

## Etude squelettochronologique de la grenouille verte d'afrique du nord, *Rana saharica* (Estudio esqueletochronologico de la rana verde de áfrica del norte, *Rana saharica* - A skeletochronological study of north african green frog, *Rana saharica*)

**BELLAKHAL, Meher:** Institut Supérieur de Pêche et d'Aquaculture de Bizerte. Unité de Recherche : Exploitation des Milieux aquatiques. [meher2976@yahoo.fr](mailto:meher2976@yahoo.fr) ; **NEVEU, André:** UMR EQHC. Institut National de Recherche Agronomique de Rennes 65 Rue de Saint Briec CS 84215 35042 RENNES Cedex ; **Hechmi MISSAOUI :** Institut Supérieur de Pêche et d'Aquaculture de Bizerte. Unité de Recherche : Exploitation des Milieux aquatiques.

**REDVET: 2008, Vol. IX, Nº 8**

Recibido: 18.03.08 / Referencia provisional: J009\_REDVET / Revisado: 07.07.08 / Referencia definitiva: 080807\_REDVET / Aceptado: 28.07.08 / Publicado: 01.08.08

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080808.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080808/080807.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®. Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

### Résumé

Le présent travail s'intéresse à l'estimation de l'âge et aux paramètres de croissance d'une espèce d'amphibien de zone aride (*Rana saharica*, Boulenger 1913) adaptée à un climat sub-humide au nord de la Tunisie (Bizerte), par la technique de squelettochronologie. L'âge individuel des grenouilles a été déterminé par le comptage des lignes d'arrêt de croissance (LAC) à partir de coupes transversales réalisées sur des tibias. La longévité maximale des males et de femelles est respectivement de 7 et 6 ans pour des tailles moyennes respectives de 10.59 cm (N= 8 ;  $\sigma= 0.32$ ) et 10.48 cm (N= 6 ;  $\sigma= 0.28$ ). Les tailles correspondantes à un même âge sont très hétérogènes témoignant de conditions et de stratégies de croissance divergentes.

**Mots-clés:** *Rana saharica*|Squelettochronologie|âge|Taille|Croissance

## Resumen

Este trabajo está interesado en la estimación de los parámetros de la edad y del crecimiento de una especie anfibia que vive normalmente en las regiones áridas (*Rana saharica* Boulenger, 1913) adaptadas a un clima sub-húmedo en el norte de Túnez (Bizerta), por la técnica del esqueletochronología. La edad individual de ranas fue determinada por la cuenta de líneas de paro de crecimiento (LAG) en secciones transversales a través de las tibias. La longevidad máxima de males y de hembras es respectivamente 7 y 6 años de viejo para los tamaños medios respectivos de 10.59 centímetros (N = 8;  $\sigma = 0.32$ ) y 10.48 centímetros (N = 6;  $\sigma = 0.28$ ). Los tamaños correspondientes a una misma edad son muy heterogéneos debido a de condiciones y estrategias de crecimiento divergentes.

**Palabras claves:** *Rana saharica* | Esqueletochronología | edad | Tamaño | crecimiento.

---

## Abstract

This work is interested in the estimate of the age and growth parameters of an amphibian species living normally in arid regions (*Rana saharica* Boulenger, 1913) adapted to a sub-wet climate in north of Tunisia (Bizerta), by the technique of skeletochronology. The individual age of frogs was determined by the counting of lines of arrested growth (LAG) on transverse sections through tibias. The maximum longevity of males and females is respectively 7 and 6 years old for respective average sizes of 10.59 cm (N = 8 ;  $\sigma = 0.32$ ) and 10.48 cm (N = 6 ;  $\sigma = 0.28$ ). Sizes related to the same age are very heterogeneous testifying to different conditions and divergent strategies of growth.

**Key words:** *Rana saharica* | Skeletochronology | age | Size | Growth.

---

## Introduction

L'estimation de l'âge des individus, et des paramètres biologiques qui lui sont associés (âge à la maturité sexuelle, croissance, longévité ...) est indispensable aux études démographiques approfondies des populations naturelles (Barbault *et al.*, 1979 ; Francillon *et al.*, 1990 ; Esteban *et al.*, 1999). A l'exception du suivi individuel par marquage-recapture, la squeletochronologie (terminologie dans Castanet *et al.*, 1977) constitue actuellement la seule méthode crédible de détermination de l'âge chez les amphibiens (Kyriakopoulou-Sklavounou *et al.*, 2007). Son principe est fondé sur le dénombrement des marques de croissance squelettiques

(MCS) enregistrées annuellement dans les divers tissus squelettiques des animaux en croissance. Chez quelques animaux poïkilothermes tel que les anoues dont le rythme de croissance est interrompu, ces marques de croissance squelettiques se traduisent par des lignes d'arrêt de croissance (LAC) (Castanet et Smiran, 1990).

L'inconvénient majeur de la squelettochronologie réside dans la nécessité de prélever un os tel qu'un humérus, un fémur ou un tibia, ce qui impose le sacrifice des animaux. Néanmoins, d'autres ossements tels que les phalanges peuvent être également utilisés sans nécessité de sacrifier l'animal. Cependant, ces derniers ne sont pas toujours exploitables pour la détermination de l'âge à cause de l'immaturité de leurs structures et de la difficulté d'identification des MAC (Gittins et *al.*, 1982 ; Castanet et Smirna, 1990 ; Miaud, 1990).

En revanche, la maîtrise de cette méthode a permis une ouverture sur une connaissance plus approfondie des stratégies démographiques chez de nombreuses espèces d'Amphibiens (Francillon, 1980 ; Régnier, 1983 ; Caetano *et al.*, 1985 ; Francillon et Castanet, 1985 ; Hemelaar, 1986 ; Miaud, 1990).

Concernant la grenouille verte aquatique *Rana saharica*, dont la répartition géographique se limite à la côte nord africaine et s'étend depuis le Maroc jusqu'au Libye (Arano et *al.*, 1998), elle a fait l'objet de plusieurs études écobiologiques (Pasteur et Bons, 1959 ; Bons, 1967 ; Hemmer et *al.*, 1980 ; Uzzel, 1982 ; Busack, 1986 ; Steinwarz, 1991 ; Meddeb, 1994 ; Buckley et *al.*, 1995 ; Salvador, 1996 ; Schleich et *al.*, 1996 ; Buckley et *al.*, 1996 ; Bons et Gneiz, 1996 ; Pleguesuelos, 1997 ; Pötner, 1998 ; Nourira et Lescure, 1998 ; Arano et *al.*, 1998 ; Geniez et *al.*, 2004 ; Azzouzi et Tekaya, 2005). Cependant, les études relatives à la détermination de l'âge et aux structures démographiques de cette espèce sont quasi absentes et se limitent aux travaux d'Esteban et *al.* (1999). Ce travail est une contribution à l'étude de l'âge, de la croissance et de la longévité de *Rana saharica* au sein d'une population vivant dans une région subhumide au nord de la Tunisie.

## **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

### **Site d'étude:**

Le site de collecte des grenouilles est situé dans la région de « Beni Moslem » (9°9'30" ; 37°3'40") dans le gouvernorat de Bizerte au nord de la Tunisie (Fig. 1). C'est un lac collinaire de 2.5 hectares avec une profondeur atteignant 3 m au centre, une faible pente près des berges et un taux de recouvrement végétal de 30% pendant le printemps. La température moyenne est de 22.75°C (min = 8 à 10°C ; max = 43 à 45°C) et la pluviométrie annuelle moyenne est de l'ordre de 625 mm/an.

### Méthode de collecte:

Au cours de cette étude, 154 grenouilles ont été capturées dont 83 mâles et 71 femelles. La méthode de collecte utilisée est la pêche au feu qui consiste à attraper les grenouilles soit à la main soit à l'épuisette après éblouissement par une lampe torche puissante pendant les nuits obscures. Cette méthode permet de ramasser un nombre important d'individu et surtout d'éviter l'effet visuel dans le choix des individus (McAlpine, 1997 ; Mitchell, 2000). En effet, elle permet d'attraper les individus appartenants à toutes les catégories de taille avec les mêmes chances de capture.



**Figure 1** : Emplacement du site d'étude Lac collinaire de "Beni Moslem"(Nord de la Tunisie)

### Prélèvement des échantillons:

Les grenouilles collectées sont ramenées au laboratoire puis anesthésiées par refroidissement à 4°C. Les mesures biométriques et pondérales sont prises respectivement à l'aide d'un pied à coulisse à 0.01 mm et une balance de précision à 0.01g. Elles sont parallèlement classées par sexe et par taille. Pour l'analyse squelettochronologique, 5 individus sont choisis par classe de taille et par sexe. Ainsi 70 grenouilles (35 mâles et 35 femelles) sont ensuite euthanasiées selon les méthodes de soin et de traitement des animaux d'expérimentation (Frye, 1977). Enfin, les tibias sont prélevés, nettoyés puis conservés dans l'alcool 70°.

### Traitement des échantillons

Les échantillons (tibias) sont déminéralisés à l'acide nitrique pendant 5 à 12 heures suivant l'épaisseur de l'os (acide nitrique à 3 %), puis rincés

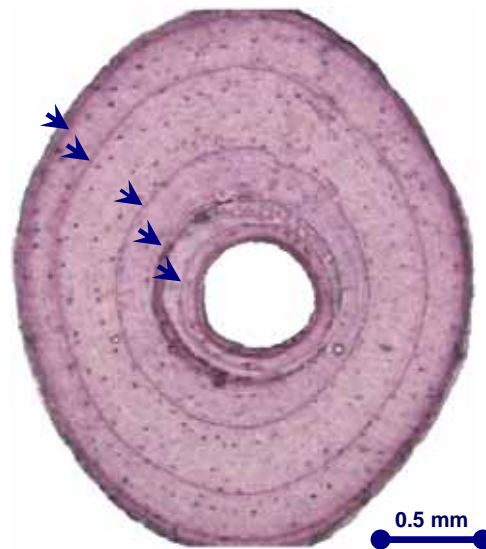
abondamment à l'eau courante. Des coupes sont effectuées à l'aide d'un microtome à congélation à 30 µm, puis colorées à l'hématoxyline d'Ehrlich pendant 10 à 15 mn. Elles sont enfin rincées à l'eau courante puis montées entre lame et lamelle à l'Aquamount. Pour les rétro-mesures, les diamètres des coupes sont mesurés sur croquis au tube à dessin (grossissement linéaire de 76) à partir des meilleures coupes de chaque préparation. Pour éviter autant que possible les variations structurales dues à la position des coupes, celles-ci sont effectuées dans la même région de la diaphyse, à proximité du trou nourricier. Chaque hiver s'enregistre sous la forme d'une ligne d'arrêt de croissance (LAC) bien différenciée, effectuant le tour de l'os sans discontinuité. Les marques de ralentissement de croissance ne sont pas prises en considération dans le comptage des LAC. Pour donner plus de crédibilité à la détermination des LAC, deux lectures au minimum ont été effectuées séparément pour chaque préparation par deux personnes distinctes.

L'analyse statistique des données est fait par le logiciel STATBOX.

## Résultats

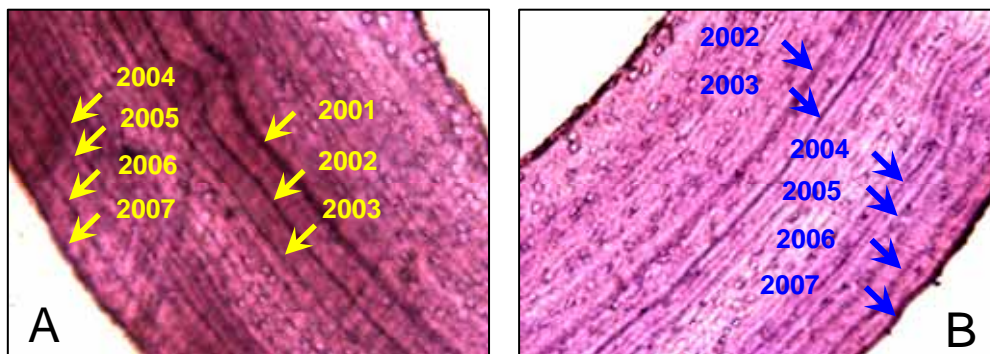
### 1- Analyse squelettochronologique

Les coupes d'os (fig. 2) révèle des stries (LAC) quasi circulaires et bien visibles pour la majorité des coupes (56%). Ces stries sont provoqué, chez de nombreux amphibiens, par l'arrêt total de la croissance pendant l'hibernation et sont considérés par conséquent comme marques annuelles. Parfois, il y a des lignes discontinues et/ou d'un aspect différent, plus diffuses, qui apparaissent et peuvent exprimer un arrêt partiel ou un ralentissement de croissance (Castanet et Smirna, 1990). Ces dernières ne sont pas prises en considération dans la détermination de l'âge. Néanmoins, ces dernières peuvent donner des renseignements assez précieux concernant l'histoire de vie de l'animal en question (Castanet et *al.*, 1992 ; Kyriakopoulou-Sklavounou et *al.*, 2007).



**Figure 2 :** Coupe transversale de la diaphyse d'un tibia montrant les lignes d'arrêt de croissance (LAC) de *Rana saharica*.

Le périmètre extérieur de l'os est considéré comme LAC puisque la capture a été effectuée en septembre juste avant l'hivernation. Sachant que les observations de terrain, sur différents sites dans la région de Bizerte entre l'année 2004 et 2007, montrent que l'hivernation de *Rana saharica* se fait entre la fin du mois de septembre et le début du mois de novembre avec un décalage plus ou moins important suivant les variations de température d'une année à une autre. De même la reprise de l'activité de croissance se fait habituellement à partir de mi-mars.



**Figure 3 :** Coupes transversales de la diaphyse du tibia d'un mâle (A) et d'une femelle (B). Les flèches indiquent les années d'apparition des LAC.

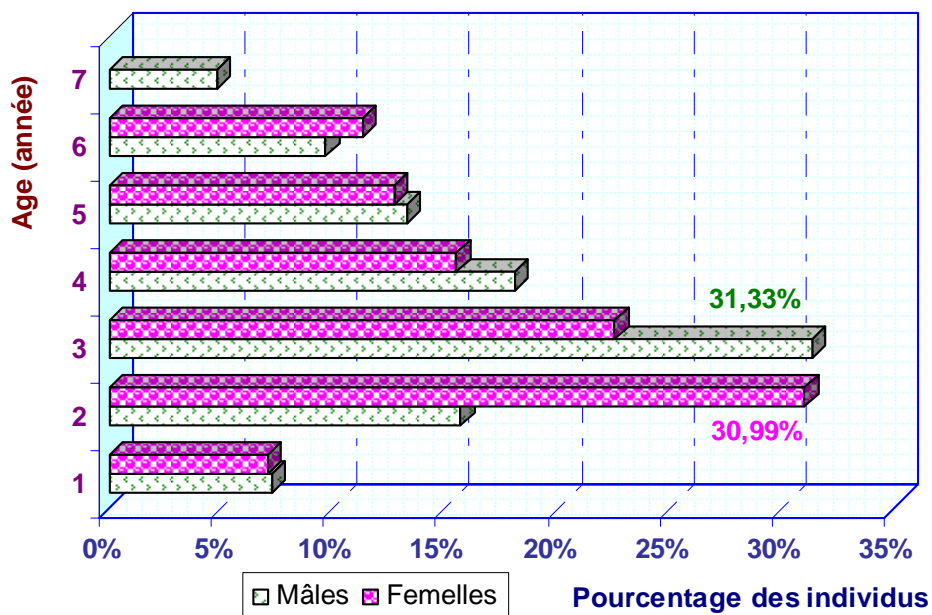
Les coupes d'os des individus les plus âgés (fig. 3 A et B) montrent que la longévité des mâles est de 7 ans alors que celle des femelles est de 6 ans. En outre, ces coupes révèlent un ralentissement remarquable de la croissance après la troisième et la deuxième année respectivement pour les mâles et les femelle ce qui laisse suggérer que la maturité sexuelle se fait au cours de la troisième année alors que celle des femelle se fait au cours de la deuxième année. Elle peut refléter aussi des conditions de vie

similaires, de point de vu climatique et abondance de nourriture, vécus par ces individus instantanément puisque ce ralentissement correspond à la même année pour les deux sexes c'est à dire entre 2003 et 2004.

## 2- Taille et distribution des âges

Les données obtenues à partir des individus ramenés au laboratoire, montrent que les femelles ont été visiblement plus grandes et plus lourdes que les mâles. La taille moyenne des femelles SVL (Snout-Vent Length) ou museau-urostyle, est de  $7.57 \pm 1.53$  mm ( $n=71$ ) alors que celle des mâles est de  $6.94 \pm 1.41$  mm ( $n=83$ ). Le poids moyen des femelles est de  $62.47 \pm 26.22$  g ( $n=83$ ) et de  $52.59 \pm 25.07$  g pour les mâles. Des différences significatives entre les deux sexes ont été soulevées. Ainsi les femelles ont été significativement plus grande ( $z=2.21$ ,  $p < 0.05$ ) et plus lourde ( $z=2.09$ ,  $p < 0.05$ ) que les mâles.

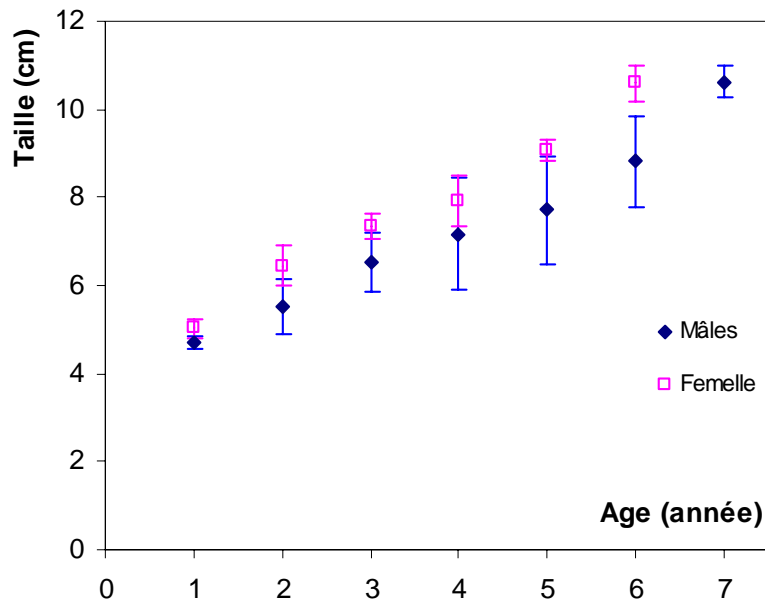
La distribution de la population suivant les classes d'âge (fig.4), révèle que la majorité des individus (plus que 50%) appartiennent à la classe d'âge de 2 à 3 ans. Un pourcentage assez important de femelles (30.99%) sont âgées de 2 ans alors que 31.33% de mâles ont 3 ans d'âge. Ce qui laisse suggérer encore une fois que la maturité sexuelle pour cette population correspond à ces âges respectifs. En revanche, contrairement à ce que l'on peut s'attendre, le pourcentage des juvéniles qui sont âgés d'un an, est assez faible pour les deux sexes ( $< 8\%$ ).



**Figure 4 :** Distribution de la population suivant les classes d'âge

La répartition des tailles moyennes selon les classes d'âge (fig. 5), montre que les femelles présentent toujours un rythme de croissance relativement

plus important par rapport aux mâles. Néanmoins, ces derniers présentent des écartypes relativement plus grands témoignant d'une hétérogénéité plus importante. Ainsi, plusieurs individus de même taille peuvent appartenir à différentes classes d'âge. Par exemple, quelques mâles de 6 cm (SVL) peuvent être âgé soit de 2 soit de 3 soit de 4 ans.



**Figure 5 :** Répartition des tailles moyennes selon les classes d'âge et les sexes

## Discussion et conclusion

La méthode squelettochronologique appliquée à la grenouille verte aquatique *Rana saharica*, adaptée au climat subhumide de la région nord de la Tunisie, montre que les hivers sont très bien marqués et se manifestent par des LAC assez visibles dans la majorité des cas. On peut ainsi déterminer l'âge et la croissance ce qui permet de reconstruire l'histoire de vie individuelle de cet animal. Les résultats obtenus dans cette étude concernant la longévité sont similaires à ceux obtenus à partir d'une espèce voisine et génétiquement assez proche *Rana ridibunda* vivant en Turquie (Yilmaz et al., 2005). Une autre étude effectuée sur la même espèce au sein d'une population du sud marocain montre une longévité plus faible aussi bien pour les mâles que pour les femelles (Esteban et al., 1999). Des différences ont été soulevées également au niveau des tailles moyennes et leurs répartitions selon les classes d'âge pour des espèces du même complexe *R. ridibunda*. C'est le cas par exemple de *Rana epeirotica*, *Rana esculenta* et *Rana perezi* (Berger, 1977 ; Halliday et Verrell, 1988 ; Paton et al., 1991 ; Neveu, 1992 ; Smirna, 1994 ; Ivanova, 2002 ; Cagalniceanu et Miaud, 2003 ). Ceci peut être due aux différences

climatiques qui jouent d'une manière directe ou indirecte sur les paramètres de croissance en agissant au même temps sur les facteurs déterminants comme la température et l'humidité et sur l'abondance de la nourriture disponible.

## REMERCIEMENTS

Nos vifs remerciements vont à Mr. Jean Luc BAGLNIERE directeur de l'UMR Ecobiologie et Qualité des Hydrosystèmes Continentaux à l'Institut National de Recherche Agronomique de Rennes, pour son accueil et la mise à disposition des moyens techniques et humains indispensables à la réalisation de la squelettochronologie. Nous remercions également tous les chercheurs et techniciens du laboratoire d'Ecologie Aquatique de l'Institut National de Recherche Agronomique de Rennes pour leur aimable collaboration technique.

## Références Bibliographiques

- ARANO, B., LLORENTE, G.A., MONTORI, A., BUCKLEY, D., HERRERO, P. Diversification in north-west African water frogs: molecular and morphological evidence. *Herpetological Journal*. 8(1):57-64. 1998.
- AZZOUZI, K., TEKAYA, S. L'ovogenèse de *Rana saharica* en Tunisie : Etude histologique et influence des facteurs climatiques. *Revue Soc. Sci. Nat. De Tunisie* 2004-2005 T: 31 pp 1-8. 2005.
- BARBAULT, R., CASTANET, J., FRANCILLON, H., RICQLES, A. Détermination de l'âge chez un anoure déserticole *Bufo pentoni*, Anderson 1893. *Terre et vie, Rev. Ecol.*, 33 : 129-141. 1979.
- BERGER, L., Systematics and hybridization in the *Rana esculenta* complex. In: Taylor, H.D., Guttman, S.I. (Eds.), *The Reproductive Biology of Amphibians*. Plenum Press, New York, pp. 367-388. 1977.
- BONS, J. Recherche sur la biogéographie et la biologie des amphibiens et Reptiles du Maroc. Thèse Doct. Sci. Nat. Montpellier, CNRS. 321p. 1967.
- BONS, J., GENIEZ P. Amphibiens et reptiles du Maroc (Sahara Occidental compris) Atlas Biogéographique. Asociación Herpetológica Española. Barcelona, Spain. 319 pp. 1996.
- BUCKLEY, D., ARANO, B., HERRERO, P., LLORENTE, G.A. Population structure of Moroccan water frogs: genetic cohesion despite a fragmented distribution. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 34:173-179. 1996.
- BUCKLEY, D., ARANO, B., HERRERO, P., LLORENTE, G.A., ESTEBAN, M. Moroccan water frogs vs *Rana perezi*: Allozyme studies show up their differences. *Zool. Pol.* 39(3-4):365-375. 1995.
- BUSACK, S.D. Biogeographic analysis of the herpetofauna separated by the formation of the Strait of Gibraltar. *National Geographic Research*. 2(1):17-36. 1986.

- CASTANET, J., SMIRINA, E. Introduction to the Skeletochronology Method in Amphibians and Reptilia, Ann. Sci. Nat. Zool. 11:191- 196. 1990.
- CASTANET, J., MEUNIER, F. J., RICQLES, A. L'enregistrement de la croissance cyclique par le tissu osseux chez les vertébrés poikilothermes : données comparatives et essais de synthèse. *Bull. Biol. Fr. Belg.* 11 1 : 183-202. 1977.
- CASTANET, J., MEUNIER, F.J., FRANCILLON-VIEILLOT, H. Squelettochronologie à partir des os et des dents chez les vertébrés. Dans: Tissus durs et âge individuel des vertébrés. Colloque national, Bondy, France, 4-6 mars 1991. In Baglinière, J.L., Castanet, J., Conand, F., Meunier, F.J. (éds.) Colloque et séminaire ORSTOM-INRA. 257-280 pp. 1992.
- COGALNICEANU, D., MIAUD, C. Population age structure and growth in four syntopic amphibian species inhabiting a large river floodplain. *Can. J. Zool.* 81, 1096-1106. 2003.
- ESTEBAN, M., GARCIA-PARIS, M., CASTANET, J. Use of bone histology in estimating the age of frogs (*Rana perezi*) from a warm temperate climate area. *Can. J. Zool.* 74, 1914-1921. 1996.
- ESTEBAN, M., GARCIA-PARIS, M., BUCKLEY, D., CASTANET, J. Bone growth and age in *Rana saharica*, a water frog living in a desert environment. *Ann. Zool. Fennici* 36: 53-62. 1999.
- FRANCILLON-VIEILLOT, H., ARNTZEN, J. W., GERAUDIE, J. Age, growth and longevity of sympatric *Triturus cristatus*, *T. marmoratus* and their hybrids Amphibia, Urodela. A skeletochronological comparison. *J. Herpetol.*, 241 : 13-22. 1990.
- FRYE, F.L. General Considerations in the Care of Captive Amphibians. In: Current Veterinary Therapy VI Small Animal Practice (R.S. Kirk, ed.). W.B. Saunders.
- GENIEZ P., MATEO J.A., BONIS J., 2000. A checklist of amphibians and reptiles of Western Sahara (Amphibia, Reptilia). *Herpetozoa*. 13(3/4):149-163. 1977.
- GENIEZ, P., MATEO, J.A., GENIEZ, M., PETHER, J. The Amphibians and Reptiles of the Western Sahara. Edition Chimaira. Frankfurt am Main. 2004.
- GITTINS, S.P., STEED, J. E., WILLIAMS, R. Population Age-Structure of the Toad (*Bufo bufo*) at a Lake in Mid-Wales Determined from Annual Growth Rings in the Phalanx. *Brit. J. Herpetol.* 6: 249- 252. 1982.
- IVANOVA, N.L. Marsh frog (*Rana ridibunda* Pall.) in cooling ponds in the Middle Urals. *Russ. J. Ecol.* 33, 125-129. 2002.
- HALLIDAY, T. R., VERRELL, P. Body size and age in amphibians and reptiles. *J. Herpetol.* 223 : 253-265. 1988.
- HEMMER, H., KONRAD, A., BACHMANN, K. Hybridization within the *Rana ridibunda* complex of North Africa. *Amphibia-Reptilia*. 1(1):41-48. 1980.
- [KYRIAKOPOULOU-SKLAVOUNOU](#), P., [STYLIANOU](#), P., [TSIORA](#), A. A skeletochronological study of age, growth and longevity in a

- population of the frog *Rana ridibunda* from southern Europe. *Genet Res.* ; 89 (1):39-45. 2007.
- MCALPINE, D. F. A simple transect technique for estimating abundances of aquatic Ranid frogs. in Green, D. M. (ed.), *Amphibians in Decline. Canadian Studies of a Global Problem. Herpetological Conservation No. 1*:180-184. 1997.
  - MEDDEB, C. Etude biosystématique et écologique de deux populations de *Rana perezii*. DEA d'écologie animale ; Faculté des Sciences de Tunis. 69p. 1994.
  - MIAUD, C. La dynamique des populations subdivisées: étude comparative chez trois Amphibiens Urodeles (*Triturus alpestris*, *T. helveticus* et *T. cristatus*). These, Lyon : 205 p. 1990.
  - MITCHELL, J. C. Amphibian Monitoring Methods & Field Guide. *Smithsonian Conservation Research Center, Front Royal, Virginia*. 56 pp. 2000.
  - NEVEU, A. Apport de l'osteochronologie à l'étude de la dynamique des populations de grenouilles vertes du complex *esculenta*. In: J.L. Baglinière, J. Castanet, F. Conad and J. Meunier, Editors, *Tissus Durs et Âge Individuel des Vertébrés*, ORSTOM-INRA Editions, Paris (1992), pp. 395-407. 1992.
  - NOUIRA, S., LESCURE, J. Les noms scientifiques français des Amphibiens et Reptiles de Tunisie. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 85-86 : 37-54. 1998.
  - PASTEUR, G., BONS, J. Les Batraciens du Maroc. *Trav. Inst. Scient. Chérifien, Rabat, Ser. Zool.* 17(14):1-241. Philadelphia, P.A. pp. 772-778. 1959.
  - PATON, D., JUARRANZ, A., SEQUEROS, E., PEREZ-CAMPO, R., LOPEZ-TORRES, M., BARJA DE QUIROGA, G. Seasonal age and sex structure of *Rana perezii* assessed by skeletochronology. *J. Herpetol.* 25, 389-394. 1991.
  - PLEGUEZUELOS, J.M. 1997. Distribucion y Biogeografía de los Anfibios y Reptiles en España y Portugal. *Asociacion Herpetologica Española. Las Palmas de Gran Canaria*.
  - PLEGUEZUELOS J.M., MÁRQUEZ R., LIZANA M., 2002. Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España. Dirección General de la Conservación de la naturaleza-Asociación Herpetológica Española. Madrid. pp 584.
  - PLÖTNER, J. Genetic diversity in mitochondrial 12S rDNA of western Palearctic water frogs (Anura, Ranidae) and implication for their systematics. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research.* 36:191-201. 1998.
  - REGNIER, V. Etude écologique des populations de grenouilles du complexe *Rana esculenta* L. en Pays de Vilaine (Bretagne). *Thèse de Doctorat*, Rennes: 133 p. 1983.
  - SMIRINA, E.M. Age determination and longevity in amphibians. *Gerontology* 40, 133-146. 1994.

- SALVADOR, A. Amphibians of northwest Africa. Smithsonian Herpetological Information Service. 109:1-43. 1996.
- SCHLEICH, H.H., KÄSTLE W., KABISCH, K. Amphibians and Reptiles of North Africa. Koeltz scientific books. Koenigstein. 1996.
- STEINWARZ, D., SCHNEIDER, H. Distribution and bioacoustics of *Rana perezi* Seoane, 1885 (Amphibia, Anura, Ranidae) in Tunisia. Bonner Zoologische Beiträge. 42(3-4):283-297. 1991.
- UZZELL, T. Immunological relationship of western Palearctic water frogs (Salientia: Ranidae). Amphibia-Reptilia. 3(2/3):135-143. 1982.
- YILMAZ, N., KUTRUP, B., COBANOGLU, Ü., ÖZORAN, Y. Age Determination and some Growth Parameters of a *Rana ridibunda* Population in Turkey. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* ; 51(1), pp. 67-74. 2005.