

Research Article

Morphometry and Karyology of the green toad (*Bufotes viridis*) in central Iran

Fatemeh Fakharzadeh *, Zahra Ranjbari, Mehran Dorostghoal

Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Key Words

Aran Va Bidgol
Green toad
Karyology
Morphometry
Najaf Abad

Abstract

Introduction: *Bufotes viridis* is distributed in the western half and central of Iran, but there is not much information about the populations located in central Iran.

Materials & Methods: In the present study, 39 green toads were collected from the spring of 2021 to the spring of 2022 from Najaf Abad and Aran Va Bidgol regions of Isfahan province. 17 morphometric characters were measured and chromosome studies were performed through bone marrow extraction.

Results: The results of the t test showed that there is sexual dimorphism in the studied populations. The results of descriptive statistics for both males and females showed that Aran Bidgol toads are larger in size than Najafabad toads. The results of the discriminant analysis show that Aran Bidgol and Najafabad toads are largely distinct from each other. Karyological results of *Bufotes viridis* from the two regions of Najafabad and Aran and Bidgol specified that these toads have a chromosome set of $2n=22$. In the toads of both regions, there were 6 large and 5 small chromosome pairs, and in both regions, 3th and 7th pairs of chromosomes were submetacentric and the rest of them were metacentric.

Conclusion: The study of populations of green toads in central Iran and its comparison with the populations of the western half of Iran shows intraspecies differences in terms of chromosomes.

Article info

* Corresponding Author's email:
f.fakharzadeh@scu.ac.ir
ffakharzadeh2015@gmail.com

Received: 21 February 2025

Reviewed: 29 March 2029

Revised: 9 June 2025

Accepted: 14 July 2025

مقاله علمی - پژوهشی

ریخت‌سنجی و کاربولوجی وزغ سبز (*Bufo viridis*) در مرکز ایرانفاطمه فخارزاده^{*}، زهرا رنجبری، مهران درست‌قول

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

کلمات کلیدی

چکیده

آران و بیدگل
ریخت‌سنجی
کاربولوجی
نجف‌آباد
وزغ سبز

مقدمه: گونه *Bufo viridis* در نیمه غربی و مرکز ایران پراکنش دارد اما اطلاعات چندانی در مورد جمعیت‌های واقع در ایران مرکزی وجود ندارد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ۳۹ عدد وزغ سبز از بهار ۱۴۰۰ تا بهار ۱۴۰۱ از مناطق نجف‌آباد و آران و بیدگل در استان اصفهان جمع‌آوری شدند. ۱۷ صفت ریخت‌سنجی اندازه‌گیری شد و مطالعات کروموزومی از طریق استخراج مغز استخوان انجام گرفت. نتایج آزمون t نشان داد که دوریختی جنسی در جمعیت‌های مورد مطالعه وجود دارد.

نتایج: نتایج آمار توصیفی چه در مورد نرها و چه ماده‌ها نشان داد که از نظر اندازه وزغ‌های آران و بیدگل از وزغ‌های نجف‌آباد بزرگ‌تر هستند. نتایج تحلیل ممیزی نشان می‌دهد که وزغ‌های دو منطقه مورد مطالعه تا حد زیادی از یکدیگر متمایزند. نتایج کاربولوجی گونه *Bufo viridis* از دو منطقه نجف‌آباد و آران و بیدگل مشخص کرد که این وزغ‌ها دارای مجموعه کروموزومی $2n=22$ هستند. در وزغ‌های هر دو منطقه ۶ جفت کروموزوم بزرگ و ۵ جفت کوچک وجود داشت که در هر دو منطقه جفت ۳ و ۷ ساب‌متاساتریک و بقیه متاساتریک بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: مطالعه جمعیت‌های وزغ سبز در ایران مرکزی و مقایسه آن با جمعیت‌های نیمه غربی ایران تفاوت‌های درون‌گونه‌ای را از نظر کروموزومی نشان می‌دهند.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
f.fakharzadeh@scu.ac.ir
ffakharzadeh2015@gmail.com

تاریخ دریافت: ۳ اسفند ۱۴۰۳
تاریخ داوری: ۹ فروردین ۱۴۰۴
تاریخ اصلاح: ۱۹ خرداد ۱۴۰۴
تاریخ پذیرش: ۲۳ تیر ۱۴۰۴

مقدمه

یکسان است (۸، ۹). نتایج پژوهشی دیگر که در مورد وزغ سبز در مناطق شوش، هندیجان و خرمشهر از استان خوزستان انجام شده است، نشان داد که همگی وزغ‌ها دیپلوئید هستند و در هر سه منطقه چهارمین و هفتمین جفت‌های کروموزومی ساب‌متاستریک و بقیه متاستریک هستند (۲۰). تاکنون مطالعات قابل توجهی بر روی این گونه در نیمه غربی انجام شده است. اما اطلاعات چندانی در مورد جمعیت‌های واقع در ایران مرکزی وجود ندارد. لذا در این پژوهش به بررسی بیوسستماتیکی جمعیت‌های گونه وزغ سبز در دو منطقه آران و بیدگل و نجف آباد استان اصفهان واقع در مرکز ایران خواهیم پرداخت.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری: در مطالعه حاضر تعداد ۳۹ نمونه وزغ سبز از بهار ۱۴۰۰ تا بهار ۱۴۰۱ از مناطق نجف آباد و آران و بیدگل در استان اصفهان (شکل ۱) جمع‌آوری شدند. آران و بیدگل در شمال استان اصفهان قرار دارد. ارتفاع متوسط شهرستان آران و بیدگل ۹۵۰ متر از سطح دریا می‌باشد. آب و هوای این منطقه گرم و خشک است. تابستان‌های آن گرم و سوزان و زمستان‌ها سرد و خشک می‌باشد. نجف آباد در دشتی با آب و هوای معتدل و نسبتاً خشک واقع شده است. این منطقه در ارتفاع ۱۶۵۰ متری از سطح دریا قرار دارد (۲۱). وزغ‌های سبز صید شده به صورت زنده به آزمایشگاه تحقیقاتی بیوسستماتیک جانوری دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شدند. نمونه‌ها با دست صید شدند. اطلاعات مناطق نمونه‌برداری و تعداد نمونه‌های جمع‌آوری شده در هر منطقه در جدول ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱: نقشه استان اصفهان و مناطق نمونه‌برداری (آران و بیدگل ▲، نجف‌آباد ■)

دوزیستان امروزی شامل سه راسته هستند. راسته اول، دوزیستان فاقد اندام‌های حرکتی (Gymnophyona)، گروه کوچکی هستند که اندام‌های حرکتی ندارند و در مناطق حاره به جزء اقیانوس‌ها و استرالیا زندگی می‌کنند. راسته دوم، دوزیستان دم‌دار (Caudata) هستند که شکل چهارپایان اجدادی پالئوزوئیک خود را حفظ کرده‌اند. این راسته در اوراسیای پاله آرکتیک، شمال آفریقا و قاره آمریکا پراکنش دارد. راسته سوم، دوزیستان بی‌دم (Anura) هستند که بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین دوزیستان امروزی می‌باشند و شامل قورباغه‌ها و وزغ‌ها هستند (۱). دوزیستان بی‌دم راسته‌ای با پراکنش جهان‌وطنی (به جزء شمالی‌ترین عرض‌های جغرافیایی، قطب جنوب و اکثریت جزائر اقیانوسی) است (۳). از دوزیستان بی‌دم ۵ خانواده در ایران وجود دارد. خانواده Bufonidae خانواده‌ای جهان‌وطنی است و ۶۵۷ گونه در جهان دارد. از این خانواده سه جنس (*Bufotes*, *Bufo*, *Duttaphrynus*) و ۸ گونه در ایران وجود دارد (۳). جنس *Bufotes* از نظر آرایه شناختی یکی از مشکل‌دارترین جنس‌ها در خانواده بوفونیده است. اعضای این جنس همگی متعلق به کمپلکس وزغ سبز (*Bufotes viridis complex*) هستند. این گروه گونه‌ای تنها مجموعه شناخته شده دوزیستان بی‌دم است که شامل آرایه‌های دیپلوئید، تتراپلوئید و تریپلوئیدی است که به صورت دو جنسی تولیدمثل می‌کند و به‌طور گسترده در قلمرو پاله آرکتیک گسترش یافته است. کمپلکس وزغ سبز در سرتاسر ایران پراکنش دارد و هر سه سطح پلوئیدی در ایران یافت می‌شود (۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹). گونه دیپلوئید وزغ سبز (*Bufotes viridis*) یکی از اعضاء این کمپلکس است که در نیمه غربی و مرکز ایران پراکنش دارد. این گونه قبلاً با نام‌های *B. variabilis* و *B. sitibundus* شناخته می‌شدند (۳، ۶، ۱۰). وزغ سبز گونه‌ای انعطاف‌پذیر است که با شرایط محیطی مختلف و زیستگاه‌های متنوع سازگار شده است (۱۰، ۱۱) به دلیل تحمل اکولوژیکی زیادی که دارد فراوان‌ترین وزغی است که در ایران یافت می‌شود. از آنجایی که در برابر خشک شدن بسیار مقاوم است، زیستگاه‌های خشک، شنی یا سنگی را تحمل می‌کند (۱۲، ۱۳). مطالعات زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد این گونه می‌تواند مکان‌های جدید را اشغال کند و زنده بماند، حتی در مناطقی که به شدت تغییر یافته است نیز می‌تواند زندگی کند (۱۲، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹). منابع قدیمی اشاره‌ای به وجود این گونه در مرکز ایران نکرده‌اند، اما در گذشته سه زیرگونه از این گونه در نیمه غربی ایران گزارش شده بود (۱). جمعیت‌های وزغ سبز از شمال غرب ایران به سمت جنوب شرق همگی دیپلوئید بوده و تعداد کروموزوم‌های ساب‌متاستریک در همه جمعیت‌ها

جدول ۱: مشخصات ایستگاه‌های نمونه‌برداری و تعداد نمونه‌های هر منطقه

ایستگاه‌ها	مکان‌های نمونه‌برداری	طول و عرض جغرافیایی	ارتفاع (متر)	تعداد وزغ‌ها (<i>B. viridis</i>)
آران و بیدگل نجف‌آباد	مزرعه مبارکه بالا	۳۴° ۰۱'، ۵۱° ۳۰'	۹۱۶	۱۸
	قهدریجان	۳۲° ۳۲'، ۵۱° ۲۳'	۱۶۲۰	۲۱

مطالعات ریختی و ریخت‌سنجی: بررسی صفات ریخت‌سنجی

خصوصاً در مورد خزندگان و دوزیستان برای تعیین حد و مرز گونه، تحلیل‌های تبارزایی و حتی درک تغییر تکاملی در ویژگی‌های فیزیکی یک ارگانیزم از ضروریات است (۲۲). ریخت‌شناسی از طریق ریخت‌سنجی صفات کمی، قابل ارزیابی است تا تنوع ریختی درون گونه‌ای و بین گونه‌ای مشخص شود (۲۳). صفات ریخت‌سنجی معمولاً به صورت چندژنی به ارث می‌رسند و در رابطه با عوامل محیطی انعطاف‌پذیری قابل توجهی دارند. این انعطاف‌پذیری می‌تواند منجر به تنوع جغرافیایی از نظر ریخت‌شناسی شود (۲۴). صفات ریخت‌سنجی مورد استفاده در این پژوهش صفاتی هستند که از مقالات و کتب معتبر (۱، ۴) استخراج شده و در شناسایی و رده‌بندی دوزیستان و درک تنوع

درون گونه‌ای حائز اهمیت است. از سطوح پستی، شکمی و جانبی نمونه‌ها عکس گرفته شد. برای شناسایی نمونه‌های صید شده از کلیدهای معتبر موجود استفاده شد (۱). تعداد ۱۷ صفت ریخت‌سنجی که در جدول ۲ نام و مشخصات آن‌ها آمده است، توسط کولیس دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شدند (۱، ۴). تنها وزغ‌های بالغ در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند. جنسیت نمونه‌ها از طریق وجود (جنس نر) یا عدم وجود برجستگی‌های جنسی (جنس ماده) در اندام حرکتی جلویی مشخص شد. جهت آنالیزهای آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS۲۴ استفاده گردید. لازم به ذکر است که در این تحلیل‌ها تمام اندازه‌ها به غیر از SVL (اندازه بدن) به اندازه بدن تقسیم شدند تا اثر اندازه بدن حذف شود.

جدول ۲: صفات ریخت‌سنجی مورد مطالعه به همراه توضیحات و علائم اختصاری آن‌ها

ردیف	نام صفت	علامت اختصاری	توضیحات
۱	طول بدن	SVL	از شکاف کلواک تا نوک پوزه
۲	طول ران	THL	از مرکز شکاف کلواک تا بخش انتهایی ران
۳	طول ساق	TL	اندازه ساق
۴	طول مچ	TAL	اندازه مچ
۵	طول سر	HL	از نوک پوزه تا قسمت خلفی پرده صماخ
۶	فاصله پوزه تا چشم	ESD	از نوک پوزه تا لبه جلویی چشم
۷	فاصله پلک‌ها	UED	کم‌ترین فاصله‌ها
۸	عرض پلک فوقانی	UEW	عرض پلک‌های بالایی
۹	قطر افقی چشم	ED	فاصله گوشه عقبی تا جلویی چشم
۱۰	اندازه پرده صماخ	DT	قطر پرده صماخ
۱۱	طول پا	FL	از برآمدگی داخلی پا تا نوک بزرگ‌ترین انگشت
۱۲	طول اولین انگشت پا	LFT	از انتهای برآمدگی داخلی تا انتهای اولین انگشت اندام‌های عقبی
۱۳	طول برجستگی داخلی پا	LMT	بیش‌ترین اندازه برآمدگی داخلی پا
۱۴	طول غده پاروتوئید	PL	طول غده
۱۵	عرض غده پاروتوئید	PW	عرض غده
۱۶	فاصله چشم تا نوستریل‌ها	NED	فاصله گوشه جلویی چشم تا نوستریل‌ها
۱۷	فاصله نوستریل‌ها	IND	فاصله بین سوراخ‌های بینی

کاربولوژی: جهت آماده‌سازی نمونه‌ها از روش Schmid (1978)

استفاده شد (۲۵). ۱۲ تا ۱۶ ساعت قبل از مرگ جانور محلول کلشی سین ۰/۳ درصد به زیر پوست شکم تزریق شد. سپس مغز استخوان وزغ از ران آن استخراج و در محلول هیپوتونیک KCL ۰/۰۷۵ مولار قرار داده شد. محلول به دست آمده را به مدت ۴۵ تا ۵۰ دقیقه در

محیط آزمایشگاه قرار داده سپس آن را سانتریفیوژ کرده و بر روی رسوب حاصل محلول حاوی متانول و اسیداستیک به ترتیب به نسبت سه به یک (محلول فیکساتیو) ریخته و دوباره سانتریفیوژ شد. این مرحله یک بار دیگر نیز تکرار شد. در نهایت بر روی رسوب حاصل محلول فیکساتیو ریخته و بر روی هر یک از لام‌های یخ زده چند

جدول ۳: نتایج آزمون t در گونه *B. viridis*

صفات	سطح معنی داری (Sig)	درجه آزادی (df)	Sig/ (2-tailed)
SVL	۰/۳۹	۳۷	۰/۲۶
HL/SVL	۰/۹۵	۳۷	۰/۰۳
ESD/SVL	۰/۸۶	۳۷	۰/۰۱
IND/SVL	۰/۲۸	۳۷	۰/۳۳
UED/SVL	۰/۳۷	۳۷	۰/۳۶
UEW/SVL	۰/۳۸	۳۷	۰/۷۵
ED/SVL	۰/۵۵	۳۷	۰/۰۲
DT/SVL	۰/۷۵	۳۷	۰/۱۹
THL/SVL	۰/۴۸	۳۷	۰/۰۰
TL/SVL	۰/۵۵	۳۷	۰/۰۰
TAL/SVL	۰/۱۹	۳۶	۰/۰۰
FL/SVL	۰/۴۷	۳۷	۰/۰۰
LFT/SVL	۰/۴۴	۳۷	۰/۰۹
LMT/SVL	۰/۳۸	۳۷	۰/۰۰
PL/SVL	۰/۱۳	۳۷	۰/۹۷
PW/SVL	۰/۳۱	۳۷	۰/۰۷
NED/SVL	۰/۲۳	۳۷	۰/۷۴

قطره از محلول به دست آمده پرتاب شد. پس از خشک شدن، لامها با گیمسای ۴٪ رنگ آمیزی شدند. بیست عدد گسترش کروموزومی برای هر وزغ در زیر میکروسکوپ بررسی شدند و از گسترشهای کروموزومی با کیفیت عکسبرداری شد. به منظور دسته بندی کروموزومها از روش Levan و همکاران استفاده شد (۲۶).

نتایج

مطالعات ریختی و ریخت سنجی: تمامی نمونه ها از نظر ریختی

مورد بررسی قرار گرفتند و مشخص شد که متعلق به گونه *Bufo viridis* هستند. نتایج آزمون t نشان داد که تقریباً در نیمی از صفات اندازه گیری شده بین جنس نر و ماده اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) وجود دارد. لذا دوریختی جنسی مشاهده می شود (جدول ۳). به علت وجود دوریختی جنسی، نرها و ماده ها جداگانه بررسی شدند.

جدول ۴: نتایج حاصل از داده های آمار توصیفی و آنالیز واریانس (P سطح معنی داری در آنالیز واریانس) در جنس نر گونه *B. viridis*

صفات	آران و بیدگل (۱۸)	کمینه-بیشینه	نصف آباد (۲۱)	کمینه-بیشینه	P
	میانگین $\pm$ انحراف معیار		میانگین $\pm$ انحراف معیار		
SVL	۷۱/۰۷ $\pm$ ۵/۰۸		۵۶/۴۴ $\pm$ ۶/۱۰		۰/۰۰
HL/SVL	۰/۲۹ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۳۰ $\pm$ ۰/۰۱		۰/۰۱
ESD/SVL	۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۴۱
IND/SVL	۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۰۶ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۱۷
UED/SVL	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۱		۰/۰۹ $\pm$ ۰/۰۱		۰/۴۵
UEW/SVL	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۱۸
ED/SVL	۰/۱۱ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۱۲ $\pm$ ۰/۰۱		۰/۰۰
DT/SVL	۰/۰۵ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۰۵ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۴۰
THL/SVL	۰/۴۱ $\pm$ ۰/۰۳		۰/۴۰ $\pm$ ۰/۰۳		۰/۶۱
TL/SVL	۰/۴۰ $\pm$ ۰/۰۲		۰/۴۲ $\pm$ ۰/۰۲		۰/۰۰
TAL/SVL	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۳		۰/۲۴ $\pm$ ۰/۰۲		۰/۷۰
FL/SVL	۰/۴۶ $\pm$ ۰/۰۲		۰/۴۷ $\pm$ ۰/۰۲		۰/۲۹
LFT/SVL	۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۰۶
LMT/SVL	۰/۰۶ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۰۶ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۷۳
PL/SVL	۰/۲۱ $\pm$ ۰/۰۱		۰/۲۱ $\pm$ ۰/۰۱		۰/۷۵
PW/SVL	۰/۰۹ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۰۹ $\pm$ ۰/۰۱		۰/۷۵
NED/SVL	۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۰		۰/۱۰

جدول ۶: تست معنی‌دار بودن عامل‌ها (ویلیکس لامبدا) در جنس نر

گونه <i>B. viridis</i>				
آزمون تابع	ویلیکس لامبدا	کای اسکور	درجه آزادی	Sig
۱	۰/۳۳	۲۱/۳۵	۱	۰/۰۰

جدول ۷ نتایج حاصل از دسته‌بندی گروه‌ها را نشان می‌دهد. براساس این جدول نمونه‌های منطقه آران و بیدگل ۱۰۰ درصد در گروه خود قرار می‌گیرند. نمونه‌های منطقه نجف‌آباد نیز ۸۱/۸ درصد در گروه خود و ۱۸/۲ درصد در گروه آران و بیدگل قرار می‌گیرند. ۹۱/۳ درصد نمونه‌ها به‌درستی در گروه خود دسته‌بندی شده‌اند.

جدول ۷: نتایج حاصل از دسته‌بندی نمونه‌ها در جنس نر گونه *B. viridis*

تعداد	گروه‌ها	عضویت گروه پیش‌بینی شده		کل
		آران و بیدگل	نجف‌آباد	
۱۲	آران و بیدگل	۱۲	۰	۱۲
۱۱	نجف‌آباد	۲	۹	۱۱
%	آران و بیدگل	۱۰۰	۰	۱۰۰/۰
	نجف‌آباد	۱۸/۲	۸۱/۸	۱۰۰/۰

۹۱/۳ درصد نمونه‌ها به‌درستی در گروه خود دسته‌بندی شده‌اند.

آمار تک‌متغیره (نرها): میانگین طول بدن (SVL) در وزغ‌های نر آران و بیدگل بیش‌تر از نجف‌آباد است (جدول ۴). براساس آزمون آنالیز واریانس (Anova) تنها در صفات اندازه بدن (SVL)، طول سر به طول بدن (HL/SVL)، قطر افقی چشم به اندازه بدن (ED/SVL) و طول ساق به طول بدن (TL/SVL) بین نرهای دو منطقه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$).

آمار چند متغیره نرها:

تحلیل ممیزی: تحلیل ممیزی به این دلیل مورد استفاده قرار می‌گیرد که توابعی را بررسی می‌کند که احتمال رده‌بندی صحیح نمونه‌ها در جمعیت اصلی‌شان را به حداکثر برساند. نتایج این تحلیل در *Bufo viridis* نشان داد که در تحلیل ممیزی تعداد یک تابع در نظر گرفته شده است که این تابع ۱۰۰٪ از تغییرات را نشان می‌دهد (جدول ۵). هم‌چنین جدول ویلیکس لامبدا (جدول ۶) نشان داد که این تابع معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

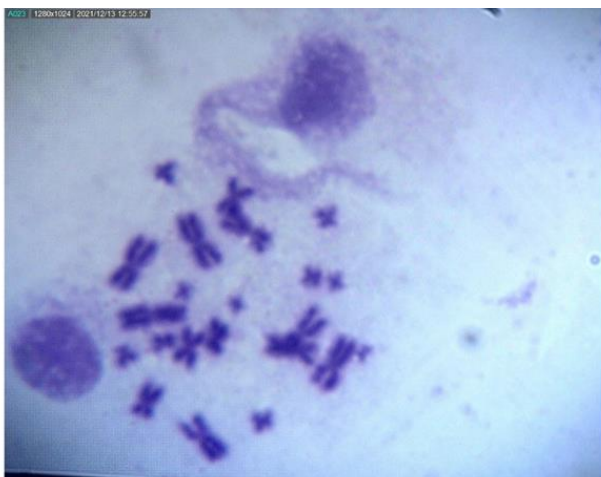
جدول ۵ مقادیر ویژه و عامل‌ها در جنس نر گونه *B. viridis*

تابع	مقدار ویژه	واریانس %	تجمعی %	همبستگی استاندارد
۱	۱/۹۹	۱۰۰/۰	۱۰۰/۰	۰/۸۲

جدول ۸: نتایج حاصل از داده‌های آمار توصیفی و آنالیز واریانس (P سطح معنی‌داری در آنالیز واریانس) در جنس ماده گونه *B. viridis*

صفات	آران و بیدگل (۱۸)	کمیینه-بیشینه	نجف‌آباد (۲۱)	کمیینه-بیشینه	P
	میانگین $\pm$ انحراف معیار		میانگین $\pm$ انحراف معیار		
SVL	۷۱/۲۰ $\pm$ ۱۱/۳۵	۵۲/۶۲-۸۵/۵۹	۶۵/۱۱ $\pm$ ۵/۲۲	۵۶/۳۱-۷۲/۸۱	۰/۱۶
HL/SVL	۰/۲۹ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۲۶-۰/۳۳	۰/۲۹ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۲۸-۰/۳۰	۰/۷۹
ESD/SVL	۰/۱۲ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۱۱-۰/۱۴	۰/۱۲ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۱۱-۰/۱۳	۰/۳۹
IND/SVL	۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۶-۰/۰۷	۰/۰۶ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۵-۰/۰۷	۰/۱۳
UED/SVL	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۰۶-۰/۱۰	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۰۶-۰/۱۱	۰/۷۵
UEW/SVL	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۷-۰/۰۹	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۷-۰/۰۹	۰/۱۳
ED/SVL	۰/۱۰ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۰۸-۰/۱۲	۰/۱۱ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۱۰-۰/۱۲	۰/۰۶
DT/SVL	۰/۰۴ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۴-۰/۰۶	۰/۰۵ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۴-۰/۰۶	۰/۱۵
THL/SVL	۰/۳۵ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۲۶-۰/۴۰	۰/۳۵ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۳۱-۰/۴۱	۰/۹۲
TL/SVL	۰/۳۶ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۳۳-۰/۴۱	۰/۳۸ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۳۶-۰/۴۲	۰/۱۶
TAL/SVL	۰/۱۹ $\pm$ ۰/۰۴	۰/۱۳-۰/۲۵	۰/۲۱ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۱۶-۰/۲۵	۰/۴۳
FL/SVL	۰/۴۱ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۳۷-۰/۴۶	۰/۴۳ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۴۰-۰/۴۹	۰/۲۴
LFT/SVL	۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۰۵-۰/۰۹	۰/۰۶ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۵-۰/۰۷	۰/۰۷
LMT/SVL	۰/۰۵ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۴-۰/۰۷	۰/۰۵ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۴-۰/۰۷	۰/۶۶
PL/SVL	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۲۰-۰/۲۵	۰/۲۰ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۱۸-۰/۲۲	۰/۱۳
PW/SVL	۱/۱ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۱۰-۰/۱۸	۰/۰۹ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۸-۰/۱۰	۰/۰۲
NED/SVL	۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۰۶-۰/۱۱	۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۰۶-۰/۰۸	۰/۸۳

منطقه دارای مجموعه ۲۲ کروموزومی $2n=22$ می باشند و کاریوتایپ همه آن ها شامل ۶ جفت کروموزوم بزرگ و ۵ جفت کروموزوم کوچک می باشد (شکل ۲، ۳).



۱ ۲ ۳ ۴ ۵ ۶



۷ ۸ ۹ ۱۰ ۱۱



شکل ۲: گسترش کروموزومی و کاریوتایپ گونه *B. viridis* از منطقه نجف آباد

جداول ۸ و ۹ جزئیات کاریوتایپی وزغ *B. viridis* از دو منطقه نجف آباد و آران و بیدگل را نشان می دهد که در همه نمونه های این دو منطقه یاد شده ۹ جفت از کروموزوم ها متاسانتريک و ۲ جفت کروموزوم ها ساب متاسانتريک (جفت های ۳ و ۷) می باشند و فرمول کاریوتایپی آن $9m+2sm=11$ است. از مجموع ۶ جفت کروموزوم بزرگ، ۵ جفت متاسانتريک می باشد و ۱ جفت دیگر ساب متاسانتريک بودند. از مجموع ۵ جفت کروموزوم کوچک، ۴ جفت کروموزوم متاسانتريک و ۱ جفت ساب متاسانتريک بودند. شکل ۴ ایدیوگرام مربوط به کاریوتایپ آن ها را نشان می دهد.

آمار تک متغیره (ماده ها): براساس جدول ۸ که ترکیبی از آزمون آمار توصیفی و آنالیز واریانس است، میانگین طول بدن (SVL) در وزغ های ماده آران و بیدگل بیش تر از نجف آباد است (جدول ۸). براساس آزمون آنالیز واریانس (Anova) در کلیه صفات اندازه گیری شده به جز عرض غده پاروتوئید به طول بدن (PW/SVL) جدایی بین جمعیت های ماده در دو منطقه آران و بیدگل و نجف آباد تایید نمی شود ($P>0.05$).

آمار چند متغیره ماده ها: نتایج این تحلیل در جنس ماده *Bufotes viridis* نشان داد که در تحلیل ممیزی تعداد یک تابع در نظر گرفته شده است که این تابع ۱۰۰٪ از تغییرات را نشان می دهد (جدول ۹). هم چنین جدول ویلکس لامبدا (جدول ۱۰) نشان داد که این تابع معنی دار می باشد ($P<0.05$).

جدول ۹: مقادیر ویژه عامل ها در جنس ماده گونه *B. viridis*

تابع	مقدار ویژه	واریانس %	تجمعی %	همبستگی استاندارد
۱	۵/۲۲	۱۰۰/۰	۱۰۰/۰	۰/۹۲

جدول ۱۰: تست معنی دار بودن عامل ها (ویلکس لامبدا) در جنس

ماده گونه *B. viridis*

آزمون تابع	ویلکس لامبدا	کای اسکور	درجه آزادی	Sig/
۱	۰/۱۶	۲۲/۸۵	۳	۰/۰۰

جدول ۱۱: نتایج حاصل از دسته بندی نمونه ها در جنس ماده گونه *B. viridis*

تعداد	گروه ها	عضویت گروه پیش بینی شده	
		آران و بیدگل	نجف آباد
۶	آران و بیدگل	۶	۰
۱۰	نجف آباد	۰	۱۰
۱۰۰/۰		۱۰۰/۰	۰
۱۰۰/۰		۱۰۰/۰	۱۰۰/۰

۱۰۰ درصد نمونه ها به درستی در گروه خود دسته بندی شده اند

جدول ۱۱ نتایج حاصل از دسته بندی گروه ها در جنس ماده وزغ سبز را نشان می دهد. براساس این جدول نمونه های منطقه آران و بیدگل ۱۰۰ درصد در گروه خود قرار می گیرند و نمونه های منطقه نجف آباد نیز ۱۰۰ درصد در گروه خود قرار می گیرند.

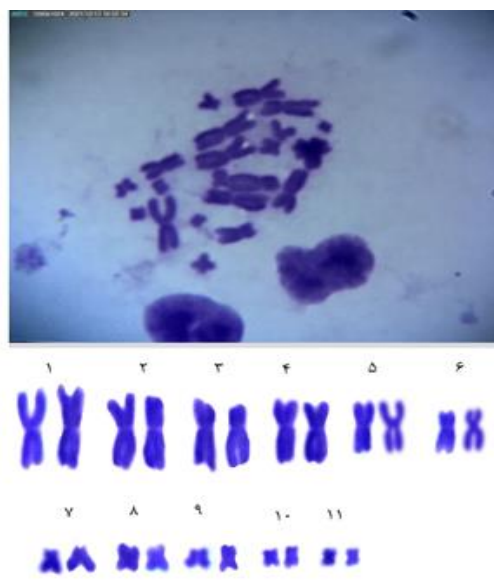
کاریولوژی: در این مطالعه به بررسی کاریوتایپ نمونه های *B. viridis* دو منطقه نجف آباد و آران و بیدگل در شمال و غرب استان اصفهان پرداخته شد. نتایج نشان می دهد که همه وزغ های این دو

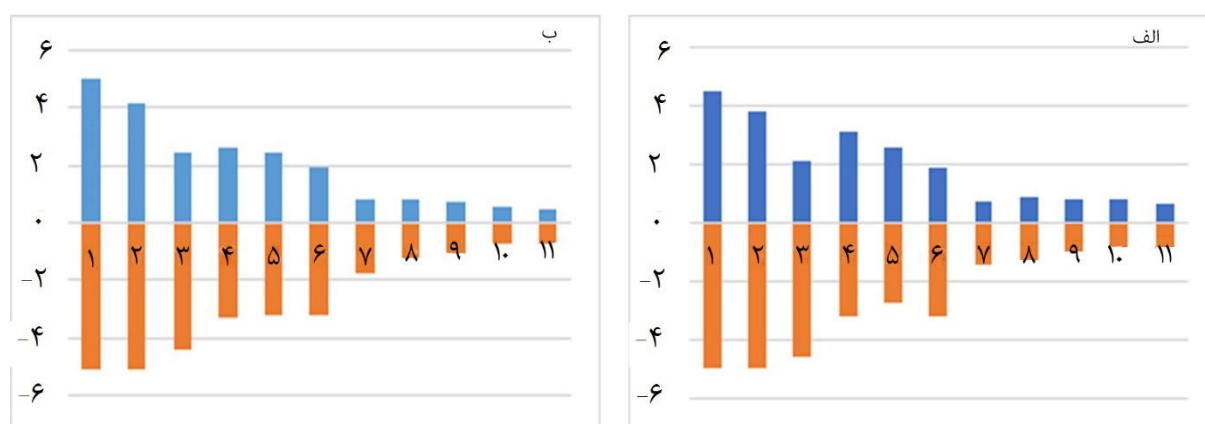
جدول ۸: داده‌های ریخت‌سنجی کروموزومی گونه *Bufo viridis* از منطقه نجف آباد

شماره کروموزوم	طول بازوی بلند	طول بازوی کوتاه	طول کل	نسبت بازوها	نوع کروموزوم
۱	۴/۹۵	۴/۵۲	۹/۴۷	۱/۱	متاسنتریک
۲	۴/۹۶	۳/۸۳	۸/۷۹	۱/۲۹	متاسنتریک
۳	۴/۵۷	۲/۰۹	۶/۶۶	۲/۱۸	ساب متاسنتریک
۴	۳/۱۸	۳/۱۶	۶/۳۴	۱/۰۱	متاسنتریک
۵	۲/۷۵	۲/۶۱	۵/۳۶	۱/۰۵	متاسنتریک
۶	۳/۲	۱/۹۲	۵/۱۲	۱/۶۷	متاسنتریک
۷	۱/۴۶	۰/۷۵	۲/۲۱	۱/۹۶	ساب متاسنتریک
۸	۱/۲۶	۰/۸۶	۲/۱۲	۱/۴۶	متاسنتریک
۹	۰/۹۴	۰/۸۴	۱/۷۸	۱/۱۲	متاسنتریک
۱۰	۰/۸۲	۰/۷۸	۱/۶۰	۱/۰۶	متاسنتریک
۱۱	۰/۸	۰/۶۷	۱/۴۷	۱/۱۹	متاسنتریک

جدول ۹: داده‌های ریخت‌سنجی کروموزومی گونه *B. viridis* از منطقه آران و بیدگل

شماره کروموزوم	طول بازوی بلند	طول بازوی کوتاه	طول کل	نسبت بازوها	نوع کروموزوم
۱	۵/۰۸	۵/۰۲	۱۰/۱۰	۱/۰۱	متاسنتریک
۲	۵/۰۷	۴/۱۸	۹/۲۵	۱/۲۱	متاسنتریک
۳	۴/۴۴	۲/۴۲	۶/۸۶	۱/۸۴	ساب متاسنتریک
۴	۳/۲۷	۲/۶۱	۵/۸۸	۱/۲۵	متاسنتریک
۵	۳/۲۵	۲/۴۸	۵/۷۳	۱/۳۱	متاسنتریک
۶	۳/۲۳	۱/۹۳	۵/۱۶	۱/۶۷	متاسنتریک
۷	۱/۷۳	۰/۸۱	۲/۵۴	۲/۱۴	ساب متاسنتریک
۸	۱/۲۵	۰/۸۳	۲/۰۸	۱/۵	متاسنتریک
۹	۱/۰۴	۰/۷۱	۱/۷۵	۱/۴۶	متاسنتریک
۱۰	۰/۷۱	۰/۵۲	۱/۲۳	۱/۳۶	متاسنتریک
۱۱	۰/۷۲	۰/۴۴	۱/۱۵	۱/۶۴	متاسنتریک

شکل ۳: گسترش کروموزومی و کاریوتایپ گونه *B. viridis* از منطقه آران و بیدگل



شکل ۴: ایدیوگرام گونه *B. viridis* از منطقه الف (نجف آباد، ب) آران و بیدگل

بحث

دوربختی جنسی از نظر اندازه (Sexual size dimorphism: SSD) پدیده‌ای گسترده در قلمرو حیوانات است که به وجود تفاوت‌های ریختی بین جنس‌های نر و ماده یک گونه اشاره دارد (۲۷). نتایج این پژوهش نشان داد که در صفات اندازه‌گیری شده بین جنس نر و ماده تفاوت وجود دارد. این نتیجه‌گیری با مطالعات قبلی مطابقت ندارد (۲۸، ۲۹). هم‌چنین Hezaveh و همکاران به این نتیجه رسیدند که هیچ‌گونه دی‌مورفیسم جنسی در بین نمونه‌ها مشاهده نشد (۳۰). لذا مجموع مطالعاتی که تاکنون در مورد این وزغ در غرب ایران انجام شده، نشان می‌دهد که جدایی جنسی در اکثریت جمعیت‌های این گونه وجود ندارد اما نتایج پژوهش حاضر نشان داد که برخلاف وزغ‌های *B. viridis* نیمه غربی ایران، جمعیت‌های مذکور از ایران مرکزی دوربختی جنسی دارند. Okhovat و Najibzadeh به وجود دوربختی سنجی در وزغ‌های لرستانی استان خوزستان که گونه دیگری از کمپلکس وزغ سبز است، اشاره دارند (۳۱). دوربختی جنسی در جمعیت‌های قورباغه قفقازی *Rnan macrocnemis* نیز گزارش شده است (۳۲). هم‌چنین در پژوهشی که بر روی جمعیت‌های قورباغه مردابی *Pelophylax ridibundus* در استان کهگیلویه و بویراحمد انجام شد، دوربختی جنسی در این گونه مشاهده شد (۳۳). علل متفاوتی برای بروز دوربختی جنسی در دوزیستان مطرح می‌شود. بعضی محققان علت آن را انتخاب جنسی می‌دانند (۳۴) اما برخی معتقدند که دوربختی جنسی می‌تواند به علت تفاوت در ساختار سنی در جمعیت‌های تولیدمثلی باشد و اشاره می‌کنند که انتخاب جنسی در اولویت دوم قرار دارد (۳۵). احتمال دارد علت این دوربختی جنسی در نتایج ما به عدم وجود رقابت بین نرها برای تولیدمثل

مرتبط باشد (۳۱، ۳۲) زیرا انتخاب جنسی معمولاً نرهای بزرگ‌تر را ترجیح می‌دهد. هم‌چنین عواملی مثل عدم توازن در استفاده از منابع غذایی بین دو جنس (۳۱)، عرض جغرافیایی (۳۵) و آب و هوای محلی (۳۶) و سن (۳۷) نیز می‌تواند علل این تفاوت باشد. تحلیل‌های آماری چند متغیره وجود دو جمعیت متمایز آران و بیدگل و نجف‌آباد را چه در نرها و چه در ماده‌های گونه مورد مطالعه تأیید می‌نماید. احتمالاً علت این تمایز به آب و هوا و شرایط جغرافیایی نظیر ارتفاع متفاوت دو منطقه مورد مطالعه مرتبط است. نتایج این پژوهش نشان داد که در مورد صفت اندازه بدن (SVL) وزغ‌های سبز آران و بیدگل میانگین بالاتری را از وزغ‌های نجف‌آباد داشتند. اندازه بدن عامل مهمی است که بر استراتژی‌های تاریخ‌زندگی تأثیرگذار است و معمولاً تنوع درون‌گونه‌ای را در بین جمعیت‌ها یا بین جنس‌های یک جمعیت نشان می‌دهد. تنوع بین جمعیت‌ها معمولاً با سازگاری محلی یا انعطاف‌پذیری فنوتیپی به تفاوت‌های محیطی، مانند عرض جغرافیایی و ارتفاع، توضیح داده می‌شود (۳۷، ۳۸). پارامترهای محیطی مانند در دسترس بودن غذا، کیفیت زیستگاه، فشار شکار در زمان بلوغ و شیب ارتفاع می‌تواند بر اندازه بدن تأثیرگذار باشد (۳۹). خصوصاً در مورد کمپلکس وزغ سبز داده‌ها پیشنهاد می‌کنند که عوامل اقلیمی، اکولوژیکی و تغذیه‌ای می‌تواند منجر به تفاوت در اندازه بدن وزغ‌های سبز شود (۴۰، ۴۱، ۴۲). در این تحقیق همگی وزغ‌های جمع‌آوری شده دیپلوئیدی و $2n=22$ کروموزوم دارند کاریوتایپ آن شامل ۶ جفت کروموزوم بزرگ و ۵ جفت کروموزوم کوچک می‌باشد. این کروموزوم‌ها متاسنتریک یا ساب‌متاسنتریک هستند. چنین الگوی کاریوتایپی در بسیاری از گونه‌های جنس *Bufo* (سابقاً با نام *Bufo*) گزارش شده است (۷، ۸، ۴۳، ۴۴، ۴۵، ۴۶، ۴۷). هم‌چنین تفاوت محسوسی در نوع کروموزوم‌های دو منطقه مورد مطالعه مشاهده نشد. به‌طوری‌که

دانشگاه شهید چمران اهواز (EE/14003.02.25170/scu.ac.ir) به تصویب رسیده است.

منابع

1. Balouch, M. and Kami, H.G., 2006. Amphibian of Iran. Tehran University Press, Tehran. 177 p. (In Persian)
2. Anbar, F. and Kami, H.G., 2017. Biometry, habitat and behavior of the marsh frog *Pelophylax ridibundus* in Mazandaran Province (Tonekabon County). *Journal of Animal Environment*. 8(4): 107-116. (In Persian)
3. Frost, Darrel R., 2024. Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.2 (Date of access). Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001
4. Stöck, M., Günther, R. and Böhme, W., 2001. *Bufo viridis* group: current status of nominal taxa and unsolved problems (Amphibia: Anura: Bufonidae). *Zoologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden*. 51(18): 253-319.
5. Stöck, M., Frynta, D., Grosse, W.R., Steinlein, C. and Schmid, M., 2001. A review of the distribution of diploid, triploid, and tetraploid green toads (*Bufo viridis* complex) in Asia, including new data from Iran and Pakistan. *Asian Herpetological Research*. 9: 77-100. doi: 10.5962/bhl.part.15562
6. Stöck, M., Steinlein, C., Lamatsch, K., Scharlt, M. and Schmid, M., 2005. Multiple origins of tetraploid taxa in the Eurasian *Bufo viridis* subgroup. *Genetica*. 124(2): 255-272. doi: 10.1007/s10709-005-3085-9
7. Fakharzadeh, F., Darvish, J., Kami, H.G., Ghasemzadeh, F. and Rastegar-Pouyani, E., 2014. New karyological and morphometric data on poorly known *B. surdus* and *B. luristanicus* in comparison with data of diploid green toads of the *Bufo viridis* complex from South of Iran. *Asiatic Herpetological Research*. 5(3): 168-178. doi: 10.3724/SP.J.1245.2014.00168
8. Fakharzadeh, F., Darvish, J., Kami, H.G., Ghasemzadeh, F., Rastegar-Pouyani, E. and Stöck, M., 2015. Discovery of triploidy in Palearctic green toads (Anura: Bufonidae) from Iran with indications for a reproductive system involving diploids and triploids. *Zoologischer Anzeiger*. 255: 25-31. doi: 10.1016/j.jcz.2015.01.001
9. Fakharzadeh, F., Darvish, J., Kami, H.G., Ghasemzadeh, F. and Rastegar-Pouyani, E., 2018. Karyological investigation of *Bufo variabilis* (Anura: Bufonidae) populations from northwest and southeast of Iran. *Russian Journal of Herpetology*. 25(1): 56-60. doi: 10.30906/1026-2296-2018-25-1-56-60
10. Dufresnes, C., Mazepa, G., Jablonski, D., Calieri Oliveira, R., Wenseleers, T., Shabanov, D.A., Auer, M., Ernst, R., Koch, C., Ramirez-Chaves, H.E., Patrick Mulder, K., Simonov, E., Tiutenko A., Kryvokhyzha, D., Louis Wennekes, P., Zinenko, O.I., Korshunov, O.V., Al-Johany, A.M., Peregontsev, E.A., Masroor, R. and Litvinchuk, S., 2019. Fifteen shades of green: The evolution of *Bufotes* toads revisited. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 141:1-25. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.106615>
11. Fakharzadeh, F. and Hosseinzadeh, M., 2021. Overview of taxonomy and prediction potential distribution of *Bufotes sitibundus* (Anura: Bufonidae) using environmental factors. *Journal of Wildlife and Biodiversity*. 5(3): 21-34. <https://doi.org/10.22120/jwb.2021.138255.1191>
12. Ensabella, F., Loriga, S., Formichetti, P., Isotti, R. and Sorace, A., 2003. Breeding site selection of *Bufo viridis* in the city of Rome (Italy). *Amphibia Reptilia*. 24(3): 396-400. doi: 10.1163/15685380322440853
13. Katzmann, S., Waringer-Löschenkohl, A. and Waringer, J.A., 2003. Effects of inter- and intraspecific competition on growth and development of *Bufo viridis*

در وزغ‌های هر دو منطقه نجف‌آباد و آران و بیدگل سومین و هفتمین جفت‌های کروموزومی ساب‌متاسنتریک و بقیه کروموزوم‌ها متاسنتریک هستند، حال آن‌که در وزغ‌های سبز شمال غرب ایران چهارمین و هفتمین جفت‌های کروموزومی ساب‌متاسنتریک و در وزغ‌های یک منطقه در جنوب شرقی ایران (سیرجان) چهارمین و نهمین جفت‌های کروموزومی ساب‌متاسنتریک هستند (۹). در وزغ‌های سبز غرب ایران (استان فارس و خوزستان) جفت‌های چهارم و هفتم ساب‌متاسنتریک هستند (۹، ۲۰). لذا مشاهده می‌شود که تعداد کروموزوم‌های ساب‌متاسنتریک در جمعیت وزغ‌های ایران مرکزی (استان اصفهان) و جمعیت‌های وزغ سبز در نیمه غربی ایران (از شمال غرب تا جنوب شرق) یکسان است و تنها تفاوت در شماره کروموزوم‌های ساب‌متاسنتریک مشاهده می‌شود. هم‌چنین جمعیتی از وزغ‌های سبز در ایران مرکزی واقع در شیرکوه تفت یافت شد که دارای سه جفت کروموزوم ساب‌متاسنتریک بود (چهارمین، ششمین و هفتمین جفت‌های کروموزومی) و از نظر تعداد کروموزوم‌های ساب‌متاسنتریک با سایر جمعیت‌های این گونه متفاوت است (۸). احتمالاً علت آن با این موضوع مرتبط است که وزغ‌های این ناحیه در مرکز ایران یک جمعیت ایزوله را نشان می‌دهد. Darvishzadeh به‌وجود ردپایی از یخچال‌های کواترنری در شیرکوه تفت اشاره داشته است (۴۸). با آن‌که این گونه پراکنش وسیعی در ایران دارد اما تا کنون مطالعات مولکولی جامعی در مورد آن انجام نشده است. لذا پیشنهاد می‌شود که در پژوهش‌های بعدی، جمعیت‌های این گونه از نظر فیلوژنی مولکولی مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرند.

نتیجه‌گیری: تحلیل‌های آماری انجام شده جدایی جنسی در وزغ‌های ایران مرکزی را بر خلاف آن‌چه در مورد جمعیت‌های نیمه غربی ایران گزارش شده بود، نشان می‌دهد. هم‌چنین وجود دو جمعیت متمایز آران و بیدگل و نجف‌آباد را تأیید می‌نماید. شرایط اکولوژیکی دو منطقه مورد بررسی می‌تواند دلیل این تمایز باشد. هم‌چنین مطالعه کروموزوم‌های جمعیت‌هایی از وزغ سبز در استان اصفهان واقع در مرکز ایران و مقایسه آن با جمعیت‌های نواحی دیگر ایران تفاوت‌های درون گونه‌ای را از نظر کروموزومی نشان می‌دهد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات دوستان عزیزی که هریک به نحوی در نمونه‌برداری و تهیه این اثر با نویسندگان همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود. کلیه مراحل کار زیر نظر دانشگاه شهید چمران اهواز و با شماره پژوهانه SCU.SB1400.241 تأمین مالی شد. این پژوهش مستخرج از پایان‌نامه خانم زهرا رنجبری است که در کمیته اخلاق

- Loirestan toad (*Bufoles luristanicus*, Schmidt, 1952). *Biodiversity and Animal Taxonomy*. 1(1): 30-39. doi: 10.22126/jbat.2022.2083 (In Persian)
32. Najibzadeh, M., Pesarakloo, A., Gharzi, A., Rastegar Pouyani, N. and Rastegar Pouyani, E., 2018. Investigation of the Morphological Variation in Caucasian Brown Frog (*Rana macrocnemis*, Boulenger, 1885) in Iran. *Taxonomy and Biosystematics*. 10(34): 19-38. doi: 10.22108/tbj.2019.108126.1048 (In Persian)
 33. Poorjafar, B. and Fakharzadeh, F., 2022. Study of color polymorphism and sexual dimorphism of *Pelophylax ridibundus sensulato* (Ranidae, Anura) populations in the west and southwest of Kohgiluyeh Va Boyer-Ahmad province. *Journal of Animal Environment*. 14(2): 147-160. doi: 10.22034/AEJ.2021.279559.2490 (In Persian)
 34. Shine, R., 1979. Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia*. 1979(2): 297-305.
 35. Monnet, J.M. and Cherry, M.I., 2002. Sexual size dimorphism in anurans. *Proceedings of the Royal Society of London*. 269: 2301-2307. doi: 10.1098/rspb.2002.2170
 36. Wells, K.D., 2001. The energetics of calling in frogs. In: Anuran Communication. Ryan, M.E., Ed., Smithsonian Press. 45-60.
 37. 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:10.1186/1742-9994-10-10.
 38. Schlippe Justicia, L., Mayer, M., Lorient-Chevalier, U., Ditttrich, C., Rojas, B. and Chouteau, M., 2024. Intraspecific divergence of sexual size dimorphism and reproductive strategies in a polytypic poison frog. *Evolutionary Ecology*. 38(1-2): 121-129. doi: 10.1007/s10682-023-10280-2
 39. Morrison, C. and Hero, J.M., 2003. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*. 72(2): 270-279. doi: 10.1046/j.1365-2656.2003.00696.x
 40. Giacomini, C., Zugolaro, C. and Beani, L., 1997. The advertisement call of the green toad (*Bufo viridis*), consistency, variability and role in mate choice. *Herpetologica*. 53(4): 454-464.
 41. Castellano, S. and Giacomini, C., 1998. Morphological variation of the green toad *Bufo viridis*, in Italy: a test of causation. *Journal of Herpetology*. 32(4): 540-550.
 42. Zhelev, Z., Mollov, I. and Tsonev, S., 2020. Body size and color polymorphism in *Bufoles viridis* complex (Anura: Bufonidae) inhabiting two semi-natural areas in Plovdiv City, Bulgaria. *North-Western Journal of Zoology*. 16(2): 191-196.
 43. Ullerich, F.H., 1966. Karyotyp und DNS-Gehalt von *Bufo bufo*, *B. viridis* *B. bufo* × *B. viridis* and *B. calamita* (Amphibia, Anura). *Chromosoma*. 18(2): 316-341. doi: 10.1007/bf00326875
 44. Bogart, J.P., 1972. Karyotypes. In Blair W.F., (Ed.), *Evolution in the Genus Bufo*. Austin: University of Texas Press. 171-195.
 45. Azevedo, M.F.C., Forest, F., Ramos, P.R. and Jim, J., 2003. Comparative cytogenetic studies of *Bufo ictericus*, *B. paracnemis* (Amphibia, Anura) and an intermediate form in sympatry. *Genetics and Molecular Biology*. 26(3): 289-294.
 46. Al-Shehri, A.H. and Al-Saleh A.A., 2008. Karyotype of Amphibian in Saudi Arabia. 3. The karyotype of *Bufo regularis*. *Asian Journal of Cell Biology*. 3(2): 67-71. doi: 10.3923/ajcb.2008.67.71
 47. Borkin, L.J., Shabanov, D.A., Brandler, O.V., Kukushkin, O.V., Litvinchuk, S.N., Mazepa, G.A. and Rozanov, J.M., 2007. A case of natural triploidy in European diploid green toad (*Bufo viridis*), with some distributional records of diploid and tetraploid toads. *Russian Journal of Herpetology*. 14(2): 121-132.
 48. Darvishzadeh, A., 1990. Geology of Iran, Amirabad Press, Tehran. (In Persian)
 14. and *Bufo bufo* tadpoles. *Limnologia*. 33(2): 122-130. doi: 10.1016/S00 75.9511(03)80041-5
 15. Kaczmarzski, M., Szala, K. and Kloskowski, J., 2019. Early onset of breeding season in the green toad *Bufoles viridis* in western Poland. *Herpetozoa*. 32(1): 109-112. doi: 10.3897/herpetozoa.32.e35825
 15. Sistani, A., Burgstaller, S., Gollmann, G. and Landler, L., 2021. The European green toad, *Bufoles viridis*, in Donauefeld (Vienna, Austria): status and size of the population. *Herpetozoa*. 34: 259-264. doi: 10.3897/herpetozoa.34.e75578
 16. Kovács, É.H. and Sas, I., 2010. Aspects of breeding activity of *Bufo viridis* in an urban habitat: a case study in Oradea, Romania. *Biharean Biologist*. 4(1): 73-77. E-ISSN: 2065-1155
 17. Zawadzki, M., Flesch, A. and Kaczmarzski, M., 2017. New breeding site of the green toad *Bufoles viridis* Laurenti, 1768 in the downtown of Poznań. *Przegląd Przyrodniczy*. 28: 113-118. (In Polish)
 18. Vargová, V., Čerepová, V., Balogová, M. and Uhrin, M., 2023. Calling activity of urban and rural populations of green toads *Bufoles viridis* is affected by environmental factors. *North-Western Journal of Zoology*. 19: 46-50
 19. Vargová, V., Balogová, M., Pristašová, P., Kaňuch, P. and Uhrin, M., 2024. Spatiotemporal dynamics in the roosting ecology of the green toad: implications for urban planning and nature conservation. *Journal for Nature Conservation*. 77: 126543.
 20. Fakharzadeh, F. and Horobi, S., 2024. Cytogenetic study of two species *Pelophylax ridibundus* and *Bufoles viridis* of Anura in areas of Khuzestan province. *Experimental Animal Biology*. 13(49): 1-12. doi: 10.30473/eab.2024.69531.1927 (In Persian)
 21. Jafari, A., 1999. Geographical Encyclopedia of Iran. Volume 3, Gita Shenasy Publications. Tehran. 1392 p. (In Persian)
 22. Watters, J.L., Cummings, S.T., Flanagan, R.L. and Siler, C.D., 2016. Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach. *Zootaxa*. 4072(4): 477-495. doi: 10.11646/zootaxa.4072.4.6
 23. Kaliontzopoulou, A., 2011. Geometric morphometrics in herpetology: modern tools for enhancing the study of morphological variation in amphibians and reptiles. *Basic and Applied Herpetology*. 25: 5-32. doi: 10.11160/bah.11 016
 24. Babik, W. and Rafinski, J., 2000. Morphometric differentiation of the moor frog (*Rana arvalis* Nilss.) in Central Europe. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 38(4): 239-247. doi: 10.1046/j.1439-0469.2000.384148.x
 25. Schmid, M., 1978. Chromosome banding in amphibia. *Chromosoma*. 66(4): 361-388.
 26. Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*. 52(2): 201-220. doi: 10.1111/j.1601-5223.19 64.tb01953.x
 27. 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 Research*. 48(3): 351-361.
 28. Seydi Avandi, F. and Fakharzadeh, F., 2018. Biosystematic study of *Bufoles variabilis* (Pallas, 1769) populations from East and North east of Khuzestan province based on morphometric and karyotype data. *Experimental Animal Biology*. 8(1): 99-109. https://doi.org/10.30473/eab.2019.5985 (In Persian)
 29. Fakharzadeh, F. and Sharbaf, S., 2020. Investigation of morphometric changes in populations of *Bufoles sitibundus* (Pallas, 1771) in Khuzestan Province. *7th National Congress of Biology and Natural Sciences of Iran*. (In Persian)
 30. Hezaveh, N., Ghasemzadeh, F. and Darvish, J., 2007. Biosystematic study (morphology, karyology and morphometry of anuran amphibia in Markazy Province. *Iranian Journal of Biology*. 20(4): 458-467. (In Persian)
 31. Najibzadeh, M. and Okhovat, S., 2022. Investigation of demographic structure and Sexual dimorphism in