

## مطالعه بیوسیستماتیک قورباغه مردابی (*Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771)

### در زیستگاه‌های تالابی الشتر (استان لرستان)

اشرف جزایری<sup>۱</sup>، فروغ پاپهن<sup>۲</sup>، اسماء حاتمی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱۸

## چکیده

قورباغه مردابی (*pelophylax ridibundus*) تنها گونه از جنس *Pelophylax* است که تقریباً در همه نواحی ایران پراکنش دارد. مطالعه حاضر در ۳ ایستگاه تالابی شهرستان الشتر در استان لرستان و با هدف مطالعه ریخت شناسی، ریخت سنجی ویژگی‌های تولید مثلی، کاربیلوژی و مطالعه بافتی پوست انجام شد و تعداد ۱۶۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع ۳ ریخت در سطح تالاب‌های مورد بررسی شناسایی گردید. در بخش تحلیل صفات کمی، دو جنس از نظر وزن و قطر ران تفاوت معنی داری نداشتند در حالیکه در صفت طول کل متفاوت بودند. بیشترین شاخص تولید مثلی در هر دو جنس در فصل بهار اندازه گیری شد بعلاوه وزن حداکثر رسیدگی برای نرها به میزان ۶۴/۱۲ و برای ماده ها ۸۳/۹ گرم محاسبه گردید. عدد کروموزومی گونه در مناطق مورد مطالعه  $2n=26$  بود بعلاوه کروموزومهای هترومورف جنسی مشاهده گردید. ساختار پوست در تمامی ایستگاهها مشابه و شامل دو لایه اپیدرم و درم بود، در لایه اسفنجی درم در هر دو جنس غدد موکوسی و گرانولار مشاهده گردید و پوست سطح شکمی به علت نازکتر بودن رشته های کلاژنی از پوست سطح پشتی متمایز بود.

**واژه های کلیدی:** بیوسیستماتیک جانوری، دوزیستان بی دم، قورباغه مردابی، تالاب، لرستان

## مقدمه

دوزیستان بی دم بزرگترین نماینده دوزیستان امروزی هستند که پیشینه آنها به دوران ژوراسیک در ۱۵۰ میلیون سال قبل می رسد (Morrison & Hero., 2003). در حال حاضر از ۷۶۴۸ گونه شناخته شده از دوزیستان ۶۷۳۶ گونه از آنها متعلق به دوزیستان بی دم می باشد. (ابراهیم نژاد، ۱۳۸۵). از بین خانواده Ranidae، جنس *Pelophylax* تنها یک گونه به نام *Pelophylax ridibundus* در ایران وجود دارد. این گونه برای اولین بار توسط پالاس در سال ۱۷۷۱ از سواحل شمالی دریای خزر و رودخانه ولگا ثبت شده است، اما به دلیل وضعیت تبارش نام آن از جنس *Rana* تغییر یافت و در جنس *Pelophylax* قرار گرفت، با این حال هردو نام همچنان استفاده می شود (Mohammadi et al., 2015)

۱ - استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران  
\* (نویسنده مسئول: jazayeriashraf@gmail.com)

۲ - دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳ - دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

در این گونه پشت بدن سبز تا زیتونی و قهوه‌ای تیره همراه با تعداد کم و بیش لکه‌های تیره یا سبز تیره است، گاهی دارای یک نوار طولی روشن در طول پشت بدن می‌باشد، طی فصل تولیدمثل اولین انگشت اندام‌های جلویی در نرها دارای قسمت متورم خاکستری رنگ می‌باشد و معمولا در آب‌های آرام کناره رودهایی که بیش‌تر با درختان بید و جگن احاطه شده حضور دارد این گونه، حرکات زیگزاکی بسیار سریعی درون آب دارد و طی زمستان در زیر گل‌ولای مخفی می‌شود سپس سوخت‌وساز بدن را کاهش داده و بدین طریق از شرایط نامطلوب عبور می‌کند. (بلوچ و کمی، ۱۳۸۵) فصل تولیدمثل آن‌ها از اواخر فروردین و اوایل اردیبهشت‌ماه شروع می‌شود، از آنجایی که فصل تولیدمثل دوزیستان بی‌دم با یکدیگر هم‌پوشانی دارد، بدیهی است تفاوت در رفتارهای جفت‌گیری منجر به جدایی تولیدمثلی بین گونه‌ها ی هم‌جوار می‌شود، یکی از این رفتارها محرک‌های صوتی هستند. (نجیب زاده و همکاران، ۱۳۹۳)

در قورباغه مردابی عموماً نرها زودتر از ماده‌ها به آبگیرها می‌رسند و محدوده جفت‌گیری خود را مشخص می‌کنند، جفت‌گیری و تخم‌گذاری در آب راکد انجام می‌پذیرد و تخم‌ها پس از حداکثر سه هفته به‌صورت لاروهای دم‌دار با ۵ میلی‌متر طول و ظاهری مانند ماهی‌های کوچک ظاهر می‌شوند. (نجیب زاده و همکاران، ۱۳۹۳) طی دگردیسی تغییرات خاصی در زنجیره کربوهیدرات روده کوچک، کبد و دم رخ می‌دهد که می‌تواند نشانه‌هایی از برخی وقایع سلولی مانند تمایز آن‌ها باشد (میرزاجانی و همکاران، ۱۳۸۳). در لارو قورباغه مردابی دهان به‌صورت شکمی است، از این‌رو هرگونه تغییر در اندازه و شکل دیسک دهانی، شکل فک و تعداد ردیف دندان‌ها از ویژگی‌های مهم در شناسایی گونه هستند (مولوی و همکاران، ۱۳۹۲) بسیاری از گونه‌های در معرض خطر در چرخه حیاتی خود از تالاب‌ها بهره می‌جویند، این امر نقش ویژه تالاب‌ها را در بقاء گونه‌های بی‌شمار از جمله دوزیستان مشخص می‌سازد. (ایافت و همکاران، ۱۳۸۹)

بدن مرطوب دوزیستان محل مناسبی برای رشد قارچ‌ها و باکتری‌هاست ولی مواد مترشحه از پوست این جانور تا حد زیادی از رشد چنین میکروارگانیسم‌هایی جلوگیری می‌نمایند. اهمیت پوست به جهت انجام تنفس پوستی در دوزیستان قابل توجه است از این حیث ساختار پوست و لایه بندی آن، وجود شبکه مویرگی گسترده و نیز حضور غدد موکوسی و سروزی در پوست از ویژگی‌های این دوزیستان به‌شمار می‌رود. (بلوچ و کمی، ۱۳۸۵) شرایط اقلیمی، وضعیت زیستگاهی، و آلاینده‌های زیست محیطی می‌توانند به‌طور مستقیم بر ساختار پوست دوزیستان موثر باشند. مطالعه و بررسی ویژگی‌های پوست دوزیستان از مهم‌ترین صفات لازم جهت تشخیص و تعیین طبقات مختلف آن‌ها در علم طبقه‌بندی می‌باشد (Azevedo et al., 2006).

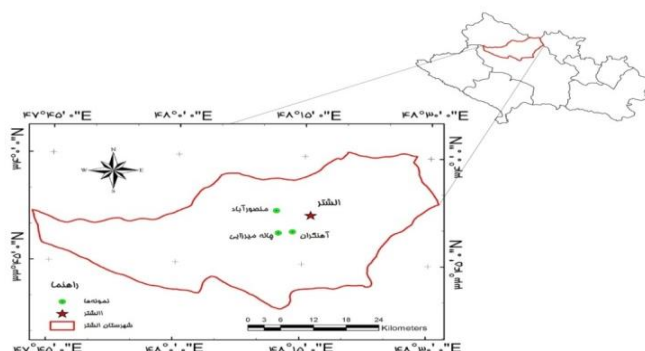
## مواد و روش‌ها

شهرستان الشتر از نظر جغرافیایی در ۴۸ درجه و ۱۵ دقیقه طول شرقی و ۳۱ درجه و ۵۱ دقیقه طول عرض شمالی قرار دارد، ارتفاع آن از سطح دریا ۱۶۰۰ متر بوده و دارای آب و هوای معتدل است. فاصله این شهرستان از مرکز استان یعنی خرم آباد ۴۵ کیلومتر است.

الشتر با دشتی سرسبز و خرم و زمین‌های حاصلخیز که به وسیله کوه‌های نسبتاً مرتفع در تمام جهات احاطه شده در شمالی‌ترین قسمت استان لرستان واقع گردیده است. دارای آب و هوای معتدل مرطوب با زمستان‌های سرد است شهرستان الشتر به لحاظ فون جانوری و فلور گیاهی منطقه‌ای بکر و دست نخورده است که مطالعات اکولوژیکی و زیست شناختی در بسیاری از جنبه‌های آن صورت نگرفته است. (پناهی و همکاران، ۱۳۹۱) این منطقه اکوسیستم‌های آبی متعددی از قبیل رودهای دائمی و فصلی، تالاب‌های آب شیرین، برکه و آبگیرهای فصلی متعدد دارد، بر این اساس اکوسیستم‌های بالقوه مناسبی جهت حضور دوزیستان فراهم دارد (محمودی و همکاران، ۱۳۹۲). در این مطالعه ۳ ایستگاه بر اساس شرایط اکولوژیکی، زیست‌گاهی و وفور نمونه‌ها انتخاب شدند. هر ۳ ایستگاه انتخاب شده از مناطق تالابی الشتر بودند. (جدول ۱ - شکل ۱)

جدول ۱: مختصات ایستگاه‌های مورد مطالعه

| نام ایستگاه      | مختصات                                      | موقعیت جغرافیایی       |
|------------------|---------------------------------------------|------------------------|
| تالاب آهنگران    | عرض شمالی ۳۳° ۴۹' ۰"                        | جنوب غرب شهرستان الشتر |
| تالاب منصور آباد | عرض شمالی ۳۳° ۵۲' ۰"                        | شمال غرب شهرستان الشتر |
| تالاب چاله       | عرض شمالی ۳۳° ۴۹' ۰"<br>طول شرقی ۴۸° ۱۲' ۰" | جنوب غرب شهرستان الشتر |



شکل ۱: موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های مورد مطالعه

نمونه برداری طی بهار و تابستان سال ۱۳۹۳ انجام شد. تعداد ۱۶۰ نمونه از ۳ ایستگاه به وسیله تور دسته بلند صید و به صورت زنده، در ظروف پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شدند و در آزمایشگاه برای مطالعات ریخت‌شناسی، ریخت‌سنجی، تولیدمثلی و هیستولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی چند ریختی رنگی، کلیه نمونه‌های صید شده از نظر رنگ‌آمیزی بدن، نحوه آرایش لکه‌ها و نوارهای تیره، هم‌چنین نوار طولی روشن بررسی و ریخت‌های مختلف شناسایی و عکسبرداری شد، بعلاوه ویژگی‌های توصیفی هر نمونه به صورت مکتوب ثبت گردید. در بخش ریخت‌سنجی صفات شاخص که در شناسایی گونه مورد نظر حائز اهمیت هستند از جمله: وزن، طول کل، قطر و طول ران، فاصله نوستریلها، اندازه سر و طول بازو بوسیله کولیس دیجیتال و ترازوی حساس اندازه‌گیری شد (بلوچ، ۱۳۸۵).

به منظور بررسی ویژگی‌های تولیدمثلی، ابتدا نمونه‌های نر از ماده تفکیک شد، بدین منظور از کیسه تشدید صوت سیاه رنگ و نیز وجود زائده خاکستری رنگ بر روی اولین انگشت پاهای جلویی در نرهای بالغ استفاده شد، سپس نمونه‌ها به وسیله کلروفرم کشته و تشریح شد. در نرها پس از جداسازی و توزین بیضه‌ها شاخص گنادی و برای نمونه‌های ماده نیز پس از تخلیه کل بافت تخمدانی میزان، هم‌آوری بر اساس روشهای مرسوم محاسبه شد (ابراهیم نژاد، ۱۳۸۵). با توجه به اینکه سیگنالهای صوتی در فصل تولید مثل یکی از موارد جدایی تولیدمثلی و جفت‌گیری هستند (درویش، ۱۳۸۹)، بنابراین اصوات نرها طی فصل بهار از ۳ ایستگاه تالابی الشتر ثبت و سپس به وسیله دستگاه صوت‌سنج شدت اصوات اندازه‌گیری شد.

برای مطالعه ساختاری پوستی از تعداد ۱۰ نمونه بالغ نر و ماده استفاده شد بدین ترتیب که از پوست سطح پشتی و شکمی هر قورباغه، نمونه‌هایی به ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر برداشته و به فیکساتور منتقل گردید (فرمالین ۱۰ درصد) سپس بر اساس روشهای متداول، بلوک‌های پارافینی بافتی تهیه و به وسیله میکروتوم برش‌های به ضخامت ۵ میکرون داده شدند از اسلایدهای مناسب پس از رنگ‌آمیزی (هماتوکسیلین-انوزین) به وسیله میکروسکوپ مجهز به دوربین عکس‌برداری انجام شد سپس تحلیل کیفی بافت پوست به کمک تصاویر صورت گرفت (پاپهن و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعات کاربولوژیکی، از محلول کلشی سین با غلظت (۲٪) با دوز تزریقی ۰/۱ ml به ازای هر گرم وزن بدن به صورت درون صفاقی استفاده شد. پس از ۷ ساعت، نمونه تشریح و بافت مغز استخوان ران به مدت ۳۰ دقیقه تحت تیمار هیپوتونیک (کلرید پتاسیم ۰/۰۷۵ مولار) قرار گرفت. سپس با افزودن فیکساتور تازه (اسید استیک / اتانول به نسبت ۳/۱) سانتریفیوژ با شرایط ۱۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد. رسوبات حاصل برای دو بار دیگر با فیکساتور شستشو و سانتریفیوژ گردید. لام‌گیری به روش پرتابی روی لامهای تمیز و سرد و رنگ‌آمیزی با گیمسای ۵ درصد انجام شد. از پلاک‌های متافازی عکسبرداری شد و برای اندازه‌گیری کروموزوم‌ها از محیط نرم افزاری (image.g & karyo vision) استفاده گردید.

## نتایج

در تالاب‌های مورد بررسی در مجموع، سه ریخت مشاهده گردید، ریخت‌های ۲ و ۳ در هر سه تالاب تحت مطالعه حضور داشتند در حالیکه ریخت شماره ۱ صرفاً در ایستگاه تالاب آهنگران مشاهده شد. بعلاوه آزمون مستقل بودن جنسیت از ریخت نشان داد که ریخت سنخ و جنسیت قورباغه مستقل از هم هستند.

### ریخت ۱

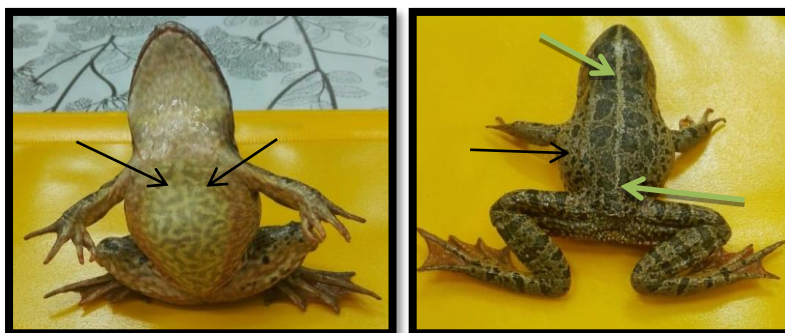
این ریخت دارای خال‌های زیادی با زمینه تیره مایل به قهوه‌ای می‌باشد که سطح پشتی و فضای بین چشم‌ها را نیز می‌پوشاند، در پهلوها نیز خال‌ها قابل مشاهده هستند، رنگ زمینه سطح پشتی سبز تا سبز زیتونی است. شکم شیری رنگ و تقریباً بدون خال بوده، پاها دارای نوارهای تیره و دست‌ها دارای لکه‌های تیره می‌باشد. (شکل ۲)



شکل ۲: نمایی از سطح پشتی ریخت ۱

### ریخت ۲

خال‌های زیتونی تیره در این ریخت به صورت تقریباً موازی در سطح پشتی بدن واقع شده‌اند که به وسیله یک نوار جداکننده نازک از هم جدا می‌شوند، نوار تا انتهای کمر (ناحیه لگنی) امتداد یافته و به مخرج نرسیده است. در این ریخت پهلوها دارای لکه‌های کوچک‌تر و رنگ زمینه روشن‌تر می‌باشند، سطح شکم به رنگ سفید کدر بوده و دارای لکه‌های سیاه می‌باشد. نوارهای تیره نیز در سراسر پاها و به مقدار کم‌تر در دست‌ها قابل رؤیت هستند. (شکل ۳)



شکل ۳: نمایی از سطح پشتی و شکمی ریخت ۲

## ریخت ۳

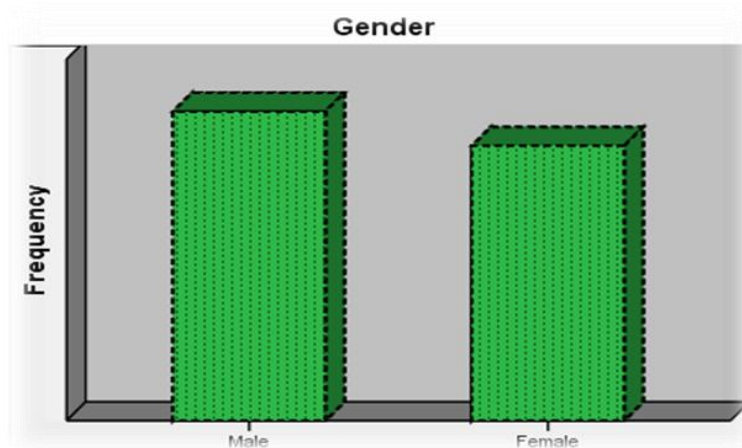
در این ریخت نوار روشن زرد رنگ بسیار مشخص از نوک پوزه تا مخرج امتداد می‌یابد. رنگ زمینه سطح پشتی زیتونی بوده و دارای لکه‌های بزرگ قهوه‌ای است که تقریباً موازی در دو سمت نوار طولی روشن می‌باشند. پاها از ابتدای اتصال به بدن (از کشاله ران) تا نوک انگشتان دارای نوارهای تیره می‌باشند و در دست‌ها (از بازوها تا مچ) نیز لکه‌های تیره قابل رؤیت می‌باشند. (شکل ۴)



شکل ۴: نمایی از سطح پشتی ریخت ۳

آزمون آماری بر روی صفات مورفومتریک (با کمک نرم‌افزار SPSS<sub>23</sub>) نتایج ذیل را نشان داد. در ابتدا فراوانی

بر اساس تعداد نمونه‌ها به تفکیک جنسی محاسبه گردید. (شکل ۵)



شکل ۵: نسبت فراوانی جنسی

بر اساس سطح معناداری آزمون لوین و سطح معناداری شاخص  $t$  ( $p < 0.05$ ) و باتوجه به اینکه میانگین نمره جنس ماده (۷۴/۵۷) از میانگین جنس نر (۶۶/۷۵) بیشتر بود، دو جنس فقط از نظر طول کل با هم متفاوت بودند. بررسی بیشتر در مورد تفاوت بین جنسیت طی فصول، نشان داد که این تفاوت فقط در فصل بهار معنی دار بود. بعلاوه در مقایسه‌ی، فاصله بین

نوستریل‌ها، برآمدگی داخلی، اندازه سر و طول بازو تفاوت معناداری وجود نداشت. هم‌چنین هر دو جنس در وزن کل یکسان بودند و یکسان بودن قطر ران در هر دو جنس نشان داد که هر دو جنس از توانایی یکسانی برای جهیدن برخوردار بودند. (جدول

(۲)

جدول ۲: نتایج آزمون مقایسه میانگین صفات

| متغیر                  | شاخص لوین (F) | سطح معنی‌داری (P) | شاخص (T) | سطح معنی‌داری (P) |
|------------------------|---------------|-------------------|----------|-------------------|
| فصل                    | ۰/۲۹          | ۰/۵۸              | -۰/۲۷    | ۰/۷۸              |
| وزن (W)                | ۸/۴۷          | ۰/۰۰۵             | -۱/۳۸    | ۰/۱۷              |
| طول کل (TL)            | ۰/۷۶          | ۰/۳۸              | -۲/۱۶    | ۰/۰۳۵             |
| طول ران (FL)           | ۰/۰۰۵         | ۰/۹۴              | -۲/۴۰    | ۰/۰۲              |
| قطر ران (F.th)         | ۰/۲۱          | ۰/۶۴              | -۰/۵۴    | ۰/۵۸              |
| فاصله نوستریل‌ها (D.n) | ۰/۴۶          | ۰/۴۹              | ۰/۷۳     | ۰/۴۶              |
| برآمدگی داخلی (C.int)  | ۰/۴۰          | ۰/۵۳              | -۱/۳۹    | ۰/۱۷              |
| اندازه سر (H.s)        | ۲/۵۱          | ۰/۱۱              | ۰/۱۶     | ۰/۸۷              |
| طول بازو (L.a)         | ۳/۴۱          | ۰/۰۷              | ۱/۴۰     | ۰/۱۶              |

در مطالعه ویژگی‌های تولید مثلی، پس از محاسبه شاخص گنادی نرها و هم‌آوری در ماده‌ها، وزن حداکثر رسیدگی نمونه‌ها به تفکیک جنسیت تعیین شد (جدول ۳). از آنجایی که سطح معنی‌داری آزمون لوین کوچکتر از ۰/۰۵ می‌باشد، واریانس و پراکندگی داده‌ها در دو جنس مختلف متفاوت بود. بعلاوه سطح معنی‌داری شاخص  $t$  ( $p < ۰/۰۵$ )، نشان‌دهنده تفاوت بین متغیرها بود. به عبارت دیگر بین دو جنس از نظر شاخص‌های جنسی تفاوت وجود داشت، هم‌چنین بر مبنای میانگین به‌دست آمده پراکندگی داده‌ها در جنس ماده بیشتر بود. (جدول ۴)

جدول ۳: بیشترین توان تولیدمثلی مطابق با وزن کل، به تفکیک جنسیت و فصل

| جنسیت | وزن کل | شاخص گنادی / هم‌آوری | فصل  |
|-------|--------|----------------------|------|
| نر    | ۶۴/۱۲  | ۱/۴۳                 | بهار |
| ماده  | ۸۳/۹   | ۹۴۰۵                 | بهار |

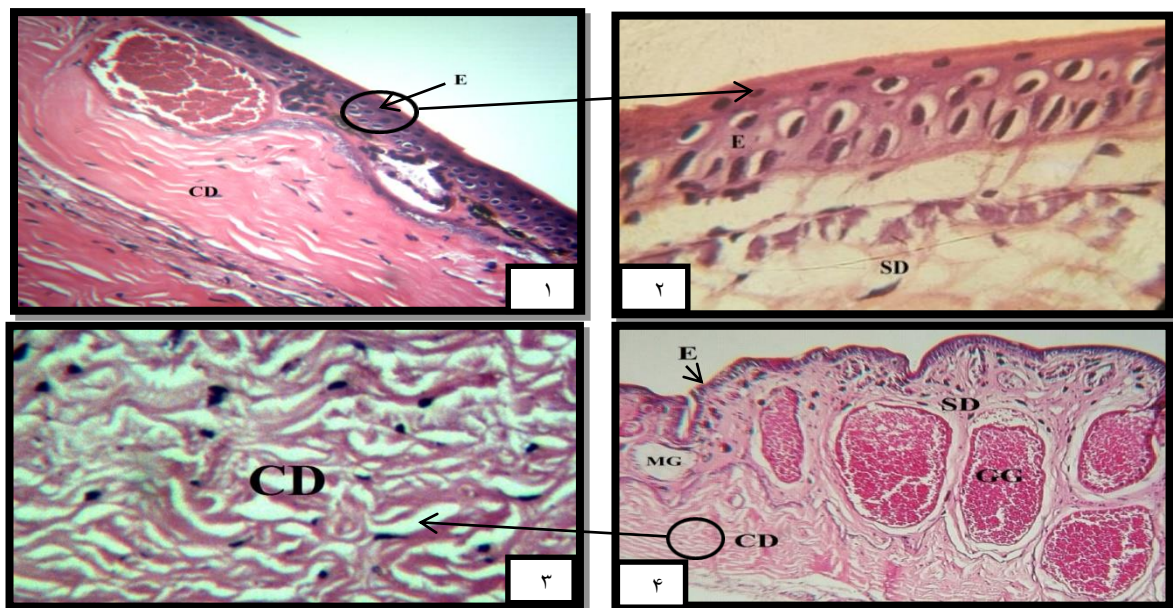
جدول ۴: تفاوت جنسیت در شاخص‌های جنسی

| متغیر | شاخص لوین (F) | سطح معنی‌داری (P) | شاخص $t$ | سطح معنی‌داری (P) |
|-------|---------------|-------------------|----------|-------------------|
| G.F   | ۲۹/۱۴         | ۰/۰۰              | -۷/۸۸    | ۰/۰۰              |

تحلیل اصوات ضبط شده از جمعیت گونه‌ای در فصل تولید مثل نشان داد که، میانگین شدت اصوات تولیدی ۹۴ دسی بل و دامنه شدت اصوات بین حداقل ۴۸ تا حداکثر ۱۴۰ دسی بل بود. چون در زمان ضبط صدا امکان تشخیص جنسیت وجود نداشت از مقایسه شدت اصوات در دو جنس صرف نظر گردید. مطالعه پوست نواحی پشتی و شکمی قورباغه‌های نر و ماده در

هر سه ایستگاه نشان داد که پوست بدن آنها از دو طبقه اپیدرم و درم تشکیل شده است (شکل‌های ۶-۱ و ۶-۲). اپیدرم پوست در نواحی پشتی و شکمی یک اپی‌تلیوم سنگفرشی مطابق کراتینی است که از غشاء پایه به طرف سطح پوست از ۴ تا ۵ لایه سلولی تشکیل شده و توسط لایه نازک کراتینی پوشیده شده است. لایه درم پوست از نظر ساختار بافتی از دو قسمت تشکیل شده است: طبقه اسفنجی زیر اپیدرم که از یک بافت همبند سست حاوی عروق خونی و غدد پوستی تشکیل شده است و طبقه متراکم بلافاصله زیر طبقه اسفنجی که یک بافت همبند سخت حاوی دستجات ضخیم و متراکم رشته‌های کلاژنی می باشد (شکل ۶-۲).

در طبقه اسفنجی درم دو نوع غده مشاهده شد، غدد کوچک موکوسی و دیگری غدد بزرگ گرانولار پوست، غدد موکوسی غددی حبابی شکل و در مقاطع میکروسکوپی عاری از ترشحات بودند در مجاورت اپیدرم پوست مشاهده شدند (شکل ۶-۳). غدد گرانولار حبابی شکل و حاوی ترشحات اسیدوفیل بودند و در فاصله دورتری از اپیدرم درون طبقه اسفنجی حضور داشتند (شکل ۶-۴). بعلاوه رشته‌های کلاژن در سطح شکمی نازک‌تر از سطح پشتی بود و هیچ تفاوتی در ساختار بافتی پوست قورباغه های ساکن زیستگاه‌های سه‌گانه مشاهده نشد.



شکل ۶: تصاویر میکروسکوپی نواحی پشتی و شکمی بدن قورباغه‌های نر و ماده نواحی شمالی

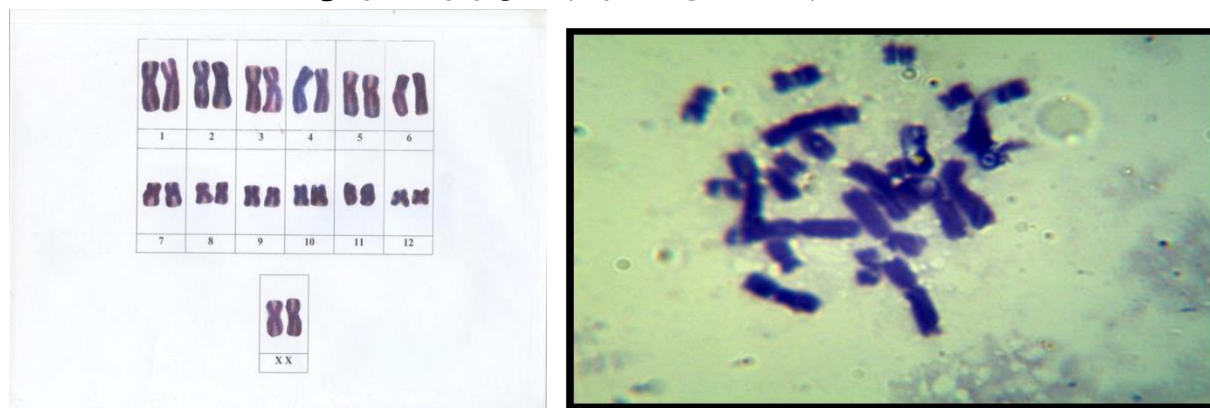
۱، ۲- مقطع بافتی پوست شکمی قورباغه ماده، اپیدرم یک اپیتلیوم مطابق سنگفرشی شاخی است و توسط غشاء پایه (پیکان‌ها) به درم اسفنجی متصل شده است. رنگ آمیزی H&E، بزرگ نمایی 40X-۳، ۴- مقطع بافتی پوست پشتی قورباغه نر، E: اپیدرم، SD: درم اسفنجی، GG: غده گرانولار، MG: غده موکوسی، D: درم متراکم. رنگ آمیزی H&E، بزرگ نمایی 40X



بر اساس نتایج این تحقیق، عدد کروموزومی این گونه شناسایی شده قورباغه مردابی به صورت  $2n=26$  و عدد هاپلوئید  $n=13$  مشاهده شد. تعداد بازوهای کروموزومی  $NF=52$  بود، کروموزومها بر اساس محل استقرار سانترومر در دو گروه متاسانتریک و ساب متاسانتریک تقسیم بندی شدند به این ترتیب که ۵ جفت متاسانتریک و ۷ جفت ساب متاسانتریک بودند. جفت کروموزومهای شماره ۱، ۵، ۶، ۸، ۱۱ از نوع متاسانتریک و جفت کروموزومهای ۲، ۳، ۴، ۷، ۹، ۱۰، ۱۲ از نوع ساب متاسانتریک بودند. کروموزومهای جنسی در افراد نر به صورت XY و در افراد ماده به صورت XX مشاهده گردید. کروموزومهای جنسی X از نظر سایز و اندازه در گروه ۶ و کروموزوم جنسی Y از نظر سایز در گروه ۹ قرار داشت. به علاوه کروموزوم X و Y هر دو در گروه کروموزومهای ساب متاسانتریک طبقه بندی شدند. بزرگترین کروموزوم این گونه دارای طول کل  $15/88$  میکرومتر بود، طول نسبی کروموزومهای این گونه بین حداقل  $2/02$  میکرومتر و حداکثر  $13/57$  میکرومتر متغیر بود. حداکثر شاخص سانترومری مشاهده شده در کروموزومهای این گونه  $0/56$  محاسبه گردید. با توجه به اینکه در این مطالعه از بافت‌های مختلفی از جمله مغز استخوان و طحال در هر دو جنس و بیضه در نرها جهت تهیه کاریوتیپ استفاده شد، نتایج نشان داد که استفاده از مغز استخوان در هر دو جنس نتایج بهتری داشت. در اسلایدهای طحال و بیضه، پلاک متافازی مناسب به ندرت مشاهده شد. (شکل‌های ۷ و ۸)

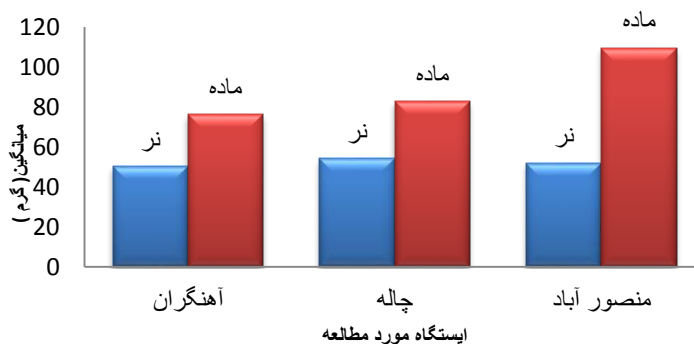


شکل ۷ - پلاک متافازی و کاریوتیپ جنس نر قورباغه مردابی



شکل ۸: پلاک متافازی و کاریوتیپ جنس ماده قورباغه مردابی

برای بررسی رابطه جنسیت با صفات شاخص مورفومتریک در هر ایستگاه از آزمون T-test استفاده شد. در دو ایستگاه آهنگران و چاله به جز صفت فاصله نوستریلها بین سایر صفات و جنسیت تفاوت معنی دار مشاهده شد در حالیکه در ایستگاه منصور آباد بین همه صفات و جنسیت تفاوت معنی دار وجود داشت. ( $p < 0.05$ ). (شکل ۹)



شکل ۹: مقایسه میانگین وزن در ۳ ایستگاه مورد مطالعه

## بحث

دوزیستان امروزی بخشی از نتایج پروسه تکاملی و تنوع زندگی بر روی زمین هستند (درویش، ۱۳۸۹) (چنین موجوداتی طی قرن بیستم که جهان یک انفجار تکنولوژی و صنعتی بی سابقه را تجربه کرده است متحمل پیامدهای منفی متعددی شده اند. تخریب زیستگاهها، حضور گونه های غیربومی، بهره برداری بیش از حد از گونه ها، تغییرات اقلیمی، اثرات سمی سموم و آفت کشها اثرات چشمگیری بر میزان باروری و در نهایت بقای جمعیت های گونه ای می گذارد (Tennesen *et al.*, 2014). تغییرات موجود در بیوتوپها و تنش های ناشی از فعالیت های انسانی که به اکوسیستمها وارد می شود پاسخ دوزیستان به چنین شرایطی را دربر دارد که طی آن تغییراتی در خصوصیات فردی و جمعیت گونه ای مشاهده می شود. گونه های تخصص یافته به علت وابستگی شدید به زیستگاه اغلب آسیب پذیرتر هستند، ظرفیت های چنین زیستگاهی باید به گونه ای باشد که جوابگوی موقعیت حساس تولید مثل گونه به واسطه مرگومیر لاروی باتوجه به حساسیت زیستگاه باشد (Shaffer *et al.*, 2015).

در ارتباط با چندرخی رنگی با توجه به مطالعات صورت گرفته، در دوزیستان بی دم مواردی از تکامل همگرا و وجود پلی مورفیسیم های یکسان در گونه های نزدیک مشاهده می شود که این مهم در مشاهدات غیر تصادفی قابل مشاهده است، این در حالی است که طی مشاهدات صورت گرفته دو قورباغه مردابی هم شکل را به سختی می توان در کنار هم یافت، بنابراین پلی مورفیسیم های دوزیستان بی دم یک سیستم غنی اما عمدتاً بهره برداری نشده برای مطالعات تکامل تنوع فنوتیپی رنگی در طبیعت است (Hoffman & Blouin., 2000). در جمعیت قورباغه ها پلی مورفیسیم رنگ به ارتباط برخی از

صفات جمعیت شناختی مانند طول عمر و مهاجرت وابسته است، هم‌چنین ثبات پلی‌مورفیسم درون جمعیت توسط مکانیسم‌های زیست‌محیطی از جمله ساختار فضایی و سنی جمعیت تعیین می‌شود (Ishchenko., 2014). از طرفی احتمال می‌رود بین فرکانس رنگ و رژیم غذایی، هم‌چنین میزان شوری آب روابطی موجود باشد، این در حالی است که اگرچه ممکن است چندریختی رنگی یک زمینه‌ی ژنتیکی داشته باشد، اما تنوع رنگ در مقیاس منطقه‌ای در ارتباط با عوامل کنترل‌کننده زیست‌محیطی می‌باشد (Harley *et al.*, 2006). به این ترتیب احتمال دارد که تغییرات رنگی مشاهده شده در جمعیت این گونه به دلیل تغییرات زیستگاهی و تأثیر محیط بر افراد جمعیت‌ها باشد. مطالعه چندریختی رنگی برای قورباغه‌مردابی در استان گلستان توسط (Pesarakloo *et al.*, 2017) نیز بیانگر وجود چند ریختی رنگی در این گونه بوده است.

فعالیت‌های تولیدمثلی در دوزیستان به شدت به تغییرات اقلیمی وابسته است این امر نشان از نقش شرایط اکولوژیکی در فرآیند تولیدمثل دوزیستان دارد. (نجیب زاده و همکاران، ۱۳۹۳) عادات و رفتارهای جفت‌گیری، به‌همراه زمان و مکان تخم‌ریزی در گونه‌های هم‌جا نقش مهم و تأثیرگذاری در یک تولیدمثل موفق دارد (درویش، ۱۳۸۹). مطالعات صورت گرفته در ارتباط با تولیدمثل قورباغه‌مردابی در تالاب انزلی نشان داد؛ جفت‌گیری و تخم‌ریزی این گونه در نقاط مختلف تالاب و بسته به شرایط اکولوژیکی از نیمه اسفند تا اواسط مرداد ادامه می‌یابد (میرزاجانی و همکاران، ۱۳۸۳) (در جمعیتی از قورباغه‌های تایوان که جنس نر دارای اندازه بدن و سر بزرگ‌تر نسبت به جنس ماده است، جفت‌گیری موفق به‌طور غیرمستقیم از طریق الگوی جنبش فضایی وابسته به اندازه رخ می‌دهد و این نشان از نقش انتخاب طبیعی در فعالیت‌های تولیدمثلی است) (Tsuji., 2004). قدرت جنسی زیاد نرها یا ماده‌ها معمولاً معرف قدرت زیستی عمومی زیاد، شرایط تغذیه‌ای خوب و کنش متعادل همه روندهای فیزیولوژیک است و به‌دنبال آن موفقیت‌های تولیدمثلی حاصل قدرت زیستی عمومی است. برعکس این روند، سایر موفقیت‌ها منوط به خواص ویژه‌ای است که ارتباط اندکی با قدرت زیستی عمومی دارد، در این صورت پراکندگی یک ژنوتیپ در جمعیت نه به‌خاطر برتری کلی آن بلکه بدان خاطر است که مولد بهتری نیز می‌تواند باشد (درویش، ۱۳۸۹).

پوست دوزیستان در معرض دگرگونی‌های سازشی مختلفی قرار گرفته است و از لحاظ تنفسی و حفاظت بدن دارای اهمیت زیادی است. پوست به‌وسیله غدد موکوسی فراوانی که دارد نرم و مرطوب نگه داشته می‌شود، در دوزیستان بی‌دم ترشح موکوس باعث لزجی پوست بدن می‌گردد. (Lind & Johanson., 2007). بیش‌تر دوزیستان علاوه بر غدد موکوسی دارای غدد دانه‌دار نیز هستند اگرچه هر دو نوع غده از بسیاری لحاظ کاملاً شبیه یکدیگرند، اما غدد دانه‌دار مواد مضر یا سمی ترشح می‌کنند که باعث حفاظت جانور در مقابل دشمن می‌گردد، غده‌های مزبور به‌صورت کیسه‌های کروی هستند که دیواره آن‌ها خاصیت ترش‌حی دارد. (ابراهیم نژاد، ۱۳۸۵) مقایسه نتایج بررسی پوست سطح پشتی و شکمی

پژوهش حاضر با مناطق دیگر کشور نشان داد، از نظر هیستولوژیکی اختلافی وجود نداشت. (پاپهن و همکاران، ۱۳۹۵) در حالیکه تفاوت‌های مشاهده شده مربوط به ویژگی‌های هیستومتریکی بود که بار دیگر اثرات عوامل محیطی و اکولوژیکی را نشان می‌دهد. باتوجه به پژوهش حاضر به نظر می‌رسد بر اساس تنوع شرایط محیطی، فنوتیپ‌های مختلف بتوانند با شرایط محیطی سازش یابند و به دنبال آن میزان ارزش‌گزینشی یک فنوتیپ توسط تعداد محیط‌های فیزیک و بیوتیک که فنوتیپ مفروض می‌تواند در آن زندگی کند، تعیین می‌شود. ژنی مفروض در بعضی شرایط باعث دخالت منفی در ارزش‌سازی می‌شود. هرگاه در شرایط دیگر، دخالت آن مثبت باشد نگهداری می‌شود همین ظرفیت چندگانه، شانس نگهداری یک ژن را در گنجینه ژنی افزایش می‌دهد یا حداقل، حذف آن را به تأخیر می‌اندازد (درویش، ۱۳۸۹).

مطالعات کروموزومی بر روی دوزیستان در سال ۱۹۳۲ بر روی گونه‌هایی از وزغ با استفاده از بافتهای میتوزی آغاز شد. در تحقیقات مشابه بر روی گونه *Pelophylax ridibundus* رایج‌ترین عدد کروموزومی گزارش شده  $2n=26$  بوده است به علاوه وجود کروموزوم‌های متاسانتریک و ساب متاسانتریک در مطالعات مشابه تایید شده است. از جمله مطالعه‌ای که بر روی قورباغه مردابی اهواز و شهرکرد صورت گرفت (Jazayeri et al., 2012) و مطالعه‌ای که در عربستان سعودی انجام شد (Al-Shehri & Alsaleh., 2005).

مشاهده تنوع عدد کروموزومی در این گونه، در مناطق مختلف اکولوژیکی جهان نیز می‌تواند بیانگر تاثیر شرایط اکولوژیکی به ویژه اقلیم، رطوبت و دمای زیستگاه بر روی گامت‌ها و نیز تخم باشد که نتایجی از قبیل کاهش و افزایش کروموزوم‌ها، پلی پلوئیدی و موتاسیون را خواهد داشت. به طور کلی در جانورانی با لقاح خارجی شرایط اکولوژیکی زیستگاه عاملی بسیار مهم و تعیین کننده در وضعیت ژنتیکی گامت‌ها و تخم لقاح یافته خواهد بود. این امر به خوبی در جمعیت‌های گونه مشابه که ساکن عرض‌های جغرافیایی متفاوت هستند رویت می‌شود به طوری که در چنین گروههایی به وضوح شواهدی دال بر وقوع پدیده‌ی گونه زایی مشاهده می‌گردد. در این مطالعه در کمتر از ۳٪ از پلاک‌های متافازی، وضعیت پلی پلوئیدی مشاهده گردید. وقوع پدیده فوق در اغلب دوزیستان بی‌دم تایید شده است که می‌تواند موجب وقوع تنوع عدد کروموزومی در جمعیت گونه‌ای و نهایتاً بستر ساز وقوع گونه زایی شود. (بلوچ و کمی، ۱۳۸۵)

## منابع

- ابراهیم نژاد، م. (۱۳۸۵) زیست‌شناسی مهره‌داران. مرکز نشر دانشگاهی. چاپ دوم. صقحه ۱۷۳
- ایافت، ا.، دیویس، ج.، کلاریج، گ. (۱۳۸۹) فواید تالابها. انتشارات دایره سبز. چاپ دوم. صفحات ۹۱ و ۹۰
- بلوچ، م.، کمی، ح. (۱۳۸۵) دوزیستان ایران. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۱۵۳ و ۱۵۵

پاپهن، ف.، اسمعیلیان، ا.، دژمان، م. (۱۳۹۵) بررسی مورفولوژیک، مورفومتريک، هیستولوژیک و هیستومتريک قورباغه مردابی *Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771، در شهر اهواز (منطقه گرم) و مقایسه آن با شهر شهرکرد (منطقه سرد).

فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری. سال هشتم. شماره ۳

پناهی، ا.، جوادیان، ب.، غلامزاده، م.، کیانی، م. (۱۳۹۱) زمین گردشگری شهرستان الشتر (شمال لرستان). اولین همایش ملی گردشگری و طبیعت گردی ایران زمین

درویش، ج. (۱۳۸۹) جمعیت ها، گونه ها و تکامل. ویرایش جدید. مایر. ا.، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. صفحات ۳۲۹ و ۳۳۴

محمودی، ش.، سرهنگ زاده، ج.، شیخی نیلانویی، ص.، نجفی جویباری، ع. (۱۳۹۲) بررسی غنای گونه ای خزندگان و دوزیستان منطقه حفاظت شده اشترانکوه. کنفرانس ملی مخاطرات محیط زیست. لرستان. خرم آباد

میرزاجانی، ع.، صیاد، ر.، حیدری، ع. (۱۳۸۳) بررسی تغذیه لارو و بالغین قورباغه *Rana ridibunda* و تولید مثل آن در تالاب انزلی. مجله زیست شناسی ایران. شماره ۲

مولوی، ف.، پاشایی راد، ش.، کمی، ح. ق.، یزدان پناهی، م. (۱۳۹۲) مطالعه فونستیکی قورباغه ها در ایران. مجله علمی- پژوهشی زیست شناسی جانوری تجربی. شماره دوم. صفحات ۱۷-۲۲

مینایی، ج.، بهروزی راد، ب. (۱۳۹۲) معرفی فون (خزندگان، دوزستان و ماهی ها) در منطقه کوه خان کماندار استان لرستان. کنفرانس ملی مخاطرات محیط زیست زاگرس. لرستان. خرم آباد

نجیب زاده، م.، درویش، ج.، کمی، ح.، قاسم زاده، ف. (۱۳۹۳) مقایسه زیستگاه، رفتار جفت گیری و تخم ریزی سه گونه از دوزیستان بی دم قورباغه مردابی *Rana*، قورباغه درختی *Hyla savignyi* و وزغ سبز *Bufo variabilis* در استان لرستان. مجله پژوهشی (مجله زیست شناسی ایران) جلد ۲۷. شماره ۲.

Al- Shehri, A. H., Al-Saleh, A. A. (2005). Karyotype of Amphibian in Saudi Arabia the karyotype of *Rana ridibunda*. Journal of biological sciences. 5(3): 335-338

Azevedo, R. A., DeJesus Santana, A. S., DeBrito-Gitirana, L. (2006). Dermal collagen organization in *Bufo ictericus* and in *Rana catesbeiana* integument (Anuran, Amphibian) under the evaluation of laser confocal microscopy. Journal of Micron. 37(3): 223-228

Harley, C. D., Pankey, M. S., Wares, J. P., Grosberg, R. K., Wonham, M. J. (2006). Color polymorphism and genetic structure in the sea star *Pisaster ochraceus*. The Biological Bulletin. 211(3): 248-262

Hoffman, E. A., Blouin, M. S. (2000). A review of color and pattern polymorphisms in anurans. Biological Journal of the Linnaean Society. 70(4)

Ishchenko, V. G. (2014). Ecological mechanisms determining stability of color polymorphism in the population of more frogs, *Rana arvalis* Nilss. Russian Journal of Herpetology. 1(2): 117-120

Jazayeri, A., Papan, F., Ismaili, A. (2012). Karyological Study of Marsh Frogs (*Rana Ridibunda*). Life Science Journal: 3(9): 864-866

- Lind, M., Johansson, F. (2007). The degree of adaptive phenotypic plasticity is correlated with the spatial environmental heterogeneity experienced by island populations of *Rana temporaria*. *Journal of evolutionary biology*. 20(4):128-97
- Lukanov, SP., Tzankov, N.D., Simeonovska-Nikolova, D.M. (2014). Effects of Environmental Factors on Mating Call Characteristics of the Marsh Frog *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibia: Ranidae) in Bulgaria. *Journal of Actazoológica Bulgarica*: 66(2): 209-16
- Morrison, C., Hero, J.M. (2003). Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*: 72(2): 270-9
- Mohammadi, Z., Khajeh, A., Ghorbani, F., Kami, H. G. (2015). A Biosystematic study of new records of the marsh frog *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibian: Ranidae) from the southeast of Iran, *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*. 8(2): 178-182
- Pesarakloo, A., Rastegar-Pouyani, E., Rastegar-Pouyani, N., Kami, H., Najibzadeh, M., Khosravani A. (2017), The first taxonomic reevaluation of the Iranian water frogs of the genus *Pelophylax* (Anura: Ranidae) using sequences of the mitochondrial genome, *Mitochondrial DNA Part A*, 28(3): 392-8
- Pesarakloo, A., Rastegar-pouyani, N., Rastegar-pouyani, E., Najibzae, M., Gharzi, A., Shayestefar, A. (2015). Interactive effects of temperature and food availability on the Marsh Frog (*Pelophylax ridibundus*) tadpoles in Western Iran. *Asian Journal of Conservation Biology*. 4(2): 130-135
- Shaffer, H.B., Gidis, M., McCartney-Melstad, E., Neal, K.M., Oyamaguchi, H.M., Tellez, M. (2015). Conservation genetics and genomics of amphibians and reptiles. *Journal of Animal Biosciences*: 3(ch\_1): 113-38
- Tennessen, J.B., Parks, S.E., Langkilde, T. (2014). Traffic noise causes physiological stress and impairs breeding migration behaviour in frogs. *Journal of Conservation physiology*: 2(1): cou032.
- Tsuji, H. (2004). Reproductive ecology and mating success of male *Limnodynastes kuhlii*. A fanged frog from Taiwan. *Herpetological*, 60(2): 155-67

**Biosystematic study of marsh Frog (*Pelophylax ridibundus*) (Pallas, 1771)  
in wetland habitats of Aleshtar (Lorestan province of Iran)**

A. Jazayeri<sup>1\*</sup>, F. Papahn<sup>2</sup>, A. Hatami<sup>3</sup>

Received:2016.8.15

Accepted:2018.6.8

**Abstract**

*Pelophylax ridibundus* is the only species of *Pelophylax*, distributed in almost all parts of Iran. The present study was carried out in 3 wetland stations of Aleshtar ( Lorestan province) with the aim of studying morphology, morphometric , characteristics of reproductive, karyology and histology of skin,in 160 samples. A total of 3 morph were identified. In the analysis of traits, the two sexes did not differ significantly in terms of weight and thigh diameter, while they differed in total length traits. The highest reproductive index was measured in both sexes in spring. In addition the maximal weight for males was 92.9 gr and for females. The chromosomal number of the species was  $2n= 26$  in the studied cases, with the sex heteromorphy chromosomes. The structure of the skin at all site was similar and consisted of two layers of epidermis and dermal. in the dermal sponge layer in both sexes, the mucus and granular glands were observe, and the abdominal skin was differed by the thinning of collagen fibers from the dorsal skin.

**Keywords:** Animal Biosystematics, Anura, marsh Frog, wetland, Lorestan

---

1-Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

\*(corresponding Author: jazayeriashraf@ymail.com)

2-Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Ahvaz, Iran

3-Msc, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.