

## The Comparison of Reproductive Potential and Skin Tissue Structure of Marsh Frog (*Pelophylax ridibundus*) in Khuzestan Northern and Southern Habitats

Fahimeh Saberi<sup>1</sup>, Ashraf Jazayeri<sup>2\*</sup>,  
Tayebeh Mohammadi<sup>3</sup>

1. M. A., Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

(Received: May. 17, 2018 - Accepted: Jan. 13, 2020)

## مقایسه توان تولید مثلی و ساختار بافتی پوست قورباغه مردابی (*Pelophylax ridibundus*) در زیستگاه‌های شمالی و جنوبی خوزستان

فهیمة صابری<sup>۱</sup>، اشرف جزایری<sup>۲\*</sup>، طیبه محمدی<sup>۳</sup>

۱. کارشناس ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳)

### Abstract

Amphibian are the first resident vertebrates in dry habitats that have retained their dependency to aqueous habitats and adapted to this type of life. Different habitats affect skin structure and reproductive potential of amphibians. The aim of this study was comparison of skin histology and reproductive potential of marsh frog affected by geographical separation (the city as a geographical barrier) in the northern and southern regions of Khuzestan. 24 mature adult frogs were trapped and transferred to the laboratory. After identification of the target species based on the characteristics of the index, the samples were euthanized to get tissue samples. Histological sections were prepared. In order to evaluate the reproductive characteristics, the gonadal index in males and the degree of assimilation were calculated in females. Regarding two determinant factors, the northern and southern regions of Khuzestan province, as well as back and abdominal surfaces, there was a significant difference in all measured histometric parameters ( $P < 0.05$ ). Differences in histometric parameters were influenced by the environmental and ecological factors. Also, based on studies, these kinds of determinants can be useful in determining the type of skin glands in different species. In comparison of reproductive potential, both sexes in the northern and southern regions have the highest reproductive capacity in spring, and male subjects with the weight and diameter of the pins, and also the subjects of the material with more weight, they had more reproductive capacity. Therefore, the spawning season of the species began in late March and peaked in the middle of the spring.

**Keywords:** Khuzestan Province, Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*), Reproductive capacity, Histological and Histometric.

### چکیده

دوزیستان اولین مهره‌داران ساکن خشکی هستند که هنوز وابستگی خود را به زیستگاه‌های آبی حفظ نمودند و با این شیوه زندگی تطابق یافتند. تفاوت زیستگاه روی ساختار پوست و توان تولید مثل دوزیستان تأثیرگذار است. مطالعه حاضر با هدف مقایسه ویژگی‌های بافتی پوست و توان تولیدمثلی تحت تأثیر جدایی جغرافیایی (شهرستان به عنوان سد جغرافیایی) در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان انجام شد. تعداد ده نمونه قورباغه مردابی بالغ پس از انتقال به آزمایشگاه بوسيله پنبه آغشته به کلروفرم کشته شدند. برای مطالعات بافتی از بلوک‌های پارافینی برش‌های به ضخامت پنج میکرون تهیه شد. اسلایدهای مناسب پس از رنگ آمیزی (هماتوکسیلین-اوتوزین) و ماسون تریکروم به وسیله میکروسکوپ (Olympus-CX31) و مجهز به دوربین (Germany - UI-1555LE-C-HQ) عکس‌برداری شدند. توصیف بافتی، اندازه‌گیری ضخامت اپیدرم و درم، تعداد غدد موکوسی و سروزی، مساحت، محیط و قطر غدد سروزی و موکوسی به کمک تصاویر و نرم‌افزار (Image J) انجام شد. تحلیل و مقایسه نتایج به وسیله آزمون T-test و MANOVA صورت گرفت. به علاوه شاخص گنادی در نرها و میزان هم‌آوری در ماده‌ها محاسبه شد. نتایج نشان داد که پوست سطوح پشتی و شکمی، در کلیه پارامترهای اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ( $p < 0.05$ ) داشتند (اختلاف کل بین نواحی شمالی و جنوبی و سطوح پشتی و شکمی برابر با ۰/۰۰۱ بود). در مقایسه توان تولید مثلی، جمعیت هر دو جنس در نواحی شمالی و جنوبی در فصل بهار دارای بیش‌ترین توان تولیدمثلی بودند، برای جنس نر میزان شاخص گنادی در نواحی شمالی و جنوبی به ترتیب ۰/۰۹ و ۱/۴۳ و برای ماده‌ها میزان هم‌آوری در نواحی شمالی و جنوبی به ترتیب ۹۸۳۵ و ۱۱۵۶۱ بود. هم‌چنین افراد نر با وزن و قطر زائده پینه‌ای بالاتر و افراد ماده با میزان وزن بیش‌تر، از توان تولیدمثلی بیش‌تری برخوردار بودند.

**واژه‌های کلیدی:** استان خوزستان، توان تولیدمثلی، قورباغه مردابی، هیستولوژیک و هیستومتریک.

## مقدمه

مطالعات مورفولوژیکی پوست دوزیستان نشان می‌دهد که پوست آن‌ها برای انجام نقش‌های گوناگون از جمله حفاظت مکانیکی، انتقال یون، جذب آب، تنفس و تنظیم مایعات متحمل سازگاری‌های متنوعی شده است (Baluch & Chami, 2006)، بنابراین از لحاظ تنفسی و حفاظت بدن دارای اهمیت زیادی است. پوست دوزیستان مانند سایر مهره‌داران دیگر از نظر ساختاری شامل اپیدرم که یک اپیتلیوم طبقه‌بندی شده است با حدود ۶-۸ میلی‌متر ضخامت و درم که لایه عمیق‌تر بوده و از جنس بافت همبند می‌باشد (Toledo & Jared, 1993). پوست نازک و حساس دوزیستان به‌جهت وظایفی که دارد همانند یک عنصر پیچیده عمل می‌کند (Bruetti *et al.*, 2012) و شامل انواعی از غدد برون‌ریز است که هرکدام نقش‌های ویژه‌ای را در دفاع از مواد شیمیایی، هموستازی، ارتباط و تولیدمثل برعهده دارند. به‌طورکلی غدد پوستی دوزیستان بر اساس مواد مترشحه به چهار دسته؛ مخاطی<sup>۱</sup> (موکوسی)، سروزی<sup>۲</sup> (دانه‌دار)، مخلوط و غدد چربی تقسیم می‌شوند (Brizzi *et al.*, 1993; Moreno *et al.*, 2014) و همگی در ناحیه درم پوست قرار دارند (Brizzi *et al.*, 1993; Bruetti *et al.*, 2012). تنوع ویژگی‌های دوزیستان در مقایسه با موجودات دیگر نشان‌دهنده بی‌همتا بودن این موجودات در محیط است، به‌طوری که بارندگی و دما از عوامل اصلی آب‌وهوایی مؤثر بر تولیدمثل دوزیستان است (Kardong, 2016). دوزیستان از هر دو محیط آبی و خشکی به‌منظور تولیدمثل و گسترش استفاده می‌کنند، این ویژگی‌های رفتاری و اکولوژیکی از عوامل مهم در افزایش جمعیت آن‌ها است (Esmailian, 2014).

اندازه بدن و رفتار جانور از عوامل مهم تشخیص

جنسیت در دوزیستان بی‌دم هستند؛ ماده‌ها معمولاً از نرهای همان گونه بزرگ‌تر هستند و پذیرنده رفتار در آغوش گرفتن نرها می‌باشند، این در حالی است که چسبیدن یک قورباغه نر به قورباغه ماده دیگر با مقاومت و الگوی رفتاری کاملاً متفاوتی همراه است (Kardong, 2016). براساس مطالعات صورت گرفته؛ در گونه قورباغه مردابی تولیدمثل در اوائل اردیبهشت‌ماه شروع می‌شود، نخستین تخم‌ها در اواسط فروردین‌ماه به‌صورت توده‌ای و چسبیده به کف مشاهده می‌شوند و تعداد متوسط آن‌ها در حدود ۵۵۴۰ عدد می‌باشد (Najibzadeh *et al.*, 2015). بر اساس برخی مطالعات دیگر؛ الگوی تولیدمثل در دوزیستان ساکن اقلیم‌های گرمسیری به‌صورت غیرفصلی یا پیوسته است، درحالی‌که در نواحی معتدل که دارای فصول سرد و گرم مشخصی می‌باشند به‌صورت دوره‌ای یا فصلی انجام می‌گیرد (Basu, 1965). به هر حال تغییر در دیگر فاکتورها از جمله تغییرات آب‌وهوایی، میزان بارندگی و تغییر دما در زیستگاه می‌تواند باعث شود که برخی جمعیت‌های گونه‌ای دوزیستان دارای دوره تولیدمثلی کوتاه‌تر یا بلندتر شوند (Brown & Shine, 2002).

استان خوزستان با توجه به تنوع اقلیمی، می‌تواند منطقه‌ای مناسب برای مطالعات زیستی و بیولوژی دوزیستان بی‌دم باشد. در همین چارچوب، در پژوهش حاضر به بررسی و مقایسه هیستولوژیک و هیستومتریک گونه قورباغه مردابی در دو منطقه شمال و جنوب استان خوزستان پرداخته شد تا در نهایت به این موضوع پی ببریم که جدایی جغرافیایی و اکولوژیکی به چه میزان موجب تفاوت در مقاطع بافتی پوست و توان تولید مثلی جمعیت این گونه از یکدیگر شده است.

## مواد و روش‌ها

طی فصول بهار و پاییز ۹۶-۹۵، تعداد ۳۴ نمونه قورباغه مردابی از نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان به‌صورت زنده صید و پس از انتقال به آزمایشگاه، صفات ریختی نمونه‌ها بر اساس کلید شناسایی (Baluch &

1. Mucous glands  
2. Granular glands

MANOVA صفات اندازه‌گیری شده مورد مقایسه قرار گرفتند.

برای مطالعه ویژگی‌های تولیدمثلی با استفاده از صفات کیسه تشدید صوت سیاه رنگ و نیز وجود زائده خاکستری رنگ بر روی اولین انگشت پاهای جلویی در نرهای بالغ، نمونه‌های نر از ماده تفکیک شد، سپس ۲۴ نمونه نر و ماده از نواحی شمالی و جنوبی به‌وسیله کلروفورم کشته و تشریح گردیدند. پس از جداسازی و توزین بیضه‌ها شاخص گنادی<sup>۱</sup> (نسبت وزن بیضه‌ها به وزن کل بدن) و برای نمونه‌های ماده نیز پس از تخلیه کل بافت تخمدانی، میزان هم‌آوری<sup>۲</sup> (توزین قطعه کوچک تخمدانی و شمارش تخمک‌های این قطعه برای محاسبه نسبت وزنی - عددی) محاسبه شد. در جنس نر نیز اندازه قطر زائده پینه‌ای برای سنجش میزان ارتباط آن با وزن بدن و میزان شاخص گنادی سنجیده شد، همچنین به منظور مقایسه توان تولیدمثلی جمعیت این گونه بین نواحی مورد مطالعه و فصول بهار و پاییز آزمون T-test انجام و نتایج ذیل به‌دست آمد.

(Chami, 2006)، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت تا به این وسیله در تشخیص و تعیین گونه قورباغه‌های صید شده به‌کار رود. به منظور مطالعه ساختار پوستی از تعداد ده نمونه بالغ نر و ماده استفاده شد، به این 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 بوسیله میکروتوم برش‌های به ضخامت پنج میکرون تهیه شد. از اسلایدهای مناسب پس از رنگ آمیزی (هماتوکسیلین - اتوزین) و ماسون تریکروم به وسیله میکروسکوپ (Olympus-CX31) و مجهز به دوربین (Germany-UI-1555LE-C-HQ) عکس‌برداری انجام شد. توصیف بافت پوست و اندازه‌گیری ضخامت لایه اپیدرم و درم، تعداد غدد موکوسی و سروزی، مساحت، محیط و قطر غدد سروزی و موکوسی نیز به‌کمک تصاویر و به‌وسیله نرم‌افزار (Image J) انجام گرفت. پس از آن، به‌وسیله آزمون T-test و



شکل ۱. موقعیت جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

جدول ۱. مشخصات ایستگاه‌های نمونه‌برداری

موقعیت جغرافیایی ایستگاه	نوع اقلیم	تعداد نمونه‌ها	منطقه مورد مطالعه	ناحیه جغرافیایی
	معتدل - تپه ماهوری	۱۴	شوش	نواحی شمالی
32°-48'N 48°-14'E	معتدل - تپه ماهوری	۱۳	شاوور	
32°-20'N 48°-30'E	کوهپایه‌ای - کوهستانی	۱۹	دزفول	
48°-12'N 30°-22'E	گرم و مرطوب - جلگه ساحلی	۲	آبادان	نواحی جنوبی
32°-29'N 48°-15'E	گرم و مرطوب - جلگه ساحلی	۳۱	خرمشهر	
48°-20'N 49°-20'E	گرم و مرطوب - جلگه ساحلی	۳۸	تالاب شادگان	

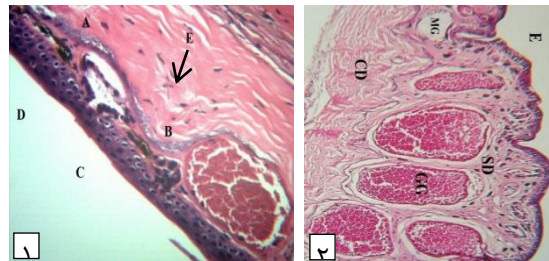
1. Gonadostomatic Index  
2. Ficundity

## نتایج

### مطالعات هیستولوژیک و هیستومتریک

مطالعه میکروسکوپی پوست نواحی پشتی و شکمی گونه *P. ridibundus* در دو جنس نر و ماده نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان نشان داد که پوست بدن آن‌ها از دو طبقه اپیدرم و درم تشکیل شده است (شکل ۲-۲). اپیدرم پوست در نواحی پشتی و شکمی از اپی‌تلیوم سنگفرشی مطبق کراتینی ساخته شده که از تیغه پایه به طرف سطح پوست از ۴ تا ۵ لایه سلولی تشکیل می‌شود (شکل ۱-۲) که به ترتیب از داخل به خارج شامل: طبقه زایا، طبقه خاردار، طبقه دانه‌دار و طبقه شاخی بودند، سطحی‌ترین طبقه اپیدرم طبقه شاخی بوده که از سلول‌های سنگفرشی شکل تشکیل شده است. از نظر ساختار بافتی درم از دو طبقه مجزا که از خارج به داخل شامل طبقه اسفنجی متشکل از بافت همبند سست حاوی عروق خونی و غدد پوستی و طبقه متراکم متشکل از بافت همبند

سخت حاوی دستجات ضخیم و متراکم فیبرهای کلاژنی تشکیل شده است (شکل‌های ۲ و ۳). 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 پوست هستند (شکل ۱-۲). غدد موکوسی غددی حبابی شکل بوده که در مقاطع میکروسکوپی به شکل غددی عاری از ترشحات درست در مجاورت اپیدرم پوست مشاهده می‌شوند (شکل ۱-۲). سلول‌های حاوی رنگدانه ملانین در مجاورت نزدیک با این غدد و در زیر اپیدرم پوست به میزان فراوان مشاهده شد. غدد گرانولار حبابی شکل حاوی ترشحات گرانولار اسیدوفیل بوده و در فاصله دورتری از اپیدرم درون طبقه اسفنجی مشاهده شدند (شکل ۲-۲). از نظر ساختار هیستولوژیک اختلافی بین پوست نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان مشاهده نشد.



شکل ۲. ۱) مقطع بافتی پوست شکمی قورباغه ماده ناحیه جنوب، A: لایه بازال، B: لایه خاردار، C: لایه دانه‌دار، D: لایه شاخی، E: ملانوفور، رنگ‌آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی 10×. ۲) مقطع بافتی پوست پشتی قورباغه ماده ناحیه جنوب، E: اپیدرم، SD: درم اسفنجی، MG: غده موکوسی پیکان قرمز: سلول موکوسی، پیکان مشکی: مجرای غده سلولی. ۲) مقطع بافتی پوست شکمی قورباغه ماده، SD: درم اسفنجی، GG: غده گرانولار. رنگ‌آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی 40×



شکل ۳. ۱) مقطع بافتی پوست سطح شکمی قورباغه ماده، تراکم غدد موکوسی در ناحیه درم، ناحیه شمال، رنگ‌آمیزی H&E، بزرگ‌نمایی 40×. ۲) مقطع بافتی پوست سطح پشتی قورباغه ماده، ناحیه شمال، رنگ‌آمیزی H&E

اپیدرم بین دو ناحیه شمالی و جنوبی دارای اختلاف معنی‌دار بود، به طوری که میانگین ضخامت این لایه در نواحی شمالی بیش‌تر از نواحی جنوبی مشاهده شد، از طرفی تعداد غدد سرروزی، هم‌چنین مساحت، محیط و قطر این غدد نیز در دو ناحیه دارای تفاوت معنی‌دار بود، مقایسه میانگین‌ها حاکی از میزان بالاتر تعداد، مساحت، محیط و قطر غدد سرروزی در نواحی جنوبی بود. میانگین ضخامت لایه درم، هم‌چنین تعداد، مساحت، محیط و قطر غدد موکوسی نیز با وجود عدم اختلاف از لحاظ آماری، دارای مقادیر بالاتری در نواحی جنوبی نسبت به نواحی شمالی بودند (جدول ۳).

#### مقایسه بافت پوست بین سطوح پشتی و شکمی در نواحی شمالی استان خوزستان

مقایسه بافت پوست بین سطوح پشتی و شکمی در سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ )، در نواحی شمالی استان خوزستان نشان داد؛ بین دو سطح مذکور تنها از لحاظ ضخامت اپیدرم و درم اختلاف معنی‌دار وجود داشت، مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد؛ ضخامت اپیدرم در سطح شکمی و ضخامت درم در سطح پشتی دارای مقادیر بالاتری بودند. سایر پارامترها در این ناحیه فاقد اختلاف معنی‌دار بودند و در سطح مقایسه میانگین‌ها، تعداد، محیط و قطر غدد موکوسی در سطح شکمی دارای مقادیر بالاتری نسبت به سطح پشتی بود، میانگین سایر پارامترها در سطح پشتی بیش‌تر از سطح شکمی بود (جدول ۴).

#### مقایسه بافت پوست در سطح پشتی بین دو ناحیه شمال و جنوب استان خوزستان

مقایسه بافت پوست ناحیه پشتی در سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ )، در دو ناحیه شمال و جنوب استان خوزستان نشان داد، اگرچه ضخامت سطح اپیدرم و درم فاقد اختلاف معنی‌دار بوده است اما از لحاظ میانگین، ضخامت لایه اپیدرم در نواحی شمالی بیش‌تر از نواحی جنوبی بود و بالعکس، ضخامت لایه درم در نواحی جنوبی بیش‌تر از نواحی شمالی است. افزون بر آن دو ناحیه از لحاظ تعداد غدد موکوسی، تعداد، مساحت و قطر غدد سرروزی دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند، هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد تعداد غدد موکوسی و سرروزی، هم‌چنین مساحت و قطر غدد سرروزی نیز در نواحی جنوبی بیش‌تر از نواحی شمالی است. با توجه به نتایج با وجود آنکه از لحاظ میانگین، تعداد غدد موکوسی در نواحی جنوبی بیش‌تر از نواحی شمالی و دارای اختلاف معنی‌دار است، اما مساحت، محیط و قطر غدد مذکور در نواحی شمالی دارای مقادیر بالاتر و البته فاقد اختلاف معنی‌دار از لحاظ آماری است (جدول ۲).

#### مقایسه بافت پوست در سطح شکمی بین دو ناحیه شمال و جنوب استان خوزستان

مقایسه بافت پوست سطح شکمی در سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ )، در دو ناحیه شمال و جنوب استان خوزستان نشان داد؛ ضخامت پوست تنها در سطح

جدول ۲. نتایج آزمون T-test، در مقایسه بافت پوست سطح پشتی بین نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان

Std. Error Difference	Mean Difference	Mean South	Mean North	Sig. (2-tailed)	t	پارامتر
۳/۸۹	۱/۰۹	۳۲/۰۲	۳۳/۱۱	۰/۷۸	-۰/۲۸	ضخامت لایه اپیدرم
۳۹/۰۵	-۲۴/۳۳	۳۲۳/۸۴	۲۹۹/۵۰	۰/۵۴	-۰/۶۲	ضخامت لایه درم
۰/۷۷	-۲/۰۸	۶/۸۵	۴/۷۶	۰/۰۱	-۲/۶۹	تعداد غدد موکوسی
۱/۰۳	-۴/۰۷	۵/۰۰	۰/۹۲	۰/۰۰۱	-۳/۹۵	تعداد غدد سرروزی
۴۴۰۷/۱۳	۴۹۵۵/۵۷	۳۱۰۱/۳۷	۸۵۶/۹۴	۰/۲۷	۱/۱۲	مساحت غدد موکوسی
۱۶۵/۴۱	۱۱۵/۷۷	۲۵۰/۲۲	۳۶۵/۹۹	۰/۴۹	۰/۷۰	محیط غدد موکوسی
۱۲/۱۰	۲۴/۱۳	۶۴/۸۴	۸۸/۹۷	۰/۰۶	۱/۹۹	قطر غدد موکوسی
۹۱۷۸/۲۷	-۳۴۳۲۷/۳۰	۳۸۳۹۱/۱۶	۴۰۶۳/۸۵	۰/۰۰۱	-۳/۷۴	مساحت غدد سرروزی
۱۱۲/۴۸	-۴۸۳/۱۰	۶۰۱/۶۹	۱۱۸/۵۹	۰/۰۰۰۱	-۴/۲۹	محیط غدد سرروزی
۵۵/۸۰	-۱۵۴/۹۰	۲۲۱/۰۵	۶۶/۱۴	۰/۰۱	-۲/۷۷	قطر غدد سرروزی

جدول ۳. نتایج آزمون T-test، در مقایسه بافت پوست سطح شکمی بین نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان

Std. Error Difference	Mean Difference	Mean South	Mean North	Sig. (2-tailed)	t	پارامتر
۳/۰۰۷	۷/۲۵	۳۷/۳۹	۴۴/۶۴	۰/۰۲	۲/۴۱	ضخامت اپیدرم
۱۷/۷۶	-۱۰/۳۱	۱۸۹/۶۵	۱۷۹/۳۴	۰/۵۷	-۰/۵۸	ضخامت درم
۰/۵۸	-۰/۶۷	۶/۳۰	۵/۶۲	۰/۲۶	-۱/۱۶	تعداد غدد موکوسی
۰/۷۸	-۲/۴۵	۲/۷۰	۰/۲۵	۰/۰۰۶	-۳/۱۲	تعداد غدد سروزی
۱۰۸۹/۳۵	۲۳۹/۴۰	۴۳۱۸/۷۱	۴۵۵۸/۱۲	۰/۸۲	۰/۲۲	مساحت غدد موکوسی
۴۱۴/۷۴	۴۳۱/۴۷	۲۸۷/۷۰	۷۱۹/۱۷	۰/۳۱	۱/۰۴	محیط غدد موکوسی
۲۹/۵۸	-۳۵/۴۰	۱۲۵/۲۷	۸۹/۸۷	۰/۲۴	-۱/۱۹	قطر غدد موکوسی
۲۰۵۷/۷۷	-۶۳۱۴/۷۱	۷۰۵۵/۵۲	۷۴۰/۸۰	۰/۰۰۷	-۳/۰۶	مساحت غدد سروزی
۷۴/۶۰	-۲۲۷/۹۴	۲۶۳/۵۶	۳۵/۶۱	۰/۰۰۸	-۳/۰۵	محیط غدد سروزی
۲۷/۸۷	-۸۷/۳۷	۱۰۰/۰۹	۱۲/۷۱	۰/۰۰۶	-۳/۱۳	قطر غدد سروزی

جدول ۴. نتایج آزمون T-test، در مقایسه بافت پوست بین سطوح پشتی و شکمیدر نواحی شمالی استان خوزستان

Std. Error Difference	Mean Difference	Mean Ventral Level	Mean Dorsal Level	Sig. (2-tailed)	t	پارامتر
۳/۸۷	-۱۱/۵۳	۴۴/۶۴	۳۳/۱۱	۰/۰۰۸	-۲/۹۷	ضخامت اپیدرم
۳۲/۶۰	۱۲۰/۱۶	۱۷۹/۳۴	۲۹۹/۵۰	۰/۰۰۲	۳/۶۸	ضخامت درم
۰/۶۸	-۰/۸۵	۵/۶۲	۴/۷۶	۰/۲۲	-۱/۲۴	تعداد غدد موکوسی
۰/۶۸	۰/۶۷	۰/۲۵	۰/۹۲	۰/۳۴	۰/۹۸	تعداد غدد سروزی
۴۱۵۹/۶۶	۳۴۹۸/۸۱	۴۵۵۸/۱۲	۸۵۶/۹۴	۰/۴۱	۰/۸۴	مساحت غدد موکوسی
۳۸۷/۶۴	-۳۵۳/۱۷	۷۰۱۹/۱۷	۳۶۵/۹۹	۰/۳۷	-۰/۹۱	محیط غدد موکوسی
۱۰/۸۸	-۰/۹۰	۸۹/۸۷	۸۸/۹۷	۰/۹۳	-۰/۰۸	قطر غدد موکوسی
۳۲۳۴/۳۸	۳۳۲۳/۰۵	۷۴۰/۸۰	۴۰۶۳/۸۵	۰/۳۱	۱/۰۲	مساحت غدد سروزی
۷۸/۵۵	۸۲/۹۸	۳۵/۶۱	۱۱۸/۵۹	۰/۳۰	۱/۰۵	محیط غدد سروزی
۴۵/۷۴	۵۳/۴۲	۱۲/۷۱	۱۴/۶۶	۰/۲۵	۱/۱۶	قطر غدد سروزی

در دو سطح پشتی و شکمی دارای مقادیر تقریباً برابری است (جدول ۵).

#### تحلیل چند متغیره

نتایج آزمون آنالیز واریانس چند متغیره در سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) برای بررسی کلیه پارامترهای اندازه‌گیری شده در سطح بافت پوست با توجه به دو عامل تعیین کننده، نواحی شمالی و جنوبی، همچنین سطوح پشتی و شکمی نشان داد، در هر کدام از عوامل ذکر شده به صورت مجزا اختلاف معنی‌دار آماری میان کلیه پارامترهای اندازه‌گیری شده در سطح بافت پوست وجود داشت (جدول ۶). بین نواحی شمالی و جنوبی با سطوح پشتی و شکمی در کلیه پارامترهای اندازه‌گیری شده اختلاف آماری مشاهده شد (جدول ۶).

#### مقایسه بافت سطح پشتی و شکمی پوست در نواحی جنوبی استان خوزستان

مقایسه بافت پشتی و شکمی پوست در سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ )، در نواحی جنوبی استان خوزستان نشان داد؛ بین ضخامت درم، مساحت، محیط و قطر غدد سروزی در دو سطح فوق‌الذکر اختلاف معنی‌دار وجود دارد، مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد تمامی پارامترهای ذکر شده دارای مقادیر بالاتری در سطح پشتی می‌باشند و در سایر پارامترها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما در سطح مقایسه میانگین‌ها، ضخامت لایه اپیدرم، مساحت، محیط و قطر غدد موکوسی در سطح شکمی دارای مقادیر بالاتری نسبت به سطح پشتی بود، این درحالی است که تعداد غدد سروزی در سطح پشتی دارای مقادیر بالاتر بوده و جالب آنکه میانگین تعداد غدد موکوسی

## نتایج توان تولیدمثلی

نواحی جنوبی استان خوزستان در فصل بهار که اوج فعالیت تولیدمثلی است، بین کمترین میزان ۰/۳۳ در نرهایی به وزن ۲۱/۱۰ گرم تا بیشترین میزان ۱/۴۳ در نرهایی به وزن ۶۴/۱۲ گرم در نوسان بود. همچنین میانگین شاخص گنادی در فصل بهار برای جمعیت فوق با میانگین وزنی ۴۱/۶۹ گرم برابر با ۰/۶۳ بود. براساس نتایج مشاهده می‌شود که جمعیت نرهای نواحی جنوبی در فصل بهار با توجه به میانگین وزنی دارای بالاترین شاخص گنادی و جمعیت نرهای نواحی شمالی در فصل پاییز براساس میانگین وزنی دارای کمترین شاخص گنادی در بین جمعیت‌های مورد مطالعه بودند.

## مقایسه توان تولیدمثلی در جمعیت‌های جنس نر بین نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان

با توجه به جدول ۹، مشاهده شد که شاخص گنادی و قطر زائده پینه‌ای افراد نر در سطح معنی‌داری ( $P < 0.05$ )، بین نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان، دارای اختلاف معنی‌دار بوده است. همچنین مشاهده شد که میانگین شاخص گنادی و قطر زائده پینه‌ای افراد نر در نواحی جنوبی بیش‌تر از نواحی شمالی است. به‌طورکلی، با توجه به جدول‌های ۷ و ۸ و مقایسه میانگین T-test، جمعیت نرهای جنوبی در فصل بهار از توان تولیدمثلی بیش‌تری برخوردار بودند.

با توجه به جدول ۷، دامنه تغییرات شاخص گنادی در فصل پاییز برای جمعیت‌های جنس نر نواحی شمالی استان خوزستان، بین کمترین میزان ۰/۰۵ برای وزن ۱/۹۳ گرم تا بیشترین میزان ۰/۳۴ برای وزن ۲۸/۹۵ گرم در نوسان بود. همچنین میانگین شاخص گنادی در فصل پاییز برای جمعیت نواحی شمالی با میانگین وزنی ۱۷/۰۵ گرم برابر با ۰/۱۶ بود. همچنین دامنه تغییرات شاخص گنادی جمعیت جنس نر در نواحی شمالی استان خوزستان در فصل بهار که اوج فرآیند تولیدمثلی است؛ بین کمترین میزان ۰/۱۳ برای وزن ۲۹/۲۶ گرم تا بیشترین میزان ۰/۲۷ برای وزن ۳۶/۷۳ گرم در نوسان بود. افزون بر آن میانگین شاخص گنادی در فصل بهار برای جمعیت فوق با میانگین وزنی ۳۲/۹۹ گرم برابر با ۰/۲ بود.

براساس جدول ۸، دامنه تغییرات شاخص گنادی در فصل پاییز برای جمعیت‌های جنس نر نواحی جنوبی استان خوزستان، بین کمترین میزان ۰/۱۶ در نرهایی به وزن ۱۱/۰۴ گرم تا بیشترین میزان ۰/۶۷ برای نرهایی به وزن ۶۰/۲۵ گرم در نوسان بود. همچنین میانگین شاخص گنادی در فصل پاییز برای جمعیت نرهای نواحی جنوبی با میانگین وزنی ۳۶/۴۷ گرم برابر با ۰/۴۱ بود. بعلاوه، دامنه تغییرات شاخص گنادی جمعیت نر در

جدول ۵. نتایج آزمون T-test، در مقایسه بافت پوست بین سطوح پشتی و شکمی در نواحی جنوبی استان خوزستان

Std. Error Difference	Mean Difference	Mean Ventral Level	Mean Dorsal Level	Sig. (2-tailed)	t	پارامتر
۲/۷۷	-۵/۳۶	۳۷/۳۹	۳۲/۰۲	۰/۰۷	-۱/۹۳	ضخامت اپیدرم
۲۷/۶۷	۱۳۴/۱۸	۱۸۹/۶۵	۳۲۳/۸۴	۰/۰۰۰۱	۴/۸۴	ضخامت درم
۰/۶۸	۰/۵۵	۶/۳۰	۶/۸۵	۰/۴۲	۰/۸۱	تعداد غدد موکوسی
۱/۱۸	۲/۳۰	۲/۷۰	۵/۰۰	۰/۰۷	۱/۹۴	تعداد غدد سروزی
۸۷۲/۳۹	-۱۲۱۷/۳۴	۴۳۱۸/۷۱	۳۱۰۱/۳۷	۰/۱۸	-۱/۳۹	مساحت غدد موکوسی
۷۳/۴۵	-۳۷/۴۸	۲۸۷/۷۰	۲۵۰/۲۲	۰/۶۱	-۰/۵۱	محیط غدد موکوسی
۳۱/۹۵	-۶۰/۴۳	۱۲۵/۲۷	۶۴/۸۴	۰/۰۷	-۱/۸۹	قطر غدد موکوسی
۱۰۰۳۲/۰۱	۳۱۳۳/۶۴	۷۰۵۵/۵۲	۳۸۳۹۱/۱۶	۰/۰۰۷	۳/۱۲	مساحت غدد سروزی
۱۱۷/۴۰	۳۳۸۱/۱۳	۲۶۳/۵۶	۶۰۱/۶۹	۰/۰۱	۲/۸۸	محیط غدد سروزی
۴۲/۸۴	۱۲۰/۹۶	۱۰۰/۰۹	۲۲۱/۰۵	۰/۰۱	۲/۸۲	قطر غدد سروزی

جدول ۶. آزمون تحلیل چند متغیره (MANOVA) برای پارامترهای پوستی اندازه‌گیری شده در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان

Sig.	Error df	Hypothesis df	F	Value	Effect
0.000	21.000	10.000	204.601 <sup>b</sup>	0.990	Pillai's Trace
0.000	21.000	10.000	204.601 <sup>b</sup>	0.010	Wilks' Lambda
0.000	21.000	10.000	204.601 <sup>b</sup>	97.429	Hotelling's Trace
0.000	21.000	10.000	204.601 <sup>b</sup>	97.429	Roy's Largest Root
0.000	21.000	10.000	6.898 <sup>b</sup>	0.767	Pillai's Trace
0.000	21.000	10.000	6.898 <sup>b</sup>	0.233	Wilks' Lambda
0.000	21.000	10.000	6.898 <sup>b</sup>	3.285	Hotelling's Trace
0.000	21.000	10.000	6.898 <sup>b</sup>	3.285	Roy's Largest Root
0.000	21.000	10.000	8.046 <sup>b</sup>	0.793	Pillai's Trace
0.000	21.000	10.000	8.046 <sup>b</sup>	0.207	Wilks' Lambda
0.000	21.000	10.000	8.046 <sup>b</sup>	3.831	Hotelling's Trace
0.000	21.000	10.000	8.046 <sup>b</sup>	3.831	Roy's Largest Root
0.001	21.000	10.000	5.335 <sup>b</sup>	0.718	Pillai's Trace
0.001	21.000	10.000	5.335 <sup>b</sup>	0.282	Wilks' Lambda
0.001	21.000	10.000	5.335 <sup>b</sup>	2.540	Hotelling's Trace
0.001	21.000	10.000	5.335 <sup>b</sup>	2.540	Roy's Largest Root

جدول ۷. برآورد شاخص گنادی در جمعیت نرهای نواحی شمالی استان خوزستان

فصل بهار				فصل پاییز			
نمونه	وزن بدن (W)	شاخص گنادی (GSI)	قطر زائده پینه‌ای	نمونه	وزن بدن (W)	شاخص گنادی (GSI)	قطر زائده پینه‌ای
۵	۳۶/۷۳	۰/۲۷	۱۱/۲۱	۱	۲۸/۹۵	۰/۳۴	۹/۳۷
۶	۲۹/۲۶	۰/۱۳	۹/۳۵	۲	۱/۹۳	۰/۰۵	۱/۰۱
				۳	۳۵/۱۳	۰/۱۷	۵/۹۸
				۴	۲/۲۲	۰/۰۹	۱/۷۶

جدول ۸. برآورد شاخص گنادی در جمعیت نرهای نواحی جنوبی استان خوزستان

فصل بهار				فصل پاییز			
نمونه	وزن بدن (W)	شاخص گنادی (GSI)	قطر زائده پینه‌ای	نمونه	وزن بدن (W)	شاخص گنادی (GSI)	قطر زائده پینه‌ای
۳۲	۶۴/۱۲	۱/۴۳	۲۲/۵۶	۹	۶۰/۲۵	۰/۶۷	۱۷/۸۹
۲۱	۳۹/۸۵	۰/۳۴	۷/۱۲	۱۰	۳۸/۱۴	۰/۴۱	۱۴/۶۷
۳۴	۲۱/۱۰	۰/۲۳	۵/۵۴	۱۱	۱۱/۰۴	۰/۱۶	۴/۱۳

جدول ۹. مقایسه میانگین T-test، سنجش توان تولیدمثلی و قطر زائده پینه‌ای در جمعیت جنس نر بین نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان

Std. Error Difference	Mean Difference	Mean South	Mean North	Sig. (2-tailed)	T	پارامتر
۰/۰۴	-۰/۱۷	۰/۳۷	۰/۲۰	P<۰۰۰۱	-۴/۱۳	شاخص گنادی
۰/۹۴	-۵/۱۲	۱۰/۳۵	۵/۲۲	P<۰۰۰۱	-۵/۴۰	قطر زائده پینه‌ای

۲۵/۷۳ گرم برابر با تعداد ۴۰۴۲ تخم تولیدی در هر دوره تولیدمثلی بوده است (جدول ۱۰). میانگین هم‌آوری در ماده‌های بالغ نواحی شمالی طی فصل بهار بین کم‌ترین وزن ۲۵/۰۴ گرم برابر با تعداد ۵۲۱۵ تخم تولیدی و برای بیش‌ترین وزن ۶۳/۸۹ گرم برابر با ۹۸۳۵ تخم در نوسان بود. از طرفی میانگین هم‌آوری در جمعیت نواحی شمالی با میانگین وزنی ۴۱/۱۷ گرم برابر با تعداد ۶۶۷۲ تخم تولیدی در هر دوره تولیدمثلی بوده است (جدول ۱۰).

پس از مقایسه توان تولیدمثلی مشاهده شد که بین شاخص گنادی افراد با هریک از پارامترهای وزن کل و قطر زائده پینه‌ای، در سطح معنی‌داری ( $P < 0.05$ )، رابطه مستقیم و معنی‌دار وجود داشت. براساس نتایج مطالعه حاضر؛ میانگین هم‌آوری در ماده‌های بالغ نواحی شمالی طی فصل پاییز برای کم‌ترین وزن ۱۲/۰۷ گرم برابر با تعداد ۲۱۷۰ تخم تولیدی و بین بیش‌ترین وزن ۵۶/۵۹ گرم برابر با ۸۶۲۱ تخم در نوسان بود. از طرفی میانگین هم‌آوری در جمعیت نواحی شمالی با میانگین وزنی



گرم شدن کره زمین و در نهایت خشکی پوست (با توجه به برهنه بودن پوست دوزیستان)، عوامل تعیین کننده مذکور تا چه میزان بر روی ضخامت و ساختار پوست، نحوه پراکنش، فراوانی و عملکرد غدد پوستی در گونه مورد مطالعه تأثیر گذاشته اند.

نتایج حاصل از مطالعه هیستولوژیک در جمعیت‌های گونه *P. ridibundus* در نواحی مورد مطالعه نشان داد، از نظر ساختاری پوست از دو لایه اپیدرم و درم (Felseburgh *et al.*, 2009) و به طور معمول از دو نوع غده موکوسی و سروزی در لایه درم تشکیل شده است (Haslam *et al.*, 2014) که از طریق مجراهایی به درون اپیدرم راه دارند، به طور معمول غدد موکوسی کوچک بوده و در هر دو سطح پشتی و شکمی پراکنده اند، در حالی که غدد سروزی بزرگ تر از غدد موکوسی بوده و بیش تر در ناحیه پشتی پوست متمرکز شده اند (Esteban *et al.*, 1996) که این یافته با نتایج دیگر مطالعات همخوانی دارد (Borkin *et al.*, 2004; Paphan *et al.*, 2017)، در نهایت تفاوت در ساختار پوست مربوط به ویژگی‌های هیستومتریکی است. در مطالعه حاضر نتایج حاصل از بررسی مقاطع بافتی پوست در گونه *P. ridibundus* نشان داد بین نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان، هم‌چنین سطوح پشتی و شکمی، در بین کلیه پارامترهای اندازه‌گیری شده اختلاف وجود دارد، وجود این اختلاف را می‌توان به نحوه شکل‌گیری ساختار اپیدرم، درم، فراوانی و نوع غدد تشکیل‌دهنده سطح پوست، تحت تأثیر سطوح پشتی و شکمی (Ivanova, 2017) و در نهایت اقلیم و شرایط فیزیولوژیکی خاص یا متفاوت و به دنبال آن سازش‌پذیری با محیط (Seki *et al.*, 1995; Paphan *et al.*, 2017) نسبت داد. در این پژوهش، تفاوت ساختار پوست در نتایج هیستومتریکی، نقش تأثیرگذار عوامل محیطی و اکولوژیکی را نشان می‌دهد که این یافته با نتایج حاصل از مطالعه Papahn *et al.* (2017) در راستای مقایسه هیستومتریکی و

#### جدول ۱۰. برآورد تعداد تخم تولیدی در جمعیت ماده‌های

نواحی شمالی استان خوزستان

فصل پاییز			فصل بهار		
نمونه	وزن بدن (W)	هم‌آوری (F)	نمونه	وزن بدن (W)	هم‌آوری (F)
۱	۸/۵۳	۱۳۳۵	۴	۶۳/۸۹	۹۸۳۵
۲	۵۶/۵۹	۸۶۲۱	۵	۳۴/۵۸	۴۹۶۸
۳	۱۲/۰۷	۲۱۷۰	۶	۲۵/۰۴	۵۲۱۵

هم‌چنین براساس جدول ۱۱، میانگین هم‌آوری در جمعیت نواحی جنوبی در فصل پاییز با میانگین وزنی ۴۷/۶۵ گرم برابر با تعداد ۵۶۶۷ تخم تولیدی در هر دوره تولیدمثلی بوده است.

#### جدول ۱۱. برآورد تعداد تخم تولیدی در جمعیت ماده‌های

نواحی جنوبی استان خوزستان

فصل پاییز			فصل بهار		
نمونه	وزن بدن (W)	هم‌آوری (F)	نمونه	وزن بدن (W)	هم‌آوری (F)
۱	۷۹/۸۰	۹۳۲۵	۳۳	۳۹/۷۸	۴۱۵۳
۲	۱۵/۵۱	۲۰۱۰	۳۴	۸۷/۵۲	۱۱۵۶۱
			۱۹	۴۳/۰۶	۴۸۷۶
			۲۰	۳۷/۴	۴۰۱۷

میانگین هم‌آوری در ماده‌های بالغ نواحی جنوبی طی فصل بهار بین کم‌ترین وزن ۲۹/۷۱ گرم برابر با تعداد ۵۸۷۶ تخم تولیدی و برای بیش‌ترین وزن ۸۷/۵۲ گرم برابر با ۱۱۵۶۱ تخم در نوسان بود. از طرفی میانگین هم‌آوری در جمعیت نواحی جنوبی با میانگین وزنی ۵۱/۹۴ گرم برابر با تعداد ۶۱۵۱ تخم تولیدی در هر دوره تولیدمثلی بوده است.

### بحث و نتیجه‌گیری

مقایسه مقاطع بافتی پوست در جمعیت‌های گونه *P. ridibundus* تحت تأثیر دو نوع عامل تعیین کننده اقلیم و سطوح پشتی و شکمی پوست در استان خوزستان انجام شد تا در نهایت پی به آن ببریم که با در نظر گرفتن روند افزایش آلودگی در زیستگاه (به‌خصوص زیستگاه‌های جنوبی)، تغییر شرایط میکروکلیمایی،

غدد موکوسی و سرروزی همواره مورد مطالعه بوده است، ترشحات غدد موکوسی به صورت رقیق و آبکی است و در تنظیم حرارت بدن و کاهش حساسیت پوست نسبت به خشکی نقش دارند (Haslam et al., 2014). این غدد در دو گونه *Xenopus tropicalis* و *Rana pipiens* برای جذب آب، حفظ و رطوبت پوست در مواقع کم‌آبی بکار رفته و اجازه می‌دهند تا مبادله گازهای تنفسی صورت گیرد و به عبارتی دارای فعالیت فیزیولوژیکی بنیادی بوده و تخصص یافتگی کم‌تری دارند (Haslam, et al., 2014; Esmailian, 2014). در مقایسه بین نواحی، تعداد هر دو نوع غدد موکوسی و سرروزی سطح پشتی در نواحی جنوبی بیش‌تر است. به دنبال آن، سطح شکمی نیز در بین نواحی شمالی و جنوبی تنها از نظر تعداد غدد سرروزی اختلاف دارند که هم‌چون سطح پشتی تعداد بیش‌تر مربوط به نواحی جنوبی است و این امر نشان می‌دهد نواحی جنوبی تحت تأثیر آلودگی‌های محیطی بیش‌تری قرار دارند و اختلاف غدد موکوسی نیز می‌تواند در پاسخ به خشکی بیش‌تر سطح پوست افراد در نواحی جنوبی باشد. به‌طور کلی می‌توان بیان داشت؛ افزایش میکروارگانیسم‌ها، آلودگی‌های ناشی از ریزگردها، کارخانه‌جات و در معرض خطر بودن بیش‌تر آن‌ها در نواحی جنوبی منجر به تولید مایع مخاطی و سموم بیش‌تر از جانب آن‌ها شده است. علاوه بر موارد ذکر شده؛ در مطالعه حاضر دریافتیم، علی‌رغم این‌که غدد موکوسی در سراسر سطوح پشتی به صورت تقریباً یکسان پراکنده شده‌اند، اما پراکنش غدد سرروزی به صورت یکنواخت نیست. با مشاهدات و بررسی‌های بیش‌تر و از آنجایی که غدد سرروزی دارای ترشحات مشخص و شیری رنگ به سطح پوست هستند، هنگامی که نمونه‌ها توسط کلروفورم کشته شدند مشاهده کردیم که ترشحات سرروزی، تمامی سطح پشتی پوست را فرا نمی‌گیرد، بلکه مطابق شکل ۴ به صورت دو خط موازی طرفین ستون فقرات جانور (اطراف چین پشتی)

هیستولوژیک گونه *P. ridibundus* در دو منطقه گرم (اهواز) و سرد (شهرکرد) هم‌خوانی دارد. مقایسه میانگین ضخامت لایه اپیدرم و درم بیانگر آن است که سطح پشتی پوست بین دو ناحیه مورد مطالعه از لحاظ ضخامت لایه اپیدرم و درم تفاوتی ندارد اما بررسی سطح شکمی پوست بین دو ناحیه بیانگر وجود اختلاف بین ضخامت لایه اپیدرم و میانگین بیش‌تر آن در نواحی شمالی است. از طرفی ضخامت لایه اپیدرم در سطح شکمی تحت تأثیر اقلیم نواحی متغیر است و این امر نشان‌دهنده تأثیرپذیری بیش‌تر اپیدرم سطح شکمی از اقلیم و شرایط اکولوژیکی نواحی مورد مطالعه در مقابل اپیدرم سطح پشتی است. به این ترتیب نقش سازشی پوست در برابر تفاوت شرایط زیستگاهی و اکولوژیکی در پژوهش حاضر و هم‌چنین ضخامت بیش‌تر سطح پوست در منطقه سرد (شهرکرد) در مقایسه با منطقه گرم (اهواز) به خوبی قابل مشاهده است. هم‌چنین بیش‌تر بودن ضخامت لایه اپیدرم سطح شکمی در نواحی شمالی می‌تواند به علت تماس سطح شکمی پوست با زمین باشد که منجر به افزایش ضخامت آن شده است، در نواحی شمالی وجود ناهمواری‌های بیش‌تر سطح زمین به دلیل کوهستانی بودن منطقه و دمای کم‌تر آب را می‌توان ذکر کرد. ضخیم‌تر بودن اپیدرم سطح شکمی با مقایسه پوست نواحی پشتی و شکمی در چهار گونه از قورباغه‌های درختی خانواده *Hylidae* در آمریکای شمالی که حرکت اسمزی آب در نواحی شکمی پوست به واسطه عملکرد هورمون‌های آلدوسترون و وازوتوکسین و ضخامت بیش‌تر پوست سطح شکمی از یک سو و چهار برابر بودن میزان چربی پوست سطح پشتی از سوی دیگر منجر به افزایش حرکت اسمزی آب در سطوح شکمی شده است (Bentley & Yorio, 1977) و هم‌چنین در گونه *Triturus karelinii* از خانواده *Leptodactylidae*، که پوست سطح شکمی ضخیم‌تر از پوست سطح پشتی است (Ivanova, 2017) هم‌خوانی دارد. تاریخچه ترشحات

پوستی و همچنین سایر ویژگی‌ها در دوزیستان می‌تواند بسته به نوع گونه، جنسیت و شرایط زیستگاهی متفاوت باشد، همان‌گونه که ویژگی‌های خاص گونه *Rana cancrivora* نشان از سازگاری استثنائی آن با میزان شوری آب و شرایط اکولوژیکی زیستگاه است (Seki et al., 1995).

مقایسه نتایج حاصل از بررسی شاخص گنادی در جمعیت‌های جنس نر نواحی شمالی و جنوبی در فصول بهار و پاییز نشان داد؛ بیش‌ترین توان تولیدمثلی مربوط به فصل بهار و در جمعیت نرهای جنوبی و کم‌ترین توان مربوط به نرهای شمالی و در فصل پاییز بوده است. این نتایج را می‌توان چنین تحلیل کرد که خونسرد بودن دوزیستان و در نتیجه تأثیر پذیری بالا از شرایط اکولوژیکی با توجه به اینکه باران و درصد رطوبت محیط از تأثیر گذارترین عوامل بر آمپلکسوس تولیدمثل دوزیستان است (Najibzadeh et al., 2015). هم‌چنین تفاوت اقلیمی نواحی از سوی دیگر (زیستگاه‌های نواحی شمالی دارای اقلیم کوهستانی (دزفول) و تپه ماهوری (شوش و شاور) و زیستگاه‌های جنوبی دارای اقلیم جلگه ساحلی) موجب می‌شود که نواحی شمالی بارش بیشتر، درصد رطوبت نسبی و درجه حرارت کم‌تری نسبت به نواحی جنوبی داشته باشند. لذا با تأثیر دما، درصد رطوبت زیستگاه و میزان تغذیه در دسترس در هر ناحیه‌ای که غذای در دسترس بیشتر بوده به علاوه امکان آلودگی زیست محیطی نیز کم‌تر باشد، شدت تغذیه افزایش یافته و به دنبال آن میزان وزن نیز افزایش می‌یابد که این امر در ساختار و حجم چربی‌های ذخیره‌ای نیز به خوبی قابل مشاهده است. در ارتباط با توان تولیدمثلی نیز با توجه به اینکه نواحی جنوبی دارای درجه حرارت و رطوبت بیش‌تری هستند، لذا با افزایش فعالیت‌های فیزیکی از جمله جست‌وخیز (Tsuji, 2004) بدیهی است نیاز به غذا افزایش یافته و در نهایت وزن نیز افزایش می‌یابد و مطابق نتایج از آن‌جایی که بین وزن و توان تولیدمثلی رابطه مستقیم

می‌باشند. در راستای عدم پراکنش یکنواخت غدد سروزی در سطح پشتی گونه *P. ridibundus* در پژوهش حاضر، مطالعه (Delfino et al., 1996) در گونه *Pelophylax esculenta complex* نیز، بر پراکنش نامنظم غدد سروزی در سطح پشتی پوست و قسمت ناحیه لگنی اشاره دارد (Delfino et al., 1994). هم‌چنین، در گونه *Rana angolensis* غدد سروزی در قسمت کوچکی از پوست سطح پشتی و تحت شرایط فیزیولوژیکی خاص محیطی تولید می‌شوند (Kramer, 1980).



شکل ۴. ترشحات غدد موکوسی بر روی چین طرفی پشتی در گونه قورباغه مردابی، *P. ridibundus*

هر کدام از نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان در هر دو سطح پشتی و شکمی از نظر مساحت، محیط و قطر غدد سروزی دارای اختلاف هستند و میزان بیش‌تر مقادیر مربوط به نواحی جنوبی و سطح پشتی می‌باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان این چنین بیان نمود، عوامل تعیین‌کننده در میزان اندازه غدد سروزی تفاوت شرایط اکولوژیکی، اقلیمی و زیستگاهی است. مطالعات دیگر نیز نشان می‌دهد غدد پوستی دوزیستان بسته به نوع گونه می‌توانند متفاوت باشند، برای مثال گونه *Rana cancrivora* دارای ساختار و ویژگی‌های متفاوت از سایر دوزیستان است، این گونه دارای دو نوع غده موکوسی، مخلوط می‌باشد و غدد سروزی مجزا در بافت پوستی این گونه مشاهده نشده است، در نهایت با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان بیان داشت ضخامت، نوع غدد

تالاب انزلی نشان داد؛ جفت‌گیری و تخم‌ریزی این گونه در نقاط مختلف تالاب و بسته به شرایط اکولوژیکی از نیمه اسفندماه تا اواسط مردادماه ادامه می‌یابد (Mirzajani et al., 2006) و طبق مطالعات Beven & Smith (1979)، دوره تولیدمثلی *Rana clamitans* در زمین‌های پست و برجینیا از اواسط ماه می تا اواسط ماه سپتامبر است. مطالعه Lukanov et al. (2014) بر روی جفت‌گیری *Rana ridibunda* تحت تأثیر عوامل محیطی در بلغارستان نیز نشان داد، بین پارامترهای زیست‌محیطی شامل ارتفاع، درجه حرارت، آب و هوای منطقه، نوع بدن و همزیستی با گونه‌های نزدیک همبستگی معناداری وجود دارد و این نشان از نفوذ پیچیده اثرات پارامترهای زیست‌محیطی بر جفت‌گیری این گونه می‌باشد (Lukanov et al., 2014). به‌طور کلی چرخه تولیدمثلی دوزیستان وابسته به عوامل محیطی است، بنابراین آگاهی عمیق‌تر از ویژگی‌های زیست‌محیطی بدون شک به تلاش برای حفاظت از جمعیت دوزیستان در برابر کاهش چشمگیر جمعیت آنها کمک می‌کند. Kouba et al. (2009) بیان کرد با توجه به کاهش جمعیت دوزیستان و به‌منظور حفاظت از گونه‌های در معرض تهدید، عواملی چون فناوری تولیدمثل، مانند هماهنگ‌سازی هورمون‌ها، ذخیره‌سازی گامت‌ها و لقاح مصنوعی ابزار ارزشمندی برای کنترل جمعیت دوزیستان.

وجود دارد نرهای نواحی جنوبی با میانگین وزن بیش‌تر، از توان تولیدمثلی بیش‌تری برخوردار هستند. در ارتباط با میزان هم‌آوری، می‌توان چنین بیان نمود، چون ماده‌ها در فصل اوج تولیدمثل با افزایش وزن مواجه هستند و به حاشیه رودخانه‌ها و آبراهه رفته تحرک کم‌تری دارند و بنابراین شانس صید آن‌ها نیز به مراتب افزایش یافته است. بنابراین، فعالیت‌های تولیدمثلی در دوزیستان به‌واسطه تغییرات آب‌وهوایی بسیار متنوع است و این نشان از نقش شرایط اکولوژیکی زیستگاه در فرآیند تولیدمثل می‌باشد (Najibzadeh et al., 2015). بنابراین با افزایش وزن و به‌دنبال آن قطر زائده پینه‌ای، توان تولیدمثلی افراد نیز افزایش یافته و افراد با وزن و قطر زائده بالاتر، از توان تولیدمثلی بالاتری برخوردار بودند. در میان جمعیت‌های مورد بررسی در نواحی مورد مطالعه همانند جمعیت‌های نر نواحی جنوبی، جمعیت ماده‌های جنوبی در فصل بهار دارای بیش‌ترین تعداد تخم‌تولیدی و جمعیت ماده‌های شمالی نیز دارای تعداد تخم‌تولیدی کم‌تری در هر دوره تولیدمثلی می‌باشند و به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت جمعیت‌های جنس نر و ماده در نواحی جنوبی در فصل بهار دارای بیش‌ترین توان تولیدمثلی هستند و با توجه به نتایج، فصل تخم‌ریزی گونه مورد نظر از اواخر اسفندماه شروع شده و در اواسط فصل بهار به اوج خود می‌رسد. مطالعات صورت گرفته در ارتباط با تولیدمثل قورباغه آبی در

## REFERENCES

- Baluch, M.; Chami, H.Gh. (2006). Amphibian Iran, Tehran University Press, Vi: 153, 155 and 159pp.
- Basu, S.L.; Nand, J. (1965). Effect of testosterone and gonadotropins on spermatogenesis in *Rana pipiens*, Journal of Exp. Zoology; 159(1): 93-111.
- Berven, K.A.; Gill, D.E.; Smith-Gill, S.J. (1979). Countergradient selection in the green frog, *Rana clamitans*. Evolution; 33(2): 609-623.
- Borkin, L.J.; Korshunov, A.V.; Lada, G.A.; Litvinchuk, S.N.; Rosanov, J.M.; Shabanov, D.A.; Zinenko, A.I. (2004). Mass occurrence of polyploid green frogs (*Rana esculenta complex*) in eastern Ukraine. Russ, Journal of Conservation Biology; 11(3): 194-213.
- Brizzi, R.; Delfino, G.; Jantra, S.; Alvarez, B.B.; Sever, D.M. (1993). The amphibian cutaneous glands: C<sup>14</sup> e<sup>3</sup> r some aspects of their structure and adaptive role; 23(4): 26-38.
- Brown, G.P.; Shine, R. (2002). Influence of weatherconditions on activity of tropical snakes, Austral Ecology; 27(6): 596-605.
- Brunetti, A.E.; Hermida, G.N.; Faivovich, J.

- (2012). New insights into sexually dimorphic skin glands of anurans: The structure and ultrastructure of the mental and lateral glands in *hypsiboas punctatus* (Amphibia: Anura: Hylidae), *Journal of Morphology*; 273(11): 1257-1271.
- Delfino, G.; Brizzi, R.; Melis, G. (1996). Merocrine secretion from serous cutaneous glands in *Rana esculenta complex* and *Rana iberica*, *Alytes*; 13(1): 179-192.
- Esmailian, A. (2014). Comparison of species of frogs in a warm area (Ahvaz) and cold zone (Shahrekord) with emphasis on their skin texture, Master's thesis, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz; Vi: 98, 103pp.
- Esteban, M.; García-París, M.; Castanet, J. (1996). Use of bone histology in estimating the age of frogs (*Rana perezii*) from a warm temperate climate area, *Canadian Journal of Zoology*; 74(10): 1914-1921.
- Felseburgh, FA.; De Almeida, PG.; De Carvalho-e-Silva, SP.; De Brito-Gitirana, L. (2009). Microscopical methods promote the understanding of the integument biology of *Rhinella ornata*, *Journal of Micron*; 40(2):198-205.
- Haslam, IS.; Roubos, EW.; Mangoni, ML.; Yoshizato, K.; Vaudry, H.; Klopper, JE.; Paus, R. (2014). From frog integument to human skin: dermatological perspectives from frog skin biology, *Biological Reviews*; 89(3): 618-655.
- Ivanova, NL. (2017). Growth characteristics and rates of the marsh frog *Pelophylax ridibundus* Pall. introduced into water bodies of the Middle Urals, *Biology Bulletin*; 44(4): 412-416.
- Kardong, K. (2016). The Vertebrate Integument: Origin and Evolution, Volume 1 The Vertebrate Integument: Structure, Design and Function; 22(2): 213-228.
- Kouba, AJ.; Vance, CK.; Willis, EL. (2009). Artificial fertilization for amphibian conservation: current knowledge and future consideration, *Theriogenology*; 71(1): 214-227.
- Kramer, B. (1970). Histochemical demonstration of 5-hydroxytryptamine in poison glands of amphibian skin, *Histochemie*; 24: 336-342.
- Lukanov, SP.; Tzankov, ND.; Simeonovska-Nikolova, DM. (2014). Effects of Environmental Factors on Mating Call Characteristics of the Marsh Frog *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibia: Ranidae) in Bulgaria, *Journal of Acta Zoologica Bulgarica*; 66(2): 209-216.
- Mills, JW.; Prum, BE. (1984). Morphology of the exocrine glands of the frog skin, *American Journal of Anatomy*; 171: 91-106.
- Mirzajani, A.; Kiabi, B.; Bagheri, S. (2006). Investigation of the Growth of Frogs Larvae and Estimation of *Pelophylax ridibundus* Population in Anzali Lagoon, *Iranian Journal of Biology*; 19 (2): 202-191.
- Moreno-Gómez, F.; Duque, T.; Fierro, L.; Arango, J.; Peckham, X.; Asencio-Santofimio, H.; Peckham, X. (2014). Histological Description of the Skin Glands of *Phyllobates bicolor* (Anura: Dendrobatidae) Using Three Staining Techniques, *Int. Journal of Morphological*; 32(3): 882-888.
- Najibzadeh, M.; Darvish, G.; Chami, H.; Qasimzadeh, F. (2015). Habitat comparisons, Mating and spawning behavior of three species of immature agate amphibians *Rana (Pelophylax) ridibundus*, *Hylasavignyi* frog and Green toad *Bufo (Pseudepidalea) variabilis* in Lorestan province, *Journal of Research (Iranian Journal of Biology)*; 27 (2): 299-291.
- Paphan, F.; Esmailian, A.; Dorostghol, M.; Bagheri, M. (2017). Morphological, morphometric, histological and histometric evaluation of *Pelophylax ridibundus* frog frog in Ahvaz city (warm area) and comparison with Shahrekord city (Cold area), *Journal of*

- Natural Environment; 8 (3): 70-61.
- Seki, T.; Kikuyama, S.; Yanaihara, N. (1995). Morphology of the skin glands of the crab-eating frog (*Rana cancrivora*), Zoological science; 12(5): 623-626.
- Toledo, RC.; Jared, C. (1993). Cutaneous adaptations to water balance in amphibians, Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology; 105(4): 593-608.
- Tsuji, H. (2004). Reproductive ecology and mating success of male *Limnonectes kuhlii*, a fanged frog from Taiwan, Herpetologica; 60(2): 155-67.
- Yorio, T.; Bentley, PJ. (1977). Asymmetrical permeability of the integument of tree frogs (Hylidae), Journal of Experimental Biology; 67(1): 197-204.