DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹

دوشکلی در اندازه بدن و سلول‌های خون قورباغه درختی خاورمیانه *Hyla savignyi* (Amphibia: Hylidae) در استان کهگیلویه و بویراحمد، جنوب ایران

بهنام پوراسلام فر[۱]، بهزاد فتحی‌نیا[۱]*، آریا شفائی‌پور[۱] و حسین فراست[۲]

[۱] ایران، یاسوج، دانشگاه یاسوج، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

[۲] ایران، تهران، دانشگاه فرهنگیان، گروه آموزش زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۶

چکیده

در این مطالعه، در بازه زمانی اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۰ تا آبان‌ماه ۱۴۰۱، ۶۷ قورباغه درختی بالغ از دو موقعیت شالیزار و دشت پونه در منطقه لوداب، جهت بررسی ریخت‌شناسی و خون‌شناسی مورد مطالعه قرار گرفتند. برای بررسی ریخت‌شناسی جنس‌های نر و ماده از ۱۱ صفت متریک (اندازشی) استفاده شد. اندازه‌گیری و ثبت این صفات بوسیله‌ی کولیس دیجیتال با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر انجام شد. نمونه‌های خون از ورید شکمی جمع‌آوری شد. گسترش‌های خون در دمای اتاق خشک گردید، با متانول فیکس شدند و توسط رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شد. گسترش‌ها توسط میکروسکوپ نوری با استفاده از بزرگنمایی ۱۰۰ و روغن ایمرسیون به‌منظور بررسی و اندازه‌گیری سلول‌های خونی (گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و ترومبوسیت) مورد آزمایش قرار گرفتند. طبق نتایج حاصل از این مطالعه، گروه‌های نر و ماده در ۵ صفت از ۱۱ صفت مورد مطالعه، از یکدیگر جدا هستند ($p < 0.05$). همچنین صفات متریک گلبول‌های قرمز در قورباغه‌های ماده نیز در هر شش ویژگی از قورباغه‌های نر بیشتر است ($p < 0.05$). تمام صفات متریک مورد مطالعه در لنفوسیت‌ها نیز بین دو جنس متفاوت است ($p < 0.05$). نتایج نشانگر آن است که بین جنس‌های نر و ماده اختلاف‌های معناداری در صفات ریخت‌شناسی سلول‌های خونی وجود دارد و عوامل محیطی و جنسیتی می‌توانند در تعیین این اختلاف‌ها نقش مهمی داشته باشند.

واژه های کلیدی: گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، شالیزار، دشت پونه، خون‌شناسی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: bfathinia@gmail.com

مقدمه

دوزیستان قدمتی بیش از ۳۰۰ میلیون سال دارند و تا به امروز ۸۵۰۰ گونه از آن‌ها توصیف‌شده است (۳). قورباغه‌های درختی کوچکترین قورباغه‌های ایران هستند (۳۶)، که اخیراً براساس برخی مطالعات از جمله آنالیز صوتی و بررسی داده‌های مولکولی به دو گونه *Hyla savignyi* و *Hyla orientalis* تفکیک شده‌اند (۲۳). *Hyla savignyi* عمدتاً در نیمه غربی ایران در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی، کردستان، کرمانشاه، ایلام، همدان، خوزستان، فارس و مرکزی از ارتفاع ۳۵۰ الی ۱۵۰۰ متر از سطح دریا دیده می‌شود (۸).

دوشکلی جنسی به تفاوت در اندازه بدن یا ابعاد افراد بالغ گفته می‌شود که در جانوران بی‌مهره و مهره‌دار اثبات گردیده است. امکان اثرگذاری دوشکلی جنسی بر زیستگاه و رفتار حیوانات، بر اهمیت مطالعه‌ی آن برای درک ویژگی‌های زیستی و روش جفت‌گیری می‌افزاید. دو شکلی جنسی در قورباغه‌ها در خیلی از صفات مورفولوژیکی نظیر اندازه بدن، شکل و رنگ‌آمیزی مشهود است (۲۶). یک خصوصیت آشکار که قورباغه‌ها را از سمندرها و سیسیلیان‌ها متمایز می‌کند، دستگاه صوتی در جنس نر می‌باشد (۱۷). در بسیاری از موارد، دلیل تکامل دوشکلی جنسی درگیری افراد یک جنس (عموماً نرها) بر سر افراد جنس مخالف می‌باشد،

DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹

که این درگیری‌ها میان افراد یک جنس، موفقیت تولیدمثلی را مشخص می‌نماید و موجب انتخاب درون‌جنسی می‌گردد. قابلیت رقابتی نرها مزیتی انتخابی می‌باشد. به دلیل اینکه اندازه بزرگ‌تر نشان‌دهنده موفقیت نر در رقابت با سایر نرها می‌باشد، انتخاب درون‌جنسی قادر است موجب رشد ابعاد بدن در نرها گردد و موجب دوشکلی جنسی با نرهای بزرگ‌تر از ماده‌ها گردد. در سایر موارد، امکان دارد ماده‌ها از لحاظ اندازه یا دیگر صفات ظاهری، نرها را انتخاب نمایند و این انتخاب ماده نهایتاً منجر به اندازه بزرگ‌تر در جنس نر گردد. با این وجود انتخاب جنسی تنها پارامتر تعیین‌کننده اندازه بدن در هر جنس نیست، مثلاً اندازه بزرگ بدن در افراد ماده به دلیل ارتباط آن با باروری در بسیاری از گونه‌ها انتخاب می‌شود. تفاوت اندازه میان دو جنس ممکن است به دلیل تفاوت در مسیر رشد، سن بلوغ جنسی و الگوهای مصرف انرژی باشد. تفاوت در اندازه بین نرها و ماده‌ها بیشتر نمایانگر ترکیبی از اثرات انتخاب جنسی و انتخاب طبیعی می‌باشد. افراد ماده در نزدیک به ۹۰ درصد از گونه‌های تحت مطالعه دوزیستان بی‌دم بزرگ‌تر از افراد نر می‌باشند (۴۶).

ارزیابی ریخت‌شناسی خون دارای ارزش بالینی بالقوه زیادی در دوزیستان است (۲۲). صفات و پارامترهای ریخت‌شناسی خون شاخص‌های قابل توجهی از وضعیت فیزیولوژیکی و سلامتی حیوانات هستند (۷، ۴۸). جانوران پر سلولی برای انتقال ذرات غذا و گازهای تنفسی به سلول‌های بافتی و انتقال مواد زائد از سلول‌ها به اندام‌های دفعی به سیستم گردش خون نیاز دارند. حفظ ترکیب و سطح ثابت خون که مایع در گردش خون مهره‌داران است، برای ادامه زندگی بسیار اهمیت دارد (۵). در دهه اخیر، روند رو به رشدی در مطالعات خون‌شناسی دوزیستان بی‌دم وجود داشته است (۵، ۱۰، ۱۶، ۴۰). سلول‌های خونی دربرگیرنده اریتروسیت (گلبول‌های قرمز خون)، ترومبوسیت و هالوکوسیت (گلبول‌های سفید خون) هستند (۳۲). گلبول‌های قرمز خون تا حدی بیضی‌شکل (۶) هسته دار و از دو طرف فرورفته هستند (۴۳). در میان گونه‌های دوزیستان، اندازه گلبول‌های قرمز تغییرات قابل‌توجهی از خود نشان می‌دهند، اما گلبول‌های قرمز آن‌ها عموماً بزرگ‌تر از پرندگان و خزندگان هستند. بزرگ‌ترین اندازه گلبول قرمز دوزیستان در *Amphiuma tridactylum* با اندازه ۷۰ × ۵۰ میکرومتر گزارش شده است (۴۵). دوزیستان معمولاً مقادیر سلول‌های قرمز خون یا هماتوکریت (Hematocrit) کمتری نسبت به پرندگان و خزندگان دارند (۱۱، ۱۳، ۲۱، ۴۹). گلبول‌های قرمز نابالغ نسبت به گلبول‌های قرمز بالغ گردتر و معمولاً کوچک‌تر هستند (۲، ۱۲، ۲۱، ۴۷). هسته گلبول‌های قرمز نابالغ معمولاً در مقایسه با گلبول‌های قرمز بالغ دارای الگوهای کروماتین بازتری هستند. افزایش تعداد گلبول‌های قرمز نابالغ شواهدی از پاسخ احیاکننده در دوزیستان کم خون دارای هموپارازیت (مانند هپاتوژن و هموگرگارین‌ها) و دارای پلی‌سیتمی ثانویه به دلیل کاهش اکسیژن، می‌باشد. با این‌حال، گهگاهی گلبول‌های قرمز نابالغ در گسترش خون دوزیستان سالم یافت می‌شود (۲۴، ۴۹).

گرانولوسیت‌های مشاهده شده در دوزیستان شامل نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و بازوفیل‌ها هستند. نوتروفیل‌های دوزیستان که در برخی گونه‌ها هتروفیل نامیده می‌شوند، گرانولوسیت‌هایی با گرانول‌های حاوی میلوپراکسیداز می‌باشند. در گونه‌هایی که این سلول‌ها دارای دانه‌های قرمز نارنجی قابل مشاهده‌اند، هتروفیل نامیده می‌شوند (۲۱). لنفوسیت‌های دوزیستان، هسته‌هایی به شکل گرد تا گرد نامنظم یا تورفته دارند. میزان سیتوپلاسم بازوفیل در این سلول‌ها کم است و نسبت هسته به سیتوپلاسم در آن‌ها بسیار بالاست (۱۲). مونوسیت‌های دوزیستان از نظر ظاهری مشابه آن‌هایی هستند که در گونه‌های دیگر دیده می‌شوند. مونوسیت‌ها گلبول‌های سفید بزرگ با هسته متفاوت (از گرد تا بیضی، دولوبی، سه لوبی یا آمیبوئید) و سیتوپلاسم بازوفیل هستند که گاهی اوقات حاوی واکوئل‌های مجزا می‌باشند (۲، ۱۲، ۲۱، ۴۷). ائوزینوفیل‌های دوزیستان گرانول‌های سیتوپلاسمی گرد با رنگ قرمز-نارنجی روشن را در رنگ‌آمیزی رایت-گیمسا نشان می‌دهند. ائوزینوفیل‌ها ممکن است تنوع کمتری نسبت به نوتروفیل‌ها/هتروفیل‌ها نشان دهند و با وجود اینکه نابالغ نیستند، حاوی هسته‌های دولوبی یا گرد می‌باشند. بازوفیل‌های دوزیستان در گونه‌های آب‌زی به وفور یافت می‌شوند و ممکن است هسته‌ای تقسیم شده یا گرد تا بیضوی داشته باشند. گرانول‌های بازوفیل به طور کلاسیک بصورت

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹ DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919

گرانول‌های گرد و بنفش یا بازوفیل تیره در گسترش‌های خونی دیده می‌شوند (۱۲). با توجه به اینکه هنوز خون‌شناسی قورباغه درختی خاورمیانه (*Hyla savignyi*) در مناطق جنوبی ایران مورد بررسی قرار نگرفته است، در مطالعه حاضر برخی از پارامترهای ریخت‌شناسی قورباغه درختی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روشها

نمونه‌ها در فصل‌های بهار و تابستان در دو مکان شالیزار و دشت پونه، در منطقه لوداب واقع در استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری شدند. در مجموع ۶۷ قورباغه جمع‌آوری شد که ۲۱ عدد از شالیزار (N ″۵۸ ′۵۵ °۳۰ و E ″۲۱ ′۴۲ °۵۰) و ۴۶ عدد از دشت پونه (N ″۵۰ ′۵۳ °۳۰ و E ″۳۷ ′۵۴ °۵۰) بود. تعداد ۱۱ صفت ریختی در قورباغه درختی توسط کولیس دیجیتال با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (جدول ۱). نمونه خون از ورید شکمی قورباغه بوسیله سرنگ انسولین و بمیزان حدوداً ۰/۱ میلی‌لیتر گرفته شد. در هنگام خون‌گیری تلاش شد به نمونه‌های قورباغه درختی آسیبی نرسد و پس از خون‌گیری در محل نمونه‌گیری آزاد شدند. گسترش خون بمدت تقریبی ۱۰ دقیقه در دمای محیط خشک و بمدت ۴ دقیقه با متانول مطلق فیکس شد. رنگ‌آمیزی لام‌ها با رنگ گیمسا بمدت ۲۰ دقیقه صورت گرفت، سپس با آب شستشو و در دمای اتاق خشک شدند. بررسی گسترش‌ها بوسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ به کمک لامل و روغن ایمرسیون صورت گرفت. بطور یکسان ۱۰ میدان برای هر نمونه بررسی شد. سپس شاخص‌های طول، عرض و مساحت برای هر کدام از سلول‌های خونی موجود در هر میدان دید اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری طول و عرض از عدسی مدرج، برای محاسبه‌ی مساحت گلبول‌های قرمز و هسته آن‌ها از فرمول $EL\times EW\times\pi/4$ و برای گلبول‌های سفید (لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، بازوفیل‌ها) از فرمول $A=\pi r^2$ استفاده شد. در این فرمول‌ها r برابر با شعاع گلبول‌های خون، EL معادل طول اریتروسیت و EW معادل عرض اریتروسیت می‌باشد (۱۴، ۱۹، ۲۷). عکس‌ها توسط گوشی موبایل سامسونگ مدل Galaxy M51 ثبت شدند. برای آزمون نرمال بودن داده‌های کمتر از ۲۰۰۰ از آزمون Shapiro-Wilk و برای داده‌های بیشتر از ۲۰۰۰ از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. اگر مقدار *p* برای این دو آزمون کمتر از ۰/۰۵ باشد، داده‌ها دارای توزیع غیرنرمال هستند. برای بررسی و مقایسه سلول‌های خون و صفات ریخت‌شناسی بین دو جنس نر و ماده، اگر توزیع داده‌ها نرمال باشد از آزمون T مستقل، در غیر این صورت از آزمون Mann- U Whiteney استفاده می‌شود. جهت بررسی همبستگی اندازه مساحت گلبول‌های قرمز با اندازه SVL (اندازه نمونه یا طول پوزه تا مخرج) در نمونه‌های قورباغه درختی از ضریب همبستگی اسپیرمن استفاده شد. انجام محاسبات آماری در نرم‌افزارهای Excel 2016 و SPSS 24 صورت گرفت.

جدول ۱- صفات ریختی اندازه‌گیری شده در قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi* با استفاده از کولیس دیجیتال با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر.

ردیف	صفت و تعریف آن	معادل انگلیسی	علامت اختصاری
۱	بزرگ‌ترین اندازه‌ی قطر پرده صماخ	Tympanum diameter	TD
۲	اندازه چشم	Eye diameter	ED
۳	فاصله بین دو سوراخ بینی	Nostril-nostril distance	NND
۴	طول پا از شکاف کلواک تا بلندترین انگشت	Hind-limb length	HLL
۵	طول دست از زیر بغل تا نوک بلندترین انگشت	Fore-limb length	FLL
۶	عرض شکم	Belly width	BW
۷	طول پوزه تا مخرج، از نوک پوزه تا مرکزشکاف کلواک	Snout-vent length	SVL
۸	فاصله بین دو اندام حرکتی از زیربغل تا کشاله ران	Axin-groin length	AGL
۹	فاصله بین دو چشم	Eye-eye length	EEL
۱۰	اندازه سر، از نوک پوزه تا مرز جلویی پرده صماخ	Head length	HL
۱۱	عرض سر، پهن‌ترین قسمت سر	Head width	HW

DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹

نتایج

الف) ریخت‌شناسی

تعداد ۶۷ قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi*، (۴۴ نر و ۲۳ ماده) از لحاظ ۱۱ صفت ریختی مورد بررسی قرار گرفت. مساحت بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین SVL (طول پوزه تا مخرج) بترتیب ۴۶/۸۲ و ۳۱/۱۴ میلی‌متر و دامنه‌ی تغییرات در این صفت برابر ۱۵/۶۸ میلی‌متر بود. همه‌ی صفات اندازه‌گیری شده به استثنای HL، EEL، NND و HW دارای پراکنش غیرنرمال بودند (Shapiro-Wilk test; $p > 0.05$).

صفت SVL در بین گروه‌های ماده (۴/۳۷ ± ۳۸/۱۸ میلی‌متر) و نر (۲/۶۱ ± ۳۶/۴۳ میلی‌متر) تفاوت معناداری ندارد (U-test; $p > 0.05$). کم‌ترین و بیش‌ترین رقم اندازه‌گیری شده برای SVL در نرها بترتیب ۳۱/۱۴ و ۴۲/۰۸ میلی‌متر و برای ماده‌ها ۳۲/۵۷ و ۴۶/۸۲ میلی‌متر می‌باشد. از ۱۱ صفت ریختی، پنج مورد بین دو جنس نر و ماده تفاوت معنی‌دار دارند (جدول ۲؛ $p < 0.05$).

جدول ۲- آمار توصیفی صفات ریخت‌شناختی بهمراه نتایج آزمون معنی‌داری صفات بررسی شده در قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi*، بین دو جنس نر و ماده در مجموع دو منطقه شالیزار و دشت پونه. اختصارات: Sex = جنسیت (۱ = نر و ۲ = ماده)، No. = تعداد، SD = انحراف معیار، Min = حداقل، Max = حداکثر، Sig. = معنی‌داری. ارقام معنی‌دار بصورت برجسته ایتالیک مشخص شده‌اند.

Characters	Sex	No.	Mean±SD	Min	Max	Range	Sig.	Test used
TD	1	44	2.12 ± 0.35	1.60	3.37	1.77	0.895	U-test
	2	23	2.12 ± 0.31	1.67	2.85	1.18		
ED	1	44	3.52 ± 0.61	2.63	4.85	2.22	0.895	U-test
	2	23	3.36 ± 0.35	2.47	4.15	1.68		
NND	1	44	2.99 ± 0.45	2.02	3.86	1.84	0.355	T-test
	2	23	3.09 ± 0.34	2.53	3.86	1.33		
HLL	1	44	55.04 ± 4.14	42.51	63.82	21.31	***0.004***	U-test
	2	23	58.80 ± 6.37	41.03	69.47	28.44		
FLL	1	44	23.73 ± 3.04	12.48	29.62	17.14	***0.022***	U-test
	2	23	25.47 ± 2.98	17.50	29.94	12.44		
BW	1	44	19.88 ± 2.54	10.60	25.38	14.78	***0.008***	U-test
	2	23	21.98 ± 2.75	17.43	26.54	9.11		
SVL	1	44	36.43 ± 2.61	31.14	42.08	10.94	0.256	U-test
	2	23	38.18 ± 4.37	32.57	46.82	14.25		
AGL	1	44	26.22 ± 2.77	19.26	31.97	12.71	0.104	U-test
	2	23	27.08 ± 2.38	23.01	32.88	9.87		
EEL	1	44	10.44 ± 0.68	9.14	12.08	2.94	0.097	T-test
	2	23	10.75 ± 0.82	9.13	12.53	3.40		
HL	1	44	14.14 ± 1.04	10.82	15.99	5.17	***0.045***	T-test
	2	23	14.77 ± 1.44	11.23	17.33	6.10		
HW	1	44	12.13 ± 0.91	9.45	14.12	4.67	***0.012***	T-test
	2	23	12.81 ± 1.21	10.46	15.24	4.78		

اختصارات صفات ریختی: TD، قطر پرده صماخ؛ ED، قطر چشم؛ NND، فاصله دو سوراخ بینی؛ HLL، طول پا؛ FLL، طول دست؛ BW، عرض شکم؛ SVL، طول پوزه تا مخرج؛ AGL، فاصله زیر بغل تا کشاله ران؛ EEL، فاصله بین دو پلک چشم؛ HL، طول سر؛ HW، عرض سر.

ب) خون‌شناسی

گلبول‌های قرمز: در این مطالعه تعداد ۱۵۴۲ گلبول قرمز خون (شکل ۱) اندازه‌گیری شد. طول گلبول قرمز از ۱۵-۲ میکرومتر (میانگین ۸/۱۶)، عرض گلبول قرمز از ۱۰-۲ میکرومتر (میانگین ۵/۳۹)، طول هسته گلبول قرمز از ۹-۱ میکرومتر (میانگین ۳/۷۵) و عرض گلبول قرمز از ۷-۰/۵۴ میکرومتر (میانگین ۲/۰۶) متغیر بود. هر چهار صفت توزیع غیرنرمال را نشان دادند (Shapiro-Wilk test; $p = 0.0001$). در مجموع دو جمعیت، قورباغه‌های ماده مقادیر بیشتری برای چهار صفت گلبول قرمز و همچنین مساحت سلول و هسته نسبت به قورباغه نر دارند (U-test; $p = 0.0001$؛ جدول ۳). اندازه مساحت گلبول‌های قرمز با اندازه افراد در هرکدام از دو گروه نر ($r = -0.03$, $p = 0.88$) و ماده ($r = 0.45$, $p = 0.84$) و همچنین در مجموع کل افراد دو گروه ($r = 0.08$, $p = 0.59$)، همبستگی معنی‌داری نشان نمی‌دهد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹ DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919

لنفوسیت‌ها: تمام شش صفت مربوط به لنفوسیت‌ها (شکل ۱) توزیع غیرنرمال دارند (Shapiro-Wilk test; $p = 0.0001$). میانگین اندازه مساحت لنفوسیت‌ها در مجموع هر دو جمعیت 18.87 ± 24.37 میکرومتر مربع است که از ۳/۲۰ میکرومتر مربع در جنس نر تا ۱۳۸/۸۶ میکرومتر مربع در جنس ماده متغیر است. میانگین اندازه مساحت هسته لنفوسیت ۱۲/۹۹± ۱۶/۰۴ است که از ۱/۳۴ تا ۹۷/۳۷ میکرومتر مربع متغیر است (جدول ۴). هر شش صفت مورد مطالعه بین دو جنس تفاوت معناداری دارند، بطوریکه ارقام این صفات در ماده‌ها بیشتر از نرها است (U test; $p =$ 0.0001؛ جدول ۴).

جدول ۳- آمار توصیفی صفات ریخت‌شناختی گلبول‌های قرمز خون بهمراه نتایج آزمون معنی‌داری صفات بررسی شده در قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi*، بین دو جنس نر وماده در مجموع دو منطقه شالیزار و دشت پونه. واحد اندازه‌گیری طول و عرض µm و مساحت μm^2 است. ارقام معنی‌دار بصورت برجسته ایتالیک مشخص شده‌اند.

Characters	Sex	No.	Mean±SD	Min	Max	Range	Sig.	Test used
RBC Length	1	879	7.10 ± 2.71	2.72	13.80	11.08	***0.0001***	U-test
	2	663	9.56 ± 2.60	2.81	15.27	12.46		
	Total	1542	8.16 ± 2.93	2.72	15.27	12.55		
RBC Width	1	879	4.72 ± 1.82	2.15	10.35	8.20	***0.0001***	U-test
	2	663	6.29 ± 1.68	2.68	10.07	7.39		
	Total	1542	5.39 ± 1.93	2.15	10.35	8.20		
RBC.N.Length	1	879	3.27 ± 1.31	1.46	8.11	6.65	***0.0001***	U-test
	2	663	4.39 ± 1.28	1.90	9.92	8.02		
	Total	1542	3.75 ± 1.41	1.46	9.92	8.46		
RBC.N.Width	1	879	1.79 ± 0.76	0.54	5.63	5.09	***0.0001***	U-test
	2	663	2.43 ± 0.85	0.70	7.57	6.87		
	Total	1542	2.06 ± 0.86	0.54	7.57	7.03		
RBC.S.	1	879	38.17 ± 29.47	6.76	129.26	122.50	***0.0001***	U-test
	2	663	64.00 ± 28.16	7.54	118.82	111.28		
	Total	1542	49.27 ± 31.60	6.76	129.26	122.5		
R.N.S.	1	879	6.71 ± 5.60	1.25	45.63	44.38	***0.0001***	U-test
	2	663	11.57 ± 7.00	1.59	68.29	66.70		
	Total	1542	8.79 ± 6.68	1.25	68.29	67.04		

اختصارات: No. = تعداد، SD = انحراف معیار، Min = حداقل، Max = حداکثر، Sig. = معنی‌داری، RBC.N.Length = طول هسته گلبول قرمز، RBC.N.Width = عرض هسته گلبول قرمز، R.N.S. = اندازه مساحت هسته گلبول قرمز، RBC.S. = اندازه مساحت گلبول قرمز، Sex = جنسیت (۱ = نر و ۲ = ماده).

جدول ۴- آمار توصیفی صفات ریخت‌شناختی لنفوسیت بهمراه نتایج آزمون معنی‌داری صفات بررسی شده بین دو گروه نر و ماده قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi*، در مجموع دو منطقه شالیزار و دشت پونه. واحد اندازه‌گیری طول و عرض µm و مساحت μm^2. ارقام معنی‌دار بصورت برجسته ایتالیک مشخص شده‌اند.

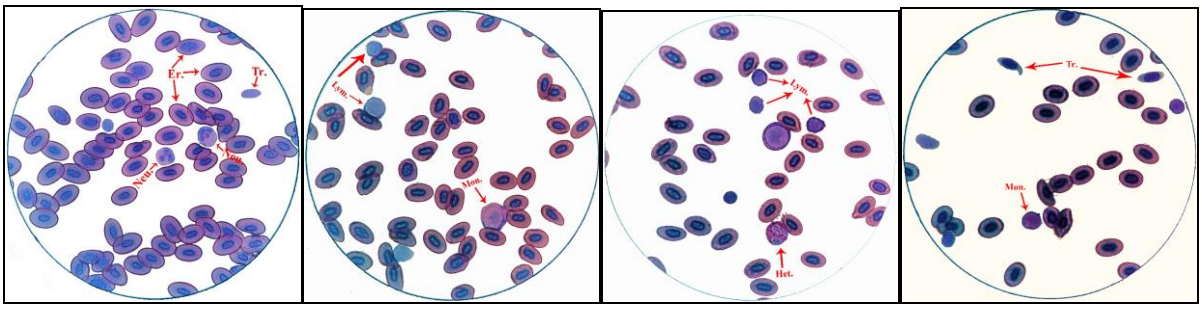
Characters	Sex	No.	Mean±SD	Min	Max	Range	Sig.	Test used
Lymphocyte Length	1	825	4.47 ± 1.84	1.89	13.96	12.07	***0.0001***	U-test
	2	650	5.69 ± 1.86	2.27	11.95	9.68		
	Total	1475	5.00 ± 1.94	1.89	13.96	12.07		
Lymphocyte Width	1	825	3.75 ± 1.56	1.43	11.33	9.90	***0.0001***	U-test
	2	650	4.89 ± 1.58	1.79	10.73	8.94		
	Total	1475	4.25 ± 1.66	1.43	11.33	9.90		
L.N.Length	1	825	3.66 ± 1.53	1.38	11.45	10.07	***0.0001***	U-test
	2	650	4.65 ± 1.58	1.60	9.93	8.33		
	Total	1475	4.09 ± 1.62	1.38	11.45	10.07		
L.N.Width	1	825	3.01 ± 1.31	0.73	9.66	8.93	***0.0001***	U-test
	2	650	3.90 ± 1.34	1.08	9.05	7.97		
	Total	1475	3.40 ± 1.39	0.73	9.66	8.93		
L.S.	1	825	19.50 ± 17.44	3.20	138.86	135.66	***0.0001***	U-test
	2	650	30.57 ± 18.84	4.30	115.56	111.26		
	Total	1475	24.37 ± 18.87	3.20	138.86	135.66		
L.N.S.	1	825	12.90 ± 12.06	1.34	97.37	96.03	***0.0001***	U-test
	2	650	20.04 ± 13.06	1.84	86.20	84.36		
	Total	1475	16.04 ± 12.99	1.34	97.37	96.03		

اختصارات: No. = تعداد، SD = انحراف معیار، Min = حداقل، Max = حداکثر، Sig. = معنی‌داری، L.N.Length = طول هسته لنفوسیت، L.N.Width = عرض هسته لنفوسیت، L.S. = اندازه مساحت لنفوسیت، L.N.S. = اندازه مساحت هسته لنفوسیت، Sex = جنسیت (۱ = نر و ۲ = ماده).

DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹

نوتروفیل‌ها: تمام صفات مورد بررسی در نوتروفیل‌ها (شکل ۱) توزیع غیرنرمال دارند (Shapiro- Wilk test; $p < 0.05$). مقادیر کوچک‌ترین و بزرگ‌ترین اندازه مساحت نوتروفیل‌ها بترتیب ۵/۰۰ و ۱۲۸/۱۶ میکرومتر مربع است. میانگین اندازه مساحت نوترفیل‌ها 30.77 ± 41.58 میکرومتر مربع می‌باشد. تمام صفات بین دو جنس تفاوت معنی‌داری دارد (U-test، $p < 0.05$؛ جدول ۵).

هتروفیل‌ها: تمام صفات مربوط به هتروفیل‌ها (شکل ۱) دارای توزیع غیرنرمال می‌باشند (Shapiro- Wilk test; $p < 0.05$). میانگین اندازه مساحت هتروفیل‌ها در مجموع دو جمعیت ۳۹/۹۴±۴۹/۵۹ میکرومتر مربع است که از ۶/۱۱ تا ۱۵۳/۳۱ میکرومتر مربع متغیر است. همه شش صفت مورد مطالعه بین قورباغه‌های نر و ماده تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهند (U-test, $p > 0.05$؛ جدول ۶).



شکل ۱- تصاویر مربوط به سلول‌های خونی در قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi* در منطقه مطالعاتی لوداب در استان کهگیلویه و بویراحمد. اختصارات: .Er = گلبول‌های قرمز؛ .Tr = ترومبوسیت؛ .Neu = نوتروفیل؛ .Lym = لنفوسیت؛ .Mon = مونوسیت؛ .Het = هتروسیت. الف) گلبول‌های قرمز (بزرگنمایی ۴۰x) با علامت پیکان سفید مشخص شده‌اند؛ ب) سلول‌های لنفوسیت بزرگ (علامت پیکان سفید روبه بالا) و لنفوسیت کوچک (علامت پیکان سفید رو به پائین) (بزرگنمایی ۴۰x)؛ سلول‌های نوتروفیل (بزرگنمایی ۴۰x)؛ سلول هتروفیل (بزرگنمایی ۴۰x)؛

جدول ۵- آمار توصیفی صفات ریخت‌شناختی نوتروفیل بهمراه نتایج آزمون معنی‌داری صفات بررسی شده در دو گروه نر و ماده قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi* در دو منطقه شالیزار و دشت پونه. واحد اندازه‌گیری طول و عرض µm و مساحت μm^2 است. ارقام معنی‌دار بصورت برجسته ایتالیک مشخص شده‌اند.

Characters	Sex	No.	Mean±SD	Min	Max	Range	Sig.	Test used
Neutrophil Length	1	238	5.37 ± 2.28	2.82	13.24	10.42	***0.0001***	U-test
	2	217	7.71 ± 2.27	3.17	12.11	8.94		
	Total	455	6.48 ±2.56	2.82	13.24	10.42		
Neutrophil Width	1	238	4.57 ± 1.92	1.53	10.25	8.72	***0.0001***	U-test
	2	217	6.68 ± 2.02	2.37	10.84	8.47		
	Total	455	5.57 ± 2.22	1.53	10.84	9.31		
N.N.Length	1	238	2.22 ±0.90	1.00	5.66	4.66	***0.0001***	U-test
	2	217	2.92 ± 1.04	0.93	6.03	5.10		
	Total	455	2.55 ± 1.03	0.93	6.03	5.10		
N.N.Width	1	238	1.31 ± 0.52	0.57	3.37	2.80	***0.0001***	U-test
	2	217	1.73 ± 0.63	0.50	4.43	3.93		
	Total	455	1.50 ± 0.60	0.50	4.43	3.93		
N.S.	1	238	28.69 ± 26.84	5.00	127.64	122.64	***0.0001***	U-test
	2	217	55.74 ± 28.57	9.39	128.16	118.77		
	Total	455	41.58 ± 30.77	5.00	128.16	123.16		
N.N.S.	1	238	3.30 ± 2.89	0.67	18.84	18.17	***0.0001***	U-test
	2	217	5.59 ± 3.54	0.47	22.51	22.04		
	Total	455	4.39 ± 3.41	0.47	22.51	22.04		

اختصارات: .No = تعداد، SD = انحراف معیار، Min = حداقل، Max = حداکثر، .Sig = معنی‌داری، N.N.Length = طول هسته نوتروفیل، N. N. Width = عرض هسته نوتروفیل، .N.S = اندازه مساحت نوتروفیل، .N.N.S = اندازه مساحت هسته نوتروفیل، Sex = جنسیت (۱ = نر و ۲ = ماده).

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹ DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919

جدول ۶- آمار توصیفی صفات ریخت‌شناختی هتروفیل بهمراه نتایج آزمون معنی‌داری صفات بررسی شده در در دو جنس نر و ماده قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi* در دو منطقه شالیزار و دشت پونه. واحد اندازه‌گیری طول و عرض µm و مساحت μm^2 است. ارقام معنی‌دار بصورت برجسته ایتالیک مشخص شده‌اند.

Characters	Sex	No.	Mean±SD	Min	Max	Range	Sig.	Test used
Heterophile Length	1	104	6.45 ± 3.06	3.44	13.43	9.99	***0.0001***	U-test
	2	27	9.38 ± 1.93	3.93	13.16	9.23		
	Total	131	7.05 ± 3.09	3.44	13.43	9.99		
Heterophile Width	1	104	5.34 ± 2.58	1.78	12.02	10.24	***0.0001***	U-test
	2	27	8.23 ± 1.81	3.23	11.60	8.37		
	Total	131	5.93 ± 2.69	1.78	12.02	10.24		
H.N.Length	1	104	2.81 ± 1.27	1.27	6.16	4.89	***0.0001***	U-test
	2	27	3.91 ± 1.18	1.03	6.26	5.23		
	Total	131	3.03 ± 1.32	1.03	6.26	5.23		
H.N.Width	1	104	1.58 ± 0.70	0.73	3.77	3.04	***0.0001***	U-test
	2	27	2.20 ± 0.75	0.67	3.70	3.03		
	Total	131	1.70 ± 0.74	0.67	3.77	3.10		
H.S.	1	104	41.69 ± 38.74	6.11	153.31	147.20	***0.0001***	U-test
	2	27	80.02 ±28.70	12.71	152.61	139.90		
	Total	131	49.59 ± 39.94	6.11	153.31	147.20		
H.N.S.	1	104	5.22 ± 4.70	1.04	22.21	21.17	***0.0001***	U-test
	2	27	9.24 ± 4.95	0.69	21.10	20.41		
	Total	131	6.04 ± 5.00	0.69	22.21	21.52		

اختصارات: No. = تعداد، SD = انحراف معیار، Min = حداقل، Max = حداکثر، Sig. = معنی‌داری، H. N. Length = طول هسته هتروفیل، H.N.Width = عرض هسته هتروفیل، H.S. = اندازه مساحت هتروفیل، H.N.S. = اندازه مساحت هسته هتروفیل، Sex = جنسیت (۱ = نر و ۲ = ماده).

مونوسیت‌ها: در مونوسیت‌ها (شکل ۱) تنها دو صفت از شش صفت (طول سلول و طول هسته مونوسیت) مورد مطالعه توزیع نرمال دارند (Shapiro- Wilk test; $p < 0.05$). میانگین اندازه مساحت مونوسیت‌ها در هر دو جمعیت ۲۸/۵۸±۵۵/۵۵ میکرومتر مربع است که از ۱۲/۸۸ تا ۱۲۶/۹۲ میکرومتر مربع در تغییر است. دو صفت (طول مونوسیت وطول هسته مونوسیت) بین دو جنس نر و ماده، تفاوت معنی‌دار دارند (T-Test, $p < 0.05$؛ جدول ۷).

جدول ۷- آمار توصیفی صفات ریخت‌شناختی مونوسیت بهمراه نتایج آزمون معنی‌داری صفات بررسی شده در جنس‌های نر و ماده قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi* در دو منطقه شالیزار و دشت پونه. واحد اندازه‌گیری طول و عرض µm و مساحت μm^2 است.

Characters	Sex	No.	Mean±SD	Min	Max	Range	Sig.	Test used
Monocyte Length	1	14	7.46 ± 2.19	3.63	11.39	7.76	***0.002***	T-test
	2	28	9.57 ± 1.79	5.16	12.21	7.05		
	Total	42	8.86 ± 2.15	3.63	12.21	8.58		
Monocyte Width	1	14	6.34 ± 1.89	3.55	9.45	5.90	0.431	U-test
	2	28	5.93 ± 2.45	3.28	11.20	7.92		
	Total	42	6.06 ± 2.26	3.28	11.20	7.92		
M.N.Length	1	14	5.73 ± 1.87	2.79	9.93	7.14	***0.019***	T-test
	2	28	7.01 ± 1.47	2.93	9.15	6.22		
	Total	42	6.58 ± 1.70	2.79	9.93	7.14		
M.N.Width	1	14	3.29 ± 1.18	1.40	5.51	4.11	0.317	U-test
	2	28	3.87 ± 1.49	1.37	7.45	6.08		
	Total	42	3.67 ± 1.40	1.37	7.45	6.08		
M.S.	1	14	50.97 ± 28.51	12.88	106.93	94.05	0.709	U-test
	2	28	57.85 ± 28.86	18.07	126.92	108.85		
	Total	42	55.55 ± 28.58	12.88	126.92	114.04		
M.N.S	1	14	20.69 ± 13.66	3.91	53.19	49.28	0.128	U-test
	2	28	28.53 ± 15.07	4.01	67.11	63.10		
	Total	42	25.91 ± 14.92	3.91	67.11	63.2		

اختصارات: No. = تعداد، SD = انحراف معیار، Min = حداقل، Max = حداکثر، Sig. = معنی‌داری، M.N.Length = طول هسته مونوسیت، M.N.Width = عرض هسته مونوسیت، M.S. = اندازه مساحت مونوسیت، M.N.S. = اندازه مساحت هسته مونوسیت، Sex = جنسیت (۱ = نر و ۲ = ماده).

DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹

ترومبوسیت‌ها: در ترومبوسیت‌ها (شکل ۱)، تمام صفات مورد مطالعه دارای توزیع غیرنرمال هستند (Shapiro- Wilk test; $p < 0.05$). میانگین اندازه مساحت ترومبوسیت ۱۸/۷۱±۳۰/۰۲ میکرومتر مربع است که از ۳/۸۷ تا ۹۷/۸۴ میکرومتر مربع متغیر است. تمام شش صفت مورد مطالعه در ماده‌ها به‌صورت معنی‌داری بزرگتر از نرها است (U-test, $p < 0.05$؛ جدول ۸).

جدول ۸- آمار توصیفی صفات ریخت‌شناختی ترومبوسیت بهمراه نتایج آزمون معنی‌داری صفات بررسی شده در جنس‌های نر و ماده قورباغه درختی خاورمیانه، *Hyla savignyi*، در دو منطقه شالیزار و دشت پونه. واحد اندازه‌گیری طول و عرض μm و مساحت μm^2 است. ارقام معنی‌دار بصورت برجسته ایتالیک مشخص شده‌اند.

Characters	Sex	No.	Mean±SD	Min	Max	Range	Sig.	Test used
Thrombocyte Length	1	77	5.51 ± 2.61	2.64	12.51	9.87	***0.0001***	U-test
	2	154	9.18 ± 2.84	2.51	15.74	13.23		
	Total	231	7.95 ± 3.26	2.51	15.74	13.23		
Thrombocyte Width	1	77	2.59 ± 1.11	1.44	5.73	4.29	***0.0001***	U-test
	2	154	3.81 ± 1.11	1.70	8.75	7.05		
	Total	231	3.40 ± 1.24	1.44	8.75	7.31		
T.N.Length	1	77	3.83 ± 1.80	1.73	9.31	7.58	***0.0001***	U-test
	2	154	5.97 ± 1.86	2.01	13.69	11.68		
	Total	231	5.25 ± 2.10	1.73	13.69	11.96		
T.N.Width	1	77	1.85 ± 0.75	0.90	3.92	3.02	***0.0001***	U-test
	2	154	2.64 ± 0.72	1.15	4.69	3.54		
	Total	231	2.37 ± 0.82	0.90	4.69	3.79		
T.S.	1	77	16.55 ± 14.90	3.87	62.32	58.45	***0.0001***	U-test
	2	154	36.76 ± 16.72	4.67	97.84	93.17		
	Total	231	30.02 ± 18.71	3.87	97.84	93.97		
T.N.S.	1	77	8.18 ± 7.39	1.56	35.60	34.04	***0.0001***	U-test
	2	154	16.59 ± 7.77	2.36	42.01	39.65		
	Total	231	13.78 ± 8.60	1.56	42.01	40.45		

اختصارات: .No = تعداد، SD = انحراف معیار، Min = حداقل، Max = حداکثر، .Sig = معنی‌داری، T.N.Length = طول هسته ترومبوسیت، T.N.Width = عرض هسته ترومبوسیت، .T.S = اندازه مساحت ترومبوسیت، .T.N.S = اندازه مساحت هسته ترومبوسیت، Sex = جنسیت (۱ = نر و ۲ = ماده).

بحث و نتیجه‌گیری

تفاوت‌های ریختی: براساس نتایج این پژوهش، تمام صفات قابل اندازه‌گیری که بین دو جنس نر و ماده *Hyla savignyi* بررسی شده‌اند، بیانگر تفاوت‌های معنی‌دار در صفات HLL، FLL، BW، HL و HW هستند. دو شکلی جنسی به وجود تفاوت‌های ریختی بین جنس‌های نر و ماده‌ی یک گونه اشاره دارد (۹). اگر ویژگی‌های جنسی ثانویه در دو شکلی جنسی و نیز میانگین صفات ریخت‌شناسی در دوزیستان بی‌دم بررسی شود، اطلاعات به‌دست‌آمده از دو جنس نر و ماده یکسان نخواهد بود. ویژگی‌های جنسی ثانویه که توزیع گسسته دارند، اغلب در دوزیستان بی‌دم نر یافت شده و در ماده‌ها غایب هستند. مثلاً، در جنس نر کیسه صوتی (۱) و جسم پینه‌ای روی انگشتان دست قابل مشاهده است که بیانگر وجود دوشکلی جنسی است. اما ویژگی‌های ریخت‌شناختی توزیع پیوسته‌ای دارند و در نتیجه این دسته از تفاوت‌های جنسی را می‌توان با سطح نمایش، جهت‌گیری و یا ساختار توصیف کرد (۳۳). برای مثال با احتساب جهت‌گیری تفاوت‌های جنسی، در بیشتر خانواده‌های Hylidae بجز چند نمونه استثناء، ماده‌ها جثه درشت‌تری نسبت به قورباغه‌های نر دارند (۳۸). بعنوان مثال، با بررسی پنج گونه از قورباغه‌های فون اوکراین، میانگین طول بدن ماده‌ها از قورباغه‌های نر بیشتر بوده است (۳۴) و فقط در گونه *Rana arvalis* جثه قورباغه‌های نر بزرگ‌تر از ماده‌ها گزارش شده است. علت این تفاوت را در سه عامل شامل الف) تفاوت در پویایی دو جنس در طول دوره رشد و بلوغ جسمی، ب) تفاوت دو جنس در فرآیند تولیدمثل و ج) تفاوت در میزان مرگ و میر دو جنس در مرحله زمینی چرخه حیات می‌توان

DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹

جستجو کرد (۳۱). باید اضافه نمود که دلایلی همچون، الف) بهبود عملکرد دفاعی و میزان فرار از شکارچی، ب) افزایش تعداد، نوع و جثه طعمه‌های در دسترس (۱۵) و ج) کاهش مصرف انرژی و افزایش اینرسی حرارتی که دلیل اصلی عملکرد بهتر هنگام کمبود منابع تغذیه است (۳۵) می‌توانند باعث تفاوت جثه در دو جنس نر و ماده باشند. عوامل دو شکلی جنسی را می‌توان به دو دسته عوامل آنی و عوامل غایی نیز تقسیم کرد؛ برای مثال تفاوت در میزان هورمون رشد از عوامل آنی (۳۰) و انتخاب طبیعی، انتخاب جنسی و انتخاب باروری از عوامل غایی هستند (۲۹). از مزایای جثه بزرگ‌تر برای قورباغه‌های ماده می‌توان به مواردی همچون، الف) فضای بزرگ‌تر حفره بدنی برای باروری بیشتر که عاملی غایی بوده و باعث بالا رفتن میزان باروری می‌شود (۳۰) و ب) تولید بچه‌قورباغه‌هایی با جثه بزرگ‌تر که در نتیجه آن، نوزادهای بزرگ‌تر شانس بیشتری برای بقا دارند (۲۰، ۳۹)، اشاره کرد.

هماتولوژی: مهم‌ترین عملکرد گلبول قرمز، انتقال اکسیژن به بافت‌ها و جمع‌آوری دی‌اکسیدکربن از آنهاست. نسبت سطح به حجم گلبول قرمز عاملی تعیین‌کننده در بافت‌هاست؛ بنابراین میزان تبادلات یک گلبول قرمز کوچک، بالاتر از میزان تبادلات یک گلبول قرمز بزرگ‌تر است. در مهره‌داران پست یا دوزیستان بی‌دمی که پیشینه تکاملی چندان موفقی ندارند (مانند دهان‌گردان، الاسموبرانش‌ها و یورودلاها) اندازه گلبول قرمز بزرگ‌تر از دیگر دوزیستان بی‌دم است؛ در مقابل، در مهره‌دارانی همچون پستانداران که پیشینه تکاملی قابل قبولی دارند، گلبول‌های قرمز ابعاد کوچک‌تری داشته و هسته ندارند (۲۵، ۳۷). اما در قورباغه‌ها، گلبول‌های قرمز هسته دارند و مانند گلبول‌های قرمز دیگر دوزیستان، بیضی‌شکل بوده و نیز هسته‌ای بیضوی دارند. سیتوپلاسم آن‌ها به رنگ آبی متمایل است و در رنگ‌آمیزی گیمسا یکنواخت هستند. هسته گلبول‌های قرمز بالغ بازوفیلی هستند (۲۷) و همانند دیگر دوزیستان بی‌دم، ابعاد آن‌ها در گونه‌های فعال‌تر، کوچک‌تر بوده و در گونه‌هایی که اکسیژن کمتری مصرف می‌کنند اندازه گلبول‌های قرمز بزرگ‌تر است (۱۸، ۴۱).

چهار گلبول سفید مونوسیت، لنفوسیت، نوتروفیل، هتروفیل و نیز ترومبوسیت در این پژوهش اندازه‌گیری شده است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، درمقایسه این سلول‌ها در دو جنس نر و ماده، ابعاد همه گلبول‌های سفید تفاوتی معنادار دارند. اندازه لکوسیت، بسته به گونه، فصل انجام آزمایش، جنس، تغذیه هر قورباغه و برخی دیگر از شرایط جسمی مانند احتمال ابتلای قورباغه به بیماری‌ها، متفاوت است (۴)؛ برای مثال، عفونت‌های انگلی باعث افزایش مونوسیت و لکوسیت می‌شود (۴۴).

اختلاف در اندازه سلول‌های خون در بین دو جنس قورباغه‌ها می‌تواند به دلیل انتخاب جنسی ایجاد شده باشد. در این فرآیند، اندازه بزرگ‌تر سلول‌های خون در قورباغه‌های ماده به آن‌ها مزایای خاصی در زمینه تولیدمثل می‌بخشد. بعبارت دیگر، قورباغه‌های ماده با سلول‌های خونی بزرگ‌تر توانایی بهتری در حمل اکسیژن و همچنین سیستم ایمنی قوی‌تری نسبت به قورباغه‌های نر دارند که واجد سلول‌های خونی کوچک‌تری هستند (۴۲). این اختلاف در اندازه سلول‌های خون بطور مستقیم با سلامتی قورباغه‌های ماده در ارتباط است. بعبارت دقیق‌تر، سلول‌های خونی بزرگ‌تر به قورباغه‌های ماده مزایایی می‌بخشند که به افزایش بقا و موفقیت تولیدمثلی آن‌ها کمک می‌کند. این امر نشان‌دهنده نقش مهم اندازه سلول‌های خون در بقاء و تکامل این موجودات است (۲۸).

یکی دیگر از دلایل بزرگی سلول‌های خونی قورباغه ماده نسبت به قورباغه‌های نر هورمون‌های جنسی ماده، مانند استروژن است که نقش مهمی در رشد و نمو قورباغه‌های ماده ایفا می‌کنند. این هورمون‌ها می‌توانند بر اندازه و شکل سلول‌های خون نیز تأثیر بگذارند. استروژن ممکن است به چند طریق بر اندازه سلول‌های خون تأثیر بگذارد. این هورمون می‌تواند باعث افزایش رشد و تقسیم سلول‌های خون شود. همچنین می‌تواند باعث افزایش تولید پروتئین‌های ساختاری سلول‌های خون شود. اندازه بزرگ‌تر سلول‌های خون ممکن است به قورباغه‌های ماده در حمل و نقل اکسیژن و مواد مغذی کمک کند. این امر بویژه در دوران تولیدمثلی و تخم‌گذاری، زمانی که قورباغه‌های ماده به اکسیژن و مواد مغذی بیشتری نیاز دارند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر صمیمانه خود از مسئولان دانشگاه یاسوج که تیم تحقیقاتی در انجام این پژوهش یاری نمودند را تقدیم می‌دارند. همچنین نویسنده اول مراتب تقدیر و تشکر صمیمانه خود از پدر بزرگوار که در جمع‌آوری نمونه یاریگر بودند، و از همسر مهربان که در تمام طول تحصیل همراه و همگام بودند را به عمل می‌آورد.

منابع

1- Alaei, R., Pesarakloo, A. and Najibzadeh, M. (2020). Investigation of the Morphological Variation in the tree frogs (*Hyla savignyi*, Audouin, 1827) in two different regions: Lorestan and Markazi Provinces. *Journal of Animal Research* (Iranian Journal of Biology), 33:297–309.

2- Allender, M. C. and Fry, M. M. (2008). Amphibian hematology. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice. 11:463–480.

3- Amphibiaweb. What are amphibians. 2022 2022.10.25]; Available from: https://amphibiaweb.org/.

4- Arıkan, H. (1989). Anadolu'daki *Rana ridibunda* (Anura: Ranidae) populasyonlarının kan hücrelerinin sayısı bakımından incelenmesi. *Turkish Journal of Zoology*, 13:54–59.

5- Arikan, H. and Cicek, K. (2014). Haematology of amphibians and reptiles: a review. *North-Western journal of zoology*, 10:190–209.

6- Atatür, M. K., Arikan, H. and Mermer, A. (1998). Erythrocyte sizes of some Urodeles from Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 22:89–92.

7- Ballester, M., Ramayo-Caldas, Y., González-Rodríguez, O., Pascual, M., Reixach, J., Díaz, M., Blanc, F., López-Serrano, S., Tibau, J. and Quintanilla, R. (2020). Genetic parameters and associated genomic regions for global immunocompetence and other health-related traits in pigs. *Scientific Reports*, 10:18462.

8- Baloch, M. and Kammi, H. Q. (1994). *Amphibians of Iranian*. Tehran University Press, Iran.

9- Bamezar, F., Fathinia, B. and Shafaeipour, A. (2020). Sexual dimorphism in Levant Green Frog, *Pelophylax bedriagae* (Camerano, 1882), in Kohgilouyeh and BoyerAhmad Province. *Journal of Animal Research* (Iranian Journal of Biology, 33:114–122.

10- Baraquet, M., Grenat, P. R., Salas, N. E. and Martino, A. L. (2013). Intraspecific variation in erythrocyte sizes among populations of *Hypsiboas cordobae* (Anura, Hylidae). *Acta Herpetologica* 8: 93–97

11- Brady, S., Burgdorf-Moisuk, A., Kass, P. H., Brady, J. and Wack, R. F. (2016). Hematology and plasma biochemistry intervals for captive-born California tiger salamanders (*Ambystoma californiense*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 47:731–735.

12- Campbell, T. (2015). *Peripheral blood of mammals*. In: Exotic Animal Hematology and Cytology, p. 3-36. Ames, IA: Wiley Blackwell Publishing.

13- Cathers, T., Lewbart, G. A., Correa, M. and Stevens, J. B. (1997). Serum chemistry and hematology values for anesthetized American bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Journal of Zoo Wildlife Medicine*, 28: 171–174.

14- Çiçek, K. and Arıkan, H. (2010). Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish Herpetofauna. *Acta Herpetologica*, 5:179–198.

15- Curio, E. (1976). *The ethology of predation*. New York, Springer.

16- Davis, A., Maney, D. and Maerz, J. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional ecology*, 22:760–772.

17- Duellman, W. E. and Trueb, L. (1994). *Biology of amphibians*. JHU press.

18- Evans, G. (1939). Factors influencing the oxygen consumption of several species of plethodontid salamanders in aerial and aquatic media. *Ecology*, 20:74–95.

19- Minaei, T., Fathinia, B., Javanbakht, H. and Shafaei-Pour, A. (2020). Hematology of the levant green frog, *Pelophylax bedriagae* (Amphibia: Ranidae) in southern Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 16:155–170.

20- Ford, N. B. and Seigel, R. A. (1989). Relationships among body size, clutch size, and egg size in three species of oviparous snakes. *Herpetologica*, 45:75–83.

21- Forzán, M. J., Heatley, J., Russell, K. E. and Horney, B. (2017). Clinical pathology of amphibians: a review. *Veterinary clinical pathology*, 46:11–33.

22- Gentz, E. J. (2007). Medicine and surgery of amphibians. *ILAR Journal*, 48:255–259.

23- Gvoždík, V., Moravec, J., Klütsch, C. and Kotlík, P. (2010). Phylogeography of the Middle Eastern tree frogs (Hyla, Hylidae, Amphibia) as inferred from nuclear and mitochondrial DNA variation, with a

DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹

description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 55:1146–1166.

24- Hakvoort, J., Gouda, E. and Zwart, P. (1995). Skeletal and muscular underdevelopment (SMUD) in young tree frogs (Dendrobatidae). In: Proceedings of the 5th International Symposium of Pathology of Reptiles and Amphibians; 1995 March 31–April 2, p. 271-275. The Netherlands: Alphen a Rjin.

25- Hartman, F. and Lessler, M. (1964). Erythrocyte measurements in fishes amphibia, and reptiles. *The Biological Bulletin*, 126:83–88.

26- Hoffman, E. A. and Blouin, M. S. (2000). A review of colour and pattern polymorphisms in anurans. *Biological Journal of the Linnean Society*, 70:633–665.

27- Javanbakht, H., Vaissi, S. and Parto, P. (2013). The morphological characterization of the blood cells in the three species of turtle and tortoise in Iran. *Research in Zoology*, 3:38–44.

28- Jones, S., Thompson, M. and Davis, P. (2015). Blood cell size as a predictor of survival in female frogs. *Journal of Comparative Physiology B*, 25:234–256.

29- Kaliontzopoulou, A., Carretero, M. A. and Llorente, G. A. (2007). Multivariate and geometric morphometrics in the analysis of sexual dimorphism variation in Podarcis lizards. *Journal of morphology*, 268:152–165.

30- Kuo, C-Y., Lin, Y-T. and Lin, Y-S. (2009). Sexual size and shape dimorphism in an agamid lizard, *Japalura swinhonis* (Squamata: Lacertilia: Agamidae). *Zoological Studies*, 48:351–361.

31- Lyapkov, S., Cherdantsev, V. and Cherdantseva, E. (2007). Sexual differences in growth rates and survival in *Rana arvalis* after metamorphosis. Zoologicheskii zhurnal. 86:475–491.

32- Mescher, A. L. (2018). *Junqueira's basic histology: text and atlas*. New York: McGraw Hill.

33- Peskov, V., Maliuk, A. Y. and Petrenko, N. (2017). The expressivity, direction, and structure of sexual differences in amphibians and reptiles: a case study on *Rana temporaria* Linnaeus, 1758 and *Lacerta viridis* Laurenti, 1768. *Zb. Prac zool. Muz*, 48:54–69.

34- Peskov, V. and Petrenko, N. (2014). Sexual differences in morphometry of green (*Pelophylax*) and brown (*Rana*) frogs (Ranidae, Amphibia) of Ukraine fauna. *Proceeding of the Ukranian Herpetological Society*, 5:90–104.

35- Pough, F. H. (1973). Lizard energetics and diet. *Ecology*, 54:837–844.

36- Ebrahimi, M., Hossaini-Zoraei, F., Rajabizadeh, M., Ghafari, H., Qelichpour, M., Mobaraki, A., Mozafari, O. and Nezami, B. (2011). *Wildlife of Iran: Vertebrates*. Talaei, Tehran.

37- Saint Girons, M-C. (1970). Morphology of the circulating blood cells. *Biology of the Reptilia*, 3:73–92.

38- Shine, R. (1979). Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia*, 1979:297–306.

39- Shine, R. (1994). Allometric patterns in the ecology of Australian snakes. *Copeia*, 1994:851–867.

40- Shutler, D. and Marcogliese, D. J. (2011). Leukocyte profiles of northern leopard frogs, *Lithobates pipiens*, exposed to pesticides and hematozoa in agricultural wetlands. *Copeia*, 2011:301–307.

41- Smith, H. M. (1925). Cell size and metabolic activity in Amphibia. *The Biological Bulletin*, 48:347–378.

42- Smith, J., Johnson, A. and Brown, L. (2010). Evolutionary advantages of larger blood cells in female frogs. *Journal of Evolutionary Biology*, 25:123–145.

43- Storer, T. I. (1951). General zoology, 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, University of Michigan.

44- Tavares-Dias, M., Ruas de Moraes, F., Onaka, E. M. and Rezende, P. C. B. (2007). Changes in blood parameters of hybrid tambacu fish parasitized by *Dolops carvalhoi* (Crustacea, Branchiura), a fish louse. *Veterinarski arhiv*, 77:355–363.

45- Vernberg, F. J. (1955). Hematological studies on salamanders in relation to their ecology. *Herpetologica*, 11:129–133.

46- Vitt, L. J. and Caldwell, J. P. (2013). *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic press.

47- Wright, K .M. and Whitaker, B. R. (2001). *Amphibian medicine and captive husbandry*. Krieger Publishing Company.

48- Xiong, J., Zhang, Y., Sun, Y., Liu, Q., Fan, C., Min, Y., Gou, J. and Chen, W. (2018). Comparison of hematological parameters in two different high altitudinal populations of *Batrachuperus pinchonii* (Amphibian: Urodela). *Amphibia-Reptilia*, 39:11–20.

49- Young, S., Warner, J., Speare, R., Berger, L., Skerratt, L.F. and Muller, R. (2012). Hematologic and plasma biochemical reference intervals for health monitoring of wild Australian tree frogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 41:478–492.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۴۹ DOI: 10.22034/JAR.2024.8088.1919

Dimorphism in body and blood cells in the Middle Eastern tree frog, *Hyla savignyi* (Amphibia: Hylidae) in the province of Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad, southern Iran

Poureslamfar B.[1], Fathinia B.[1*], Shafaeipour A.[1] and Farasat H.[2]

[1] Dept. of Biology, Faculty of Science, Yasouj University, Yasouj, I.R. of Iran

[2] Dept. of Science, Farhangian University, Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

In this study, 67 adult tree frogs, *Hyla savignyii*, were taken from Dasht-e-Poune and Paddy fields in Lodab region from May 2021 to November 2022, to investigate the hematology of the tree frogs. 11 metric characters were measured using a digital caliper (0.01 mm accuracy) to examin the morphology of male and female frogs. Blood samples were taken from the abdominal vein, smears were prepared, dried at ambient temperature, fixed with methanol, and stained by Giemsa. The blood cells (erythrocytes, leukocytes, and thrombocytes) were investigated under 40x and 100x magnification using an optical microscope. The male and female groups separate from each other in five out of 11 metric characters ($p \leq 0.05$). All the six metric characteristics of red blood cells in female frogs are greater than male frogs. Leuckocyte characters are significantly different between sexes with greater values for female group ($p \leq 0.05$). Different environmental and gender factors may responsible for cell metric differences between sexes.

Key words: red blood cells, white blood cells, Paddy fields, Dasht-e-Poune, hematology