

Morphometrical Study in Male and Female of Marsh Frog *Rana (Pelophylax) ridibunda* Pallas, 1771 (Anura: Ranidae) in Fars Province and Histological Studies of Gonads before and after Spawning

M. Amanat Behbahani^{1*},
M. Nokhbatolfoghahaei², H. Esmaeili³

1. M. Sc. Student, Department of Biology, Faculty of Science, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology & Payame Noor of Behbahan, 2.

Associated professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shiraz University

3. Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shiraz University

(Received: Jan. 26, 2014; Accepted: May. 18, 2014)

مطالعه ریخت‌سنجی نر و ماده قورباغه مردابی *Rana (Pelophylax) ridibunda* Pallas, 1771 در استان فارس و بررسی بافتی گنادهای جنسی قبل و بعد از تخم‌ریزی

مهرنوش امانت بهبهانی^{۱*}، محسن نخبه‌الفقهای^۲،
حمیدرضا اسماعیلی^۳

۱. کارشناس ارشد رشته زیست‌شناسی سلولی تکوینی جانوری، مدرس

دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان و دانشگاه پیام نور

۲. دانشیار بخش زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز

۳. استاد بخش زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۶، تاریخ تصویب: ۹۳/۲/۲۸

Abstract

Despite the application of Marsh frog *Rana (Pelophylax) ridibunda* in research, there is little information about the biology of different populations of this frog, especially in southern Iran Provinces. The first aim of this study was to investigate differences in biometric characteristics especially between male and female from different populations of species in Fars province. The second aim was the histological study on the male and female gonads which can help to explore some reproductive strategies of the frog in this region (Fars Province). This study will determine whether at the time of spawning, the gonads (testes and ovaries) are completely depleted from egg and sperm. In addition to this, the possibility of guessing the ability of the marsh frogs to spawn more than once during the reproductive season will be investigated. For this purpose 120 samples (87 females and 33 annuly males) from different population areas (Ghadamgah, Mehkoyeh, Kohmareh Sorkhi and Pol Berenjie) were collected. Samples were fixed in formaldehyde and transferred to the laboratory. Morphometric measurements were made and samples labeled. For histological study of gonads, adult pairs in amplexuses situation were collected from the natural breeding sites. One-way analysis of variance (ANOVA) showed that the samples from four population sites were significantly different ($P < 0.05$) in many absolute and relative characteristics. This analysis also showed that absolute character in the width of the first finger, length of jaw and some other relative properties were significantly different ($P < 0.05$) between male and female frogs of the four populations. Histological examination of the male and female gonads before and after spawning showed that males and probably females can spawn more than one time during breeding seasons in the species.

Keywords: Biometry, Amplexus, Fars province, Gonads, Spawning, *Rana ridibunda*.

چکیده

با وجود کاربرد قورباغه مردابی *Rana (Pelophylax) ridibunda* در تحقیقات آزمایشگاهی، اطلاعات کمی در رابطه با زیست‌شناسی جمعیت‌های مختلف این گونه در استان‌های جنوبی کشور وجود دارد. هدف از انجام این تحقیق این بود که جمعیت‌های مختلف این گونه در استان فارس تا چه حدی در صفات مورفومتریک بخصوص بین جنس نر و ماده با هم اختلاف دارند و همچنین اینکه آیا مطالعه بافتی غدد تناسلی می‌تواند به روشن‌تر شدن بعضی از استراتژی‌های تولیدمثلی آنها در این منطقه (استان فارس) کمکی نماید یا خیر. در این مطالعه تعیین خواهد گردید که آیا در زمان تخمک‌ریزی و اسپرم‌ریزی، گنادهای جنسی (تخمدان و بیضه) از اسپرم و تخمک تخلیه خواهد گردید. بعلاوه پیش‌بینی اینکه قورباغه مردابی احتمالاً توانایی بیش از یک بار تخمک‌ریزی و اسپرم‌ریزی داشته باشد نیز مورد بررسی قرار خواهد گرفت. بدین منظور ۱۲۰ نمونه (۸۷ ماده و ۳۳ نر) از جمعیت‌های مناطق قدماگه، مه کویه، کوهمره سرخی و پل برنجی در استان فارس جمع‌آوری شد. نمونه‌ها پس از تثبیت در فرمالین به آزمایشگاه منتقل گردیدند. سپس اندازه‌گیری‌های مورفومتریک انجام و نمونه‌ها شماره‌گذاری شدند. همچنین از طبیعت آمپلکسوس‌هایی جمع‌آوری شدند که جهت انجام مطالعات بافتی گنادهای جنسی مورد استفاده قرار گرفتند. آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که نمونه‌های جمع‌آوری شده از چهار جمعیت، در بسیاری از صفات مطلق و صفات نسبی با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$). همچنین این آزمون نشان داد که قورباغه‌های نر و ماده چهار منطقه در صفات مطلق پهنای اولین انگشت دست و درازی آرواره و برخی صفات نسبی دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$). بررسی‌های بافت‌شناسی غدد جنسی نر و ماده قبل و بعد از تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی نشان داد نرها و احتمالاً ماده‌ها در این گونه بیش از یک بار در فصل تولیدمثلی قادر به گامت‌ریزی می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: بیومتری، آمپلکسوس، استان فارس، غدد تناسلی، تخم‌ریزی، قورباغه مردابی.

* نویسنده مسئول:

E-mail: mehrnooshamanat@yahoo.com

مقدمه

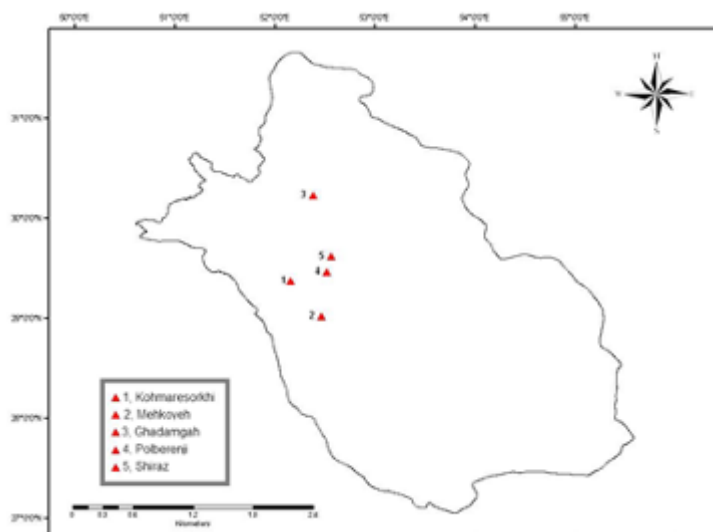
از میان ۲۲ گونه دوزیست گزارش شده از ایران، فقط چهار گونه قورباغه از جنس *Rana* و خانواده Ranidae وجود دارد (Balouch & Kami, 2006). قورباغه مردابی با نام علمی *Rana (Pelophylax) ridibunda* Pallas, 1771 که گاهی با نام *Pelophylax ridibunda* شناخته می‌شود یکی از گونه‌های قورباغه ایران بوده که گونه‌ای مقاوم و جهان شمول است و تقریباً هر جا آب دائمی و مناسب برای زیست باشد زندگی می‌نماید. در قورباغه مردابی برآمدگی داخلی کف پا کوچک، پشت بدن سبز تا زیتونی و قهوه‌ای تیره همراه با تعدادی کم و بیش لکه‌های تیره یا سبز تیره و زیر بدن سفید، سفید چرک یا به رنگ مایل به زرد همراه با تعدادی لکه سیاه یا بدون آنها می‌باشد. نرها دارای اندام تشدید صدا به رنگ تیره یا خاکستری در گوشه دهان هستند. اندازه نمونه‌های گونه ۱۲۰ میلی‌متر است و به ندرت به ۱۷۰ می‌رسد. ارتفاع محل زیست این گونه از زیر سطح دریا تا ارتفاع حدود ۲۱۰۰ متری می‌باشد (Balouch & Kami, 2006). از جمله مطالعات ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی که در مورد دوزیستان در سال‌های اخیر در ایران صورت گرفته است می‌توان به شناسایی دوزیستان بی‌دم شمال خراسان بر اساس مطالعات مورفولوژیکی، کاربولوژیکی و بیومتری (Neamati, 1998)، بررسی بیوسیستماتیکی و مطالعه مقایسه‌ای گونه‌های جنس *Rana* ایران (Molavi damnabi, 2000)، بررسی بیوسیستماتیکی (مورفولوژی، کاربولوژی و مورفومتری) دوزیستان بی‌دم استان مرکزی (Hazaveh et al., 2007) و مطالعه زیست‌شناسی تولیدمثل در قورباغه جنگلی *Rana macrocnemis pseudodalmatina* در استان گلستان (Pesaraklo et al., 2013) اشاره کرد. مطالعه بیومتری قورباغه مردابی در حوضچه‌های منطقه تیمیزوارا (Bura et al., 2007)، بررسی تغییرپذیری

خصوصیات مورفولوژیکی در این گونه در منطقه دوروهی (Mindrescu & Chiorghita, 2011) و مطالعه تغییرات فصلی بیضه در قورباغه مردابی در بغداد (El-Wailly, 2002) از جمله مطالعات دیگری است که در خارج از ایران انجام گرفته است. با وجود کاربرد وسیع دوزیستان و نقش آنها در محیط زیست، اهمیت دوزیستان و حفاظت آنها تا حدودی به فراموشی سپرده شده است. این امر اهمیت مطالعه آنها را دو چندان کرده است. در این تحقیق، هدف بر این است که ویژگی‌های ریخت‌سنجی جنس نر و ماده *Rana (Pelophylax) ridibunda* در فصل تولیدمثلی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از جمعیت‌های مختلف با شرایط متفاوت اکولوژیکی در استان فارس با یکدیگر مقایسه گردد. همچنین گنادهای جنسی از نظر بافت‌شناسی قبل و بعد از تخم‌ریزی مورد مطالعه قرار گیرد. مطالعه بافتی غدد تناسلی می‌تواند به روشن‌تر شدن بعضی از استراتژی‌های تولیدمثلی آنها کمک نماید؛ از جمله این که آیا در زمان تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی غدد تولیدمثلی کاملاً از تخمک و اسپرم تخلیه می‌شود و آیا تخمک‌ریزی و اسپرم‌ریزی قورباغه مردابی ممکن است بیش از یک بار در فصل تولیدمثلی در این منطقه تکرار شود؟

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تثبیت نمونه‌ها

نمونه‌برداری از چهار ایستگاه در استان فارس شامل مه کویه، پل برنجی، قدمگاه و کوهمره سرخی در فصل بهار سال ۱۳۸۶ و ۱۳۸۵ از آب‌های راکد و جاری انجام شد (شکل ۱ و جدول ۱). نمونه‌ها با استفاده از تور دستی جمع‌آوری و بلافاصله در داخل ظروف پلاستیکی حاوی محلول تثبیت‌کننده فرمالین ۱۵-۱۰ درصد قرار داده شدند و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. سپس نمونه‌ها با ترازوی دیجیتالی مدل Mettler pc. 440 با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شدند.



شکل ۱. نقشه محل جمع‌آوری نمونه‌های قورباغه مردابی از استان فارس

جدول ۱. مختصات جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری از قورباغه مردابی در استان فارس

منطقه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
مه کویه	۵۲ , ۲۷ , ۳۰/۷۸	۲۹ , ۱ , ۳۹/۷۷
پل برنجی	۵۲ , ۳۰ , ۵۸/۶۵	۲۹ , ۲۸ , ۱۷/۷۲
قدمگاه	۵۲ , ۲۲ , ۳۵/۷۰	۳۰ , ۱۴ , ۲۲/۳۵
کوهمره سرخی	۵۲ , ۹ , ۱۴/۷۲	۲۹ , ۲۲ , ۵۵/۱۷

بیومتری نمونه‌ها

برای مطالعه صفات ریختی، فراوانی جنس نر و ماده و نسبت جنسی، تعداد ۱۲۰ نمونه قورباغه مردابی به طور تصادفی از چهار منطقه مورد نظر جمع‌آوری شد (۸۷ ماده و ۳۳ نر). پس از تعیین جنسیت قورباغه‌ها، نمونه‌ها به وسیله کولیس با دقت ۰/۰۵ میلی‌متر اندازه‌گیری شدند. جهت انتخاب صفات از روش *Balletto et al.* (1985) استفاده گردید. صفات مورد استفاده در شکل ۲ و جدول ۲ ارائه گردیده است. اندازه‌گیری‌های ریخت‌سنجی، شامل هر اندازه‌گیری استاندارد است که می‌توان بر روی قورباغه بالغ انجام داد (صفات مطلق). از آنجا که این اندازه‌گیری‌ها با رشد نمونه تغییر می‌کنند، این اندازه‌گیری‌ها به صورت نسبت‌هایی از طول استاندارد سنجیده شدند (صفات نسبی). پس از اندازه‌گیری صفات، آنالیز داده‌ها به کمک نرم‌افزار

SPSS 11.5 انجام شد و مقایسه صفات مورفومتریک

جنس نر و ماده در جمعیت‌های مختلف صورت گرفت. توزیع صفات نرمال بود.

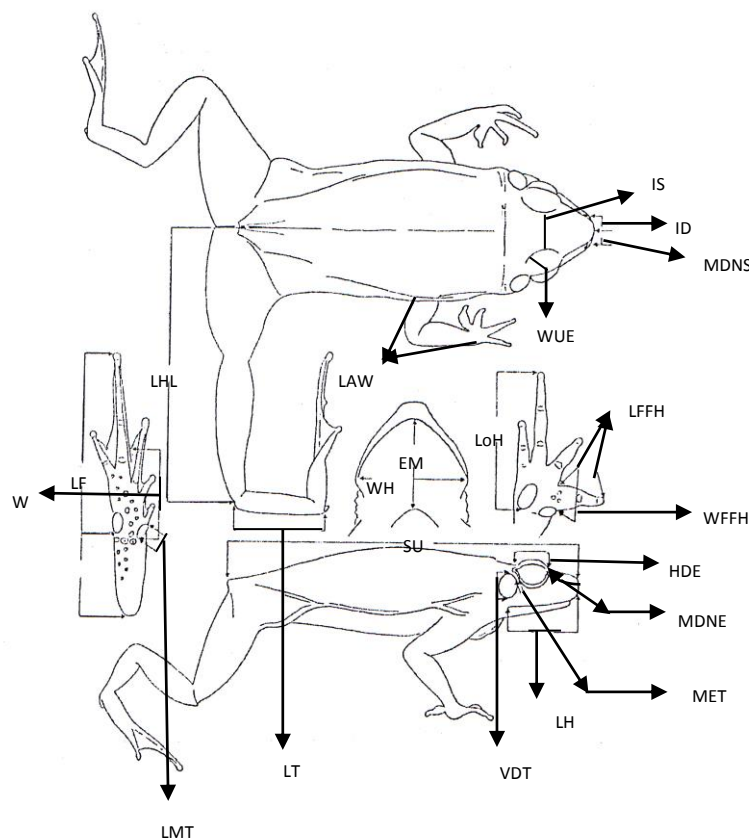
آنالیز آماری برای مقایسه نسبت جنسی نر و ماده در بین جمعیت‌ها به صورت دو به دو از آزمون مربع کای استفاده گردید. جهت این که قورباغه‌های نر و ماده چهار منطقه در ویژگی‌های ریخت‌سنجی با هم مقایسه شوند از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. برای این که مشخص شود آیا چهار جمعیت مورد مطالعه به طور صحیحی دسته‌بندی شده‌اند از آزمون تحلیل تابع ممیزه^۱ استفاده گردید. در این آزمون میزان جدایی جمعیت‌های مورد مطالعه نیز تعیین می‌شود. آنالیز

میلی‌متر از گناد جنسی نر و ماده را جدا کرده و از کلیه مراحل معمول آماده‌سازی بافت شامل آب‌گیری، شفاف‌سازی، قالب‌گیری، برش‌گیری عبور داده شدند و سپس به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی گردیدند (Gurr, 1991; Bancroft, 1962). با استفاده از میکروسکوپ نوری وضعیت بافتی غدد تهیه شده مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند. در مورد بیضه صفاتی مثل وضعیت کلی لوله‌های اسپرم‌ساز، اسپرماتوسیت اولیه، ثانویه و اسپرماتید و همچنین وجود یا عدم وجود اسپرم در درون لوله‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در مورد تخمدان نیز بافت کلی تخمدان و وضعیت اووسیت‌های داخل آن مورد بررسی قرار گرفت. متعاقباً با کمک میکروسکوپ دوربین دار از برش‌های بافتی تهیه شده، تصاویر مورد نظر تهیه گردید.

خوشه‌ای نیز به این منظور انجام گرفت تا نشان دهد که جمعیت چهار ایستگاه مورد مطالعه در چند خوشه قرار می‌گیرند و احتمالاً جمعیت کدام ایستگاه‌ها به هم نزدیک‌تر هستند. در تمامی آزمون‌ها در سطح معنی‌دار $P < 0.05$ داده‌ها با هم مقایسه شدند.

مطالعه بافتی غدد تناسلی در جنس نر و ماده بالغ

جهت انجام مطالعات بافت‌شناسی غدد تناسلی، جفت‌های آمپلکسوس از مناطق قدمگاه و مه‌کویه جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل و در آکواریوم‌های مخصوص نگهداری گردیدند. غدد تناسلی برخی از این جفت‌ها قبل از تخم‌ریزی و برخی بعد از تخم‌ریزی تشریح و برای انجام مطالعات بافتی در محلول بوئن تثبیت شدند. جهت انجام فرایند تهیه اسلاید، پنج



شکل ۲. صفات مورفومتریک اندازه‌گیری شده در قورباغه مردابی (Balletto *et al.*, 1985)

جدول ۲. صفات اندازه‌گیری شده بر روی قورباغه مردابی

علامت اختصاری	تعریف
IS (Interorbital Space)	فاصله بین دو چشم
ID (Interarial Distance)	فاصله بین منافذ بینی
MDNS (Minimum Distance from Nostril opening to tip of Snout)	حداقل فاصله منافذ بینی تا نوک پوزه
WUE (Width of Upper Eye-lid)	عرض پلک بالایی
SU (Snout to Urostyle)	طول پوزه تا اوروستیل
WH (Width of Head)	عرض سر
LH (Length of Head)	طول سر
VDT (Vertical Diameter of Tympanum)	قطر عمودی پرده صماخ
HDE (Horizontal Diameter of the Eye)	قطر افقی چشم
MDNE (Minimum Distance from Nostril opening to anterior corner of Eye)	حداقل فاصله منافذ بینی تا گوشه قدامی چشم
LAW (Length of Arm to Wrist)	طول بازو تا مچ
LoH (Length of hand)	طول دست
WFFH (Width of First Finger of Hand)	عرض اولین انگشت دست
LFFH (Length of First Finger of Hand)	طول اولین انگشت دست
LHL (Length of hind limb to tibio-tarsal articulation)	طول اندام عقبی تا مفصل tibio-tarsal
LT (Length of Tarsus)	طول ساق پا
LMT (Length of Metatarsal Tubercle(s))	طول توبرکول‌های داخلی کف پا
W (webbing)	پرده بین انگشتان پا
LF (Length of Foot)	طول پا
MET (Minimum distance from the Eye to the Tympanum)	کمترین فاصله چشم تا پرده صماخ
EM (Elongation of Mandible)	درازای آرواره
TL (Total Length)	طول کل بدن

نتایج

بیشترین و قورباغه‌های ماده کوهمره در تمامی این صفات کمترین مقدار را دارند (۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۳، ۱۴، ۲۲، ۲۰، ۱۷، ۱۵، ۱۹، ۱۶). در ضمن قورباغه‌های نر قدمگاه در تمامی صفات زیر بیشترین مقدار و قورباغه‌های نر کوهمره کمترین مقدار را دارند (۲۲، ۲، ۱، ۱۹، ۲۰، ۱۸، ۳، ۴، ۵، ۱۰، ۱۴، ۱۳، ۱۲، ۱۵، ۱۷، ۱۱، ۱۶). آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) نیز نشان داد که قورباغه‌های نر و ماده ۴ منطقه در ویژگی‌های ریخت‌سنجی (۲، ۲۱، ۲۳، ۲۴، ۳۸ و ۴۰) در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ با یکدیگر اختلاف دارند.

مقدار پهنای اولین انگشت دست و نسبت این صفت به (SU) در جنس نر بیشتر از جنس ماده است و مقدار درازی آرواره و صفات نسبی (۶ و ۷ و ۳۸) در جنس ماده بیشتر از جنس نر می‌باشد (جدول ۳ و ۴).

آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که نمونه‌های جمع‌آوری شده از چهار جمعیت در تمامی صفات مطلق به جز عرض پلک بالایی و صفات نسبی (۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۹، ۳۰، ۳۳، ۳۵، ۳۸، ۴۰، ۳۹ و ۴۲) با هم اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) دارند (جدول ۳). همچنین نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که در مجموع بیشترین اختلاف در اندازه‌گیری صفات مربوط به دو منطقه قدمگاه و کوهمره می‌باشد. به این ترتیب که از بین تمامی ویژگی‌های ریخت‌سنجی اندازه‌گیری شده صفات (۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۵، ۱۹، ۸، ۷، ۲۲، ۱۰، ۱۵، ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۱۱، ۱۳) در نمونه‌های قدمگاه بیشترین و در کوهمره کمترین مقدار را دارد (جدول ۳). همچنین نتایج نشان می‌دهد قورباغه‌های ماده قدمگاه در تمامی صفات زیر

جدول ۳. توصیف ویژگی‌های ریخت‌سنجی قورباغه‌های مردابی جمع‌آوری شده از چهار ایستگاه مختلف در استان فارس

Character	N	Minimum	Maximum	Mean (mm)	Std. Deviation	Character	N	Minimum	Maximum	Mean (mm)	Std. Deviation
WFFH(1)	120	.70	4.10	2.1633*	.7266	TL(22)	120	59.90	194.20	113.7767	26.1249
LFFH(2)	120	4.00	13.20	7.9517	1.8465	LH.SU(23)	120	20.75	51.91	31.4296*	3.7269
LF(3)	120	14.10	44.70	27.4592	6.0508	ID.SU(24)	120	1.76	6.61	3.4195	.8099
WH(4)	120	9.10	30.80	18.3150	4.2580	IS.SU(25)	120	3.94	10.66	6.9586	1.3448
SU(5)	120	27.20	89.30	52.3725	12.0998	WUE.SU(26)	120	3.45	11.69	7.0746	1.3406
LH(6)	120	8.00	26.40	16.3375	3.7332	VDT.SU(27)	120	6.06	10.93	8.2545	1.0315
ID(7)	120	.70	4.50	1.7665	.5257	HDE.SU(28)	120	6.07	14.22	9.8112	1.3271
IS(8)	120	1.70	7.50	3.6050	.9924	MDNE.SU(29)	120	5.44	14.53	8.1537*	1.8764
WUE(9)	120	1.80	5.90	3.6192	.7553	MDNS.SU(30)	120	5.27	11.30	7.6274	1.0259
VDT(10)	120	2.20	7.20	4.2683	.8835	LAW.SU(31)	120	19.02	40.76	33.3562	3.9078
HDE(11)	120	2.70	8.00	5.0783	1.1030	LoH.SU(32)	120	15.31	32.06	25.2397	2.3312
MDNE(12)	120	2.10	9.10	4.1992	1.1089	LHL.SU(33)	120	71.05	98.87	86.9791	5.2903
MDNS(13)	120	2.40	8.90	4.0033	1.1707	LT.SU(34)	120	15.31	34.88	26.2197	2.7172
LAW(14)	120	8.90	29.70	17.3933	4.1821	LMT.SU(35)	120	1.85	7.46	4.7036	.8314
LoH(15)	120	7.50	21.80	13.1483	3.0097	W.SU(36)	120	17.25	58.52	36.0687	4.6648
LHL(16)	120	25.00	81.90	45.4425	10.4218	MET.SU(37)	120	2.33	7.23	4.1048	1.0042
LT(17)	120	6.20	23.10	13.8892	3.2329	EM.SU(38)	120	24.83	109.48	52.5967*	17.4984
LMT(18)	120	1.10	4.50	2.4567	.6994	WFFH.SU(39)	120	2.19	7.14	4.0905*	.9163
W(19)	120	9.20	30.50	18.7967	4.5416	LFFH.SU(40)	120	11.68	18.64	15.2450	1.5592
MET(20)	120	1.10	4.20	2.1517	.7444	LF.SU(41)	120	41.90	60.97	52.6405	3.1888
EM(21)	120	15.40	34.87	25.8009*	3.7649	WH.SU(42)	120	24.03	39.60	35.0481	2.4596

* به معنای این است که داده مربوطه در $P < 0.05$ معنی‌دار است.

جدول ۴. توصیف ویژگی‌های ریخت‌سنجی قورباغه مردابی از چهار ایستگاه استان فارس بر اساس جنسیت

Character	Sex	Size of the character (mm)			± SD (mm)
		minimum	maximum	mean	
WFFH	M	1.80	4.10	*2.8182	.5966
	F	.70	3.70	*1.9149	.6091
LFFH	M	5.50	10.90	8.3182	1.1833
	F	4.00	13.20	7.8126	2.0312
LF	M	21.60	37.30	28.5697	4.0149
	F	14.10	44.70	27.0379	6.6340
WH	M	15.30	24.70	19.1697	2.5307
	F	9.10	30.80	17.9908	4.7242
SU	M	43.90	72.90	55.2182	7.7752
	F	27.20	89.30	51.2931	13.2591
LH	M	11.80	25.80	16.3758	2.9672
	F	8.00	26.40	16.3230	4.0010
ID	M	1.10	2.90	1.8242	.4458
	F	.70	4.50	1.7446	.5538
IS	M	2.10	5.60	3.7818	.8560
	F	1.70	7.50	3.5379	1.0361
WUE	M	2.60	5.00	3.8182	.6957
	F	1.80	5.90	3.5437	.7670
VDT	M	3.00	6.00	4.5061	.7088
	F	2.20	7.20	4.1782	.9290
HDE	M	3.60	7.80	5.3576	1.0509
	F	2.70	8.00	4.9724	1.1095
MDNE	M	3.00	5.90	4.1273	.8202
	F	2.10	9.10	4.2264	1.2035
MDNS	M	3.10	6.30	4.1697	.8720
	F	2.40	8.90	3.9402	1.2645
LAW	M	11.00	25.30	18.4788	2.8231
	F	8.90	29.70	16.9816	4.5401
LoH	M	10.50	18.10	13.6455	1.9873
	F	7.50	21.80	12.9598	3.3067
LHL	M	38.20	58.10	47.5939	5.8031
	F	25.00	81.90	44.6264	11.6323
LT	M	10.80	20.40	14.5303	2.2097
	F	6.20	23.10	13.6460	3.5253
LMT	M	1.40	3.70	2.5273	.5462
	F	1.10	4.50	2.4299	.7505

ادامه جدول ۴. توصیف ویژگی‌های ریخت‌سنجی قورباغه مردابی از چهار ایستگاه استان فارس بر اساس جنسیت

Character	Sex	Size of the character (mm)			± SD (mm)
		minimum	maximum	mean	
W	M	12.20	27.00	19.7455	3.4985
	F	9.20	30.50	18.4368	4.8487
MET	M	1.30	3.80	2.2576	.6190
	F	1.10	4.20	2.1115	.7863
EM	M	17.17	33.91	*24.5401	3.5277
	F	15.40	34.87	*26.2791	3.7605
TL	M	97.90	154.50	119.6455	15.5685
	F	59.90	194.20	111.5506	28.9134
LH.SU	M	20.75	51.91	*29.8931	5.3212
	F	23.08	37.47	*32.0124	2.7267
ID.SU	M	1.94	6.61	3.3533	.9580
	F	1.76	5.37	3.4446	.7509
IS.SU	M	3.98	9.43	6.8727	1.3174
	F	3.94	10.66	6.9911	1.3611
WUE.SU	M	4.38	9.63	6.9622	1.1680
	F	3.45	11.69	7.1172	1.4044
VDT.SU	M	6.06	10.93	8.2015	1.0714
	F	6.20	10.88	8.2746	1.0216
HDE.SU	M	3.60	7.80	5.3576	1.0509
	F	6.07	14.22	9.8566	1.3612
MDNE.SU	M	5.44	11.87	*7.5097	1.3337
	F	5.54	14.53	*8.3980	1.9976
MDNS.SU	M	6.06	9.42	7.5170	.8333
	F	5.27	11.30	7.6693	1.0916
LAW.SU	M	23.76	40.53	33.5994	3.8483
	F	19.02	40.76	33.2640	3.9482
LoH.SU	M	21.92	28.93	24.7517	1.7052
	F	15.31	32.06	25.4247	2.5123
LHL.SU	M	76.38	98.87	86.5495	5.8823
	F	71.05	96.90	87.1420	5.0748
LT.SU	M	15.85	31.66	25.9456	2.5954
	F	15.31	34.88	26.3236	2.7695
LMT.SU	M	3.00	5.92	4.5640	.6609
	F	1.85	7.46	4.7565	.8852
W.SU	M	25.54	40.17	35.6803	3.2424
	F	17.25	58.52	36.2161	5.1106
MET.SU	M	2.61	7.17	4.0817	.9788
	F	2.33	7.23	4.1136	1.0191
EM.SU	M	32.36	73.24	*45.2994	9.5039
	F	24.83	109.48	*55.3646	19.0235
WFFH.SU	M	3.89	7.14	*5.0871	.7204
	F	2.19	5.39	*3.7125	.6655
LFFH.SU	M	11.68	18.64	15.1375	1.6718
	F	12.07	18.47	15.2858	1.5225
LF.SU	M	42.44	56.72	51.8275	3.0425
	F	41.90	60.97	52.9489	3.2057
WH.SU	M	30.68	37.58	34.7885	1.5337
	F	24.03	39.60	35.1465	2.7313

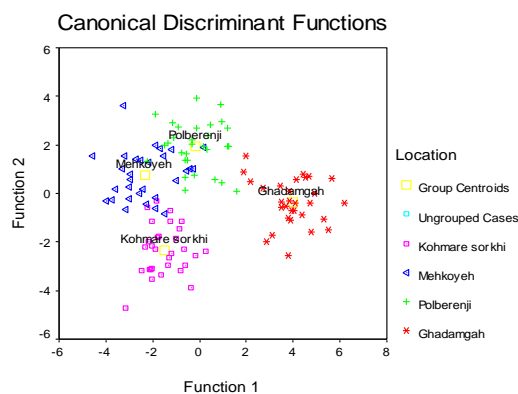
* به معنای این است که داده مربوطه در $P < 0.05$ معنی‌دار است.M= Male, F= Female, ±SD= Standard Deviation.
Female (N= 87), Male (N= 33)

آزمون مربع کای (Chi-square test) نشان داد که تعداد افراد نر و ماده مورد مطالعه از کل مناطق در مجموع به طور معنی‌داری با هم اختلاف دارند (chi = ۲۴/۳, $P < 0.05$) و تعداد ماده‌ها (۸۷) به طور معنی‌داری بیشتر از نرهاست (۳۳). بررسی نسبت جنسی نر و ماده در تک‌تک ایستگاه‌های

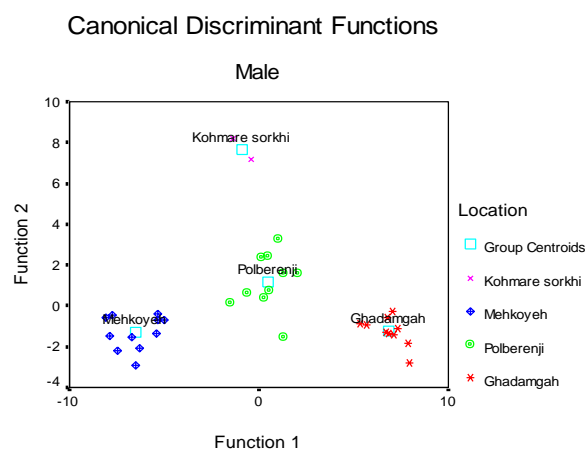
آزمون مربع کای (Chi-square test) نشان داد که تعداد افراد نر و ماده مورد مطالعه از کل مناطق در مجموع به طور معنی‌داری با هم اختلاف دارند

مختلف به‌طور صددرصد دسته‌بندی شده‌اند (شکل ۴). همین آزمون نشان داد که نمونه‌های ماده قدمگاه به طور صد در صد از بقیه جدا بود (شکل ۵). آنالیز خوشه‌ای نشان داد که چهار ایستگاه مطالعه شده در دو خوشه قرار می‌گیرند. در خوشه اول جمعیت قدمگاه و در خوشه بعدی جمعیت‌های پل برنجی، مه‌کویه و کوهمره سرخی قرار می‌گیرند و به نظر می‌رسد تا حدودی جمعیت قدمگاه از سه جمعیت دیگر مجزاتر باشد (شکل ۶). با استفاده از آزمون تحلیل ممیزه مشخص شد که افراد نر و ماده در ویژگی‌های نسبی و مطلق مورد مطالعه در ۹۲/۵٪ موارد به طور صحیحی گروه‌بندی شده‌اند.

نمونه‌برداری مشخص کرد که نسبت افراد نر و ماده سه ایستگاه قدمگاه، پل برنجی و مه‌کویه از نظر آماری با یکدیگر اختلافی ندارند؛ گرچه تعداد ماده‌ها بیشتر از نرها بود ولی در کوهمره اختلاف معنی‌داری بین تعداد نر و ماده مشخص شد ($P < 0.001$ ، $\chi^2 = 22/533$). آزمون تحلیل تابع ممیزه^۱ مشخص کرد که ۴ جمعیت مورد مطالعه از چهار ایستگاه مختلف در تمامی نمونه‌ها در ۹۷/۵٪ موارد به‌طور صحیحی دسته‌بندی شده‌اند که بیانگر جدایی جمعیت‌های مورد مطالعه در ویژگی‌های اندازه‌گیری شده است (شکل ۳). آزمون تحلیل ممیزه نشان داد که نمونه‌های نر مورد مطالعه در چهار جمعیت

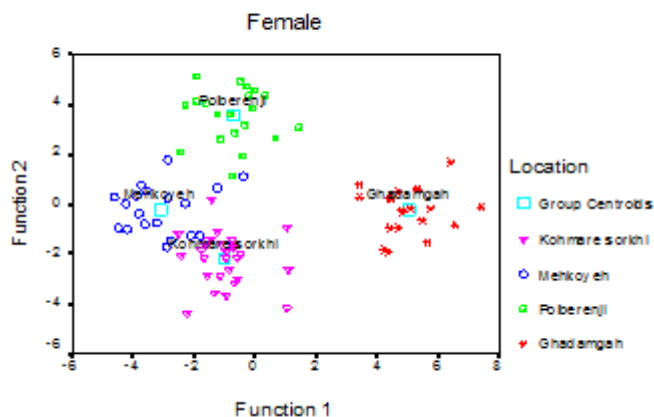


شکل ۳. آزمون تحلیل ممیزه قورباغه‌های مردابی ۴ جمعیت مختلف *R. ridibunda* در استان فارس



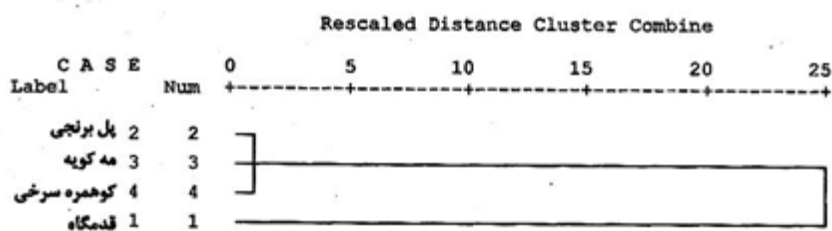
شکل ۴. آزمون تحلیل ممیزه قورباغه‌های مردابی نر ۴ جمعیت مختلف *R. ridibunda* در استان فارس

Canonical Discriminant Functions



شکل ۵. آزمون تحلیل ممیزه قورباغه‌های ماده ۴ جمعیت مختلف *R. ridibunda* در استان فارس

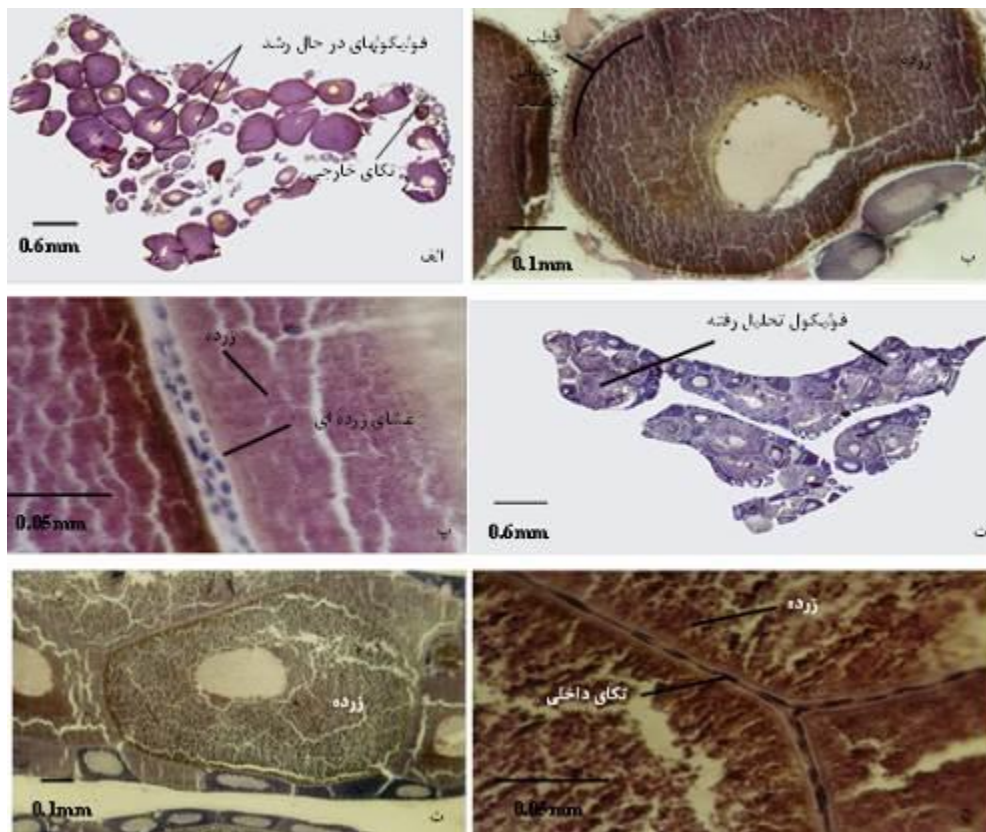
Dendrogram using Ward Method



شکل ۶. آنالیز بین جمعیتی ۴ جمعیت مطالعه شده *R. ridibunda* در استان فارس

مقطع تخمدان تشریح‌شده از قورباغه را پس از تخم‌ریزی نشان داده است. در این شکل حجم کلی تخمدان رو به تحلیل و اجزای تخمدان فشرده‌تر دیده می‌شوند. فولیکول‌های تحلیل‌رفته قابل مشاهده می‌باشد. در ضمن تعداد کمی فولیکول‌های رسیده قابل مشاهده است. شکل ۷-ث برش‌های تهیه شده از تخمدان بعد از تخم‌ریزی را در بزرگنمایی بالاتر نشان می‌دهد. در این شکل مشاهده می‌شود که در تخمک‌ها توده زرده‌ای کم‌رنگ‌تر مشاهده می‌شوند. شکل ۷-ج نواحی حاشیه‌ای فولیکول در تخمدان بعد از تخم‌ریزی را نشان می‌دهد. در این شکل، لایه‌های تکای داخلی مربوط به فولیکول‌های مجاور که هسته‌های آنها در یک ردیف و به شکل کشیده قرار گرفته‌اند به وضوح مشاهده می‌شود و به نظر می‌رسد شاید دلیل کم‌رنگ بودن زرده فضاهای خالی بیشتر و تراکم کمتر زرده در درون سیتوپلاسم تخمک‌ها باشد.

بافت‌شناسی بیضه و تخمدان بافت تخمدان
 بافت تخمدان جنس ماده قورباغه مردابی در فصل تولیدمثلی قبل و بلافاصله بعد از تخم‌ریزی مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۷-الف شمای کلی تخمدان را قبل از تخم‌ریزی نشان می‌دهد. در این شکل فولیکول‌های در حال رشد، فولیکول‌های اولیه و لایه تکای خارجی قابل مشاهده است. شکل ۷-ب بافت تخمدان را قبل از تخم‌ریزی در بزرگنمایی بالاتر نشان داده است. در این برش‌ها فولیکول‌های در حال رشد، توده‌های زرده‌ای تکای خارجی در محیط تخمدان، تکای داخلی در اطراف تخمک‌ها، هسته و هستک‌ها به وضوح قابل مشاهده است. شکل ۷-پ جزئیاتی از ناحیه حاشیه‌ای یک فولیکول رسیده را نشان می‌دهد که در آن لایه کم رنگ نازک (غشاء زرده‌ای) و هسته‌های بیضی شکل مربوط به سلول‌های تکای داخلی که در یک ردیف قرار گرفته‌اند نیز مشاهده می‌شود. در شکل ۷-ت نمای کلی



شکل ۷. تخمدان (قبل از تخم‌ریزی الف) شمای کلی تخمدان (ب) تخمک با بزرگنمایی بالاتر (پ) نواحی حاشیه‌ای فولیکول رسیده) و (بعد از تخم‌ریزی ت) شمای کلی تخمدان تعدادی فولیکول در حال رشد نیز دیده می‌شود (ث) تخمک با بزرگنمایی بالاتر (ج) نواحی حاشیه‌ای فولیکول‌ها)

بافت بیضه

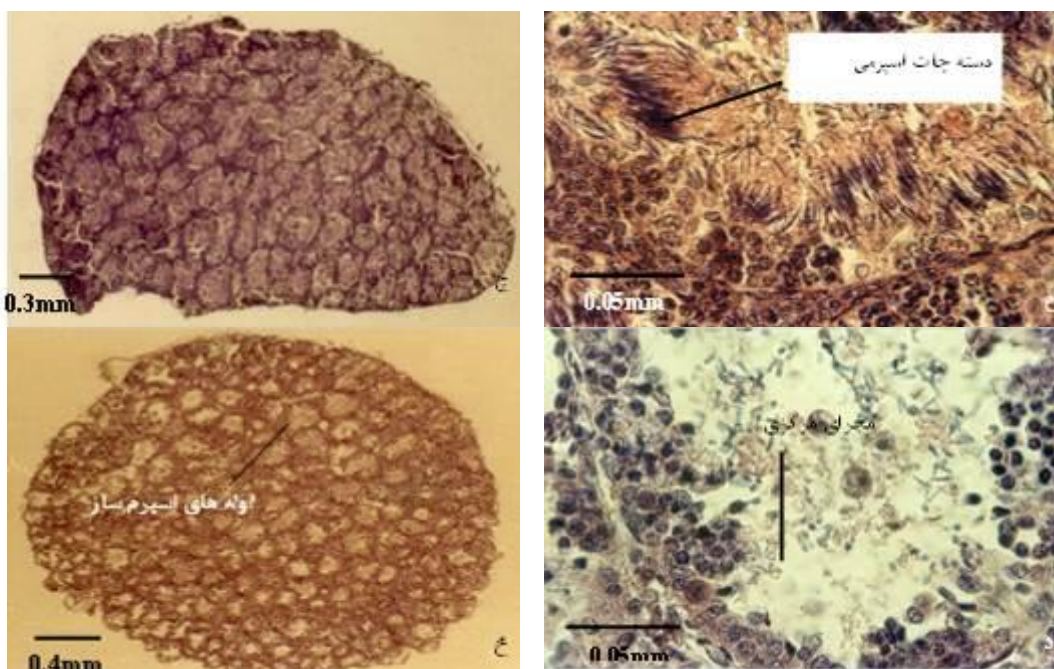
به اسپرماتوزوئید بودند نیز مشاهده گردید. تاژک اسپرماتوزوئیدهای کشیده کاملاً مشخص و در دستجاتی کنار هم قرار داشتند. شکل ۸-چ شمای کلی از بیضه قبل از اسپرم‌ریزی را نشان می‌دهد که لوله‌های اسپرم‌ساز با ظاهری توپر عمدتاً به طور منظم در کنار یکدیگر قابل مشاهده هستند. در شکل ۸-ح اسپرماتوزوئیدها را می‌توان دید. سر اسپرم‌ها در دسته‌های اسپرمی به یکدیگر نزدیک است و این حالت رسیدگی همزمان اسپرم‌ها در هر دسته را نشان می‌دهد. شکل ۸-خ شمای کلی بیضه بعد از اسپرم‌ریزی را نشان می‌دهد. در این شکل لوله‌های اسپرم‌ساز با مجاری وسیع مرکزی که خالی از اسپرم می‌باشد دیده می‌شود. همانطور که در شکل ۸-د نشان داده شده است در بیضه بعد از اسپرم‌ریزی مجرای میانی بزرگتر و روشن‌تر دیده می‌شود و در محیط لوله اسپرم‌ساز مراحل اولیه

در بررسی بافت بیضه، دو نمونه از جنس نر در قورباغه مردابی در فصل تولیدمثلی قبل و بلافاصله بعد از اسپرم‌ریزی مورد بررسی قرار گرفت. در بیضه بالغ و فعال از لحاظ تولیدمثلی، قبل از اسپرم‌ریزی اسپرماتوگونیوم، اسپرماتوسیت‌های اولیه، ثانویه، اسپرماتید و اسپرماتوزوئید دیده شد. اسپرماتوگونیوم‌ها سلول‌های بزرگ با هسته‌ای پررنگ و اسپرماتوسیت‌های اولیه، هسته‌ای کم رنگ داشتند و در حال تقسیم بودند. اسپرماتوسیت‌های ثانویه کوچکتر و اسپرماتیدها سلول‌های کوچک کروی با هسته‌ای متراکم بودند. در مرحله دگرذیسی اسپرم^۱ مراحل مختلفی از کشیدگی اسپرماتید که در حال تغییر شکل و تبدیل

1. Spermiogenesis

دگرذیسی به اسپرم نیز دیده می‌شود که احتمالاً پس از تبدیل شدن به اسپرم و ذخیره شدن در مجرای اسپرم‌ساز در آمپلکسوس بعدی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

(اسپرما توگونوم، اسپرماتوسیت اولیه و احتمالاً اسپرماتوسیت ثانویه) و بقایایی از اسپرم در قسمت‌های داخلی‌تر به صورت جدا از یکدیگر به خوبی دیده می‌شود. همچنین تعداد قابل توجهی اسپرماتید در حال



شکل ۸. مقطع عرضی از بیضه (قبل از اسپرم‌ریزی چ) شمای کلی (ح) یکی از لوله‌های اسپرم‌ساز از بیضه بالغ) و (بعد از اسپرم‌ریزی خ) شمای کلی (د) یکی از لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه بالغ، در قسمت مرکز لوله اسپرماتید و اسپرم‌های در حال دگرذیسی نیز دیده می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری

تفاوت‌ها در ویژگی‌های ریخت‌سنجی قورباغه مردابی در چهار جمعیت مختلف استان فارس همان‌گونه که در نتایج ذکر گردید تفاوت‌های معنی‌داری در ارتباط با بسیاری از ویژگی‌های ریخت‌سنجی در بین جمعیت‌های مختلف قورباغه مردابی مشاهده گردیده است. صرف‌نظر از اختلاف کلی، نتایج نشان داد که قورباغه‌های ماده جمعیت‌های مختلف نیز در بسیاری از صفات مورفومتریک با هم اختلاف معنی‌داری دارند. این میزان گستردگی در اختلاف بین صفات می‌تواند نشانه جدایی جمعیت در زمان بسیار طولانی باشد که منجر به اختلاف در ال‌ها و در نتیجه در ژنتیک جمعیت‌های مختلف شده است. از

اختلاف عمیق‌تر در صفات مورفومتریک بین جمعیت‌های قدمگاه و کوهمره نیز می‌توان حدس زد که این دو جمعیت زودتر از بقیه جمعیت‌ها جدا گردیده‌اند و یا محیط‌های اکولوژیکی متفاوت‌تری را انتخاب نموده‌اند که تأثیرات بیشتری بر جدایی ژن‌های این دو جمعیت داشته است. با توجه به موقعیت جغرافیایی این دو جمعیت که دورترین مسافت را در مقایسه با بقیه جمعیت‌ها دارند و از طرفی اختلاف بسیار زیادی که از نظر ارتفاع محل زندگی دارند می‌تواند علت تفاوت‌های عمیق بین این دو جمعیت را توجیه نمود.

ریخت‌سنجی جنس نر و ماده قورباغه مردابی همان‌گونه که در نتایج آزمون تحلیل واریانس یک

ایلام) نیز گزارش شد، اما در این مطالعه زمان جمع‌آوری مشخص نگردیده است. در بررسی حاضر صفاتی از جمله طول سر، حداقل فاصله منافذ بینی و درازی آرواره از صفات مورد تمایز دو جنس گزارش می‌شود. با این توصیف شاید بتوان گفت اختلافات گزارش شده در کار تحقیقی حاضر می‌تواند وابسته به فصل تولیدمثل باشد. به عبارتی دیگر، بر اساس مطالعات متنوع انجام گرفته بر روی این گونه، اگر زمان جمع‌آوری، زمانی غیر از فصل تولیدمثل باشد شاید تفاوت معنی‌داری در خصوصیات نر و ماده مشاهده نشود. در این صورت می‌توان اختلاف در اندازه صفات را مربوط به فصل تولیدمثل و احتمالاً وابسته به فعالیت هورمون‌ها دانست. با استفاده از آزمون تحلیل ممیزه مشخص شد که افراد نر و ماده در ویژگی‌های نسبی و مطلق مورد مطالعه در ۹۲/۵٪ موارد به طور صحیحی گروه‌بندی شده‌اند. لذا افراد نر و ماده در صفات مورد مطالعه دارای ویژگی‌های ریختی خاص خود در فصل تولیدمثل می‌باشند.

نسبت جنسیت

نسبت جنسی نر و ماده در تک‌تک ایستگاه‌های نمونه‌برداری مشخص کرد که تعداد افراد ماده در سه ایستگاه قدمگاه، پل برنجی و مه‌کویه، بیشتر از افراد نر بود اما از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار را نشان ندادند. ولی در کوهمره اختلاف معنی‌داری بین افراد نر و ماده مشخص شد ($P < 0/001$)، ($\chi^2 = 22/533$). در مجموع از آنجا که انتظار می‌رود نسبت جنسیت در شرایط طبیعی در جانوران حدوداً یک باشد ولی نسبت جنسیت در دوزیستان بدون دم متمایل به جنس نر گزارش گردیده است (Loman & Madsen, 2010). با وجود این گزارش، در نمونه‌های مورد مطالعه ما در قورباغه مردابی اگرچه اختلاف در نسبت جنسیت وجود دارد، اما این نسبت جنسیت درست بر خلاف نتایج قبلی متمایل به جنس ماده است. به هر حال اختلاف قابل

طرفه (ANOVA) نشان داده شد قورباغه‌های نر و ماده در بعضی ویژگی‌های ریخت‌سنجی از جمله پهنای اولین انگشت دست که در جنس نر بیشتر از جنس ماده است در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ با یکدیگر اختلاف دارند. پهن‌تر بودن اولین انگشت دست در جنس نر احتمالاً به دلیل وجود جسم پینه‌ای بر روی این انگشت است که در فصل تولیدمثلی بارزتر می‌شود؛ به این دلیل که جنس نر به هنگام انجام فرایند آمپلکسوس از این غده برآمده و چسبناک جهت چسبیدن در پشت بدن ماده استفاده می‌کند و با توجه به این که نمونه‌ها در فصل تولیدمثلی جمع‌آوری شده است، این اختلاف معنی‌دار امری طبیعی به نظر می‌رسد. به این ترتیب که در فصل تولیدمثلی طی دوره اسپرماتوژنز با فعال شدن سلول‌های لایدیگ پدهای انگشت شست، دچار تغییرات ساختاری می‌شوند و غده‌های موکوسی پد شست توسعه می‌یابند (Mindrescu & Chiorghita, 2011). در ارتباط با اختلافات معنی‌دار در برخی صفات دیگر ذکر شده در نتایج که در فصل تولیدمثل انجام گرفته است می‌توان پیشنهاد کرد تا در مطالعات بعدی با فصل غیر تولیدمثل مقایسه و بتوان نتیجه‌گیری نمود که آیا این اختلافات ارتباطی با فصل تولیدمثل دارد یا خیر. در مطالعه‌ای که در فصل غیر تولیدمثلی بر روی گونه مذکور توسط Mindrescu & Chiorghita (2011) انجام شده مشخص شد که به استثنای پهنای سر، ویژگی‌های مورفولوژیکی دیگر در هر دو جنس تقریباً یکسان است و فقط تغییرات کمی بین طول بدن و طول اولین انگشت دست در هر دو جنس گزارش شده است. مطالعات مورفومتری انجام شده توسط Ayaz *et al.* (2007) در فصل تولیدمثلی بر روی این گونه، تفاوت‌های معینی را بین دو جنس نر و ماده نشان داد از جمله می‌توان به اندازه طول پوزه تا مخرج (SVL) اشاره کرد که در جنس ماده از جنس نر بزرگ‌تر است. بزرگ‌تر بودن طول کلی جنس ماده نسبت به نر توسط Fathinia *et al.* (2012) (در مطالعه جمعیت قورباغه مردابی

توجه در نسبت جنسیت احتمالاً به این دلیل باشد که ماده‌ها در فصل تولیدمثل معمولاً درشت‌تر و سنگین‌تر هستند، لذا تحرک کمتری داشته و زودتر به دام می‌افتند. مطالعات انجام شده قبلی بر روی قورباغه مردابی، نتیجه مشابهی را در مورد نسبت جنسی ارائه و نشان می‌دهد نسبت جنسی مشاهده شده ناشی از جوان‌تر بودن افراد نر بالغ نسبت به افراد ماده بالغ است (Ayaz *et al.*, 2007). فعال‌تر بودن جنس نر نیز در فصل تولیدمثل می‌تواند در نسبت جنسی مؤثر باشد (Kaya & Erismis, 2001). جمع‌آوری دسته‌های لاروی از محیط به صورت تصادفی و شناسایی جنسیت آنها از طریق کاربوتیپ می‌تواند راه دیگری برای بررسی نسبت جنسی باشد. Blaustein (2010) عنوان نمود که دما نیز می‌تواند بر روی تعیین جنسیت در برخی از گونه‌ها از جمله دوزیستان اثر بگذارد. در کار مقایسه‌ای حاضر که جمع‌آوری نمونه‌ها از مناطق با خصوصیات اکولوژیکی و درجه حرارت‌های محیطی متفاوت انجام گرفته است می‌توان تأثیر احتمالی فاکتورهای آب و هوایی بر جنسیت را نیز در کنار عوامل یا فاکتورهای پیچیده مداخله‌کننده در نسبت جنسیت در نظر گرفت.

غدد تولیدمثلی قبل و بعد از تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی

مطالعات نشان می‌دهد که سیکل فعالیت بیضه به محدوده جغرافیایی توزیع قورباغه بستگی دارد. در بعضی از مناطق، اسپرم‌ریزی پیوسته و در بعضی مناطق دیگر، ناپیوسته است (E-Wailly, 2002). بررسی اسپرماتوژنز در قورباغه مردابی نشان داده است که فعالیت اسپرماتوژنزی این گونه در فروردین ماه شروع می‌شود و تا اواخر تیر ماه ادامه می‌یابد، این فرایند طی ماه‌های مرداد و شهریور متوقف و وارد فاز غیرفعال خود می‌شود و این روند تا فروردین ماه سال بعد که اسپرماتوژنز دوباره فعال می‌شود ادامه می‌یابد (Eshkavandi,

2007). سیکل تولیدمثلی در گونه قورباغه مردابی استان فارس احتمالاً از نوع غیرپیوسته می‌باشد و در فصل غیر تولیدمثلی احتمالاً تنها اسپرماتوگونی‌ها در بیضه دیده می‌شود و آثاری از اسپرماتوژنز در بیضه مشاهده نمی‌شود و این که بعد از آمپلکسوس و اسپرم‌ریزی تعداد قابل توجهی اسپرماتید در حال اسپرمیوژنز نیز دیده می‌شود احتمالاً به معنی ترمیم و بازسازی دوباره بیضه در فصل تولیدمثلی است. اسپرماتیدها پس از تبدیل شدن به اسپرم و ذخیره شدن در مجرای اسپرم‌ساز در آمپلکسوس بعدی مورد استفاده قرار می‌گیرند. لکن این که پس از چه مدت بازسازی می‌گردند نیاز به مطالعات بیشتری دارد. دوزیستان ماده در فصل تولیدمثلی دارای تخمدان‌های حجیم و اجسام چربی زیادی در اطراف آن می‌باشند. اجسام چربی، انرژی لازم را برای حرکت تخمک‌ها به سمت لوله اویداکت فراهم می‌کند. مطالعه ظاهری تخمدان بعد از تخم‌ریزی نشان داد که تخمدان حالتی چروکیده و حجمی تحلیل رفته دارد که حاکی از تخلیه قابل توجهی از تخمک می‌باشد. مطالعات بافتی نشان داد که هنوز بقایایی از تخمک‌ها در درون تخمدان بعد از تخم‌ریزی وجود دارد و حتی فولیکول‌های در حال رشد نیز دیده می‌شوند. مطالعات بافتی که بر روی تخمدان قورباغه جنگلی^۱ انجام شده است نشان داد که در فصل تولیدمثلی تخمدان مملو از تخمک و در فصل غیرتولیدمثلی خالی از تخمک است (Pesaraklo *et al.*, 2013). با توجه به تحقیق حاضر و مشاهدات بافتی می‌توان نتیجه گرفت که وجود فولیکول‌های در حال رشد در تخمدان بعد از تخم‌ریزی دلیل بر فعالیت مجدد تخمدان است. اگرچه تخمدان‌ها بلافاصله بعد از تخم‌ریزی تشریح گردیدند اما جهت اطمینان از این که تا چه مدت بعد از تخم‌ریزی، تخمدان‌ها ظرفیت تولیدمثلی خود را باز خواهند یافت، نیاز به بررسی بیشتری دارد.

1. *Rana macrocnemis pesudodalmatin*

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، به نظر می‌رسد افراد نر و ماده قورباغه مردابی در بیشتر ویژگی‌های مورد مطالعه اختلاف دارند. مطالعات بافت‌شناسی نشان داد بین غدد جنسی قبل و بعد از تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی تفاوت وجود دارد و تعداد قابل توجهی از تخمک‌ها و اسپرم‌ها از گنادهای جنسی پس از تخمک‌ریزی و اسپرم‌ریزی تخلیه شده‌اند با این حال باقی ماندن تعداد قابل توجهی فولیکول در حال رشد در تخمدان و همچنین تعداد قابل توجهی از اسپرماتید در

بیضه، این احتمال را افزایش داد که افراد جنس نر و ماده بیش از یک بار در فصل تولیدمثلی پتانسیل و آمادگی تخمک‌ریزی و اسپرم‌ریزی را دارند.

سپاسگزاری

از همه عزیزانی که در دانشگاه شیراز در این تحقیق مرا یاری نموده‌اند بسیار سپاسگزارم. از کارکنان محترم بخش زیست‌شناسی خصوصاً آقای ذاکری و آقای رستمی که با اینجانب همکاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

- Ayaz, D.; Tok, CV.; Mermer, A.; Tosunoulu, M.; Afsar, M.; Clcek, K.; (2007) Population Size of the Marsh Frog (*Rana ridibunda* Pallas, 1771) in Lake Yayla (Denizli, Turkey), Turkish Journal of Zoology, 31: 255-260.
- Balletto, E.; Cherchi, MA.; Gasperetti, J.; (1985) Amphibians of the Arabian Peninsula, Fauna of Saudi Arabia, 7: 318-392.
- Baloutch, M.; Kami, HG.; (2006) Amphibians of Iran. Tehran: University of Tehran. 2nd ed, 152-153. (in Persian)
- Bancroft, JD.; (1991) Theory and Practice of Histological Techniques. New York: Churchill Livingstone. 726.
- Blaustein, AR.; Walls, SC.; Bancroft, BA.; Lawler, JJ.; (2010) Direct and indirect effect of climate change on amphibian populations, Journal of Diversity, 2(2): 281-313.
- Bura, M.; Banatean-dunea, I.; Pistrila, D.; Nica, D.; (2007) Biometric study to *Rana ridibunda* frog species nearness to Timisoara locality, Lucrari stiintifice zootehnie si biotehologii. 40(2): 13-16.
- El-Wailly, AJ.; (2002) Seasonal Changes of The Testes in the Marsh Frog *Rana ridibunda* Pallas, 1771, Bulletin of The Iraq Natural History Museum. 9(4): 13-18.
- Eshkavandi, Z.; (2007) Age determination using Skeletochronology in two species marsh frog and green toad in Lorestan province. [dissertation]. Lorestan University.
- Fathinia, B.; Rastegar-Pouyani, N.; Darvishnia, H.; Mohamadi, H.; Faizi, H.; (2012) Sexual size dimorphism in *Rana (Pelophylax) ridibunda ridibunda* Pallas, 1771 from a population in Darr-Shahr Township, Ilam Province, western Iran, Amphibian and Reptile Conservation, 5(1): 92-97(e44).
- Gurr, E.; (1962) Staining Animal Tissues – Practice and Theoretica 1. London: London Leonard Hill Limited, 631.
- Hazaveh, N.; Ghasemzadeh, F.; Darvish, J.; (2007) Investigation Biosystematic (Morphology, Karyology and Morphometry) Anura Central Province, Iranian Journal of Biology. 20(4), 458-467. (in Persian)
- Kaya, U.; Erismis, UC.; (2001) Marsh frogs, *Rana ridibunda* in lake Akoren - 26 august national park (Afyon): a preliminary study of population size and a taxonomical evaluation, Turkish Journal of Zoology, 25: 31-34.
- Loman, J.; Madsen, TR.; (2010) Sex ratio of breeding Common toads (*Bufo bufo*)-Influence of survival and skipped breeding, Amphibia-Reptilia, 31(4): 509-524.
- Mindrescu, CR.; Chiorghita, G.; (2011) The variability of some morphological

- characters in *Rana ridibunda* (Pall.), *Sectiunea Genetica si Biologie Moleculara*, 7: 103-110.
- Molavi Damnabi, F.; (2000) Biosystematics investigates and study of species genus *Rana* in Iran. [dissertation]. Shahid beheshti University.
- Neamati, A.; (1998) Identification of anura khorasan province. [dissertation]. Ferdowsi University of Mashhad.
- Pesaraklo, A.; Gharezi, A.; Kami, HG.; Najibzadeh, M.; (2013) The study of reproductive biology in forest frog *Rana macrocnemis pseudodalmatina* in Golestan province (Minoodasht), *Iranian Journal of Biology*, 25(1): 55-63. (in Persian)