مطالعه سن و اندازه بدن در دو جمعیت از قورباغه‌های مردابی (*Pelophylax ridibundus*) در شمال ایران

- **فریبا رجبی**: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
- **اسماعیل نوغانچی**: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
- **حسین جوان‌بخت***: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

تعیین سن جانوران برای کسب اطلاعات در مورد تاریخ زندگی گونه‌ها، رشد، سن، طول عمر و ساختار جمعیت مهم است. در دوزیستان سن شناختی اسکلتی روشی موثر برای تخمین سن می‌باشد. در مطالعه حاضر تعیین سن در ۵۰ نمونه (۲۰ نر و ۳۰ ماده) از دو جمعیت قورباغه *Pelophylax ridibundus* که در شمال ایران (رشت و ساری) پراکنش دارند انجام شد. نتایج برش انگشتان نشان داد که نرها به‌طور میانگین نسبت به ماده‌ها مسن‌ترند. محدوده سنی افراد جمعیت‌ها بین ٤ تا ۱۳ سال بود که میانگین سن در نرها ۲/۱۳±۸/۵۰ و میانگین سن در ماده‌ها ۱/٤۰±٦/۵۵ به‌دست آمد. جمعیت قورباغه‌های ساری بزرگ‌تر از قورباغه‌های رشت بودند. هم‌بستگی بین سن و طول پوزه تا مخرج (SVL) در هر دو محل مثبت بود. با این مطالعه، اطلاعات جدیدی درباره سن و اندازه *P. ridibundus* در شمال ایران به‌دست آمد. این نوع مطالعات در مورد گونه‌های یکسان و مشابه امکان می‌دهد تا اثرات زیست محیطی بر تاریخچه حیات آن‌ها درک شود. سن بلوغ برای طرح‌ریزی مطالعه تولیدمثل و برنامه‌های حفاظتی در آینده مفید خواهد بود.

کلمات کلیدی: سن شناختی اسکلتی، تعیین سن، *Pelophylax ridibundus*، Ranaidae

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: hjavanbakht@yahoo.com

مقدمه

سن شناختی اسکلتی روشی است که به‌طور گسترده برای تعیین سن در دوزیستان و خزندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد (YamanYakın و همکاران، ۲۰۱۵). کاربرد این روش برای گونه‌هایی است که در بافت‌های سخت استخوانی آن‌ها، نشانه‌های میکروسکوپی ایجادو تثبیت می‌شود که مبنای درست و قابل اطمینانی برای تخمین سن، ویژگی رشد و سایر خصوصیات مرتبط با بیولوژی گونه‌ها محسوب می‌گردد (Bastein و Leclair، ۱۹۹۲). در دوزیستان شرایط اقلیمی در رشد استخوان مؤثر و تعیین‌کننده می‌باشد. در طول دوره استراحت وخواب زمستانی رشد استخوان نسبت به فصل تابستان کاهش یافته و یا متوقف می‌شود و بافت استخوان ایجاد شده در فاصله فصل زمستان با بافت به‌وجود آمده در فصول فعال گونه از نظر میکروسکوپی فرق می‌کند (Sinsch، ۲۰۱۵؛ Haliday و Verrell، ۱۹۸۸). این اختلاف در ویژگی‌های رشد در دو فصل فعال و غیرفعال سبب می‌گردد که در مقطع عرضی بافت استخوانی این جانوران حلقه‌هایی شبیه حلقه‌های تنه درختان تشکیل شود(Mc Creary و همکاران، ۲۰۰۸). معمولاً حلقه‌بافت‌استخوانی که درطی فصل زمستان یا غیرفعال ایجادمی‌شودباریک‌تر بوده‌و هم‌چنین به‌دلیل تراکم متفاوت مواد آلی و معدنی بستر بافت استخـوان (نسبت به بافت ایجاد شده طی فصل فعال) بعد از رنگ‌آمیزی‌های معمول در آزمایشگاه بافت‌شناسی به‌صورت حلقه‌های تیره‌تری نمایان می‌شوند (Zivari و همکاران، ۲۰۱۷). به این حلقه‌ها اصطلاحاً خط توقف رشد (Lines of arrested grow) LAGs گفته می‌شودکه به‌صورت متمرکز خصوصاً در استخوان‌های دراز یا کوتاه (ران، بازو یا بند انگشت) ظاهر می‌شوند. در طی سال‌های اخیر سن شناختی اسکلتی به‌عنوان ابزاری موثر برای ارزیابی سن و رشد دوزیستان و خزندگان مورد استفاده قرار گرفته است (Leclair و همکاران، ۲۰۰۰؛ Kyriakopoulou Sklavounou، ۲۰۰۲؛ Mlaud، ۲۰۰۷؛ Cakir و همکاران ۲۰۱۱؛ Kutrup و همکاران، ۲۰۱۱؛ TokVarol و همکاران، ۲۰۱۳؛ Matthews و Claude، ۲۰۱۳). علی‌رغم توزیع گسترده دوزیستان در ایران مطالعات محدودی در این زمینه انجام گرفته که می‌توان به اشکاوندی و همکاران (۱۳۹۳) در وزغ *Bufo viridis*، در قورباغه *Pelophylax ridibundus* در استان لرستان (Ashkavandi و همکاران، ۲۰۱۲)، در سمندر *Neurergus strauchii* (Yaman yakin، ۲۰۱۵)، در سمندر *Neurergus kaiseri* (Farasatو Sharifi، ۲۰۱۶)و در سمندر *Paradactylodon gorganensi* (Zivari و همکاران، ۲۰۱۷) اشاره کرد. قورباغه مردابی (*Pelophylax ridibundus*) متعلق به خانواده قورباغه‌های واقعی (Ranidae) است که پراکنش وسیع از غرب اروپا تا شرق قزاقستان دارد. این قورباغه با محدوده وسیعی از زیستگاه‌ها از گودال‌های کم عمق و استخرها تا رودخانه‌ها و دریاچه‌ها سازش یافته است. در ایران قورباغه مردابی از شمال، مرکز و غرب ایران گزارش شده است. بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی این قورباغه در ایران به یک گونه *P. ridibundus* با ۶ مورف تقسیم‌بندی شده بود. اخیراً Pesarakloo و همکاران (۲۰۱۷) جمعیت‌های متفاوت از این قورباغه را در بخش‌های مختلف ایران بر اساس تفاوت‌های ژن میتوکندریایی مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها پیشنهاد کردند که قورباغه‌های مردابی ایران باید به دو کلاد مجزا تقسیم‌بندی شوند. *P. bedriagae* که‌در مرکز، غرب و شمال‌غرب ایران و *Pelophylax* sp. که در شمال ایران پراکنش یافته است. با این وجود هنوز اطلاعات دقیقی در مورد قورباغه‌های شمال ایران وجود ندارد. از این‌رو تعیین سن برای درک بهتر دموگرافی جمعیتی و مدت زمان زندگی این گونه لازم به‌نظر می‌رسد. در این مطالعه ساختار سنی و جنسی در ۵۰ نمونه از قورباغه‌های *P. ridibundus* در دو موقعیت جغرافیایی از شمال ایران (رشت و ساری) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

طی فصول بهار و تابستان ۱۳۹۶،مجموعا ۵۰ نمونه قورباغه مردابی (*P. ridibundus*) از استان گیلان حوالی شهر رشت (۲۰ نمونه شامل ۱۱ نر و ۹ ماده) با مختصات‌جغرافیایی ′۱۷ °۳۷E، ′۳۳ °۴۹N و از استان مازندران حوالی شهر ساری (۳۰ نمونه شامل ۱۹ نر و ۱۱ ماده) با مختصات جغرافیایی ′۳۵ °۳۶E، ′۰ °۵۲N جمع‌آوری شده و به‌صورت زنده به آزمایشگاه منتقل شد. سپس تعیین جنسیت انجام گرفت. برای بررسی ساختار سنی نمونه‌های نر و ماده جمع‌آوری شده، یک بند از انگشت دوم دست در فرمالین ۱۰٪ نگه‌داری شد و برای برش‌گیری‌بافتی‌و رنگ‌آمیزی جهت تعیین سن در روش سن شناختی اسکلتی استفاده شد. خصوصیات مورفولوژیکی اندازه‌گیری شد. مواد مورد نیاز برای برش بافتی شامل: الکل اتانول با درصدهای ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۹۶، ۱۰۰، اسیدنیتریک ۵ درصد، زایلن، پارافین، هماتوکسیلین، اسیدHCL یک درصد، کربنات لیتیم، ائوزین، چسب آلبومین بود. در ابتدا برای تعیین‌سن در روش سن‌شناختی‌اسکلتی،جهت‌کاهش مقدار کلسیم بافت‌های سخت(کلسیم‌گیری)و کاهش‌تراکم استخوان از اسید نیتریک ۵٪ به‌مدت ۵-۳ ساعت، استفاده شد. مراحل آبگیری، شفاف سازی‌و قالب‌گیری انجام‌شد(Uzumو‌همکاران، ۲۰۱۱).سپس نمونه‌ها با دستگاه میکروتوم برش‌گیری شدند و رنگ‌آمیزی لام‌ها به‌روش هماتوکسلین-ائوزین‌انجام‌گرفت(Kusano و همکاران، ۱۹۹۵). مقاطع با میکروسکوپ نوری بررسی شدند و با توجه به تعداد خطوط توقف رشد در برش‌های عرضی استخوان، سن تک‌تک نمونه‌ها تعیین گردید (شکل ۱). به‌منظور تعیین رابطه بین سن و رشد (طول پوزه

تامخرج)،اطلاعات حاصله با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی وضعیت نرمال بودن متغیر،ازآزمون کولموگروف- اسمیرنف (KS) و از آزمون Levene برای برابری واریانس‌ها استفاده شد. برای صفت اندازه‌گیری شده، میانگین، محدوده تغییرات، انحراف معیار و میانگین خطای استاندارد محاسبه شد. آزمون MANOVA برای تعیین اثر سن بر اندازه بدن مورد استفاده قرار گرفت.

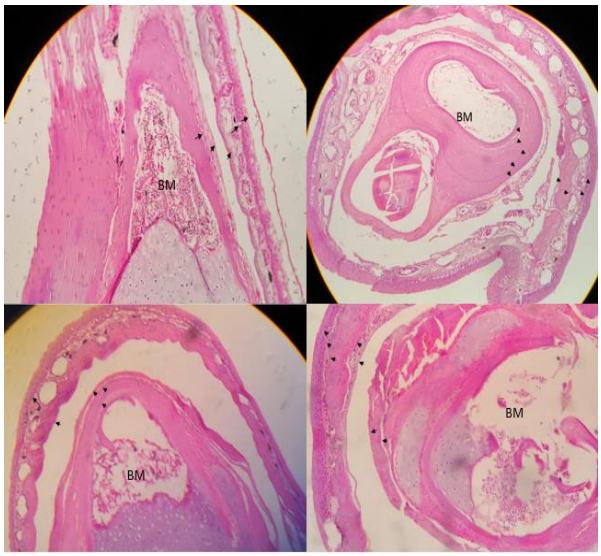
نتایج

نتایج به‌دست آمده نشان داد که محدوده سنی برای نمونه‌ها، ۱۳-۴ سال می‌باشد (جدول ۱، سن تک‌تک نمونه‌ها و درصد سنین مختلف را در دو موقعیت جغرافیایی رشت و ساری نشان می‌دهد). هم‌چنین نرها به‌طور متوسط مسن‌تر از ماده‌ها بودندو میانگین‌سن در نرها ۸/۵۰±۲/۱۳ سال و در ماده‌ها ۶/۵۵±۱/۴۰ سال‌بود. محدوده سنی در دو استان گیلان و مازندران به‌طور جداگانه نیز بررسی شد. در نتیجه معلوم شد، جمعیت قورباغه‌های مازندران مسن‌تر و از نظر اندازه از قورباغه‌های گیلان بزرگ‌تر بودند. هم‌چنین رشد در ماده‌ها سریع‌تر و بیش‌تر از نرها بود به‌طوری‌که ماده‌ها در سن کم‌تر از نرها به اندازه بزرگ‌تری می‌رسیدند (شکل ۲). در جمعیت گیلان محدوده سن بین ۸-۴ سال‌بود. میانگین سن درماده‌ها ۶/۱±۴۱ ودر نرها ۱/۲±۶/۷۸ و بیش‌ترین تعداد نمونه‌ها در محدوده ۶سال دیده‌شد. در مازندران محدوده سن بین ۱۳-۵ سال بود که میانگین آن در ماده‌ها ۱/۰۹±۷/۲۲ و در نرها ۲/۰۲±۹/۲۴ بود. بیش‌ترین تعداد نمونه‌ها در محدوده سنی ۷ سال دیده شد (شکل ۳).

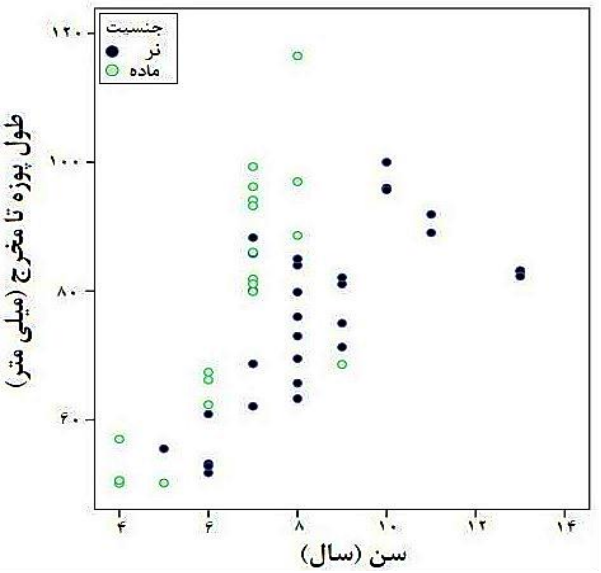
جدول ۱: تعداد نمونه‌ها و فراوانی خطوط رشد (LAG) در جمعیت‌های *P. ridibundus* در استان‌های گیلان و مازندران

گیلان			مازندران		
تعداد نمونه	تعداد خطوط رشد (N.L)	٪	تعداد نمونه	تعداد خطوط رشد (N.L)	٪
۵	۸	۲۵	۳	۱۳	۱۰
۴	۷	۲۰	۲	۱۱	۶/۶۶
۷	۶	۳۵	۳	۱۰	۱۰
۱	۵	۰/۰۵	۵	۹	۱۶/۶۶
۳	۴	۱۵	۶	۸	۲۰
			۱۰	۷	۳۳/۳۳
			۱	۵	۳/۳۳

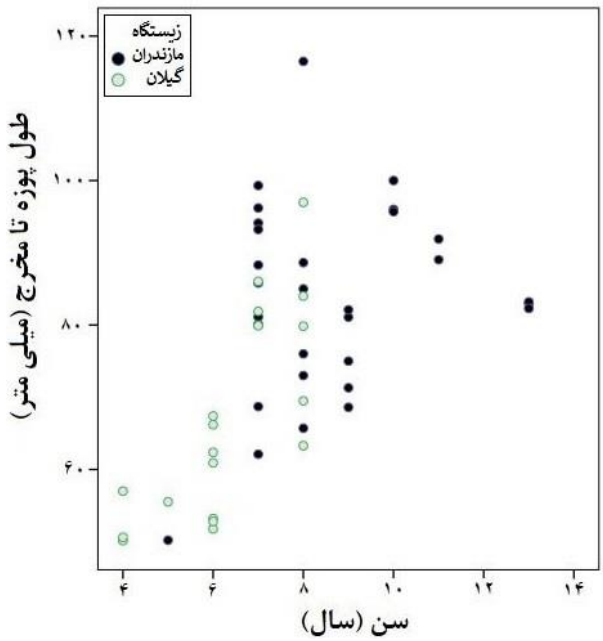
به‌منظور تعیین رابطه بین سن و رشد، اطلاعات مربوط به SVL (طول پوزه تا مخرج) و سن، با استفاده از روش‌های آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بررسی هم‌بستگی سن و SVL (اندازه بدن) نشان داد که این دو کمیت ارتباط متغیری با هم دارند به‌طوری‌که در جمعیت گیلان، قورباغه‌ها دارای سن کم‌تری بودند بین این دو کمیت هم‌بستگی مثبت و معنی‌دار دیده شد و با افزایش سن اندازه نمونه‌ها افزایش می‌یافت (جدول ۲). اما جمعیت در مازندران که نمونه‌ها مسن‌تر بودند هم‌بستگی مثبت بوده ولی معنی‌دار نبود (جدول ۲).



شکل ۱: بافت استخوانی *P. ridibundus* (BM مغز استخوان)



شکل۲: مقایسه سن و اندازه در قورباغه‌های نر وماده *P. ridibundus* شمال ایران



شکل۳: مقایسه سن و اندازه در جمعیت‌های *P. ridibundus* در استان‌های گیلان و مازندران

جدول ۲: همبستگی بین سن و اندازه در *P. ridibundus* در استان‌های گیلان و مازندران

		سن	طول پوزه تا مخرج
گیلان	سن	۱	۰/۷۵۴
	همبستگی پیرسون	۲۰	۰/۰۰۰
	معنی‌داری(دوطرفه)		۲۰
	طول پوزه تا مخرج	۰/۷۵۴	۱
	همبستگی پیرسون	۰/۰۰۰	۲۰
	معنی‌داری(دوطرفه)	۲۰	
مازندران	سن	۱	۰/۲۱۲
	همبستگی پیرسون	۳۰	۰/۲۶۱
	معنی‌داری(دوطرفه)		۳۰
	طول پوزه تا مخرج	۰/۲۱۲	۱
	همبستگی پیرسون	۰/۲۶۱	۳۰
	معنی‌داری(دوطرفه)	۳۰	

بحث

سن‌شناختی اسکلتی، مدت‌هاست که به‌عنوان یک روش استاندارد برای تخمین سن گونه‌های مختلف دوزیستان و خزندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Schroeder و Baskett، ۱۹۶۸؛ MacCoy و همکاران، ۲۰۱۰). ترکیب سنی دوزیستان ممکن است به‌وسیله چندین عامل محیطی و ژنتیکی (مانند تغییرات آب و هوایی، منابع تغذیه‌ای، کیفیت زیستگاه، خصوصیات متابولیکی، واکنش‌های شکار و شکارگر و رقابت‌های بین گونه‌ای) کنترل شود (Uzum و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج این مطالعه نشان داد رشد در ماده‌ها سریع‌تر و بیش‌تر از نرها بود، به‌طوری‌که ماده‌ها در سن کم‌تر از نرها به اندازه بزرگ‌تری می‌رسیدند. رشد سریع در ماده‌ها می‌تواند به‌دلیل آمادگی برای باروری باشد. رشد آهسته نرها می‌تواند آن‌ها را در تهدید بیش‌تر خطرات قرار دهد (Khonsue و همکاران، ۲۰۰۰).

نتایج تقریباً مشابه‌ای ازترکیب سنی بر روی جمعیت‌های مختلف دو گونه *B. viridis* و *P. ridibundus* در ایران، گزارش شده است. مثلاً افراد موجود در جمعیت گونه *B. viridis* و *P. ridibundus* ساکن مخمل‌کوه خرم‌آباد، به‌ترتیب بین ۸-۱ و ۱۱-۳ سال سن داشتند. بر همین مبنا فراوان‌ترین افراد را در گونه *B. viridis*، نمونه‌های دو ساله و در گونه *P. ridibundus*، نمونه‌های شش ساله تشکیل می‌دادند. در جمعیت *P. ridibundus* ساکن مخمل‌کوه، حداکثر طول عمر مشاهده شده ۱۱ سال بود (اشکاوندی و همکاران، ۱۳۹۰). در دیگر مطالعات از نقاط اطراف ایران نیز گزارش‌هایی مشابه اعلام شده است. به‌طوری‌که، حداکثر طول عمر در جمعیت ساکن منطقه حفاظت شده ولگا -کامزکی روسیه به ۱۱ سال و در جمعیت اطراف دریاچه سوان ارمنستان (با ارتفاع ۱۹۰۰ متر از سطح دریا) به ۱۰-۹ سال می‌رسد (Smirina، ۱۹۹۴). هم‌چنین Ledentsov و Mekkumyan (۱۹۸۶) حداکثر طول سن *P. ridibundus* در جمعیتی دیگر از کشور ارمنستان که در ارتفاع ۲۵۰۰ متری ساکن هستند را ۱۱ سال گزارش کرده‌اند. به‌هرحال گزارشات دیگری وجود دارد که حداکثر طول عمر این گونه را کم‌تر ذکر کرده اند. به‌عنوان مثال، حداکثر سن در جمعیتی از *P. ridibundus* در کشور تاجیکستان، ۴ سال و در جمعیت های ناحیه تولگا (روسیه مرکزی) ۶ سال گزارش شده است (Kutrop و همکاران، ۲۰۰۵). بر اساس یک نظریه طول عمر این گونه در نواحی شمالی و کوهستانی نسبت به نواحی جنوبی و پست‌تر معمولاً بیش‌تر است (Smirina، ۱۹۹۴).

با این وجود مقایسه نتایج به‌دست آمده در این مطالعه و دیگر نتایج روی قورباغه مردابی در ایران با نظریه فوق سازگاری ندارد. به‌عنوان مثال خرم‌آباد از نظر موقعیت جغرافیایی نسبت به تمام نواحی گزارش شده در بالا، جنوبی‌تر بوده و ارتفاع این منطقه از سطح دریا ۱۳۴۷ متر می باشد (اشکاوندی و همکاران ،۱۳۹۰). درحالی‌که در استان‌های مازندران و گیلان ارتفاع نسبت به سطح دریا بسیار کم‌تر و تقریباً هم‌سطح دریا، می‌باشد. به‌علاوه، اگر نظریه مذکور درست باشد باید انتظار داشت که نمونه‌های مناطق گرمسیری طول عمرخیلی کم‌تری داشته باشد، درحالی‌که مشاهده می‌شود،

حداکثر طول عمر در یکی از گونه‌های جنس *Rana* به‌نام *R. nigrovittata* که ساکن جنگل‌های گرمسیری و پست کشور تایلند است، ۹ سال گزارش شده است (Khonsue و همکاران،۲۰۰۰). نتایج به‌دست آمده در این مطالعه مشابه شواهد حاصل از مطالعات محققان دیگری است که نشان داده‌اند نمی‌توان با قاطعیت بیان کرد که نمونه‌های ساکن مناطق شمالی و مرتفع طول عمر بیش‌تری نسبت به نمونه های جنوبی‌تر دارند. به‌هرحال برخی از محققان معتقدند، ارتباطی بین ارتفاع زیستگاه و طول عمر وجود ندارد (Kutrup و همکاران، ۲۰۱۱). یکی از دلایلی که برای تفاوت طول عمر در جمعیت‌های مختلف قورباغه و وزغ بیان می‌شود، فراوانی دشمنان طبیعی یا شکارچیان است، به‌عبارتی در هر اکوسیستم که شکارچیان بیش‌تری باشند، طول عمر دوزیستان ساکن آن کوتاه‌تر می‌باشد (Khonsue و همکاران، ۲۰۰۰).

استان گیلان و مازندران به‌خاطر شرایط اقلیمی خاص و معتدل، اکوسیستم مناسبی برای وجود زنجیره‌های غذایی بسیار در اندازه‌های کوچک و بزرگ است. قورباغه‌ها را می‌توان در بسیاری از این زنجیره‌ها دید و می‌توان گفت نتایج به‌دست آمده در مورد محدوده سنی در فصل رشد و نمو که فصل شکار نیز هست، می‌تواند متأثر از این شرایط زیست محیطی باشد. اما برای اثبات این موضوع نیاز است که بررسی‌های بیش‌تری انجام گیرد.

منابع

۱. **اشکاوندی، ص.؛ قارزی، ا. و عباسی، م.، ۱۳۹۳.** مقایسه ترکیب سنی در دو جمعیت از گونه‌های دوزیست بی‌دم مخمل‌کوه با استفاده از روش اسکلتوکرونولوژی. پژوهش‌های جانوری. جلد ۲۷، شماره ۲، صفحات ۱۷۶ تا ۱۸۴.

۲. **Ashkavandi, S.; Gharzi, A. and Abbassi, M., 2012**. Age Determination by in Skeletochronology *Rana Ridibunda* (Anuran: Amphibia). Asian Journal of Experimental Biological Sciences. Vol. 3, No. 1, pp:156-162.

۳. **Bastein, H. and Leclair, R., 1992**. Aging wood frogs (*Rana sylvatica*) by Skeletochronology. Journal of Herpetology. Vol. 26, No. 2, pp: 222-225.

۴. **Cakir, E.; Kutrup, B.; Colak, Z.; Bulbul, U. and Karaoglu, H., 2011**. Age and growth of green Toad, *Bufo viridis* (Laurenti, 1768) from and island and a mainland population in giresun, Turkey. Journal of Animal and Veterinary Advances. Vol. 10, No. 11, pp:1469-1472.

۵. **Çakır, E.; Bülbül, U.; Özdemir, N. and Kutrup, B., 2011**. A skeletochronological study of age, growth and longevity of *Rana macrocnemis* populations from four locations at different altitudes in Turkey. Amphibia-Reptilia. Vol. 32, No. 1, pp:113-118.

۶. **Farasat, H. and Sharifi, M., 2016**. Ageing and Growth of the Endangered Kaiser's Mountain Newt, *Neurergus kaiseri* (Caudata: Salamandridae), in the Southern Zagros Range, Iran. Journal of Herpetology. Vol. 50, No. 1, Vol: 120-126.

۷. **Halliday, T.R. and Verrell, P.A., 1988**. Body size and age in amphibians and reptiles. Journal of Herpetology. Vol. 22, No. 3, pp: 253-265.

۸. **Khonsue, W.; Matusui, M. and Misawa, Y., 2000**. Age determination of *Rana nigrovittata*, a frog from tropical forest of Thailand. Zoological Science. Vol. 17, pp: 253-257.

۹. **Kusano, T.; Fukuyama, K. and Miyashita, N., 1995.** Age determination of the stream frog, *Rana sakuraii* by Skeletochronology. Journal of Herpetology. Vol. 29, pp: 625-628.

۱۰. **Kutrop, Y.N.; Cobanoglu, U. and Ozoran, Y., 2005**. Age determination and some growth parameters of a *Rana ridibunda* population in turkey. Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae. Vol. 51, No. 1, pp: 67-74.

۱۱. **Leclair, R.; Leclair, M.H.; Dubois, J. and Daoust, J., 2000**. Age and size of wood frogs, *Rana sylvatica*, from Kuujjuarapik, Northern Quebec. The Canadian Field Naturalist. Vol. 114, No. 3, pp: 381-387.

۱۲. **Matthews, K.R. and Claude, M., 2007.** A Skeletochronological Study of the Age Structure, Growth, and Longevity of the Mountain Yellow-legged Frog, *Rana muscosa*, in the Sierra Nevada, California. Copeia. Vol. 4, pp: 986-993.

۱۳. **McCreary, B.; Pearl, C.A. and Adams, J.M., 2008**. A protocol for aging Anurans using skeletochronology. US Geological Survey Open-File Report. 1209 p.

۱۴. **MacCoy, E.D.; Mushinsky, H.R.; Shockley, W.J. and Alvarez, M.R., 2010**. Skeletochronology of the threathened Florida sand skink, *Plestiodon* (*Neoseps*) *reynoldsi*, Copeia. Vol. 1, No. 1, pp: 38-40.

۱۵. **Pesarakloo, A.; Rastegar-Pouyani, E.; Rastegar-Pouyani, N. and Kami, H., 2017**. The first taxonomic revaluation of the Iranian water frogs of the genus *Pelophylax* (Anura: Ranidae) using sequences of the mitochondrial genome. Mitochondrial DNA Part A. Vol. 28, No. 3, pp: 392-398.

۱۶. **Schroeder, E.E. and Baskett, T.S., 1968**. Age estimation, growth rates and population structure in Missouri bullfrogs, Copeia. Vol. 19, No. 3, pp: 583-592.

۱۷. **Sinsch, U., 2015**. Skeletochronological assessment of demographic life-history traits in amphibians. Herpetological Journal. Vol. 25, pp: 5-13.

۱۸. **Smirina, E.M., 1994**. Age determination and longevity in amphibians. Gerontology. Vol. 40, pp: 133-46.

۱۹. **Üzüm, N.; Avcı, A.; Özdemir, N.; Ilgaz, Ç. and Olgun, K., 2011.** Body size and age structure of a breeding population portion of the Urmia salamander, *Neurergus crocatus* Cope, 1862 (Caudata: Salamandridae). Italian Journal of Zoology. Vol. 78, No. 2, pp: 209-214.

۲۰. **Varol Tok, C.; Mert Gürkan, M.; Yakin, Y. and Hayretdağ, S., 2013**. Age Determination in Some *Ophisops elegans* Mènètriès 1832 (Sauria: Lacertidae) Populations Living in the Vicinity of Çanakkale and Akşehir-Eber. Ecological Balcanica. Vol. 5, No. 2, pp: 23-30.

۲۱. **Yaman Yakına, B.; Çiçekb, K.; Koyunc, M.; Gürkana, M.; Hayretdağa, S. and Varol Toka, C., 2015.** A skeletochronological analysis of a population of the Anatolia Newt, *Neurergus strauchii* (Steindachner,1887) (Caudata: Salamandridae), in Eastern Anatolia, Turkey. Zoology in the Middle East. Vol. 61, No. 4, pp: 332–338.

۲۲. **Zivari, S. and Kami, G., 2017**. Skeletochronological assessment of age in the Persian mountain salamander, *Paradactylodon gorganensis* (Clergue-Gazeau and Thorn, 1979) (Caudata: Hynobiidae) from Golestan Province, Iran. Caspian Journal of Environmental Science. Vol. 15, No. 1, pp: 75-84.