

مطالعه بیوسیستماتیک در جمعیت‌های وزغ سبز (*Bufotes variabilis* (Palls, 1769) در زیستگاه‌های شمالی و جنوبی استان خوزستان

- اشرف جزایری*: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- طویه محمدی: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- سمیه بیات: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: اسفند 1398

تاریخ دریافت: آذر 1398

چکیده

وزغ سبز (*Bufotes variabilis*) به علت تحمل اکولوژیکی زیاد موفق‌ترین گونه از خانواده Bufonidae است که در سرتاسر ایران پراکنش دارد. در این مطالعه جمعیت‌های این گونه در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان با تاکید بر تفاوت‌های اقلیمی و ارتفاع از سطح دریا مورد مطالعه بیوسیستماتیکی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نسبت جنسی در شمال استان به نفع ماده‌ها و در جنوب به نفع نرها بود، مقایسه ریخت‌سنگی صفات شاخص به‌ویژه از نظر وزن و طول کل بدن تفاوت معنی‌داری را بین دو جمعیت نشان داد. نتایج آنالیز واریانس چند متغیره وجود دوریختی جنسی را در جمعیت گونه‌ای هر دو ناحیه تایید کرد. جدایی جمعیتی بین جمعیت‌های شمالی و جنوبی در هر دو جنس تایید گردید. جمعیت ماده‌ها در ایستگاه‌های شوش و شاور کاملاً مجزا اما در ایستگاه‌های شادگان و خرمشهر کاملاً روی هم افتاده بودند. در جمعیت نرها ایستگاه‌های حمیدیه و شادگان کم‌ترین شباهت و ایستگاه‌های شاور و شادگان و خرمشهر بیش‌ترین شباهت را داشتند. عدد کروموزومی گونه در هر دو ناحیه به‌صورت دیپلوئید $2n=22$ بود و هیچ موردی از پلی‌پلوئیدی مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: بیوسیستماتیک جانوری، جغرافیای جانوری، دوزیستان بی‌دم، وزغ سبز

مقدمه

دوزیستان رده مهمی از مهره‌داران را تشکیل می‌دهند و به‌عنوان گروهی مونوفیلیتیک، ابتدایی‌ترین گروه زنده از تتراپودها هستند (حسن‌زاده‌کیایی، 1386) و جایگاهشان در طبقه‌بندی‌حدواسط ماهی‌ها و خزندگان است. دوزیستان امروزی شامل سه راسته اصلی تکاملی‌اند. سسی‌لین‌ها (*Gymnophyona*) گروه کوچکی هستند که فاقد اندام‌های حرکتی‌اند و در مناطق استوایی به‌سر می‌برند. سمندرها (*Caudata*) دوزیستان دم دارند که شکل تتراپودی اجداد دوران پالئوزوئیک خود را حفظ کرده‌اند. دوزیستان بی‌دم (*Anura*) بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین دوزیستان امروزی را تشکیل می‌دهند و از نظر پراکنش جغرافیایی نیز نسبت به دوزیستان دم‌دار و دوزیستان فاقد دست و پا، موفق‌تر بوده‌اند (Pierce و همکاران، 2013). خانواده Bufonidae از راسته بی‌دمان شامل 52 جنس و 768 گونه در جهان می‌باشد

دوزیستان رده مهمی از مهره‌داران را تشکیل می‌دهند و به‌عنوان گروهی مونوفیلیتیک، ابتدایی‌ترین گروه زنده از تتراپودها هستند (حسن‌زاده‌کیایی، 1386) و جایگاهشان در طبقه‌بندی‌حدواسط ماهی‌ها و خزندگان است. دوزیستان امروزی شامل سه راسته اصلی تکاملی‌اند. سسی‌لین‌ها (*Gymnophyona*) گروه کوچکی هستند که فاقد اندام‌های حرکتی‌اند و در مناطق استوایی به‌سر می‌برند. سمندرها (*Caudata*) دوزیستان دم دارند که شکل تتراپودی اجداد دوران پالئوزوئیک خود را حفظ کرده‌اند. دوزیستان بی‌دم (*Anura*) بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین دوزیستان امروزی را تشکیل می‌دهند و از نظر پراکنش جغرافیایی نیز نسبت به دوزیستان دم‌دار و دوزیستان فاقد دست و پا، موفق‌تر بوده‌اند (Pierce و همکاران، 2013). خانواده Bufonidae از راسته بی‌دمان شامل 52 جنس و 768 گونه در جهان می‌باشد



و دوزیستان روئیت شده است (Lkutru و Ozdemir، 2007). کمپلکس وزغ‌های سبز (*Bufo viridis* group) یکی از محدود سیستم‌ها و کمپلکس‌های گونه‌ای مهرمداران و تنها کمپلکس گونه‌ای شناخته شده در دوزیستان است که 3 سطح پلوانیدی را با تولیدمثل جنسی نشان می‌دهد (Saba و Tripathi، 2012). این کمپلکس در منطقه پالتارکتیک شامل آفریقای شمالی، اروپا و آسیا پراکنش دارد و هر سه سطح پلوانیدی (دیپلوانید، تریپلوانید، تتراپلوانید) را در آسیای مرکزی شامل می‌شود (Stock و همکاران، 2001). جمعیت‌های تتراپلوانید در کوه‌های مرتفع با تغییرات اقلیمی زیاد پراکنده‌اند در حالی که زیستگاه نمونه‌های دیپلوانید به زمین‌ها و دره‌های پست و کم ارتفاع محدود می‌شود (Shffer و همکاران، 2015). مطالعات سیتوژنتیک نشان می‌دهد که تنوع گونه‌ای در وزغ سبز در آسیا بیش‌تر از اروپا و آفریقا است زیرا تمام سه سطح پلی‌پلوانیدی از آسیا گزارش شده‌اند (Batista و همکاران، 2006). نمونه‌های تریپلوانید ثبت شده در نواحی تماس بین وزغ‌های دیپلوانید و تتراپلوانید (پاراپتیک) در آسیای میانه وجود دارند و به‌طور کلی به 3 دسته تقسیم می‌شوند، برخی از آن‌ها در اکوسیستم‌های کوچک و مرزی (اکوتون) در حد فاصل قلمروهای پاراپتیک گونه‌های دیپلوانید و تتراپلوانید ایجاد می‌شوند. چنین نواحی تماسی از جنوب غربی ترکمنستان، جنوب تاجیکستان، شمال قرقیزستان و جنوب شرقی قزاقستان گزارش شده است. این تریپلوانیدها با گونه‌های دیپلوانید یا تتراپلوانید و بعضی اوقات با هر دو گونه هم‌زیستی دارند (Borkin و همکاران، 2000). نوع دیگر از تریپلوانیدی در شمال پاکستان مشاهده شده است که هیچ‌گونه وزغ سبز دیپلوانید یا تتراپلوانیدی در نزدیکی آن‌ها یافت نشد. در نوع سوم تریپلوانیدی تنها یک وزغ سبز ماده تریپلوانید در میان جمعیت‌های وزغ‌های سبز دیپلوانید در شبه جزیره کریمه اوکراین یافت شد که در دو دسته بالا قرار نمی‌گیرد، محققین چنین مواردی را اتفاقی می‌دانند و در دسته سوم قرار می‌دهند. این اولین گزارش از تریپلوانید طبیعی در جمعیت‌های اروپایی بود که از جمعیت‌های آسیا مرکزی با نواحی تماس بین گونه‌های دیپلوانید و تتراپلوانید کاملاً دور است. بعداً موارد این چنینی از دیگر مناطق نیز گزارش شد (Borkin و همکاران، 2000). اخیراً نوع دیگری از وزغ سبز تریپلوانیدی در مناطقی از ایران گزارش شده است که احتمال می‌رود نوع چهارمی از تریپلوانیدی در این کمپلکس باشد (Fakharzadeh و همکاران، 2015). وزغ سبز (*Bufo* *variabilis*) معمولی‌ترین، مشخص‌ترین و پراکنده‌ترین وزغ در ایران است. ماده‌ها پوستی روشن، قهوه‌ای کمرنگ، یا سبز-زیتونی با لکه‌های سبزرنگ و مشخص دارند، این لکه‌ها در نرها آن‌چنان مشخص نیستند در نتیجه نرها به رنگ یکنواخت‌تری دیده می‌شوند (عمادی، 1394). رنگ پوست دوزیستان را سلول‌های رنگدانه‌داری به نام کروماتوفور پدید می‌آورند. تغییر رنگ که به

جریان سیتوپلاسم و رانده شدن دانه‌های رنگی به درون انشعابات سلول مربوط است می‌تواند موجبات بروز چندرخی رنگی در برخی گونه‌ها را به‌منظور استتار بیش‌تر در زیستگاه فراهم آورد به‌علاوه کنترل تمرکز دانه‌ها در یک محل یا پراکنده شدن آن‌ها تحت تأثیر نور بر غده هیپوفیز و ترشح هورمون‌های آن است (امین و شکوهی‌نژاد، 1386). تحمل اکولوژیکی زیاد این گونه را قادر می‌سازد که در بیش‌تر استان‌های ایران به تولیدمثل بپردازد (بلوچ و کمی، 1385). تخم‌ریزی وزغ سبز در فروردین و اردیبهشت ماه صورت می‌گیرد و گاه تا مرداد ماه به طول می‌انجامد، یک وزغ ماده به‌طور متوسط ده تا دوازده هزار تخم می‌گذارد. تخم‌ها به‌صورت دو نوار باریک چسبنک و لزج خارج می‌شوند نوارهای تخم‌ها در حدود 3 تا 4 متر طول دارند که معمولاً به گیاهان آبی می‌چسبند رشد و تکامل لاروها بسیار سریع است به‌طوری‌که بزودی در اوایل خرداد می‌توان وزغ‌های جوانی را که به‌خوبی رشد کرده و کمی بزرگ‌تر از یک سانتی‌متر هستند را مشاهده کرد. دگردیسی بعد از 60 تا 90 روز اتفاق می‌افتد. بلوغ جنسی در چهارمین سال صورت می‌گیرد (هزاوه و همکاران، 1386).

مواد و روش‌ها

استان خوزستان با وسعتی معادل 64236 کیلومتر مربع در جنوب غربی ایران و در بین طول جغرافیایی 74 تا 50 درجه شرقی و عرض جغرافیایی 29 تا 36 درجه شمال واقع شده است (موحدی و همکاران، 1391). استان خوزستان علی‌رغم این‌که در سیستم‌های بزرگ اقلیمی به‌طور یکپارچه تحت تأثیر شرایط سینوپتیکی خاص قرار می‌گیرد، اما عوامل مؤثر در آن باعث شده که از خرده اقلیم‌ها و نواحی نامتجانس اقلیمی برخوردار باشد. با توجه به ویژگی‌های اقلیمی و اکولوژیکی استان در این تحقیق ایستگاه‌هایی در نواحی شمالی و جنوبی استان با تأکید بر تفاوت‌های میکروکلیمایی و ارتفاع از سطح دریا انتخاب گردید (جدول 1). نمونه‌برداری به‌مدت یک‌سال (مهر 1395 تا شهریور 1396) به‌صورت فصلی و از نواحی شمالی (شاور، حمیدیه و شوش) و نواحی جنوبی (خرمشهر و تالاب شادگان) استان خوزستان انجام شد. نمونه‌ها به‌صورت زنده صید شد سپس مطالعات ریخت‌سنجی برای صفات شاخص (جدول 2) در محل و به‌کمک ترازوی قابل حمل و کولیس دیجیتال انجام و نتایج ثبت گردید در هر نوبت نمونه‌برداری جهت مطالعات کاربولوژی و برآورد شاخص‌های تولیدمثلی چند نمونه بالغ نر و ماده به آزمایشگاه منتقل گردید و سایر نمونه‌ها در زیستگاه رهاسازی شدند.

جدول 1: مشخصات ایستگاه‌های مورد مطالعه در استان خوزستان

ایستگاه	موقعیت در استان	اقلیم	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
شادگان	جنوب	کم بارش، رطوبت نسبی بالا	6	48/6635	30/6529
خرمشهر	جنوب	کم بارش، رطوبت نسبی بالا	4	48/1765	30/4417
شوش	شمال	معتدل بارش‌مند	70	48/2462	32/1949
حمیدیه	شمال	معتدل و مرطوب	23	48/4398	31/4773

جدول 2: صفات بیومتریکی جهت شناسایی گونه

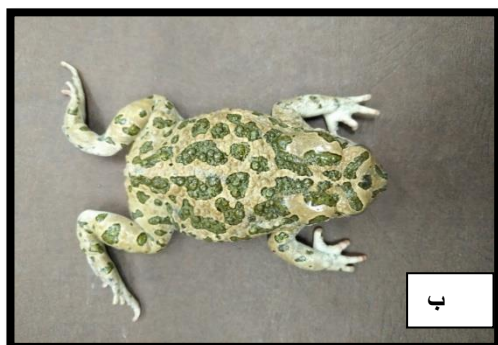
علامت اختصاری	تعریف	توضیح
W	وزن	وزن کلی بدن
TL	اندازه بدن	از نوک پوزه تا مرکز شکاف کلوآکی
H.S	اندازه سر	از پوزه تا نقطه فوقانی سوراخ پس سری
S.e.s	فاصله چشم تا نوک پوزه	از نوک پوزه تا لبه قدامی چشم
E.S	اندازه چشم	بزرگترین اندازه افقی چشم
S.t.y.e	اندازه پرده صماخ	بزرگترین اندازه پرده صماخ
F.L	طول ران	استخوان ران (از روی پای خمیده)
F.th	قطر ران	قطر ران پای عقبی
T.tl	طول زبان	طول کلی زبان به صورت کشیده شده
D.n	فاصله نوستریل ها	بیشترین فاصله بین دو نوستریل
S.n.s	فاصله نوستریل تا پوزه	از نوک پوزه تا نوستریل ها
L.i.d	فاصله بین پلک ها	کوچکترین فاصله بین لبه های داخلی پلک های فوقانی
L.a	طول بازوی دست	اندازه استخوان بازوی دست (پای جلویی)
S.i.n	فاصله سوراخ های داخلی بینی	بیشترین فاصله سوراخ های داخلی بینی
P.L	طول غدد پاراتونید	بیشترین اندازه طولی غدد پاراتونید
P.F	فاصله بین غدد پاراتونید	بیشترین فاصله میان دو غده پاراتونید

بیومتریکی بین وزغ های هر دو جنس (نر- ماده) در مناطق شمال و جنوب خوزستان نسخه 18 نرم افزار آماری Spss و آزمون های T-test، ANOVA و فاکتوریل مورد استفاده قرار گرفت و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید. در صورت مشاهده ($P < 0/05$) اختلاف معنی دار محسوب گردید.

نتایج

در این تحقیق تعداد 130 نمونه از 5 ایستگاه نواحی شمال و جنوب استان خوزستان بررسی گردید (شکل 1). مطالعه و مقایسه نسبت جنسی نمونه ها در ایستگاه های شمالی و جنوبی استان خوزستان نشان داد که در ایستگاه های نواحی جنوبی بیشترین فراوانی در جنس نر وجود داشت، این در حالی است که ایستگاه های شمالی دارای بیشترین فراوانی در جنسیت ماده بودند، در این میان جمعیت ایستگاه شوش از نسبت جنسی متعادل برخوردار بود.

بهمنظور آماده سازی وزغ ها جهت مطالعه کاربولوژیکی، ابتدا نمونه ها به دقت توزین گردیده و سپس از محلول کلشپسن با غلظت 2 میلی گرم/میلی لیتر به میزان 0/1 میلی لیتر به ازای هر گرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق شد. پس از 8 ساعت انکوباسیون نمونه ها تشریح شده و بافت مغز استخوان جهت استخراج پلاک های متافازی مورد استفاده قرار گرفت. اسلایدها به وسیله محلول گیمسای 5 درصد برای مدت 10 دقیقه رنگ آمیزی شد. از بهترین اسلایدها به وسیله میکروسکوپ مجهز به دوربین عکس برداری شد. ویژگی های هر کروموزم از قبیل طول کل و طول بازوها در محیط نرم افزاری (Imag.j) اندازه گیری شد در ادامه کاربوتیپ گونه مطابق روش های استاندارد تهیه شد (Green و Session، 1991). به منظور مطالعه شاخص های تولیدمثلی در نرها نسبت وزن بیضه ها به وزن کل بدن به عنوان شاخص GSI محاسبه شد همچنین در ماده ها میزان هم آوری به روش نسبت وزنی و با شمارش تعداد تخم ها در قطعه کوچکی از تخمدان محاسبه گردید. جهت مقایسه پارامترهای

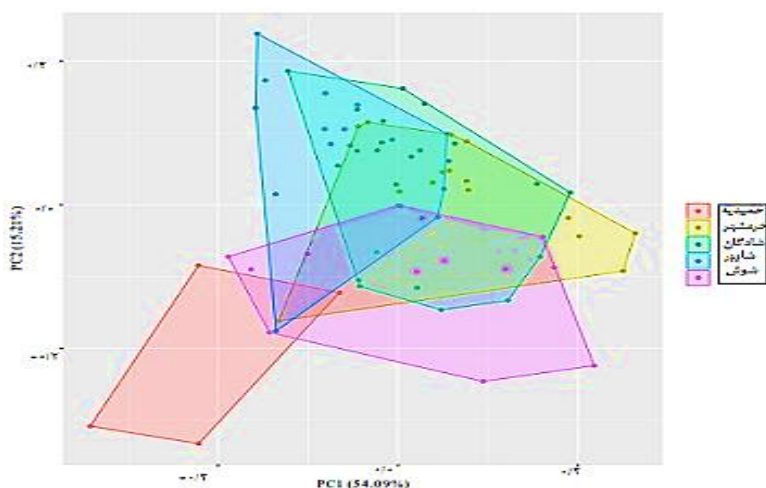


شکل 1: گونه *Bufo variabilis* از نواحی شمالی-جنوبی خوزستان (الف: شادگان، ب: شوش)

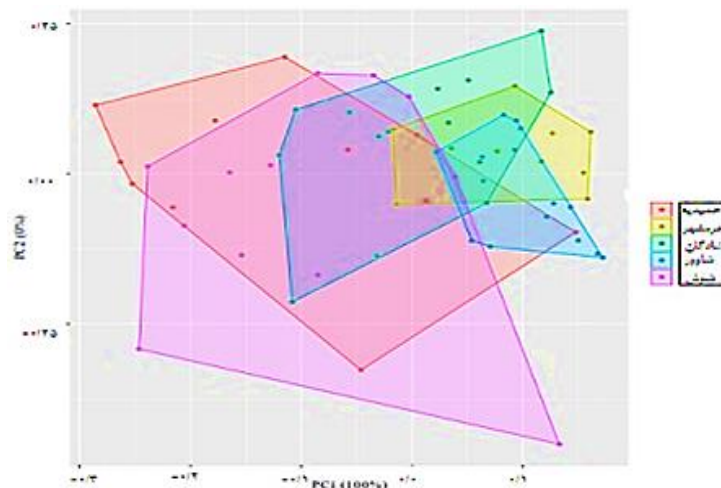


اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های ماده این گونه در ایستگاه‌های مختلف نشان داد که تنها برای صفت فاصله چشم تا نوک پوزه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، در سایر صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری وجود داشت. نتایج حاصل از تحلیل آنالیز واریانس (ANOVA) صفات مورفومتریک اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های نر این گونه نشان داد که تنها در دو صفت طول پاراتونید و قطر ران تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و در سایر صفات تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($P < 0/05$). میزان هم‌آوری در 5 ایستگاه شمال و جنوبی نشان داد که بیش‌ترین میزان هم‌آوری در ایستگاه حمیدیه (شمال) و کمترین میزان در ایستگاه شاور (شمال) وجود داشت. همچنین در مقایسه شاخص گنادی وزغ‌های نر در سطح ایستگاه‌های مختلف، بیش‌ترین میزان شاخص گنادی در ایستگاه شادگان (جنوبی) و کمترین میزان در ایستگاه شاور (شمال) مشاهده شد. پس از انجام آزمون تحلیل چندمتغیره به روش PCA با استفاده از روش رگرسیون خطی نمودار پراکنش (Scatter plot) به‌طور جداگانه برای افراد نر و ماده گونه ترسیم شد (شکل‌های 2 و 3)، تاثیر مولفه‌های اول و دوم در جدایی بین جمعیت‌ها، در جمعیت‌های جنس ماده نشان داد که در برخی از ایستگاه‌ها الگوی جغرافیایی معنی‌داری بود به‌عنوان مثال جمعیت شوش و شاور کاملاً مجزا از هم قرار گرفتند در حالی‌که جمعیت‌های شادگان و خرمشهر تقریباً به‌طور کامل روی هم افتاده‌اند. به‌علاوه در جمعیت‌های جنس نر در بیش‌تر ایستگاه‌ها جدایی جغرافیایی معنی‌داری مشاهده نشد. ایستگاه‌های حمیدیه و شادگان کمترین شباهت را به هم داشتند در حالی‌که جمعیت‌های نر ایستگاه‌های شاور، شادگان و خرمشهر بیش‌ترین شباهت را به هم داشتند (شکل 4).

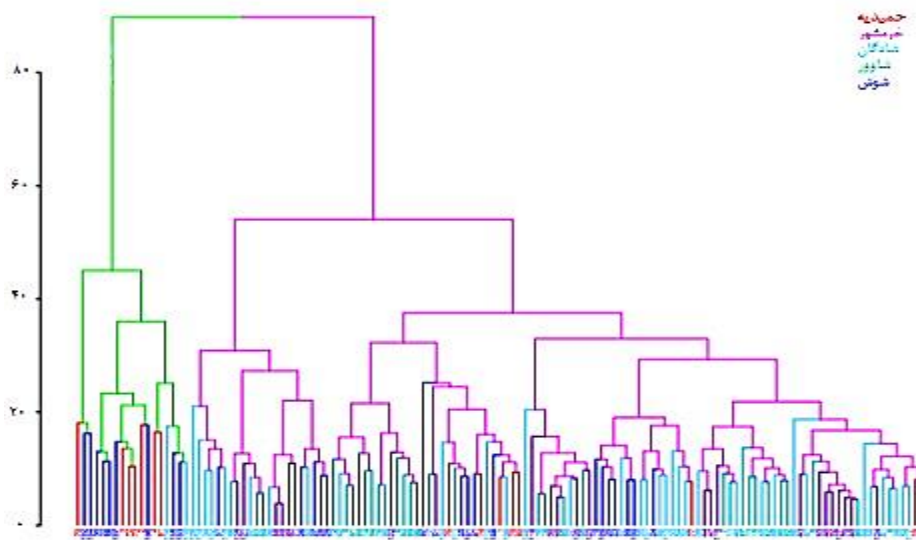
نتایج حاصل از آزمون T-test در سطح معنی‌داری ($P < 0/05$) برای مقایسه میانگین‌های صفات شاخص بین دو جنس نر و ماده در نواحی شمالی نشان داد که در صفات وزن، طول کل، فاصله چشم تا نوک پوزه، اختلاف معنی‌دار وجود داشت در همه این صفات میانگین جنس ماده بیش‌تر و بیانگر جثه بزرگ‌تر در ماده‌ها بود، در سایر صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج آزمون T-test در سطح معنی‌داری ($P < 0/05$) برای مقایسه میانگین‌های صفات شاخص بین دو جنس نر و ماده در نواحی جنوبی نشان داد که در صفات وزن، طول کل، فاصله سوراخ‌های بینی و طول بازو، اختلاف معنی‌دار وجود داشت و در سایر صفات اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج آنالیز واریانس چندمتغیره (T^2 -Hotelling) برای بررسی جدایی بردار میانگین بین جنسیت‌های نر و ماده معنی‌دار بوده و نشان داد که در گونه *B. Variabilis* دو ریختی جنسی وجود داشت. آزمون آنالیز واریانس چندمتغیره برای بررسی جدایی بردار میانگین جمعیت‌ها در سطح معنی‌داری ($P < 0/05$) برای جمعیت جنس ماده و نر انجام شد و جدایی بین جمعیت‌های ماده ($P = 0/03$) را نشان داد. در میان جمعیت‌های نر نیز جدایی بین جمعیتی در نواحی شمالی و جنوبی مشاهده گردید ($P = 0/03$). نتایج آنالیز واریانس تک متغیره نشان داد که از بین صفات مورفومتریک اندازه‌گیری شده، تفاوت معنی‌داری بین جنس نر و ماده از نظر صفات وزن، طول بدن، فاصله نوسریل تا پوزه، فاصله انگشت‌ها در پای جلویی و طول غده پاراتونید وجود داشت در سایر صفات اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج حاصل از تحلیل آنالیز واریانس (ANOVA) صفات مورفومتریک



شکل 3: نمودار PC1 در مقابل PC2 در صفات مورفومتریک در بین جمعیت‌های جنس نر گونه *B. variabilis* در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان



شکل 2: نمودار PC1 در مقابل PC2 در صفات مورفومتریک در بین جمعیت‌های جنس ماده گونه *B. variabilis* در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان



شکل 4: دندوگرام صفات مورفومتریک در جمعیت‌های گونه *B. variabilis* در نواحی شمال و جنوب استان خوزستان

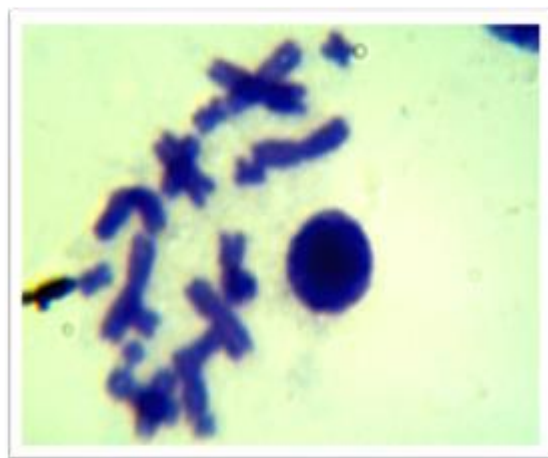
کروموزومی (در عدد هاپلوئید) برابر با 61/64 میکرون بود نسبت بازویی کروموزوم‌ها ($\frac{q}{p}$) بین حداقل 1/05 میکرومتر (جفت شماره 8) تا حداکثر 2/4 میکرومتر (جفت شماره 9) متغیر بود. شاخص سانترومری ($\frac{p}{p+q}$) بین 0/30 میکرومتر (جفت شماره 9) تا حداکثر 0/49 میکرومتر (جفت شماره 3) قرار داشت (جدول 3). کلیه مطالعات کاربیلوژیکی برای نمونه‌های ایستگاه‌های شمالی و جنوبی استان تکرار گردید نتایج نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری از این نظر بین دو ناحیه وجود نداشت.

در این پژوهش عددکروموزومی به‌دست آمده برای گونه *B. Variabilis*، در هر دو ناحیه شمال و جنوب استان خوزستان برابر با $2n=22$ بود. در مجموعه کروموزومی این گونه، کروموزوم‌های هترومورف جنسی مشاهده نشد، تعداد بازوها $NF=44$ بود. در مجموعه کروموزوم‌های این گونه، 5 جفت کروموزوم بزرگ (جفت‌های 1-5)، 3 جفت کروموزوم متوسط (جفت‌های 6-8) و 3 جفت کروموزوم کوچک (جفت‌های 9-11) مشاهده شد (شکل‌های 5 و 6). براساس نسبت بازویی و محل استقرار سانترومر، 7 جفت کروموزوم متاسانتریک (جفت‌های 1، 2، 3، 5، 6، 7، 8) و 4 جفت کروموزوم‌های ساب متاسانتریک (جفت‌های 4، 9، 10، 11) مشاهده شد. مجموعه طول

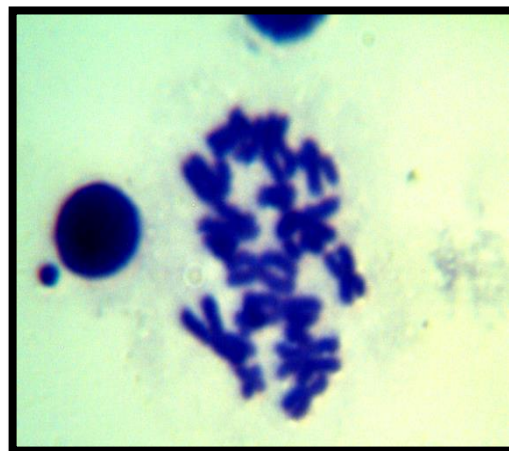
جدول 3: ویژگی‌های کروموزومی در (*Bufo variabilis*) بر حسب میکرومتر، در ایستگاه‌های مورد مطالعه

شماره کروموزوم	نوع کروموزوم بر اساس محل سانترومر	طول کل	طول بازوی بلند (q)	طول بازوی کوتاه (p)	نسبت بازویی ($\frac{q}{p}$)	شاخص سانترومری ($\frac{p}{p+q}$)
1	متاسانتریک	10/25	5/30	4/90	1/08	0/47
2	متاسانتریک	9/75	5/5	4/25	1/2	0/42
3	متاسانتریک	9/15	5/00	4/50	1/1	0/49
4	ساب متاسانتریک	6/76	3/90	2/75	1/4	0/40
5	متاسانتریک	6/25	3/25	3/00	1/08	0/48
6	متاسانتریک	5/95	3/2	2/75	1/1	0/46
7	متاسانتریک	4/25	2/40	1/95	1/2	0/45
8	متاسانتریک	3/95	2/00	1/90	1/05	0/48
9	ساب متاسانتریک	2/33	1/7	0/70	2/4	0/30
10	ساب متاسانتریک	1/75	1/05	0/75	1/5	0/42
11	ساب متاسانتریک	1/25	0/75	0/52	1/4	0/41





A

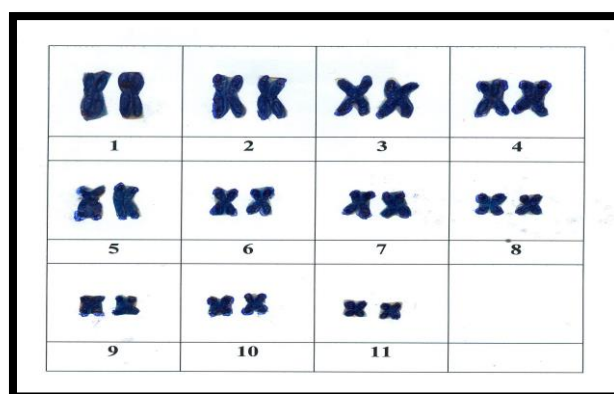


B

شکل 5: پلاک‌های متافازی حاصل از بافت مغز استخوان *Bufo variabilis* A- ایستگاه جنوبی، B- ایستگاه شمالی خوزستان

جابه‌جایی مهاجرتی برای گونه مورد مطالعه تا حدودی میسر است (فیروز، 1378) و نیز امکان جابه‌جایی تخم و لارو گونه از طریق آب‌های سطحی (به‌ویژه رودخانه‌های داخلی استان از جمله کرخه و کارون) وجود دارد به‌منظر می‌رسد حضور این گونه در نواحی شمالی می‌تواند حاصل مهاجرت وزغ سبز از جنوب استان لرستان نیز بوده باشد. به‌علاوه در نواحی جنوبی به‌ویژه در آبادان و خرمشهر (جزیره مینو) مجاورت با زیستگاه‌های آبی که مرز مشترک ایران و کشور عراق هستند امکان تحرک و گسترش دامنه پراکنش این گونه در دو کشور همسایه را فراهم آورده است اگرچه این مسیر گسترش طی سال‌های جنگ تحمیلی و به‌سبب احداث موانع فیزیکی به‌ویژه در تالاب هورالعظیم به‌شدت محدود بوده است. آزمون‌های T-test، آنالیز واریانس تک‌متغیره، آنالیز واریانس چندمتغیره و T2-Hotelling ضمن تأیید جدایی جنسیتی بین نر و ماده در هر دو ناحیه شمالی و جنوبی استان نشان داد که در بیش‌تر صفات مورفومتریک تفاوت معنی‌دار بین دو جنس وجود داشت با این‌حال در برخی از صفات از جمله طول غدد پاراتوئید و قطر ران تفاوت معنی‌داری نبود.

نتایج این مطالعه وجود دوریختی جنسی در سطح جمعیت وزغ سبز را براساس صفات مورفومتریک تأیید نمود به‌طوری‌که در اغلب موارد ماده‌های این گونه دارای جثه بزرگ‌تر و وزن بیش‌تری بودند. از سوی دیگر نتایج نشان داد که این گونه در ناحیه شمالی از جمعیت همگن‌تری برخوردار بود، این امر می‌تواند به‌علت وجود تنش‌های اقلیمی و زیست‌محیطی شدیدتر در نواحی جنوبی باشد زیرا به‌ویژه در تالاب‌شادگان و هورالعظیم طی سال‌های اخیر به‌علت تغییرات اقلیمی، کاهش بارندگی، افزوده شدن آلودگی‌های زیست محیطی به آب‌های سطحی، افزایش شوری آب تالاب و خشک شدن نیمی از گستره تالاب‌های مذکور امکان تولیدمثل و تثبیت جمعیتی بسیاری از گونه‌ها به‌ویژه دوزیستان و از جمله وزغ سبز فراهم نبوده است (نژادکی و همکاران، 1389). در بررسی کاربولوجی و مورفومتریکی گونه‌های کمپلکس



شکل 6: کاریوتایپ چیده شده *Bufo variabilis*

بحث

گونه *Bufo variabilis* که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت، پراکنش گسترده‌ای در نواحی مختلف ایران و کشورهای همسایه از جمله عراق و ترکیه داشته و در اکثر زیستگاه‌ها، گونه‌ای غالب دارای ثبات جمعیتی است (عمادی، 1384). طی فعالیت‌های کوهزایی با توجه به ثبات نسبی صفحه اوراسیا و حرکت صفحه عربستان به سمت ایران از چین‌خوردگی رسوبات بستر دریایی تنیس کوه‌های البرز در شمال و زاگرس در جنوب ایران شکل گرفت. به‌علاوه نواحی شمال تا شرق خوزستان تحت اثر این جنبش به‌صورت مجموعه‌ای کوهستانی در آمد، به این ترتیب رودخانه‌هایی بزرگ از جمله کارون و کرخه در جهت شمال به جنوب جریان یافت، بخش شمالی استان خوزستان در حوضه آبریز کارون قرار گرفته است این رود سپس در جنوب استان ضمن تلاقی با رود مرزی اروند به خلیج فارس می‌ریزد از سوی دیگر چون مصب رود در رودخانه کارون قرار دارد ارتباط بین زیستگاه‌های شمالی و جنوبی استان برقرار شده و امکان جابه‌جایی تخم و لارو گونه‌های وابسته به آب در طی این مسیر وجود دارد (بلمکی و همکاران، 1386). از آن‌جاکه امکان

B. Viridis مناطق مختلف جنوب ایران و تجزیه و تحلیل 18 پارامتر مورفومتریک تفاوت معنی‌داری بین سه جمعیت

کمپلکس، شامل *B. variabilis*، *B. luristanicus* و *B. surdus* از جنوب ایران را نشان داد (Fakharzadeh و همکاران، 2015). بررسی نسبت جنسی (نر به ماده) و تغییرات آن نشان داد که این پارامتر تنها در ایستگاه شوش متعادل بود در حالی که در ایستگاه حمیدیه غالبیت با ماده‌ها بود و در ایستگاه‌های شاور (از نواحی شمال) و خرمشهر (از نواحی جنوب) نسبت جنسی به سمت غالبیت نسبی نرها گرایش داشت این امر می‌تواند وابسته به برخی رفتارهای متمایز در دو جنس باشد از جمله مهاجرت تولیدمثلی ماده‌ها در فصل تخم‌ریزی که پیش از نرها به مجاورت زیستگاه‌های آبی نقل مکان می‌کنند و شانس صید ماده‌ها را نسبت به نرها افزایش می‌دهد (نجیب‌زاده و همکاران، 1393). از سوی دیگر جثه بزرگتر و وزن بیش‌تر ماده‌ها در مقابل چابکی و قدرت عضلانی نرها، شانس فرار و مخفی شدن وزغ‌های نر را در برابر صیاد افزایش می‌دهد این امر به‌ویژه در فصل تولیدمثل موجب افزایش شانس صید ماده‌ها می‌شود (اشکاوندی و همکاران، 1391). شاخص‌های جنسی، شامل شاخص گنادی در نرها (GSI) و میزان هم‌آوری نسبی (F) در ماده‌ها می‌توانند علاوه بر تعیین سن بلوغ افراد گونه، میزان موفقیت تولیدمثلی گونه را تعیین نمایند و بنابراین در اکثر مطالعات زیستی جانوران کاربرد گسترده‌ای دارند (ابراهیم‌نژاد، 1390).

در این تحقیق نیز در مطالعات زیست‌شناسی گونه وزغ سبز شاخص‌های GSI برای نرها و هم‌آوری نسبی برای ماده‌ها در هر دو ناحیه بررسی گردید نتایج نشان داد که میزان GSI وزغ‌های نر بالغ در مناطق مختلف متفاوت بود، بیش‌ترین میزان شاخص گنادی در ایستگاه شادگان و کمترین میزان آن در ایستگاه شاور (از نواحی شمالی) دیده شد این امر تا حد زیادی می‌تواند به اهمیت زیستگاه‌های تالابی از جمله تالاب بین‌المللی شادگان تاکید نماید چنان‌چه تالاب‌ها در شرایط بهینه و سلامت باشند بهترین پناهگاه جهت تغذیه، تولیدمثل و بقای گونه‌ای دوزیستان خواهند بود از آن‌جاکه کیفیت و کمیت تغذیه افراد نر و ماده مستقیماً بر میزان شاخص‌های جنسی و توانایی تولیدمثل آن‌ها موثر است بنابراین وجود تنوع غذایی (حشرات و سایر بی‌مهرگان تالابی) در تالاب شادگان می‌تواند موجب افزایش شاخص گنادی نرها و نیز میزان هم‌آوری ماده‌ها باشد (ایافت، 1379). در مطالعه حاضر دو ریختی جنسی با اندازه‌گیری بیش از 20 صفت ریخت‌شناسی مورد بررسی و تحلیل آماری قرار گرفت، نتایج نشان داد که وابستگی بین صفات و جنسیت وجود داشت به‌علاوه در جمعیت نر- ماده وزغ سبز در نواحی شمالی و جنوبی دو ریختی جنسی مشاهده شد. این نتایج با تحقیقات مشابه در مورد سایر دوزیستان بی‌دم و از جمله گونه وزغ سبز در سطح کشور و نیز سایر کشورها مطابقت داشت (اشکاوندی و همکاران، 1391؛ هزاوه و همکاران، 1386؛ Stock و همکاران، 2001).

به‌منظور تایید دو ریختی جنسی و تکمیل ANOVA، آنالیز واریانس چند متغیره (H2-Hotelling) نیز انجام گردید این آزمون تایید نمود در جمعیت ساکن نواحی شمالی و جنوبی خوزستان دو ریختی جنسی وجود دارد. جهت بررسی الگوی پراکنش جمعیتی در این گونه برآورد میزان و احتمال جدایی جمعیتی بین نواحی شمالی و جنوبی از آزمون تحلیل چند متغیره به‌روش PCA استفاده

شد نتایج آزمون نشان داد که جدایی جغرافیایی معنی‌داری در جمعیت ماده‌ها در نواحی مجزا وجود نداشت برخلاف نرها که جدایی جمعیتی را در برخی ایستگاه‌های شمالی- جنوبی نشان دادند.

مطالعات کاربولوجی بر پایه مشاهده، دسته‌بندی و اندازه‌گیری کروموزوم‌ها در هسته‌های متافازی طراحی می‌شوند و در تحقیقات بیوسستماتیکی از اهمیت به‌سزایی برخوردارند (Stock و همکاران، 2001). اگرچه به اقتضای وجود کمپلکس و وقوع پدیده پلی‌پلویدی در جمعیت این گونه می‌توان اعداد کروموزومی متنوعی از جمله تریپلوئید ($2n=33$) و تترا پلوئید ($2n=44$) را انتظار داشت (Sinch و همکاران، 2007؛ Stock و همکاران، 2005). در این مطالعه در هیچ‌یک از ایستگاه‌های نواحی شمالی و جنوبی پلی‌پلویدی مشاهده نگردید. عدد کروموزومی این گونه در مناطق مورد مطالعه در شمال و جنوب استان خوزستان برابر با $2n=22$ بود. در مجموعه کروموزومی این گونه کروموزوم‌های هترومورف جنسی مشاهده نشد، تعداد بازوها $NF=44$ مشاهده شد.

طبق بررسی‌های انجام شده در سراسر دنیا مثلاً در ترکمنستان، تاجیکستان، ازبکستان، قزاقستان و مغولستان جمعیت وسیعی از وزغ‌های سبز با عدد کروموزومی دیپلوئید دیده شده است. در بررسی‌های کاربوتایپ وزغ سبز در استان مرکزی و نیز در شهر اهواز یک مجموعه $2n=22$ کروموزومی شامل 6 جفت کروموزوم متاسانتریک و 5 جفت کروموزوم ساب متاسانتریک گزارش نموده‌اند (هزاوه و همکاران، 1386؛ حاتمی، 1392).

منابع

1. ابراهیم‌نژاد، م.، 1390. زیست‌شناسی مهرداران. لیزی، د.، انتشارات دانشگاه اصفهان. صفحات 124 تا 130.
2. اشکاوندی، ص.؛ قارزی، ا. و عباسی، م.، 1391. مقایسه ترکیب سنی در دو جمعیت از گونه‌های دوزیستان بی‌دم در مخمل کوه با استفاده از اسکلتوکرونولوژی. مجله پژوهش‌های جانوری. دوره 27، شماره 2، صفحات 176 تا 184.
3. امین، ا. و شکوهی‌نژاد، م.، 1386. زیست‌شناسی جانوری. انتشارات امیرکبیر.
4. ایافت، س.ا.، 1379. فواید تالاب‌ها. دیویس، ج. و کلاریچ، گ.، چاپ دوم. سازمان حفاظت محیط زیست ایران.
5. بلمکی، ب.؛ پاک‌فرصت، س.؛ خیرخواه، ش. و شیرزادی، آ.، 1386. بررسی جغرافیای زیستی مهرداران ایران در جهت جذب اکوتوریست. همایش ملی جغرافیا و آمایش سرزمین، همدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان.



6. بلوچ، م. و کمی، ح.ق.، 1385. دوزیستان ایران. انتشارات دانشگاه تهران.
7. حاتمى، ا.، 1392. شناسایی و رده‌بندی دوزیستان بی‌دم منطقه الشتر (استان لرستان) با تأکید بر مورفومتری و کارپولوژی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. گروه زیست‌شناسی. دانشکده علوم. دانشگاه شهید چمران اهواز.
8. حسن‌زاده‌کیابی، ب.، 1386. جانورشناسی. جلد دوم. انتشارات دانشگاه پیام نور تهران. صفحات 40 تا 43.
9. عمادی، ن.، 1384. مطالعه بیوسیستماتیکی انواع وزغ‌ها در یک منطقه گرم (اهواز) با تأکید بر ساختار پوست آن‌ها. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. گروه زیست‌شناسی. دانشکده علوم. دانشگاه علوم. دانشگاه شهید چمران اهواز.
10. فخارزاده، ف.، 1382. بررسی بیوسیستماتیکی دوزیستان بی‌دم مناطقی از شمال و شرق استان خراسان (کارپولوژی، بیومتری، مورفولوژی). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. گروه زیست‌شناسی. دانشکده علوم. دانشگاه فردوسی مشهد.
11. فیروز، ا.، 1378. حیات وحش ایران. مهرمداران. مرکز نشر دانشگاهی.
12. موحدی، س.؛ حیدری، ب.؛ هاشمی‌عنا، ک. و رنجبر، ف.، 1391. پهنه‌بندی نواحی اقلیمی خوزستان. فصلنامه فضای جغرافیایی. دوره 12، شماره 40، صفحات 64 تا 73.
13. نجیب‌زاده، م.؛ درویش، ج.؛ کمی، ح.ق. و قاسم‌زاده، ف.، 1393. مقایسه زیستگاه رفتار جفتگیری و تخم‌ریزی سه گونه از دوزیستان بی‌دم در استان لرستان. مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران). دوره 27، شماره 2، صفحات 199 تا 291.
14. نزاقتی، ر.؛ حائری‌پور، س. و ملماسی، س.، 1389. دستورالعمل پهنه‌بندی زیستگاه‌های تالابی براساس سیستم MED WET انتشارات دایره سبز. چاپ اول.
15. هزاوه، ن.؛ قاسم‌زاده، ف. و درویش، ج.، 1386. بررسی بیوسیستماتیک (مورفولوژی و کارپولوژی و مورفومتری)
16. Batista, V.; Carranza, S.; Carretero, M.A. and Harris, D.J., 2006. Genetic variation within *Bufo viridis*: evidence from mitochondrial 12S and 16S rRNA DNA sequences. Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia. Vol. 17, pp: 24-33.
17. Borkin, L.J.; Rosanov, J.M. and Litvinchuk, S.N., 2000. Nuclear DNA content in some green toads (*Bufo viridis* complex) of Turkey and Iran. Russ. J. Herpetol. Vol. 7, No. 3, pp: 171-180.
18. Eskandarzadeh, N.; Rastegar pouyani, N.; Rastegar pouyani, E.; Fathinia, B.; Hamadi, K. and Gholamifard, A., 2018. Annotated checklist of the endemic tetrapoda species of iran. Zoosytoma. Vol. 40, No. 24, pp: 507-537.
19. Fakharzadeh, F.; Darvish, J.; Kami, H.; Ghasemzadeh, F. and Rastegar Pouyani, E., 2015. New karyological and Morphometric Data on poorly know *Bufo surdus* and *Bufo lurisus* in comparison with Data of Diploid Green Toads of the *Bufo viridis* complex from South of Iran. Asian Herpetological Research. Vol. 5, No. 3, pp: 168-178.
20. Green, D.M. and Session, K., 1991. Amphibian cytogenetic and evolution academic press. inc. san diego, California. 456 p.
21. Ozdemir, N. and Lkutru, P.B., 2007. Intraspecific variation of Turkish GreenToads, *Bufo viridis* (Pseudepipalea) LAURENTI.1768, based on 16 Sribosomal RNA sequences. Herpetozoa. Vol. 20, No. 2, pp: 3-10.
22. Pierce, S.E.; Hotchinson, J.R. and Clack, J.A., 2013. Historical perspectives on the evolution of tetrapodomorph movement. Vol. 1, No. 2, pp: 1-22.



23. **Saba, N. and Tripathi, N.K., 2012.** Meiotic chromosomes and karyotype of *Bufo viridis* (Laurenti, 1768) from Jammu and Kashmir. *Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci.* Vol. 1, No. 6, pp: 21-25.
24. **Shffer, H.B.; Gidis, M.; McCartney-Melstand, E.; Neal, K.M.; Oyamaguchi, H.M.; Tellez, M.; Sinsch, U.; Leskovar, C.; Drobig, A.; Konig, A. and Grosse, W.R., 2007.** Life-history traits in green toad (*Bufo viridis*) populations: indicators of habitat quality. *Canadian journal of zoology*. Vol. 85, No. 5, pp: 665-673.
25. **Stock, M.A.; Frynta, D.A.; Grosse, W.R.; Steinlein, C.L. 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. *Asiatic Herpetol. Res.* Vol. 9, pp: 77-100.
26. **Stock, M.; Steinlein, C.; Lamatsch, D.; Scharlt, M. and Schmid, M., 2005.** Multiple origins of tetraploid taxa in Eurasian *Bufo viridis* subgroup. *Genetica*. Vol. 124, pp: 255-272.
27. **www. Amphibia species of the world. 2019.**

