

## Taxonomy of starred Agama *Laudakia stellio* in Syria using morphological Data and 12s rDNA in mitochondrial DNA

Dr. Aroub M. Al-Masri<sup>1\*</sup>, Banan Al-Shaikh<sup>1</sup>, Ismaeel Al-Saleh<sup>1</sup>, Dr. Manar Makhoul<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Biomedical & Animal Department | National Commission for Biotechnology | Syria

<sup>2</sup> IFZ Research Centre for Biosystems, Land Use & Nutrition | Justus Liebig University | Germany

Received:  
08/12/2022

Revised:  
18/12/2022

Accepted:  
25/01/2023

Published:  
30/06/2023

\* Corresponding author:

[aalmasri69@hotmail.com](mailto:aalmasri69@hotmail.com)

Citation: Al-Masri, A.

M., Al-Shaikh, B., Al-Saleh,

I., & Makhoul, M. (2023).

Taxonomy of starred

Agama *Laudakia stellio* in

Syria using morphological

Data and 12s rDNA in

mitochondrial DNA.

*Journal of agricultural,*

*environmental and*

*veterinary sciences*, 7(2),

14 – 30.

<https://doi.org/10.26389/AJSRP.C081222>

2023 © AISRP • Arab

Institute of Sciences &

Research Publishing

(AISRP), Palestine, all

rights reserved.

• Open Access



This article is an open

access article distributed

under the terms and

conditions of the Creative

Commons Attribution (CC

BY-NC) [license](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

**Abstract:** Morphological Study of the species *Laudakia stellio* in Syria (within nine years) shows that there are nine groups, which are characterized by their morphological characteristics such as pholidosis, morphometrics and color, each group in exist in a distinct geographical region. Among these nine groups, two of them had characteristics that are similar to known subspecies. These are *Laudakia stellio picea* known in northern Jordan and southern Syria in the black lava desert, and the subspecies *Laudakia stellio daani* known in southern Anatolia, which was found in Aleppo governorate. The rest seven groups distributed throughout Syria, are unique in its pholidosis, morphometrics, and color.

As for the molecular study through the sequence of the 12s rDNA gene in mitochondrial DNA (conducted in 2015), it shows the presence of two groups in Syria. The samples of the southern and southeastern region, in addition to the Jabbul sample, were located within one main clade with 6 branches close to each other, and the Jabbul sample was distinguished by its relative distance. The rest of the samples (central and northwestern) were part of another clade that included the comparison samples from southern Turkey and were distributed within 3 branches close to each other. The samples of the Lattakia region were similar to the samples of the Turkish Hatay. The second branch, contains samples from Hama and Tartous, while the third branch includes Turkish samples from Adana, thus the samples of *laudakia stellio* for which the mt 12S rDNA gene was sequenced were distributed into 9 genotypes within two distinct groups.

**Keywords:** *Laudakia stellio*; 12s rDNA; mtDNA; Phylogeny; morphology; Syria.

### تصنيف الحردون النجمي *Laudakia stellio* في سورية باستخدام البيانات المورفولوجية وبيانات تتالي المورثة 12s rDNA في الدنا الميتوكوندري

الدكتور / عروب محمد المصري<sup>1\*</sup>، بنان الشاikh<sup>1</sup>، اسماعيل الصالح<sup>1</sup>، الدكتور / منار مخلول<sup>2</sup>

<sup>1</sup> قسم الحيوانات الطبية والحيوانية | الهيئة العامة للثقافة الحيوانية | سورية

<sup>2</sup> اي اف زد مركز أبحاث النظم البيئية واستعمالات الأراضي والتغذية | جامعة بوستس ليبغ | ألمانيا

**المستخلص:** تبين الدراسة المورفولوجية للنوع *Laudakia stellio* في سورية والتي أجريت على مدى تسع سنوات وجود تسع مجموعات تتميز بصفتها المورفولوجية القياسية والحرفية واللونية وتوجد كل مجموعة في منطقة متميزة جغرافياً. وقد انطبقت صفات مجموعتين منها على صفات نوعين وهما النوع *Laudakia stellio picea* المعروف سابقاً في شمال الأردن وجنوب سورية في المنطقة البركانية السوداء وكذلك النوع *Laudakia stellio daani* المعروف في جنوب تركيا والذي وجد في مناطق ريف حلب على الحدود الشمالية، أما باقي المجموعات السبع المتميزة لونها وحرفياً وبيومترياً المنتشرة في سورية فلم تنطبق صفاتها على الصفات المدروسة سابقاً للنوعيات. أما الدراسة الجزيئية عبر تتالي المورثة 12s rDNA في الدنا الميتوكوندري والتي أجريت في العام 2015 فتبين وجود مجموعتين في سورية حيث توضع عينات المنطقة الجنوبية والجنوبية الشرقية إضافة لعينة الجبول ضمن فرع رئيسي واحد له 6 أفرع قريبة من بعضها البعض وتميز منها عينة الجبول بابتعادها النسبي.

وكانت باقي العينات (الوسطى والشمالية الغربية) ضمن مجموعة أخرى ضمت معها عينات المقارنة من جنوب تركيا وتوزعت ضمن 3 أفرع قريبة من بعضها، حيث تشابهت عينات منطقة اللاذقية مع عينات لواء اسكندرون التركية. أما الفرع الثاني ففيه عينات حماه وطرطوس، والفرع الثالث للعينات التركية من أضنه. وبذلك تكون عينات *laudakia stellio* التي أجري سلسلة مورثة ال mt 12S rDNA لها، قد توزعت إلى 9 طرز وراثية ضمن مجموعتين متباينتين.

**الكلمات المفتاحية:** *Laudakia stellio*; 12s rDNA; mtDNA; علم النسلية; مورفولوجيا; سورية.

## المقدمة:

يعتبر الحردون النجمي *Laudakia stellio* عذاء ساكنة صخور rupicolous متوسطة الحجم [1]، وهو من أكثر الزواحف حضوراً في البيئة الطبيعية والحضرية والريفية في شرق المتوسط [2, 3].

## الهدف من الدراسة:

دراسة الوضع التصنيفي للحردون النجمي *Laudakia stellio* في سورية مورفولوجيا وباستخدام بيانات تتالي المورثة rDNA 12s في الدنا الميتوكوندري

## الدراسات السابقة:

حسب الدراسات السابقة يعرف في سورية ثلاث نويغات من الحردون النجمي *Laudakia stellio* وهي النوع *L. s. daani*، الذي ينتشر في شمال سورية المحاذي للحدود التركية والنوع *L. s. picea* الذي ينتشر في جنوب سورية المحاذي للحدود الأردنية من الجهة الشرقية والنوع *L. s. stellio* الذي ينتشر في باقي المناطق المتنوعة بيئياً وجغرافياً، وهو نوع شديد التنوع الشكلي ما يجعل احتمال وجود تنويغات قد ترتقي إلى مرتبة النوع أمراً محتملاً، لذلك كان لا بد من دراسة مورفولوجية وجزئية لتبيان حقيقة الأمر [4, 5].

هناك نقاش طويل في الأوساط العلمية حول تصنيف الحردون النجمي *Laudakia stellio*، هذا وقد جرى جدل أدى إلى إعادة تقييم يستند إلى مورفولوجيا الجنس *Laudakia* [6]، وتم بناء عليه تقسيمه إلى ثلاثة أجناس: *Laudakia* و *Paralaudakia* ووحيد النمط *Stellagama* [6] كما جرت دراسة واسعة النطاق للقرابة باستخدام خمس معلمات جزئية ميتوكوندرية وسبع معلمات جزئية نووية تدعم بقوة أحادية جذر *Laudakia*، مما يجعل التقسيم المذكور أعلاه غير مبرر [7]. على الرغم من أن هذه الدراسة كانت تفتقر إلى الكثير من البيانات من فصائل حرشفيات معينة، وتقتصر لجنة التصنيف التابعة للجمعية الأوروبية لعلم البرمائيات والزواحف Societas Europaea Herpetologica SEH باستخدام اسم *Laudakia stellio*، وإدراج " *Stellagama* " genera و *Laudakia / Paralaudakia* داخل *Laudakia*، حتى تشير الدراسات المنشورة الجديدة إلى خلاف ذلك [8].

ويقترح الباحثون حسب أحدث الدراسات أن النوع الموجود في سورية عموماً يندرج تحت النوع *Laudakia vulgaris* stat. nov. الشامل مكانياً لجميع التجمعات من مصر والأردن وفلسطين وجنوب غرب وغرب سورية (شرق تدمر). [9, 10]

كان تصنيف الحردون النجمي من المسائل العصبية على الحل إذ أنه وعلى الرغم من تقسيمه إلى سبعة نويغات موجودة في نطاق توزيعه إلا أن التنويغات الشكلية الموجودة في سورية كانت وما تزال عصبية على التفسير وفي محاولة التفسير هذه وكما صرح الباحثون [5] و [11] مازالت بعض المراجع تسميها *L. stellio. ssp* أي مازالت غير معروفة الوضع التصنيفي، ورغم أن لينيوس Linnaeus وصفه في العام 1758 فمازالت حالته التصنيفية بين النوعية غير واضحة، وتعرف للنوع ستة نويغات في محيط توزيعه:

*L. s. stellio* في سيكلادس *L. s. daani*، في جزر بحر إيجه والأناضول والمناطق المجاورة *L. s. cypriaca* في قبرص *L. s. picea* في شمال شرق الأردن، *L. s. brachydactyla* في النقب والمناطق المجاورة، *L. s. vulgaris* في مناطق مصر الجنوبية والنوع السابع *L. s. salehi* الذي يمكن اعتباره حديثاً في جنوب سيناء وذلك فقط أخذ "تأثير سيلغمان" Seligmann effect بعين الاعتبار وإقصاء كل العينات التي ينقصها الذيل الكامل عن المقارنة. تختلف هذه النويغات بسميزات مورفولوجية متنوعة، بما فيها اللون وبالخصوص عدد الصفائح تحت الإصبعية، ومهما يكن فإن كل الجماعات في مركز المجال من شمال سورية إلى شمال النقب، تبقى غير مدروسة وغير محددة وغير مسماة. ودراستها مرهونة بتنويغات شكلية مختلفة (متعارضة جزئياً) وتأثير سيلغمان [5].

الجدول رقم (1) أعداد الصفائح تحت الإصبعية في الإصبع الرابع للطرف الخلفي في عينات لسبعة نوبعات في النوع *Laudakia stellio* (بالترتيب الجغرافي من الشمال الغربي إلى الجنوب) [5]

النوع	الصفائح تحت الإصبعية			المتوسط	العدد	المصدر
	الحد الأدنى	الحد الأعلى				
<i>L.s.stellio</i>	16	21		18.5	25	[12]
<i>L.s.daani</i>	16	23		19.6	33	[12]
<i>L.s.cypriaca</i>	22	28		25.8	16	[4]
<i>L.s.picea</i>	19	22		20.7	8	[4]
<i>L.s.brachydactyla</i>	15	22		17.5	32	[13]
<i>L.s.salehi</i>	16	22		19.4	24	[13]
<i>L.s.vulgaris</i>	23	29		25.9	50	[4]

وقد أصبحت العينات المتحفية محدودة الأهمية من خلال الاكتشاف الحديث حيث أن الحدود بين النوبعية انزاحت بشكل واضح في العقود الحالية وقد يكون ذلك بسبب التغيرات البيئية التي سببها الإنسان [5]. وقد حدد Daan مجالاً للتلون يمكن من خلاله مقارنة المجموعات المدروسة في مجال النوع يمكن تلخيص هذه الصفات اللونية في جدول لتسهيل المقارنة.

جدول رقم (2) يظهر التمييز بناء على اللون بين أنواع الجنس *Laudakia stellio* حسب [4]

المجموعة	لون الأرضية في الظهر	لون الرأس	وجود البقع الظهرية	لون البقع الظهرية	وجود بقع فقرية	وجود بقع حلقية	لون المنطقة والبقع الحلقية	وجود بقعة رقبية	لون البقعة الرقبية	المكان
A	اسود إلى رمادي	اصفر ساطع	+	بقع فاتحة		لا يوجد أو مرمرة خفيفة جداً		+	بقعة سوداء أو رمادية داكنة	سيكلادوس
B	رمادي مزرق أو مائل للبي	رمادي			+	مبقع		غير واضحة		سبورادوس تركيا لبنان فلسطين سورية
C	لون داكن وبقع داكنه على الحراشف الكبيرة في الأكتاف				+	لا يوجد في البالغين		لا يوجد في البالغين		قبرص
D	لون الأرضية متنوع، من الأصفر الباهت إلى الأصفر البرتقالي المائل للرمادي				+	لا يوجد بقع حلقية، ولا يوجد مرمرة	لون المنطقة داكن	لا يوجد		النقب السعودية سيناء
E	لون الأرضية رمادي مائل			موجودة بشكل قليل		يوجد		لا يوجد		شمال غرب مصر

المكان	لون البقعة الرقبية	لون البقعة الرقبية	لون المنطقة والبقع الحلقية	وجود بقع حلقية	وجود بقع فقرية	لون البقع الظهرية	وجود البقع الظهرية	لون الرأس	لون الأرضية في الظهر	المجموعة
العراق جنوب تركيا سورية لبنان وغرب الأردن			الحلق بني داكن والبقع فاتحة	يوجد			لا يوجد بقع فاتحة		للبي الباهت	F
شرق الأردن				يوجد بقع في الإناث ولا توجد في الذكور			بقع برتقالية مبعثرة في صفوف عرضية على الظهر		لون الأرضية أسود	G

ويشير إلى أن هذه الاختلافات لا يمكن أن تكون بأي شكل من الأشكال اختلافات فردية ناتجة عن إمكانية تغيير اللون، وإمكانية أن تكون هذه الألوان التي تكون متجانسة في المجموعات الموجودة في موقع واحد حتماً والمختلفة عن قريباتها في المواقع المجاورة ناتجة عن تكيف مع البيئة المحيطة biotope بحيث يمكن تسميتها أنماطاً بيئية ecotype [4].

وقد وصفت نوعيات محلية محددة بشكل جيد حول مجال النوع وعلى أطرافه: كما النوع *L.s. vulgaris* في مصر السفلى (مشابهاً *L.s. daani*)؛ والنوع الميلاني *L.s. picea* [14] في الصحراء الأردنية البازلتية [15]؛ والنوع كبير الحراشف *L.s. brachydactyla* [16] من النقب وسيناء؛ والنوع الفضي نوعاً ما *L.s. cyprica* في قبرص [4]. وفي مركز المجال على شواطئ بلاد الشام من جنوب شرق الأناضول عبر لبنان وسورية والجزء المتوسطي من شمال فلسطين والأردن، [17] وجنوباً حتى حدود وجود *L.s. vulgaris* و *L.s. brachydactyla* [18] فإن التنوعيات المتشعبة المعقدة للحردون تبقى تصنيفياً غير محلولة [13, 19]

أما بالنسبة للدراسات الجزيئية فقد تحدث Leache [20] عن تصنيف الجنس *Agama* في أفريقيا باستخدام بيانات تنطوي الدنا الميتوكوندري ووصف وجود 19 نوعاً تحليل التشابه الوراثي الأقصى ل 1.81 زوجاً نوكلويدياً من بيانات التنطوي للدنا الميتوكوندري، وتوصل إلى بعد الجنس *Laudakia* عن الجنس *Agama* اللذين كانا يعتبران جنساً واحداً فيما مضى،

كما خصص الباحثون [21] بحثهم كاملاً للتنوع الوراثي نوعيات النوع *Laudakia stellio* في تركيا باستخدام المورثة 12s rDNA في الدنا الميتوكوندري، وتوصلوا إلى أن مجموعة جنوب البحر الأسود ربما تمثل النوع *L. s. daani* لكن مناطق جنوب تركيا تبقى بحاجة إلى دراسة تفصيلية وأشاروا إلى أهمية دراسة النوع في سورية وخاصة في شمالها لاستكمال باقي الصورة التصنيفية.

### مواد وطرائق عمل الدراسة:

اعتمدنا من أجل الدراسات التصنيفية، وكما أشار عدد من الباحثين [4، 22، 23] على الدراسة المورفولوجية القياسية والشكلية والخصائص النسبية. ولم يتم اعتماد مجموعة الخصائص المعقدة التي استخدمها

Boehme و Moody [24] بل اعتمدنا على طريقة Lachman [13] معتبرين أن الصفات الأساسية هي التي تعبر عن الاختلافات التصنيفية كما أشار [12] وسجلنا الصفات الحرشفية المتناظرة في الجانبين [13].

#### الصفات المدروسة:

يمكن تمييز الجنس في النوع *Laudakia stellio* بسهولة بسبب مجال الحراشف الحبيبية القاسية قبل الشرجية والحزمة الطولية من الحراشف الحبيبية المشابهة في منتصف البطن لدى الذكور [12, 25].  
الصفات القياسية المعتمدة: طول الرأس والجذع، طول الذيل، طول الرأس، طول الطرف الأمامي، طول الطرف الخلفي، معدل الطول بين الأطراف.

الصفات الحرشفية المعتمدة: الحراشف تحت الإصبعية، عدم التناظر النسبي في الحراشف تحت الإصبعية، ونمط التحرشف الظهري: التقييم البصري الكمي لدرجة تغطية الظهر بحراشف متضخمة، بالاعتماد على [4] على مقياس من 0 إلى 15 وهو الشكل المعدل من قبل الباحث Lachman [13]. واللون: في الحقل أو في المخبر مسجلا بالتصوير.

#### العينات المحققة:

تم توثيق وجود العينات من خلال جمع عينة واحدة على الأقل خلال مدة الدراسة. وتم إيداعها في الهيئة العامة للتقانة الحيوية.

تمت الدراسة الحقلية خلال الأعوام 2007-2008-2009-2010 بهدف تحديد التوزيع والوضع الحالي للأنواع في دراسة سابقة [26] أما الدراسة الجزيئية فقد أجريت في العام 2015 .

جمعت عينات الحراذين المحفوظة بالآيتانول لعدة سنوات والموزعة إلى تسع مجموعات تصنيفية وفق

الجدول رقم (3). تم التأكد من أن العينة تعود إلى النوع *Laudakia stellio*

الجدول رقم (3): بين العينات المستخدمة في البحث

المكان	المجموعة التصنيفية	المجموعة
الفرنلق-اللاذقية	<i>L. s. ssp</i>	A
مغيرات الشبلي- (السفيرة) بلوزة – (الجبول)	<i>L. s. ssp</i>	B
قلعة أبو قبيس	<i>L. s. ssp</i>	C
طريق حماه السلمية	<i>L. s. ssp</i>	D
طريق حمص طرطوس	<i>L. s. ssp</i>	E
مسحرة- القنيطرة سد كودنة عين حور	<i>L. s. ssp</i>	F
أبو جرش- قلب مدينة دمشق	<i>L. s. ssp</i>	G
العتيبة – ريف دمشق	<i>L. s. ssp</i>	H
ارض الكراع- السويداء رضيمة الشرقية	<i>L. s. ssp</i>	I
كناكر السويداء	<i>Trapelus_ruderatus</i>	عينة خارجية كشاهد

**تحضير العينات :**

تم أخذ عضو اللسان من كل عينة من العينات المدروسة المحفوظة اصلاً بالايثانول لعدة سنوات باستخدام مشروط عقيم وتم نقع اللسان بالماء المقطر العقيم ضمن اطباق بترى عقيمة ليوم كامل لضمان عدم التلوث الاعتراضي بالدنا وفي اليوم التالي تم شطف العينة عدة مرات لضمان التخلص من آثار الايثانول المتبقي خلال عملية حفظ العينات. تم وضع كل عينة في أنبوب ابندورف عقيم وحفظت في المجمدة (-20 م) للاستخدام لاحقاً. تم تقطيع عينة اللسان تقطيع ميكانيكي وأخذ منه عينة بوزن 50 ملغ في كل مرة.

**استخلاص الدنا:**

تم عزل الدنا الكلي من كل عينة باستخدام طاقم عزل مناسب (QIAamp Blood MiniKit) من شركة كياجين (Qiagen, Germany)، واتبعت الإجراءات الخاصة بعزل الأنسجة والموصى بها من الشركة الصانعة مع إجراء بعض التعديل [27]. تم قياس كمية الدنا في طول الموجة 260 نانومتر واستخدمت نسبة الامتصاص 260/280 لتعيين جودة الدنا (<1.7). تراوحت كمية الدنا المستخلصة بالطريقة المتبعة بين 20-60 ميكروغرام وتراوحت نقاوتها بين 1.6 - 2. تم ترحيل الدنا المستخلصة على هلامة آغاروز 1%.

**تضخيم الدنا:**

تم استخدام مرئستين عامتين (DNA alpha, Canada) Universal primers لتضخيم المورثة mt 12S rDNA

وهما:

Forward Primer: 5`- CAA ACT GGG ATT AGA TAC CCC ACT AT -3`

Reverse Primer: 5`- GAG GGT GAC GGG CGG TGT GT -3`

كما هو موضح من قبل Kocher [28] وإجراء التضخيم في أنابيب PCR 0.2 مل ، حيث احتوى كل أنبوب على الإضافات التالية: 5 μl من الواقى الخاص بالتضخيم 10X ، 1.5 μl مزيج نيوكليوتيدات 2mM ، 1.5 μl من الواقى المحتوي على شوارد Mg<sup>2+</sup> 50 mM ، 1.5 μl من أنزيم تاك بوليميراز 1U/μl من شركة (Euroclone, Germany) ، 2.5 μl من كل مرئسة 8 μM ، 5 μl دنا منحل في ماء خاص مكافئة لكمية 20 نانوغرام من الدنا. تم اكمال حجم التفاعل 50 μl بإضافة ماء خاص بالبيولوجيا الجزيئية خال من الأنزيمات الهاضمة للدنا والرنا (Roth, Germany). استخدم المدور الحراري من الطراز Mastercycler (Eppendorf, Germany) وفق شروط الدورات الحرارية التالية: 5 دقيقة بدرجة حرارة 94 °م للمسخ الأولي initial denaturation، ثم أتبع بـ 30 دورة تضخيم: 45 ثانية بدرجة حرارة 94 °م ، 45 ثانية بدرجة حرارة 60 °م ، 1 دقيقة بدرجة حرارة 72 °م. وأخيراً 10 دقيقة بدرجة حرارة 72 °م للاستطالة النهائية final extension [29]. تم ترحيل منتجات التضخيم على هلامة آغاروز 2% وصبغت ببرومايد الايثيديوم.

**الرحلان الكهربائي وعزل DNA المستهدفة من الهلامة:**

بعد نهاية التفاعل في جهاز التدور الحراري تم التحقق من نجاح التفاعل بإجراء عملية الرحلان الكهربائي الأفقي على هلامة آغاروز ذات تركيز 2% (Low melting agarose USA) تحت جهد كهربائي مقداره 100 Voltage لمدة ساعتين، تم تحميل مؤشرين مختلفين في الوزن الجزيئي (1Kbp ladder, 50 bp). وعرضت بعد ذلك للأشعة فوق البنفسجية، وصورت باستخدام جهاز توثيق الهلامات Gel doc.

وعند مصادفة وجود أكثر من حزمة أثناء فصل نواتج تفاعل PCR على الهلامية، نقوم بعزل الحزمة المضاعفة المطلوبة من الهلامية وتنقيتها، عن طريق قطع الهلامية المحيطة بها وتنقيتها من الشوائب وبقايا هلامية الأغاروز باستخدام الكيت (QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) وإتباع التعليمات المرفقة به.

1- تم تنقية منتجات PCR من المرئسات الفائضة وغير المرتبطة unincorporated primers والنوكليوتيدات الحرة dNTPs استخدام ExoSAP-IT USB®( affymetrix) المعتمد على كلا من Exonuclease I و Shrimp Alkaline Phosphatase، وتمت التنقية وفقاً للخطوات التالية:

- أخذ 5µl من القطعة المضاعفة و 2µl من ExoSAP-IT.
- تحضين لمدة 15 دقيقة على درجة حرارة 37 مئوية.
- تحضين لمدة 15 دقيقة على درجة حرارة 80 مئوية.

2- بعد ذلك خضعت القطعة المضاعفة لتفاعلات تحديد التسلسل النوكليوتيدي المستهدفة باستخدام The BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit، وصممت تفاعلات تحديد التسلسل بحيث تتم قراءة كل موقع نوكليوتيدي مرتين على الأقل في مزيج التفاعل PCR التالي:

الجدول (4) مكونات تفاعل PCR

المكونات Components	الحجم Volume
Terminator Ready Reaction Mix	1µl
Primer (10µM) المرئس	0.5µl
5X Dilution Buffer	1.5µl
(30ng) DNA	1µl
RNase-free water	6µl
الحجم النهائي	10µl

وضعت الأنابيب الحاوية على المزيج السابق في جهاز التدوير الحراري Thermo-cycler لإنجاز تفاعل Cycle sequencing وفق البرنامج الحراري المبين في الجدول:

الجدول (5) الدورات الحرارية لتفاعل تحديد تسلسل الوراثة لكلا من ITS و B-Hordein

مراحل التفاعل	درجة الحرارة	المدة الزمنية
فك سلسلة Denaturation	96°C	10 sec
التحام المرئس Annealing	50°C	5 sec
تركيب السلسلة Extension	72°C	4 min

25 دورة

معدّل تبدّل درجات الحرارة = 1°C/sec

3- لتنقية نواتج التفاعل من فائض النوكليوتيدات الموسومة المعدلة unincorporated dye terminators تم استخدام DyeEx 2.0 Spin Kit (Qiagen)

4- تم تجفيف العينات باستخدام جهاز الطرد المركزي مع تفرغ الهواء CentriVap Concentrator لمدة 15 دقيقة.

5- إضافة 12 µl من محلول الفورماميد (ABI) Highly Deionized Formamide

6- تحميل العينات على جهاز تحديد التتابعات النوكليوتيدية (Applied Biosystem) ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer

استُخدم برنامج لتدقيق تسمية النيكلوتيدات basecalling وتحريرها editing، حيث حذفت التتابعات من النهايات ذات الجودة المنخفضة، تبع ذلك تجمع القراءات Reads الناتجة من عمليات تحديد قطع Segment

التتابعات النوكليوتيدية، ومن ثمّ اتمام لسلسلة ال Reverse وقلها لتوضع بشكل متجاور مع سلسلة ال Forward بهدف تحديد المناطق overlapping وحذف المتكرر بهدف الوصول إلى كامل التتابع. استُخدم برنامج Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA5) [30] لحساب مصفوفة التباعد التطوري بين سلاسل السلالات المدروسة وسلاسل نكليوتيدية لسلالات أخرى منشورة في قاعدة بيانات البنك الوراثي العالمي NCBI، أُجري التحليل وفق نموذج Maximum Composite Likelihood [30]، وأجري تحليل القرابة الوراثية الجزيئية بطريقة Maximum Likelihood المعتمدة على نموذج Kimura 2-parameter [31] ورسمت شجرة أولية اعتماداً على خوارزميات Neighbor-Join و BioNJ [32] باستخدام طريقة Maximum Composite Likelihood (MCL).

## النتائج والمناقشة:

تبين بنتيجة الدراسة اللونية والحرفية أن هناك تسعة تنوعات لونية في سورية متوزعة حسب مناطق توزع منفصلة نسبياً حيث درس النوع *Laudakia stellio* بشي من التفصيل تبين وجود تسع مجموعات من هذا النوع تتميز بصفاتهما المورفولوجية القياسية والحرفية واللونية وهي مجموعات منفصلة عن بعضها البعض في مناطق متميزة جغرافياً وقد انطبقت صفات مجموعتين منها على صفات نوعين معروفين سابقاً وهما النوع *Laudakia stellio picea* المعروف سابقاً في شمال الأردن وجنوب سورية في المنطقة البركانية السوداء وكذلك النوع *Laudakia stellio daani* المعروف سابقاً في مناطق جنوب تركيا والذي وجد في مناطق ريف حلب على الحدود الشمالية، أما باقي المجموعات وهي سبع مجموعات متميزة لونها وحرفياً وبيومترياً فلم تنطبق صفاتها على الصفات المدروسة سابقاً لتنوعات النوع *Laudakia stellio* وتوزعت على عدة مناطق في سورية: المنطقة A تشمل اللاذقية والفرنلق ونبع السن والمنطقة C وتشمل مناطق الغاب وريف حماه الغربي عموماً في سلحب وأبو قبيس وطاحونة الحلاوة والمنطقة D وتشمل مناطق السلمية وطريق تلدره باتجاه حماه وريف حماه الشرقي عموماً، والمنطقة E وتشمل منطقة ريف حمص الغربي وطريق حمص طرطوس قرب قلعة الحصن وقرب الحدود اللبنانية الشمالية، والمنطقة F وتشمل غرب دمشق والجنوب الغربي لدمشق ودرعا والقنيطرة وغرب السويداء، والمنطقة G وتشمل قلب مدينة دمشق وضواحيها القريبة وغوطتها والمنطقة H وتشمل شرق مدينة دمشق في البادية في منطقة بحيرة العتيبة (السابقة).

حيث تتميز بالشكل التالي:

المجموعة A الموجودة في مناطق اللاذقية وغابات الفرنلق ونبع السن، تتميز بلون أرضية الظهر الرمادية والرأس الرمادي كما توجد بقع ظهرية باهتة عموماً تكون باللونين الرمادي الأفتح والأدكن من لون الأرضية كما توجد على الظهر بقع فقيرة، كما توجد بقعة رقبية فاتحة على خلفية داكنة وهذه الخلفية الداكنة تكون أدكن من لون باقي الظهر عموماً، أما على الحلق فنلاحظ تلوناً بشكل مرمرى يكون رمادياً وأبيض من الجهة الأقرب إلى الخطم ورمادياً وأسود من جهة الرقبة، ويكون البطن أبيض مرمرياً بشكل خفيف. يكون التحرشف فيها بدرجة تسعة على مقياس دان المعدل.

المجموعة B الموجودة في مناطق حلب والمناطق القريبة من الجبول، تتميز بلون أرضية الظهر الرمادية المائلة للأسود أو الأسود المائل للبي الداكن والرأس الأسود المائل للبي الداكن أو المائل للبي الداكن كما توجد بقع ظهرية قليلة عموماً تكون باللون الأصفر أو الأصفر المائل للبرتقالي كما توجد على الظهر بقع فقيرة، كما توجد بقعة رقبية صفراء، أما على الحلق فنلاحظ لون الأرضية السوداء مع بقع فاتحة أو صفراء باهتة موزعة على كل الحلق أو بشكل مرمرى، ويكون البطن أسود إلى رمادي مع بقع صغيرة مصفرة أو داكنة من الأمام وباهتاً من الخلف. يكون التحرشف فيها متفاوتاً بين الخمسة والتسعة على مقياس دان المعدل.

المجموعة C الموجودة في مناطق الغاب وريف حماه الغربي عموماً في سلحب وأبو قبيس وطاحونة الحلاوة وغيره، تتميز بلون أرضية الظهر الأسود المائل للرمادي الداكن والرأس الأسود المائل للرمادي الداكن كما توجد بقع ظهرية قليلة عموماً تكون باللون الرمادي الفاتح الأصفر الفاتح كما توجد على الظهر بقع فقيرة، كما توجد بقعة رقبية فاتحة، أما على الحلق فنلاحظ لون الأرضية السوداء مع بقع فاتحة قليلة، ويكون البطن أسود إلى داكن. يكون التحرشف فيها متفاوتاً بين الخمسة والثمانية على مقياس دان المعدل.

المجموعة D الموجودة في مناطق السلمية وطريق تلدره باتجاه حماه وريف حماه الشرقي عموماً، تتميز بلون أرضية الظهر الوردي البرتقالي إلى الرمادي والرأس الوردي البرتقالي القريب إلى البني كما توجد بقع ظهرية باهتة عموماً تكون صفراء رملية أو باهتة، توجد على الظهر بقع فقيرة في الجهة الأمامية فقط، كما تكون البقعة رقبية غير واضحة وباهتة رملية، أما على الحلق فنلاحظ لون الأرضية الرمادية مع بقع بيضاء صغيرة أو تكون بشكل مرمري، ويكون البطن ودياً باهتاً. يكون التحرشف فيها بدرجة خمسة على مقياس دان المعدل.

المجموعة E الموجودة في منطقة ريف حمص الغربي وطريق حمص طرطوس قرب قلعة الحصن وقرب الحدود اللبنانية الشمالية، تتميز بلون أرضية الظهر الرمادي إلى البني والرأس الرمادي كما توجد بقع ظهرية تكون فاتحة رملية، توجد على الظهر بقع فقيرة، كما تكون البقعة الرقبية رملية فاتحة، أما على الحلق فنلاحظ لون الأرضية أسود مع بقع فاتحة رملية صغيرة أو تكون بشكل مرمري، ويكون البطن متدرجاً من الرمادي الداكن قرب الكتفين إلى الرملي في الخلف ومرمياً في الوسط. يكون التحرشف فيها بدرجة خمسة على مقياس دان المعدل.

المجموعة F الموجودة في غرب دمشق والجنوب الغربي لدمشق ودرعا والقنيطرة وغرب السويداء، تتميز بلون أرضية الظهر الذي يكون أسود أو بني إلى رمادي أو أسود إلى بني والرأس أسود أو بني إلى رمادي أو أسود إلى بني كما توجد بقع ظهرية تكون صفراء مائلة للبرتقالي قد تتراقق مع بقع فاتحة وبقع سوداء صغيرة، توجد على الظهر بقع فقيرة برتقالية، كما توجد البقعة الرقبية وقد تكون غير واضحة، أما على الحلق فنلاحظ لون الأرضية رمادي داكن أو أسود مع بقع فاتحة رملية مصفرة أو صفراء باهتة أو بيضاء، ويكون البطن رمادياً داكناً صديئاً. يكون التحرشف فيها متفاوتاً بين الأربعة والخمسة على مقياس دان المعدل.

المجموعة G الموجودة في قلب مدينة دمشق وضواحيها القريبة وغوطها، تتميز بلون أرضية الظهر البنية والرأس البني المصفر، كما توجد بقع ظهرية تكون صفراء تتراقق مع بقع فاتحة وبقع سوداء صغيرة، توجد على الظهر بقع فقيرة، كما تكون البقعة الرقبية غير واضحة، أما على الحلق فنلاحظ لون الأرضية داكنة مع بقع فاتحة، ويكون البطن أبيض مرمياً. يكون التحرشف فيها متفاوتاً بين الخمسة والستة على مقياس دان المعدل.

المجموعة H الموجودة في شرق مدينة دمشق في البادية في منطقة بحيرة العتيبة (السابقة)، تتميز بلون أرضية الظهر الرمادية المزرققة أو المخضرة والرأس الرمادي، كما توجد بقع ظهرية تكون صفراء مع حراشف صغيرة بلون أزرق فيروزي على حافة البقع الصفراء الرملية، توجد على الظهر بقع فقيرة، كما تكون البقعة الرقبية صفراء، أما على الحلق فنلاحظ لون الأرضية الفاتحة مع نمط مرمري رمادي، ويكون البطن أبيض مع بقع صغيرة جداً. يكون التحرشف فيها بدرجة خمسة على مقياس دان المعدل.

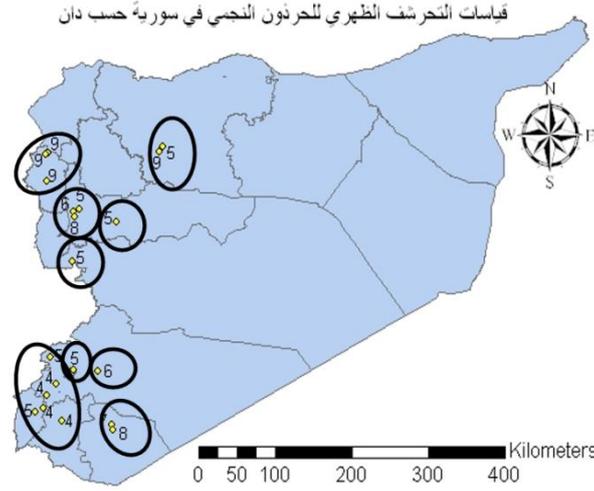
المجموعة I الموجودة في منطقة شرق السويداء في المنطقة البركانية شديدة السواد كما في خربة الأمباشي وأرض الكراع وأرض السدر والرضيمة الشرقية، تتميز بلون أرضية الظهر السوداء والرأس الأسود، كما توجد بقع ظهرية تترتب في صفوف عرضية تكون صفراء إلى برتقالية، تكون البقع الفقيرة على الظهر غير واضحة تماماً، كما تكون البقعة الرقبية غير واضحة، أما على الحلق فنلاحظ أن البقع إما قليلة جداً أو موجودة بشكل متوسط وتكون الأرضية سوداء أو داكنة مع بقع فاتحة في الإناث، ويكون البطن أسود إلى أزرق في الذكور وأبيض مرمياً في الإناث. يكون التحرشف فيها متفاوتاً بين السبعة والثمانية على مقياس دان المعدل.



الشكل (1): A: النوع *Laudakia stellio ssp* في الفرنلق B: النوع *Laudakia stellio daani* مغيرات الشبلي ريف حلب C: النوع *Laudakia stellio ssp* في طاحونة الحلاوة الغاب D: النوع *Laudakia stellio ssp* سلمية تلدة E: النوع *Laudakia stellio ssp* في طريق حمص طرطوس F: النوع *Laudakia stellio ssp* في خان الشيخ G: النوع *Laudakia stellio ssp* من منطقة أبو جرش قلب مدينة دمشق H: النوع *Laudakia stellio ssp* في العتبية I: النوع *Laudakia stellio picea* في أرض الكراع-السويداء

نلاحظ أن هناك مجموعتين تتطابق أوصافهما اللونية مع مجموعات معروفة سابقاً حيث تتوافق المجموعة I مع أوصاف المجموعة الموصوفة لدى Daan [4] تحت اسم G والتي تم الاتفاق على تصنيفها كالنوع *Laudakia stellio picea*، كما تتوافق أوصاف المجموعة B مع أوصاف النوع *Laudakia stellio daani* كما وصفها [12] أما باقي المجموعات فلا تتطابق مع الوصف اللوني لباقي المجموعات التي وصفها [4].

تشابه المجموعات اللونية فيما بينها أحياناً رغم التباعد الجغرافي ووجود مجموعات مختلفة عنها بين المجالين كمثال تشابه المجموعة A مع المجموعة E لونيا، وكذلك تشابه المجموعة B والمجموعة C والمجموعة F لونيا، أما المجموعات D و H و G فهي متميزة ولا تشبه غيرها من المجموعات في باقي أنحاء سورية، يمكن أن نرى أحياناً ما يمكن اعتباره اختلاطاً بين صفات المجموعتين F و I في مناطق غرب السويداء وظهر الجبل.

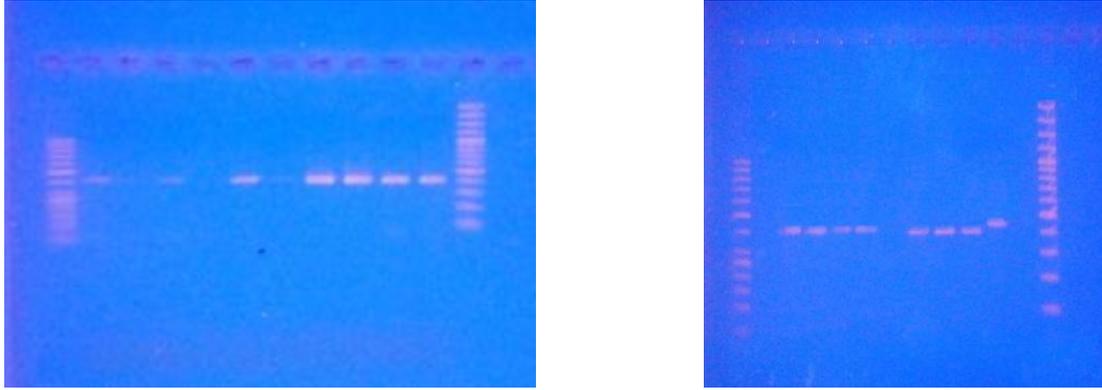


الشكل (2) المجموعات المقسمة حسب التحرشف الظهري للنوع والتي تتوافق مع المجموعات اللونية. أما نتائج القياسات الحرشفية فتظهر أنه عند مقارنة أعداد الصفائح تحت الإصبعية في الإصبع الرابع في الطرف الخلفي تتوافق نتائج عينات المجموعة A مع نتائج الدراسات السابقة حيث معدل عدد الصفائح هو 20 وهو يقع ضمن المجال الطبيعي الذي يتراوح بين 19 و 22 صفيحة بمتوسط 20.7 حيث يدعم الاستنتاج بأن عينات هذه المجموعة تتبع للنوع *L. s. picea*. وكذلك تتوافق النتائج في المجموعة B مع نتائج الدراسات السابقة حيث معدل عدد الصفائح هو 20.25 وهو يقع ضمن المجال الطبيعي الذي يتراوح بين 61 و 23 صفيحة بمتوسط 19.6 حيث يدعم الاستنتاج بأن عينات هذه المجموعة تتبع للنوع *L. s. daani*. أما بالنسبة لعينات المجموعة A فهي تتوافق مع عينات لواء اسكندرون من حيث معدل عدد الصفائح تحت الإصبعية في الإصبع الرابع في الطرف الخلفي حيث تبلغ قيمته 24.5 وهو ضمن المجال الذي حدده [33] لليافعين أي 24-27 رغم أنها لا تتوافق في نسبة طول الرأس إلى طول الرأس والجسم التي تبلغ 35.47 في حين أن مجالها للعينات اليافعة من لواء اسكندرون هي 33.3-29.6 وهذا دليل آخر على اختلاف هذه العينات عن عينات تلك المنطقة.

حيث حدد Baran و Göçmen [33، 34] وجود *L. s. daani* في غرب الأناضول ولكن حددت جماعة جنوب شرق الأناضول بما فيها لواء اسكندون على أنها *L. s. stellio*. مفترضين التوزع في مجموعتين منفصلتين له (حيث أن النوع *L. s. stellio* يوجد فقط في الجزيرتين اليونانيتين ميكونوس وديلوس) ولكنهم لم يسجلوا ألوان الرأس البراقة المميزة لهذا النوع في تلك المنطقة وهكذا وحسب نتائج [12] الذي لا يدعم هذه الفرضية، وجد أن نتائج البحث الحالي تدعم هذه الفرضية التي تقول بأن عينات الفرنلق واللاذقية لا تتوافق في صفاتها مع النوع *L. s. daani* لا من حيث الألوان ولا من حيث التحرشف الظهري ولا عدد الصفائح تحت الإصبعية في الإصبع الرابع في الطرف الخلفي. يقول Esterbauer [35] أن *Laudakia stellio picea* موجود في حمص وحماه وحلب ودير الزور وهذا الكلام موضع شك حقيقي لعدم كفاية التلوين كمياري للتصنيف ولعدم تطابق نمط التلوين وعدد كبير من الصفات الأخرى كذلك.

وهكذا وبجمع النتائج المورفولوجية جميعها نستنتج وجود تسع مجموعات للنوع *Laudakia stellio* في سورية اثنان منها يتطابقان مع النويغات المعروفة سابقا وهما *L. s. daani* و *L. s. picea* أما باقي المجموعات فيمكن وصفها بأنها حديثة الوصف وهي بحاجة إلى المزيد من الدراسات المعمقة لتبيان مدى امكانية كونها نويغات أم لا للنوع *Laudakia stellio*.

من أجل الدراسة الجزيئية عُرِّل الحمض النووي DNA للسلاسل المدروسة وقيست نقاوته وسلامته باستخدام الرحلان ، ثم أجري اختبار ال PCR باستخدام مرئستين عامتين لتضخيم المورثة mt 12S rDNA ورحلت منتجات ال PCR للتأكد من النقاوة الشكل (3) ثم أجريت السلسلة لهذه القطع.



الشكل (3): نتائج تفاعل ال PCR باستخدام مرئستين عامتين لتضخيم المورثة mt 12S rDNA والرحلان على هلامة الأغاروز 2% لعينات الحرذون المدروسة (1-14) وعينة عجل كشاهد (15)

حُدِّدَت توالي القطع الناتجة وقيست نسبة التشابه باستخدام قواعد بيانات NCBI

حُسب التباعد بين السلاسل باستخدام نموذج Maximum Composite Likelihood [30] في برنامج MEGA5، وأظهرت النتائج (الجدول 6) عدم وجود تباين بين بعض العينات المدروسة عينات (حماة- سلمية، طريق حمص-طرطوس، قلعة أبوقيس) وكانت عينة الفرنلق وسلالة المقارنة 1-GU952118.1\_Laudakia\_stellio\_Hatay-1 المتطابقتين الأقرب إليهما بتباعد قدره 0.4 % تلتهما عينة السفيرة (المطابقة مورفولوجيا للنوع *L. daani*) ثم سلاسل المقارنة 1-GU952116.1\_Laudakia\_stellio\_Gaziantep-1 ثم 1-GU952112.1\_Laudakia\_stellio\_Adana-1، 2-GU952123.1\_Laudakia\_stellio\_Sanliurfa-1، 1-GU952122.1\_Laudakia\_stellio\_Sanliurfa-1

وسلاسل 1-GU952120.1\_Laudakia\_stellio\_Mugla-1 و 1-GU952114.1\_Laudakia\_stellio\_Amasya-1

بينما ابتعدت أكثر باقي العينات المدروسة؛ حيث وصلت إلى 7.3 % مع عينة أرض الكراع وعينة الجبول من جهة أخرى كانت عينات (أبو جرش، سد كودنة، رضيمة الشرقية) متطابقة فيما بينها والأقرب إليهم عينات عين حور ومسحرة بتباعد 0.4 %، ثم عينات (أرض الكراع، العتيبة والجبول) بمسافة وراثية قدرها 0.8 % والملاحظ أن هذه العينات جميعها من المنطقة الجنوبية والجنوبية الشرقية القريبة من النوع *L. picea* مورفولوجيا باستثناء عينة الجبول التابعة للمجموعة B والمشابهة مورفولوجيا للنوع *L. daani*.

وتباينت كثيرا العينة الخارجية *Trapelus ruderatus* وكانت قريبة لسلاسل المقارنة التابعة للجنس *Trapelus*

الجدول (6) العينات المدرجة في مصفوفة التباعد التطوري

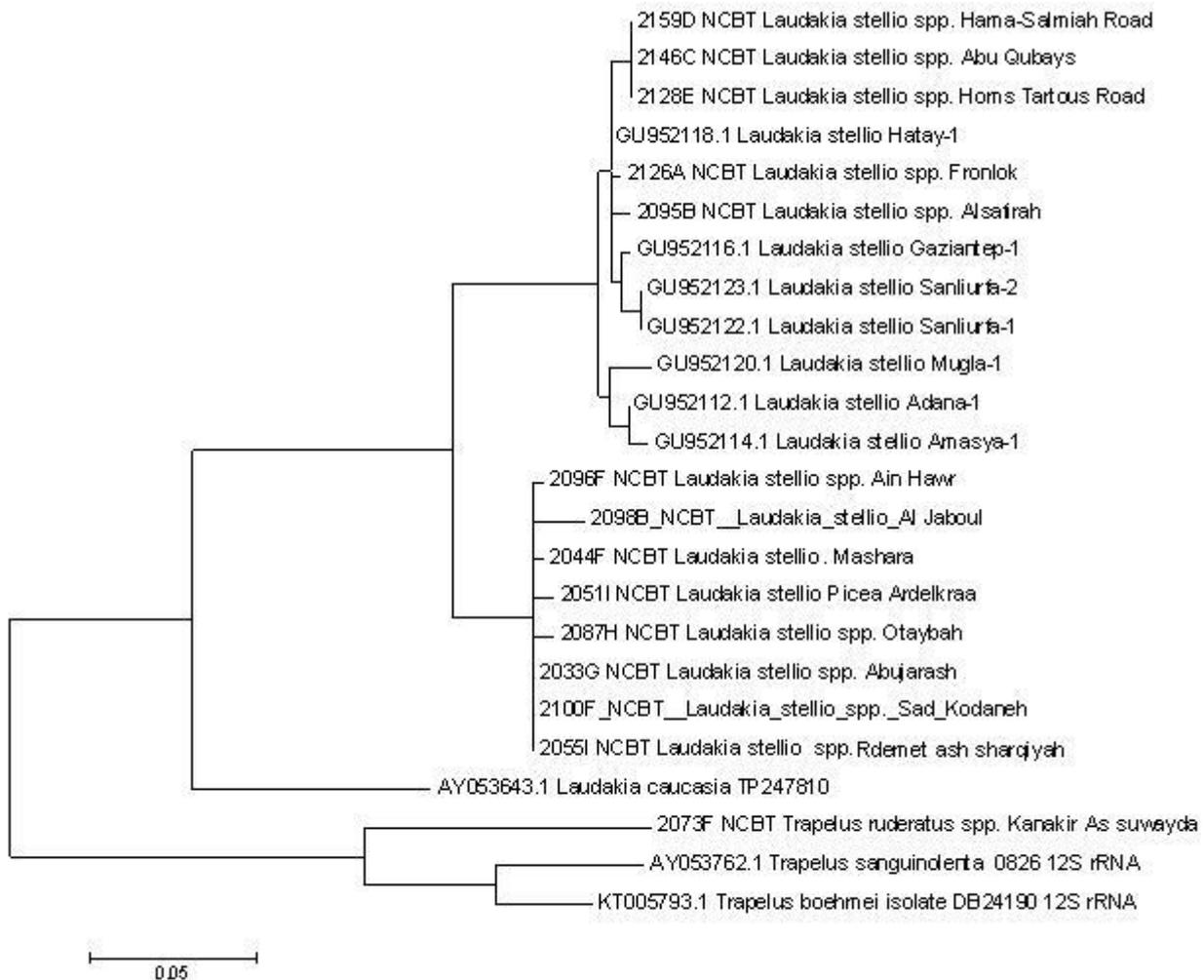
1:	2033G_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Abujarash
2:	2051I_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Ardelkraa
3:	2098B_NCBT_Laudakia_stellio_Al_Jaboul
4:	2100F_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Sad_Kodaneh
5:	2126A_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Fronlok

6:	2128E_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Homs_Tartous_Road
7:	2159D_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Hama-Salmiah_Road
8:	2087H_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Otaybah
9:	2095B_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Alsafirah
10:	2146C_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Abu_Qubays
11:	2044F_NCBT_Laudakia_stellio. Mashara
12:	2073F_NCBT_Trapelus_ruderatus_spp._Kanakir_As_suwayda
13:	2055I_NCBT_Laudakia_stellio_picea._Rdemet_ash_sharqiyah
14:	2096F_NCBT_Laudakia_stellio_spp._Ain_Hawr
15:	GU952118.1_Laudakia_stellio_Hatay-1,
16:	GU952112.1_Laudakia_stellio_Adana-1
17:	GU952123.1_Laudakia_stellio_Sanliurfa-2
18:	GU952122.1_Laudakia_stellio_Sanliurfa-1
19:	GU952120.1_Laudakia_stellio_Mugla-1
20:	GU952116.1_Laudakia_stellio_Gaziantep-1
21:	GU952114.1_Laudakia_stellio_Amasya-1
22:	AY053643.1_Laudakia_caucasia_TP247810
23:	AY053762.1_Trapelus_sanguinolenta_0826_12S_rRNA
24:	KT005793.1_Trapelus_boehmei_isolate_DB24190_12S_rRNA

جدول (7): مصفوفة التباعد التطوري بين سلاسل العينات المدروسة وسلالات المقارنة المنشورة في قاعدة NCBI

24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1										
																								1									
																							0.008	2									
																						0.015	0.008	3									
																					0.008	0.008	0.000	4									
																			0.060	0.069	0.069	0.060	0.060	5									
																			0.004	0.064	0.073	0.073	0.064	6									
																		0.000	0.004	0.064	0.073	0.073	0.064	7									
																	0.073	0.073	0.068	0.008	0.015	0.015	0.008	8									
																0.073	0.008	0.008	0.004	0.065	0.073	0.073	0.065	9									
															0.008	0.073	0.000	0.000	0.004	0.064	0.073	0.073	0.064	10									
														0.068	0.069	0.011	0.068	0.068	0.064	0.004	0.011	0.011	0.004	11									
													0.280	0.332	0.323	0.287	0.332	0.332	0.325	0.287	0.287	0.293	0.287	12									
												0.287	0.004	0.064	0.065	0.008	0.064	0.064	0.060	0.000	0.008	0.008	0.000	13									
											0.004	0.293	0.008	0.064	0.065	0.011	0.064	0.064	0.060	0.004	0.011	0.011	0.004	14									
										0.060	0.060	0.325	0.064	0.004	0.004	0.068	0.004	0.004	0.000	0.060	0.069	0.069	0.060	15									
										0.011	0.064	0.064	0.339	0.069	0.015	0.015	0.073	0.015	0.015	0.011	0.064	0.073	0.073	0.064	16								
										0.015	0.011	0.064	0.064	0.323	0.068	0.015	0.015	0.072	0.015	0.015	0.011	0.064	0.064	0.073	0.064	17							
										0.000	0.015	0.011	0.064	0.064	0.323	0.068	0.015	0.015	0.072	0.015	0.015	0.011	0.064	0.064	0.073	0.064	18						
										0.031	0.031	0.023	0.019	0.073	0.073	0.332	0.077	0.023	0.023	0.081	0.023	0.023	0.019	0.073	0.081	0.081	0.073	19					
										0.027	0.011	0.011	0.019	0.008	0.060	0.060	0.325	0.064	0.011	0.011	0.068	0.011	0.011	0.008	0.060	0.060	0.069	0.060	20				
										0.027	0.023	0.023	0.008	0.019	0.073	0.073	0.332	0.077	0.023	0.023	0.081	0.023	0.023	0.019	0.073	0.081	0.081	0.073	21				
										0.169	0.169	0.174	0.163	0.163	0.163	0.163	0.152	0.147	0.307	0.142	0.169	0.169	0.147	0.169	0.169	0.163	0.147	0.152	0.147	0.147	22		
										0.319	0.339	0.339	0.346	0.330	0.330	0.325	0.325	0.278	0.278	0.175	0.272	0.332	0.323	0.291	0.332	0.332	0.325	0.278	0.278	0.284	0.278	23	
										0.073	0.316	0.376	0.360	0.383	0.365	0.365	0.360	0.360	0.305	0.298	0.155	0.291	0.360	0.358	0.312	0.360	0.360	0.360	0.298	0.298	0.305	0.298	24

يبين الجدول (7) تقديرات الاختلاف التطوري بين التتاليات يتم عرض عدد الاستبدالات الأساسية لكل موقع من بين التسلسلات. أجريت التحليلات باستخدام نموذج Maximum Composite Likelihood model [32]. تم التخلص من جميع المواقع التي تحتوي على فجوات وبيانات مفقودة. أجريت التحليلات التطورية في MEGA5 [30].



الشكل (4) شجرة التباعد الوراثي التطوري بين العينات المدروسة وعينات المقارنة المنشورة على NCBI باستخدام طريقة Maximum Likelihood في برنامج MEGA5

يظهر في الشكل (4). تحليل النشوء والتطور الجزيئي بطريقة الاحتمالية القصوى Maximum Likelihood method [30]. تم استنتاج التاريخ التطوري باستخدام طريقة الاحتمالية القصوى على أساس نموذج the Kimura 2-parameter model [31]. يتم عرض الشجرة ذات أعلى احتمالية للسجل (-1401.2806). تم الحصول على الشجرة الأولية للبحث التجريبي تلقائيًا عن طريق تطبيق خوارزميات Neighbor-Join and BioNJ [32] على مصفوفة من المسافات الزوجية المقدرة باستخدام the Maximum Composite Likelihood (MCL)، ثم تحديد الهيكل ذي قيمة احتمالية تسجيل فائقة. يتم رسم الشجرة إلى مقياس، مع قياس أطوال الفروع بعدد الاستبدالات لكل موقع. اشتمل التحليل على 24 تتالي نوكلويدية. أجريت التحليلات التطورية في برنامج MEGA5.

انقسمت شجرة التباعد الوراثي الشكل (4) إلى عنقودين حيث ضم الأول الجنس *Laudakia* والثاني الجنس *Trapelus*، وتم فصل الجنس *Laudakia* إلى نوعين *Laudakia caucasia* و *Laudakia stellio* موضوع الدراسة حيث انقسم النوع *laudakia stellio* بدوره إلى مجموعتين وافقت نتائج المصفوفة حيث توضع عينات المنطقة الجنوبية والجنوبية الشرقية إضافة لعينة الجبول ضمن فرع رئيسي واحد له 6 أفرع قريبة من بعضها البعض وتميز منها عينة الجبول بابتعادها النسبي عن باقي العينات.

وباقى العينات المدروسة (الوسطى والشمالية الغربية) كانت ضمن مجموعة أخرى ضمت معها سلالات المقارنة المأخوذة من جنوب تركيا وتوزعت العينات المدروسة فيها ضمن 3 أفرع قريبة من بعضها حيث في فرع منها تشابهت عينات منطقة اللاذقية القريبة من لواء اسكندرون مع عينات لواء اسكندرون التركية أما الفرع الثاني الواضح تميزه ففيه عينات حماه وطرطوس والفرع الثالث للعينات التركية الأبعد من منطقة أضنه. وبذلك تكون عينات *laudakia stellio* التي أجري سلسلة مورثة ال mt 12S rDNA لها، قد توزعت إلى 9 طرز وراثية ضمن مجموعتين متباينتين.

بينما لاحظ Karameta [9] وجود فرع أسماه Clade 2 يحتوي مجموعات سورية ولبنان وشمال غرب سورية وتركيا واليونان وفيها سبع مجموعات فرعية منها ثلاث مجموعات رئيسية المجموعة الأولى في لبنان واسكندرون والمجموعة الثانية من *daani* و *stellio* ويبدو أن المجموعة الأخيرة غير واضحة المعالم حيث تظهر كمجموعة أخت داخل Clade 2 في تحليلات mtDNA ، حيث يبدو أن لها علاقة تشبه المجموعة الفرعية المجاورة لها ، *W Taurus* و *daani* [9]

يبدو أن دراسة عينات وسط سورية للنوع *Laudakia stellio* تظهر وجود مجموعات جديدة لم تكن مدروسة سابقاً تبدي تباينات وراثية طفيفة تختلف عما درس سابقاً بالإضافة إلى التميز الشكلي الظاهر. شكر وتقدير:

جزيل الشكر للهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق لتمويل القسم الجزيئي من هذا البحث، وللأستاذ الدكتور محمد ماهر قباقيي والأستاذ الدكتور عبد القادر رحمو، والسيد محمد عمر الشاعر.

## المراجع:

- 1- Schreiber, E., Herpetologia Europaea. Eine systematische Bearbeitung der Amphibien und Reptilien welche bisher in Europa ausgefunden sind. 1912, Jena: Fischer. 960.
- 2- Disi, A., et al., Amphibians and reptiles of the Hashemite Kingdom of Jordan: An atlas and field guide. Vol. 9. 2001, Frankfurt aM: Ed. Chimaira. 408.
- 3- Bodenheimer, F.S., Animal life in Palestine. 1935. 507
- 4- Daan, S., Variation and taxonomy of the hardun, Agama stellio (Linnaeus, 1758)(Reptilia, Agamidae). Beaufortia, 1967. 14(172): (p. 109-134.
- 5- Werner, Y.L., Systematical interpretation of the geographical variation in the common hardun (Reptilia: Agamidae: Laudakia stellio). Hardun 2007. 7: p. 8-15.
- 6- Baig, K.J., et al., A morphology-based taxonomic revision of Laudakia Gray, 18) 45Squamata: Agamidae). Vertebrate Zoology, 2012. 62(2): p. 213-260.
- 7- Pyron, R.A., F.T. Burbrink, and J.J. Wiens, A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. BMC evolutionary biology, 2013. 13(1): p.54-1 .
- 8- Speybroeck, J., et al., Species list of the European herpetofauna—2020 update by the Taxonomic Committee of the Societas Europaea Herpetologica. Amphibia-Reptilia, 2020. 41(2): p. 139-189.
- 9- Karameta, E., et al., The story of a rock-star: multilocus phylogeny and species delimitation in the starred or roughtail rock agama, Laudakia stellio (Reptilia: Agamidae). Zoological Journal of the Linnean Society, 2022. 195(1): p. 195-219.
- 10- Crochet, P., P. Lymberakis, and Y. Werner, The type specimens of Laudakia stellio (Linnaeus)(Reptilia: Agamidae) and its subspecies. Journal of Natural History, 40, 2006. 7(8): p. 461-471.
- 11- Disi, A.M., Jordan Country Study on Biological Diversity: The Herpetofauna of Jordan, 288p. 2002, Amman.
- 12- Almog, A., et al., Subspeciation or none? The hardun in the Aegean (Reptilia: Sauria: Agamidae: Laudakia stellio). Journal of Natural History, 2005. 39(7): p. 567-586.
- 13- Lachman, E., H. Carmely, and Y.L. Werner, Subspeciation befogged by the "Seligmann effect": the case of Laudakia stellio (Reptilia: Sauria: Agamidae) in southern Sinai, Egypt. Journal of Natural History, 2006. 40(19): p. 1259-1284.

- 14- Parker, H.W. A new Melanic Lizard from Transjordan, and some Speculations concerning Melanism. in Proceedings of the Zoological Society of London. 1935. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- 15- Werner, Y., Identity and distribution of *Agama stellio picea* Parker (Sauria: Agamidae), endemic to the volcanic desert of Jordan. *Zoology in the Middle East*, 1992. 6: p. 41-44
- 16- Haas, G., On the present state of our knowledge of the herpetofauna of Palestine. *Bulletin of the Research Council of Israel*, 1951. 1: p. 67-95.
- 17- HOOFIEN, J., CONTRIBUTIONS TO THE HERPETOFAUNA OF MOUNT HERMON No. II\* ON SOME LACERTIDS AND COLUBRIDS. *Israel journal of zoology*, 1967. 17: p. 199-204.
- 18- Panov, E. and L. Zykova, Differentiation and Interrelations of Two Representatives of the *Laudakia stellio* Complex (Reptilia, Agamidae) in Israel. *Russ. J. Herpetol*, 1997. 4(2): p. 100–114.
- 19- Schmidt, K.P., Reptiles and amphibians from southwestern Asia. 1939: Field Museum of Natural History.
- 20- Leaché, A.D., et al., Phylogeny of the genus *Agama* based on mitochondrial DNA sequence data. *Bonner zoologische Beiträge*, 2009. 56(4): p. 273-278.
- 21- Ozdemir, N., C. Gul, and M. Tosunoglu, Genomic Variation within *Laudakia stellio* (Linnaeus, 1758)(Sauria: Agamidae) in Turkey, Based on Analyses of Mitochondrial 12S rRNA Sequences. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2011. 10(4): p. 415-420.
- 22- Baig, K.J., Systematic studies of the *Stellio*-group of *Agama* (Sauria: agamidae). 1992, Quaid-i Azam University: Islamabad.
- 23- Baran, I. and O. Oz, Anadolu *Agama stellio* (Agamidae, Reptilia) populasyonlarının taksonomik aratılması (Taxonomische Untersuchungen an die *Agama stellio* (Agamidae, Reptilia) Populationen aus Anatolien). *Doga Bilim Dergisi A*, 1985. 2: p. 161–169.
- 24- Moody, S.M. and W. Boehme, Merkmalsvariation und taxonomische Stellung von *Agama doriae* Boulenger, 1885 und *Agama benueensis* Monard) 1951 .Reptilia: Agamidae) aus dem Sudangürtel Afrikas. *Bonn. Zool. Beitr*, 1984. 35: p. 107—128.
- 25- Boulenger, G., Catalogue of the lizards in the British Museum (Natural History). . 2 ed. Vol. I. 1885, London: Wheldon & Wesley.
- 26- Almasri, A., Taxonomy of the family Agamidae in Syria through morphological and ecological study and karyotyping, in Zoology Department. 2012, Damascus University: Damascus. p. 143.
- 27- Alshaikh, B., G. Sumainah, and A. Rahmo, Meat Species Identification using Molecular Methods. *Advances in Environmental Biology*, 2015. 5: p. 709-715.
- 28- Kocher, T., Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplifications and sequencing with conserved primers. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1989. 86: p. 189-191.
- 29- Girish, P., et al .Sequence analysis of mitochondrial 12S rRNA gene can identify meat species. *Meat Science*, 2004. 66(3): p. 551-556.
- 30- Tamura, K., et al., MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 2011. 28(10): p. 2731-2739.
- 31- Kimura, M., A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 1980. 16 : (2)p. 111-120.
- 32- Tamura, K., M. Nei, and S. Kumar, Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004. 101(30): p. 11030-11035.
- 33- Göçmen, B., M. Tosunoglu, and E. Taskavak, A Taxonomic Comparison of the *Hardun*, *Laudakia stellio*(Reptilia, Agamidae), Populations of Southern Turkey (Hatay) and Cyprus. *Zoology in the Middle East*, 2003. 28: p. 25-32.
- 34- Baran, I. and M. Atatür, Turkish herpetofauna (amphibians and reptiles). . 1998: Republic of Turkey Ministry of Environment. 214
- 35- Esterbauer, H., Zur Herpetofauna Südwestsiriens. *herpetofauna* 1985. 7 (38): p. 23-34.