

Taxonomic status of a population of Zagrosian Lizard (*Timon princeps*) from Lordegan, Chaharmahal and Bakhtiari Province, based on the Cytb sequences

Narges Mahmodi Chalbatan¹, Hamzeh Oraie^{1,*}, Azar Khosravani² and Vahid Amiri¹

1- Department of Biology, Faculty of Basic Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

2- Iranian Plateau Herpetology Research Group (IPHRG), Faculty of Science, Razi University, 6714967346 Kermanshah, Iran

Received: 01 November 2021

Accepted: 08 March 2022

Key words

Timon princeps
Lordegan
Genetic Diversity
Molecular
phylogeny

Abstract

The purpose of the present study was to assess the phylogenetic affinity and taxonomic status of a population of Zagrosian lizard (*Timon princeps*) from Lordegan, Chaharmahal and Bakhtiari Province, by analyzing a 560 bp fragment of mtDNA Cytochrome b. To this end, a dataset was created using our sequences (five specimens from Lordegan) together with additional 17 sequences (*T. princeps*, *T. kurdistanicus*) downloaded from the GenBank.

Based on the results, The Lordegan's specimens clustered along with other *T. princeps*. Sister-group relationships between *T. princeps* and *T. kurdistanicus* was recovered with the highest support. Based on the haplotype network analysis, most recovered haplotypes are restricted to a specific geographical region. Due to the fact that the central haplotype is related to the southernmost known distribution record of *T. princeps* in Iran (Dashte Arjan), a possible scenario could be that older haplotypes of *T. princeps* belonged to these areas and then after last glacial period spread northward.

*Corresponding Author: stenodactylus@gmail.com

بررسی وضعیت تاکسونومیکی جمعیت سوسمار زاگرسی (*Timon princeps*) در اطراف لردگان، استان چهارمحال و بختیاری بر اساس ژن میتوکندریایی Cytb

نرگس محمودی چالبطان^۱، حمزه اورعی^{۱*}، آذرخسروانی^۲ و وحید امیری^۱

۱- گروه علوم جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، صندوق پستی: ۱۱۵

۲- گروه پژوهشی خزنده-دوزیست شناسی فلات ایران، دانشکده علوم پایه، دانشگاه رازی

پذیرش: ۱۷ اسفند ۱۴۰۰

دریافت: ۱۰ آبان ۱۴۰۰

چکیده	واژه‌های کلیدی
<p>هدف پژوهش حاضر، بررسی رابطه خویشاوندی نمونه‌های سوسمار زاگرسی (<i>Timon princeps</i>) از اطراف لردگان، استان چهارمحال و بختیاری، با استفاده از یک قطعه ۵۶۰ جفت بازی از ژن سیتوکروم b میتوکندریایی می‌باشد. به این منظور، تعداد ۵ نمونه <i>T. princeps</i> از اطراف لردگان توالی یابی شد؛ همچنین ۱۷ توالی دیگر شامل نمونه‌هایی از <i>T. kurdistanicus</i> و <i>T. princeps</i> از نقاط مختلف ایران از بانک ژن دانلود شدند. بر اساس نتایج، نمونه‌های لردگان همراه با بقیه نمونه‌های <i>T. princeps</i> با حمایت بالا گروه خواهری <i>T. kurdistanicus</i> را تشکیل می‌دهند. نتایج حاصل از شبکه هاپلوتایپی در <i>T. princeps</i> از وجود هاپلوتایپ‌های منحصر به موقعیت‌های جغرافیایی مشخص خبر می‌دهد. با توجه به اینکه هاپلوتایپ مرکزی <i>T. princeps</i> مربوط به جنوبی‌ترین حد پراکنش شناخته شده این گونه در ایران (دشت ارژن) است، احتمال می‌رود که هاپلوتایپ‌های قدیمی این گونه مربوط به این مناطق بوده و پس از آخرین عصر یخبندان به سمت شمال گسترش یافته‌اند.</p>	<p><i>Timon princeps</i> لردگان تنوع ژنتیکی تبارشناسی مولکولی</p>

* پست الکترونیکی: stenodactylus@gmail.com

مقدمه

(Ahmadzadeh et al. 2012).

سوسمار زاگرسی (*Timon princeps sensu lato*)، گستره پراکنش نسبتاً بزرگی از جنوب شرق ترکیه، مناطق غربی ایران (کرمانشاه، خرم آباد) تا مناطق کوهستانی جنوب غرب ایران (یاسوج، دشت ارژن و ارسنجان) را در برمی گیرد (رحیمی و همکاران ۱۴۰۰; Ahmadzadeh et al. 2012; Ilgaz & Kumlutaş, 2008; Anderson 1999; در مورد حضور *T. princeps* در مناطق جنوبی استان چهارمحال و بختیاری تردیدی وجود ندارد (Anderson 1999)، اما نمونه‌های این مناطق هیچگاه تاکنون مورد بررسی ژنتیکی قرار نگرفته‌اند. در این مطالعه با کمک توالی‌های قسمتی از ژن سیتوکروم b (Cytb)، جایگاه تبارشناسی نمونه‌های *T. princeps* از اطراف لردگان را نسبت به نمونه‌های دیگر این گونه در ایران مورد مطالعه قرار خواهیم داد.

مواد و روشها

به عنوان منبع DNA، از بافت ماهیچه‌ای که در تیوب‌های حاوی الکل مطلق در فریزر ۲۰- درجه نگهداری می‌شوند، استفاده شد (پیوست، جدول ۱). نمونه‌های مورد مطالعه در الکل ۷۰٪ در بخش خزندگان موزه جانورشناسی دانشگاه شهرکرد با کد HAC نگهداری می‌شوند و در سال ۱۳۹۵ از اطراف لردگان جمع‌آوری شده‌اند (شکل ۱).

خانواده Lacertidae، گروهی از مارمولک‌های عمدتاً کوچک‌جثه‌اند که در سراسر اوراسیا و آفریقا توزیع شده‌اند (Arnold et al., 2007). این خانواده با ۵۴ گونه شناخته شده، یکی از متنوع‌ترین گروه‌های خزندگان در ایران می‌باشد (Uetz et al., 2021). بازنگری جامع سیستماتیک مارمولک‌های قبیله Lacertini در سال ۲۰۰۷ منجر به معرفی هشت جنس جدید، از جمله *Timon* شد (Arnold et al., 2007). مطالعات مختلف جنس *Lacerta* را گروه‌خواهری *Timon* دانسته‌اند (Carranza et al., Mendes et al., 2016; Pyron et al., 2013; 2004). امروزه شش گونه از این جنس در جهان شناخته شده است که دو تا از آنها در ایران نیز حضور دارند (Uetz et al., 2021). سوسمار زاگرسی (*Timon princeps*) اولین بار به عنوان *Lacerta princeps* از اطراف نیریز (استان فارس) توصیف شد (Blanford, 1874). سال‌ها بعد زیرگونه‌ای از آن با نام *T.p.kurdistanicus* از بیدرواز، کردستان، ایران توصیف شد (Suchov, 1936). ریخت‌شناسی مفصل این دو زیر گونه و ویژگی‌های تاکسونومیک جدا کننده این دو توسط Eiselt گزارش شدند (Eiselt, 1968, 1969). مطالعات مولکولی مبتنی بر ژن‌های میتوکندریایی و هسته‌ای پیشنهاد دهنده بالا رفتن سطح تاکسونومیک زیرگونه‌ها به سطح گونه (*Timon princeps* و *Timon kurdistanicus*) بودند



شکل ۱. نمایش از زیستگاه *Timon princeps* در اطراف لردگان، استان چهارمحال و بختیاری. (A) نمایش از نمونه زنده *Timon princeps* در زیستگاه طبیعی. (B) عکس از وحید امیری.

شد. پس از استخراج DNA، تکثیر قطعه‌ی حدوداً ۵۶۰ جفت باز از ژن سیتوکروم b (Cytb) مطابق پروتکل زیر

استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج محصول شرکت آروژن پارس طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام

سرعت کم باهم مخلوط شدند و سپس در داخل دستگاه ترمال سایکلر قرار گرفتند. به دلیل اینکه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اول (L14724-H16064) موفق به تکثیر قطعه مورد نظر نبود، از محصولات آن به عنوان DNA در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز دوم (آشیا نه ای) با استفاده از پرایمرهای (L14919-Ei700R) استفاده شد (جدول ۱).

انجام گردید. حجم هر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) انجام شده در این پژوهش ۲۰ میکرولیتر در نظر گرفته شد. بدین ترتیب در هر تیوب، ۱۰ میکرولیتر از PCR Master mix 2x (sinaclon, MM2062)، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای پیشرو و معکوس و ۷ میکرولیتر آب اضافه شد. مواد بواسطه ورتکس آرام و با

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر بخشی از ژن Cytb در نمونه های *Timon princeps*

نام پرایمر	توالی (۵'→۳')
L14724 (Burbrink et al. 2000)	TGA CTT GAA GAA CCA CCG TTG
L14919 (Rastegar-Pouyani et al. 2010)	AAC CAC CGT TGT TAT TCA ACT
H16064 (Hernández et al. 2001)	CTT TGG TTT ACA AGA ACA ATG CTT TA
Ei700R (Rastegar-Pouyani et al. 2010)	GGG GTG AAA GGG GAT TTT RTC

برای ریشه‌دار کردن درخت‌ها به عنوان گروه خارجی (Out-group) مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور ویرایش و هم‌ردیف کردن توالی‌ها از نرم افزار BioEdit 7.2 (Hall, 1999) استفاده شد. توالی‌های به دست آمده با کد میتوکندریایی مهره‌داران به اسید آمینه تبدیل شده تا از واقعی بودن آنها مطمئن شویم.

برای بررسی اولیه توالی‌ها و تعیین فاصله ژنتیکی از نرم افزار Mega 11 (Tamura et al., 2021) استفاده شد. برای رسم درخت‌های تبارشناسی، توالی‌ها بر اساس کدون به سه زیرمجموعه (Subset) تقسیم شدند و با کمک نرم افزار PartitionFinder 2 (Lanfear et al., 2016) بهترین تقسیم بندی و بهترین مدل تکاملی برای هر کدام از زیر مجموعه‌ها، بر اساس تنظیمات نرم افزار مورد بررسی قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل‌های بی‌زین از نرم افزار MRBAYES v.3.2.7 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) استفاده شد. آنالیز در دو ران مستقل، چهار زنجیره و ۱۰ میلیون نسل انجام شد (ngen=10000000 printfreq=1000 samplefreq=100 nchains=4 nruns=2). به منظور رسم درخت حداکثر درست‌نمایی (ML) با استفاده از نرم‌افزار Nguyen et al. (2015) با مدل‌های تکاملی مشابه آنالیز بی‌زین و با بوتسترپ

چرخه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اول عبارت بود از ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۶ چرخه شامل ۴۰ ثانیه در ۹۴ درجه و ۴۰ ثانیه در ۵۴ درجه و ۹۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد. چرخه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز دوم عبارت بود از ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۶ چرخه شامل ۴۰ ثانیه در ۹۴ درجه و ۴۰ ثانیه در دمای ۴۹ درجه و یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد. ۱۵ میکرولیتر از محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت تعیین توالی به شرکت نیازن نور(تهران) ارسال شد. توالی‌های به دست آمده با شماره‌های دسترسی OL830686- OL830690 در بانک ژن NCBI قرار داده شدند (پیوست، جدول ۱).

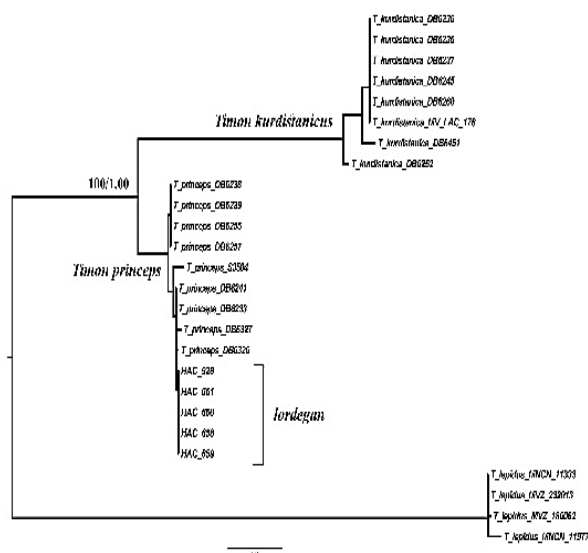
به منظور مقایسه توالی‌های به دست آمده از نمونه‌های لردگان، همه توالی‌های موجود از ژن سیتوکروم b مربوط به *Timon kurdistanicus* و *T. princeps* از بانک ژن NCBI دانلود شدند (پیوست، جدول ۱). علاوه بر آنها چهار توالی متعلق به نمونه‌هایی از *Timon lepidus* (پیوست، جدول ۱) نیز دانلود و در آنالیزهای فیلوژنتیکی

دارای اطلاعات است. برای اجرای آنالیزهای تبارشناختی، بر اساس نتایج نرم افزار PartitionFinder 2، داتا ست به دو زیرمجموعه شامل زیرمجموعه اول شامل کدون یک و دو با مدل تکاملی HKY+I و زیرمجموعه دوم شامل کدون سه با مدل تکاملی HKY تقسیم شدند. درخت‌های تبارشناسی حداکثر درست-نمایی و بیزین توپولوژی یکسانی را نشان دادند (شکل ۲). نمونه‌های لردگان با بقیه نمونه‌های *Timon princeps* با هم گروه تک نیایی را تشکیل می‌دهند که با احتمال پسین و بوت استرپ بالا از *T. kurdistanicus* جدا می‌شوند (شکل ۲).

۱۰۰۰ انجام شد. برای بررسی ارتباط بین هاپلوتایپ‌ها و ترسیم شبکه هاپلوتایپی از نرم افزار TCS ver 1.0 (Clement et al., 2000) مبتنی بر منطق پارسیمونی استفاده شد.

نتایج

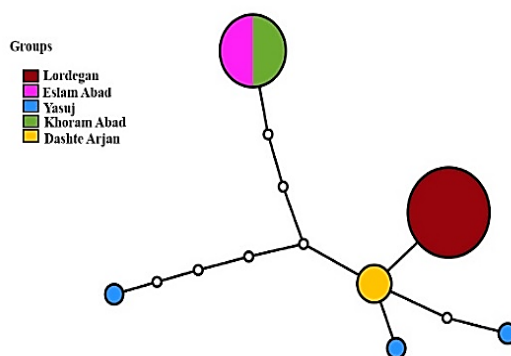
تعداد ۲۶ توالی با طول ۵۲۷ نوکلئوتید از ژن میتوکندریایی Cytb در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. محتوی نوکلئوتیدهای G و C در داتا ست مورد بررسی ۰٫۴۳۶ است. تعداد جایگاه‌های ثابت ۴۰۴ و تعداد جایگاه‌های متغیر ۱۲۳ عدد است که از این بین ۱۱۵ جایگاه از نظر پارسیمونی



شکل ۲. درخت حداکثر درست‌نمایی با تاکید بر موقعیت تبارشناختی نمونه‌های *Timon princeps* از لردگان نسبت به بقیه نمونه‌های جنس *Timon* در ایران. اعداد بالای شاخه به ترتیب نمایانگر شاخص بوت استرپ حاصل از روش حداکثر درست‌نمایی و احتمال پسین حاصل از درخت بیزین است.

خرم آباد که متعلق به یک هاپلوتایپ هستند، هیچ هاپلوتایپ مشترکی در بین جمعیت‌های این گونه در ایران مشاهده نشد. نمونه‌های مورد مطالعه از یاسوج با داشتن سه هاپلوتایپ بالاترین تنوع هاپلوتایپی را نشان می‌دهند.

نتایج حاصل از شبکه هاپلوتایپی براساس منطق پارسیمونی نشان داد که نمونه‌های لردگان همگی متعلق به یک هاپلوتایپ هستند و بیشترین خویشاندی را با هاپلوتایپی که در منطقه دشت ارژن فارس حضور دارد، نشان می‌دهد (شکل ۳). از طرف دیگر بجز نمونه‌های کرمانشاه و



شکل ۳. شبکه ی هاپلوتایپی نمونه های *Timon princeps* در ایران با استفاده از منطق پارسیمونی. دایره های سفید نشان دهنده هاپلوتایپهای از دست رفته یا نقاط نمونه برداری نشده است.

زاگرس مرتبط باشد (Ahmadzadeh et al., 2012).

نتایج حاصل از شبکه هاپلوتایپی در *T. princeps* از وجود هاپلوتایپهای منحصر به موقعیت‌های جغرافیایی مشخص خبر می‌دهد. با توجه به اینکه هاپلوتایپ مرکزی *T. princeps* مربوط به جنوبی‌ترین حد پراکنش شناخته شده این گونه در ایران (دشت ارژن) است (شکل ۳)، احتمال می‌رود که هاپلوتایپ‌های قدیمی این گونه مربوط به این مناطق بوده و سپس گسترش یافته است. با توجه به اینکه این مطالعه تنها براساس تعداد محدودی نمونه (هفت نمونه) انجام شده است، بنابراین این احتمال وجود دارد که در صورت افزایش تعداد نمونه‌ها، میزان تنوع و تعداد هاپلوتایپ‌ها افزایش یابد. این عوامل همراه با سطح تنوع هاپلوتایپی بالا به ویژه در جنوب غرب ایران، احتمالاً می‌تواند شواهدی را از وجود پناهگاه‌های یخچالی متعلق به آخرین عصر یخبندان برای سوسمار زاگرسی در این بخش پیشنهاد می‌کند.

مطالعه اخیر با کشف یک هاپلوتایپ منحصر بفرد در منطقه لردگان، نشان می‌دهد ساختارهای ژنتیکی مشخصی در سوسمار زاگرسی وجود دارد. ارزیابی گوناگونی و ساختار ژنتیکی گونه‌ها، اهمیت فراوانی از دیدگاه دانش بوم‌شناسی و همچنین مدیریت حیات وحش دارد. زیستگاه اصلی سوسمار زاگرسی جنگل‌های بلوط غرب و جنوب غرب کشور است (Anderson, 1999). این اکوسیستم‌های

بحث و نتیجه گیری

ایران سرزمینی کوهستانی است که عمداً در محدوده پالتارکتیک قرار گرفته است، با این وجود در بخش‌های جنوبی فون و فلوروش متاثر از مناطق آفروتریکال و اورینتال نیز بوده است (Sagheb Talebi et al., 2013). فعالیت‌های کوه‌زایی در طول اولیگوسن که سبب ظهور مهم‌ترین رشته کوه‌های ایران (البرز و زاگرس) شده است، تغییرات محیطی و زیستگاهی گسترده‌ای را به همراه داشته است. رشته کوه زاگرس قسمتی از منطقه داغ تنوع زیستی ایران-آناتولی است (Mittermeier et al., 2004). رشته کوه زاگرس مانع اصلی جغرافیایی بین فلات مرکزی ایران و دشت بین‌النهرین در غرب آسیا است و همچنین نقش کوریدوری برای پراکنش زیست‌مندان نواحی شمالی به سمت جنوب را دارد (Gholamifard, 2010). رشته کوه‌های زاگرس، یکی بالاترین مناطق با اندمیسیم بالا در کشور است (Noroozi et al., 2018) و در این بین تنوع خارق‌العاده‌ای از خزندگان ایران در این ناحیه قرار گرفته‌اند (Rastegar-Pouyani et al., 2008).

فرایند کوه‌زایی زاگرس، نقش مهمی در فرایند گونه‌زایی *Timon* در این منطقه داشته است. زمان واگرایی *T. kurdistanicus* و *princeps* حدود ۴ - ۵ میلیون سال پیش تخمین زده می‌شود، که احتمالاً با بالا زدگی کوه‌های

تنوع و ساختار ژنتیکی سوسمار زاگرسی در ایران، توصیه می شود در گام نخست در پی مطالعات محیطی گسترده تر و شناسایی جمعیت های محلی ناشناخته باشیم و در گام بعد علاوه بر نشانگرهای میتوکندریایی، استفاده از نشانگرهای ژنوم هسته همچون ریز ماهواره ها پیشنهاد می شود.

ارزشمند، طی دهه های اخیر دائما مورد تعرض انسان بوده و روند تخریب همچنان ادامه دارد (فتاحی ۱۳۷۳). با ادامه روند کنونی، بزودی جمعیت های باقی مانده زیستمدان ساکن این جنگل ها نیز از بین خواهند رفت و بقای سوسمار زاگرسی در معرض انقراض جدی قرار خواهد داشت، که نیازمند تصمیم گیری و اقدام اساسی توسط سازمان حفاظت از محیط زیست است. بنابراین به منظور بررسی کامل تر

Wien, 73: 209-220.

Gholamifard, A. 2010. Endemism in the reptile fauna of Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 7, 13-29.

Hall, T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.

Hernández, M., Maca-Meyer, N., Rando, J.C., Valido, A., & Nogales, M. 2001. Addition of a new living giant lizard from La Gomera Island to the phylogeny of the endemic genus *Gallotia* (Canarian archipelago). *Herpetological Journal*, 11: 171-173.

Ilgaz, Ç. & Kumlutaş, Y. 2008. The Morphology and Distribution of Timon princeps (Blanford 1874) (Sauria: Lacertidae) in Southeastern Anatolia, Turkey. *North-Western Journal of Zoology*, 4 (2): 247-262.

Lanfear, R., Frandsen, P.B., Wright, A.M., Senfeld, T. & Calcott, B., 2016. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution*, 34(3), pp.772-773.

Mittermeier, R.A., Robles Gil, P., Hoffmann, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C.G., et al. 2004. Hotspots revisited: Earth's biologically richest and most endangered ecoregions. Mexico City: CEMEX;

Nguyen, L.T., Schmidt, H.A., Von Haeseler, A. & Minh, B.Q. 2015. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 32(1), pp.268-274.

Noroozi, J., Talebi, A., Doostmohammadi, M., Rumpf, S.B., Linder, H.P., Schneeweiss, G.M. 2018. Hotspots within a global biodiversity hotspot-areas of endemism are associated with high mountain ranges. *Scientific Reports*, 8, 10345.

Rastegar-Pouyani, N., Haji Gholi, K., Rajabzadeh, M., Shafiei, S., Anderson, S. 2008. Annotated checklist of amphibians and reptiles of

منابع

رحیمی، ا.، رستگارپویانی، ن. و کریمیانی، ر.، ۱۴۰۰. فون سوسماران شهرستان ارسنجان در شمال شرقی استان فارس. مجله پژوهش های جانوری (مجله زیست شناسی ایران) جلد ۳۴، شماره ۲، ۹۲-۱۰۵.

فتاحی، م. ۱۳۷۳. بررسی جنگل های بلوط زاگرس و مهمترین عوامل تخریب آن. موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع

Ahmadzadeh, F., Carretero, M.A., Harris, D.J., Perera, A. & Böhme, W. 2012. A molecular phylogeny of eastern group of ocellated lizard genus *Timon* (Sauria: Lacertidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Amphibia-Reptilia*, 33: 1-10.

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

Arnold, E.N.; Arribas, O. & Carranza, S. 2007. Systematics of the Palaearctic and Oriental lizard tribe Lacertini (Squamata: Lacertidae: Lacertinae), with descriptions of eight new genera. *Zootaxa*, 1430: 1-86.

Blanford, W.T. 1874. Descriptions of new Reptilia and Amphibia from Persia and Baluchistan. *Annals & magazine of natural history*, (4) 14: 31-35.

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

Clement, M., D. Posada, and K. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9(10):1657-1660.

Eiselt, J. 1968. Ein Beitrag zur Taxonomie der Zagros Eidechse, *Lacerta princeps* Blanf. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 72: 409-434.

Eiselt, J. 1969. Zweiter Beitrag zur Taxonomie der Zagroseidechse *Lacerta princeps* Blanford. *Annalen des Naturhistorischen Museums in*

Unterart der Eidechse aus dem persischen Kurdistan [in Russian with German summary] Travaux de l'Institut Zoologique de l'Academie des Sciences URSS, 3:303-308, 2 figs.

Tamura, K., Glen, S., & Kumar, S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38 (7), 3022–3027.

Uetz, P., Freed, P., Aguilar, R., Hošek, J., (eds.) 2021. The Reptile Database. Available from: <http://www.reptile-database.org> (accessed 22 May 2021).

Xia, X., 2018. DAMBE7: new and improved tools for data analysis in molecular biology and evolution. *Molecular biology and evolution*, 35(6), pp.1550-1552.

Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*. 4:7–30.

Rastegar-Pouyani, E., Rastegar-Pouyani, N., Noreini, S. K., Joger, U., & Wink, M. 2010. Molecular phylogeny of the *Eremias persica* complex of the Iranian plateau (Reptilia: Lacertidae), based on mtDNA sequences. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 158: 641–660.

Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), pp.1572-1574.

Sagheb Talebi, K., Sajedi, T. and Pourhashemi, M. 2013. Forests of Iran: a treasure from the past, a hope for the future. Springer, Netherlands.

Suchow, G. F. [as Suchov] 1936. Eine neue

پیوست

جدول ۱- اطلاعات نمونه های *Timon* استفاده شده در مطالعه حاضر، به همراه شماره دسترسی در بانک ژن NCBI

شماره دسترسی در NCBI	مکان	کد	گونه
OL830686	اطراف لردگان، استان چهارمحال و بختیاری	HAC_928	<i>Timon princeps</i>
OL830687	اطراف لردگان، استان چهارمحال و بختیاری	HAC_661	<i>Timon princeps</i>
OL830688	اطراف لردگان، استان چهارمحال و بختیاری	HAC_658	<i>Timon princeps</i>
OL830689	اطراف لردگان، استان چهارمحال و بختیاری	HAC_660	<i>Timon princeps</i>
OL830690	اطراف لردگان، استان چهارمحال و بختیاری	HAC_659	<i>Timon princeps</i>
JQ425830	سرو آباد، استان کردستان	DB6235	<i>Timon kurdistanicus</i>
JQ425831	سرو آباد، استان کردستان	DB6236	<i>Timon kurdistanicus</i>
JQ425832	سرو آباد، استان کردستان	DB6237	<i>Timon kurdistanicus</i>
JQ425833	سرو آباد، استان کردستان	DB6245	<i>Timon kurdistanicus</i>
JQ425835	سرو آباد، استان کردستان	DB6260	<i>Timon kurdistanicus</i>
JQ425836	جنوب آنتولی، ترکیه	DB6251	<i>Timon kurdistanicus</i>
JQ425834	ماردین، ترکیه	DB6252	<i>Timon kurdistanicus</i>
MN015170	نگل، استان کردستان	MV.LAC-176	<i>Timon kurdistanicus</i>
JQ425845	ياسوج، استان استان کهگیلویه بویر احمد	S3504	<i>Timon princeps</i>
JQ425844	ياسوج، استان استان کهگیلویه بویر احمد	DB6327	<i>Timon princeps</i>
JQ425843	ياسوج، استان استان کهگیلویه بویر احمد	DB6326	<i>Timon princeps</i>
JQ425842	اسلام آباد غرب، استان کرمانشاه	DB6257	<i>Timon princeps</i>
JQ425841	اسلام آباد غرب، استان کرمانشاه	DB6255	<i>Timon princeps</i>
JQ425840	دشت ارژن، استان فارس	DB6241	<i>Timon princeps</i>
JQ425839	دشت ارژن، استان فارس	DB6233	<i>Timon princeps</i>
JQ425837	اطراف خرم آباد، استان لرستان	DB6238	<i>Timon princeps</i>
JQ425838	اطراف خرم آباد، استان لرستان	DB6239	<i>Timon princeps</i>
DQ902142	اسپانیا	MVZ 232013	<i>Timon lepidus</i>
DQ902141	اسپانیا	MNCN 11977	<i>Timon lepidus</i>
DQ902140	اسپانیا	MNCN 11333	<i>Timon lepidus</i>
DQ902139	اسپانیا	MVZ 186062	<i>Timon lepidus</i>