مطالعه تغییرات صفات ریختی جمعیت‌های قورباغه جنگل هیرکانی

(*Rana pseudodalmatina*, Eiselt and Schmidtler, 1971)

معصومه نجیب‌زاده[1*]، علیرضا پسرکلو[2]، احمد قارزی[1]، نصراله رستگار پویانی[1] و اسکندر رستگار پویانی[3]

[1] **ایران، کرمانشاه، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، گروه زیست‌شناسی**

[2] **ایران، اراک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی**

[3] **ایران، سبزوار، دانشکده علوم، دانشگاه حکیم سبزواری، گروه زیست‌شناسی**

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۲۱

چکیده

گونه *R. pseudodalmatina* در جنگل‌های پست حاشیه جنوبی دریای خزر پراکنش گسترده دارد. علی‌رغم این محدوده‌ی پراکنش گسترده، جمعیت‌های این قورباغه‌های قهوه‌ای بومی به‌جز تعدادی محدود، ازلحاظ ریخت‌شناسی در مطالعات موردتوجه قرارنگرفته‌اند. در این پژوهش با نمونه‌برداری گسترده از کل محدوده پراکنش قورباغه‌ی قهوه‌ای جنگل‌های هیرکانی به ارزیابی ساختار تغییرات جغرافیایی صفات در جمعیت‌ها پرداخته شد. بدین منظور ۵۳ نمونه جمع‌آوری و ۱۳ صفت ریختی موردبررسی قرارگرفت. معناداری وجود دوریختی جنسی بین جمعیت‌های قورباغه‌ی هیرکانی به کمک آزمون آماری ANOVA و مقایسه تفاوت میانگین‌های هر صفت بین دو جنس نر و ماده و همچنین آنالیز واریانس چندمتغییره (MANOVA) با مقایسه میانگین-های بردار صفات دو جنس موردبررسی قرارگرفت. الگوی ارتباطات فنتیکی بین جمعیت‌ها به کمک آزمون‌های ANOVA یک‌طرفه، تحلیل مؤلفه اصلی (PCA)، تحلیل توابع ممیزی (DFA) و آنالیز خوشه‌بندی با الگوریتم UPGMA انجام شد. نتایج آزمون آماری ANOVA برای وجود دوریختی جنسی در گونه *R. pseudodalmatina* نشان داد که پنج صفت بین دو جنس بطور معنادار با یکدیگر تفاوت دارند. همچنین آزمون MANOVA نیز به‌طور معنادار وجود دوریختی جنسی را در گونه *R. pseudodalmatina* تأیید کرد ($P\leq ۰/۰۵$). مطالعات ریخت‌شناسی در سطح درون‌گونه‌ای نشان داد که دست‌کم دو جمعیت اصلی از قورباغه‌های جنگلی (*R. pseudodalmatina*) یکی در شرق دریای خزر (لوه، بهشهر و ساری) و دیگری در غرب دریای خزر (سلمان شهر، لنگرود، رشت و آستارا) پراکنش دارند.

واژه‌های کلیدی: رانیده، *Rana*، قورباغه جنگل‌های هیرکانی، تغییرات ریختی، ساختار جمعیت.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۶۸۴۹۶۲۹۹ ، پست الکترونیکی: Masoumeh.najibzadeh@gmail.com

مقدمه

مطالعات روی جنگل‌های هیرکانی نشان داده است که سبزینگی، پوشش و تنوع گونه‌ای دراین جنگل‌ها در محدوده ارتفاعات مختلف با یکدیگر متفاوت است (۱۴). قورباغه قهوه‌ای (*R. pseudodalmatina*) بومی ایران بوده و در حاشیه جنوبی دریای خزر و در جنگل‌های هیرکانی پراکنش دارد و محدوده پراکنش آنها از شرق به جنگل گلستان و از غرب به بخش‌هایی از شرق اردبیل محدود می‌شود (۱). طبق نتایج بدست آمده از مطالعات نجیب‌زاده و همکاران (۲۰۱۷b)، بهترین نواحی برای زیست قورباغه هیرکانی، جنگل‌های نواحی پست در حاشیه دریای خزر (نواحی بین محدوده شهری و کوهپایه‌های البرز) است که زیر بخشی از هات اسپات (Hotspot) تنوع زیستی قفقاز را

در برگرفته است (۲۱). به‌عبارت‌دیگر *R. pseudodalmatina* در جنگل‌های نواحی مرتفع و نواحی کوهستانی و همچنین محدوده‌های شهری و نواحی ساحلی مشاهده نمی‌شوند. مهمترین متغیر تأثیرگذار بر توزیع فضایی قورباغه جنگل هیرکانی پوشش زمین (فاکتورهایی همچون جنگل‌های پهن‌برگ برگ‌ریز، جنگل‌های سوزنی‌برگ) و به دنبال آن ارتفاع (با تأثیر منفی) است (۲۱). از مهم‌ترین عوامل تهدیدکننده‌ی قورباغه‌های جنگلی گسترش شهرنشینی، تخریب زیستگاه‌ها، آلوده کردن محیط‌زیست قورباغه‌ها، جنگل‌زدایی و توسعه کشاورزی بخصوص برنج‌کاری در محدوده‌های جنگلی را می‌توان نام برد (۲).

مطالعات ریخت‌شناسی از دیرباز به‌عنوان یکی از روش‌های تعیین حدود گونه و مطالعات درون جمعیتی مورد استفاده قرار گرفته است (۷، ۱۰، ۱۲و ۲۹). دی رات در سال ۲۰۰۵ استدلال کرد که ریخت‌شناسی مقایسه‌ای فقط یکی از چندین جنبه تنوع زندگی را موردبررسی قرار می‌دهد که می‌توان نام آن را تنوع ریختی گذاشت (۹). او پیشنهاد کرد که استفاده از روش‌های مورفولوژیکی و نتایج بدست آمده از آنها تنها می‌تواند به‌عنوان یک فرضیه در تعیین حدود گونه قرارگیرند و صحت و اعتبار این فرضیه باید با کمک روش‌های دیگر موردبررسی دقیق‌تر قرار بگیرد (۹). لذا بسیاری از تاکسونومیست‌ها به این نتیجه رسیدند که مقایسه ریختی به‌تنهایی نمی‌تواند در تعیین حدود بسیاری از گونه‌ها کافی باشد، بااین وجود مطالعات ریختی همچنان نخستین قدم در تبین درک جایگاه تاکسونومیکی و جمعیتی گونه‌ها است (۹، ۲۷ و ۲۸).

تغییرات درون‌گونه‌ای ریختی در مقیاس جغرافیایی در میان دوزیستان بی‌دم اغلب بطور گسترده‌ای در ارتباط با تغییرات در اندازه بدن است (۸، ۱۵ و ۱۸). تغییرات ریختی به‌واسطه تغییرات جغرافیایی اغلب ممکن است در ارتباط با عوامل پیچیده و گسترده‌ای باشند که فهم آنها به‌سادگی امکان‌پذیر نبوده و نیازمند واکاوی تمامی عوامل مؤثر بر آن است (۱۷). در محدوده تاکسون‌ها موانع برای دیسپرسال، جریان ژن و حتی تغییرات آب و هوایی منجر به جدایی جغرافیایی، تفاوت‌های ریختی و یا تغییرات رفتاری می‌شود. جمعیت‌های مجاور ممکن است تحت تأثیر همین عوامل از یکدیگر ایزوله یا با یکدیگر مرتبط شوند. فرایندی که منجر به ایزوله شدن شود منجر به واگرایی ژنتیکی شده و درنهایت رانش ژن و جهش در راستای انتخاب طبیعی ممکن است منجر به گونه‌زایی گردد (۲۴) در حالی که فرایندهای مرتبط کننده منجر به دیسپرل و جریان ژن می‌شود (۳۱).

بدین ترتیب مطالعه ساختار جمعیت‌ها و مطالعه تفاوت‌های درون‌گونه‌ای منجر به فهم تاریخ تکاملی و رفتاری گونه‌های جانوری می‌شود که می‌تواند استراتژی مناسب را برای مدیریت گونه‌ها در اختیار ما قرار دهد (۱۳). لذا در این پژوهش به مطالعه تغییرات صفات ریختی در جمعیت‌های قورباغه جنگلی پرداخته شد.

مواد و روشها

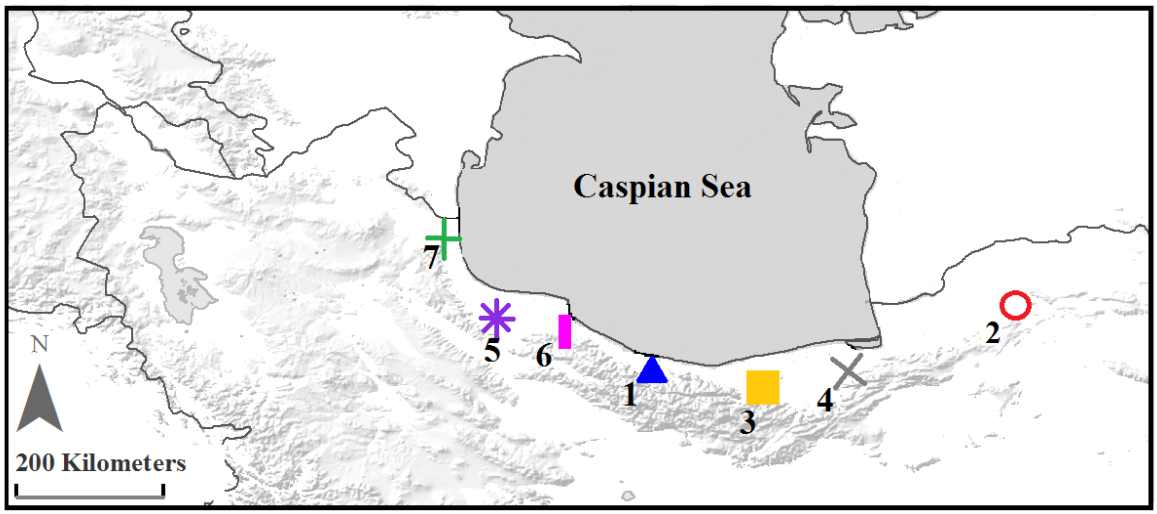
دراین مطالعه تلاش شد که از تمام محدوده پراکندگی احتمالی این قورباغه نمونه‌برداری انجام شود. مکان‌های موردنظر براساس منابع مختلف (۱، ۲و ۲۱) و همچنین جستجوی زیستگاه‌های جدید براساس ترجیح گونه‌ای و همچنین شباهت آنها به زیستگاه‌های موجود انتخاب شدند. قبل از هرگونه نمونه‌برداری، مجوزهای لازم از سازمان محیط‌زیست اخذ شد. درمجموع، ۵۳ نمونه بالغ (۳۲ ماده، ۲۱ نر) از ۷ ایستگاه مطالعاتی جمع‌آوری گردید (جدول ۱و شکل ۱).

پس از نمونه‌برداری، از نمونه‌ها عکس تهیه و سپس ۱۳ صفت‌ریختی در همه‌ی نمونه‌ها توسط کولیس دیجیتال (با دقت ۰/۰۱ میلیمتر) اندازه‌گیری شد (جدول ۲). تجزیه‌وتحلیل‌های آماری توسط نرم‌افزار آماری SPSS 20

انجام شد.

جدول ۱. مکان‌های جغرافیایی موردبررسی گونه *Rana pseudodalmatina*.

مکان جغرافیایی	مختصات		تعداد نمونه
	طول	عرض	
۱- سلمان شهر (SAL)	۵۱/۱۹	۳۶/۶۴	۴
۲- لوه (LO)	۵۵/۶۵	۳۷/۳۵	۹
۳- ساری (SAR)	۵۲/۶۰	۳۶/۳۳	۸
۴- بهشهر (BEH)	۵۳/۵۹	۳۶/۶۶	۸
۵- رشت (RA)	۴۹/۵۲	۳۷/۱۵	۱۲
۶- لنگرود (LAN)	۵۰/۱۶	۳۷/۱۷	۵
۷- آستارا (AS)	۴۸/۸۳	۳۸/۳۴	۷



شکل ۱. موقعیت جغرافیایی ۹ جمعیت در گونه *Rana pseudodalmatina*. برای کد مکان‌های جغرافیایی به جدول (۱) مراجعه شود.

قبل از هرگونه تجزیه‌وتحلیل آماری، نرمال بودن داده‌ها با کمک آزمون کالموگروف-اسمیرانوف (Kalmogorov-Smiranov test) مورد تأیید قرارگرفت. از آنجا که تفاوت‌های ریختی بین دو جنس می‌تواند در تجزیه‌وتحلیل و آزمون‌های آماری تأثیرگذار باشد، قبل از مطالعه تغییرات صفات جغرافیایی دوریختی بین دو جنس مورد آزمون قرار گرفت.

نتایج

در این مطالعه ۵۳ نمونه بالغ (۳۲ ماده، ۲۱ نر) از گونه *R. pseudodalmatina* در سرتاسر دامنه پراکنش آن در شمال ایران برای مطالعات آماری موردبررسی قرارگرفتند. نتایج تجزیه‌وتحلیل آماری دوریختی جنسی در *R. pseudodalmatina* در ایران با روش تحلیل آنالیز واریانس تک متغیره (ANOVA) نشان می‌دهد که از ۱۳ صفت موفومتریک اندازه‌گیری شده، در ۵ صفت مانند طول پوزه تا کلواک (SVL)، عرض سر (HW)، طول ران(FL)، طول اولین انگشت (DP) و طول چهارمین انگشت پا (LF) ماده‌ها بزرگتر از نرها هستند و تفاوت معنی داری بین

جنس‌ها از نظر این صفات دیده می‌شود (P≤۰/۰۵) (جدول ۳).

همچنین نتایج آنالیز واریانس چند متغیره (MANOVA) برای جدایی میانگین‌های بین جنس‌های نر و ماده در *R. pseudodalmatina* معنادار بود (P≤۰/۰۵) و وجود دوریختی جنسی رابین جنس نر و ماده نشان داد (جدول ۴).

به دلیل اثبات وجود دوریختی جنسی آنالیزهای تغییرات جغرافیایی صفات ریخت‌شناسی بر روی هردو جنس به‌صورت مجزا انجام شد.

نتایج تجزیه‌وتحلیل‌های چند متغیره (PCA) در بررسی صفات اندازه‌گیری شده برای جنس ماده نشان از آن دارد که سه مؤلفه اول بیش از ۸۵٪ از واریانس‌ها را به خود اختصاص می‌دهند، که از این میان مؤلفه اول به‌تنهایی ۶۶/۷۱٪ از کل واریانس‌ها را به خود اختصاص داده است (جدول ۷).

جدول ۲- صفات مورفومتریک اندازه‌گیری شده در بررسی قورباغه‌های قفقازی (*Rana pseudodalmatina*) در ایران، برطبق مطالعات پلاتنر و همکاران (۱۹۹۴).

صفات	تعریف صفات
SVL	طول پوزه تا مخرج
HW	عرض سر
HL	طول سر از مفصل آرواره‌ای تا نوک پوزه
ID	فاصله دو سوراخ بینی
DRO	فاصله چشم تا نوک پوزه
EN	فاصله بین سوراخ بینی تا لبه قدامی چشم
LO	طول چشم
FL	طول ران
TL	طول ساق
C.INT	برآمدگی داخلی کف پا
DP	طول اولین انگشت
LF	طول انگشت چهارم پا (فاصله بین برآمدگی داخلی تا نوک انگشت چهارم)
W	طول پرده شنا (فاصله برآمدگی خارجی تا پرده شنا بین دو انگشت سوم و چهارم در حالت بسته)

جدول ۳. جدول تجزیه‌وتحلیل توصیفی (کمترین، بیشتین، میانگین، انحراف معیار) صفات مورفومتریک و مقایسه نرها و ماده‌ها بر اساس صفات مورفومتریک توسط روش ANOVA در *Rana pseudodalmatina* (۳۲ ماده، ۲۱ نر).

Character / Sex		**N**	**Mean± SD**	**Std. Error**	**Min- Max**	**F-value**	**P-value**
SVL	Female	32	50.94±6.89	1.21	42.25-66.15	6.438	**0.014**
	Male	21	46.21±6.21	1.35	39.24-55.89		
HW	Female	32	17.46±2.11	0.37	14.11-22.55	10.036	**0.003**
	Male	21	15.48±2.39	0.52	12.22-19.31		
HL	Female	32	14.36±1.71	0.30	11.25-17.51	1.657	0.204
	Male	21	13.76±1.52	0.33	10.79-15.90		
ID	Female	32	4.10±0.96	0.17	3.01-5.98	0.079	0.779
	Male	21	4.02±0.07	0.23	2.67-5.96		
DRO	Female	32	6.96±0.67	0.12	6.04-7.96	0.024	0.878
	Male	21	6.99±0.64	0.14	5.62-7.94		
EN	Female	32	3.08±0.39	0.06	2.25-3.79	0.171	0.681
	Male	21	3.03±0.39	0.08	2.31-3.72		
LO	Female	32	6.73±0.58	0.10	5.35-7.82	0.009	0.923
	Male	21	6.71±0.46	0.10	6.13-7.85		

FL	Female	32	28.84±3.28	0.57	23.25-36.48	11.826	**0.001**
	Male	21	25.63±3.37	0.73	19.98-30.48		
TL	Female	32	31.93±3.82	0.67	26.01-39.72	1.700	0.198
	Male	21	30.48±4.20	0.91	23.73-38.50		
C.INT	Female	32	2.39±0.32	0.05	2.01-2.97	0.541	0.466
	Male	21	2.32±0.30	0.06	2.00-2.98		
DP	Female	32	6.70±0.52	0.09	5.57-7.78	6.562	**0.013**
	Male	21	6.30±0.60	0.13	5.13-7.30		
LF	Female	32	29.71±2.29	0.40	23.66-35.10	7.308	**0.009**
	Male	21	27.74±3.00	0.65	22.00-34.84		
W	Female	32	18.64±1.18	0.20	17.02-20.96	0.276	0.601
	Male	21	18.48±0.88	0.19	16.73-20.81		

جدول ۴. آزمون تجزیه‌وتحلیل چند متغیره واریانس‌ها (MANOVA) برای نرها و ماده‌ها در صفات اندازه‌گیری شده مربوط به *Rana pseudodalmatina*

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	0.99	1981.35	13.000	39.000	**0.000**
	Wilks' Lambda	0.00	1981.35	13.000	39.000	**0.000**
	Hotelling's Trace	660.45	1981.35	13.000	39.000	**0.000**
	Roy's Largest Root	660.45	1981.35	13.000	39.000	**0.000**
SEX	Pillai's Trace	0.59	4.40	13.000	39.000	**0.000**
	Wilks' Lambda	0.40	4.40	13.000	39.000	**0.000**
	Hotelling's Trace	1.469	4.40	13.000	39.000	**0.000**
	Roy's Largest Root	1.469	4.40	13.000	39.000	**0.000**

برای بررسی وجود یا عدم وجود تفاوت معنادار در بین صفات مورفومتری از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. نتایج حاصل از آنالیز واریانس ۱۳ صفت مورفومتریک در هفت جمعیت مختلف *R. pseudodalmatina* برای جنس ماده نشان می‌دهد که در ۱۰ صفات مورفومتریک تفاوت معناداری (P≤۰/۰۵) در بین جمعیت‌های مختلف این‌گونه دیده می‌شود (جدول ۵). اما نتایج تحلیل آنالیز واریانس برای جنس نر نشان می‌دهد که از بین ۱۳ صفت، ۸ صفت دارای اختلاف معنی‌دار (P≤۰/۰۵) در بین۷ جمعیت است (جدول ۶). همچنین در جنس ماده صفات EN، LO و W و در جنس نر متغیرهای EN، LO، C.INT، DP و W دارای (P>۰/۰۵) هستند و بنابراین تفاوت معناداری ازنظر این صفات در بین جمعیت‌ها وجود ندارد و صفات مناسبی برای جدا کردن جمعیت‌ها نیستند و درنتیجه آنها را وارد آنالیز چند متغیره نمی‌کنیم.

جدول ۵. آنالیز واریانس (ANOVA) صفات موفومتریک در جمعیت‌های مختلف جنس ماده *Rana pseudodalmatina*

Characters	SAL		LO		SAR		P-value
	Mean±SD	Min-Max	Mean±SD	Min-Max	Mean±SD	Min-Max	
SVL	45.99±1.66	44.29-47.58	53.21±1.8	51.14-56.04	61.09±3.7	57.54-	**0.000**
HW	16.27±0.89	15.55-17.28	17.66±1.0	16.84-19.44	20.58±1.2	19.64-	**0.000**
HL	14.52±1.19	13.51-15.84	14.18±1.1	12.83-15.88	15.75±1.4	13.75-	**0.000**
ID	3.67±0.11	3.55-3.78	3.98±0.81	3.24-5.33	5.64±0.29	5.30-5.98	**0.000**
DRO	6.89±0.66	6.17-7.47	7.2±0.59	6.52-7.86	7.61±0.33	7.03-7.84	**0.009**

EN	2.90±0.34	2.64-3.29	3.10±0.32	2.81-3.62	3.13±0.56	2.25-3.66	0.232
LO	7.04±0.93	6.01-7.82	6.57±0.41	6.03-7.09	6.70±0.32	6.30-7.06	0.063
FL	26.89±1.72	25.01-28.39	29.49±0.8	28.20-30.31	33.74±2.6	30.43-	**0.000**
TL	29.17±3.41	26.14-32.80	33.94±0.5	33.18-34.74	37.05±2.3	33.85-	**0.000**
C.INT	2.45±0.22	2.27-2.70	2.41±0.22	2.10-2.70	2.75±0.30	2.22-2.97	**0.021**
DP	6.33±0.11	6.22-6.44	6.82±0.46	6.24-7.57	6.89±0.87	5.57-7.78	**0.013**
LF	27.20±3.19	23.66-29.85	29.93±1.5	28.05-31.93	32.98±1.3	31.77-	**0.000**
W	18.08±1.26	17.02-19.48	18.75±1.1	17.34-20.20	19.66±0.9	18.87-	0.061
Characters	**BEH**		**RA**		**LAN**		**P-value**
	Mean±SD	**Min-Max**	**Mean±SD**	**Min-Max**	**Mean±SD**	**Min-Max**	
SVL	56.31±1.8	54.61-59.32	45.42±1.1	44.10-46.69	42.35±0.0	42.25-	**0.000**
HW	19.10±0.6	18.27-19.82	16.18±0.4	15.58-16.91	14.16±0.0	14.11-	**0.000**
HL	15.89±0.5	15.09-16.80	14.11±1.6	11.25-15.88	11.65±0.1	11.54-	**0.000**
ID	4.43±1.11	3.39-5.81	3.60±0.30	3.02-3.85	3.05±0.04	3.01-3.10	**0.000**
DRO	7.08±0.51	6.29-7.81	6.91±0.79	6.15-7.96	6.06±0.02	6.04-6.08	**0.009**
EN	3.32±0.39	2.83-3.79	2.95±0.35	2.40-3.39	2.67±0.15	2.52-2.82	0.232
LO	7.31±0.38	6.76-7.81	6.53±0.77	5.35-7.23	6.13±0.05	6.08-6.18	0.063
FL	30.79±1.0	29.75-32.70	27.02±1.3	25.20-28.43	23.36±0.1	23.25-	**0.000**
TL	32.99±1.4	30.75-34.94	27.97±1.3	26.79-29.84	26.22±0.0	26.18-	**0.000**
C.INT	2.47±0.34	2.10-2.89	2.30±0.34	2.02-2.85	2.02±0.02	2.01-2.06	**0.021**
DP	6.67±0.23	6.26-6.97	6.40±0.21	6.05-6.70	6.29±0.08	6.22-6.39	**0.013**
LF	31.24±0.83	30.40-32.28	28.48±0.31	28.05-28.91	27.73±0.00	27.65-27.81	**0.000**
W	19.16±1.1	17.90-20.72	18.58±1.1	17.14-19.70	17.53±0.0	17.47-	0.061
Characters	**AS**					**P-value**	
	Mean±SD		**Min-Max**				
SVL	43.35±0.13		43.22-43.48			**0.000**	
HW	15.63±0.10		15.52-15.73			**0.000**	
HL	12.38±0.08		12.31-12.48			**0.000**	
ID	3.61±0.10		3.52-3.73			**0.000**	
DRO	6.21±0.05		6.16-6.26			**0.009**	
EN	3.32±0.07		3.25-3.39			0.232	
LO	6.60±0.15		6.45-6.75			0.063	
FL	26.55±0.11		26.43-26.65			**0.000**	
TL	33.67±0.04		33.63-33.72			**0.000**	
C.INT	2.09±0.04		2.05-2.13			**0.021**	
DP	7.55±0.14		7.39-7.66			**0.013**	
LF	27.72±0.09		27.62-27.80			**0.000**	
W	17.46±0.10		17.36-17.57			0.061	

جدول ۶. آنالیز واریانس (ANOVA) برای صفات موفومتریک در جمعیت‌های مختلف جنس نر *Rana pseudodalmatina* .

Characters	**SAL**		**LO**		**SAR**		**P-value**
	Mean±SD	**Min-Max**	**Mean±SD**	**Min-Max**	**Mean±SD**	**Min-Max**	
SVL	43.80	43.80-	53.26±0.52	52.77-	54.41±1.40	53.08-	**0.000**
HW	15.42	15.42-	18.18±0.27	17.92-	18.59±0.89	17.59-	**0.000**
HL	14.93	14.93-	15.55±0.07	15.47-	15.04±0.90	14.09-	**0.003**
ID	3.91	3.91-3.91	5.68±0.24	5.51-5.96	5.28±0.63	4.55-5.72	**0.000**
DRO	7.82	7.82-7.82	7.41±0.28	7.10-7.67	6.47±0.76	5.62-7.08	**0.022**
EN	3.35	3.35-3.35	3.21±0.39	2.78-3.56	2.97±0.70	2.31-3.72	0.629
LO	6.66	6.66-6.66	7.41±0.42	7.00-7.85	6.59±0.38	6.30-7.03	0.260

FL	27.48	27.48-	29.40±1.07	28.34-	29.32±0.64	28.59-	**0.000**
TL	26.88	26.88-	33.36±2.64	31.07-	36.58±2.22	34.14-	**0.001**
C.INT	2.89	2.89-2.89	2.53±0.393	2.25-2.98	2.41±0.22	2.18-2.63	0.216
DP	6.78	6.78-6.78	6.32±0.32	6.00-6.65	6.21±0.86	5.22-6.74	0.584
LF	26.33	26.33-	29.46±0.71	28.65-	31.99±2.50	30.11-	**0.002**
W	17.77	17.77-	19.72±0.97	18.95-	18.80±0.87	17.81-	0.107
Characters	**BEH**		**RA**		**LAN**		**P-value**
	Mean±SD	**Min-Max**	**Mean±SD**	**Min-Max**	**Mean±SD**	**Min-Max**	
SVL	53.73±0.15	53.62-	41.51±1.26	39.24-	40.61±1.27	39.71-	**0.000**
HW	17.92±0.94	17.26-	13.85±0.69	12.84-	13.06±1.18	12.22-	**0.000**
HL	15.11±0.03	15.09-	12.67±1.15	10.79-	12.48±1.88	11.15-	**0.003**
ID	4.00±0.98	3.30-4.70	3.30±0.48	2.67-3.87	3.09±0.24	2.92-3.27	**0.000**
DRO	7.73±0.02	7.72-7.75	6.50±0.33	6.09-6.99	6.78±0.60	6.36-7.21	**0.022**
EN	2.92±0.32	2.69-3.15	2.95±0.35	2.62-3.49	3.46±0.12	3.37-3.55	0.629
LO	6.66±0.49	6.31-7.01	6.58±0.26	6.24-6.80	6.62±0.27	6.43-6.82	0.260
FL	28.94±0.22	28.78-	22.54±1.49	19.98-	22.44±2.63	20.58-	**0.000**
TL	32.23±2.61	30.38-	26.65±1.88	23.73-	27.10±3.38	24.71-	**0.001**
C.INT	2.17±0.18	2.04-2.30	2.15±0.18	2.00-2.51	2.15±0.02	2.14-2.17	0.216
DP	6.30±0.183	6.17-6.43	6.17±0.66	5.13-7.22	5.67±0.62	5.23-6.12	0.584
LF	30.85±0.55	30.46-	25.64±2.30	22.00-	24.82±2.22	23.25-	**0.002**
W	18.11±1.10	17.33-	18.36±0.39	17.70-	17.57±1.18	16.73-	0.107

Characters	**AS**		**P-value**
	Mean±SD	**Min-Max**	
SVL	41.48±1.14	40.04-42.79	**0.000**
HW	13.56±1.04	12.34-14.81	**0.000**
HL	12.79±0.61	12.25-13.60	**0.003**
ID	3.43±0.42	3.07-3.99	**0.000**
DRO	7.33±0.57	6.84-7.94	**0.022**
EN	2.85±0.32	2.47-3.23	0.629
LO	6.57±0.67	6.13-7.58	0.260
FL	24.18±1.97	22.04-26.17	**0.000**
TL	31.19±2.93	31.19±2.93	**0.001**
C.INT	2.40±0.40	2.40±0.40	0.216
DP	6.72±0.58	6.21-7.30	0.584
LF	26.68±0.87	25.80-27.90	**0.002**
W	18.31±0.64	17.69-18.90	0.107

در مؤلفه اول صفات SVL و HW بیشترین تأثیرگذاری را دارند. مؤلفه دوم ۱۱/۷۵٪ واریانس کل داده را به خود اختصاص داده و بترتیب متغیرهای TL و DP بیشترین تأثیرگذاری را داشته و در مؤلفه سوم متغیرهای DRO و C.INT بیشترین تأثیر را دارند (جدول ۷).

در بررسی صفات مورفومتریک برای جنس نر، سه مؤلفه اول ۱۰۰٪ واریانس کل دادهها را به خود اختصاص دادهاند که از این میان مؤلفه اول بهتنهایی ۵۹/۴۱ ٪ از کل واریانس‌ها را به خود اختصاص داده است (جدول ۸). در مؤلفه اول همانند جنس ماده صفات SVL و HW بیشترین تأثیرگذاری را دارند. مؤلفه دوم و مؤلفه سوم بترتیب ۳۶/۲۶، ۴/۳۲ ٪ واریانس کل داده را به خود اختصاص دادهاند و متغیرهای DRO و HL بیشترین تأثیرگذاری را در این مؤلفهها دارند (جدول ۸).

جدول ۷. بار عاملی در ۳ مؤلفه اول استخراج شده از ماتریکس همبستگی بر اساس صفات مورفومتیک در بین جمعیت‌های مختلف جنس ماده *Rana pseudodalmatina* بر اساس آنالیز PCA.

Characters		PC1	PC2	PC3
SVL		**0.958**	-0.076	-0.166
HW		**0.969**	-0.045	-0.091
HL		0.815	-0.328	-0.005
ID		0.855	-0.019	-0.074
DRO		0.694	-0.221	**0.494**
FL		0.943	0.074	-0.102
TL		0.826	**0.413**	-0.199
C.INT		0.725	-0.057	**0.523**
DP		0.323	**0.903**	0.197
LF		0.858	-0.125	-0.246
Eigenvalues	**of Variance%**	66.71	11.75	7.08
	Cumulative	**66.71**	**78.47**	**85.56**

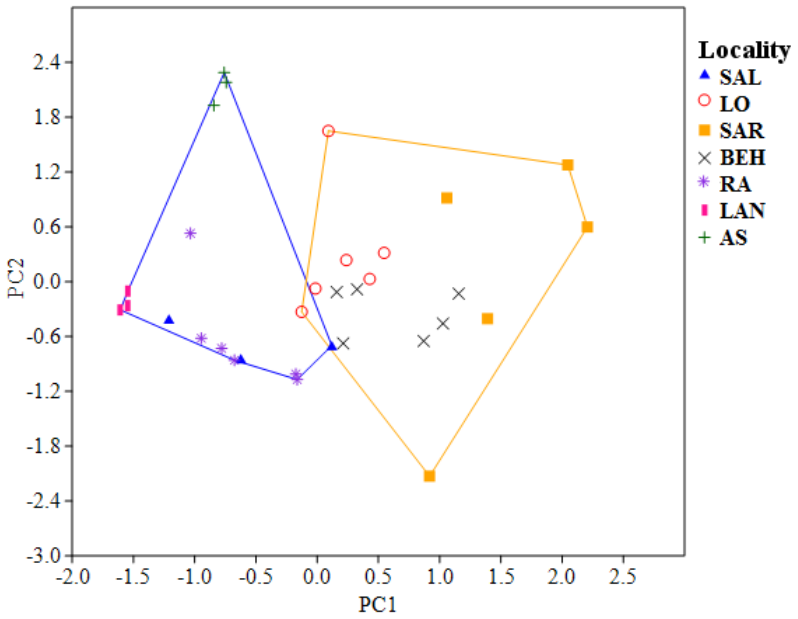
جدول ۸. بار عاملی در ۳ مؤلفه اول استخراج‌شده از ماتریکس همبستگی بر اساس صفات مورفومتیک در بین جمعیت‌های مختلف جنس نر *Rana pseudodalmatina* بر اساس آنالیز PCA.

Characters		PC1	PC2	PC3
SVL		**0.999**	0.015	0.032
HW		**0.987**	0.090	0.132
HL		0.811	0.351	**-0.468**
ID		0.896	0.318	0.312
DRO		-0.242	**0.967**	0.083
FL		0.293	-0.955	0.044
TL		0.514	-0.857	-0.031
LF		0.954	0.296	-0.040
Eigenvalues	**of Variance**	59.41	36.26	4.32
	Cumulative%	**59.41**	**95.67**	**100.00**

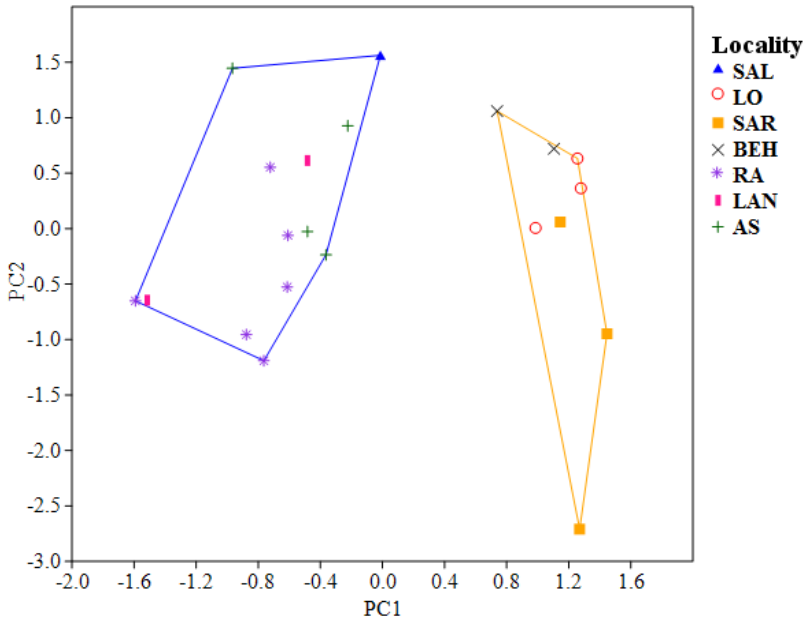
پس از انجام آزمون تحلیل چند متغیره به روش PCA، با استفاده از روش رگرسیون خطی نمودار پراکنش یا Scatter plot به‌طور جداگانه برای افراد ماده و نر گونه *R. pseudodalmatina* ترسیم شد (شکل‌های ۲ و ۳). تأثیر مؤلفه اول و دوم در جدایی جمعیت‌های مختلف هر دو جنس نر و ماده نشان می‌دهد که در برخی از جمعیت‌های *R. pseudodalmatina* الگوی جغرافیایی معناداری مشاهده می‌شود. براساس شکل‌های ۲ و ۳ تقریباً می‌توان بااستفاده از مؤلفه اول و دوم جمعیت‌های لوه (LO)، ساری (SAR) و بهشهر (BEH) را از سایر جمعیت‌ها جدا کرد.

بمنظور بررسی دقیق‌تر و بررسی صحت گروه‌بندی در بین جمعیت‌های *R. pseudodalmatina* در ایران براساس آنالیزهای چند متغیره (PCA)، از آنالیز تشخیص تابع

ممیزی (DFA) استفاده شد. بر اساس نتایج حاصل از مرحله قبل هفت جمعیت موردمطالعه در دو گروه طبقه-بندی شدند و آنالیزها روی این دو گروه انجام شد.



شکل ۲. نمودار PC1 در مقابل PC2 در صفات مورفومتریک در بین جمعیت‌های مختلف جنس ماده *Rana pseudodalmatina* در ایران. برای کد مکان‌های جغرافیایی به جدول (۱) مراجعه شود.



شکل ۳. نمودار PC1 در مقابل PC2 در صفات مورفومتریک در بین جمعیت‌های مختلف جنس نر *Rana pseudodalmatina* در ایران. برای کد مکان‌های جغرافیایی به جدول (۱) مراجعه شود.

در بررسی صفات اندازه‌گیری شده برای دو جنس ماده و نر، آنالیز تشخیص تابع ممیزی منجر به استخراج یک تابع معنی‌دار شد که ۱۰۰٪ از تغییرات و اختلافات بین جمعیتی را آشکار می‌کند (جدول ۹ و جدول ۱۱).

جدول ۹. بار عاملی در تابع استخراج‌شده از ماتریکس همبستگی بر اساس ۱۳ صفت مورفومتیک در جمعیت‌های مختلف جنس ماده *Rana pseudodalmatina*.

Characters		**Function 1**
SVL		**3.056**
HW		-1.311
HL		-0.437
ID		-0.783
DRO		0.187
FL		-0.212
TL		0.441
C.INT		-0.032
DP		-0.085
LF		-0.502
Eigenvalues	**of Variance**	100.0
	Cumulative%	100.0

جدول ۱۰. اعتبار گروه‌های تشکیل‌شده به کمک تحلیل ممیزی، ٪۹۷ از جمعیت‌های جنس ماده ***Rana pseudodalmatina*** در ایران به‌درستی گروه‌بندی شدند.

		Groups	**Predicted Group Membership**		**Total**
			1	**2**	
Original	Count	**1**	15	0	15
		2	0	17	17
	%	**1**	100.0	.0	100.0
		2	.0	100.0	100.0

a. 100.0% of original grouped cases correctly classified.

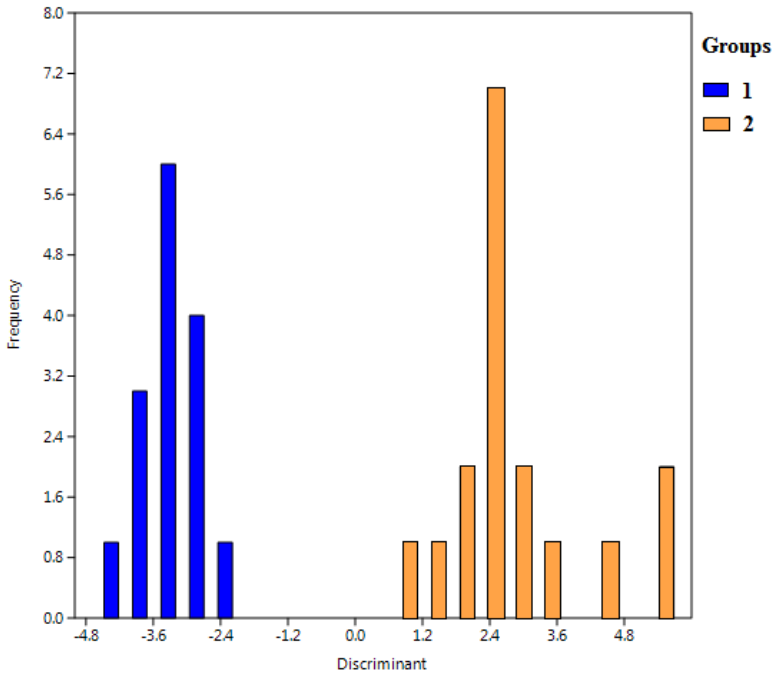
جدول ۱۱. بار عاملی در تابع استخراج‌شده از ماتریکس همبستگی بر اساس صفات مورفومتیک در جمعیت‌های مختلف جنس نر *Rana pseudodalmatina* در ایران.

Characters		**Function 1**
SVL		**-2.621**
HW		1.554
HL		0.127
ID		-0.111
DRO		0.206
FL		0.034
TL		0.028
Eigenvalues	**of Variance**	100.0
	Cumulative%	100.0

جدول ۱۲. اعتبار گروه‌های تشکیل‌شده به کمک تحلیل ممیزی، ٪۱۰۰ از جمعیت‌های جنس نر *Rana pseudodalmatina* در ایران به‌درستی گروه‌بندی شدند.

Groups			Predicted Group Membership		Total
			1	2	
Original	Count	1	13	0	13
		2	0	8	8
	%	1	100.0	.0	100.0
		2	.0	100.0	100.0

a. 100.0% of original grouped cases correctly classified.

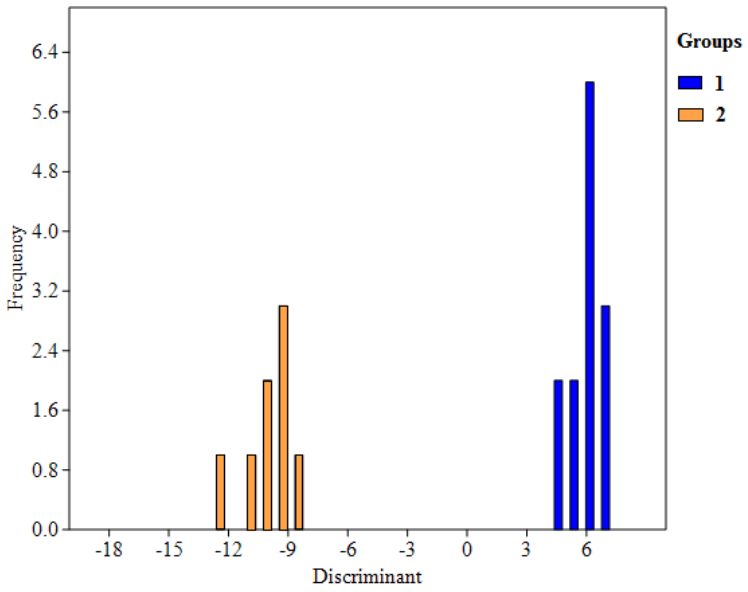


شکل ۴. نمودار تحلیل ممیزی حاصل از تابع متمایزکننده صفات مورفومتریک در بین جمعیت‌های مختلف جنس ماده *Rana pseudodalmatina* در ایران.

تأثیر این تابع در جدایی جمعیت‌های مختلف، به‌خوبی نمایانگر وجود تفاوت معنی داری در الگوی جغرافیایی در بین جمعیت‌های *R. pseudodalmatina* است. در جدول (۹) و جدول (۱۱) صفات دارای ارزش در تحلیل ممیزی بترتیب برای جنس ماده و نر ارائه‌شده است. در هر دو جنس صفت SVL بیشترین تأثیر را در تابع ممیزی داشته است. همچنین جمعیت‌ها با بیشترین میزان بار عاملی به میزان ٪۹۷ برای جنس ماده (جدول ۱۰، شکل ۴) و ٪۱۰۰ برای جنس نر در گروه‌های فرضی خود به‌درستی گروه‌بندی شدند (جدول ۱۲، شکل ۵).

تحلیل خوشه‌ای بمنظور ارزیابی تعیین درجه شباهت و عدم شباهت بین جمعیت‌ها صورت گرفت. نتایج تحلیل خوشه‌ای جمعیت‌های *R. pseudodalmatina* براساس روش میانگین حسابی بین گروهی غیروزنی (UPGMA) نشان می‌دهد که جمعیت‌های گروه ۱ که شامل جمعیت-های رشت (RA)، سلمان شهر (SAL)، لنگرود (LAN) و آستارا (AS) می‌شود، در یک‌فاصله یکسان به یکدیگر متصل شده و یک خوشه مشترکی را با یکدیگر تشکیل داده‌اند و جدا از جمعیت‌های گروه ۲ که شامل جمعیت-

های لوه (LO)، ساری (SAR) و بهشهر (BEH) می‌شود، قرارگرفته‌اند.



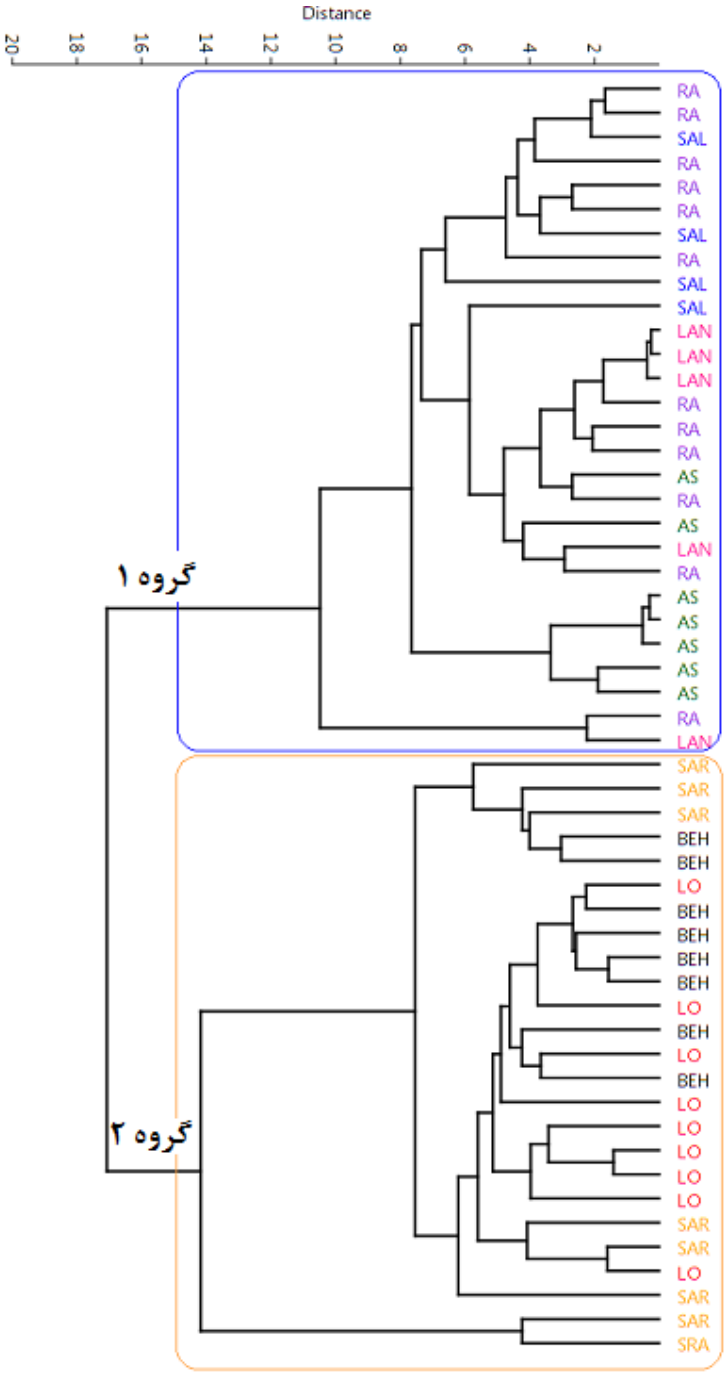
شکل ۵. نمودار تحلیل ممیزی حاصل از تابع متمایزکننده صفات مورفومتریک در بین جمعیت‌های مختلف جنس نر *Rana pseudodalmatina* در ایران.

در شکل (۶) دندروگرام حاصل از تحلیل خوشه‌ای ارائه‌شده است. درنهایت براساس نتایج مطالعه حاضر براساس صفات مورفومتریک دو گروه مجزا به لحاظ جغرافیایی در بین جمعیت‌های *R. pseudodalmatina* مشخص شد: ۱) جمعیت‌های غرب دریای خزر (گروه ۱)، ۲) جمعیت‌های شرق دریای خزر (گروه ۲).

بحث

دوریختی جنسی به معنای تفاوت‌های ظاهری بین نرها و ماده‌ها است که می‌تواند در صفاتی همچون رنگ، شکل، رفتار و بخصوص اندازه صفات نمود یابد (۱۷و ۲۶). مطالعات گذشته نشان می‌دهند که غالباً در دوزیستان بی دم ماده‌ها ازنظر اندازه بزرگتر از نرها هستند (۱۶و ۲۰). در مطالعه‌ای که بر روی قورباغه قهوه‌ای فلاتی (*Rana kukunoris*) توسط فنگ و همکاران (۲۰۱۵) صورت گرفت بیان شد که دوریختی جنسی در این‌گونه مشاهده می‌شود و ماده‌ها از نرها بزرگتر (Female biased SSD) هستند (۱۱). همچنین در مطالعه‌ی دیگری که روی *Rana catesbeiana* در جنوب شرق چین صورت گرفت وجود دوریختی ازنظر اندازه (SSD) در این‌گونه تأیید و بیان شد که ماده‌ها بزرگتر از نرها هستند (۱۶). نتایج بدست آمده از یک مطالعه‌ی جامع که روی ۳۹ گونه دوزیست بی‌دم صورت پذیرفته است نشان می‌دهد که در ۳۶ گونه موردمطالعه ماده‌ها بزرگتر از نرها هستند و تنها در سه گونه نرها از ماده‌ها بزرگتراند (۱۶). علی‌رغم تنوع رنگی فوق‌العاده در بین قورباغه‌های آبی و شناسایی ریخت‌های مختلفی از آنها (۴)، پسرکلو و همکاران (۱۳۹۴) در مطالعه‌ی دوریختی جنسی در قورباغه‌های آبی (*Plesophylax*) از نظر آماری هیچ گونه ارتباط معنی داری بین جنسیت و صفات مورفومتریک یافت نکردند (۳). این نتیجه در مورد قورباغه‌های آبی استان لرستان قبلاً توسط نجیب‌زاده (۱۳۸۹) در مطالعه دوزیستان بی‌دم استان لرستان تصریح شده بود (۵). علاوه‌براین در مطالعه‌ای که توسط اوکول وا و همکاران (۱۹۹۷) بر روی گونه‌های *P. lessonae* و *P. Ridibundus* صورت گرفت بیان شد که دوریختی جنسی بین جمعیت‌های نر و ماده *P. lessonae*

دیده می‌شود ولی هیچ‌گونه دوریختی بین نمونه‌های نر و ماده *P. ridibundus* مشاهده نشده است (۲۳). در مطالعه حاضر، دوریختی جنسی در ۵۳ نمونه از گونه *R. pseudodalmatina* با اندازه‌گیری ۱۳صفت مورفومتریک و تجزیه تحلیل آماری مستقل آنها موردتوجه قرارگرفت.



شکل ۶. دندروگرام حاصل از تحلیل خوشه‌ای صفات مورفومتریک مربوط به جمعیت‌های مختلف *Rana pseudodalmatina* در ایران. برای کد مکان‌های جغرافیایی به جدول (۷-۳) مراجعه شود.

نتایج آماری نشان داد که ارتباطی معنادار بین جنسیت و صفات ریختی اندازه‌گیری شده وجود دارد. بدین ترتیب، نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز در راستای موافقت با الگوی غالب در دوزیستان بی‌دم نشان می‌دهد که صفات ریختی در ماده‌ها بطورمعناداری از نرها بزرگتر هستند. نتایج ریخت‌شناسی حاکی از وجود تنوع درون‌گونه‌ای بالایی در میان جمعیت‌های قورباغه هیرکانی است که الگوی جغرافیایی معناداری را در بین جمعیت‌های گونه *R. pseudodalmatina* به نمایش می‌گذارند. برمبنای نتایج ریخت‌شناسی به‌دست‌آمده دراین مطالعه جمعیت‌های گونه *R. pseudodalmatina* در ده صفت از ۱۳ صفت تاکسوتومیک موردبررسی قرارگرفته معنادار بود و نشان از تنوع درون جمعیتی قورباغه‌های جنگلی داشت. نتایج تحلیل‌های چند متغیره بر روی صفات ریخت‌شناسی به‌راحتی قادر به کشف الگوی جغرافیایی معنادار در بین جمعیت‌های قورباغه جنگلی هیرکانی شدند که کاملاً با نتایج بدست آمده از داده‌های مولکولی (۲۲) همخوانی دارد. برمبنای نتایج آزمون‌های آماری ریخت‌شناسی جمعیت‌های قورباغه‌های جنگلی در دو گروه شرق و غرب دریای خزر قرارگرفتند. نتایج آزمون‌های مؤلفه اصلی، تابع ممیزی و خوشه‌ای به‌روشنی وجود دو گروه اصلی در میان جمعیت‌های قورباغه‌های گونه *R. pseudodalmatina* ایران را نشان می‌دهند. برطبق این نتایج جمعیت‌های قورباغه جنگلی لوه (LO)، ساری (SAR) و بهشهر (BEH) از سایر جمعیت‌ها (رشت (RA)، سلمان شهر (SAL)، لنگرود (LAN) و آستارا (AS)) جدا می‌شوند که دراین بین صفت طول بدن (SVL) بیشترین تأثیرگذاری را دارد. بنظر می‌رسد که دریای خزر می‌توانسته بر روی توزیع و تنوع ریختی و ژنتیکی جمعیت‌های قورباغه جنگلی بسیار مؤثر باشد. جنگل‌های هیرکانی در حاشیه جنوبی دریای خزر به‌صورت کمانی از تالش در آذربایجان تا پارک ملی گلستان کشیده شده است (۱۹). با نگاهی به نقشه پراکنش این جنگل‌ها می‌توان فهمید که نواحی جنگلی بین دریا در سمت شمال و رشته‌کوه‌های البرز در سمت جنوب خود محصور شده است (۶). به نظر می‌رسد که در طی آخرین عصر یخبندان دریای خزر بسیار بزرگتر از آن چیزی بوده که ما امروزه شاهد آن هستیم (۳۲). یانکو هوموباک و همکاران (۲۰۱۰) پیشنهاد داده‌اند که سطح دریای خزر در آخرین عصر یخبندان بیش از ۵۰ متر بالاتر از سطح کنونی بوده است (۳۲). محتمل است که بالا آمدن آب دریا می‌توانسته بر روی جنگل‌ها و جانوران نواحی پست در سمت شرق و غرب جنگل‌های هیرکانی تأثیرگذار باشد. این رویداد ممکن است به‌واسطه زیرآب رفتن جنگل‌ها در نواحی البرز مرکزی که امروز نیز فاصله کوه به دریا در این محدوده بسیار نزدیک است، روی‌داده باشد. چنین شرایطی نهایتاً منجر به ایزوله شدن زیستگاه‌های غربی و شرقی گونه *R. pseudodalmatina* از یکدیگر شده است. در ادامه به نظر می‌رسد، کاهش بارندگی و بدنبال آن افزایش سطوح خشکی، تغییر کاربری و از بین بردن پوشش‌های جنگلی، گسترش کشاورزی و شهرنشینی به داخل جنگل‌ها بر روی مسیرهای حرکتی و مهاجرتی دوزیستان تأثیر گذاشته است (۳۰). متأسفانه در طی مطالعات بر روی قورباغه قهوه‌ای جنگل‌های هیرکانی شاهد از بین رفتن زیستگاه‌های متعددی به‌واسطه برداشت تجاری چوب از جنگل و همچنین جاده سازی‌های درون جنگل بودیم. سرانجام چنین فعالیت‌هایی که منتج به از بین رفتن جنگل‌ها می‌شود ممکن است منجر به ایزوله شدن هرچه بیشتر جمعیت‌ها و قطع شدن ارتباط بین آنها و از میان رفتن جریان ژنی بین جمعیت‌ها شود (۳۰).

منابع

۱. بلوچ، م.، و کمی، ح.، ۱۳۷۳. دوزیستان ایران، دانشگاه تهران، موسسه انتشارات و دانشگاه تهران، چاپ اول، صفحات ۱۶۰-۱۵۹.

۲. پسرکلو، ع.، قارزی، ا.، کمی، ح.، و نجیب‌زاده، م.، ۱۳۹۱. مطالعه زیست‌شناسی تولیدمثل در قورباغه جنگلی در استان گلستان (مینودشت)، مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۵(۱)، صفحات۵۵-۶۳.

۳. پسرکلو، ع.، ۱۳۹۴. مطالعه کمپلکس ***Rana ridibundus*** در ایران با کمک داده‌های ریختی، مولکولی و اکولوژیکی، پایان‌نامه دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، شماره صفحه ۹۱.

۴. پسرکلو، ع.، قارزی، ا.، کمی، ح.، و همایونی، م.، ۱۳۹۰. مطالعه چندریختی رنگی در قورباغه مردابی در استان گلستان، مجله زیست‌شناسی ایران،۲۴ (۳)، صفحات ۴۴۶-۴۵۵.

۵. نجیب زاده، م.، ۱۳۸۹. مطالعه بیوسیستماتیکی بی دمان استان لرستان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی، شماره صفحه ۱۱۵.

6. Akhani, H., Djamali, M., Ghorbanalizadeh, A., and Ramezani, E., 2010. Plant biodiversity of Hyrcanian relict forests, Iran: an overview of the flora, vegetation, palaeoecology and conservation. Pakistan Journal of Botany, Special Issue (S.I. Ali Festschrift), 42, PP: 231-258.

7. Baran, I., and Atatür, M. K., 1998. Turkish herpetofauna (amphibians and reptiles).Turkish Ministry of Environment, Ankara.

8. Castellano, S., Giacoma, C., and Dujsebayeva, T., 2000. Morphometric and advertisement call geographic variation in polyploidy green toads. Biological Journal of the Linnean Society, 70, PP: 341–360.

9. Dayrat, B., 2005. Towards integrative taxonomy. Biological Journal of the Linnean Society, 85(3), PP: 407–415. doi:10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x.

10. Dubois, A., 1986. Diagnose pre´liminaire d'un nouveau genre de Ranoidea (amphibiens, anoures) du sud de l'Inde. Alytes, 4, PP: 113–118.

11. Feng, X., Chen, W., Junhua, H. U., and Jiang, J., 2015. Variation and Sexual Dimorphism of Body Size in the Plateau Brown Frog along an Altitudinal Gradient. Asian Herpetological Research, 6(4), PP: 291–297.

12. Gasc, J. P., Cabela, A., Crnobrnja-Isailovic, J., Dolmen, D., Grossenbacher, K., Haffner, P., Lescure, J., Martens, H., Martiinez-Rica, J. P., Maurin, H., Oliveira, M. E., Sofianidou, T. S., Veith, M., and Zuiderwijk, A., 1997. Atlas of amphibians and reptiles in Europe. Societas Europaea Herpetologica and Museum national d_Histoire naturelle. Paris, PP: 1–496.

13. Geraghty, P. T., Williamson, J. E., Macbeth, W. G., Wintner, S. P., Harry, A. V., Ovenden, J. R., and Gillings, M. R., 2013. Population Expansion and Genetic Structure in *Carcharhinus brevipinna* in the Southern Indo-Pacific. PLoS ONE. 8(9): e75169. doi:10.1371/journal.pone.0075169.

14. Jafari, S. M., Zarre, S., and Alavipanah, S. K., 2013. Woody Species Diversity and Forest Structure from Lowland to Montane Forest in Hyrcanian Forest Ecoregion. Journal of Mountain Science, 10(4), PP: 609–620.

15. Lee, J. C., 1993. Geographic variation in size and shape of Neotropical frogs: A precipitation gradient analysis. Occasional Papers of the Museum of Natural History, University of Kansas, 163, PP: 1–20.

16. Liao, W. B., Zeng, Y., Zhou, C. Q., and Jehle, R., 2013. Sexual size dimorphism in anurans fails to obey Rensch's rule. Frontiers in Zoology, doi: 10.1186/1742-9994-PP: 10-10.

17. Lowe, K., and Hero, J. M., 2012. Sexual Dimorphism and Color Polymorphism in the Wallum Sedge Frog (*Litoriaolongburensis*). Herpetological Review, 43, PP: 236–240.

18. Mendelson, J. R., 1998. Geographic variation in *Bufo valliceps* (Anura: Bufonidae), a widespread toad in the United States and Middle America. Scientific Papers of the Natural History Museum. The University of Kansas, 8, PP: 1–12.

19. Miller, A. G., 1994. Hyrcanian forests, Iran and Azerbaijan. In: Davis, S.D., Heywood, V.H. and Hamilton, A.C. (eds.) Centres of Plant Diversity, a Guide and Strategy for their Conservation Oxford, IUCN, 1, PP: 343-344.

20. Monnet, J. M., and Cherry, M. I., 2002. Sexual size dimorphism in anurans. Proceedings of the Royal Society of London, Series B, 269, PP: 2301-2307.

21. Najibzadeh, M., Gharzi, A., Rastegar-Pouyani, N., Rastegar-Pouyani, E., and Pesarakloo, A., 2017(b). Habitat Suitability for the Habitat suitability and patterns of sex-biased migration of the Iranian long-legged wood frog, Rana pseudodalmatina (Anura: Ranidae). Biologia, 72(6), PP: 686-693.

22. Najibzadeh, M., Veith, M., Gharzi, A., Rastegar-Pouyani, N., Rastegar-Pouyani, E., Kieren, S., and Pesarakloo, A., 2017(a). Molecular phylogenetic relationships among Anatolian-Hyrcanian brown frog taxa (Ranidae: *Rana*). Amphibia-Reptilia, 38, PP: 339-350.

23. Okulova, N., Borkin, L. Y., Bogdanov, A. S., and Guseva, A. Y., 1997. The green grogs in Levanovo provinces. Advances in Amphibian research in the former. 2, PP: 71-97.

24. Palumbi, S. R., 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. Annual Review of Ecology and Systematics. 25: 547-572. doi: 10.1146/ annurev.es.25.110194.002555.

25. Plötner, J., Becker, C., and Plötner, K., 1994. Morphometric and DNA investigations into European water frogs (*Rana* kl. *esculenta*Synklepton?? (Anura, Ranidae)) From different population systems. Journal of zoological systematics and evolutionary research. 32, PP: 193-210.

26. Rastegar-Pouyani, N., Takesh, M., Fattahi, A., and Browne, R., 2013. Sexual size dimorphism in the yellow-spotted newt, *Neurergus microspilotus* Nesterov, 1916 (Caudata: Salamandridae), from Kermanshah province, western Iran. Russian Journal of Herpetology, 20, PP: 51 – 55.

27. Riedel, A., Sagata, K., Suhardjono, Y. R., Tänzler, R., and Balke, M., 2013. Integrative taxonomy on the fast track – towards more sustainability in biodiversity research. Frontiers in Zoology. 10(15). doi: 10.1186/1742-9994-10-15.

28. Rissler, L. J., and Apodaca, J. J., 2007. Adding more ecology into species delimitation: ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the black salamander (*Aneides flavipunctatus*). Systematic Biology, 56, PP: 924–942.

29. Sinsch, U., and Schneider, H., 1999. Taxonomic reassessment of Middle Eastern water frogs: Morphological variation among populations considered as*Rana ridibunda, R. bedriagae*or*, R. levantina*. Journal of Zoological and Systematic Evolulation Resarch, 37, PP: 67–74.

30. Todd, B. D., Luhring, T. M., Rothermel, B. B., and Gibbons, J. W., 2009. Effects of forest removal on amphibian migrations: implications for habitat and landscape connectivity. Journal of Applied Ecology, 46, PP: 554–561.

31. Wiens, J. J., Parra-Olea, G., Garcia-Paris, M., and Wake, D. B., 2007. Phylogenetic history underlies elevational biodiversity patterns in tropical salamanders. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 274(1612), PP: 919–928. doi:10.1098/rspb.2006.0301.

32. Yanko-Hombach, V., Kroonenberg, S., and Leroy, S. A. G., 2010. Caspian-Black Sea-Mediterranean Corridors during the last 30 ka: Sea level change and human adaptive strategies proceedings of IGCP 521 and 481 INQUA 501 Third Plenary Meeting and Field Trip. Quaternary International. doi: 10.1016/ j.quaint.2010.06 .014.

Investigation of the morphological variation in Hyrcanian brown frog (*Rana pseudodalmatina* Eiselt & Schmidtler, 1971)

Najibzadeh M.[1], Pesarakloo A.R.[2], Gharzi A.[1], Rastegar-Pouyani N.A.[1] and Rastegar-Pouyani E.[3]

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

[2] Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, I.R. of Iran

[3]Dept. of Biology, Faculty of science, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, I.R. of Iran

Abstract

Rana pseudodalmatina Eiselt & Schmidtler, 1971 is a brown frog species endemic to the Hyrcanian forest**.** The Hyrcanian wood frog, is distributed in the southern margin of the Caspian Sea in the lowland forest. Here, we used a broad sampling of these frogs across their distribution range to assess their morphological variation and structure of populations. In order to investigation of the morphological variation in Hyrcanian wood frog, 13 morphological characters in more than 53 specimens were studied. Statistical significance for a hypothesis of sexual dimorphism of the frogs was tested using ANOVA to compare difference of means of each character between sexes and of a multivariate analysis of variances (MANOVA) to compare vectors of means of the two sexes. Patterns of phenetic relationships between local populations were investigated by one way ANOVA, Principal component analysis (PCA), discriminant function analysis (DFA) and clustering analyses with UPGMA algorithm. Results of compare mean ANOVA between sexes in *R. pseudodalmatina* showed statistical significances for five characters and Multivariate analysis of variances indicated difference between mean vectors of the males and females ($P \leq 0.05$). In the intraspecific level, based on morphometric characters, there are at least two main populations of *R. pseudodalmatina* in the northern Iran: an eastern group (Loveh, Behshahr, Sari) and a western group (Salmanshahr, Langarud, Rasht, Astara).

Key words: Ranidae, *Rana*, *R. pseudodalmatina*, Morphological variation, Population structure.