

بررسی مورفولوژیک، مورفومتریک، هیستولوژیک و هیستومتریک قورباغه مردابی (*Rana ridibunda*) (۱۷۷۱) (*Pelophylax ridibundus* Pallas) در شهر اهواز (منطقه گرم) و مقایسه آن با شهر سرد (منطقه سرد)

- فروغ پاپهن: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، صندوق پستی: ۱۳۵
- امین اسمعیلیان: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، صندوق پستی: ۱۳۵
- مهران درست قول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، صندوق پستی: ۱۳۵
- مهدی دژمان*: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی، مشهد، صندوق پستی: ۳۳۱-۹۱۷۳۵

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۴

چکیده

دوزستان گروهی از جانوران مهره دار بوده که قادر به زیستن در هر دوی محیط آبی و خشکی هستند و اهمیت زیادی در تعادل اکوسیستم ها دارند. در این مطالعه سعی شده که قورباغه های دو شهر شهر کرد و اهواز شناسایی و مورد بررسی های بیوسیستماتیکی قرار بگیرند. بر این اساس در بهار ۱۳۹۰، ۶۰ عدد قورباغه در دو منطقه با استفاده از تور دستی مخصوص صید قورباغه، صید شد. نمونه ها به صورت زنده به آزمایشگاه منتقل و پس از شناسایی گونه مورد اندازه گیری های مورفولوژیک، مورفومتریک، هیستولوژیک و هیستومتریک قرار گرفتند. بررسی صفات زیست سنجی نشان داد که میانگین اندازه های زیست سنجی قورباغه های نر و ماده منطقه سرد (شهر کرد) از منطقه گرم (اهواز) به طور معنی داری بیشتر ($P < 0/05$) می باشند. همچنین نتایج نشان داد میانگین ضخامت کلی پوست، ضخامت اپیدرم و ضخامت درم ناحیه شکمی بدن قورباغه های نر و ماده منطقه سرد (شهر کرد) از منطقه گرم (اهواز) بیشتر می باشد ولی میانگین ضخامت کلی پوست در نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه های نر و ماده در هر منطقه اختلاف معنی داری ($P > 0/05$) نداشت. علاوه بر این، میانگین تعداد غدد موکوسی در نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه های نر و ماده متعلق به منطقه سرد به طور معنی داری بیشتر از منطقه گرم ($P < 0/05$) بود.

کلمات کلیدی: قورباغه مردابی، مورفولوژیک، مورفومتریک، هیستولوژیک، هیستومتریک، اهواز، شهر کرد



مقدمه

دوزیستان نماینده اکوسیستم‌های آبی در سراسر جهان محسوب می‌گردند که دارای نقش مهمی در تعادل اکوسیستم هستند (Radik, 2009). متأسفانه امروزه مشخص شده که جمعیت جهانی دوزیستان به سرعت رو به کاهش گذاشته به طوری که این جانوران رو به انقراض می‌روند (Radik, 2009; Dinehart, 2005; Blaustein و Kiesecker, 2002). گزارش‌هایی مبنی بر ناپدید شدن تعدادی از گونه‌های قورباغه‌ها، وزغ‌ها و سمندرها در مناطق جنوب، مرکز و شمال آمریکا، اروپا، آسیا، آفریقا و استرالیا وجود دارد (Dinehart, 2005; Blaustein و Kiesecker, 2002). اولین بررسی‌ها در این خصوص در سال ۱۹۸۰ انجام گرفت که معلوم شد حدود ۴۲ درصد از همه دوزیستان شناخته شده رو به انقراض می‌باشند (Babu و Purna, 2001). محققان علت بروز این کاهش جمعیت را تغییر شرایط آب و هوایی کره زمین، عنوان می‌کنند. از جمله عوامل مهم در این زمینه، گرم شدن هوا و افزایش CO₂ اتمسفر می‌باشد (Babu و Purna, 2001). به علاوه دوزیستان با داشتن پوست نیمه تراوا بیش تر در معرض تغییرات محیطی قرار دارند (Azevedo و همکاران, 2006). پوست در دوزیستان دارای نقش‌های گوناگونی است. از جمله وظایفی که برای پوست دوزیستان در نظر گرفته می‌شود می‌توان به مواردی هم چون حفاظت مکانیکی (Azevedo و همکاران, 2006)، دریافت حس، دفاع شیمیایی، انتقال یون، جذب آب (Schwinger و همکاران, 2001)، تنفس و تنظیم مایعات بدن اشاره نمود (Azevedo و همکاران, 2005). پوست دوزیستان از دو لایه اپیدرم و درم تشکیل شده که بخش اپیدرمی از بافت اپی‌تلیوم سنگفرشی مطبق شاخی شده می‌باشد (Rigolo و همکاران, 2008; Felsemburgh و همکاران, 2007; Azevedo و de Brito, 2005) که از چهار لایه سلولی به ترتیب از داخل به خارج شامل طبقه زایا (Stratum germinativum)، طبقه خاردار (Stratum spinosum) و طبقه شاخی (Stratum corneum) تشکیل شده است (Sengezer و همکاران, 2010; Azevedo و de Brito, 2005; Nagai و همکاران, 2001). داخلی‌ترین لایه اپیدرم پوست، لایه زایا است که از درم به وسیله یک غشا پایه جدا می‌گردد. این لایه از یک یا دو ردیف سلول‌های تکثیر شونده به نام سلول‌های قاعده‌ای تشکیل شده که با تکثیر و تمایز خود سلول‌های تشکیل دهنده لایه‌های سلولی بالایی یعنی طبقه خاردار و دانه‌دار را می‌سازند (Nagai و همکاران, 2001). در زیر لایه اپیدرم، لایه درم قرار گرفته که از نظر ساختاری خود از دو طبقه اسفنجی

(Stratum spongiosum) و متراکم (Stratum compactum) تشکیل شده است (de Brito و Azevedo, 2005; Schwinger و همکاران, 2001). از نظر ساختمانی طبقات تشکیل دهنده لایه درم پوست از بافت همبند بوده که فیبرهای کلاژنی در هر یک از این طبقات از سازمان‌دهی خاصی برخوردار می‌باشد (Sengezer و همکاران, 2010; Felsemburgh و همکاران, 2007; Schwinger و همکاران, 2001). طبقه اسفنجی از فیبرهای ظریف کلاژنی اما طبقه متراکم از دستجات کلاژنی تشکیل شده است (Azevedo و همکاران, 2006). در بسیاری از گونه‌ها، لایه متراکم، کلسیفه می‌شود لذا پیشنهاد شده است که این لایه را باید از اعضای محافظت‌کننده پوست مهره‌داران محسوب نمود (Azevedo و همکاران, 2005). هم‌چنین در پوست دوزیستان دو نوع غده وجود دارد که شامل غدد موکوسی (Mucous glands) و غدد دانه‌دار (Granular glands) هستند (Sengezer و همکاران, 2010; Rigolo و همکاران, 2008). همه غدد پوستی در ناحیه اسفنجی درم قرار دارند. قطر غدد گرانولی بزرگ‌تر از غدد موکوسی می‌باشد و این ویژگی در همه دوزیستان بی‌دم عمومیت دارد. در هر دو نوع غده، سلول‌های میوپیتلیال در مجاور واحدهای ترش‌شی مشاهده می‌شوند. حضور این نوع سلول‌ها با خاصیت انقباضی‌شان در اطراف غدد برای خالی نمودن ترشحات از مجرای غدد، مهم و ضروری است (Rigolo و همکاران, 2008). در ایران و سایر نقاط جهان نیز بر روی جنبه‌های مختلف بیولوژی دوزیستان بی‌دم به‌ویژه گونه‌های جنس *Rana* مطالعات گوناگونی صورت گرفته است (Sengezer و همکاران, 2010; Hezaveh و همکاران, 2008; Al-Saleh و Al-Shehri, 2005; Koref-Santibanez و همکاران, 1984; Guillemin, 1967). ولی در بعضی موارد هنوز کمبود وجود دارد (Aprea و همکاران, 2007). به علاوه تاکنون پیچیدگی‌های ساختاری و مورفولوژیک پوست دوزیستان و تغییرات جغرافیایی آن به خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته است (Azevedo و همکاران, 2005). بنابراین موضوع این مطالعه، شناسایی مورفولوژی و مورفومتري و هیستولوژی و هیستومتري قورباغه مردابی شهر اهواز (منطقه‌ای با آب و هوای گرم) و مقایسه آن‌ها با قورباغه‌های شهر شهرکرد (منطقه‌ای با آب و هوای سرد) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در ابتدای بهار ۹۰ از سه ناحیه مختلف واقع در دو منطقه گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) (شکل ۱)، تعداد ۶۰ عدد قورباغه



۰/۵×۰/۵ سانتی متر مربع از نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌ها برداشت و سپس در فیکساتیو بوئن قرار داده شدند. پس از تثبیت نمونه‌های بافتی، آماده‌سازی بافتی و رنگ‌آمیزی با روش هماتوکسیلین-آنوزین، برش‌ها مورد ارزیابی‌های میکروسکوپی قرار گرفتند (Humason, ۱۹۷۹). پس از تهیه تصاویر میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ مجهز به دوربین (LE- (Germany-UI- ۱۵۵۵ C-HQ برای مطالعه هیستومتریک ضخامت کلی پوست، ضخامت قسمت اپیدرم و قسمت درم پوست، تعداد و قطر غدد پوستی موجود در پوست قورباغه‌های جنس نر و جنس ماده دو منطقه گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) با استفاده از نرم‌افزار Axiovision LE ۴/۵ اندازه‌گیری شد. هم‌چنین جهت مقایسه پارامترهای اندازه‌گیری شده پوست بدن قورباغه‌های فوق‌الذکر از آزمون Tukey بهره‌گیری شد.

(*Pelophylax ridibundus*) در هر منطقه ۳۰ عدد قورباغه شامل ۱۵ نر و ۱۵ ماده) با استفاده از تور دستی مخصوص صید قورباغه صید شده و به‌طور زنده به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید.

مطالعات تاکسونومیک: در این مطالعه صفات زیست

سنجی قورباغه‌های دو منطقه گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) بر اساس ویژگی‌های مندرج در جدول ۱ و کلیدهای شناسایی مورفولوژیک موجود در منابع تاکسونومیک (Cogger, ۲۰۰۲؛ Terentev و همکاران، ۱۹۴۷) مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت تا بدین‌وسیله در تشخیص و تعیین گونه قورباغه‌های شکار شده به‌کار رود. جهت مقایسه پارامترهای زیست‌سنجی آزمون T استفاده شد.

مطالعات هیستولوژیک و هیستومتریک: پس از کشتن

قورباغه‌ها بر اثر استنشاق کلروفرم، نمونه‌های پوست به ابعاد



شکل ۱: موقعیت جغرافیایی دو منطقه نمونه‌برداری شده



جدول ۱: اندازه‌گیری‌های قراردادی قسمت‌های مختلف بدن قورباغه.

تعریف	علامت اختصاری	توضیح
فاصله بین پلک‌ها	Sp.p	کوچک‌ترین فاصله بین لبه‌های داخلی پلک‌های فوقانی
عرض پلک‌ها	Lt.p	بزرگ‌ترین عرض پلک فوقانی
اندازه چشم	L.o	بزرگ‌ترین اندازه افقی چشم
اندازه پرده صماخ	L.tym	بزرگ‌ترین اندازه پرده صماخ
اندازه ران	F	از شکاف کلواکی تا بخش انتهایی استخوان ران
اندازه ساق	T	اندازه ساق (از روی پاهای خمیده)
طول پا	L.F	از برآمدگی داخلی تا نوک بزرگ‌ترین انگشت اندام عقبی
اولین انگشت	D.P	بخش انتهایی برآمدگی داخلی تا انتهای انگشت اندام عقبی
اندازه بدن	L	از نوک پوزه تا مرکز شکاف کلوالی
اندازه سر	L.C	از نوک پوزه قسمت خلفی پرده صماخ
فاصله چشم تا نوک پوزه	D.r.o	از نوک پوزه تا لبه قدامی چشم
فاصله نوستریل‌ها	N.d	فاصله نوستریل‌های بینی
برآمدگی داخلی	C.int	بزرگ‌ترین اندازه برآمدگی داخلی کف پا
طول مچ	L.To	اندازه مچ

جدول ۲: صفات مورفولوژیک شاخص گونه *Pelophylax ridibundus*

- ۱- توبرکول متاتارسال داخلی و کوچک است.
- ۲- انگشت داخلی اندام عقبی ۲ تا ۴/۵ برابر توبرکول می‌باشد.
- ۳- ساق پا ۹ تا ۱۴ برابر توبرکول است.
- ۴- کیسه تشدید صوت تقریباً سیاه رنگ است.

نتایج

مطالعات مورفولوژیک: مطالعات مورفولوژیک به‌منظور

اطمینان از نمونه‌گیری در سطح گونه، براساس صفات ذکر شده در جدول ۲ منجر به تشخیص گونه *Pelophylax ridibundus* گردید.

مطالعات زیست‌سنجی: مقایسه میانگین پارامترهای زیست

سنجی قورباغه‌های نر و ماده مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) نشان داد که میانگین اندازه‌های زیست‌سنجی قورباغه‌های نر و ماده منطقه سرد (شهرکرد) از منطقه گرم (اهواز) بیش‌تر است. از نظر آماری مقایسه صفات زیست‌سنجی در دو منطقه سرد و گرم مشخص نمود که در ۹ مورد از این صفات اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) وجود دارد که به‌شرح زیر است: صفاتی چون عرض پلک‌ها، اندازه چشم، طول پا، اندازه بدن و اندازه پرده صماخ و اندازه ران و اندازه ساق و اولین انگشت و برآمدگی داخلی کف پا قورباغه‌های مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بود که میانگین اندازه این صفات در قورباغه‌های

نر و ماده منطقه سرد (شهرکرد) از قورباغه‌های نر و ماده منطقه گرم (اهواز) بیش‌تر بود. بررسی و مقایسه دیگر صفات مانند فاصله بین پلک‌ها و اندازه سر و فاصله چشم تا نوک پوزه و فاصله نوستریل‌ها و طول مچ در بین قورباغه‌های نر و ماده مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) از نظر آماری اختلاف معنی‌دار نشان نداد. ولی در مورد همه این صفات، میانگین اندازه این صفات در قورباغه‌های نر و ماده منطقه سرد (شهرکرد) از قورباغه‌های نر و ماده منطقه گرم (اهواز) بیش‌تر بود.

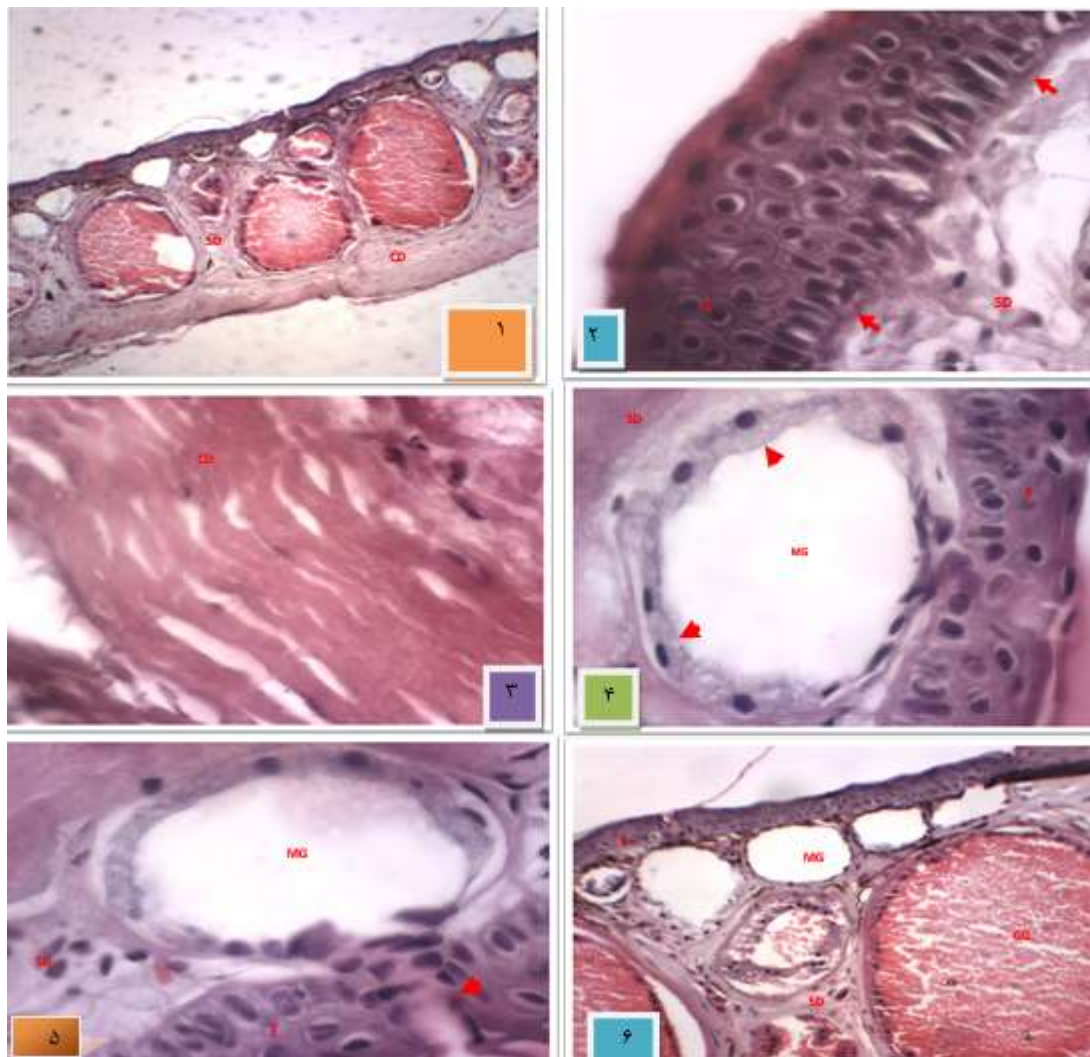
نتایج هیستولوژیک: مطالعه میکروسکوپی پوست نواحی

پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) نشان داد که پوست بدن آن‌ها از دو طبقه اپیدرم و درم تشکیل شده است (شکل ۱-۲). اپیدرم پوست در نواحی پشتی و شکمی از اپی‌تلیوم چند لایه تشکیل شده که از تیغه پایه به طرف سطح پوست از ۴ تا ۵ لایه سلولی ساخته شده است (شکل ۲-۲). سطحی‌ترین طبقه اپیدرم طبقه شاخی بوده که از سلول‌های سنگ‌فرشی تشکیل شده است. درم پوست از نظر ساختار بافتی، خود از دو طبقه مجزا که از خارج به‌داخل شامل طبقه اسفنجی متشکل از بافت همبند سست بوده که حاوی عروق خونی و غدد پوستی و طبقه متراکم متشکل از بافت همبند سخت بوده که حاوی دستجات ضخیم و متراکم فیبرهای کلاژنی می‌باشد تشکیل شده است (شکل ۳-۲). در طبقه اسفنجی دو نوع غده مشاهده شد، یک نوع غدد کوچک که همان غدد موکوسی پوست بوده و دیگری غدد بزرگ که همان غدد گرانولار



گرانولار اسیدوفیل بوده و در فاصله دورتری از اپیدرم درون طبقه اسفنجی مشاهده شدند (شکل ۶-۲). از نظر ساختار هیستولوژیک اختلافی بین پوست نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) و نیز بین قورباغه‌های نر و ماده موجود در هر منطقه مشاهده نشد.

پوست می‌باشند (شکل ۴-۲). غدد موکوسی، غددهای حبابی شکل بوده که در مقاطع میکروسکوپی به شکل غددهای عاری از ترشحات، درست در مجاورت اپیدرم پوست مشاهده می‌شوند (شکل ۵-۲). سلول‌های حاوی رنگدانه ملانین در مجاورت و نزدیک به غده حبابی موکوسی و در زیر اپیدرم پوست به میزان فراوان مشاهده شد. غدد گرانولار حبابی شکل حاوی ترشحات



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپی پوست نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد)
 ۱: مقطع بافتی پوست پشتی قورباغه نر منطقه گرم (اهواز). ۲: مقطع بافتی پوست پشتی قورباغه نر منطقه سرد (شهرکرد) پیکان: غشاء پایه اپیدرم. ۳: مقطع بافتی پوست شکمی قورباغه ماده منطقه گرم (اهواز). ۴: مقطع بافتی پوست شکمی قورباغه نر منطقه گرم (اهواز) پیکان: سلول موکوسی. ۵: مقطع بافتی پوست پشتی قورباغه ماده منطقه سرد (شهرکرد) پیکان: مجرای غده موکوسی. ۶: مقطع بافتی پوست پشتی قورباغه ماده منطقه سرد (شهرکرد) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین) E: اپیدرم، SD: درم اسفنجی، CD: درم متراکم، MG: غده موکوسی، GG: غده گرانولار



نتایج هیستومتریک: مطالعه هیستومتریک پوست نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) نشان داد که میانگین ضخامت کلی پوست در نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده در هر منطقه اختلاف معنی‌داری نداشته و مشخص گردید که در هر منطقه ضخامت کلی پوست، ضخامت اپیدرم و ضخامت درم ناحیه پشتی بیش‌تر ($p < 0/05$) از ناحیه شکمی می‌باشد (جدول ۳ و ۴). هم‌چنین، میانگین تعداد غدد موکوسی و گرانولار در پوست بدن قورباغه‌های نر و ماده منطقه گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد اما تعداد غدد موکوسی و گرانولار در هر دو منطقه در ناحیه پشتی بیش‌تر ($p < 0/05$) از ناحیه شکمی بود. در هر دو منطقه غدد گرانولار در پوست ناحیه شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده در مقایسه با پوست ناحیه پشتی آن‌ها به تعداد بسیار کم مشاهده شد. علاوه براین، میانگین قطر غدد موکوسی و گرانولار در پوست نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده در هر دو منطقه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را

نشان نمی‌دهد (جدول ۵ و ۶). مقایسه میانگین پارامترهای هیستومتریک پوست نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) نشان داد که میانگین ضخامت کلی پوست، ضخامت اپیدرم و ضخامت درم ناحیه شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده منطقه سرد (شهرکرد) از منطقه گرم (اهواز) بیش‌تر ($p < 0/05$) می‌باشد. میانگین ضخامت کلی پوست، ضخامت اپیدرم و ضخامت درم ناحیه پشتی بدن قورباغه‌های نر و ماده منطقه سرد (شهرکرد) از منطقه گرم (اهواز) بیش‌تر بوده اما از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۷). هم‌چنین، میانگین تعداد غدد موکوسی در نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده متعلق به منطقه سرد (شهرکرد) بیش‌تر ($p < 0/05$) از منطقه گرم بود اگرچه اختلاف معنی‌داری، بین میانگین تعداد غدد گرانولار در قورباغه‌های مورد بررسی دو منطقه مورد مطالعه، مشاهده نشد (جدول ۸).

جدول ۳: میانگین ضخامت کلی پوست در نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده منطقه گرم (اهواز)

پارامتر	نر	ماده
ضخامت پوست پشتی	۱/۲۴±۰/۳۰ ^a	۱/۲۵±۰/۲۰ ^a
ضخامت اپیدرم پشتی	۰/۱۶۶±۰/۰۱ ^a	۰/۱۵۳±۰/۰۱ ^a
ضخامت درم پشتی	۱/۱۵±۰/۳۴ ^a	۱/۱۴±۰/۲۰ ^a
ضخامت پوست شکمی	۰/۹۳۴±۰/۲۰ ^b	۰/۸۹۰±۰/۱۲ ^b
ضخامت اپیدرم شکمی	۰/۱۰۵±۰/۰۱ ^b	۰/۱۱۰±۰/۰۱ ^b
ضخامت درم شکمی	۰/۷۰۴±۰/۱۸ ^b	۰/۶۹۲±۰/۱۰ ^b

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد ($p < 0/05$). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.

جدول ۴: میانگین ضخامت کلی پوست در نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده منطقه سرد (شهرکرد).

پارامتر	نر	ماده
ضخامت پوست پشتی	۱/۲۷±۰/۳۲ ^a	۱/۲۶±۰/۱۱ ^a
ضخامت اپیدرم پشتی	۰/۱۶۷±۰/۰۱ ^a	۰/۱۵۷±۰/۰۱ ^a
ضخامت درم پشتی	۱/۱۷±۰/۳۰ ^a	۱/۱۶±۰/۳۰ ^a
ضخامت پوست شکمی	۱/۱۴±۰/۲۸ ^b	۱/۱۲±۰/۱۱ ^b
ضخامت اپیدرم شکمی	۰/۱۵۴±۰/۰۱ ^b	۰/۱۴۹±۰/۰۱ ^b
ضخامت درم شکمی	۰/۹۰۹±۰/۱۷ ^b	۰/۸۷۷±۰/۳۰ ^b

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد ($p < 0/05$). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.



جدول ۵: میانگین تعداد غدد موکوسی و گرانولار در نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده منطقه گرم (اهواز)

پارامتر	نر	ماده
تعداد غدد موکوسی پشتی	۷/۵۶±۲/۰۲ ^a	۷/۴۳±۱/۶۷ ^a
تعداد غدد گرانولار پشتی	۵/۱۶±۱/۷۸ ^a	۴/۵۰±۲/۲۰ ^a
قطر غدد موکوسی پشتی	۰/۳۳۹±۰/۰۱ ^a	۰/۳۱۲±۰/۰۱ ^a
قطر غدد گرانولار پشتی	۱/۰۱±۰/۱۱۲ ^a	۱/۰۱±۰/۱۱۵ ^a
تعداد غدد موکوسی شکمی	۶/۳۳±۱/۲۹ ^b	۶/۱۶±۱/۳۱ ^b
تعداد غدد گرانولار شکمی	۰/۴۳۳±۰/۵۰۴ ^b	۰/۳۶۶±۰/۴۹۰ ^b
قطر غدد موکوسی شکمی	۰/۳۴۳±۰/۰۱ ^b	۰/۳۱۷±۰/۰۱ ^b
قطر غدد گرانولار شکمی	۰/۹۵۸±۰/۱۴۶ ^b	۰/۹۸۴±۰/۱۴۵ ^b

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد (p<۰/۰۵). داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.

جدول ۶: میانگین تعداد غدد موکوسی و گرانولار در نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده منطقه سرد (شهرکرد)

پارامتر	نر	ماده
تعداد غدد موکوسی پشتی	۸/۹۶±۱/۵۱ ^a	۸/۷۳±۱/۰۷ ^a
تعداد غدد گرانولار پشتی	۵/۳۰±۱/۸۴ ^a	۴/۵۰±۱/۰۳ ^a
قطر غدد موکوسی پشتی	۰/۳۳۰±۰/۰۱ ^a	۰/۳۱±۰/۰۱ ^a
قطر غدد گرانولار پشتی	۰/۹۹۷±۰/۱۶۵ ^a	۱/۰۰±۰/۱۰۸ ^a
تعداد غدد موکوسی شکمی	۷/۳۶±۱/۵۴ ^b	۷/۲۰±۱/۳۲ ^b
تعداد غدد گرانولار شکمی	۰/۴۶۶±۰/۵۰۷ ^b	۰/۵۰±۰/۵۰۸ ^b
قطر غدد موکوسی شکمی	۰/۳۴±۰/۰۱ ^b	۰/۳۲±۰/۰۱ ^b
قطر غدد گرانولار شکمی	۰/۹۴۲±۰/۱۰۹ ^b	۰/۹۶۹±۰/۱۴۱ ^b

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد (p<۰/۰۵). داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.

جدول ۷: میانگین پارامترهای هیستومتریک پوست نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد)

پارامتر	منطقه گرم (اهواز)		منطقه سرد (شهرکرد)	
	ماده	نر	ماده	نر
ضخامت پوست پشتی	۱/۲۴±۰/۳۰ ^a	۱/۲۵±۰/۲۰ ^a	۱/۲۷±۰/۳۲ ^a	۱/۲۶±۰/۱۱ ^a
ضخامت اپیدرم پشتی	۰/۱۶۶±۰/۰۱ ^a	۰/۱۵۳±۰/۰۱ ^a	۰/۱۶۷±۰/۰۱ ^a	۰/۱۵۷±۰/۰۱ ^a
ضخامت درم پشتی	۱/۱۵±۰/۳۴ ^a	۱/۱۴±۰/۲۰ ^a	۱/۱۷±۰/۳۰ ^a	۱/۱۶±۰/۳۰ ^a
ضخامت پوست شکمی	۰/۹۳۴±۰/۲۰ ^a	۰/۸۹۰±۰/۱۲ ^a	۱/۱۴±۰/۲۸ ^b	۱/۱۲±۰/۱۱ ^b
ضخامت اپیدرم شکمی	۰/۱۰۵±۰/۰۱ ^a	۰/۱۱۰±۰/۰۱ ^a	۰/۱۵۴±۰/۰۱ ^b	۰/۱۴۹±۰/۰۱ ^b
ضخامت درم شکمی	۰/۷۰۴±۰/۱۸ ^a	۰/۶۹۲±۰/۱۰ ^a	۰/۹۰۹±۰/۱۷ ^b	۰/۸۷۷±۰/۳۰ ^b

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد (p<۰/۰۵). داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.

جدول ۸: میانگین تعداد غدد موکوسی در نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده متعلق به منطقه سرد (شهرکرد) و منطقه گرم (اهواز)

پارامتر	منطقه گرم (اهواز)		منطقه سرد (شهرکرد)	
	ماده	نر	ماده	نر
تعداد غدد موکوسی پشتی	۷/۵۶±۲/۰۲ ^a	۷/۴۳±۱/۶۷ ^a	۸/۹۶±۱/۵۱ ^b	۸/۷۳±۱/۰۷ ^b
تعداد غدد گرانولار پشتی	۵/۱۶±۱/۷۸ ^a	۴/۵۰±۲/۲۰ ^a	۵/۳۰±۱/۸۴ ^a	۴/۵۰±۱/۰۳ ^a
قطر غدد موکوسی پشتی	۰/۳۳۹±۰/۰۱ ^a	۰/۳۱۲±۰/۰۱ ^a	۰/۳۳۰±۰/۰۱ ^a	۰/۳۱±۰/۰۱ ^a
قطر غدد گرانولار پشتی	۱/۰۱±۰/۱۱۲ ^a	۱/۰۱±۰/۱۱۵ ^a	۰/۹۹۷±۰/۱۶۵ ^a	۱/۰۰±۰/۱۰۸ ^a
تعداد غدد موکوسی شکمی	۶/۳۳±۱/۲۹ ^a	۶/۱۶±۱/۳۱ ^a	۷/۳۶±۱/۵۴ ^b	۷/۲۰±۱/۳۲ ^b
تعداد غدد گرانولار شکمی	۰/۴۳۳±۰/۵۰۴ ^a	۰/۳۶۶±۰/۴۹۰ ^a	۰/۴۶۶±۰/۵۰۷ ^a	۰/۵۰±۰/۵۰۸ ^a
قطر غدد موکوسی شکمی	۰/۳۴۳±۰/۰۱ ^a	۰/۳۱۷±۰/۰۱ ^a	۰/۳۴±۰/۰۱ ^a	۰/۳۲±۰/۰۱ ^a
قطر غدد گرانولار شکمی	۰/۹۵۸±۰/۱۴۶ ^a	۰/۹۸۴±۰/۱۴۵ ^a	۰/۹۴۲±۰/۱۰۹ ^a	۰/۹۶۹±۰/۱۴۱ ^a

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ می‌باشد (p<۰/۰۵). داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.



بحث

روی گونه دوزیست *Triturus karelinii* مشخص شده که پوست شکمی و پشتی از نظر ساختار ریختی مشابه هستند و اختلافات اندکی دارند. هم‌چنین در مطالعه Sinsch و Lehr (۲۰۱۰) فراوانی غدد موکوسی در پوست قورباغه *Telmatobius carrillae* مرتبط به جنسیت و ضخامت پوست نبود.

در این مطالعه بررسی هیستومتريک پوست بدن قورباغه‌های گونه *Pelophylax ridibundus* متعلق به دو منطقه نشان داد که پوست بدن به‌ویژه پوست ناحیه شکمی قورباغه‌های منطقه سرد از ضخامت بیش‌تری در مقایسه با قورباغه‌های منطقه گرم برخوردار بوده و تعداد غدد موکوسی پوست در قورباغه‌های منطقه سرد نسبت به قورباغه‌های منطقه گرم بیش‌تر می‌باشد هم‌چنین تعداد غدد موکوسی و گرانولار در هر دو منطقه در ناحیه پشتی بیش‌تر از ناحیه شکمی است و اختلافی بین جنس‌ها مشاهده نگردید. در بعضی مطالعات گزارش شده تعداد غدد موکوسی و گرانولار در سراسر بدن متغیر می‌باشد و به‌طور کلی غدد موکوسی در پوست پشتی نسبت به شکمی بیش‌تر و نسبت به غدد گرانولار فراوان‌تر و گسترده‌تر هستند و نشان داده شده که تغییرات درون گونه‌ای در Ranids ممکن است مرتبط با تفاوت زیستگاهی باشد (Duellman و Trueb، ۱۹۸۶). علاوه بر این تعداد غدد گرانولار روی پوست قسمت پشتی نسبت به شکمی بیش‌تر است (Mills و Prum، ۱۹۸۴). غده‌های موجود در پوست در رفتار جنسی، تشخیص جنس و جنبه‌های دیگر ارتباط شیمیایی به‌ویژه در *Urodeles* نقش دارند، هم‌چنین غدد پوستی تولید ماده سمی یا مواد ناخوشایند کرده که دوزیستان را از شکارچیانشان محافظت می‌کنند (Kentwood، ۲۰۰۷). در دوزیستان بی‌دم آب در لایه اسفنجی وجود دارد و این لایه را در این موجودات تبدیل به مخزن آب نموده است (Azevedo، ۲۰۰۶). هم‌چنین یکی از نقش‌های پوست در دوزیستان کمک به امر تنفس می‌باشد. تبادل گازهای تنفسی در دوزیستان از طریق پوست امریست طبیعی و برای قورباغه‌ها که پوستی مرطوب و پر عروق دارند مهم می‌باشند (Hutchison و Guimond، ۱۹۷۳). به‌علاوه نقش نسبی پوست و ریه طی یک‌سال تغییر می‌کند، کاهش یا از بین رفتن ریه در قورباغه یک تغییر مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی است که اجازه تنفس خارجی یا پوستی را به جانور می‌دهد (Bickford، ۲۰۰۸). با توجه به موارد مذکور پوست دوزیستان از اهمیت و آفری برخوردار بوده و اختلافات مشاهده شده در پوست بین جمعیت‌های مناطق سرد و گرم ممکن است نقش سازشی داشته باشد.

دوزیستان بی‌دم، شاخص بارز و مهمی از شکل‌گزینی و تنوع‌پذیری تحت تأثیر شرایط مختلف محیطی می‌باشند (Berven، ۱۹۷۹). این جانوران مرتباً در معرض شرایط محیطی بی‌ثباتی هستند که با توان فیزیولوژیک بدن خود باید با آن‌ها مواجه و به صورت مطلوبی درآورده تا قادر به ادامه حیات باشد. تاکنون در مقالات منتشر شده مشخص شده است که جمعیت‌های دوزیستان در ارتفاعات و عرض‌های جغرافیایی بالاتر متمایل به داشتن دوره فعالیت و بازه زمانی تولیدمثلی کوتاه‌تر، دوره لاروی طولانی‌تر، اندازه بزرگ‌تر در همه مراحل لاروی، افراد بالغ بزرگ‌تر، بلوغ دیرتر و تخم‌های بزرگ‌تری هستند (Lehr و Sinsch، ۲۰۱۰؛ Morrison و Hero، ۲۰۰۳؛ Miaud و همکاران، ۱۹۹۹؛ Ryser، ۱۹۹۶). در بررسی حاضر نیز اختلافات معنی‌داری در ۹ ویژگی از ۱۴ ویژگی ریختی اندازه‌گیری شده مشاهده شد به‌عبارت دیگر جمعیت منطقه سرد (شهرکرد) گونه *Pelophylax ridibundus* دارای صفات زیست‌سنجی بزرگ‌تری نسبت به جمعیت منطقه گرم (اهواز) بود. این ویژگی در مورد هر دو جنس نر و ماده صادق بود. رشد و سرعت تکوین دوزیستان تحت تأثیر تعداد زیادی از عوامل درونی و خارجی است. فاکتورهای خارجی شامل: دما، تراکم، رقابت، غذا، شکار، زیستگاه تولیدمثل و عوامل درونی شامل: اندازه بدن، اندازه تخم و میزان ذخیره زرده می‌باشند. دمای سردتر روی لارو دوزیستان، رشد افراد نابالغ، سرعت تکوین و به‌دنبال آن روی زمان بلوغ و متعاقباً اندازه افراد بالغ تأثیرگذار هست. به‌خاطر این عوامل، دوزیستان ارتفاع و عرض جغرافیایی بالاتر به‌طور کلی نسبت به افراد ارتفاع کم و نواحی گرم‌سیری، بزرگ‌تر هستند. دمای پایین‌تر در این مناطق روی رشد و نرخ تکوین اثر گذاشته و معمولاً منجر به دوره لاروی طولانی‌تر و اندازه بزرگ‌تر در طول دگرذیسی و افراد بلوغ در ارتفاع و عرض جغرافیایی بالاتر می‌شود (Kentwood، ۲۰۰۷؛ Morrison و Hero، ۲۰۰۳). مطالعات انجام شده نشان داده است که پوست دوزیستان بالغ از نظر ساختاری از دو لایه اپیدرم و درم تشکیل شده است و ناحیه درم دارای دو نوع غدد موکوسی و گرانولار می‌باشد (Felsemburgh و همکاران، ۲۰۰۹؛ Azevedo، ۲۰۰۶؛ Schwinger و همکاران، ۲۰۰۱). نتایج مطالعه حاضر نیز با مطالعات گذشته هم‌خوانی دارد. از نظر ساختار هیستولوژیک اختلافی بین پوست نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های مناطق گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) و نیز بین قورباغه‌های نر و ماده موجود در هر منطقه مشاهده نشد. در مطالعه Ozakpinar و Murathanoglu (۲۰۱۱)

منابع

- the University of Akron. A Thesis for the Degree Master of Science. ۸۲ p.
۱۳. **Duellman, W. E. and Trueb, L., ۱۹۸۶.** Biology of Amphibians. JHU Press. Nature. ۶۷۰ p
 ۱۴. **Felsemburgh, F.; Carvalho-e-Silva, S. and de Brito-Gitirana, L., ۲۰۰۷.** Morphological characterization of the anuran integument of the *Proceratophrys* and *Odontophrynus* genera (Amphibia, Anuran, Leptodactylidae). *Micron*. Vol. ۳۸, pp: ۴۳۹-۴۴۵.
 ۱۵. **Felsemburgh, F.A.; de Almeida, P.G.; de Carvalho-e-Silva, S.P. and de Brito-Gitirana, L., ۲۰۰۹.** Microscopical methods promote the understanding of the integument biology of *Rhinella ornata*. *Micron*. Vol. ۴۰, pp: ۱۹۸-۲۰۵.
 ۱۶. **Guillemin, C., ۱۹۶۷.** Caryotypes de *Rana temporaria* (L.) et de *Rana dalmatina* (Bonaparte). *Chromosoma*. Vol. ۲۱, pp: ۱۸۹-۱۹۷.
 ۱۷. **Guimond, W. and Hutchison, V.H., ۱۹۷۳.** Aquatic respiration: An unusual strategy in the hellbender *Cryptobranchus alleganiensis alleganiensis* (Daudin). *Science*. Vol. ۱۸۲, pp: ۱۲۶۳-۱۲۶۵.
 ۱۸. **Hezaveh, N.; Ghasemzadeh, F. and Darvish, J., ۲۰۰۸.** Biosystematic Study (Morphology, Karyology and Morphometry) Of Anuran Amphibian in Markazi Province. *Iranian Journal of Biology*. Vol. ۴, pp: ۴۵۸-۴۶۷.
 ۱۹. **Humason, G.L., ۱۹۷۹.** Animal Tissue Techniques. ۴th Edition, W.H. Freeman. ۶۶۱ p
 ۲۰. **Kentwood, D.W., ۲۰۰۷.** The Ecology and Behavior of Amphibians. The University of Chicago Press. Chicago and London. ۱۰۸۵ p.
 ۲۱. **Koref-Santibanez, S. and Gunther, R., ۱۹۸۴.** Karyological and serological studies in *Rana lessonae*, *R. ridibunda* and in their hybrid *R. esculenta* (Amphibia, Anura). *Genetica*. Vol. ۵۲, pp: ۱۹۵-۲۰۷.
 ۲۲. **Miaud, C.; Guyetant, R. and Faber, H., ۱۹۹۹.** Age, size and growth of the alpine newt *Triturus alpestris* (Urodela: Salamandridae) at high altitudes and a review of life history trait variation throughout its range. *Herpetologica*. Vol. ۵۶, pp: ۱۳۵-۱۴۴.
 ۲۳. **Mills, J. W. and Prum, B. E., ۱۹۸۴.** Morphology of the Exocrine Glands of the Frog Skin. *The American Journal of Anatomy*. Vol. ۱۷۱, pp: ۹۱-۱۰۶.
 ۲۴. **Morrison, C. and Hero, J.M., ۲۰۰۳.** Geographic variation in life history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*. Vol. ۷۲, pp: ۲۷۰-۲۷۹.
 ۲۵. **Nagai, H. K. T. and Hillyard, H. T. S. D., ۲۰۰۱.** The spinal nerves innervate putative chemosensory cells in the ventral skin of desert toads, *Bufo alvarius*. *Springer-Verlag*. Vol. ۳۰۴, pp: ۱۸۵-۱۹۲.
 ۲۶. **Purna Sai, K. and Babu, M., ۲۰۰۱.** Studies on *Rana tigerina* skin collagen. *Comparative Biochemistry and*
 ۱. **Alford, R.A. and Richards, S.J., ۱۹۹۹.** Global amphibian declines: a problem in applied ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Vol. ۱, pp: ۱۳۳-۱۶۵.
 ۲. **Al-Shehri, A. and Al-Saleh, A., ۲۰۰۵.** Karyotype of amphibians in Saudi Arabia ۱: The karyotype of *Rana ridibunda*. *Journal of Biological Sciences*. Vol. ۵, pp: ۳۳۵-۳۳۸.
 ۳. **Aprea, G.; Odierna, G.; Andreone, F.; Glaw, F. and Vences, M., ۲۰۰۷.** Karyological evolution and systematics of Malagasy frogs. *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*. Vol. ۲۴۶, pp: ۲۳-۴۱.
 ۴. **Azevedo, R.A.; de Jesus Santana, A.S. and de Brito-Gitirana, L., ۲۰۰۶.** Dermal collagen organization in *Bufo ictericus* and in *Rana catesbeiana* integument (Anuran, Amphibian) under the evaluation of laser confocal microscopy. *Micron*. Vol. ۳۷, No. ۳, pp: ۲۲۳-۲۲۸.
 ۵. **Azevedo, R.A.; Pelli, A.A.; Ferreira-Pereira, A.; Santana, A.S.J.; Felsemburgh, F.A. and de Brito-Gitirana, L., ۲۰۰۵.** Structural aspects of the Eberth-Katschenko layer of *Bufo ictericus* integument: histochemical characterization and biochemical analysis of the cutaneous calcium (Bufonidae). *Micron*. Vol. ۳۶, No. ۱, pp: ۶۱-۶۵.
 ۶. **Berven, K.A.; Gill, D.E. and Smith-Gill, S.J., ۱۹۷۹.** Countergradient selection in the green frog, *Rana clamitans*. *Evolution*. Vol. ۳۳, pp: ۶۰۹-۶۲۳.
 ۷. **Bickford, D.; Iskandar, D. and Barlian, A., ۲۰۰۸.** A lungless frog discovered on Borneo. *Current Biology*. Vol. ۱۸, pp: ۳۷۴-۳۷۵.
 ۸. **Blaustein, A.R. and Kiesecker, J., ۲۰۰۲.** Complexity in conservation: Lesson from the global decline of amphibian populations. *Ecology Letters*. Vol. ۵, pp: ۵۹۷-۶۰۸.
 ۹. **Bingol-Ozakupinar, O. and Murathanoglu, O., ۲۰۱۱.** The morphology of the dorsal and ventral skin of *Triturus karelinii* (Caudata: Salamandridae). *Biologia*. Vol. ۶۶, No. ۲, pp: ۳۴۹-۳۵۶.
 ۱۰. **Cogger, H.G., ۲۰۰۲.** Encyclopedia of Animals: Mammals, Birds, Reptiles, Amphibians. *Fog City Press*. ۶۵۸ p.
 ۱۱. **De Brito-Gitirana, L. and Azevedo, R., ۲۰۰۵.** Morphology of *Bufo ictericus* integument (Amphibia, Bufonidae). *Micron*. Vol. ۳۶, pp: ۵۳۲-۵۳۸.
 ۱۲. **Dinehart, S.K., ۲۰۰۵.** The effects of Disturbance on Aquatic Breeding Amphibians within the Cuyahoga Valley National Park. *University of Akron. Faculty of*



- Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. Vol. ۱۲۸, pp: ۸۱-۹۰.
۲۷. **Radik, G.A.**, ۲۰۰۹. Assessing Risks of Amphibian Declines Using Multiple Stressors. Ohio University. ۵۴ p.
۲۸. **Ryser, J.**, ۱۹۹۶. Comparative life histories of a low- and a high-elevation population of the common frog *Rana temporaria*. Amphibia, Reptilia. Vol. ۱۷, pp: ۱۸۳-۱۹۵.
۲۹. **Rigolo, J.; Almeida, J. and Ananias, F.**, ۲۰۰۸. Histochemistry of skin glands of *Trachycephalus aff. venulosus Laurenti*, (Anura, Hylidae). Micron. Vol. ۳۹, pp: ۵۶-۶۰.
۳۰. **Schwinger, G.; Zanger, K. and Greven, H.**, ۲۰۰۱. Structural and mechanical aspects of the skin of *Bufo marinus* (Anura, Amphibia). Tissue and Cell. Vol. ۳۳, pp: ۵۴۱-۵۴۷.
۳۱. **Sengezer Inceli, M.; Kaptan, E., Sancar, S.; Murathanoglu, O. and Suren Castillo, S.**, ۲۰۱۰. Localization of prolactin receptor in the dorsal and ventral skin of the frog (*Rana ridibunda*). Biologia. Vol. ۶۵, pp: ۱۵۷-۱۶۳.
۳۲. **Sinsch, U. and Lehr, E.**, ۲۰۱۰. Geographical Variation in the High Andean Frog *Telmatobius carrillae* Morales, ۱۹۸۸: Size, Skin Texture and Coloration. Journal of Herpetology. Vol. ۴۴, No. ۴, pp: ۴۹۵-۵۰۵.
۳۳. **Terentev, P.V. and Chernov, S.A.**, ۱۹۴۹. Key to Amphibians and Reptiles (Translated from Russian by the Israel Program for Scientific Translation, ۱۹۶۵) Translated by L. Kochva. Jerusalem. ۳۱۵ p.

