

## مطالعه جمعیت‌های قورباغه آبی (*Pelophylax bedriagae* Camerano, ۱۸۸۲) با تأکید بر ویژگی‌های ریختی، ریخت‌سنجی، تولیدمثلی و بافت‌شناسی در زیستگاه‌های شمال استان خوزستان

- اشرف جزایری\*: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- فهیمه صابری: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- طیبه محمدی: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

### چکیده

دوزیستان ابتدایی‌ترین مهره‌داران زمینی و اولین مهره‌دارانی بودند که به زندگی در خشکی روی آوردند. قورباغه آبی (*Pelophylax bedriagae*)، گروهی تک‌تبار از خانواده Ranidae است که همراه با جمعیت موجود در ترکیه جمعیت شمال‌غرب و جنوب‌غربی ایران را تشکیل می‌دهد. مطالعه حاضر در نواحی شمالی استان خوزستان با هدف بررسی صفات شاخص از نظر ریختی، ریخت‌سنجی، بررسی ویژگی‌های تولیدمثلی و مطالعه ساختار بافتی پوست انجام شد. به همین منظور، ۵۰ نمونه قورباغه از نواحی شمالی استان خوزستان طی فصول بهار و پاییز ۱۳۹۵ به صورت زنده صید و به آزمایشگاه منتقل شدند، پس از تعیین گونه، صفات ریختی و ریخت‌سنجی مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج ریختی، سه نوع ریخت در بین نمونه‌ها شناسایی شد و مطابق آزمون مستقل بودن جنسیت از ریخت، ریخت‌سنج و جنسیت مستقل از هم بود. هم‌چنین تعداد ۹ صفت برای هر نمونه مورد بررسی ریخت‌سنجی قرار گرفت، نتایج آزمون (T-test) بین دو جنس نر و ماده نشان داد که در تمامی صفات، به جز طول ران و اندام جلویی، تفاوت معنی‌دار وجود دارد. نتایج برای آزمون T2 Hotelling نشان داد بین جنسیت نر و ماده دو ریختی جنسی وجود دارد. با این وجود نتایج آنالیز واریانس چند متغیره جدایی جمعیت در جنسیت نر و عدم جدایی جمعیت را در جنس ماده نشان داد. در بخش مطالعه ویژگی‌های تولیدمثلی، بیش‌ترین توان تولیدمثلی برای هر دو جنس نر و ماده در فصل بهار مشاهده شد. در بررسی ساختار پوستی در دو ناحیه پشتی و شکمی، اگرچه در هر دو ناحیه طبقات اپیدرم و درم وجود داشت اما رشته‌های کلاژن در سطح شکمی نازک‌تر از سطح پشتی بودند.

**کلمات کلیدی:** قورباغه آبی، چندریختی رنگی، دو ریختی جنسی، شرایط اکولوژیکی، نواحی شمالی استان خوزستان



## مقدمه

بر اساس اندازه‌گیری صفات ریختی نشان از وجود اختلاف معنی‌دار در صفات طول بدن، طول ران، طول ساق و طول سر در بین جنس‌های نر و ماده قورباغه مردابی بوده است. در نهایت از آن جایی که این گونه در برخی منابع به عنوان کمپلکس گونه‌ای مطرح شده است و در نتیجه دارای مشکلات آرایه‌شناختی، به ویژه در ایران می‌باشد، اخیراً مطالعات مقدماتی (ژنتیکی) صورت گرفته توسط Pesarakloo و همکاران (۲۰۱۷)، بر روی قورباغه آبی ایران نشان داد دو کلاد عمده در قورباغه آبی ایران قابل شناسایی است، یکی از کلادها گروه تک‌تبار *Pelophylax bedriagae* است که همراه با جمعیت موجود در ترکیه جمعیت شمال غرب و جنوب غربی ایران را تشکیل می‌دهد و کلاد دوم شامل جمعیت شمال و شمال شرقی ایران است که به نوبه خود به دو Subclades (*Pelophylax SP*, *Pelophylax SSP*) تقسیم می‌شود و به نظر آن‌ها این کلادها باید به عنوان قورباغه آبی ایران شناخته شوند و به احتمال زیاد قورباغه مردابی (*P. ridibundus*) باید از چک لیست قورباغه آبی ایران حذف شود. باتوجه به این که مطالعات گذشته، تمامی مناطق ایران را به طور تخصصی پوشش نداده است و برای تکمیل اطلاعات گذشته نیاز به تحقیقات مجدد و جامعی به صورت منطقه‌ای در استان‌های مختلف ایران است (حجتی و همکاران، ۱۳۸۸) و از آن جایی که تاکنون مطالعات جامعی بر روی جمعیت‌های قورباغه آبی استان خوزستان صورت نگرفته است، لذا در پژوهش حاضر جمعیت‌های این گونه از نظر خصوصیات ریختی، ریخت‌سنجی، تولیدمثلی، هم‌چنین خصوصیات بافت‌شناسی در نواحی شمالی استان خوزستان مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

نواحی شمالی استان خوزستان، مناطقی کوهستانی هستند که توسط رشته کوه‌های زاگرس احاطه شده‌اند و با استان‌های لرستان و ایلام از سمت غرب، چهارمحال و بختیاری و کهگیلویه و بویراحمد از سمت شرق هم‌مرز هستند. جهت انجام مطالعه حاضر طی سفرهای مکرر به نواحی شمالی استان خوزستان (شوش، رودخانه شاوور، دزفول)، ۵۰ نمونه قورباغه آبی (۲۸ ماده و ۲۲ نر) طی فصول بهار و پائیز ۱۳۹۵ به صورت زنده به وسیله تور دستی صید شدند و سپس به آزمایشگاه تحقیقاتی بیوسیستماتیک جانوری دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شدند. در ابتدا نمونه‌های زنده در آزمایشگاه بر اساس ۹ صفت شاخص (مطابق جدول ۲) اندازه‌گیری و شناسایی شدند (بلوچ و کمی، ۱۳۸۵) تا جهت مطالعات ریختی، ریخت‌سنجی، تولیدمثلی و بافت‌شناسی مورد بررسی قرار گیرند. سپس از نظر رنگ آمیزی بدن، نحوه آرایش لکه‌ها و نوارهای تیره،

دوزیستان، به عنوان یکی از مهره‌داران منعکس‌کننده محیط‌زیست (Zhelev و همکاران، ۲۰۱۵)، بخش مهمی از تنوع زیستی به شمار رفته و به عنوان نشانگرهای اکوسیستم عمل می‌کنند (Zhelev و همکاران، ۲۰۱۵؛ Al-Barazengy و همکاران، ۲۰۱۵). در شناسایی آن‌ها، ارائه اطلاعات ریختی از جمله تعداد انگشتان در اندام‌های جلویی و عقبی، هم‌چنین تعداد استخوان‌های جمجمه در نمونه‌های فسیلی می‌تواند مؤثر باشد (Watters و همکاران، ۲۰۱۶). اعضای گونه قورباغه آبی (*Pelophylax bedriagae* (Lewant water Frog)، متعلق به خانواده Ranidae از نواحی شمال غربی تا جنوب غربی ایران پراکندگی دارند (Pesarakloo و همکاران، ۲۰۱۷)، رژیم غذایی عمومی داشته و از طیف گسترده‌ای از بی‌مهرگان کوچک تغذیه می‌کنند (Measey و همکاران، ۲۰۱۵). چندریختی رنگی در قورباغه آبی به عنوان نشانگر زیستی برای شرایط محیطی عمل می‌کند، ریخت‌های مشاهده شده یک مونوژنیک جهش یافته از آلل‌ها هستند و این امر اثری بودن این صفات را علاوه بر تأثیرپذیری شان از محیط‌زیست نشان می‌دهد (Zhelev و همکاران، ۲۰۱۵). فصل تولیدمثل آن‌ها از اواخر فروردین یا اوایل اردیبهشت ماه شروع و تا اواخر مردادماه، به واسطه جفت‌گیری و تخم‌گذاری در آب را کد انجام می‌پذیرد (Duellman، ۱۹۹۹؛ نجیب‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳). مطالعه اثر عوامل محیطی بر جفتگیری قورباغه مردابی، بیانگر وجود اثرات مشخص پارامترهای زیست‌محیطی بر جفتگیری این گونه است (Lukanov و همکاران، ۲۰۱۴). بر همین اساس میزان رابطه جنسی، فراوانی نرها و رقابت بین آن‌ها نیز بر سیستم تولیدمثلی قورباغه‌ها تأثیر می‌گذارد (Kime و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات ریختی پوست اعضای خانواده Ranidae نشان می‌دهد در شرایط و محیط‌های ناپایدار به جهت سازگاری با شرایط اکولوژیکی، پوست آن‌ها جهت انجام نقش‌های گوناگون متحمل سازگاری‌های متنوعی شده است (Schwinger و همکاران، ۲۰۰۱؛ Azevedo و همکاران، ۲۰۰۶) که از جمله می‌توان، به خاصیت سمی پوست و قابلیت دفاع آن در برابر دشمنان اشاره کرد (پاپهن و همکاران، ۱۳۹۵). مطالعه دوزیستان در ایران دارای سابقه نسبتاً طولانی است و کشور ایران همیشه مورد توجه محققین بوده است و در این راستا پژوهشگران زیادی در ایران به مطالعه و تحقیق پرداخته‌اند (بلوچ و کمی، ۱۳۸۵). در همین راستا، Kazemi و همکاران (۲۰۱۵) اثرات پارامترهای زیست‌محیطی را بر روی بقاء گونه‌های دوزیستان و خزندگان ایران بررسی کرده‌اند. هم‌چنین هاشمی‌نژاد و همکاران (۱۳۸۵)، به مطالعه بیوسیستماتیکی دوزیستان بی‌دم استان مازندران و بررسی شرایط اکولوژیکی زیستگاه آن‌ها پرداختند، علاوه بر آن، مقایسه جمعیت‌های استان مازندران با خراسان

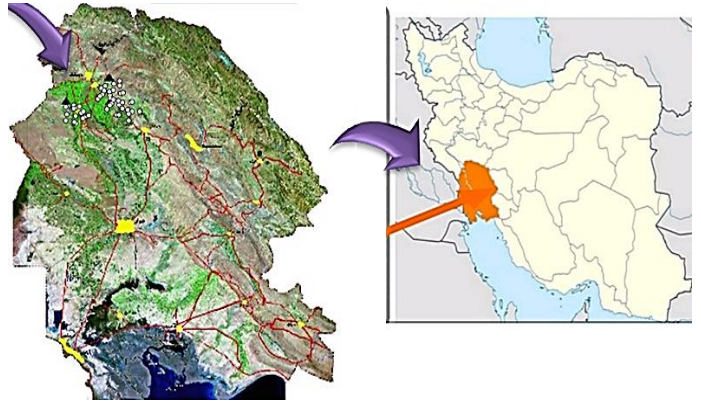
بر روی اولین انگشت اندام‌های جلویی در نرهای بالغ، نمونه‌های نراز ماده تفکیک شد، سپس ۱۰ نمونه نر و ۱۰ نمونه ماده به وسیله کلروفرم کشته و تشریح شدند. در نرها پس از جداسازی و توزین بیضه‌ها شاخص گنادی (Gonadostomatic Index) (نسبت وزن بیضه‌ها به وزن کل بدن) و برای نمونه‌های ماده نیز پس از تخلیه کل بافت تخمدانی، میزان هم‌آوری (Fecundity) (توزین قطعه کوچک تخمدانی و شمارش تخمک‌های این قطعه جهت محاسبه نسبت وزنی-عددی) محاسبه شد (ابراهیم‌نژاد، ۱۳۸۵). به منظور مطالعه ساختار پوستی از ۱۰ نمونه بالغ نر و ماده استفاده شد، بدین ترتیب که از پوست سطح پشتی و شکمی هر قورباغه نمونه پوستی به ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر برداشته و به فیکساتیو (محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد) منتقل گردید، سپس بر اساس روش‌های متداول بلوک‌های پارافینی بافتی تهیه و به وسیله میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. از اسلایدهای مناسب پس از رنگ‌آمیزی (هماتوکسیلین، اتوزین) به وسیله میکروسکوپ (Olympus-CX31) و مجهز به دوربین (Germany-UI-1555LE-C-HQ) عکس‌برداری و توصیف بافت پوست به کمک تصاویر انجام شد.

## نتیجه

صفات ریختی مبنای تشخیص خانواده، جنس و گونه‌های دوزیستان هستند. با توجه به کلیدهای شناسایی موجود (بلوچ و کمی، ۱۳۸۵) شناسایی در مورد گونه مورد نظر صورت گرفت. به عنوان نمونه سه ریخت از جمعیت ساکن در نواحی شمالی استان به شرح ذیل بیان شده است که البته این اطمینان وجود دارد که ریخت‌های بیش‌تری نیز قابل مشاهده باشد، هم‌چنین به وسیله نرم‌افزار Spss، آزمون مستقل بودن جنسیت از ریخت (T-test) نشان داد که، ریخت‌سنخ و جنسیت قورباغه مستقل از هم هستند.

**ریخت ۱:** ویژگی بارز این ریخت وجود لکه سبز روشن در ناحیه سری به ویژه در ناحیه نوک پوزه می‌باشد که متفاوت از رنگ زمینه بخش پشتی است، به عبارت دیگر این ویژگی حدفاصل بین نوک پوزه تا چشم‌ها و حتی کمی بیش‌تر از آن در ناحیه سری را شامل می‌شود. بدن در سطح پشتی به رنگ سبز (تیره و روشن) و دارای خال‌هایی با کدورت اندک می‌باشد، سطح شکمی سفید روشن و بدون خال است. پاها دارای نوارهای تیره‌رنگی می‌باشند که از محل اتصال به بدن تا نوک انگشتان ادامه می‌یابد، دست‌ها فاقد نوار ولی چند عدد لکه تیره بر روی آن‌ها قابل تشخیص است (شکل ۲).

هم‌چنین نوار طولی روشن مورد بررسی قرار گرفتند، ریخت‌های مختلف شناسایی و از نمونه‌های در دسترس عکس‌برداری‌های لازم انجام شد و ویژگی‌های توصیفی هر نمونه به صورت مکتوب ثبت گردید.



شکل ۱: نقشه جغرافیایی نواحی شمالی استان خوزستان

جدول ۱: مشخصات مناطق مورد مطالعه

منطقه مورد مطالعه	تعداد نمونه‌ها به تفکیک	جنسیت		موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌ها
		نر	ماده	
شهرستان شوش	۱۹ بالغ: ۱۷ نابالغ: ۲	۸	۱۱	۳۲° - ۴۸' N ۴۸° - ۱۴' E
رودخانه شاوور	۱۵ بالغ: ۱۱ نابالغ: ۴	۶	۹	۳۲° - ۲۰' N ۴۸° - ۳۰' E
شهرستان دزفول	۱۶ بالغ: ۱۳ نابالغ: ۳	۸	۸	۳۲° - ۲۰' N ۴۸° - ۳۰' E

جدول ۲: اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه در گونه *P. bedriagae* (بلوچ و کمی، ۱۳۸۵)

صفات کمی	توضیح	علامت اختصاری
* وزن بدن	وزن کل بدن	W
اندازه بدن	از نوک پوزه تا مرکز کلوآک	SVL
قطر ران	اندازه قطر بزرگ‌ترین قسمت ران پا	F.th
اندازه سر	از نوک پوزه تا قسمت خلفی پرده صماخ	LC
طول ران	از شکاف کلوآک تا بخش انتهایی استخوان ران	FL
طول بازوی دست	از ابتدای محل اتصال استخوان به کتف تا بخش انتهایی استخوان بازو	L.a
اندازه پرده صماخ	بزرگ‌ترین اندازه پرده صماخ	LTYM
فاصله بین سوراخ‌های خارجی بینی	فاصله سوراخ‌های خارجی بینی	ID
فاصله چشم تا نوک پوزه	فاصله بین لبه قدامی چشم تا نوک پوزه	DRO
برآمدگی داخلی پا	بزرگ‌ترین اندازه برآمدگی داخلی کف پا	CINT

\* (افزوده شدن وزن بدن در جدول حاضر، به علت سنجیدن ارتباط آن با دیگر پارامترها از جمله توان تولیدمثلی در افراد نر و ماده است)

به منظور بررسی ویژگی‌های تولیدمثلی، با استفاده از صفات کیسه تشدید صوت سیاه رنگ و نیز وجود زائده خاکستری رنگ





شکل ۲: نمایی از سطح پشتی و شکمی ریخت ۱

می‌یابد، نوارهای تیره در کشاله ران به صورت یک پارچه شکل یافته و دست‌ها دارای لکه‌های تیره می‌باشند (شکل ۳).  
**ریخت ۳:** در این ریخت نوار سبز پشتی که از نوک پوزه شروع شده و تا مخرج امتداد می‌یابد به خوبی قابل توجه است، این نوار سبز روشن پشت بدن را به دو بخش تقسیم کرده است، رنگ زمینه بدن سبز تا زیتونی روشن بوده و لکه‌ها دارای رنگ زیتونی تیره می‌باشند که تعداد این لکه‌ها در دست‌ها کم‌تر شده و پاها نیز دارای نوارهای تیره می‌باشند (شکل ۴).

**ریخت ۲:** این ریخت دارای یک نوار سفیدرنگ بدون خال آشکار روی خط میانی پشتی بدن در امتداد ستون مهره‌ها می‌باشد که از نوک پوزه شروع و بعد از عبور از فاصله بین دو چشم در امتداد ستون فقرات تا مخرج ادامه می‌یابد، زمینه بدن در پشت زیتونی بوده و دارای خال‌هایی تیره‌رنگ می‌باشد که بیش‌تر در  $1/2$  انتهایی بدن قرار دارند. شکم شیری رنگ بوده و در قسمت پهلوها رنگ زمینه روشن می‌باشد، پاها در این ریخت دارای نوارهای تیره بوده که از محل اتصال پا به بدن آغاز شده و تا نوک انگشتان ادامه

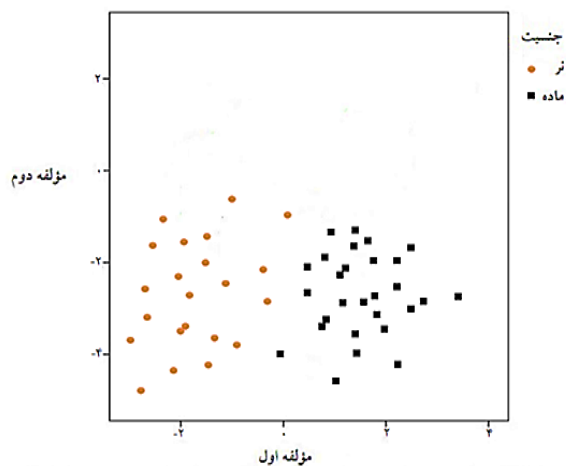


شکل ۳: نمایی از سطح پشتی ریخت ۲

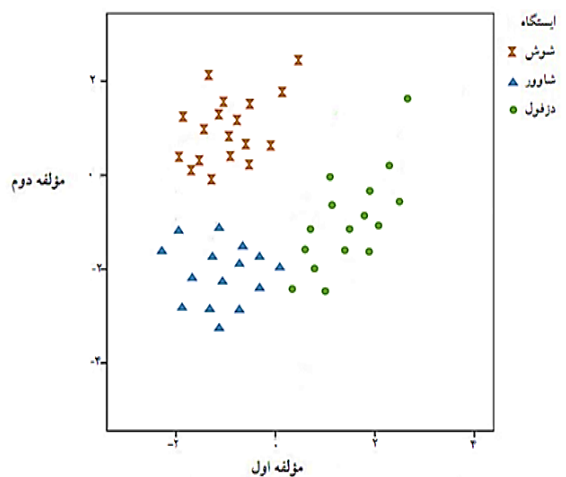


شکل ۴: نمایی از سطح پشتی ریخت ۳

متغیره استفاده شد، مطابق نتایج، جدایی بین جمعیت‌های نر طبق (P=۰/۰۱, F=۱/۲۸) وجود داشت و بین جمعیت‌های ماده مطابق (P=۰/۳۲, F=۱/۳۹) جدایی معنی دار نبود. هم‌چنین، تحلیل مؤلفه‌های اصلی در جمعیت نر منجر به استخراج دو مؤلفه (مؤلفه ۱ و ۲) معنی دار شد. مؤلفه اول ۷۰/۹۲ درصد تغییرات و مؤلفه دوم ۷/۸۱ درصد تغییرات را نشان می‌دهد (جدول ۴) و (شکل ۶).



شکل ۵: نمودار پراکنش نرها و ماده‌ها حول مؤلفه اول و دوم مربوط به گونه *P. bedriagae*



شکل ۶: نمودار پراکنش نرها حول محور اول و دوم آنالیز مؤلفه‌های اصلی در صفات ریختی اندازه‌گیری شده مربوط به گونه *P. bedriagae*

نتایج حاصل از تحلیل ممیزی در (جدول ۵) نشان داد ضریب وریکس لامبدا تنها برای مؤلفه اول شامل (برآمدگی داخلی پا، اندازه پرده صماخ، فاصله چشم تا نوک پوزه، اندازه سر و طول بازوی دست) معنی دار است و برای مؤلفه دوم شامل (وزن بدن، اندازه بدن، قطر

**مطالعات ریخت‌سنجی:** مطالعات آماری با استفاده از نرم‌افزار Spss (Version 20) بر روی صفات ریختی (جدول ۲) نمونه‌های نر و ماده گونه *Pelophylax bedriagae* نتایج ذیل را نشان داد: در ابتدا برای تشخیص نرمالیتی داده‌ها از آزمون کالموگروف-اسمیرنوف (Kalmogorov-Smiranov test) استفاده شد و برای داده‌های غیرنرمال نیز تبدیل لگاریتمی بر پایه ده انجام گردید.

**تحلیل‌های تک‌متغیره:** نتایج حاصل از آزمون T-test در سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) نشان داد که از بین ۹ صفت ریختی اندازه‌گیری شده، در ۷ صفت تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌های نر و ماده مشاهده شد و تنها برای دو صفت طول ران (FL)، (P=۰/۳۲) و طول بازوی دست (L.a)، (P=۰/۳۸) تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌های نر و ماده مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین t-test بین نرها و ماده‌ها در همه صفات اندازه‌گیری شده متعلق به گونه *P. bedriagae*

متغیر	شاخص لوین (F)	سطح معنی‌داری (P)	شاخص T	سطح معنی‌داری (P)	خطای استاندارد (Std.Error)
اندازه بدن (TL)	۶/۳۲	۰/۰۱۵	-۳/۸۴	۰/۰۰۰۱	۱/۹۲
قطر ران (F.th)	۰/۰۰۲	۰/۹۶	-۳/۳۹	۰/۰۰۱	۱/۵۳
اندازه سر (LC)	۱/۷۹	۰/۱۸	-۲/۶۱	۰/۰۱	۰/۷۲
طول ران (FL)	۴/۴۰	۰/۰۴۱	-۰/۹۹	۰/۳۲	۰/۸۸
طول بازوی دست (L.a)	۲/۲۱	۰/۱۴	-۰/۸۶	۰/۳۸	۰/۴۹
اندازه پرده صماخ (LTYM)	۱/۶۸	۰/۲۰	-۲/۴۵	۰/۰۱	۰/۱۹
فاصله بین سوراخ‌های خارجی بینی (ID)	۰/۳۱	۰/۵۷	-۲/۰۴	۰/۰۴	۱/۸۰
فاصله چشم تا نوک پوزه (DRO)	۰/۰۶۵	۰/۸۰	-۲/۷۸	۰/۰۰۸	۰/۳۶
برآمدگی داخلی پا (CINT)	۷/۷۸	۰/۰۰۸	-۲/۱۵	۰/۰۳	۰/۱۰

از سوی دیگر، آزمون Hotelling T<sup>2</sup> برای بررسی جدایی بردار میانگین بین جنسیت‌های نر و ماده نشان داد، در گونه *P. bedriagae* دوریختی جنسی وجود دارد (P=۰/۰۰۳) (F=۳/۵۴). تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) مربوط به ۹ صفت ریختی در ارتباط با نمونه‌های نر و ماده منجر به استخراج دو مؤلفه اصلی شد، به این ترتیب مؤلفه اول ۷۹/۸ درصد و مؤلفه دوم ۹/۶ درصد از کل واریانس‌ها را توجیه می‌کند. به توجه به شکل ۶ مشاهده می‌شود که نمونه‌های نر و ماده گونه *P. bedriagae* از یکدیگر جدا هستند و دوریختی جنسی در بین اعضای این گونه مشهود است.

**تحلیل‌های چندمتغیره:** برای بررسی جدایی بردار میانگین هر یک از جمعیت‌های نر و ماده از آزمون آنالیز واریانس چند



۵۰، دزفول ۶۵ و شاوور ۱۰۰ درصد در گروه خود قرار می‌گیرند، به‌طور کلی ۷۰ درصد نمونه‌ها در گروه خود به‌درستی طبقه‌بندی شده‌اند، اما زمانی که این ۱۰ صفت را به دو مؤلفه تقسیم‌بندی کردیم تنها ۵۲ درصد نمونه‌ها در گروه خود به‌درستی طبقه‌بندی شدند، بنابراین طبق نتایج بالا و ضریب ویلکس لامبدا برای مؤلفه دوم، تقسیم‌بندی به دو مؤلفه صورت نگرفت.

ران، فاصله بین سوراخ‌های خارجی بینی و طول ران) معنی‌دار نیست و باتوجه به مقدار بالایی که این ضریب دارد (۰/۸۵)، بنابراین مؤلفه دوم برای متمایز کردن گروه‌ها ضعیف عمل کرده است. (زیرا هرچه ضریب ویلکس لامبدا کم‌تر باشد، متغیر در متمایز کردن قوی‌تر عمل می‌کند). براساس نتایج رده‌بندی، در تحلیل ممیزی براساس ۱۰ صفت ریخت‌سنجی (جدول ۶) نشان می‌دهد که نمونه‌های شوش

جدول ۴: مقادیر تحلیل مؤلفه‌های اصلی PCA در جمعیت جنس نر گونه *P. bedriagae*

مؤلفه	مقادیر خاص اولیه			استخراج حاصل جمع مجموع مربعات			توضیح کل واریانس		
	کل	% تغییرات	% فراوانی تجمعی	کل	% تغییرات	% فراوانی تجمعی	چرخش حاصل جمع مجموع مربعات	% تغییرات	% فراوانی تجمعی
۱	۷/۰۹۲	۷۰/۹۲۵	۷۰/۹۲۵	۷/۰۹۲	۷۰/۹۲۵	۷۰/۹۲۵	۴/۰۹۳	۴۰/۹۳۲	۴۰/۹۳۲
۲	۰/۷۸۲	۷/۸۱۸	۷۸/۷۴۳	۰/۷۸۲	۷/۸۱۸	۷۸/۷۴۳	۳/۷۸۱	۳۷/۸۱۰	۷۸/۷۴۳

ترتیب (۰/۱۴ و ۰/۳۱)، می‌باشد، نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که، پراکندگی نمونه‌های نر در فصل بهار بیش‌تر است. محاسبه هم‌آوری در بین نمونه‌های ماده مورد مطالعه نیز مطابق با بررسی‌های مربوط به شاخص گنادی انجام شد. برطبق نتایج به‌دست آمده، تعداد تخم‌تولیدی در هر دوره تولیدمثلی در سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در بین نواحی مورد مطالعه دارای اختلاف معنی‌دار نبود. هم‌چنین، براساس این که میانگین هم‌آوری نمونه‌های ماده در فصل بهار و پاییز نزدیک به هم می‌باشد (۶۵۸۸/۲۰، ۶۴۶۸/۸۱)، می‌توان نتیجه گرفت که تعداد تخم‌تولیدی در هر دوره جنسی در دو فصل بهار و پاییز در نمونه‌های ماده تقریباً باهم یکسان است.

**مطالعات بافت‌شناسی:** مطالعه پوست نواحی پشتی و شکمی قورباغه‌های نر و ماده نواحی شمالی استان خوزستان نشان داد که همانند سایر مهره‌داران پوست بدن آن‌ها از دو طبقه اپیدرم و درم تشکیل شده است (شکل ۷-۱، ۷-۲). اپیدرم پوست در نواحی پشتی و شکمی یک اپی‌تلیوم سنگفرشی مطبق کراتینی است که از غشاء پایه به طرف سطح پوست از ۴ تا ۵ لایه سلولی تشکیل شده و توسط لایه نازک کراتینی پوشیده شده است (شکل ۷-۱، ۷-۴). لایه درم از نظر ساختار بافتی از دو قسمت تشکیل شده است: طبقه اسفنجی زیر اپیدرم که از یک بافت همبند سست حاوی عروق خونی و غدد پوستی تشکیل شده است و طبقه متراکم بلافاصله زیر طبقه اسفنجی که یک بافت همبند سخت حاوی دستجات ضخیم و متراکم رشته‌های کلاژنی می‌باشد (شکل ۷-۲). در طبقه اسفنجی درم دو نوع غده مشاهده شد یک نوع غدد کوچک که همان غدد موکوسی پوست بوده و دیگری غدد بزرگ که همان غدد گرانولار پوست می‌باشند. غدد موکوسی غددی حبابی شکل بوده که در مقاطع میکروسکوپی به

جدول ۵: نتایج ویلکس لامبدا

آزمون توابع	ضریب ویلکس لامبدا	مجموع مربعات	درجه آزادی	سطح معنی‌داری
۱ تا ۲	۰/۴۷۵	۳۱/۶۰۱	۲۰	۰/۴۸
۲	۰/۸۵۹	۶/۴۸۱	۹	۰/۶۹۱

جدول ۶: دسته‌بندی گروه‌ها در تحلیل ممیزی براساس ۱۰ صفت

ریختی در گونه *P. bedriagae*

نتایج طبقه‌بندی<sup>a</sup>

گروه	پیش‌بینی عضویت در گروه			کل
	شوش	دزفول	شاوور	
شوش	۸	۱۴	۴	۱۶
دزفول	۵	۱۳	۲	۲۰
شاوور	۰	۰	۱۴	۱۴
اصلی	شوش	۵۰/۰	۲۵/۰	۲۵/۰
%	دزفول	۲۵/۰	۶۵/۰	۱۰۰/۰
	شاوور	۰/۰	۰/۰	۱۰۰/۰

a. ۷۰٪ گروه‌های اصلی به درستی طبقه‌بندی شده‌اند.

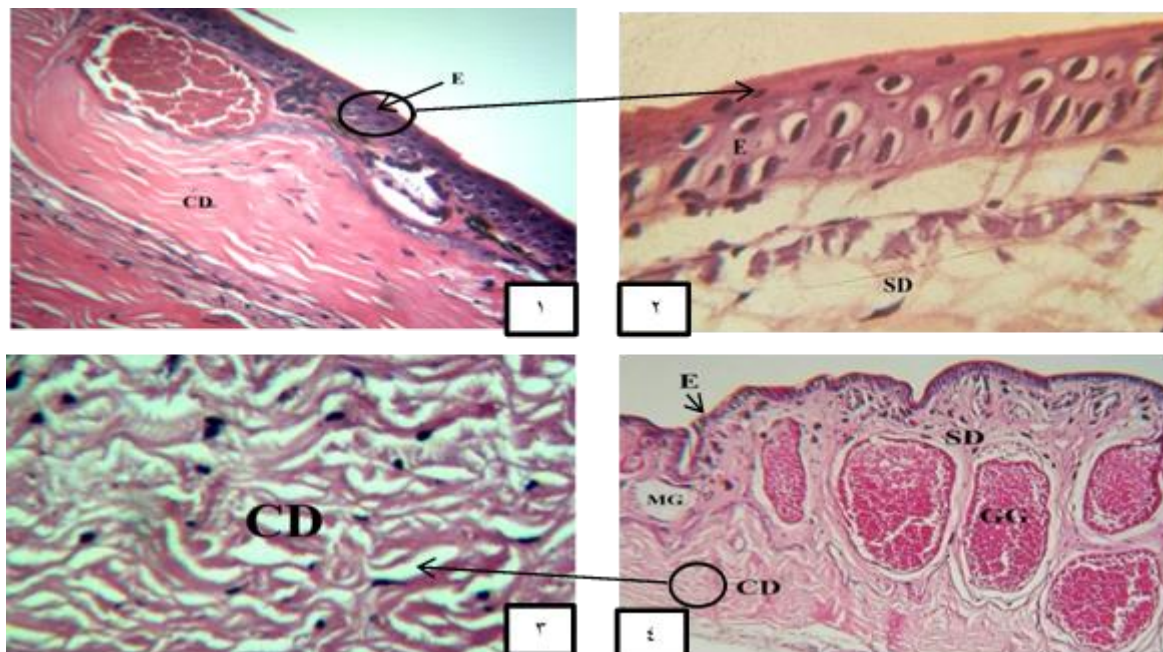
**مطالعات تولیدمثلی:** در مطالعه ویژگی‌های تولیدمثلی، پس

از محاسبه شاخص گنادی نرها و هم‌آوری در ماده‌ها، وزن حداکثر رسیدگی نمونه‌ها به تفکیک جنسیت تعیین شد. بر مبنای انجام آزمون T-test، مقایسه توان تولیدمثلی در بین نمونه‌های مورد مطالعه گونه *P. bedriagae* نشان داد، شاخص گنادی نمونه‌های جنس نر در بین نواحی مورد مطالعه دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ )، به‌عبارت دیگر نمونه‌های نر از نظر شاخص‌های جنسی تفاوت داشتند، هم‌چنین بر مبنای میانگین کسب شده در فصل پاییز و بهار که به



درون طبقه اسفنجی مشاهده شدند (شکل ۷-۴). باتوجه به شکل‌های مشاهده شد که رشته‌های کلاژن در سطح شکمی نازک‌تر از سطح پشتی می‌باشند.

شکل غددی عاری از ترشحات، درست در مجاورت اپیدرم پوست مشاهده می‌شوند (شکل ۷-۴). غدد گرانولار حبابی شکل بوده و حاوی ترشحات دانه‌ای اسیدوفیل بوده و در فاصله دورتری از اپیدرم



تصویر ۷: درشت‌نمایی نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده نواحی شمالی

۱،۲- مقطع بافتی پوست شکمی قورباغه ماده، اپیدرم یک اپیتلیوم مطبق سنگفرشی شاخی است و توسط غشاء پایه (پیکان‌ها) به درم اسفنجی متصل شده است. رنگ‌آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی  $\times 40$

۳،۴- مقطع بافتی پوست پشتی قورباغه نر، E: اپیدرم، SD: درم اسفنجی، GG: غده گرانولار، MG: غده موکوسی، CD: درم تراکم. رنگ‌آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی  $\times 40$

## بحث

همکاران، (۲۰۱۵). گونه‌های تخصص یافته به دلیل تراکم کم در زیستگاه اغلب آسیب‌پذیر هستند، ظرفیت‌های چنین زیستگاهی باید به گونه‌ای باشد که جواب‌گوی موقعیت حساس تولیدمثل جمعیت گونه به واسطه مرگومیر لاروی باتوجه به حساسیت زیستگاه شود (Cayuela, ۲۰۱۱). در ارتباط با چندریختی رنگی با توجه به مطالعات صورت گرفته، در دوزیستان بی‌دم مواردی از تکامل همگرا و وجود چند ریختی یکسان در گونه‌های نزدیک مشاهده می‌شود که این مهم در مشاهدات غیر تصادفی قابل مشاهده است (Blouin و Hoffman, ۲۰۰۰). این درحالی است که طی مشاهدات صورت گرفته دو قورباغه آبی هم‌شکل را به سختی می‌توان در کنار هم یافت (Roulin و Dubey, ۲۰۱۴)، بنابراین وجود چندریختی در دوزیستان بی‌دم یک سیستم غنی اما عمدتاً بهره‌بردار نشده برای مطالعات تکامل تنوع فنوتیپی رنگی در طبیعت است (Blouin و Hoffman, ۲۰۰۰). در جمعیت قورباغه‌ها چندریختی رنگی به ارتباط برخی از صفات

موجودات زنده از جمله دوزیستان به‌عنوان نتیجه‌ای از فرآیند تکاملی و تنوع زندگی بر روی زمین هستند، چنین موجوداتی طی قرن بیستم که جهان یک انفجار تکنولوژی و صنعتی بی‌سابقه را تجربه کرده است متحمل پیامدهای منفی متعددی شده‌اند. از طرفی، تخریب محیط‌زیست، حضور گونه‌های غیربومی، بهره‌برداری بیش‌ازحد از گونه‌ها، تغییرات آب‌وهوایی و استفاده از آفت‌کش‌ها اثرات مخربی بر روی پوست، توان تولیدمثلی و در نهایت جمعیت گونه‌ها می‌گذارد (Troccchia, ۲۰۱۴). یکی از آخرین روندهای بوم‌شناسی مدرن، شکل‌گیری و پایداری اکوسیستم‌ها است، تغییرات موجود در بیوتوپ‌ها و تنش‌های ناشی از فعالیت‌های انسانی که به اکوسیستم‌ها وارد می‌شود پاسخ دوزیستان به چنین شرایطی را دربر دارد که طی آن تغییراتی در خصوصیات فردی و جمعیت گونه‌ای مشاهده می‌شود (Zhelev و



چند متغیره، می‌توان تبیین کرد علت این‌که جدایی جمعیتی در جنسیت نر مشاهده شده است، تأثیر بیش‌تر مؤلفه‌های دسته اول در جنسیت نر و در نهایت جدایی جمعیتی در این جنس بوده است.

فعالیت‌های تولیدمثلی در دوزیستان به واسطه تغییرات آب و هوایی بسیار متنوع است و این نشان از نقش شرایط اکولوژیکی زیستگاه در فرآیند تولیدمثلی دوزیستان می‌باشد (نجیب‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳). عادات و رفتارهای جفتگیری، به همراه زمان و مکان تخم‌ریزی در گونه‌های هم‌جا نقش مهم و تأثیرگذاری در یک تولیدمثل موفق دارد (درویش، ۱۳۸۹). مطالعات صورت گرفته در ارتباط با تولیدمثل قورباغه مردابی در تالاب انزلی نشان داد جفتگیری و تخم‌ریزی این گونه در نقاط مختلف تالاب و بسته به شرایط اکولوژیکی از نیمه اسفند تا اواسط مرداد ادامه می‌یابد (میرزاجانی و همکاران، ۱۳۸۵). در جمعیتی از قورباغه‌های تایوان (*Limnonectes kuhlii*) که جنس نر دارای اندازه بدن و سر بزرگ‌تر نسبت به جنس ماده است، جفتگیری موفق به‌طور غیرمستقیم از طریق الگوی جنبش فضایی وابسته به اندازه رخ می‌دهد و این نشان از نقش انتخاب طبیعی در فعالیت‌های تولیدمثلی است (Tsuji, ۲۰۰۴). قدرت جنسی زیاد نرها یا ماده‌ها معمولاً معرف قدرت زیستی عمومی زیاد، شرایط تغذیه‌ای خوب و کنش متعادل همه روندهای فیزیولوژیک است و به دنبال آن موفقیت‌های تولیدمثلی حاصل قدرت زیستی عمومی است. برعکس این روند، سایر موفقیت‌ها منوط به خواص ویژه‌ای است که ارتباط اندکی با قدرت زیستی عمومی دارد، در این صورت پراکندگی یک ژنوتیپ در جمعیت نه‌به‌خاطر برتری کلی آن بلکه بدان خاطر است که مولد بهتری نیز می‌تواند باشد (درویش، ۱۳۸۹).

دوزیستان بی‌دم، شاخص بارز و مهمی از شکل‌گزینی و تنوع پذیری تحت تأثیر شرایط مختلف محیطی می‌باشند که مرتباً در معرض شرایط بی‌ثباتی محیطی هستند و به ناچار با توان فیزیولوژیک بدن خود باید با آن‌ها مواجه و به‌صورت مطلوبی درآورده تا قادر به ادامه حیات باشند (پاپهن و همکاران، ۱۳۹۵). به‌طورکلی دوزیستان دچار تغییرات عظیمی شده‌اند که در این میان پوست نیز در معرض دگرگونی‌های سازشی مختلفی قرار گرفته است (Lind و همکاران، ۲۰۰۷). پوست دوزیستان از لحاظ تنفسی و حفاظت بدن دارای اهمیت زیادی است. پوست به‌وسیله غدد موکوسی فراوانی که دارد نرم و مرطوب نگه‌داشته می‌شود، در دوزیستان بی‌دم ترشح موکوس باعث لزجی پوست بدن می‌گردد. بیش‌تر دوزیستان علاوه بر غدد موکوسی دارای غدد دانه‌دار نیز هستند و اگرچه هر دو نوع غده از بسیاری لحاظ کاملاً شبیه یکدیگرند، اما غدد دانه‌دار مواد مضر یا سمی ترشح

جمعیت‌شناختی مانند طول عمر و مهاجرت وابسته است، هم‌چنین ثبات چندریختی درون جمعیت توسط مکانیسم‌های زیست‌محیطی از جمله ساختار فضایی و سنی جمعیت تعیین می‌شود (Ishchenko, ۲۰۱۱). از طرفی احتمال می‌رود بین سازوکارهای رنگ و رژیم غذایی، هم‌چنین میزان شوری آب روابطی موجود باشد، این در حالی است که اگرچه ممکن است چندریختی رنگی یک زمینه ژنتیکی داشته باشد، اما تنوع رنگ در مقیاس منطقه‌ای در ارتباط با عوامل کنترل‌کننده محیط‌زیست می‌باشد (Harley و همکاران، ۲۰۰۶). به این ترتیب احتمال دارد که تغییرات رنگی مشاهده شده در جمعیت این گونه به دلیل تغییرات زیستگاهی و تأثیر محیط بر افراد جمعیت‌ها باشد. مطالعه چندریختی رنگی برای قورباغه مردابی در ایران (استان گلستان) توسط پسرکلو و همکاران (۱۳۹۰) و در تالاب امیرکلا به گیلان توسط فکوری و همکاران (۱۳۹۲) نشان از وجود چندریختی رنگی در این گونه می‌باشد. علاوه بر آن، در بررسی تنوع زیستی دوزیستان شرق استان گیلان، ریخت‌های متنوع براساس جنبه‌های شکل ظاهری و رنگ‌آمیزی بدن شناسایی شده است (دلاورشیداجلالی و همکاران، ۱۳۹۵).

بررسی‌های این مطالعه نشان می‌دهد که صفات ریختی به‌تنهایی نمی‌توانند همبستگی بین جمعیت‌های سه منطقه مورد مطالعه را نشان دهند. اما در مجموع تحلیل‌های آماری انجام شده (تک متغیره و چندمتغیره) براساس صفات ریختی اندازه‌گیری شده، همبستگی میان جمعیت‌های سه منطقه فوق‌الذکر را تا حد زیادی تأیید می‌کند و نشان می‌دهد نمونه‌های هر سه منطقه در بیش‌تر صفات فاقد تفاوت می‌باشند (فاصله جغرافیایی بین شوش و دزفول ۳۵ کیلومتر و رودخانه شاوور در ۱۸ کیلومتری شهرستان شوش واقع است). در پژوهش حاضر، دوریختی جنسی میان جمعیت‌ها مشاهده شد، این مطلب با نتایج هزاوه و همکاران (۱۳۸۶)، در مطالعه بر روی جمعیت‌های قورباغه مردابی (*P. ridibundus*) هم‌خوانی دارد. از سوی دیگر پژوهش‌های صورت گرفته در استان خراسان توسط نعمتی (۱۳۷۶) و فخارزاده (۱۳۸۲)، پس از اندازه‌گیری ۱۶ صفت ریختی نشان داد دوریختی جنسی در میان جمعیت قورباغه مردابی (*P. ridibundus*) وجود ندارد (هزاوه و همکاران، ۱۳۸۶). مطابق نتایج پژوهش حاضر، جمعیت‌ها در سه منطقه شمالی استان خوزستان قابل تمییز نبودند، لذا می‌توان تحلیل کرد سه منطقه مورد مطالعه با توجه به عدم حضور سد فیزیکی برای جدایی آن‌ها، از نظر شرایط اکولوژیکی، میکروکلیمایی و زیستگاهی تقریباً مشابه یکدیگر می‌باشند، به دنبال آن از آن جایی که دوزیستان موجوداتی خونسرد هستند، به پیروی از شرایط مشابه اکولوژیکی در سه منطقه، دارای همبستگی می‌باشند. براساس نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس



- می‌کنند که باعث حفاظت جانور در مقابل دشمن می‌گردد، غده‌های مزبور به صورت کیسه‌های کروی ته‌بسته‌ای هستند که دیواره آن‌ها خاصیت ترش‌حی دارد (ابراهیم‌نژاد، ۱۳۸۵). مطالعه مقاطع بافتی پوست سطح پشتی و شکمی پژوهش حاضر با نمونه‌های جمع‌آوری شده از اهواز و شهرکرد (پاپهن و همکاران، ۱۳۹۵) نشان داد از نظر بافت‌شناسی اختلافی بین آن‌ها وجود ندارد و تفاوت در ساختار پوست مربوط به ویژگی‌های هیستومتریکی می‌باشد که این عامل نیز نقش تأثیرگذار عوامل محیطی و اکولوژیکی را نشان می‌دهد. در نهایت، نتیجه بافت‌شناسی مطالعه حاضر با مطالعات گذشته هم‌خوانی دارد. با توجه به پژوهش حاضر به نظر می‌رسد براساس تنوع شرایط محیطی، فنوتیپ‌های مختلف بتوانند با شرایط محیطی سازش یابند و به دنبال آن میزان ارزش‌گزینی یک فنوتیپ توسط تعداد محیط‌های فیزیکی و بیوتیک که فنوتیپ مفروض می‌تواند در آن زندگی کند، تعیین می‌شود. ژنی مفروض در بعضی شرایط باعث دخالت منفی در ارزش‌سازشی می‌شود. حال هرگاه در شرایط دیگر دخالت آن مثبت باشد، خواهد توانست نگهداری شود. همین ظرفیت چندگانه، شانس نگهداری یک ژن را در گنجینه ژنی افزایش می‌دهد و حداقل، حذف آن را به تأخیر می‌اندازد (درویش، ۱۳۸۹).
- منابع**
۱. ابراهیم‌نژاد، م.، ۱۳۸۵. زیست‌شناسی مهره‌داران. انتشارات دانشگاه تهران. ویرایش دوم. ۱۷۵ صفحه.
  ۲. بلوچ، م. و کمی، ح.ق.، ۱۳۸۵. دوزیستان ایران. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۱۵۳ و ۱۵۵.
  ۳. پاپهن، ف.؛ اسمعیلیان، ا.؛ درست‌قول، م. و دژمان، م.، ۱۳۹۵. بررسی مورفولوژیک، مورفومتریکی، هیستولوژیک و هیستومتریکی قورباغه مردابی *Pelophylax ridibundus* در شهر اهواز (منطقه گرم) و مقایسه آن با شهر شهرکرد (منطقه سرد). فصلنامه محیط زیست جانوری. جلد ۸، شماره ۳، صفحات ۶۱ تا ۷۰.
  ۴. پسرکلو، ع.؛ قارزی، ا.؛ کمی، ح.ق. و همایونی، م.، ۱۳۹۰. مطالعه چندریختی رنگی در قورباغه مردابی *Rana ridibunda* در استان گلستان. مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۴، شماره ۳، صفحات ۴۵۵ تا ۴۴۶.
  ۵. حجتی، و.؛ مقدس، د. و فقیری، ا.، ۱۳۸۸. شناسایی دوزیستان و خزندگان پارک ملی شهیدزادگان ساری. فصلنامه زیست‌شناسی تجربی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان. جلد ۱، شماره ۳، صفحات ۸۶ تا ۹۸.
  ۶. درویش، ج.، ۱۳۸۹. جمعیت‌ها، گونه‌ها و تکامل. ویرایش جدید. مایر. انتشارات دانشگاه فردوسی. مشهد. صفحات ۳۲۹ تا ۳۳۴.
  ۷. دلاورشیداجلالی، ح.؛ حسینی‌خاله‌جیر، غ.؛ جمال‌زاده، ح. و کمی، ح.ق.، ۱۳۹۶. بررسی تنوع زیستی دوزیستان در شرق استان گیلان. فصلنامه محیط زیست جانوری. جلد ۹، شماره ۲، صفحات ۱۳۰ تا ۱۴۰.
  ۸. فکوری، ص.؛ جمالزاده، ح. و اسدی‌بان‌نارنجی، س.، ۱۳۹۲. مطالعه چندریختی رنگی در قورباغه مردابی *Rana ridibunda* در تالاب بین‌المللی امیرکلاهی گیلان. اولین همایش سراسری محیط زیست، انرژی و پدافند زیستی. روه ترویجی دوستداران محیط زیست، موسسه آموزش عالی مهر ارون با همکاری دانشگاه آزاد میبد و قرارگاه پدافند زیستی کشور. تهران.
  ۹. میرزاجانی، ع.؛ کیایی، ب. و باقری، س.، ۱۳۸۵. بررسی رشد لارو قورباغه مردابی و برآورد جمعیت گونه *Pelophylax ridibundus* در تالاب انزلی. مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۱۹، شماره ۲، صفحات ۱۹۱ تا ۲۰۲.
  ۱۰. نجیب‌زاده، م.؛ درویش، ج.؛ کمی، ح.ق. و قاسم‌زاده، ف.، ۱۳۹۳. مقایسه زیستگاه، رفتار جفتگیری و تخم‌ریزی سه گونه از دوزیستان بی‌دم قورباغه مردابی *Rana (Pelophylax) ridibunda*، قورباغه درختی *Hyla savignyi* و وزغ سبز *Bufo variabilis (Pseudepidalea)* در استان لرستان. مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۷، شماره ۲، صفحات ۲۹۱ تا ۲۹۹.
  ۱۱. هاشمی‌نژاد، ر.؛ کمی، ح.ق. و درویش، ج.، ۱۳۸۵. مطالعه بیوسیستماتیکی دوزیستان بی‌دم استان مازندران و بررسی شرایط اکولوژیکی زیستگاه آن‌ها. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشکده علوم. دانشگاه فردوسی. مشهد. ۱۳۷ صفحه.
  ۱۲. هزاهو، ن.؛ قاسم‌زاده، ف. و درویش، ج.، ۱۳۸۶. بررسی بیوسیستماتیک (مورفولوژی، کاربولوجی و مورفومتری) دوزیستان بی‌دم (Anura) استان مرکزی. مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۰، شماره ۴، صفحات ۴۵۸ تا ۴۶۷.
  ۱۳. Al-Barazengy, A.N.; Salman, A.O. and Hameed, F.T.A., 2015. Updated list of amphibians and reptiles in Iraq 2014. *Bull. Iraq nat. Hist. Mus.* Vol. 13, No. 4, pp: 29-40.
  ۱۴. Azevedo, R.A.; de Jesus Santana, A.S. and de Brito Gitirana, L., 2006. Dermal collagen organization in *Bufo ictericus* and in *Rana catesbeiana integument* (Anuran, Amphibian) under the evaluation of laser confocal microscopy. *Micron*. Vol. 37, No. 3, pp: 223-228.
  ۱۵. Cayuela, H.; Cheylan, M. and Joly, P., 2011. The best of a harsh lot in a specialized species: breeding habitat use by the yellow-bellied toad (*Bombina variegata*) on rocky riverbanks. *Amphibia-Reptilia*. Vol. 32, No. 4, pp: 533-539.
  ۱۶. Dubey, S. and Roulin, A., 2014. Evolutionary and biomedical consequences of internal melanins. *Pigment cell & melanoma research*. Vol. 27, No. 3, pp: 327-338.



۱۷. **Duellman, W.E., 1999.** Global distribution of amphibians: patterns, conservation, and future challenges: Johns Hopkins University Press. Baltimore. MD. USA. Vol. 2, No. 3, pp: 124.
۱۸. **Flores-Nava, A. and Vera-Muñoz, P., 1999.** Growth, metamorphosis and feeding behaviour of *Rana catesbeiana* Shaw 1802 tadpoles at different rearing densities. *Aquaculture Research*. Vol. 30, No. 5, pp: 341-347.
۱۹. **Harley, C.D.G.; Pankey, M.S.; Wares, J.P.; Grosberg, R.K. and Wonham, M.J., 2006.** Color polymorphism and genetic structure in the sea star *Pisaster ochraceus*. *The Biological Bulletin*. Vol. 211, No. 3, pp: 248-262.
۲۰. **Hoffman, E.A. and Blouin, M.S., 2000.** A review of colour and pattern polymorphisms in anurans. *Biological Journal of the Linnean Society*. Vol. 70, No. 4, pp: 633-665.
۲۱. **Ishchenko, V.G., 2014.** Ecological mechanisms determining stability of color polymorphism in the population of moor frog, *Rana arvalis* Nilss. *Russian Journal of Herpetology*. Vol. 1, No. 2, pp: 117-120.
۲۲. **Kazemi, S.M.; Rastegar-Pouyani, E.; Shafiei Darabi, S.A.; Ebrahim Tehrani, M.; Hosseinzadeh, MS.; Mashayekhi, M. and et al., 2015.** Annotated checklist of amphibians and reptiles of Qom Province. central Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*. Vol. 11, No. 1, pp: 23-31.
۲۳. **Kime, N.M.; Whitney, T.K.; Ryan, M.J. and Marler, C.A., 2010.** Treatment with arginine vasotocin alters mating calls and decreases call attractiveness in male túngara frogs. *General and comparative endocrinology*. Vol. 165, No. 2, pp: 221-228.
۲۴. **Lind, M. and Johansson, F., 2007.** The degree of adaptive phenotypic plasticity is correlated with the spatial environmental heterogeneity experienced by island populations of *Rana temporaria*. *Journal of evolutionary biology*. Vol. 20, No. 4, pp: 1288-97.
۲۵. **Measey, G.J.; Vimercati, G.; De Villiers, F.A.; Mokhatla, M.M.; Davies, S.J. and Edwards, S., 2015.** Frog eat frog: exploring variables influencing anurophagy. *Journal of Peer*. Vol. 3, No. 12, pp: 1-14.
۲۶. **Mirzajani, A.; Kiabi, B. and bagheri, S., 2006.** study of larvae Growth of *Rana ridibunda* species in Anzali wetland. *Journal of Iranian Biology*. Vol. 19, No. 2, pp: 191-202.
۲۷. **Pesarakloo, A.; Rastegar-Pouyani, E.; Rastegar-Pouyani, N.; Kami, H.Gh.; Najibzadeh, M. and Khosravani, A., 2017.** The first taxonomic reevaluation 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.
۲۸. **Trocchia, S., 2014.** The Samo river and the bio-preservation of species of the genus *Pelophylax*. *Journal of Zoology*. Vol. 119. No. 1, pp: 8-25.
۲۹. **Tsuji, H., 2004.** Reproductive ecology and mating success of male *Limnodynastes kuhlii*, a fanged frog from Taiwan. *Herpetologica*. Vol. 60, No. 2, pp: 155-167.
۳۰. **Watters, J.L.; Cummings, S.T.; Flanagan, R.L. and Siler, C.D., 2016.** Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach. *Zoo taxa*. Vol. 4027, No. 4, pp: 477-495.
۳۱. **Zhelev, Z.M.; Arnaudov, A. and Boyadzhiev, P., 2015.** Ecological status of the sazliyka river and its tributaries (blatnitsa and sokolitsa) as indicated by the color polymorphism and sexual composition of the populations *Pelophylax ridibundus* (amphibia: Ranidae). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. Vol. 21, No. 6, pp: 1148-1156.

