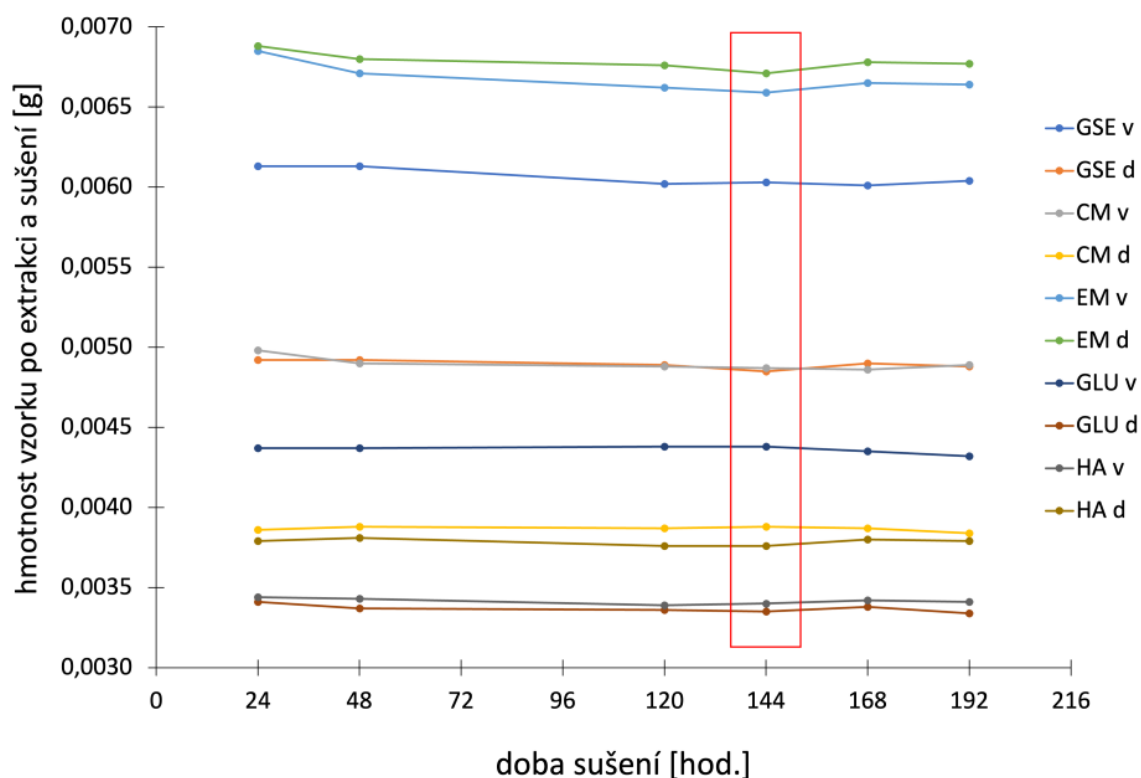
Kvantitativní analýza byla provedena metodou lipidové extrakce ve směsi chloroformu a methanolu v objemovém poměru 2:1. Základem, ze kterého jsem vycházela, byla metodika použitá na svlečkách hadů podle studií Agugliaro & Reinert (2005), Miller & Lutterschmidt (2014) a Weidler & Lutterschmidt (2021), která byla na základě pilotního měření poupravena a optimalizována. Během tohoto měření byly vzorky ponechány déle v desikantu před extrakcí i po extrakci lipidů, jelikož hmotnost vzorků nebyla konstantní a v závislosti na době sušení se stále měnila. Tento trend se projevoval mírným lineárním poklesem hmotnosti (viz Obr. 8 a Obr. 9). Na základě těchto pozorování byl zvolen následující postup: svlečky byly sušeny v desikantu 48 hodin před extrakcí a 144 hodin po extrakci, kdy se hmotnost stabilizovala (viz Obr. 8 a Obr. 9).

2.3.2 Sběr svleček

Pro sběr svlečky bylo potřeba zachytit jedince ve finální fázi před svlekem (viz Obr. 4). Manipulace se zvířaty i svlečkami probíhala v latexových rukavicích. Svlečky byly sbírány za použití pinzety a nůžek. Pro každého jedince byly nástroje vždy očištěny ethanolem a rukavice byly vyměněny za čisté. Odebrané svlečky byly v rozmezí minut uloženy v uzavíratelných igelitových sáčkích do mrazáku (-18 °C). Každý sáček byl označen druhem, identitou jedince, pohlavím a datem sběru. Autoři podobně zaměřených studií uchovávali vzorky hadí kůže v chladných podmínkách po dobu od několika hodin až po několik měsíců (Roberts & Lillywhite, 1980; Agugliaro & Reinert, 2005; Weidler & Lutterschmidt, 2021). Přičemž Weidler a Lutterschmidt (2021) došli ve své studii k závěru, že délka skladování nemá vliv na kvantitativní obsah lipidů ve vzorcích. Pro toto měření bylo stáří uchovávaných svleček mezi 4 a 247 dny.



Obr. 8: Graf zobrazující závislost hmotnosti vzorku na době sušení v desikantu před extrakcí. Byly použity vzorky pocházející z dorzální (D) i ventrální (V) části svleček jedinců *Eublepharis macularius* (EM) a *Eublepharis angramainyu* (EAI) a svlečka pocházející z hlavové části jedince *Goniosaurus lichtenfelderi* (GLU).



Obr. 9: Graf zobrazující závislost hmotnosti vzorku na době sušení v desikantu po extrakci. Byly použity vzorky pocházející z dorzální (D) i ventrální (V) části svleček. GOR – *Goniosaurus orientalis*; CM – *Coleonyx mitratus*; EM – *Eublepharis macularius*; GLU – *Goniosaurus lichtenfelderi*; HA – *Holodactylus africanus*.

2.3.3 Extrakce lipidů

Den 1

Do čisté a suché skleněné lahvičky s víčkem o objemu 65 ml bylo naváženo 18 g desikantu – silikagelu (Silica gel Rubin, Fluka, Německo). Na pracovní ploše byl připraven filtrační papír s čistou papírovou utěrkou, nástroje (nůžky a pinzeta) a velikostní standard o rozměrech 1,2 x 3,8 cm. Manipulace se svlečkou probíhala pouze v latexových rukavicích. Svlečky byly vyjmuty z mrazáku a z každé byl připraven vzorek ventrální a dorzální kůže o přibližné velikosti jako velikostní standard. Připravené vzorky byly umístěny do lahviček s desikantem, lahvičky byly uzavřeny a označeny. Čas vložení byl zaznamenán. Mezi manipulacemi s jednotlivými vzorky byla vždy vyměněna papírová utěrka, nástroje byly očištěny ethanolem a byly nasazeny nové rukavice. Vzorky byly následně ponechány k vysušení při pokojové teplotě po dobu 48 hodin.

Den 3

V zásobní lahvi byla připravena extrakční směs chloroformu (Chloroform p.a. stabil. amylenem, Lach:ner, Česká republika) a methanolu (Methanol p.a., ISO reagent, Lach:ner, Česká republika) v objemovém poměru 2:1. Práce probíhala v digestoři s použitím čistého a suchého nádobí. Následně bylo připraveno 10 čistých lahviček o objemu 125 ml a do každé z nich bylo nalito 20 ml extrakční směsi. Skleničky byly následně uzavřeny a označeny. Váha (SBC 22, Scaltec, Scaltec Instruments, Německo) byla zkalibrována interní kalibrací a po 48 hodinách v desikantu byly vzorky vyjmuty pomocí očištěné pinzety. Každý vzorek byl ihned po vyjmutí zvážen na alobalové váženke a jeho hmotnost byla zaznamenána s přesností na 0,01 mg. Poté byl vzorek vrácen zpět do lahvičky s desikantem. Pro každý vzorek byla použita čistá pinzeta a nová váženka. Následně byly vzorky přemístěny do digestoře, kde byly postupně vloženy do příslušných skleniček s extrakční směsí. Každá sklenička byla okamžitě uzavřena a byl zaznamenán přesný čas vložení vzorku do roztoku. Mezi manipulací s jednotlivými vzorky byl dodržen dvouminutový interval. V každé zpracovávané sadě bylo maximálně deset vzorků, aby se minimalizovaly časové rozdíly mezi nimi.

Den 4

Těsně před uplynutím 24 hodin byl připraven opět roztok chloroformu a methanolu v poměru 2:1. Pro každý vzorek byla připravena jedna skleněná lahvička, dvě Petriho misky, čistá papírová utěrka a původní lahvička s desikantem. Do každé lahvičky bylo odměřeno 10 ml připravené extrakční směsi, do Petriho misek bylo nalito po 10 ml destilované vody. Vzorky byly vyjmuty z původních skleniček pomocí očištěné pinzety a propláchnuty ve skleničce s čerstvě připraveným extrakčním roztokem. Následně byly vzorky propláchnuty nejprve v první misce s destilovanou vodou a poté ještě jednou v druhé. Vzorky byly položeny na čistou papírovou utěrku, jemně osušeny a nechány na vzduchu přibližně 3 minuty, než byly takto promyty následující 2 vzorky. Po oschnutí byly všechny vzorky vloženy do desikantu a byl zaznamenán čas.

Při manipulaci byly využívány 2 pinzety: první pinzeta sloužila pro přesun z původní lahvičky s extrakční směsí do lahvičky s čerstvou extrakční směsí a z ní následně do první Petriho misky s vodou. Pro další manipulaci se vzorkem byla používána výhradně druhá pinzeta. Všechny použité nástroje i nádobí byly suché a čisté tak, aby nedošlo ke kontaminaci.

Den 10

Po uplynutí 144 hodin v desikantu byl každý vzorek zvážen na váženec z alobalu na zkalibrované váze. Po ustálení byly zaznamenány navážené hodnoty, opět s přesností 0,01 mg.

Stanovení % zastoupení lipidů

Pro stanovení procentuálního zastoupení lipidů v pokožce byl použit výpočet dle publikace Agugliaro & Reinert (2005):

$$\frac{D - E}{D} \cdot 100 = \% \text{ lipidový obsah}$$

Kdy D je počáteční suchá hmotnost vzorku před lipidovou extrakcí a E značí suchou hmotnost vzorku po extrakci.

2.3.4 Data o TEWL, CWL a ariditě prostředí pro zástupce čeledi Eublepharidae

Pro analýzu vztahu mezi množstvím lipidů ve svlečkách a ztrátami vody výparem a ariditou prostředí byla použita data z práce Hlubeň et al. (2021), která jsou uvedena výše v části věnující se představení studovaných druhů (Tabulky č.1–17) jsou dostupná také na datovém uložení Dryad na odkazu: <https://doi.org/10.5061/dryad.0zpc866xq>. Vzhledem k chybějícím datům týkajících se ztrát vody výparem a aridity byl z analýz vyloučen druh *Goniurosaurus huuliensis*. Pro analýzy byla použita průměrná hmotnost daného druhu, průměrná hodnota TEWL, medián CWL pro ventrální i dorzální stranu a hodnota Q.

2.3.5 Statistické zpracování dat kvantitativní analýzy

Pro detekci odlehlých hodnot obsahu lipidů u jednotlivých vzorků v rámci druhu byl použit Dixonův test, jehož výpočet byl proveden ve webovém rozhraní dostupném na odkazu <https://contchart.com/outliers.aspx>. Tento test byl aplikován zvlášť na ventrální a dorsální vzorky pro každý druh. Výsledné p-hodnoty poskytují přehled o tom, které hodnoty mohou být považovány za odlehlé a vyžadují další pozornost nebo analýzu. Za odlehlou hodnotu byla považován vzorek s $p < 0,05$.

Ke zjištění rozdílů v množství lipidů mezi druhy bylo použito analýzy rozptylu (ANOVA) a následného Fisherova LSD *post-hoc* testu detekujícího rozdílné homogenní skupiny. Byla také testována korelace mezi množstvím lipidů ve vzorku z dorzální a ventrální

strany těla daného jedince. Obě analýzy byly provedeny v programu Statistica 6.0 (StatSoft Inc. 2001).

Pro analýzy zaměřující se na vztahy mezi množstvím lipidů a TEWL, CWL a Q byly použity druhové průměry (medián pro CWL) a hodnoty byly transformovány dekadickým logaritmem. Jelikož naměřené hodnoty nejsou kvůli sdílené fylogenezi mezi taxony nezávislé, bylo nutné použít metodu zahrnující vliv fylogeneze. Byla použita metoda fylogenetické zobecněné lineární regrese (PGLS, Grafen, 1989). Fylogenetické vztahy v rámci čeledi Eublepharidae byly použity shodně s prací Hlubeň et al. (2021) a jsou zobrazeny také na Obr. 5. V případě analýzy hierarchicky vnořených PGLS modelů byl nejlepší model vybrán na základě Akaikého informačního kritéria pro malý počet vzorků (AICc, Cavanaugh, 1997). Shodně s přístupem publikace Hlubeň et al (2021) byl jako nejlepší vybrán model s nejnižším AICc. Modely se stejným množstvím parametrů a rozdílem AICc menším než dva byly považovány za rovnocenné. Síla fylogenetického signálu v PGLS analýzách byla měřena pomocí parametru Pagelova lambda (λ , Pagel, 1999). Tento parametr nabývá hodnot mezi 0 a 1, přičemž 0 znamená žádný fylogenetický signál a 1 značí silný vliv fylogenetických vztahů. PGLS byla provedena pomocí RStudio verze 1.1.442 (RStudio Inc.) a statistického balíčku caper (Orme et al. 2013). Pro tvorbu grafů byl využit Microsoft Excel (Microsoft Excel, 2016).

2.4 Kvalitativní analýza

Kvalitativní analýza v této práci zahrnuje identifikaci konkrétních lipidových sloučenin přítomných ve vzorcích pokožky. Ačkoliv tato analýza zahrnuje také kvantitativní aspekty (měření relativního množství jednotlivých látek), zaměření je především na určení specifických typů lipidů a jejich chemické složení.

2.4.1 Sběr svlečků

Pro tuto část analýzy byly použity následující druhy gekončků čeledi Eublepharidae: *A. felinus*, *C. elegans*, *C. variegatus*, *E. macularius* *G. sengokui* a *H. caudincictus*. Tyto druhy se liší svým přirozeným prostředím. První tři druhy se vyskytují v oblastech s vysokou vlhkostí (vysokým Q), zatímco další tři druhy pocházejí z oblastí s vyšší ariditou (nižším Q, viz Obr. 5). Každý druh byl reprezentován třemi vzorky od různých jedinců, přičemž byly pro tuto část použity pouze samice a pouze vzorky pocházející z ventrální strany těla. Tento výběr byl učiněn proto, že ventrální strana má oproti dorzální straně menší morfologické rozdíly v šupinách a samci

mají na rozdíl od samic v blízkosti kloaky póry, jejichž výměšky by mohly případně ovlivnit výsledky analýz (Kratochvíl & Frynta, 2002).

Sběr a manipulace se svlečkami probíhaly mírně odlišně oproti kvantitativní části. Sběr byl prováděn v latexových rukavicích, přičemž bylo důrazně dbáno na to, aby se nekontaminovaly dotykem s dalšími povrchy. Všechny nástroje používané pro manipulaci se svlečkami a vzorky byly čištěny methanolem. Pro skladování svleček byly použity skleněné lahvičky místo sáčků. Tyto lahvičky byly předem vymyty teplou vodou s detergentem, propláchnuty vodou a následně naplněny extrakční směsí (chloroform a methanol v objemovém poměru 2:1), která v lahvičkách stála po dobu 15 minut. Poté byly lahvičky vypláchnuty destilovanou vodou a usušeny v sušičce. Vzorky byly následně skladovány v mrazáku ve zmíněných lahvičkách s víčkem po dobu maximálně pěti měsíců.

2.4.2 Vlastní analýza

Vlastní analýza byla prováděna servisní laboratoří ve výzkumném pracovišti BIOCEV ve Vestci v laboratoři OMICS Servisní oddělení hmotnostní spektrometrie, přičemž já sama jsem se účastnila přípravy vzorků (viz Den 1 a Den 2).

Den 1

Odebrané ventrální části svleček vybraných druhů byly v lahvičkách převezeny na ledu do laboratoře OMICS Servisní oddělení hmotnostní spektrometrie v BIOCEVu. Byla sundána víčka a v téže lahvičce byly svlečky sušeny ve vakuové vývěvě po dobu dvou hodin za laboratorní teploty. Mezitím byla připravena extrakční směs chloroformu a methanolu v objemovém poměru 2:1. Směs byla řádně protřepána. Po usušení byly svlečky vyjmuty a byly z nich nastříhány vzorky o přibližné velikosti 1,2 x 3,8 cm podle velikostního standardu. Takto připravené vzorky byly vloženy do 10ml vialek se šroubovacím víčkem s teflonovým těsněním. Pomocí pipety byly přidány 3 ml připraveného extrakčního roztoku tak, aby byl každý vzorek plně ponořen. Dále byly připraveny také dva kontrolní roztoky (pouze extrakční směs). Víčka vialek byla utěsněna teflonovou páskou. Vialky byly upnuty do termomixeru a byly třepány při teplotě 25 °C přes noc (18 hodin) při intenzitě 300 ot/min. Při manipulaci mezi jednotlivými vzorky byly nůžky a pinzeta vždy omyty methanolem, proběhla výměna rukavic a byly použity čisté papírové ubrousky.

Den 2

Vzorky byly postupně vytaženy pinzetou z extrakční směsi, pinzeta vždy nejprve řádně opláchnuta methanolem. Extrakty byly odpařeny do sucha ve vakuovém koncentrátoru (45

minut při laboratorní teplotě). Odparek byl převrstven argonem. Vialky byly zašroubovány, utěsněny teflonovou páskou a uloženy do mrazáku s teplotou -80 °C.

Den 3

Kvalitativní analýza vzorků byla provedena pomocí dvou analytických metod. Vzorky byly analyzovány metodou přímého nástřiku do hmotnostní spektrometru s vysokým rozlišením (DI-HRMS) a metodou dvourozměrné komprehensivní plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GCxGC-TOF/MS). Vzhledem k tomu, že se jednalo o službu servisní laboratoře je přesná metodika podrobně popsána v příloze (viz Příloha 1).

2.4.3 Analýza výsledků a jejich statistické zpracování

Analýza výsledků

Pro analýzu a statistické zpracování výsledků byla použita data získaná z obou analytických metod, DI-HRMS a GCxGC-TOF/MS.

DI-HRMS analýza

Touto metodou byly analyzovány tři skupiny látek:

Fosfatidylcholiny, které jsou jedním z nejběžnějších typů fosfolipidů a tvoří základní složku buněčných membrán. Jsou esenciální pro strukturu a funkci membrán, zejména pro strukturální integritu membrán a pravděpodobně také efektivitu v omezení propustnosti pro vodu (Weldon & Bagnall, 1987). Hrají také klíčovou roli v buněčné signalizaci a metabolismu lipidů (Ridgway, 2012; van der Veen et al., 2017). Fosfatidylcholiny mají strukturu složenou z glycerolové páteře, ke které jsou připojeny dvě mastné kyseliny na prvním a druhém uhlíku, fosfátová skupina na třetím uhlíku a k ní připojena cholinová hlavička (Vance & Vance, 2008). Specifický typ fosfatidylcholinu, jako je např. 16:0_18:2, označuje konkrétní kombinaci mastných kyselin připojených k glycerolu – jednu nasycenou kyselinu o 16 uhlících a druhou kyselinu o 18 uhlících, která obsahuje dvě dvojné vazby.

Fosfatidylethanolaminy, které jsou také běžnou skupinou fosfolipidů přítomných v buněčných membránách, avšak jejich role se liší od fosfatidylcholinů. Podporují membránovou dynamiku a flexibilitu, což je nezbytné pro různé buněčné procesy, jako jsou endocytóza a exocytóza (Vance & Tasseva, 2013; Patel & Witt, 2017). Navíc se stejně jako u fosfatidylcholinů ukazuje, že hrají roli v omezení propustnosti pro vodu (Weldon & Bagnall, 1987).

Fosfatidylethanolaminy mají strukturu složenou z glycerolové páteře, ke které jsou připojeny dvě mastné kyseliny na prvním a druhém uhlíku, fosfátová skupina na třetím uhlíku a k ní připojena ethanolaminová hlavička (Vance & Vance, 2008).

Triacylglyceroly, které představují další významnou skupinou lipidů nacházející se v těle živočichů. Na rozdíl od fosfatidylcholinů a fosfatidylethanolaminů, které jsou hlavními složkami buněčných membrán a hrají roli v buněčné signalizaci a struktuře, triacylglyceroly nemají strukturální roli v membránách, ale jsou nezbytné pro energetický metabolismus organismu (Watt & Steinberg, 2008). Navíc bylo zjištěno, že hrají roli i v propustnosti bariéry pokožky, kdy metabolické procesy triacylglycerolu v epidermis jsou podstatné právě pro její tvorbu (Radner & Fischer, 2014). Triacylglyceroly mají strukturu složenou z glycerolové páteře, ke které jsou připojeny tři mastné kyseliny. Každá mastná kyselina může být nasycená nebo nenasycená a variabilita těchto kyselin určuje vlastnosti jednotlivých triacylglycerolů (Vance & Vance, 2008).

Z dat získaných DI-HRMS byly v programu Microsoft Excel vytvořeny grafy zobrazující relativní zastoupení fosfatidylcholinů, fosfatidylethanolaminů a triacylglycerolů ve vzorcích svleček z ventrální části těla. Tyto grafy poskytují vizuální přehled o relativním množství jednotlivých látek v rámci své lipidické třídy. Do grafu byly zahrnuty látky, které mají relativní zastoupení vyšší než 1 % a zároveň ty, které byly detekovány alespoň u 2 ze 3 jedinců od druhu. Prezentován je aritmetický průměr hodnot relativního zastoupení daného lipidu a směrodatná odchylka.

U jednotlivých detekovaných fosfatidylcholinů a fosfatidylethanolaminů bylo určeno relativní množství nasycených a nenasycených mastných kyselin a následně byl pro každého jedince vypočítán poměr nasycených a nenasycených mastných kyselin. Následně byly tyto poměry zprůměrovány a spočteny směrodatné odchylky pro každý druh. Triacylglyceroly nebyly zahrnuty, jelikož jsme nebyli schopni rozlišit jednotlivé izobary a tedy je ani kvantifikovat.

GCxGC-TOF/MS analýza

Metodou GCxGC-TOF/MS byly analyzovány odlišné typy látek než metodou DI-HRMS. Z důvodu různých typů látek a jejich rozdílné ionizaci nelze porovnávat relativní množství těchto látek mezi sebou v rámci jedné analýzy. Byla vytvořena tabulka obsahující relativní zastoupení vybraných látek a jejich retenční indexy (viz Příloha 3, Tabulka P2). Retenční

indexy a spektra vybraných látek byla ručně porovnáována s komerčními databázemi. Látky však nebyly porovnávány se standardy, proto je nutné brát jejich identifikaci jako orientační.

Statistická analýza

Vícerozměrná statistická analýza

Vícerozměrná statistická analýza pro obě použité metody (DI-HRMS a GCxGC-TOF/MS) byla provedena na webové platformě Metaboanalyst 5 (<https://genap.metaboanalyst.ca>, Ewald et al., 2024). Data, která poskytly provedené analýzy, byla převedena na relativní rozložení signálu a následně byla aplikována metoda automatického škálování, která zahrnuje centrování kolem průměru a dělení směrodatnou odchylkou každé proměnné. Poté byla data statisticky zpracována.

Jedním z výstupů z naměřených dat je analýza pomocí metody vícerozměrné statistiky sparse PLS-DA (Lê Cao et al., 2011). Sparse PLS-DA modeluje vztahy mezi hladinami lipidů a skupinami vzorků, čímž identifikuje lipidy, které nejvíce přispívají k jejich rozlišení, proto je tento model využíván k hledání rozdílů mezi různými druhy. Výsledky DI-HRMS i GCxGC-TOF/MS byly také vizualizovány pomocí heatmap. Pro tvorbu heatmapy bylo programem vybráno 25 nejsignifikantnějších látek, zvláště pro výsledky DI-HRMS a zvláště pro GCxGC-TOF/MS. Jedná se o látky, které jsou specifické pro každý z druhů a které nejvíce přispívají k rozlišení mezi skupinami vzorků, aniž by nutně měly nejvyšší zastoupení. Heatmapa zobrazuje, jak se jednotlivé lipidy liší mezi skupinami, což poskytuje vizuální reprezentaci rozdílů v lipidovém profilu. Barvy heatmapy reprezentují intenzitu příspěvku každého lipidu k rozlišení skupin.

Poměry nasycených a nenasycených mastných kyselin

Poměry nasycených a nenasycených mastných kyselin byly spočteny pro každého z tří jedinců z šesti druhů. Následně byly v programu Microsoft Excel provedeny statistické testy k vyhodnocení významnosti rozdílů mezi dvěma skupinami dat – druhy žijícími v aridním prostředí a druhy z prostředí s vyšší vlhkostí (viz Obr. 5). Nejprve byl proveden F-test, který určil, zda lze předpokládat rovnost rozptylů (pokud je hodnota p větší než 0,05), což je důležité pro správnou interpretaci výsledků T-testu. Poté byl proveden T-test, který testoval, zda existuje statisticky významný rozdíl mezi těmito dvěma skupinami dat (pokud je hodnota p menší než 0,05) (Borůvka, 2010).

3 Výsledky

3.1 Kvantitativní část

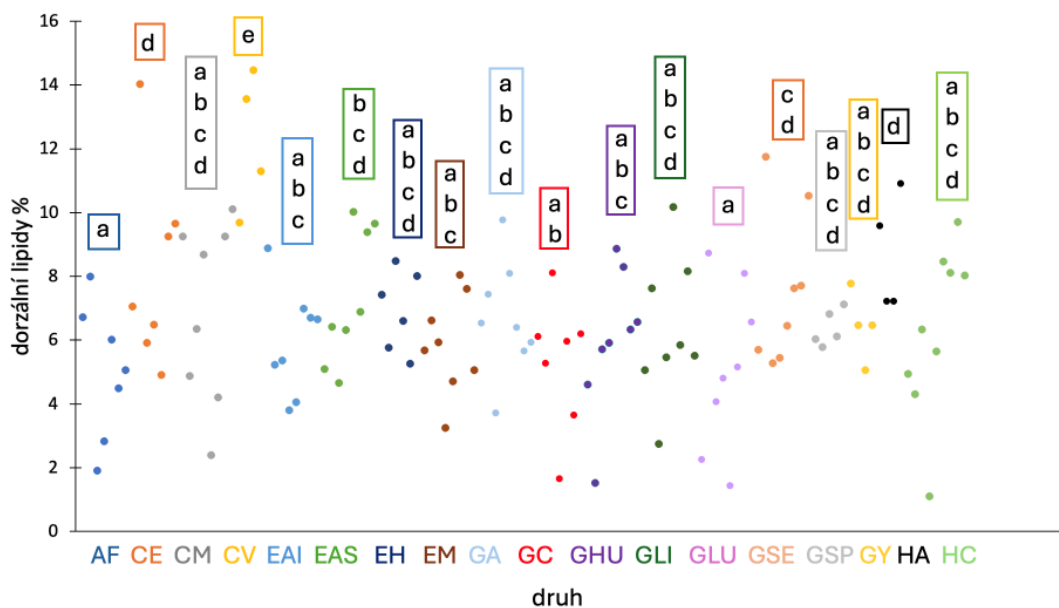
3.1.1 Sběr svleček

Pro účely této diplomové práce bylo nasbíráno celkem 396 svleček od adultních jedinců 18 druhů nebo populací (v případě *E. angramainyu*) gekonů z čeledi Eublepharidae, pocházejících z prostředí o různé ariditě. Pro kvantitativní část byly připraveny vzorky od samců i samic, z ventrální i dorzální strany těla. Lipidová extrakce byla provedena u celkem 133 svleček, což představuje 266 vzorků – vždy z ventrální i dorzální strany. U hodnot, které byly podezřele odlehle (hodnoty menší než 1 %) byla extrakce opakována s novou svlečkou. Celkem se jednalo o 18 vzorků (od 9 jedinců), u kterých byla k dispozici vhodná svlečka splňující požadované parametry stáří (max. 247 dní). Celkově bylo pro analýzu použito 124 svleček, respektive 248 vzorků. Výsledný přehled zahrnutých druhů, počtu jedinců a průměrných hodnotách pro každý druh je shrnut v tabulce (Tabulka č. 19). Kompletní výsledky extrakce lipidů jsou uvedeny v příloze (Tabulka P1).

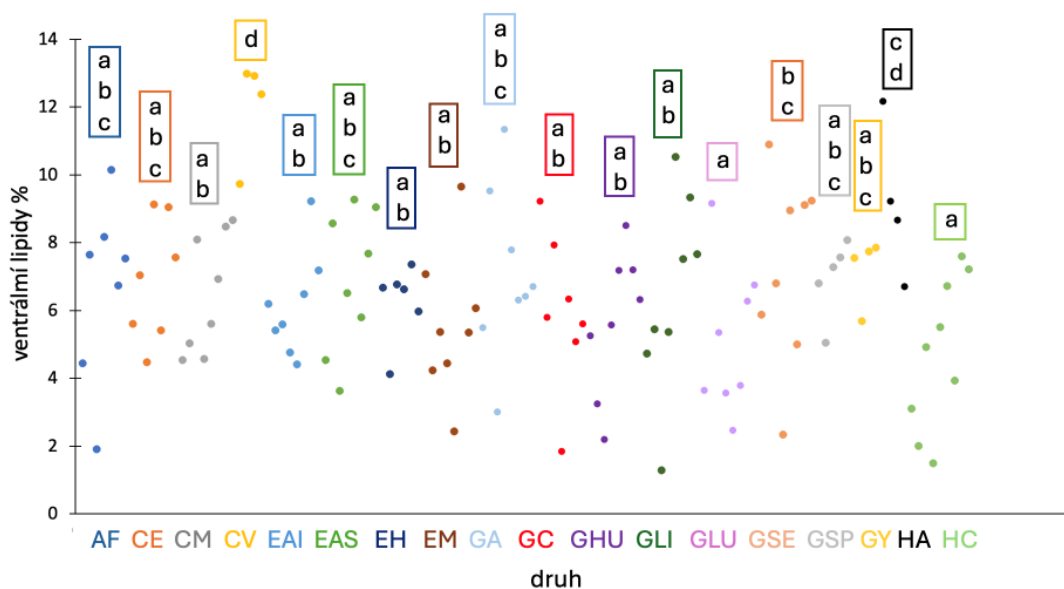
Získané hodnoty procentuálního zastoupení lipidů ve vzorcích dorzálních a ventrálních svleček jsou v rámci jednotlivých druhů variabilní (viz Obr. 10, Obr. 11 a Tabulka č. 19). Před dalším statistickým zpracováním získaných výsledků byl proveden Dixonův test pro identifikování odlehlých hodnot pro jednotlivé druhy zahrnuté do datového souboru. Test odhalil, že jediným vzorkem, který se ukázal jako odlehlý ($p = 0,029$), byl vzorek ventrální svlečky jednoho jedince druhu *G. yamashinae*. Tento vzorek byl nicméně do analýzy zahrnut i přesto, že byl identifikován jako odlehlý, kvůli nízkému počtu vzorků (pouze od čtyř jedinců) a zejména proto, že rozptyl hodnot nebyl ve srovnání s ostatními druhy nikterak výrazný, naopak získané hodnoty měly výrazně menší variabilitu než u jiných druhů a tři ze čtyř naměřených hodnot byly téměř totožné (rozdíl menší než 0,3%) Obr. 11 – ventrální lipidy.

Tabulka č. 19: Tabulka shrnující informace o jedincích zahrnutých do této diplomové práce. Pro každý druh je vždy uvedena příslušná zkratka, počet jedinců zahrnutých do kvantitativní části analýzy, rozsah a průměr jejich hmotností, rozsah i průměr hodnot SVL a rozsah i průměr procentuálního obsahu dorzálních a ventrálních lipidů.

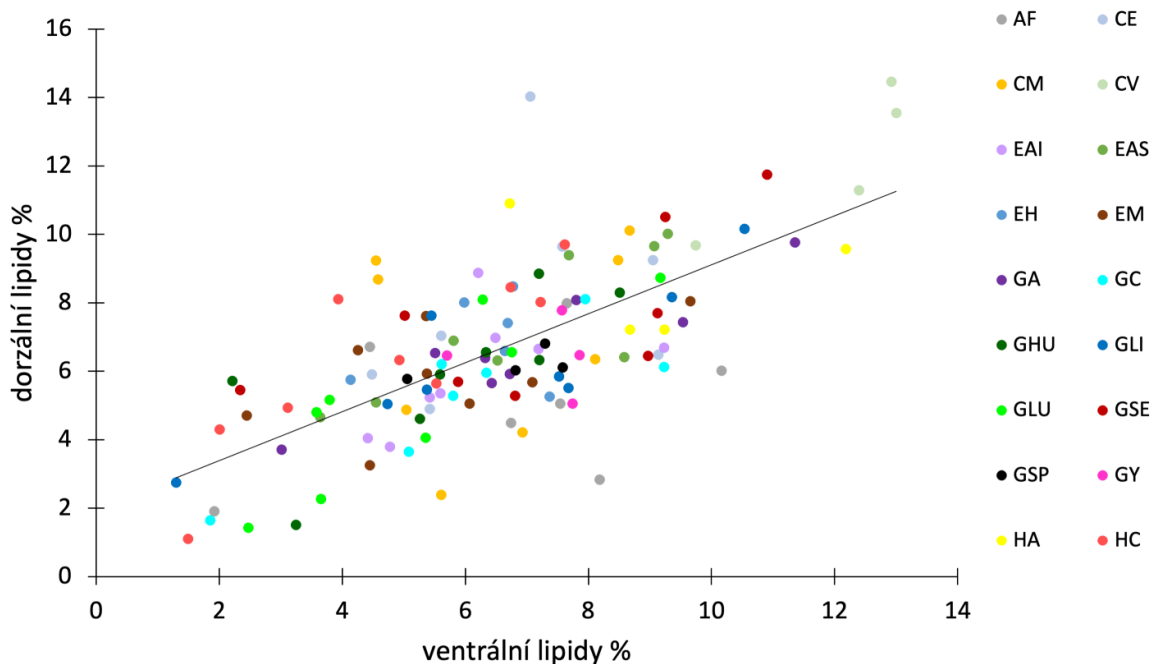
Druh	Zkratka	Počet jedinců	Hmotnost [g]		SVL [mm]		Dorzální lipidy %		Ventrální lipidy %	
			Rozsah	Průměr	Rozsah	Průměr	Rozsah	Průměr	Rozsah	Průměr
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF	7	9,41 – 25,17	16,81	94,74 – 119,28	108,76	1,92 – 8,00	5,94	1,92 – 10,16	5,90
<i>Coleonyx elegans</i>	CE	7	12,63 – 17,64	14,73	90,87 – 98,37	95,04	4,91 – 14,04	7,70	4,48 – 9,14	7,39
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM	8	10,29 – 19,61	14,45	90,07 – 04,62	96,22	2,40 – 10,12	6,58	4,55 – 8,67	6,47
<i>Coleonyx variegatus</i>	CV	4	5,69 – 7,46	6,39	64,23 – 71,01	67,74	9,69 – 14,48	12,48	9,74 – 13,00	12,26
<i>Eublepharis angramainyu (Írán)</i>	EAI	8	74,59 – 122,16	97,52	152,60 – 165,01	157,45	3,80 – 8,89	6,06	4,41 – 9,23	6,03
<i>Eublepharis angramainyu (Sýrie)</i>	EAS	8	79,08 – 111,53	91,52	157,93 – 173,62	164,43	4,67 – 10,04	7,28	3,64 – 9,29	6,93
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH	6	40,89 – 63,10	50,11	119,42 – 130,64	124,62	5,27 – 8,49	6,59	4,13 – 7,37	6,47
<i>Eublepharis macularius</i>	EM	8	49,24 – 86,59	66,65	129,90 – 146,27	137,48	3,26 – 8,06	5,64	2,45 – 9,66	5,77
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GA	8	26,64 – 35,40	30,22	115,83 – 126,10	121,88	3,73 – 9,78	6,99	3,02 – 11,36	6,96
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC	7	28,74 – 41,41	34,03	111,30 – 134,08	120,06	1,66 – 8,11	5,36	1,86 – 9,23	5,59
<i>Goniurosaurus huiliensis</i>	GHU	8	21,13 – 32,84	25,27	109,23 – 119,44	115,54	1,53 – 8,87	5,88	2,21 – 8,51	5,79
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI	8	20,63 – 28,35	24,23	97,86 – 107,20	100,70	2,76 – 10,18	6,53	1,30 – 10,54	6,47
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU	8	22,30 – 34,80	27,83	116,85 – 124,97	121,33	1,45 – 8,74	5,24	2,48 – 9,17	5,05
<i>Goniurosaurus singokui</i>	GSE	8	9,58 – 13,09	11,06	77,46 – 89,67	84,96	5,29 – 11,77	7,53	2,34 – 10,90	7,22
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP	5	8,49 – 11,61	9,88	78,58 – 82,47	80,98	5,79 – 7,13	6,66	5,05 – 8,08	6,62
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY	4	9,33 – 12,82	10,80	81,03 – 88,37	83,85	5,06 – 7,79	6,73	5,70 – 7,86	6,89
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC	8	39,73 – 61,34	46,02	106,94 – 144,94	122,06	4,32 – 9,71	6,24	2,01 – 7,61	5,91
<i>Holodactylus africanus</i>	HA	4	7,81 – 10,01	8,95	73,24 – 81,26	77,25	7,23 – 10,91	8,51	6,72 – 12,18	8,70



Obr. 10: Graf zobrazující procentuální zastoupení lipidů ve vzorcích pocházejících z dorzální strany svlečky jedinců uvedených druhů. Zkratky pro jednotlivé druhy vysvětleny viz Tabulka č. 19. Písmena a,b,c,d představují homogenní skupiny detekované *post-hoc* testem.



Obr. 11: Graf zobrazující procentuální zastoupení lipidů ve vzorcích pocházejících z ventrální strany svlečky jedinců uvedených druhů. Zkratky pro jednotlivé druhy vysvětleny viz Tabulka č. 19. Písmena a,b,c,d představují homogenní skupiny detekované *post-hoc* testem.



Obr. 12: Graf znázorňující závislost mezi procentuálním zastoupením lipidů ve vzorcích z ventrální a dorzální strany svleček jedinců uvedených druhů. Symboly pro jednotlivé druhy jsou vysvětleny v legendě vpravo od grafu. Zkratky pro jednotlivé druhy vysvětleny v tabulce č. 19.

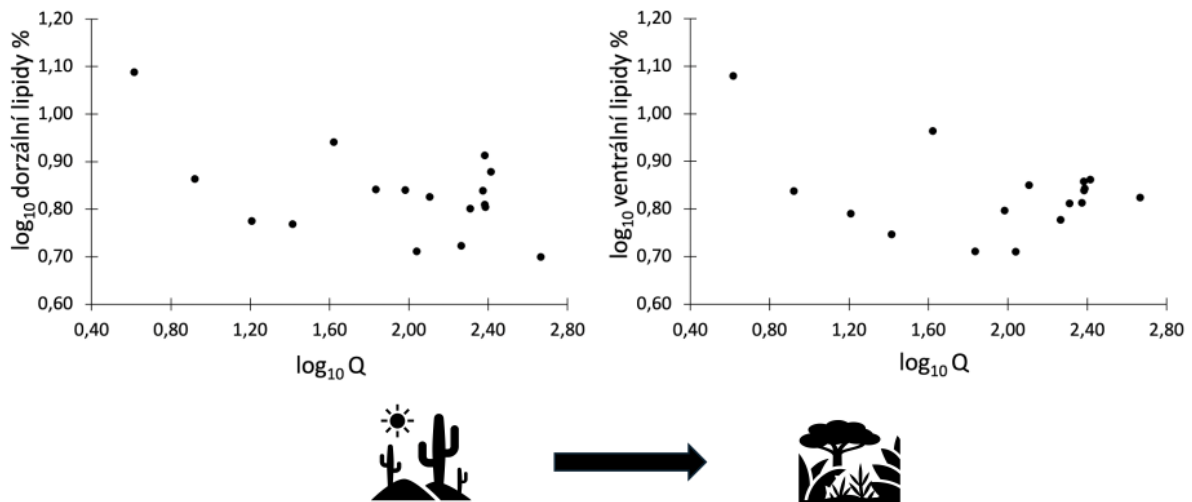
Množství lipidů ve svlečce pocházející z ventrální a dorzální strany spolu dobře koreluje (Obr. 12, $R^2 = 0,5235$, $p \ll 0,001$). I přes značnou variabilitu se mezi sebou množství lipidů mezi druhy statisticky signifikantně liší (vzorky z dorzální části těla ANOVA: $F_{17, 106} = 3,049$, $p = 0,0002$; vzorky z ventrální části těla ANOVA: $F_{17, 106} = 2,6561$, $p = 0,0012$). Následný *post-hoc* test detekoval několik odlišných homogenních skupin, které jsou vyznačeny na Obr. 10 a Obr. 11.

3.1.2 Souvislost mezi množstvím lipidů, ztrátami vody výparem a ariditou prostředí

Aridita prostředí

Statisticky signifikantní vyšla i po zahrnutí vlivu fylogeneze negativní korelace mezi množstvím lipidů ve svlečce na dorzální i ventrální straně a Q prostředí, ve kterém se daný druh vyskytuje. Zde bylo možné použít 17 z 18 studovaných druhů, tedy kompletní datový soubor, pouze bez zmiňovaného *Goniurosarus huuliensis*. Po zahrnutí vlivu fylogeneze a logaritmické transformaci lze vztah mezi množstvím lipidů ve svlečce z dorzální části těla a Q popsat

přímkou s interceptem $1,060 \pm 0,091$ S.E. a sklonem $-0,123 \pm 0,035$ S.E. (PGLS: $F_{1,15} = 11,92$; $p = 0,003$, $\lambda = 0,885$). Pro ventrální stranu je tento vztah popsateľný přímkou s interceptem $1,050 \pm 0,085$ S.E. a sklonem $-0,091 \pm 0,035$ S.E. (PGLS: $F_{1,15} = 11,92$; $p = 0,019$, $\lambda = 0,534$). Modely vysvětlí 40,57 % (dorzálními lipidy) a 26,77 % (ventrálními lipidy). Je zde tedy negativní korelace mezi ariditou prostředí a obsahem ventrálních i dorzálních lipidů (viz Obr. 13). To znamená, že v sušších prostředích mají vzorky kůže tendenci mít vyšší obsah lipidů.



Obr. 13: Vztah mezi průměrným množstvím lipidů (procentuálního zastoupení) ve svlečkách pocházejících z ventrální a dorzální strany těla a indexem aridity prostředí (Q) u studovaných zástupců čeledi Eublepharidae.

Lipidy jako prediktory TEWL

Z výsledků hierarchicky vložených PGLS modelů, které zahrnovaly hmotnost, množství ventrálních a dorzálních lipidů a jejich kombinaci bylo vyhodnoceno, že lipidy v kůži, zejména ve ventrální oblasti, jsou nejlepšími prediktory TEWL. Model zahrnující pouze ventrální lipidy je podle výsledků porovnání hodnot AICc nejlepším modelem pro vysvětlení rozdílů v TEWL mezi studovanými zástupci gekončků vysvětlující téměř 47% variability ($R^2 = 0,469$), viz Tabulka č. 20. Po zahrnutí vlivu fylogeneze lze vztah mezi TEWL a množstvím lipidů ve svlečce z ventrální části těla popsat přímkou s interceptem $3,264 \pm 0,521$ S.E. a sklonem $-2,329 \pm 0,599$ S.E. (PGLS: $F_{1,15} = 15,1$; $p = 0,001$, $\lambda = 1$).

Tabulka č. 20: Tabulka s porovnáním různých modelů pro vysvětlení variability v hodnotách celkové ztráty vody výparem (TEWL) pomocí AICc hodnot. Tabulka ukazuje modely zahrnující různé kombinace proměnných, včetně logaritmičeských hodnot hmotnosti (log m), obsahu dorzálních lipidů (log dorzální lipidy) a ventrálních lipidů (log ventrální lipidy). Nejlepší model s nejnižší AICc hodnotou je zvýrazněn tučně.

Model	AICc hodnota	Δ AICc
log TEWL ~ 1 (nulový model)	12,661	9,252
log TEWL ~ log hmotnost	7,673	4,264
log TEWL ~ log dorzální lip	6,917	3,508
log TEWL ~ log ventrální lipidy	3,409	0
log TEWL ~ log hmotnost + log dorzální lipidy	6,538	3,129
log TEWL ~ log hmotnost + log ventrální lipidy	5,956	2,547
log TEWL ~ log hmotnost + log dorzální lipidy + log ventrální lipidy	8,916	5,507
log TEWL ~ log dorzální lipidy + log ventrální lipidy	6,100	2,691

Jak bylo popsáno výše, u gekončků jsou TEWL silně korelovaná s CWL, proto byla provedena i analýza zkoumající vztah mezi CWL a množstvím lipidů v kůži, kde však nejsou dostupná data pro všechny studované druhy. Po zahrnutí vlivu fylogeneze a použití metody PGLS se ukazuje, že vztah mezi CWL z dorzální ani ventrální části těla statisticky signifikantně nekoreluje s množstvím lipidů ve svlečkách pocházejících z dané části těla (dorzální strana PGLS: $F_{1,14} = 0,925$; $p = 0,352$, $\lambda = 0,967$; ventrální strana PGLS: $F_{1,14} = 2,971$; $p = 0,107$, $\lambda = 0,814$). V této analýze nicméně chyběl druh *C. variegatus*, pro kterého kvůli malé velikosti těla nejsou z technických důvodů data o CWL dostupná.

3.2 Kvalitativní část

Pro kvalitativní část této diplomové práce byly také použity svlečky adultních jedinců gekonů z čeledi Eublepharidae, tentokrát však pouze ventrální části svleček a pouze samice. Bylo vybráno celkem šest druhů, z nichž tři pochází z vlhkého prostředí a tři z prostředí s vyšší ariditou (viz Obr. 5). Od každého druhu byl odebrán vzorek od tří jedinců, což představuje celkem 18 vzorků. Tato analýza se zaměřila na charakterizaci lipidového složení vzorků. Na rozdíl od kvantitativní analýzy, kde byl zjištěn obsah lipidů, šlo především o identifikaci konkrétních látek přítomných ve vzorcích.

3.2.1 DI-HRMS

Pomocí DI-HRMS metodou přímého nástřiku byly analyzovány fosfolipidy z třídy fosfatidylcholinů a fosfatidylethanolaminů a triacylglyceroly. Výstupem analýzy jsou grafy relativního procentuálního zastoupení jednotlivých fosfolipidů a izobarických triacylglycerolů (viz Obr. 14-16). Z výsledků této analýzy dat lze usuzovat, že se jednotlivé druhy mezi sebou liší ve složení lipidů v extraktech kůží.

Fosfatidylcholin

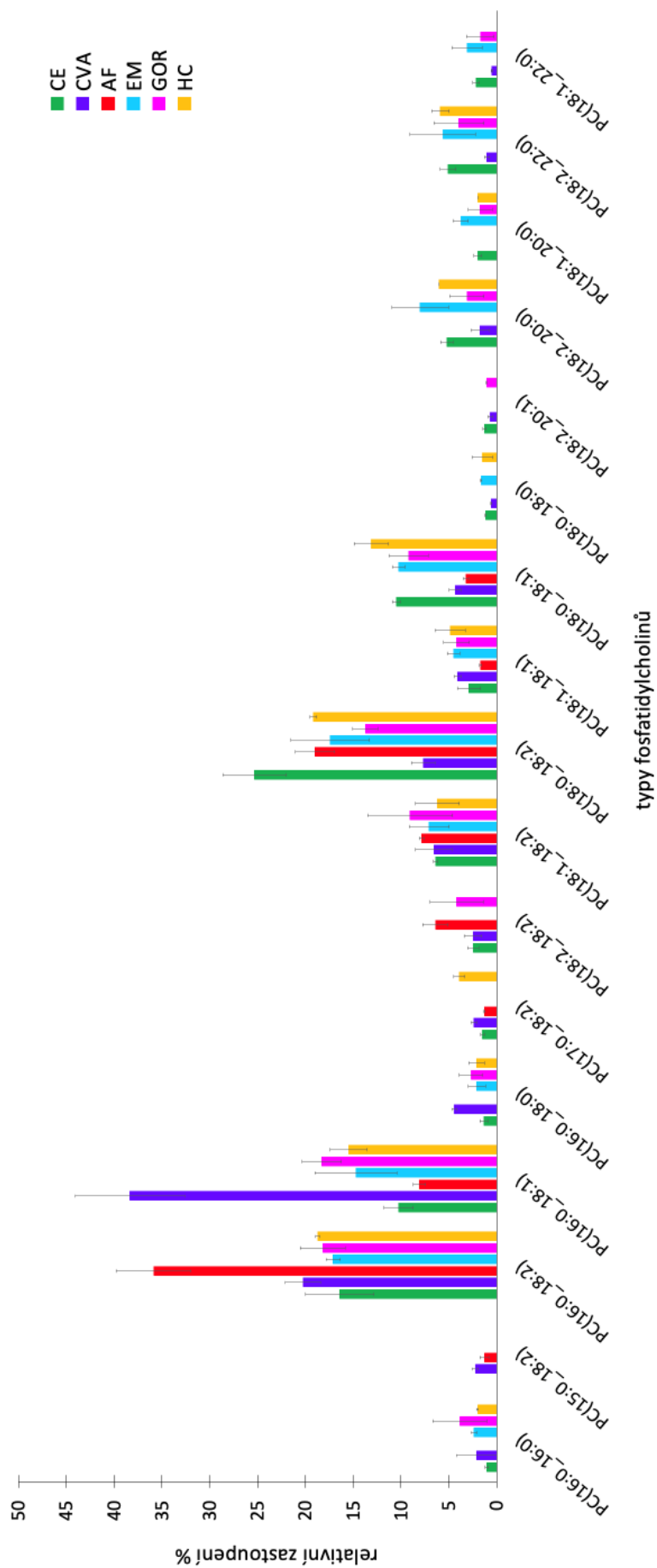
Existuje značná variabilita ve složení fosfatidylcholinů mezi jednotlivými druhy gekonů. (viz Obr. 14). Některé fosfatidylcholin jsou přítomny ve vyšším množství napříč všemi druhy. Ve fosfatidylcholinech byly detekovány především nasycené mastné kyseliny a kyseliny s jednou nebo dvěma dvojnými vazbami. Například fosfatidylcholin 16:0_18:2 má relativně vysoké procento zastoupení ve většině studovaných druhů. Podobně je tomu i u fosfatidylcholinu 16:0_18:1 nebo 18:0_18:2.

Fosfatidylethanolaminy

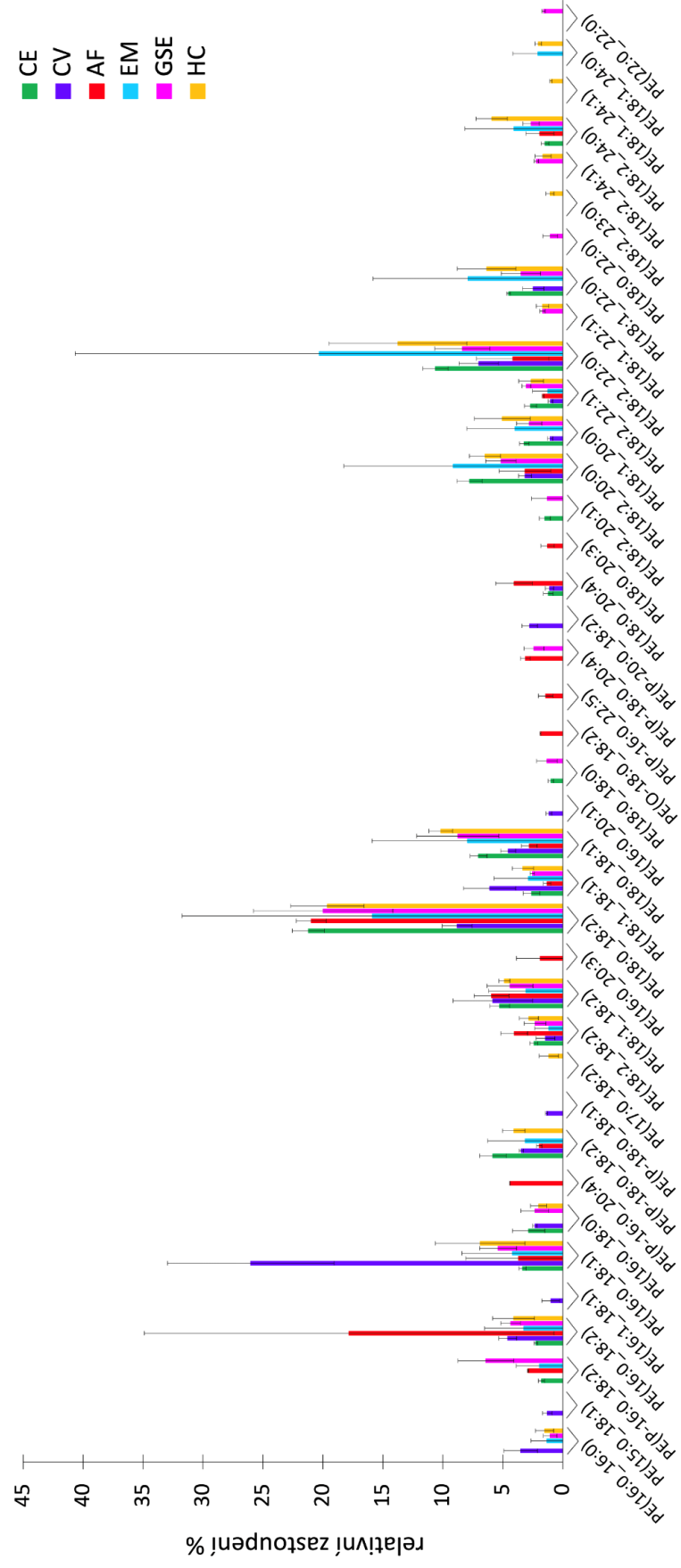
Jednotlivé druhy gekonů vykazují značné rozdíly také ve složení fosfatidylethanolaminů (viz Obr. 15). V detekovaných fosfatidylethanolaminech se objevují jak nasycené mastné kyseliny, tak mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou a ve vyšší míře také polynenasycené mastné kyseliny (mastné kyseliny se dvěma a více dvojnými vazbami). Například fosfatidylethanolamin 16:0_18:2 je ve vyšší míře zastoupen u druhu *A. felinus*. Některé fosfatidylethanolaminy jsou přítomny ve vyšším množství napříč všemi druhy, příkladem je fosfatidylethanolamin 18:0_18:2, který má relativně vysoké procento zastoupení u většiny studovaných druhů.

Triacylglyceroly

Triacylglyceroly také vykazují značnou variabilitu ve složení mezi studovanými druhy gekonů, jak je znázorněno na Obr. 16. Různé typy triacylglycerolů se vyskytují v různém množství napříč studovanými druhy. Například triacylglyceroly 50:0 a 52:0 jsou výrazně zastoupeny opět u druhu *A. felinus*. Naopak triacylglyceroly 62:0, 64:0, 66:0 jsou nejvýrazněji zastoupeny u druhu *H. caudicinctus*. Triacylglycerol 54:4 má podobné relativní zastoupení u všech druhů.

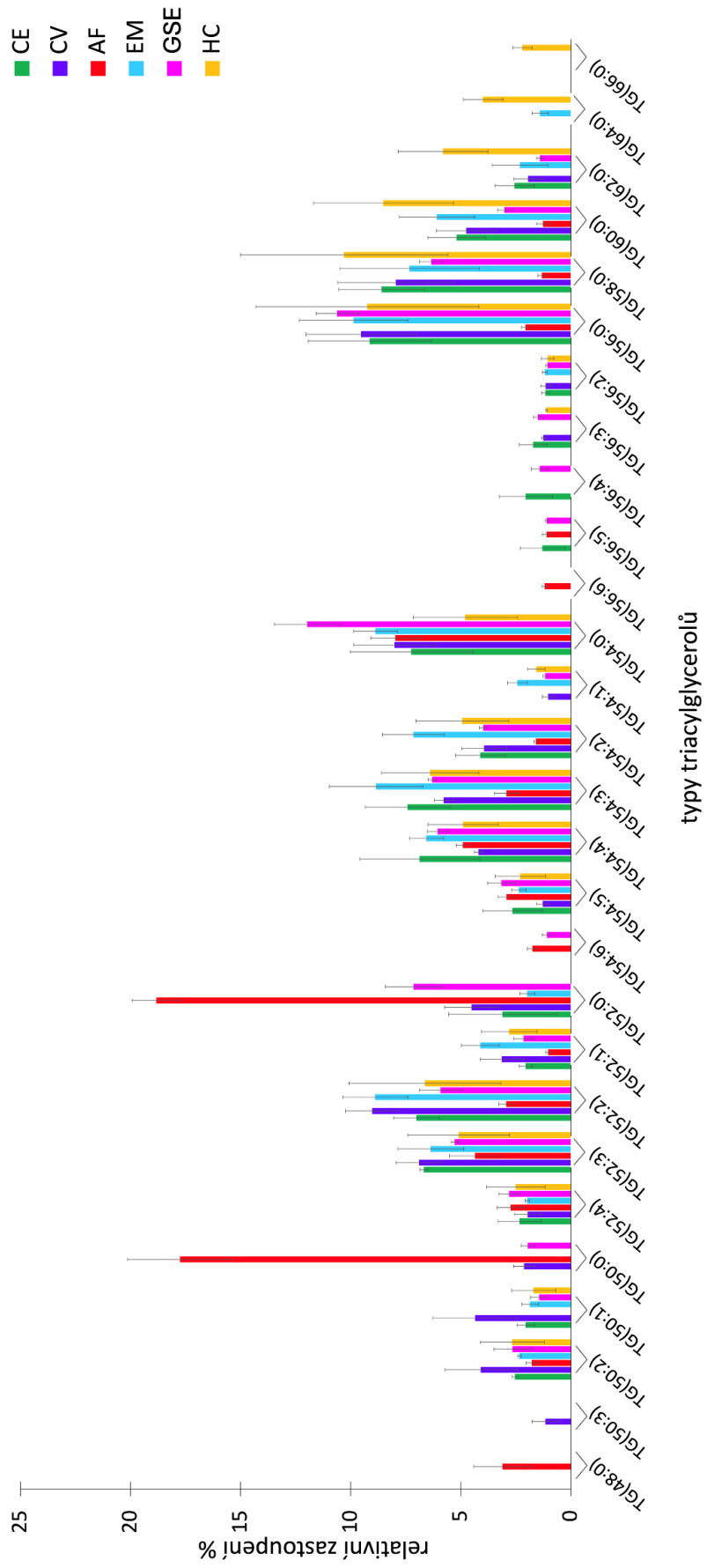


Obr. 14: Graf zobrazující relativní množství konkrétních fosfatidylcholinů u vybraných jedinců čeledi Eublepharidae. Do grafu byly vyneseny průměrné hodnoty pro každý druh společně se směrodatnou odchylkou.



typy fosfatidylethanolaminů

Obr. 15: Graf zobrazující relativní množství konkrétních fosfatidylethanolaminů u vybraných jedinců čeledi Eublepharidae. Do grafu byly vyneseny průměrné hodnoty pro každý druh společně se směrodatnou odchylkou.



Obr. 16: Graf zobrazující relativní množství izobarických triacylglycerolů u vybraných jedinců čeledi Eublepharidae. Do grafu byly vyneseny průměrné hodnoty pro každý druh společně se směrodatnou odchylkou.

3.2.2 GCxGC-TOF/MS

Metodou GC-GC-TOF/MS bylo detekováno celkem 228 různých typů látek, z nichž většinu nebylo možné bezpečně identifikovat. Tabulka č. 21 uvádí seznam látek, jejichž retenční indexy a spektra byly ručně porovnány s komerčními databázemi a které byly tímto způsobem identifikovány. Mezi těmito látkami byly převážně volné mastné kyseliny, zejména nasycené s delším řetězcem a se sudým počtem uhlíků, jako je kyselina palmitová, kyselina stearová a kyselina arachidová. Kromě mastných kyselin byl u všech vzorků hojně detekován také cholesterol a glycerol. Výstupem získaných dat je také vícerozměrná statistická analýza (viz Obr. 18 a Obr. 19). Z výsledků je opět patrné, že se jednotlivé druhy liší v těchto látkách a jejich zastoupení.

Tabulka č. 21: Souhrnná tabulka zobrazující látky, které byly detekované analytickou metodou dvourozměrné komprehensivní plynové chromatografie s hmotnostní detekcí ve vzorcích kůže jedinců čeledi Eublepharidae, spolu s jejich retenčními indexy a relativním zastoupením ve vzorcích (%). Pokračování tabulky na další straně. Značení jednotlivých druhů: AF – *Aeluroscalabotes felinus*; CV – *Coleonyx variegatus*; HC – *Hemitheconyx caudicinctus*; EM – *Eublepharis macularius*; GSE – *Goniurosaurus sengokui*; CE – *Coleonyx elegans*. Římské číslice pak odlišují různé jedince daného druhu.

	Arachidová kyselina (C20:0)	Kyselina dokosenová (C22:1)	Kyselina behenová (C22:0)	Glycerol monostearát	Kyselina lignocerová (C24:0)	Kyselina cerotová (C26:0)	Cholesterol	Campesterol
č. analytu	198	221	227	241	250	267	277	280
retenční index	2435	2608	2635	2769	2839	3029	3184	3291
EM I	2,07	0,32	2,14	0,68	0,37	0,03	8,30	0,26
EM II	1,58	0,27	1,61	0,60	0,32	0,04	7,71	0,20
EM III	1,70	0,42	1,90	0,45	0,38	0,03	6,47	0,14
GSE I	2,56	0,18	1,66	0,31	0,28	0,00	21,04	0,19
GSE II	2,45	0,36	1,71	0,75	0,37	0,02	13,53	0,12
GSE III	1,58	0,36	1,28	0,63	0,24	0,01	11,94	0,17
AF I	1,08	0,10	0,79	0,31	0,41	0,18	22,06	0,33
AF II	1,15	0,17	0,99	0,48	0,38	0,19	21,72	0,38
AF III	1,28	0,25	0,96	1,28	0,37	0,16	21,61	0,37
CV I	0,92	0,38	1,22	0,62	0,13	0,08	8,06	0,11
CV II	1,59	0,19	2,10	0,30	0,21	0,13	9,95	0,13
CV III	2,00	0,28	2,53	0,33	0,24	0,06	8,58	0,12
CE I	1,62	0,44	1,68	0,88	0,27	0,02	10,75	0,21
CE II	1,78	0,58	1,88	0,50	0,31	0,03	9,25	0,21
CE III	2,29	0,55	2,43	0,63	0,25	0,02	10,98	0,22
HC I	2,15	0,32	1,93	0,43	0,43	0,02	8,43	0,16
HC II	2,65	0,29	2,09	0,55	0,32	0,00	10,87	0,23
HC III	2,44	0,32	2,07	0,50	0,43	0,02	9,27	0,19

Tabulka č. 21: Pokračování předchozí tabulky. Souhrnná tabulka zobrazující látky, které byly detekované analytickou metodou dvourozměrné komprehensivní plynové chromatografie s hmotnostní detekcí ve vzorcích kůže jedinců čeledi Eublepharidae, spolu s jejich retenčními indexy a relativním zastoupením ve vzorcích (%). Značení jednotlivých druhů viz výše.

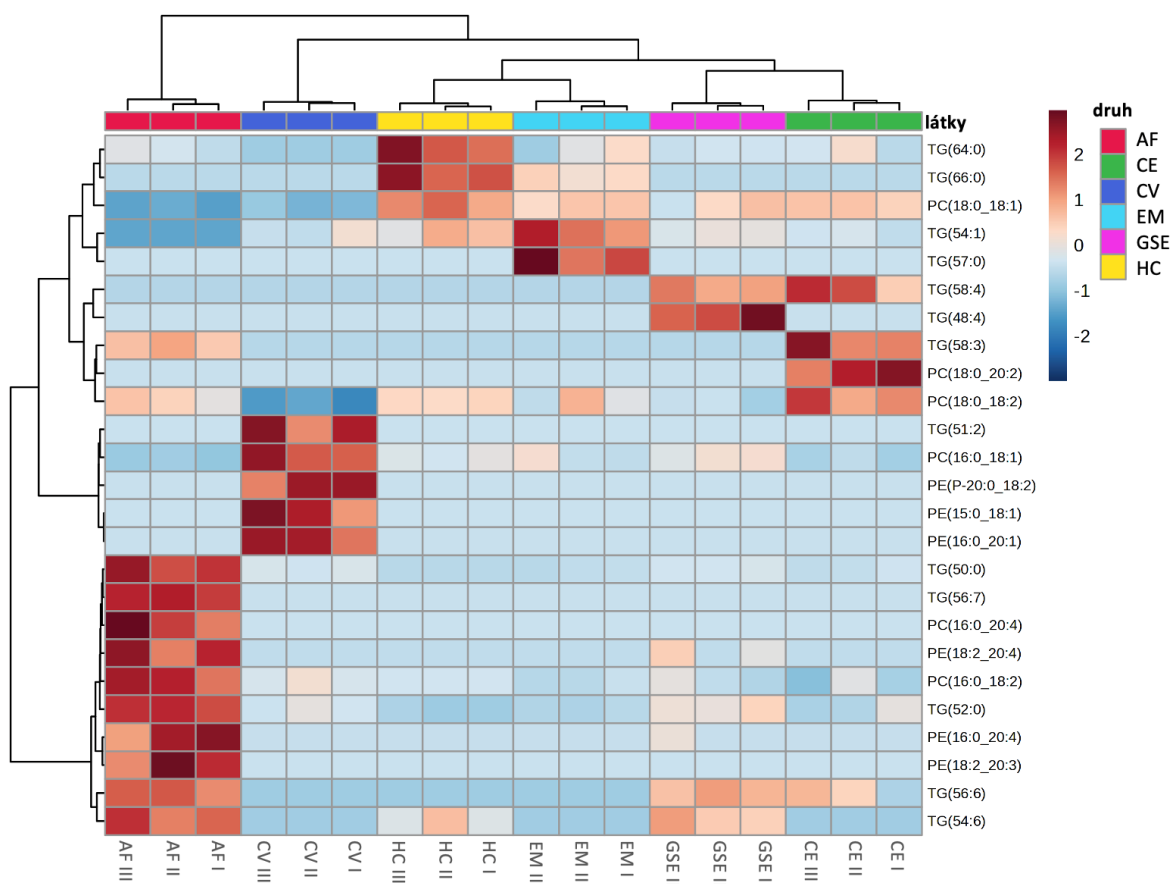
	Glycerol	Kyselina nonanová (C9:0)	Kyselina laurová (C12:0)	Kyselina mystistová (C14:0)	Kyselina pentadekanová (C15:0)	Kyselina hexadekenová (C16:1)	Kyselina palmitová (16:0)	Kyselina stearová (C18:0)
č. analytu	17	37	97	122	134	145	146	172
retenční index	1262	1359	1651	1846	1943	2021	2041	2242
EM I	8,52	0,63	0,08	0,11	0,07	0,09	5,46	15,21
EM II	11,01	0,69	0,12	0,08	0,05	0,08	6,85	9,61
EM III	8,82	0,51	0,05	0,05	0,04	0,08	4,28	7,14
GSE I	4,39	1,55	0,18	0,22	0,11	0,14	8,19	9,59
GSE II	9,19	0,26	0,11	0,18	0,07	0,08	6,80	9,99
GSE III	8,71	0,41	0,09	0,08	0,04	0,11	7,48	9,95
AF I	4,43	1,97	0,15	0,20	0,13	0,11	11,21	8,29
AF II	3,42	1,70	0,15	0,16	0,11	0,10	10,09	9,09
AF III	4,60	2,04	0,11	0,13	0,11	0,11	9,02	8,43
CV I	4,94	0,40	0,12	0,20	0,16	0,29	7,92	4,16
CV II	4,40	1,03	0,17	0,18	0,14	0,22	8,27	7,82
CV III	3,19	0,43	0,12	0,15	0,14	0,18	8,18	7,99
CE I	7,51	0,49	0,08	0,12	0,06	0,11	5,40	10,80
CE II	5,24	0,38	0,09	0,07	0,04	0,07	5,67	10,13
CE III	6,51	0,64	0,11	0,10	0,06	0,11	7,67	12,90
HC I	10,06	0,49	0,09	0,09	0,05	0,09	5,41	9,55
HC II	6,08	0,63	0,07	0,08	0,06	0,12	5,35	9,20
HC III	7,20	0,35	0,12	0,09	0,06	0,12	6,62	11,16

3.2.3 Statistická analýza

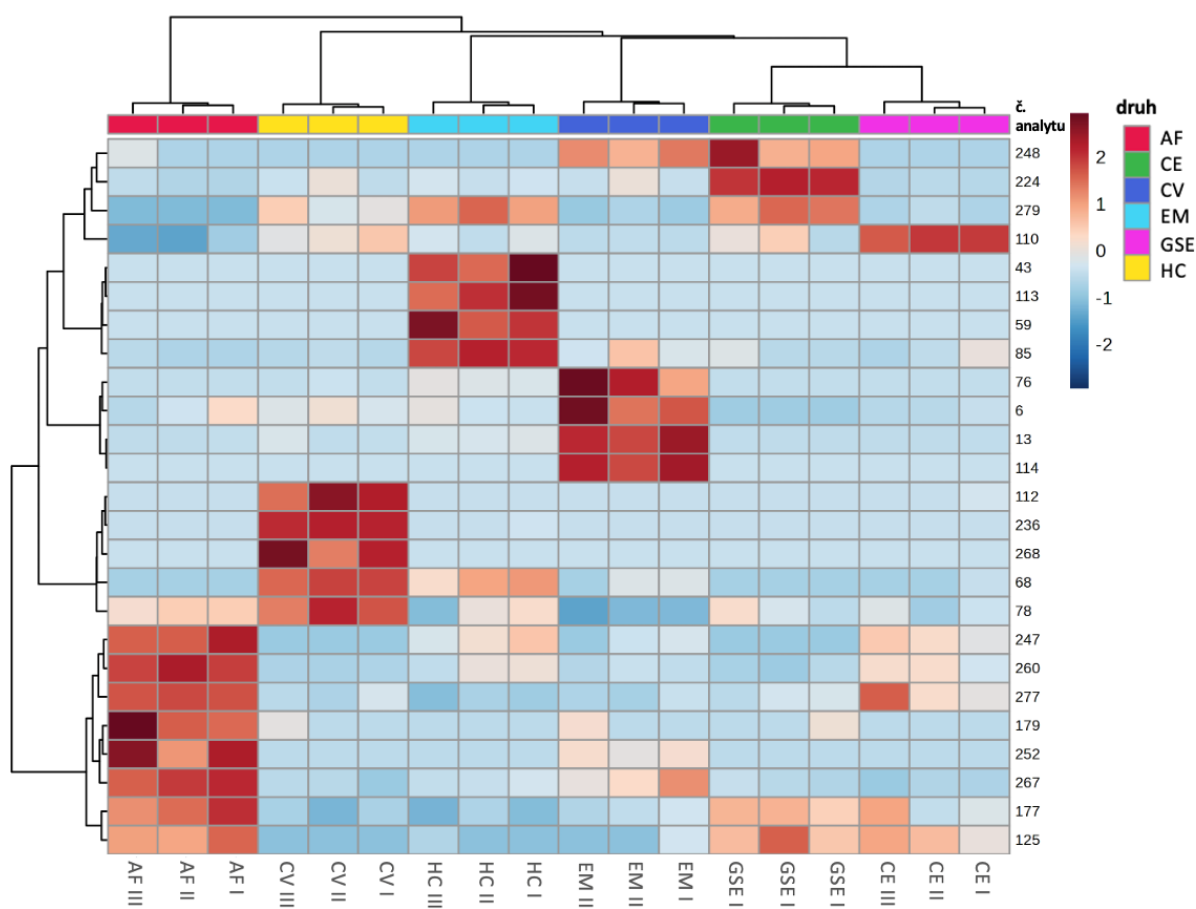
Vícerozměrná statistická analýza

Analýza odhalila výrazné klastrování jedinců do skupin odpovídajících jejich druhům. Tento trend byl patrný jak u lipidových profilů získaných metodou DI-HRMS (viz Obr. 17), tak u látek získaných metodou GCxGC-TOF/MS (viz Obr. 18). Klastrování, založené na 25 nejvýznamnějších látkách, jasně ukazuje na podstatné rozdíly mezi druhy, a to nejen ve složení fosfolipidů a triacylglycerolů, ale i dalších látek detekovaných pomocí GCxGC-TOF/MS. Nezdá se však, že by spolu klastrovaly druhy obývající prostředí o podobné ariditě (tedy s podobným Q) nebo, že by druhy klastrovaly na základě fylogenetických vztahů (viz Obr. 17 a Obr. 18).

Vzhledem k tomu, že pro *H. caudinctus* byly k dispozici pouze dva vzorky, byla při tvorbě heatmapy jako třetí hodnota použita průměrná hodnota z těchto dvou vzorků. Čím tmavší barva, tím je intenzita příspěvku dané látky k rozlišení druhů vyšší.



Obr. 17: Heatmapa zobrazující 25 nejsignifikantnějších fosfolipidů (fosfatidylcholinů a fosfatidylethanolaminů) a triacylglycerolů u různých druhů gekončků. Pro tvorbu této heatmapy byla využita data získaná analýzou pomocí hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením metodou přímého nástřiku (DI-HRMS). Značení jednotlivých druhů: AF – *Aeluroscalabotes felinus*; CV – *Coleonyx variegatus*; HC – *Hemitheconyx caudicinctus*; EM – *Eublepharis macularius*; GSE – *Goniurosaurus sengokui*; CE – *Coleonyx elegans*. Římské číslice pak odlišují různé jedince daného druhu.



Obr. 18: Heatmapa zobrazující klastrování jedinců do jednotlivých druhů gekončků na základě 25 nejsignifikantnějších látek detekovaných metodou dvourozměrné komprehensivní plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Čím tmavší barva, tím je látky v rámci porovnávaných vzorků více. Číslo analytu odpovídá detekovaným látkám, které lze nalézt blíže popsané v Přílohách (Tabulka P2). Značení jednotlivých druhů viz Obr. 17.

Poměry nasycených a nenasycených mastných kyselin

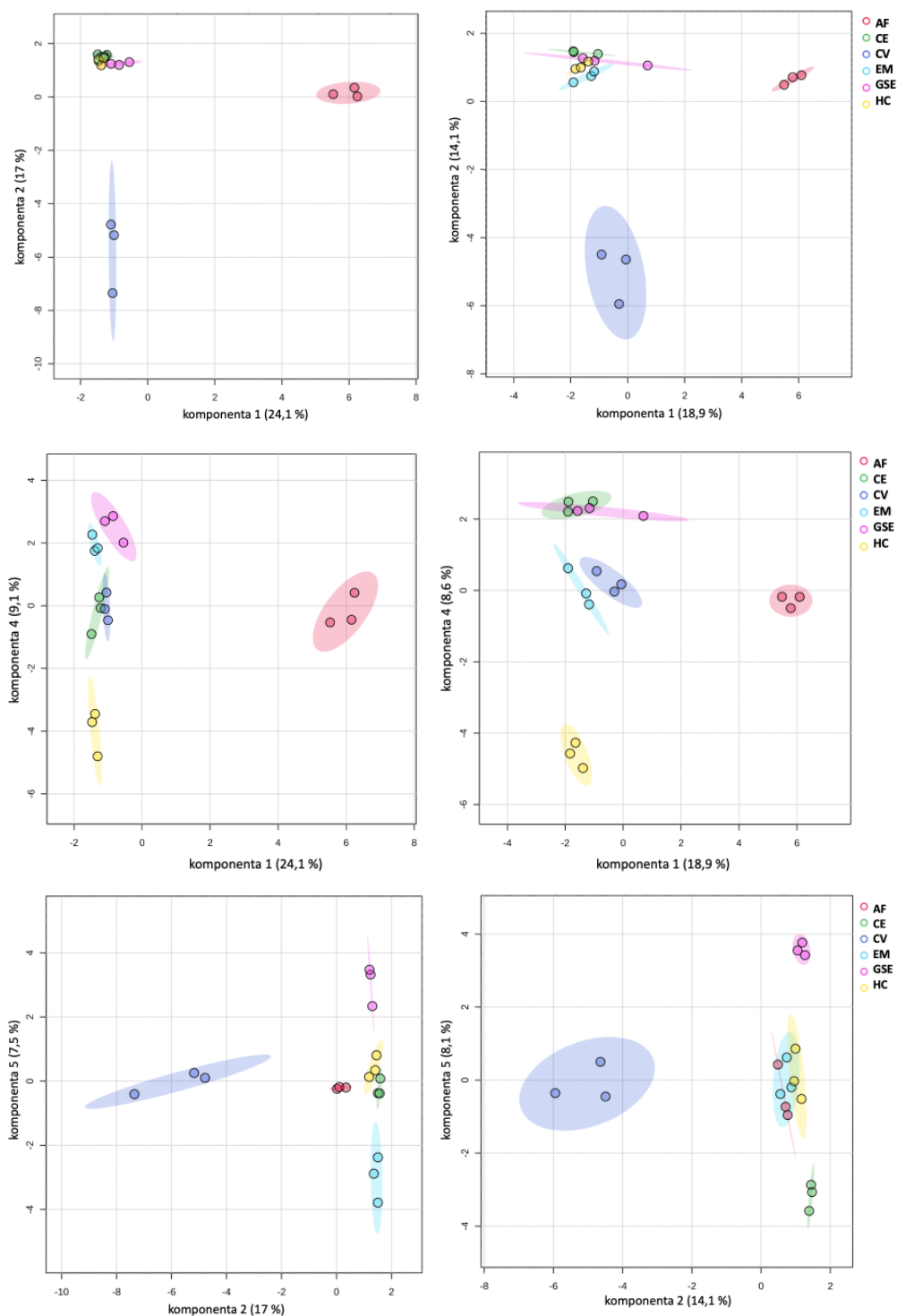
Poměry nasycených a nenasycených mastných kyselin ve fosfatidylcholonech a fosfatidylethanolaminech byly vypočteny pro každého jedince a druh (viz Tabulka č. 22). Následně byl proveden T-test, který ukázal statisticky významný rozdíl mezi druhy žijícími v aridních a vlhkých oblastech pro fosfatidylcholin ($p = 0,024$). Pro tuto analýzu však byly zahrnuty pouze dva vzorky pro *H. caudinctus*, proto lze výsledek považovat spíše za hraniční. Výsledky T-testu pro fosfatidylethanolaminy ukazují, že rozdíl mezi těmito dvěma skupinami gekonů není statisticky významný ($p = 0,116$).

Tabulka č. 22: Poměry nasycených a nenasycených mastných kyselin ve fosfatidylcholinech a fosfatidylethanolaminech pro jedince a druhy gekončíků. Čím vyšší poměr, tím vyšší obsah nasycených mastných kyselin představuje. Zahrnuti jsou také průměrné hodnoty a směrodatné odchylky pro každého jedince.

Druh	Jedinec	Poměr (fosfatidylcholinu)	Průměr	Směrodatná odchylka	Poměr (fosfatidyl- ethanolaminy)	Průměr	Směrodatná odchylka
EM	EM I	0,877	0,884	0,037	0,919	0,875	0,039
	EM II	0,925			0,854		
	EM III	0,851			0,851		
CV	CV I	0,752	0,844	0,150	0,897	0,820	0,071
	CV II	1,017			0,756		
	CV III	0,762			0,807		
HC	HC I	0,888	0,890	0,003	0,789	0,802	0,013
	HC II	0,892			0,815		
	HC III	–			0,800		
CE	CE I	0,766	0,756	0,512	0,897	0,820	0,071
	CE II	0,802			0,756		
	CE III	0,700			0,807		
AF	AF I	0,710	0,686	0,089	0,516	0,529	0,033
	AF II	0,760			0,567		
	AF III	0,587			0,505		
GSE	GSE I	0,840	0,781	0,202	0,946	0,838	0,140
	GSE II	0,947			0,888		
	GSE III	0,556			0,681		

Porovnání výsledků DI-HRMS a GCxGC-TOF/MS

S využitím výsledků získaných dvěma odlišnými analytickými technikami (DI-HRMS a GCxGC-TOF/MS) byla provedena Sparse PLS-DA analýza. I přesto, že každá z těchto metod detekovala různé typy látek, lze pozorovat značnou shodu ve výsledcích. Jedinci se vždy klastrují do skupin odpovídajících jednotlivým druhům (viz Obr. 19). Druhy *C. variegatus* a *A. felinus* se na základě této analýzy výrazně liší od ostatních druhů i od sebe navzájem. Nicméně, ani zde není patrné klastrování podle typů obývaných habitatů.



Obr. 19: Porovnání výsledků dvou nezávislých analýz pro odlišné skupiny látek metodou Sparse PLS-DA. Výsledky zobrazují klastrování jedinců jednotlivých druhů podle různých komponent na základě chemického složení. Graf vlevo vždy zobrazuje výsledky analýzy hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením metodou přímého nástřiku (DI-HRMS). Graf vpravo pak výsledky dvourozměrné komprehensivní plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GCxGC-TOF/MS). Značení jednotlivých druhů viz Obr. 17.

4 Diskuze

V rámci čeledi Eublepharidae najdeme druhy vykazující vysokou variabilitu v TEWL a zároveň druhy obývající různá prostředí, která sahají od tropických vlhkých oblastí až po suché pouště (Hlubeň et al., 2021). Právě tato rozmanitost činí tuto skupinu ideální pro hledání vysvětlení rozdílů v hodnotách TEWL. Jak již bylo zmíněno v předchozích kapitolách, jedním z hlavních podílů na TEWL má CWL, jejíž hodnoty u gekončků silně korelují s hodnotami TEWL (Hlubeň et al., 2021) a hrají na rozdíl od ztrát vody dýcháním významnou roli při adaptivních změnách TEWL na prostředí o rozdílné ariditě (Hlubeň et al., 2021). Již dlouho je předmětem výzkumů, co za těmito rozdíly stojí a jakou roli v této problematice hrají kožní lipidy nebo například šupiny (např. Licht & Bennett, 1972; Maderson et al., 1978; Roberts & Lillywhite, 1980; Weldon & Bagnall, 1987; Sakich et al., 2021). Jelikož výsledky Hlubeň et al. (2021) ukazují, že různá velikost šupin za rozdíly v CWL spíše nestojí, zaměřila jsem se v této diplomové práci na analýzu lipidů v pokožce gekončků, jejich vliv na CWL a potažmo TEWL.

Extrakcí lipidů ze svleček gekončků bylo zjištěno, že průměrné hodnoty procentuálního zastoupení lipidů v dorzální i ventrální části pokožky se pohybují v rozmezí 5 až 12 % (viz Tabulka č. 19 a Příloha č. 2), což je srovnatelné s publikovanými hodnotami od jiných zástupců šupinatých plazů (Roberts & Lillywhite, 1983; Burken et al., 1985; Weldon & Bagnall, 1987; Torri et al., 2014). Pro gekončky byla prozatím publikována jen jediná hodnota týkající se množství kožních lipidů, a to pro druh *E. macularius* (Weldon & Bagnall, 1987). Publikovaná hodnota 10,8 % je téměř dvojnásobná v porovnání s průměrnou hodnotou získanou v této diplomové práci. Tato odchylka může být způsobena několika faktory. Autoři, zdá se, použili svlečku pouze od jednoho jedince, přičemž neuvádějí pohlaví zvířete ani to, zda vzorek zahrnoval část svlečky z oblasti kloaky, kde se nacházejí póry produkující voskovité výměšky u samečů. Pokud by tato oblast byla zahrnuta do vzorku, mohly by výměšky ulpět na svlečce a ovlivnit tak množství extrahovaných lipidů. Dále se metodika extrakce lipidů v předchozím výzkumu mírně lišila, zahrnovala použití různých poměrů chloroformu a methanolu, zahřívání vzorku a odlišnou délku extrakce. Tato zjištění poukazují na možnost, že metodické rozdíly mohou ovlivnit množství extrahovaných lipidů z pokožky. Použitá metoda extrakce lipidů, kdy byl vzorek extrahován po dobu 24 hodin ve směsi chloroformu a methanolu v objemovém poměru 2:1, je v podobně zaměřených studiích běžně využívána a podle Roberts & Lillywhite (1983) je považována za jednu z nejeftivnějších metod pro extrakci lipidů z kůže plazů.

Z výsledků extrakce lipidů je patrné, že i přes patrnou vnitrodruhovou variabilitu, jsou mezi studovanými druhy signifikantní rozdíly v množství lipidů (Obr. 10 a Obr. 11).

Vnitrodruhové rozdíly v množství lipidů mohou odrážet nejen rozdíly ve věku a pohlaví, ale i celou řadu dalších faktorů. Například Agugliaro a Reinert (2005) dokumentují výrazné rozdíly v množství kožních lipidů u chřestýše lesního (*Crotalus horridus*) při porovnávání novorozených (první svlečka) a dospělých jedinců. V této diplomové práci byli použiti pouze dospělí jedinci, ale přesný věk u většiny studovaných jedinců nebyl znám. Rozdíly mezi pohlavími nebyly z důvodu nevyváženého poměru pohlaví u některých druhů v této práci studovány, ale informace o rozdílech v lipidovém složení kůže mezi samci a samicemi není známa ani z dostupné literatury. Nejvýraznějším druhem ve srovnání s ostatními gekončíky je *C. variegatus*, u kterého byla jako jediná překročena průměrná procentuální hodnota množství lipidů 10 % (ventrální strana 12,26 % a dorzální strana 12,48 %).

Souvislost mezi přítomností lipidů v pokožce plazů a její propustností pro vodu, respektive mírou CWL, byla několikrát potvrzena. Tento vztah byl demonstrován pomocí svleček, kdy porovnání CWL *in-vitro* před a po extrakci lipidů ukázalo mnohonásobné zvýšení CWL a zároveň smazání mezidruhových rozdílů pozorovaných před extrakcí (např. Roberts & Lillywhite, 1980, 1983; Burken et al., 1985, Kattan & Lilywhite, 1989). Množství lipidů ve vzorcích pocházejících z ventrální a dorzální strany těla u gekončků spolu dobře koreluje (Obr. 12). Zároveň však byly hodnoty pro dorzální a ventrální množství lipidů do analýz použity odděleně protože i CWL se mezi tělními stranami se u gekončků liší a je nižší na dorzální straně těla (Hlubeň et al. 2021). Nižší CWL z dorzální strany těla bylo zjištěno i u gekonů rodu *Paroedura* (Myslíková, 2020) nebo u leguánka *Sceloporus consobrinus* (Oufiero & Van Sant 2018). Naopak u studovaných zástupců chřestýšovitých se CWL mezi dorzální a ventrální stranou neliší nebo je vyšší na dorzální straně (Miller & Lutterschmidt, 2014). Druhy plazů, včetně gekončků, se liší v hodnotách TEWL, resp. CWL v závislosti na ariditě prostředí, která obývají. U druhů žijících v sušších, tedy aridnějších oblastech, byly pozorovány nižší hodnoty TEWL i CWL, což naznačuje jejich adaptaci na minimalizaci ztrát vody v suchých podmínkách (Mautz, 1982; Cox & Cox, 2015; Hlubeň et al., 2021).

U zástupců čeledi Eublepharidae byla v diplomové práci nalezena negativní korelace mezi ariditou prostředí reprezentovanou indexem Q a obsahem lipidů (Obr. 13). To znamená, že vzorky kůže druhů obývajících sušší prostředí mají tendenci obsahovat vyšší množství lipidů. Tyto výsledky jsou v souladu s předchozími výzkumy, které ukázaly, že pro druhy žijící v aridním prostředí bývá typický vyšší obsah lipidů v kůži (např. Roberts & Lillywhite, 1983; Burken et al., 1985; Torri et al., 2014). Doposud byly objekty zájmu podobných výzkumů hlavně hadi a výsledek této práce tak představuje první informace týkající se ještěřů. Na druhou stranu s těmito výsledky jsou v rozporu Miller & Lutterschmidt (2014), kteří porovnávali CWL

(opět s využitím svleček) a množství lipidů v pokožce u dvou druhů sympatrických ploskolebců rodu *Agkistrodon*, a to terestricky žijícího *A. contortrix* a semiakvaticky žijící druh *A. piscivorus*. Zjistili, že i přes výrazné rozdíly v CWL a vyšší hodnoty u semiakvatického druhu se druhy neliší v množství lipidů. Při bližším porovnání se i u gekončků vyskytují druhy, které mají velmi podobné množství kožních lipidů, ale žijí v prostředí s naprosto rozdílnou ariditou a liší se i v hodnotách TEWL a CWL. To naznačuje, že klíčovým faktorem pro adaptace nemusí být pouze kvantitativní obsah lipidů, ale že tato problematika je mnohem komplexnější. Druhy se mohou mezi sebou lišit nejen množstvím a lipidovou skladbou pokožky, ale také strukturou a uspořádáním lipidů v kůži (Torri et al. 2014). Tato variabilita v lipidové struktuře může mít přímý vliv na propustnost pokožky pro vodu, tedy na TEWL.

Díky datům Hlubeně et al. (2021) bylo možné prozkoumat, jak množství lipidů v dorzální a ventrální části těla, spolu s velikostí těla reprezentovanou hmotností, přispívá k variabilitě v TEWL u gekončků žijících v různých prostředích. Lipidy se ukázaly jako důležitý faktor hrající roli ve variabilitě TEWL, kdy na základě získaných výsledků nejlépe vysvětluje rozdíly v TEWL mezi gekončiky. Dorsální lipidy jsou také dobrým prediktorem, avšak ventrální lipidy se zdají mít větší vliv a vysvětlující téměř 47% variability v TEWL. Nicméně, patrně díky chybějícím datům, se už nepodařilo prokázat vztah přímo mezi obsahem lipidů a CWL. CWL u gekončků silně pozitivně koreluje s TEWL a zdá se být zásadní pro pozorované rozdíly v TEWL (Hlubeně et al. 2021). V analýze chyběl druh *C. variegatus*, pro kterého kvůli malé velikosti těla nejsou z technických důvodů data o CWL dostupná. Jak již bylo zmíněno výše, *C. variegatus* však svými hodnotami poměrně vybočuje oproti ostatním druhům, a proto by mohlo být zajímavé najít způsob, jak ho do analýzy zahrnout či blíže prozkoumat jeho lipidové složení. Negativní vztah mezi CWL a množstvím lipidů, který dokumentují různé studie jak na mezidruhové, tak na vnitrodruhové úrovni (Roberts & Lilywhite, 1980; Kattan & Lillywhite, 1989; Weldon & Bagnal, 1987; Agugliaro & Reinert, 2005), je studován *in-vitro* na základě studia propustnosti kůže díky využití svleček. Oproti tomu, data o CWL u gekončků použitá v této práci byla získána přímo měřením živých zvířat za použití přístroje Tewameter (viz Hlubeně et al., 2021).

Jedním z původních cílů této diplomové práce bylo změřit přímo permeabilitu pokožky pro vodu u svleček gekončků, což se ale kvůli technickým problémům nezdařilo. Většina dosavadních studií se zaměřovala především na hady nebo větší ještěry, jejichž pokožka se může v mnoha ohledech výrazně lišit od pokožky menších ještěrů, jako jsou gekončci. Tyto rozdíly se projevují jak ve struktuře, tak například v typu šupin či obsahu lipidů (Weldon & Bagnall, 1986). Svlečka gekončků se ukázala být velmi křehká a jemná, což vedlo k jejímu

poškození již na počátku experimentu, a tím bylo znemožněno pokračování měření. Pro budoucí výzkum by bylo vhodné se zaměřit buď na větší druhy ještěřů, zejména na skupiny obývající širokou škálu prostředí a lišící se v TEWL, ale zároveň s pokožkou lépe přizpůsobenou experimentálním podmínkám, nebo na úpravu metodiky tak, aby bylo možné provádět experimenty i u druhů s jemnější pokožkou.

Kromě zjištění rozdílů v množství lipidů byla provedena také kvalitativní analýza extrahovaných lipidů. Jedná se o prvotní náhled do této problematiky a do budoucna bude vyžadovat detailnější analýzu, která je nad rámec možností této práce. Do této části diplomové práce bylo zahrnuto 6 druhů, konkrétně: *E. macularius*, *H. caudinctus* a *C. variegatus* jako zástupci druhů žijících v aridním prostředí (Q v rozmezí 4,12–68,22) a *A. felinus*, *G. sengokui* a *C. mitratus* z vlhkých oblastí (Q v rozmezí 241,52–461,92). V rámci této analýzy, která zahrnovala mimo kvalitativní části také tu kvantitativní, byly nejprve pomocí metody DI-HRMS detekovány fosfolipidy a triacylglyceroly, což jsou látky, které byly již v minulosti v kůži plazů detekovány (Weldon & Bagnall, 1986). Studované druhy gekončků se mezi sebou liší jak množstvím, tak i konkrétními látkami (Obr. 14 – 16). Některé typy fosfatidylcholinů a fosfatidylethanolaminů jsou výrazněji přítomné u některých druhů, zatímco u jiných chybí. Ze získaných výsledků se nezdá, že by v rámci detekovaných látek existovala nějaká, která by byla více zastoupena v jednom typu prostředí nebo byla pro jeden typ prostředí typická.

Na základě poměrů nasycených a nenasycených mastných kyselin se jeví, že by mohl existovat určitý trend v souvislosti s ariditou prostředí. Konkrétně na základě těchto poměrů v rámci fosfatidylcholinů vykazují skupiny žijící v prostředí s odlišnou ariditou statisticky významný rozdíl. Zdá se, že druhy žijící v suchých oblastech mají vyšší obsah nasycených mastných kyselin. Pro tuto analýzu však byly zahrnuty pouze dva vzorky pro *H. caudinctus*, proto lze výsledek považovat statisticky spíše za hraniční. Pro potvrzení nebo vyvrácení tohoto závěru jsou zapotřebí další analýzy. Na rozdílné procentuální zastoupení nasycených a nenasycených mastných kyselin mezi druhy poukazuje také studie Chunfu et al. (2019).

Metodou GCxGC-TOF/MS pak byly detekovány látky jako jsou volné mastné kyseliny, cholesterol či např. glycerol. Tyto látky byly detekovány i v rámci dalších studií, které se zaměřovaly především na hady (např. Torri et al., 2014; Goldberg et al., 2017; Chunfu et al., 2019, Torri et al., 2020), ale například cholesterol a jeho deriváty byly detekovány u ještěra vysoce adaptovaného na pouštní prostředí korovce jedovatého (*Heloderma suspectum*) (Torri et al., 2020). V rámci této diplomové práce byly zmíněné látky přítomné u všech zkoumaných druhů (viz Tabulka č. 21), což přináší mírně odlišné výsledky oproti studii prováděné na hadech

(Andonov et al., 2023), ve které byl cholesterol detekován pouze v některých vzorcích. Bylo zjištěno, že cholesterol a jeho deriváty vykazují omezenou propustnost pro vodu a mohou se podílet na stabilizaci a zhutňování lipidové vrstvy (Roberts & Lillywhite, 1980; Torri et al., 2020; Andonov et al., 2023). Ve zmíněných studiích jsou často zmiňovány také deriváty cholesterolu, které nebyly v této práci identifikovány. To však nutně neznamená, že nebyly přítomny, ale spíše že jejich identifikace byla limitována metodikou. Detekované mastné kyseliny byly u všech vzorků převážně nasycené a s delším uhlíkatým řetězcem, což odpovídá výsledkům studie Torri et al. (2014) u hadů z různých oblastí. Naopak Chunfu et al. (2019) detekovali ve vzorcích kůže zejména polynenasycené mastné kyseliny.

Na základě vícerozměrné statistické analýzy výsledků získaných metodami DI-HRMS i GCxGC-TOF/MS bylo prokázáno, že mezi zkoumanými druhy existují značné rozdíly. Výsledky obou analýz ukazují, že jedinci klastrují do skupin odpovídající příslušným druhům (viz Obr. 17-19). Lze tedy říci, že dvě na sobě nezávislé analýzy, které detekovaly různé typy látek, dospěly k velice podobným závěrům. Výsledky rovněž ukazují, že některé druhy vykazují výrazné odchylky od ostatních i od sebe navzájem – jedná se zejména o druhy *A. felinus* a *C. variegatus* (viz Obr. 17 – 19). Statistická analýza výsledků GCxGC-TOF/MS a DI-HRMS však neodhalila žádný trend související s typem obývaného habitatu či fylogenetickými vztahy.

Limitací, zejména statistického zpracování této části diplomové práce, je nízký počet vzorků (pouze 3 jedinci na druh), což je z hlediska statistiky spíše limitní. Do budoucích studií by proto bylo vhodné zahrnout větší počet vzorků. Další limitací je neúplná znalost struktury analyzovaných látek. U fosfatidylcholinů a fosfatidylethanolaminů experiment umožňoval charakterizaci připojené mastné kyseliny pouze na základě počtu uhlíků a dvojných vazeb ve struktuře, bez možnosti určení jejich přesné polohy v řetězci nebo prostorové konfigurace. Například kyselinu C16:1 nelze identifikovat jako kyselinu palmitoolejovou, ale pouze jako kyselinu hexadekenovou. Triacylglyceroly byly identifikovány a kvantifikovány pouze jako součet uhlíků a dvojných vazeb všech tří kyselin, přičemž metoda určovala pouze nejpravděpodobnější kombinaci mastných kyselin, bez přesného určení jejich polohy na glycerolu.

Studie Torri et al. (2014) zabývající se porovnáním lipidového složení svleček čtyř druhů hadů žijících v různých prostředích dospěla k závěru, že pro omezení ztrát vody je důležité nejen množství lipidů v kůži, ale také znalost konkrétní struktury lipidů a jejich uspořádání. Struktura a vrstvy lipidů totiž mohou ovlivňovat průtok vody. Tyto závěry

potvrzuje i studie (Andonov et al., 2023), která zdůrazňuje význam nejen množství a složení lipidů a konkrétní struktury, ale i kombinace látek.

Zdá se také, že do budoucna by mohlo být přínosné více prozkoumat roli šupin v TEWL, respektive CWL. Ačkoli se u gekončků zdá, že velikost šupin nehraje významnou roli v rozdílech TEWL či CWL, otázka vlivu šupin na regulaci TEWL zůstává nejednoznačná. Studie zkoumající vztah mezi velikostí šupin a ariditou prostředí často přinášejí protichůdné výsledky (Malhotra & Thorpe, 1997; Calsbeek et al., 2006; Wegener et al., 2014; Oufiero et al., 2011). Role šupin v regulaci CWL byla také zpochybněna studiemi, které jednak poukazují na výrazné zvýšení permeability pokožky po extrakci lipidů (např. Roberts & Lillywhite, 1980, 1983; Burken et al., 1985, Kattan & Lillywhite, 1989), tak výsledky výzkumů měřících TEWL u dvou druhů hadů, které ukázaly srovnatelné hodnoty TEWL u jedinců se šupinami i bez šupin (Licht & Bennett, 1972; Bennett & Licht, 1975). Nedávná studie na druhu agama vousatá (Sakich et al., 2021) však ukázala, že jedinci formy *silckback*, kteří jsou bez šupin, ztrácejí téměř dvakrát více vody než jedinci se šupinami a upozorňují, že hojně citované výsledky získané porovnáním šupinatých a bezšupinatých hadů mohou být výrazně zkresleny malým počtem studovaných jedinců (jeden v práci Licht & Bennett 1972; dva ve studii Bennet & Licht, 1975). Příklad agamy vousaté naznačuje, že kromě studia lipidů se můžeme v dalším výzkumu zaměřit právě i na šupiny, zejména pak na jejich tloušťku, ultrastrukturu nebo další vlastnosti. Pro hlubší pochopení role šupin v CWL je potřeba více studií prováděných na jedincích bez šupin, ideálně druhů z různých typů prostředí. Jednou z možností jak toho dosáhnout by mohlo být cílené vytvoření těchto morfotypů skrze metodu CRISPR-Cas9 (Rasys et al., 2019; Sakich et al., 2021).

5 Závěr

Hlavním cílem této diplomové práce bylo komplexně analyzovat a shrnout význam obsahu lipidů v pokožce gekonů čeledi Eublepharidae ve vztahu k CWL, potažmo TEWL v souvislosti s jejich adaptací na různé typy prostředí. Dalším cílem práce bylo zjistit, jak se liší lipidové složení pokožky nejen kvantitativně, ale také kvalitativně mezi druhy žijícími v jednotlivých typech prostředí.

V rámci této diplomové práce byl kvantifikován lipidový obsah vzorků pocházejících z ventrálních i dorzálních částí pokožky gekončků. Výsledky ukázaly, že množství dorzálních a ventrálních lipidů spolu dobře koreluje. V rámci jednotlivých druhů je množství lipidů mezi jedinci variabilní, ale napříč druhy se statisticky významně liší. Po zahrnutí vlivu fylogeneze byla potvrzena negativní korelace mezi množstvím dorzálních i ventrálních lipidů a typem prostředí reprezentovaným Q. Model s ventrálními lipidy se jeví jako nejlepší model pro vysvětlení rozdílů v TEWL. Co se na základě našich výsledků nepotvrdilo, je korelace CWL a množství ventrálních či dorzálních lipidů. Kvalitativní část diplomové práce, zaměřená na identifikaci konkrétních látek lipidového charakteru ve vzorcích, ukázala výrazné rozdíly mezi jednotlivými druhy – a to jak v konkrétních detekovaných látkách, tak i v jejich množství. Nebyla však zjištěna souvislost mezi složením lipidů a typem prostředí, přičemž ani blízké příbuzné druhy nemají podobné složení lipidů.

Ze závěrů této práce a poznatků z dostupné literatury je zřejmé, že rozdíly v hodnotách CWL nelze vysvětlit pouze množstvím lipidů, jejich typy či přítomností konkrétních látek. Klíčovou roli pravděpodobně sehrává také konkrétní struktura lipidů a jejich vzájemné uspořádání. Přestože lipidová složka bývá často středem zájmu, je nezbytné zohlednit i další aspekty, jako jsou vlastnosti šupin nebo samotná tloušťka kůže. Tyto faktory mohou vysvětlit některé odlišnosti, jež nebyly v této práci jednoznačně objasněny. Zatímco variabilita lipidů mezi jedinci téhož druhu naznačuje individuální rozdíly, signifikantní rozdíly mezi druhy ukazují na specifické adaptační strategie každého druhu. Na základě těchto výsledků můžeme usuzovat, že lipidové složení kůže je důležitým faktorem, který hraje roli v přizpůsobení se jedinců na konkrétní podmínky prostředí.

Tato zjištění mohou poskytnout cenné podněty pro budoucí výzkumy zaměřené na ekologické a fyziologické adaptace gekonů i dalších plazů na jejich prostředí. Pochopení těchto adaptací je nezbytné například pro predikci reakcí druhů na změny klimatu, ztrátu přirozených stanovišť či jiné stresory. Tato diplomová práce přispívá k rozšíření znalostí o mechanismech ovlivňujících ztrátu vody výparem u plazů. Výsledky této práce mohou podpořit cílenější a

efektivnější ochranu těchto živočichů a jejich přirozených stanovišť, což je zvláště důležité v kontextu globálních environmentálních změn a rostoucích hrozeb pro biodiverzitu.

6 Přehled literatury a použitých zdrojů

Abdel–Aal, H. A., Vargiolu, R., Zahouani, H., & Mansori, M. E. (2011a). A study on the frictional response of reptilian shed skin. *Journal of Physics: Conference Series*, 311, 012016.

Abdel–Aal, H. A., Nasori, M. E., & Gebeshuber, I. C. (2011b). Reptilian skin as a biomimetic analogue for design of deterministic tribosurfaces. In: Gruber, P., Bruckner, D., Hellmich, C., Schmiedmayer, HB., Stachelberger, H., Gebeshuber, I. (eds) *Biomimetics – Materials, Structures and Processes. Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering. Springer, Berlin, Heidelberg.*

Agugliaro, J., & Reinert, H. K. (2005). Comparative skin permeability of neonatal and adult timber rattlesnakes (*Crotalus horridus*). *Journal of Herpetology*, 39, 618-621.

Akat, E., Özpolat, E., & Yılmaz, S. (2022). Comparison of vertebrate skin structure at class level: A review. *Journal of Morphological Sciences*, 39, 203-215.

Alibardi, L. (2003). Adaptation to the land: The skin of reptiles in comparison to that of amphibians and endotherm amniotes. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 298B, 12-41.

Anderson, S.C. (1999). *The Lizards of Iran*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Oxford, Ohio.

Andonov, K., Dyugmedzhiev, A., Lukanov, S., Vacheva, E., Duhalov, D., Nedeltcheva-Antonova, D., Gechovska, K., & Naumov, B. (2023). Chemical Map of Skin Secretions in Old-World Snakes. *Toxicon*, 222, 36-46.

Araya–Donoso, R., Lamborot, M., San Juan, E., Tamburrino, Í., & Véliz, D. (2021). Integrating genetics, physiology and morphology to study desert adaptation in a lizard species. *Journal of Experimental Zoology*, 334(5), 421-434.

Asres, A., & Amha, N. (2014). Physiological adaptation of animals to the change of environment: A review *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(1), 1-7.

- Belasen, A., Brock, K., Li, B., Chremou, D., Valakos, E., Pafilis, P., Sinervo, B., & Foufopoulos, J. (2017). Fine with heat, problems with water: Microclimate alters water loss in a thermally adapted insular lizard. *Oikos*, 126(4), 447–457
- Bennett, A. F., & Licht, P. (1975). Evaporative water loss in scaleless snakes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 52, 213-215.
- Bentley, P. J., & Schmidt–Nielsen, K. (1966). Cutaneous water loss in reptiles. *Science*, 151, 1547-1549.
- Borůvka, T. *Test hypotéz s využitím programu MS EXCEL*. Pardubice, 2010. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice, Fakulta Ekonomicko – správní.
- Bradshaw, S. D. (1997). Homeostasis in desert reptiles. *Springer Science & Business Media*.
- Braun, E. J. (1998). Comparative renal function in reptiles, birds, and mammals. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 7(2), 62-71.
- Burken, R. R., Wertz, P. W., & Downing, D. T. (1985). A survey of polar and nonpolar lipids extracted from snake skin. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 63, 115-121.
- Calsbeek, R., Knouft, J. H., & Smith, T. B. (2006). Variation in scale numbers is consistent with ecologically based natural selection acting within and between lizard species. *Evolutionary Ecology*, 20, 377-394.
- Careau, V., Thomas, D., Humphries, M. M., & Réale, D. (2007). Energy metabolism and animal personality. *Oikos*, 116, 785-791.
- Cavanaugh, J. E. (1997). Unifying the derivations for the Akaike and corrected Akaike information criteria. *Statistics & Probability Letters*, 33(2), 201–208.

Champagne, A. M., Muñoz-Garcia, A., Shtayyeh, T., Tieleman, B. I., Hegemann, A., Clement, M. E., & Williams, J. B. (2012). Lipid composition of the stratum corneum and cutaneous water loss in birds along an aridity gradient. *Journal of Experimental Biology*, 215, 4299-4307.

Chunfu, H., Yang, X., & Liu, Y. (2019). A comprehensive and comparative analysis of liposoluble constituents in sloughs of five different species of snakes by GC-MS. *Journal of Chromatography B*, 1124, 1-10.

Costa, G. (1995). Behavioral adaptations of desert animals. *Springer, Berlin*.

Cox, C. L., & Cox, R. M. (2015). Evolutionary shifts in habitat aridity predict evaporative water loss across squamate reptiles. *Evolution*, 69, 2507–2516.

Dantzler, W. H., & Bradshaw, S. D. (2008). Osmotic and Ionic Regulation in Reptiles. *CRC Press*.

Davis, J. R., & DeNardo, D. F. (2007). The urinary bladder as a physiological reservoir that moderates dehydration in a large desert lizard, the Gila monster *Heloderma suspectum*. *The Journal of Experimental Biology* 210, 1472-1480 .

Dawson, W. R. (1982). Evaporative losses of water by birds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 71, 495–509.

Dmi'el, R. (2001). Skin resistance to evaporative water loss in reptiles: A physiological adaptive mechanism to environmental stress or a phyletically dictated trait. *Israel Journal of Zoology*, 47, 55-67.

Dupoué, A., Rutschmann, A., Le Galliard, J. F., Miles, D. B., Clobert, J., DeNardo, D. F., Bruschi, G. A., & Meylan, S. (2017). Water availability and environmental temperature correlate with geographic variation in water balance in common lizards. *Oecologia*, 185, 561–571.

Duvdevani, I., & Borut, A. (1974). Oxygen consumption and evaporative water loss in four species of *Acanthodactylus* (Lacertidae). *Copeia*, 1974, 155–164.

- Ewald, J.D., Zhou, G., Lu, Y., Kolic, J., Ellis, C., Johnson, J.D., Macdonald, P.E. & Xia, J. (2024). Web-based multi-omics integration using the Analyst software suite. *Nature Protocols*, 19, pp. 1467-1497.
- Fuller, P. O., Higham, T. E., & Clark, A. J. (2011). Posture, speed, and habitat structure: three-dimensional hindlimb kinematics of two species of padless geckos. *Zoology*, 114, 226-237.
- Gao, J., Li, X., Chen, H., Wei, Y., Zhang, G., Zhang, B., ... & Li, J. (2022). Draft genome of the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *GigaScience*, 11, 1-12.
- Gray, J. (1928). The role of water in the evolution of the terrestrial vertebrates. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 216, 125-158.
- Grismer, L. L. (1988). Phylogeny, taxonomy, classification, and biogeography of eublepharid geckos. In R. Estes & G. Pregill (Eds.), *Phylogenetic Relationships of the Lizard Families* 369-469.
- Grismer L. L., Viets, B. E., & Boyle, L. R. (1999) - Two new continental species of *Goniurosaurus* (Squamata: Eublepharidae) with a phylogeny and evolutionary classification of the genus. *Journal of Herpetology* 33: 382-393.
- Haim, A., & Izhaki, I. (1993). The ecological significance of resting metabolic rate and non-shivering thermogenesis for rodents. *Journal of Thermal Biology*, 18, 71-81
- Heatwole, H., & Taylor, J. (1987). *Ecology of reptiles*. Surrey Beatty & Sons.
- Hlubeň, M., Kratochvíl, L., Gvoždík, L., & Starostová, Z. (2021). Ontogeny, phylogeny and mechanisms of adaptive changes in evaporative water loss in geckos. *Journal of Evolutionary Biology*, 34, 1290-1301.
- Honda, M., & Ota, H. (2017). On the live coloration and partial mitochondrial DNA sequences in the topotypic population of *Goniurosaurus kuroiwaie orientalis* (Squamata: Eublepharidae), with description of a new subspecies from Tokashikijima Island, Ryukyu Archipelago, Japan. *Zoological Science*, 34(6), 571-579.

Horton, D. R. (1972). Lizard scales and adaptation. *Systematic Zoology*, 21, 441-443.

Junquiera, L. C. U., Malnig, G., & Mongec, L. (1966). Reabsorptive function of the ophidian cloaca and large intestine. *Physiological Zoology*, 39(2), 151-159

Jonniaux, P., Kumazawa, Y., 2008. Molecular phylogenetic and dating analyses using mitochondrial DNA sequences of eyelid geckos (Squamata: Eublepharidae). *Gene* 407, 105–115.

Karamiani, R. (2023). Systematics and distribution of the Leopard Geckos *Eublepharis* Gray, 1827 (Sauria, Eublepharidae): A review. *Iranian Journal of Animal Biosystematics (IJAB)*, 19, 33-45.

Kattan, G. H., & Lillywhite, H. B. (1989). Humidity acclimation and skin permeability in the lizard *Anolis carolinensis*. *Department of Zoology, University of Florida*.

Khan, H. A., Arif, I. A., Williams, J. B., Champagne, A. M., & Shobrak, M. (2013). Skin lipids from Saudi Arabian birds. *Journal of Arid Environments*, 92, 82-89.

Kratochvíl, L., & Frynta, D. (2002). Body size, male combat, and the evolution of sexual dimorphism in eublepharid geckos (Squamata: Eublepharidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 76, 303–314.

Lê Cao, K. A., Boitard, S., & Besse, P. (2011). Sparse PLS discriminant analysis: Biologically relevant feature selection and graphical displays for multiclass problems. *BMC Bioinformatics*, 12, 253.

Le Galliard, J.-F., Chabaud C., de Andrade D. O. V., Brischoux F., Carretero M. A., Dupoué A., Gavira R. S. B., Lourdais O., Sannolo M., & Van Dooren T. J.M. (2021). A worldwide and annotated database of evaporative water loss rates in squamate reptiles. *Global Ecology and Biogeography*, 30, 1938–1950.

- Liang, B., Zhou, R. B., Liu, Y. L., Chen, B., Grismer, L. L., & Wang, N. (2018). Renewed classification within *Goniurosaurus* (Squamata: Eublepharidae) uncovers the dual roles of a continental island (Hainan) in species evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 127, 646–654
- Licht, P., & Bennett, A. F. (1972). A scaleless snake: Tests of the role of reptilian scales in water loss and heat transfer. *Copeia*, 1972(4), 702-707.
- Lillywhite, H. B., & Maderson, P. F. A. (1982). The Structure and Permeability of the Epidermis in Reptiles. *Journal of Morphology*, 172(3), 299-326.
- Lillywhite, H. B. (2006). Water relations of tetrapod integument. A Review. *The Journal of Experimental Biology*, 209, 202-226
- Loughran, C. L., & Wolf, B. O. (2023). Evaporative cooling via panting and its metabolic and water balance costs for lizards in the American Southwest. *Journal of Experimental Biology*, 226.
- Maderson, P. F. A., Alibardi, L., & Licht, P. (1978). Cutaneous resistance to evaporative water loss in lepidosaurs. *Journal of Experimental Biology*.
- Malhotra, A., & Thorpe, R. S. (1997). Microgeographic variation in scalation of *Anolis oculatus* (Dominica, West Indies): A multivariate analysis. *Herpetologica*, 53, 49–62.
- Mautz, W. J. (1982). Correlation of both respiratory and cutaneous water losses of lizard with habitat aridity. *Journal of Comparative Physiology B*, 149, 25-30.
- McNab, B. K. (1968). The influence of fat deposits on the basal rate of metabolism in desert homoiotherms. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 26, 337–343.
- Miller, M. A., & Lutterschmidt, W. I. (2014). Cutaneous Water Loss and Epidermal Lipids in Two Sympatric and Congeneric Pitvipers. *Journal of Herpetology*, 48, 213-220.

Muñoz-García, A., & Williams, J. B. (2005). Cutaneous water loss and lipids of the stratum corneum in house sparrows (*Passer domesticus*) from arid and mesic environments. *Journal of Experimental Biology*, 208(22), 4357-4364.

Myslíková, Tereza. *Ztráty vody výparem u gekonů rodu Paroedura*. Praha, 2020. Diplomová práce. Karlova univerzita, Přírodovědecká fakulta.

Neijat, M., Zacek, P., Picklo, M.J., & House, J.D. (2020). Lipidomic characterization of omega-3 polyunsaturated fatty acids in phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine species of egg yolk lipid derived from hens fed flaxseed oil and marine algal biomass. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 161, 102178.

Ngo, H. N., Nguyen, T. Q., Phan, T. Q., van Schingen, M., & Ziegler, T. (2019). A case study on trade in threatened tiger geckos (*Goniurosaurus*) in Vietnam including updated information on the abundance of the endangered *G. catbaensis*. *Nature Conservation*, 33, 1–19.

Ngo, H. N., Nguyen, H. Q., Phan, T. Q., Tran, H. M., Nguyen, T. Q., Ziegler, T., & Rödder, D. (2021). Vulnerability of an endemic Tiger Gecko (*Goniurosaurus huuliensis*) to climate change: Modeling environmental refugia and implications for in-situ conservation.

Ngo, H. N., Nguyen, H. Q., Tien, P. Q., & Tran, H. M. (2023). Ecological niche overlap of two allopatric karst-adapted tiger geckos (*Goniurosaurus*) from northern Vietnam: microhabitat use and implications for conservation. *Herpetological Conservation and Biology*, 18, 112-128.

Ni, Z., Angelidou, G., Lange, M., Hoffmann, R., & Fedorova, M. (2017). LipidHunter identifies phospholipids by high-throughput processing of LC-MS and shotgun lipidomics datasets. *Analytical Chemistry*, 89, pp. 8800-8807.

Ota, H., Honda, M., Kobayashi, M., Sengoku, S., Hikida, T. (1999). Phylogenetic relationships of eublepharid geckos (Reptilia: Squamata): a molecular approach. *Zoological Science* 16, 659–666.

Oufiero, C. E., Gartner, G. E. A., Adolph, S. C., & Garland, T. Jr. (2011). Latitudinal and climatic variation in body and cell size of *Sceloporus* lizards: A test of the temperature-size rule and the role of Niche conservatism. *Biological Journal of the Linnean Society*, *102*, 593-610.

Oufiero, C. E., & Van Sant, M. J. (2018). Variation and repeatability of cutaneous water loss and skin resistance in relation to temperature and diel variation in the lizard *Sceloporus consobrinus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, *224*, 42-49.

Palgi, N., & Haim, A. (2003). Thermoregulatory and osmoregulatory responses to dehydration in the bushy-tailed gerbil (*Sekeetamys calurus*). *Journal of Arid Environments*, *55*, 727–736.

Patel, D. D., & Witt, S. N. (2017). Ethanolamine and phosphatidylethanolamine: partners in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1862*, 942-950.

Pianka, E. R. 1967. On lizard species diversity: North American flatland deserts. *Ecology* *48*:333–351.

Pirtle, E. I., Tracy, C. R., & Kearney, M. R. (2019). Hydroregulation. In V.

Price, E. R. (2017). The physiology of lipid storage and use in reptiles. *Biological Reviews*, *92*, 1406-1426.

Radner, F. P. W., & Fischer, J. (2014). The important role of epidermal triacylglycerol metabolism for maintenance of the skin permeability barrier function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1841*, 409-420.

Rasys, A. M., Park, S., Ball, R. E., Alcalá, A. J., Lauderdale, J. D., & Menke, D. B. (2019). CRISPR-Cas9 gene editing in lizards through microinjection of unfertilized oocytes. *Cell*, *176*(4), 1074-1084.

Rawat, S., Shrestha, T. K., & Rai, R. (2019). First Records of the Common Leopard Gecko, *Eublepharis macularius*(Blyth, 1854) (Eublepharidae), in Nepal. *Herpetology Notes*, *12*, 109-114.

Ridgway, N. D. (2012). Chapter 7 - Phospholipid synthesis in mammalian cells. In *Lipid Metabolism in Health and Disease*. Elsevier, 21-142.

Roberts, J. B., & Lillywhite, H. B. (1980). Lipid barrier to water exchange in reptile epidermis. *Science*, 207, 1077-1079.

Roberts, J. B., & Lillywhite, H. B. (1983). Lipids and the permeability of epidermis from snakes. *Comparative Physiology and Biochemistry*, 228, 1-9.

Rutland, C. S., Cigler, P., & Kubale, V. (2019). Reptilian skin and its special histological structures. *Journal of Anatomy*, 235, 37-58.

Sakich, N. B., & Tattersall, G. J. (2021). Bearded dragons (*Pogona vitticeps*) with reduced scalation lose water faster but do not have substantially different thermal preferences." *Journal of Experimental Biology*, 224, jeb234427..

Schmidt-Nielsen, K. (1964). Desert animals: physiological problems of heat and water. Clarendon Press, Oxford.

Schmidt-Nielsen, K., Hainsworth, F. R., & Murrish, D. E. (1970). Countercurrent heat exchange in the respiratory passages: Effects on water and heat balance. *Respiration Physiology*, 9(3), 263-276.

Schmidt-Nielsen, K. (1972). Recent advances in the comparative physiology of desert animals. In G. M. O. Maloiy (Ed.), *Comparative physiology of desert animals*. Academic Press, London, 371-382.

Schmidt-Nielsen, K. (1977). The physiology of wild animals. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 199, 89–106.

Schmidt-Nielsen, K. (1997). Water and osmotic regulation. In *Animal Physiology* (5th ed., pp. 315-336). New York, USA: Cambridge University Press.

- Schwarz, R., Stark, G., Levin, E., Chapple, D. G., & Meiri, S. (2023). Ecophysiological trait variation in desert versus Mediterranean populations of a gecko. *Journal of Zoology*, *321*, 260-277.
- Schwimmer, H., & Haim, A. (2009). Physiological adaptations of small mammals to desert ecosystems. *Integrative Zoology*, *4*(4), 357–366.
- Seufer, H., Kaverkin, Y., & Kirschner, A. (2005). *The Eyelash Geckos: Care, Breeding and Natural History*. Kirschner & Seufer Verlag.
- Shanas, U., & Haim, A. (2004). Diet salinity and vasopressin as reproduction modulators in the desert-dwelling golden spiny mouse (*Acomys russatus*). *Physiology & Behavior*, *81*, 645–650.
- Soulé, M., & Kerfoot, W. C. (1972). On the climatic determination of scale size in a lizard. *Systematic Zoology*, *21*, 97-105.
- Starostová, Z., Kratochvíl, L., & Frynta, D. (2005). Dwarf and Giant Geckos from the Cellular Perspective: The Bigger the Animal, the Bigger Its Erythrocytes? *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, *337*, 564-575.
- Tieleman, B. I. and Williams, J. B. (2002). Cutaneous and respiratory water loss in larks from arid and mesic environments. *Physiol. Biochem. Zool.* *75*, 590-599.
- Tieleman, B. I., Williams, J. B., & Bloomer, P. (2003). Adaptation of metabolism and evaporative water loss along an aridity gradient. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, *270*, 207–214.
- Torri, C., Mangoni, A., Teta, R., Fattorusso, E., Alibardi, L., Fermani, S., Bonacini, I., Gazzano, M., Burghammer, M., Fabbri, D., & Falini, G. (2014). Skin lipid structure controls water permeability in snake molts. *Journal of Experimental Biology*, *217*, 3792-3801.
- Torri, C., Falini, G., Montroni, D., Fermani, S., Teta, R., Mangoni, A., & Alibardi, L. (2020). Cholesterol derivatives make large part of the lipids from epidermal molts of the desert-adapted Gila monster lizard (*Heloderma suspectum*). *Scientific Reports*, *10*, 17197.

Uetz, P., Freed, P., Aguilar, R., Reyes, F., Kudera, J. & Hošek, J. (eds.) (2024) The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org>, accessed [2024].

Ullénbruch, K., Wiemann, H., & Fickel, J. (2010). Reptiles from southern Benin, West Africa, with the description of a new *Hemidactylus* (Gekkonidae), and a country-wide checklist. *Zootaxa*, 2355, 1-30.

Vance, D. E., & Vance, J. E. (Eds.). (2008). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes* (5th ed.). Elsevier.

Vance, J. E., & Tasseva, G. (2013). Formation and function of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells. *Biochemical Society Transactions*, 41, 121-127.

van der Veen, J. N., Gonzalez, J., & Vance, J. E. (2017). The critical role of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1862, 11-24.

Van Sant, M. J., Oufiero, C. E., Muñoz-Gracia, A., Hammond, K. A., & Williams, J. B. (2012). A phylogenetic approach to total evaporative loss in mammals. *Physiological and Biochemical Zoology*, 85, 526–532.

Vickaryous, M. K., & Gilbert, E. A. B. (2019). Reptile embryology and regeneration. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1920, pp. 219-246). Springer.

Walsberg, G. E. (2000). Small mammals in hot deserts: some generalizations revisited. *BioScience*, 50, 109-120.

Watt, M. J., & Steinberg, G. R. (2008). Regulation and function of triacylglycerol lipases in cellular metabolism. *Journal of Lipid Research*, 49, 1234-1246.

Weaver, S. J., Edwards, H., McIntyre, T., Temple, S. M., Alexander, Q., Behrens, M. C., Biedebach, R. E., Budwal, S. S., Carlson, J. E., ...& Taylor, E. N. (2022). Cutaneous evaporative water loss in lizards is variable across body regions and plastic in response to humidity. *Herpetologica*, 78(3), 169–183.

Wegener, J. E., Gartner, G. E. A., Losos, J. B., & Glor, R. E. (2014). Lizard scales in an adaptive radiation: Variation in scale number follows climatic and structural habitat diversity in Anolis lizards. *Biological Journal of the Linnean Society*, 113, 570-579.

Weidler, J. M., & Lutterschmidt, W. I. (2021). Nature or Nurture: Can Prey-Based Diets Influence Species-Specific Physiological Performance Traits of Epidermal Lipid Content and Cutaneous Water Loss? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 252, 110565.

Weldon, P. J., & Bagnall, D. (1987). Survey of polar and nonpolar skin lipids from lizards by thin-layer chromatography. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 87, 345-349.

Weldon, P. J., Demeter, B. J., & Roscoe, R. (1993). A survey of shed skin-eating (dermatophagy) in amphibians and reptiles. *Journal of Herpetology*, 27, 219-228.

Williams, J. B. and Tieleman, B. I. (2005). Physiological adaptation in desert birds. *Bioscience* 55, 416-426.

Wise, P. A. D., Vickaryous, M. K., & Russell, A. P. (2009). An embryonic staging table for *in ovo* development of *Eublepharis macularius*, the Leopard Gecko. *The anatomical record*, 292, 1198 – 1212.

Woods, H. A., & Smith, J. N. (2010). Universal model for water costs of gas exchange by animals and plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 107, 8469–8474.

7 Přílohy

Příloha 1

Kompletní metodika kvalitativní části

Metodika byla sepsána ve spolupráci s RNDr. Petrem Žáčkem, Ph.D. (BIOCEV), který analýzy provedl v rámci servisní služby.

Den 1

Odebrané ventrální části svleček vybraných druhů byly v lahvičkách převezeny na ledu do laboratoře OMICS Servisní oddělení hmotnostní spektrometrie v BIOCEVu. Byla sundána víčka a v téže lahvičce byly svlečky sušeny ve vakuové vývěvě po dobu dvou hodin za laboratorní teploty. Mezitím byla připravena extrakční směs chloroformu a methanolu v objemovém poměru 2:1. Směs byla řádně protřepána. Po usušení byly svlečky vyjmuty a byly z nich nastříhány vzorky o přibližné velikosti 1,2 x 3,8 cm podle velikostního standardu. Takto připravené vzorky byly vloženy do 10ml vialek se šroubovacím víčkem s teflonovým těsněním. Pomocí pipety byly přidány 3 ml připraveného extrakčního roztoku tak, aby byl každý vzorek plně ponořen. Dále byly připraveny také dva kontrolní roztoky (pouze extrakční směs). Víčka vialek byla utěsněna teflonovou páskou. Vialky byly upnuty do termomixeru a byly třepány při teplotě 25 °C přes noc (18 hodin) při intenzitě 300 ot/min. Při manipulaci mezi jednotlivými vzorky byly nůžky a pinzeta vždy omyty methanolem, proběhla výměna rukavic a byly použity čisté papírové ubrousky.

Den 2

Vzorky byly postupně vytaženy pinzetou z extrakční směsi, pinzeta vždy nejprve řádně opláchnuta methanolem. Extrakty byly odpařeny do sucha ve vakuovém koncentrátoru (45 minut při laboratorní teplotě). Odparek byl převrstven argonem. Vialky byly zašroubovány, utěsněny teflonovou páskou a uloženy do mrazáku s teplotou -80 °C.

Den 3

Do odpařených 10ml vialek byl přidán 1 ml extrakčního činidla (chloroform a methanol v objemovém poměru 2:1). Následně bylo pipetou přidáno 5 µl 1-bromoeikosanu (0.5 mg/ml)

a vzorky byly vortexovány. Poté byly vzorky filtrovány přes vatový filtr v pasteuově pipetě do 1ml skleněné vialky označené „LC“. Do extrakčních vialek bylo pipetou přidáno dalších 0,5 ml extrakčního činidla a znovu vortexováno. Druhá filtrace proběhla přes stejný filtr pro promytí vzorku. Extrakt ve vialkách byl odpařen na vakuové vývěvě. Odparek byl znovu rozpuštěn přidáním 1 ml extrakčního činidla. Z tohoto množství bylo odebráno 0,5 ml do nové vialky označené „GC“.

Analýza LC vialek

Do LC vialek bylo napipetováno 0,5 ml mobilní fáze (chloroform a methanol v objemovém poměru 1:1) a 15 mM formátu amonného. Vzorky byly analyzovány metodou přímého nástřiku do hmotnostního spektrometru Orbitrap Fusion (Thermo Scientific) ovládaný softwarem Orbitrap Fusion Tune Application v4.04, který poskytuje vysoké rozlišení hmoty. Analyty byly ionizovány pomocí elektrospreje v pozitivním i negativním módu. Polární sloučeniny z třídy fosfolipidů (fosfatidylcholinu a fosfatidylethanolaminy) byly analyzovány v negativním ionizačním módu a triacylglyceroly v pozitivním.

Parametry ionizace v pozitivním módu (analýza kladně nabitých iontů) byly nastaveny následovně (parametry, které nemají ekvivalent v českém jazyce jsou ponechány v angličtině): napětí v iontovém zdroji +3500 V; Sheath Gas 4 (relativní jednotka); Aux Gas 2 (relativní jednotka); Sweep Gas 0 (relativní jednotka); Teplota převodní kapiláry 280 °C; Teplota vypařování 35 °C. Nastavení parametrů v případě ionizace v negativním módu (analýza záporně nabitých iontů) (zmíněné jsou pouze parametry, které měly jiné hodnoty než v případě pozitivní ionizace): napětí v iontovém zdroji -3000 V; Sheath gas 5 (relativní jednotka). Analýza vysoce rozlišených hmot iontů probíhala v hmotnostním analyzátoru orbitrapu. Parametry analýzy a detekce záporně a kladně nabitých mateřských iontů (nefragmentovaných molekul, MS1 sken) byly nastaveny následovně: rozlišení orbitrapu 120 000 (relativní jednotka); analyzovaný hmotnostní rozsah nastaven na 300-1100 m/z; radiofrekvenční čočky nastaveny na 60 %; maximální doba dávkování iontů do orbitrapu 246 ms.

Mateřské ionty byly vybrány pro další fragmentaci (MS2 sken) v režimu Data Dependent Acquisition (DDA) a byly použity následující filtry a další parametry: intenzita mateřského iontu musela přesáhnout hodnotu 25 000 (relativní jednotka); parametry dynamického filtru: mateřský iont o stejné hmotě (tolerance ± 10 ppm) byl fragmentován jednou za 160 sekund. Izolační okno mateřského iontu bylo $\pm 0,35$ m/z; ionty byly fragmentovány kolizní disociací s vyšší energií (HCD) v módu assisted. Byly použity následující energie fragmentace 15, 20 a 25 %; dceřiné ionty byly analyzovány v orbitrapu s rozlišením hmoty 60 000 (relativní jednotky);

analyzovaný hmotnostní rozsah nastaven na 140-1000 m/z; maximální doba dávkování iontů do orbitrapu 118 ms. Všechny parametry (kromě polaritv iontové optiky) byly stejné pro analýzu kladných i záporných dceřiných iontů.

Změřená data byla analyzována softwarem LipidHunter 2 RC3 (Lipská Univerzita, freeware, Ni et al., 2017). Software cíleně prohledával pouze lipidy ze třídy fosfatidylcholinů, fosfatidylethanolaminů a triacylglycerolů. Identifikace struktur probíhala na základě cíleného hledání specifických fragmentů v in-silico vytvořené databázi. Pro účely relativní kvantifikace byl proveden softwarem deizotoping prvního a druhého řádu. Fosfatidylcholiny byly analyzovány v negativním módu jako adukty s formátem $[M+HCOO]^-$. Fosfatidylethanolaminy byly analyzovány v záporném módu jako $[M-H]^-$. Mastné kyseliny ve fosfatidylethanolaminech a fosfatidylcholinech byly identifikovány na základě hmotnosti odpovídajících fragmentů z MS2 spektra. Provedený hmotnostní experiment umožňoval charakterizovat připojenou mastnou kyselinu pouze na úrovni počtu uhlíků a počtu dvojných vazeb ve struktuře, bez určení jejich polohy v řetězci nebo prostorové konfigurace. Relativní kvantifikace izobarických fosfatidylcholinů (izobarické znamená, že fosfolipidy z dané třídy se sice liší složením obou kyselin, ale součet jejich uhlíků a dvojných vazeb je stejný, např. fosfatidylcholin 34:2 může zahrnovat fosfatidylcholin 16:0_18:2 a fosfatidylcholin 14:0_20:2) byla provedena na základě intenzity signálu náležejícím odpovídajícím dvojicím kyselin (Neijat et al., 2020). Použitá hmotnostní metoda neumožňuje určit na jaké pozici na glycerolu jsou kyseliny připojeny. Triacylglyceroly byly analyzovány v pozitivním módu jako adukty s amonným iontem $[M+NH_4]^+$. Triacylglyceroly byly identifikovány a kvantifikovány pouze jako součet uhlíků a dvojných vazeb všech tří kyselin. Hmotnostní experiment umožňoval na základě MS2 spektra určit nejpravděpodobnější kombinaci mastných kyselin, bez určení jejich přesné pozice na glycerolu.

Analýza GC vialek

Do GC vialek bylo napipetováno 30 μ l pyridinu a 30 μ l silylačního činidla N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid s 1% trimethylchlorosilanem (TMSIL). Vzorby byly inkubovány na termomixéru (30 minut při 70 °C, 1500 ot/min). Po inkubaci bylo do směsi přidáno 300 μ l hexanu a interní standard 5 μ l 1-chlorotetradekanu (0,2 mg/ml) – pro kontrolu nástřikového procesu. Vzorby byly měřeny metodou dvourozměrné komprehensivní plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GCxGC-TOF/MS). Byl použit přístroj Pegasus 4D od firmy Leco Corporation vybavený kryomodulátorem na kapalný dusík a robotickým autosamplerem MPS (Gerstel).

Separace probíhala ve dvourozměrném módu na kolonách Rxi-5Sil, délka 27,5 m, (primární kolona; Restek) a BPX50, délka 1,57m (sekundární kolona; SGE). Další podmínky byly nastaveny následovně: teplota injektoru 300 °C, nastříkováno se splitem 3, rychlost nosného plynu (helium) 1 ml/min. Chromatografické kolony byly každá umístěna v na sobě nezávisle vyhřívaných pecích (primární a sekundární). Na primární peci byl nastaven teplotní program: 50 °C (1 min) 10 °C/min do 320 °C (10 min). Teplota na sekundární peci byla nastavena tak, aby byla po celou dobu analýzy o 5 °C vyšší než na primární peci. Teplota modulátoru byla po dobu analýzy o 15 °C výš než teplota na sekundární peci. Modulační perioda byla nastavena na 3 s – doba horkého a studeného pulsu byla 1 a 0,5 s, respektive.

Látky byly detekovány hmotnostním detektorem s elektronovou ionizací (70eV) a Time-of-Flight (TOF) analyzátozem s jednotkovým rozlišení hmoty. Program ChromaTOF 4.52 (Leco Corporation) byl použitý pro ovládání přístroje a pro vyhodnocení naměřených dat. Látky byly detekované jako trimethylsilylované deriváty. Struktura látek byla určena na základě porovnání jejich retenčních vlastností v použitém separačním systému (u každé látky byl změřen retenční index pomocí analýzy lineárních uhlovodíků) a hmotnostních spekter analytů s látkami v databázi NIST MS v2.2 (2014). Pro kvantifikace nalezených píků byly použity hmoty vyhodnocené softwarem jako unikátní pro danou látku a její retenční okolí. Látky byly následně v Excelu relativně kvantifikovány vztažením na signál interního standardu 1-bromoeikosanu.

Příloha 2

Tabulka P1: Kompletní přehled dat kvantitativní analýzy. Tabulka obsahuje informace o vzorku (část těla, ze které pochází; hmotnost před a po extrakci a z toho vypočtený hmotnostní rozdíl; procentuální obsah lipidů ve vzorku a stáří svlečky ze které vzorek pocházel) a jedinci (druh, ze kterého vzorek pochází; označení konkrétního jedince a jeho pohlaví F-samice, M-samec).

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 37	ventrální	F	0,00267	0,00249	0,00018	6,74157	34
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 37	dorzální	F	0,00289	0,00276	0,00013	4,49827	34
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 30	ventrální	M	0,00231	0,00216	0,00015	6,49351	49
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 30	dorzální	M	0,00255	0,00250	0,00005	1,96078	49
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 32	ventrální	M	0,00246	0,00221	0,00025	10,16260	56
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 32	dorzální	M	0,00249	0,00234	0,00015	6,02410	56
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF35	ventrální	F	0,00427	0,00408	0,00019	4,44965	75
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF35	dorzální	F	0,00312	0,00291	0,00021	6,73077	75
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 39	ventrální	F	0,00313	0,00307	0,00006	1,91693	82
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 39	dorzální	F	0,00261	0,00256	0,00005	1,91571	82
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 31	ventrální	M	0,00220	0,00202	0,00018	8,18182	101
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 31	dorzální	M	0,00211	0,00205	0,00006	2,84360	101
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 30	ventrální	M	0,00252	0,00233	0,00019	7,53968	107
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 30	dorzální	M	0,00276	0,00262	0,00014	5,07246	107

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 36	ventrální	F	0,00183	0,00169	0,00014	7,65027	156
<i>Aeluroscalabotes felinus</i>	AF 36	dorzální	F	0,00200	0,00184	0,00016	8,00000	156
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 6	ventrální	F	0,00464	0,00422	0,00042	9,05172	53
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 6	dorzální	F	0,00378	0,00343	0,00035	9,25926	53
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 2	ventrální	F	0,00198	0,00183	0,00015	7,57576	60
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 2	dorzální	F	0,00176	0,00159	0,00017	9,65909	60
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 1 Dob	ventrální	F	0,00321	0,00303	0,00018	5,60748	100
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 1 Dob	dorzální	F	0,00326	0,00303	0,00023	7,05521	100
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 3 ZS1	ventrální	M	0,00402	0,00384	0,00018	4,47761	140
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 3 ZS1	dorzální	M	0,00304	0,00286	0,00018	5,92105	140
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 2 Dob	ventrální	F	0,00406	0,00384	0,00022	5,41872	154
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 2 Dob	dorzální	F	0,00346	0,00329	0,00017	4,91329	154
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 5	ventrální	F	0,00580	0,00527	0,00053	9,13793	157
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 5	dorzální	F	0,00508	0,00475	0,00033	6,49606	157
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 4	ventrální	F	0,00326	0,00303	0,00023	7,05521	215
<i>Coleonyx elegans</i>	CE 4	dorzální	F	0,00235	0,00202	0,00033	14,04255	215
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM 8	ventrální	M	0,00499	0,00471	0,00028	5,61122	39
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM 8	dorzální	M	0,00450	0,00431	0,00019	4,22222	39

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM K	ventrální	M	0,00404	0,00376	0,00028	6,93069	40
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM K	dorzální	M	0,00259	0,00235	0,00024	9,26641	40
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM I	ventrální	M	0,00323	0,00295	0,00028	8,66873	58
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM I	dorzální	M	0,00326	0,00293	0,00033	10,12270	58
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM H	ventrální	F	0,00407	0,00374	0,00033	8,10811	100
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM H	dorzální	F	0,00345	0,00315	0,00030	8,69565	100
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM 2	ventrální	F	0,00480	0,00458	0,00022	4,58333	160
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM 2	dorzální	F	0,00333	0,00325	0,00008	2,40240	160
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM L	ventrální	F	0,00357	0,00339	0,00018	5,04202	211
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM L	dorzální	F	0,00267	0,00250	0,00017	6,36704	211
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM L	ventrální	M	0,00374	0,00357	0,00017	4,54545	237
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM L	dorzální	M	0,00266	0,00253	0,00013	4,88722	237
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM M	ventrální	F	0,00342	0,00313	0,00029	8,47953	247
<i>Coleonyx mitratus</i>	CM M	dorzální	F	0,00281	0,00255	0,00026	9,25267	247
<i>Coleonyx variegatus</i>	CV 5	ventrální	F	0,00363	0,00318	0,00045	12,39669	42
<i>Coleonyx variegatus</i>	CV 5	dorzální	F	0,00283	0,00251	0,00032	11,30742	42
<i>Coleonyx variegatus</i>	CVM	ventrální	M	0,00390	0,00352	0,00038	9,74359	43
<i>Coleonyx variegatus</i>	CVM	dorzální	M	0,00289	0,00261	0,00028	9,68858	43

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Coleonyx variegatus</i>	CV 2	ventrální	F	0,00423	0,00368	0,00055	13,00236	48
<i>Coleonyx variegatus</i>	CV 2	dorzální	F	0,00258	0,00223	0,00035	13,56589	48
<i>Coleonyx variegatus</i>	CV 5	ventrální	F	0,00344	0,00323	0,00021	6,10465	160
<i>Coleonyx variegatus</i>	CV 5	dorzální	F	0,00288	0,00274	0,00014	4,86111	160
<i>Coleonyx variegatus</i>	CV 7	ventrální	F	0,00294	0,00256	0,00038	12,92517	226
<i>Coleonyx variegatus</i>	CV 7	dorzální	F	0,00221	0,00189	0,00032	14,47964	226
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 9	ventrální	M	0,00789	0,00740	0,00049	6,21039	54
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 9	dorzální	M	0,00551	0,00502	0,00049	8,89292	54
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 24	ventrální	F	0,00740	0,00692	0,00048	6,48649	67
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 24	dorzální	F	0,00715	0,00665	0,00050	6,99301	67
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 7	ventrální	M	0,00737	0,00684	0,00053	7,19132	78
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 7	dorzální	M	0,00660	0,00616	0,00044	6,66667	78
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 1	ventrální	M	0,00612	0,00585	0,00027	4,41176	89

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 1	dorzální	M	0,00493	0,00473	0,00020	4,05680	89
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 37	ventrální	M	0,00726	0,00659	0,00067	9,22865	90
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 37	dorzální	M	0,00656	0,00612	0,00044	6,70732	90
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 4	ventrální	F	0,00398	0,00379	0,00019	4,77387	91
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 4	dorzální	F	0,00368	0,00354	0,00014	3,80435	91
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 30	ventrální	M	0,00738	0,00698	0,00040	5,42005	129
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 30	dorzální	M	0,00553	0,00524	0,00029	5,24412	129
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 36	ventrální	M	0,00912	0,00861	0,00051	5,59211	205
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Iran)	EAI 36	dorzální	M	0,00726	0,00687	0,00039	5,37190	205
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 21	ventrální	F	0,00690	0,00637	0,00053	7,68116	51
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 21	dorzální	F	0,00468	0,00424	0,00044	9,40171	51

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 11	ventrální	F	0,00723	0,00681	0,00042	5,80913	51
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 11	dorzální	F	0,00565	0,00526	0,00039	6,90265	51
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 16	ventrální	F	0,00945	0,00902	0,00043	4,55026	75
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 16	dorzální	F	0,00706	0,00670	0,00036	5,09915	75
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 27	ventrální	M	0,00736	0,00688	0,00048	6,52174	87
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 27	dorzální	M	0,00537	0,00503	0,00034	6,33147	87
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 22	ventrální	M	0,00728	0,00662	0,00066	9,06593	102
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 22	dorzální	M	0,00476	0,00430	0,00046	9,66387	102
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 10	ventrální	M	0,00689	0,00625	0,00064	9,28882	127
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 10	dorzální	M	0,00568	0,00511	0,00057	10,03521	127
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 35	ventrální	M	0,00839	0,00767	0,00072	8,58164	142

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 35	dorzální	M	0,00669	0,00626	0,00043	6,42750	142
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 12	ventrální	M	0,00632	0,00609	0,00023	3,63924	146
<i>Eublepharis angramainyu</i> (Syria)	EAS 12	dorzální	M	0,00578	0,00551	0,00027	4,67128	146
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 1	ventrální	M	0,00581	0,00557	0,00024	4,13081	31
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 1	dorzální	M	0,00468	0,00441	0,00027	5,76923	31
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH ZS2	ventrální	F	0,00448	0,00415	0,00033	7,36607	58
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH ZS2	dorzální	F	0,00607	0,00575	0,00032	5,27183	58
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH ZS1	ventrální	F	0,00542	0,00506	0,00036	6,64207	82
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH ZS1	dorzální	F	0,00530	0,00495	0,00035	6,60377	82
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 3	ventrální	F	0,00568	0,00530	0,00038	6,69014	95
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 3	dorzální	F	0,00552	0,00511	0,00041	7,42754	95
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 5	ventrální	F	0,00669	0,00629	0,00040	5,97907	142
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 5	dorzální	F	0,00611	0,00562	0,00049	8,01964	142
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 4	ventrální	F	0,00605	0,00564	0,00041	6,77686	170
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 4	dorzální	F	0,00636	0,00582	0,00054	8,49057	170
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 5	ventrální	F	0,00508	0,00499	0,00009	1,77165	221

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Eublepharis hardwickii</i>	EH 5	dorzální	F	0,00542	0,00513	0,00029	5,35055	221
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 84	ventrální	M	0,00673	0,00608	0,00065	9,65825	53
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 84	dorzální	M	0,00484	0,00445	0,00039	8,05785	53
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 106	ventrální	F	0,00873	0,00820	0,00053	6,07102	87
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 106	dorzální	F	0,00611	0,00580	0,00031	5,07365	87
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 73	ventrální	F	0,00522	0,00494	0,00028	5,36398	97
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 73	dorzální	F	0,00564	0,00521	0,00043	7,62411	97
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 87	ventrální	M	0,00635	0,00590	0,00045	7,08661	107
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 87	dorzální	M	0,00597	0,00563	0,00034	5,69514	107
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 96	ventrální	M	0,00635	0,00608	0,00027	4,25197	118
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 96	dorzální	M	0,00709	0,00662	0,00047	6,62906	118
<i>Eublepharis macularius</i>	EM XIX 115	ventrální	F	0,00562	0,00537	0,00025	4,44840	157
<i>Eublepharis macularius</i>	EM XIX 115	dorzální	F	0,00552	0,00534	0,00018	3,26087	157
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 63	ventrální	M	0,00409	0,00399	0,00010	2,44499	172
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 63	dorzální	M	0,00424	0,00404	0,00020	4,71698	172
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 91	ventrální	F	0,00819	0,00775	0,00044	5,37241	216
<i>Eublepharis macularius</i>	EM 91	dorzální	F	0,00606	0,00570	0,00036	5,94059	216
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 1	ventrální	F	0,00451	0,00422	0,00029	6,43016	4

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 1	dorzální	F	0,00476	0,00449	0,00027	5,67227	4
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 4	ventrální	M	0,00346	0,00319	0,00027	7,80347	56
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 4	dorzální	M	0,00358	0,00329	0,00029	8,10056	56
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 5	ventrální	M	0,00476	0,00444	0,00032	6,72269	57
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 5	dorzální	M	0,00438	0,00412	0,00026	5,93607	57
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 6	ventrální	M	0,00348	0,00326	0,00022	6,32184	79
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 6	dorzální	M	0,00328	0,00307	0,00021	6,40244	79
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 5	ventrální	F	0,00493	0,00437	0,00056	11,35903	84
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 5	dorzální	F	0,00501	0,00452	0,00049	9,78044	84
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 2	ventrální	M	0,00597	0,00579	0,00018	3,01508	90
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 2	dorzální	M	0,00456	0,00439	0,00017	3,72807	90
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 1 F	ventrální	F	0,00394	0,00390	0,00004	1,01523	117
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 1 F	dorzální	F	0,00484	0,00476	0,00008	1,65289	117
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 1	ventrální	M	0,00363	0,00343	0,00020	5,50964	127
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 1	dorzální	M	0,00367	0,00343	0,00024	6,53951	127
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 3	ventrální	F	0,00472	0,00427	0,00045	9,53390	178
<i>Goniurosaurus araneus</i>	GAR 3	dorzální	F	0,00510	0,00472	0,00038	7,45098	178
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 4	ventrální	F	0,00565	0,00559	0,00006	1,06195	43

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 4	dorzální	F	0,00540	0,00513	0,00027	5,00000	43
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 3	ventrální	F	0,00536	0,00502	0,00034	6,34328	44
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 3	dorzální	F	0,00519	0,00488	0,00031	5,97303	44
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 2	ventrální	F	0,00492	0,00467	0,00025	5,08130	51
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 2	dorzální	F	0,00437	0,00421	0,00016	3,66133	51
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 6	ventrální	M	0,00539	0,00529	0,00010	1,85529	68
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 6	dorzální	M	0,00422	0,00415	0,00007	1,65877	68
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 4	ventrální	F	0,00570	0,00538	0,00032	5,61404	78
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 4	dorzální	F	0,00563	0,00528	0,00035	6,21670	78
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 10	ventrální	M	0,00362	0,00341	0,00021	5,80110	100
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 10	dorzální	M	0,00359	0,00340	0,00019	5,29248	100
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 1	ventrální	M	0,00455	0,00413	0,00042	9,23077	149
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 1	dorzální	M	0,00473	0,00444	0,00029	6,13108	149
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 8	ventrální	M	0,00453	0,00417	0,00036	7,94702	236
<i>Goniurosaurus catbaensis</i>	GC 8	dorzální	M	0,00456	0,00419	0,00037	8,11404	236
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 8	ventrální	M	0,00329	0,00301	0,00028	8,51064	54
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 8	dorzální	M	0,00325	0,00298	0,00027	8,30769	54
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 6	ventrální	M	0,00403	0,00374	0,00029	7,19603	57

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 6	dorzální	M	0,00327	0,00298	0,00029	8,86850	57
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU A	ventrální	M	0,00442	0,00414	0,00028	6,33484	73
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU A	dorzální	M	0,00502	0,00469	0,00033	6,57371	73
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 2	ventrální	F	0,00486	0,00451	0,00035	7,20165	73
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 2	dorzální	F	0,00489	0,00458	0,00031	6,33947	73
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 4	ventrální	F	0,00407	0,00398	0,00009	2,21130	185
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 4	dorzální	F	0,00349	0,00329	0,00020	5,73066	185
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU A	ventrální	F	0,00400	0,00387	0,00013	3,25000	186
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU A	dorzální	F	0,00458	0,00451	0,00007	1,52838	186
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 7	ventrální	M	0,00358	0,00338	0,00020	5,58659	209
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 7	dorzální	M	0,00321	0,00302	0,00019	5,91900	209
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 3	ventrální	F	0,00418	0,00396	0,00022	5,26316	237
<i>Goniurosaurus huuliensis</i>	GHU 3	dorzální	F	0,00411	0,00392	0,00019	4,62287	237
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI E ZSb	ventrální	F	0,00781	0,00739	0,00042	5,37772	36
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI E ZSb	dorzální	F	0,00657	0,00621	0,00036	5,47945	36
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI I	ventrální	M	0,00579	0,00518	0,00061	10,53541	43
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI I	dorzální	M	0,00511	0,00459	0,00052	10,17613	43
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI Fa	ventrální	F	0,00278	0,00252	0,00026	9,35252	55

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI Fa	dorzální	F	0,00318	0,00292	0,00026	8,17610	55
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI E ZSa	ventrální	F	0,00570	0,00543	0,00027	4,73684	71
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI E ZSa	dorzální	F	0,00494	0,00469	0,00025	5,06073	71
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI F	ventrální	F	0,00539	0,00532	0,00007	1,29870	77
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI F	dorzální	F	0,00507	0,00493	0,00014	2,76134	77
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI F	ventrální	M	0,00417	0,00385	0,00032	7,67386	84
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI F	dorzální	M	0,00489	0,00462	0,00027	5,52147	84
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI Z2	ventrální	M	0,00452	0,00418	0,00034	7,52212	94
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI Z2	dorzální	M	0,00512	0,00482	0,00030	5,85938	94
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI B	ventrální	M	0,00477	0,00451	0,00026	5,45073	203
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI B	dorzální	M	0,00406	0,00375	0,00031	7,63547	203
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI R2	ventrální	M	0,00453	0,00433	0,00020	4,41501	237
<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	GLI R2	dorzální	M	0,00413	0,00392	0,00021	5,08475	237
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 3	ventrální	F	0,00336	0,00318	0,00018	5,35714	46
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 3	dorzální	F	0,00368	0,00353	0,00015	4,07609	46
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 2	ventrální	F	0,00444	0,00414	0,00030	6,75676	48
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 2	dorzální	F	0,00411	0,00384	0,00027	6,56934	48
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 1	ventrální	M	0,00458	0,00416	0,00042	9,17031	55

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 1	dorzální	M	0,00469	0,00428	0,00041	8,74200	55
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 6	ventrální	M	0,00398	0,00373	0,00025	6,28141	64
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 6	dorzální	M	0,00481	0,00442	0,00039	8,10811	64
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 4A	ventrální	F	0,00323	0,00315	0,00008	2,47678	74
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 4A	dorzální	F	0,00346	0,00341	0,00005	1,44509	74
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 4C	ventrální	M	0,00422	0,00406	0,00016	3,79147	86
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 4C	dorzální	M	0,00348	0,00330	0,00018	5,17241	86
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 3	ventrální	M	0,00419	0,00404	0,00015	3,57995	88
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 3	dorzální	M	0,00415	0,00395	0,00020	4,81928	88
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 4B	ventrální	F	0,00493	0,00475	0,00018	3,65112	89
<i>Goniurosaurus luii</i>	GLU 4B	dorzální	F	0,00483	0,00472	0,00011	2,27743	89
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 1	ventrální	M	0,00296	0,00269	0,00027	9,12162	57
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 1	dorzální	M	0,00324	0,00299	0,00025	7,71605	57
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 5	ventrální	M	0,00508	0,00461	0,00047	9,25197	59
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 5	dorzální	M	0,00285	0,00255	0,00030	10,52632	59
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 1	ventrální	F	0,00427	0,00417	0,00010	2,34192	91
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 1	dorzální	F	0,00348	0,00329	0,00019	5,45977	91
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 9	ventrální	M	0,00368	0,00335	0,00033	8,96739	94

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 9	dorzální	M	0,00325	0,00304	0,00021	6,46154	94
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE9	ventrální	F	0,00408	0,00384	0,00024	5,88235	99
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE9	dorzální	F	0,00333	0,00314	0,00019	5,70571	99
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 6	ventrální	F	0,00426	0,00397	0,00029	6,80751	100
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 6	dorzální	F	0,00340	0,00322	0,00018	5,29412	100
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE10	ventrální	F	0,00339	0,00322	0,00017	5,01475	103
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 10	dorzální	F	0,00275	0,00254	0,00021	7,63636	103
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 4	ventrální	M	0,00211	0,00188	0,00023	10,90047	160
<i>Goniurosaurus sengokui</i>	GSE 4	dorzální	M	0,00136	0,00120	0,00016	11,76471	160
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP 9	ventrální	M	0,00488	0,00451	0,00037	7,58197	26
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP 9	dorzální	M	0,00408	0,00383	0,00025	6,12745	26
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP E	ventrální	F	0,00425	0,00394	0,00031	7,29412	47
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP E	dorzální	F	0,00337	0,00314	0,00023	6,82493	47
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP 1	ventrální	F	0,00673	0,00639	0,00034	5,05201	102
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP 1	dorzální	F	0,00518	0,00488	0,00030	5,79151	102
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP 8	ventrální	F	0,00499	0,00465	0,00034	6,81363	132
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP 8	dorzální	F	0,00430	0,00404	0,00026	6,04651	132
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP Fn	ventrální	F	0,00369	0,00346	0,00023	6,23306	137

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSP Fn	dorzální	F	0,00365	0,00360	0,00005	1,36986	137
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSPF od M7	ventrální	F	0,00396	0,00364	0,00032	8,08081	193
<i>Goniurosaurus splendens</i>	GSPF od M7	dorzální	F	0,00659	0,00612	0,00047	7,13202	193
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 4	ventrální	M	0,00399	0,00375	0,00024	6,01504	77
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 4	dorzální	M	0,00337	0,00331	0,00006	1,78042	77
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 1	ventrální	M	0,00439	0,00405	0,00034	7,74487	78
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 1	dorzální	M	0,00553	0,00525	0,00028	5,06329	78
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 4	ventrální	M	0,00471	0,00434	0,00037	7,85563	92
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 4	dorzální	M	0,00432	0,00404	0,00028	6,48148	92
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 3	ventrální	F	0,00386	0,00364	0,00022	5,69948	163
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 3	dorzální	F	0,00494	0,00462	0,00032	6,47773	163
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 2	ventrální	F	0,00489	0,00452	0,00037	7,56646	196
<i>Goniurosaurus yamashinae</i>	GY 2	dorzální	F	0,00398	0,00367	0,00031	7,78894	196
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 1	ventrální	M	0,00486	0,00449	0,00037	7,61317	4
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 1	dorzální	M	0,00278	0,00251	0,00027	9,71223	4
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 7	ventrální	M	0,00475	0,00443	0,00032	6,73684	29
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 7	dorzální	M	0,00248	0,00227	0,00021	8,46774	29
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC C ZS3	ventrální	F	0,00543	0,00513	0,00030	5,52486	40

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC C ZS3	dorzální	F	0,00442	0,00417	0,00025	5,65611	40
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 6	ventrální	M	0,00432	0,00415	0,00017	3,93519	47
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 6	dorzální	M	0,00308	0,00283	0,00025	8,11688	47
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 1 F1 ZS2	ventrální	F	0,00526	0,00488	0,00038	7,22433	75
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 1 F1 ZS2	dorzální	F	0,00386	0,00355	0,00031	8,03109	75
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC6 1/1ZS	ventrální	F	0,00578	0,00560	0,00018	3,11419	139
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC6 1/1ZS	dorzální	F	0,00424	0,00403	0,00021	4,95283	139
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC1F1 ZS2	ventrální	F	0,00505	0,00497	0,00008	1,58416	156
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC1F1 ZS2	dorzální	F	0,00344	0,00343	0,00001	0,29070	156
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC F L	ventrální	F	0,00468	0,00461	0,00007	1,49573	207
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC F L	dorzální	F	0,00360	0,00356	0,00004	1,11111	207
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 1/1ZS	ventrální	F	0,00548	0,00521	0,00027	4,92701	209
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 1/1ZS	dorzální	F	0,00473	0,00443	0,00030	6,34249	209
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 5	ventrální	F	0,00598	0,00586	0,00012	2,00669	242
<i>Hemitheconyx caudicinctus</i>	HC 5	dorzální	F	0,00417	0,00399	0,00018	4,31655	242
<i>Holodactylus africanus</i>	HA 17	ventrální	M	0,00506	0,00472	0,00034	6,71937	28
<i>Holodactylus africanus</i>	HA 17	dorzální	M	0,00394	0,00351	0,00043	10,91371	28
<i>Holodactylus africanus</i>	HA 8	ventrální	F	0,00435	0,00382	0,00053	12,18391	85

Druh	Jedinec	Tělní strana	Pohlaví jedince	Hmotnost před extrakcí [g]	Hmotnost po extrakci [g]	Hmotnostní rozdíl [g]	Lipidový obsah %	Stáří svlečky [den]
<i>Holodactylus africanus</i>	HA 8	dorzální	F	0,00365	0,00330	0,00035	9,58904	85
<i>Holodactylus africanus</i>	HA 19	ventrální	M	0,00196	0,00179	0,00017	8,67347	87
<i>Holodactylus africanus</i>	HA 19	dorzální	M	0,00235	0,00218	0,00017	7,23404	87
<i>Holodactylus africanus</i>	HA 5	ventrální	F	0,00314	0,00285	0,00029	9,23567	178
<i>Holodactylus africanus</i>	HA 5	dorzální	F	0,00235	0,00218	0,00017	7,23404	178

Příloha 3

Tabulka P2: Retenční indexy a relativní zastoupení (%) pro 25 nejsignifikantnějších látek detekovaných pomocí GCxGC-TOF/MS, které byly vybrány a využity pro tvorbu heatmapy (viz Obr. 18). Značení jednotlivých druhů: AF – *Aeluroscalabotes felinus*; CV – *Coleonyx variegatus*; HC – *Hemitheconyx caudicinctus*; EM – *Eublepharis macularius*; GSE – *Goniurosaurus sengokui*; CE – *Coleonyx elegans*. Římské číslice pak odlišují různé jedince daného druhu.

č.analytu	6	13	43	59	68	76	78	85	110
retenční index	1203	1236	1388	1477	1524	1549	1553	1583	1748
EM I	0,04	nedetekováno	0,02	0,14	0,01	0,04	0,28	1,46	2,72
EM II	0,04	0,18	0,02	0,16	0,01	0,03	0,32	1,42	3,11
EM III	0,07	0,14	0,02	0,19	0,01	0,05	0,07	1,28	2,96
GSE I	0,03	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,24	nedetekováno	5,37
GSE II	0,03	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,12	0,09	5,75
GSE III	0,04	0,02	nedetekováno	nedetekováno	0,00	nedetekováno	0,20	0,35	5,72
AF I	0,05	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,37	nedetekováno	1,59
AF II	0,09	0,02	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,36	nedetekováno	2,32
AF III	0,03	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,31	0,07	1,65
CV I	0,17	1,23	nedetekováno	nedetekováno	0,01	0,32	0,06	0,65	2,71
CV II	0,19	1,55	nedetekováno	nedetekováno	0,01	0,17	0,06	0,25	2,66
CV III	0,26	1,37	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,39	nedetekováno	0,17	2,64
CE I	0,01	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,22	0,06	3,89
CE II	0,01	0,01	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,32	0,28	3,35
CE III	0,01	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,17	0,06	2,59
HC I	0,08	0,02	nedetekováno	nedetekováno	0,02	0,01	0,67	0,10	3,44
HC II	0,05	0,02	nedetekováno	nedetekováno	0,02	nedetekováno	0,60	0,05	3,99
HC III	0,06	0,15	nedetekováno	nedetekováno	0,02	nedetekováno	0,52	0,05	3,19

č.analytu	112	113	114	125	177	179	224	236
retenční index	1761	1767	1768	1880	2301	2319	2629	2731
EM I	nedetekováno	0,004	nedetekováno	nedetekováno	0,13	nedetekováno	0,04	nedetekováno
EM II	nedetekováno	0,005	nedetekováno	nedetekováno	0,10	nedetekováno	0,05	0,00
EM III	nedetekováno	0,003	nedetekováno	0,01	0,09	nedetekováno	0,06	nedetekováno
GSE I	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,04	0,24	nedetekováno	0,01	nedetekováno
GSE II	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,04	0,14	nedetekováno	0,02	nedetekováno
GSE III	0,00	nedetekováno	nedetekováno	0,02	0,16	nedetekováno	0,01	nedetekováno
AF I	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,04	0,27	0,04	0,00	nedetekováno
AF II	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,05	0,31	0,04	nedetekováno	nedetekováno
AF III	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,04	0,25	0,06	0,03	nedetekováno
CV I	nedetekováno	nedetekováno	0,19	nedetekováno	0,14	nedetekováno	0,12	nedetekováno
CV II	nedetekováno	nedetekováno	0,23	0,02	0,15	nedetekováno	0,04	nedetekováno
CV III	nedetekováno	nedetekováno	0,21	nedetekováno	0,13	0,01	0,04	nedetekováno
CE I	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,05	0,23	nedetekováno	0,49	nedetekováno
CE II	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,03	0,22	nedetekováno	0,45	nedetekováno
CE III	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,03	0,20	0,01	0,47	nedetekováno
HC I	0,02	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,09	nedetekováno	0,12	0,08
HC II	0,02	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,13	nedetekováno	0,02	0,08
HC III	0,01	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,12	0,01	0,05	0,08

č.analytu	247	248	252	260	267	268	277	279
retenční index	2824	2828	2864	2958	3029	3054	3184	3248
EM I	0,01	nedetekováno	nedetekováno	0,05	0,03	nedetekováno	8,30	0,50
EM II	0,02	nedetekováno	nedetekováno	0,06	0,04	nedetekováno	7,71	0,40
EM III	0,01	nedetekováno	nedetekováno	0,03	0,03	nedetekováno	6,47	0,41
GSE I	0,02	nedetekováno	nedetekováno	0,06	nedetekováno	nedetekováno	21,04	0,09
GSE II	0,02	nedetekováno	nedetekováno	0,06	0,02	nedetekováno	13,53	0,12
GSE III	0,01	nedetekováno	nedetekováno	0,04	0,01	nedetekováno	11,94	0,09
AF I	0,03	nedetekováno	0,03	0,15	0,18	nedetekováno	22,06	nedetekováno
AF II	0,04	nedetekováno	0,06	0,13	0,19	nedetekováno	21,72	nedetekováno
AF III	0,03	0,03	0,07	0,13	0,16	nedetekováno	21,61	nedetekováno
CV I	0,01	0,08	0,01	0,04	0,08	nedetekováno	8,06	0,09
CV II	0,01	0,11	0,02	0,03	0,13	nedetekováno	9,95	0,06
CV III	nedetekováno	0,10	0,02	0,03	0,06	nedetekováno	8,58	0,05
CE I	nedetekováno	0,08	nedetekováno	0,02	0,02	nedetekováno	10,75	0,49
CE II	nedetekováno	0,16	nedetekováno	0,02	0,03	nedetekováno	9,25	0,37
CE III	nedetekováno	0,09	nedetekováno	0,03	0,02	nedetekováno	10,98	0,47
HC I	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,02	0,02	0,41	8,43	0,17
HC II	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,02	nedetekováno	0,58	10,87	0,20
HC III	nedetekováno	nedetekováno	nedetekováno	0,02	0,02	0,68	9,29	0,30