

مطالعه بیوسیستماتیک در جمعیت‌های وزغ سبز (*Bufo variabilis* (Palls, ۱۷۶۹) در زیستگاه‌های شمالی و جنوبی استان خوزستان

- اشرف جزایری*: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- طیبه 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 دریافت: آذر ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۸

چکیده

وزغ سبز (*Bufo 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 ریخت‌سنجی 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 شاورر کاملاً مجزا اما در ایستگاه‌های شادگان و خرمشهر کاملاً روی هم افتاده بودند. در جمعیت نرها ایستگاه‌های حمیدیه و شادگان کم‌ترین شباهت و ایستگاه‌های شاورر و شادگان و خرمشهر بیش‌ترین شباهت را داشتند. عدد کروموزومی گونه در هر دو ناحیه به‌صورت دیپلوئید ۲۲-۲n 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 (حسن‌زاده کیایی، ۱۳۸۶) و جایگاهشان در طبقه‌بندی حدواسط 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، ۲۰۱۳). خانواده Bufonidae از راسته بی‌دمان شامل ۵۲ جنس و ۷۶۸ گونه در جهان می‌باشد (Amphibia species of the world، ۲۰۱۹). بوفونیده‌های ایران شامل ۶۲۱ گونه و در ۳ جنس *Bufo*، *Bufotes* و *Duttaphrynus* قرار می‌گیرند (Eskandarzadeh و همکاران، ۲۰۱۸). جنس *Bufo* که ۱۶ گونه از آن در جهان وجود دارد در پالئوآرکتیک با موفقیت پراکنش یافته است بر این اساس در شمال و غرب چین، روسیه، شرق کره تا قرقیزستان، کشمیر، ایران، عراق، غرب اروپا و شمال آفریقا مشاهده شده، تاکنون ۶ گونه از این جنس در ایران گزارش شده است (فخارزاده، ۱۳۸۲). گونه *Bufo variabilis* به سبب داشتن دامنه تحمل اکولوژیکی وسیع تقریباً در بیش‌تر استان‌های ایران که دارای بارندگی سالیانه هستند حضور دارد به‌همین علت معمول‌ترین و فراوان‌ترین وزغ در ایران است (بلوچ و کمی، ۱۳۸۵). پلی‌پلوئیدی یا داشتن اعداد کروموزومی متنوع در جمعیت‌های مختلف، یک پدیده عمومی و رایج در قارچ‌ها و گیاهان است ولی در جانوران عمومیت ندارد با این حال در حشرات، حلزون‌های صدف‌دار، سخت‌پوستان، کرم‌ها، خزندگان و دوزیستان روئیت شده است (Lkutru و Ozdemir، ۲۰۰۷). کمپلکس وزغ‌های سبز (*Bufo viridis* group) یکی از معدود سیستم‌ها و کمپلکس‌های گونه‌ای مهره‌داران و تنها کمپلکس گونه‌ای شناخته شده در دوزیستان است که ۳ سطح پلوئیدی را با تولیدمثل جنسی نشان می‌دهد (Saba و Tripathi، ۲۰۱۲). این کمپلکس در منطقه پالئوآرکتیک شامل آفریقای شمالی، اروپا و آسیا پراکنش دارد و هر سه سطح پلوئیدی (دیپلوئید، تریپلوئید، تتراپلوئید) را در آسیای مرکزی شامل می‌شود (Stock و همکاران، ۲۰۰۱). جمعیت‌های تتراپلوئید در کوه‌های مرتفع با تغییرات اقلیمی زیاد پراکنده‌اند در حالی که زیستگاه نمونه‌های دیپلوئید به زمین‌ها و دره‌های پست و کم ارتفاع محدود می‌شود (Shffer و همکاران، ۲۰۱۵). مطالعات سیتوژنتیک نشان می‌دهد که تنوع گونه‌ای در وزغ

سبز در آسیا بیش‌تر از اروپا و آفریقا است زیرا تمام سه سطح پلی‌پلوئیدی از آسیا گزارش شده‌اند (Batista و همکاران، ۲۰۰۶). نمونه‌های تریپلوئید ثبت شده در نواحی تماس بین وزغ‌های دیپلوئید و تتراپلوئید (پاراپتريک) در آسیای میانه وجود دارند و به‌طور کلی به ۳ دسته تقسیم می‌شوند، برخی از آن‌ها در اکوسیستم‌های کوچک و مرزی (اکوتون) در حد فاصل قلمروهای پاراپتريک گونه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید ایجاد می‌شوند. چنین نواحی تماسی از جنوب‌غربی ترکمنستان، جنوب تاجیکستان، شمال قرقیزستان و جنوب‌شرقی قزاقستان گزارش شده است. این تری‌پلوئیدها با گونه‌های دیپلوئید یا تتراپلوئید و بعضی اوقات با هر دو گونه هم‌زیستی دارند (Borkin و همکاران، ۲۰۰۰). نوع دیگر از تریپلوئیدی در شمال پاکستان مشاهده شده است که هیچ گونه وزغ سبز دیپلوئید یا تتراپلوئیدی در نزدیکی آن‌ها یافت نشد. در نوع سوم تریپلوئیدی تنها یک وزغ سبز ماده تری‌پلوئید در میان جمعیت‌های وزغ‌های سبز دیپلوئید 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 تری‌پلوئید طبیعی در جمعیت‌های اروپایی بود که از جمعیت‌های آسیا مرکزی با نواحی تماس بین گونه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید کاملاً دور است. بعداً موارد این چنینی از دیگر مناطق نیز گزارش شد (Borkin و همکاران، ۲۰۰۰). اخیراً نوع دیگری از وزغ سبز تری‌پلوئیدی در مناطقی از ایران گزارش شده است که احتمال می‌رود نوع چهارمی از تریپلوئیدی در این کمپلکس باشد (Fakharzadeh و همکاران، ۲۰۱۵). 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 به‌رنگ یکنواخت‌تری دیده می‌شوند (عمادی، ۱۳۹۴). 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 چندریختی رنگی در برخی گونه‌ها را به‌منظور استتار بیش‌تر در زیستگاه فراهم آورد به‌علاوه کنترل تمرکز دانه‌ها در یک محل یا پراکنده شدن آن‌ها تحت تاثیر نور بر غده هیپوفیز و ترشح هورمون‌های آن است (امین و شکوهی‌نژاد، ۱۳۸۶). تحمل اکولوژیکی زیاد این گونه را قادر می‌سازد که در بیش‌تر استان‌های ایران به تولیدمثل بپردازد (بلوچ و کمی، ۱۳۸۵). 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 چسبناک و لزج خارج می‌شوند نوارهای تخم‌ها در حدود ۳ تا ۴ متر طول دارند که معمولاً به گیاهان آبی می‌چسبند رشد و تکامل لاروها بسیار سریع

اقليمی برخوردار باشد. با توجه به ویژگی‌های اقلیمی و اکولوژیکی استان در این تحقیق ایستگاه‌هایی در نواحی شمالی و جنوبی استان با تاکید بر تفاوت‌های میکروکلیمایی و ارتفاع از سطح دریا انتخاب گردید (جدول ۱). نمونه‌برداری به مدت یک سال (مهر ۱۳۹۵ تا شهریور ۱۳۹۶) به صورت فصلی و از نواحی شمالی (شاوور، حمیدیه و شوش) و نواحی جنوبی (خرمشهر و تالاب شادگان) استان خوزستان انجام شد. نمونه‌ها به صورت زنده صید شد سپس مطالعات ریخت‌سنجی برای صفات شاخص (جدول ۲) در محل و به کمک ترازوی قابل حمل و کولیس دیجیتال انجام و نتایج ثبت گردید در هر نوبت نمونه‌برداری جهت مطالعات کاربیلوژی و برآورد شاخص‌های تولیدمثلی چند نمونه بالغ نر و ماده به آزمایشگاه منتقل گردید و سایر نمونه‌ها در زیستگاه رهاسازی شدند.

است به طوری که بزودی در اوایل خرداد می‌توان وزغ‌های جوانی را که به خوبی رشد کرده و کمی بزرگ‌تر از یک سانتی‌متر هستند را مشاهده کرد. دگرذیسی بعد از ۶۰ تا ۹۰ روز اتفاق می‌افتد. بلوغ جنسی در چهارمین سال صورت می‌گیرد (هزاوه و همکاران، ۱۳۸۶).

مواد و روش‌ها

استان خوزستان با وسعتی معادل ۶۴۲۳۶ کیلومتر مربع در جنوب غربی ایران و در بین طول جغرافیایی ۷۴ تا ۵۰ درجه شرقی و عرض جغرافیایی ۲۹ تا ۳۶ درجه شمال واقع شده است (موحدی و همکاران، ۱۳۹۱). استان خوزستان علی‌رغم این که در سیستم‌های بزرگ اقلیمی به طور یکپارچه تحت تأثیر شرایط سینوپتیکی خاص قرار می‌گیرد، اما عوامل مؤثر در آن باعث شده که از خرده اقلیم‌ها و نواحی نامتجانس

جدول ۱: 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	۶	۴۸/۶۶۳۵	۳۰/۶۵۲۹
خرمشهر	جنوب	کم بارش، رطوبت نسبی بالا	۴	۴۸/۱۷۶۵	۳۰/۴۴۱۷
شوش	شمال	معتدل بارش‌مند	۷۰	۴۸/۲۴۶۲	۳۲/۱۹۴۹
حمیدیه	شمال	معتدل و مرطوب	۲۳	۴۸/۴۳۹۸	۳۱/۴۷۷۳
شاوور	شمال	معتدل بارش‌مند	۶۲	۴۸/۳۰۱۱	۳۲/۰۵۶۷

جدول ۲: صفات بیومتریکی جهت شناسایی گونه

علامت اختصاری	تعریف	توضیح
W	وزن	وزن کلی بدن
TL	اندازه بدن	از نوک پوزه تا مرکز شکاف کلواکی
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.ty.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 نوستریل‌ها	بیش‌ترین فاصله بین دو نوستریل
S.n.s	فاصله نوستریل تا پوزه	از نوک پوزه تا نوستریل‌ها
Li.d	فاصله بین پلک‌ها	کوچک‌ترین فاصله بین لبه‌های داخلی پلک‌های فوقانی
L.a	طول بازوی دست	اندازه استخوان بازوی دست (پای جلویی)
S.i.n	فاصله سوراخ‌های داخلی بینی	بیش‌ترین فاصله سوراخ‌های داخلی بینی
P.L	طول غدد پاراتوئید	بیش‌ترین اندازه طولی غدد پاراتوئید
P.F	فاصله بین غدد پاراتوئید	بیش‌ترین فاصله میان دو غده پاراتوئید

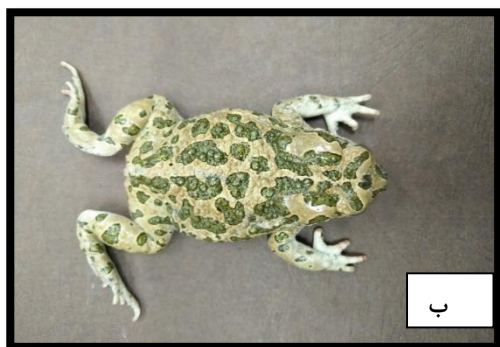


(نر- ماده) در مناطق شمال و جنوب خوزستان نسخه ۱۸ نرم‌افزار آماری Spss و آزمون‌های ANOVA، T-test و فاکتوریل مورد استفاده قرار گرفت و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید. در صورت مشاهده ($P < 0.05$) اختلاف معنی‌دار محسوب گردید.

نتایج

در این تحقیق تعداد ۱۳۰ نمونه از ۵ ایستگاه نواحی شمال و جنوب استان خوزستان بررسی گردید (شکل ۱). مطالعه و مقایسه نسبت جنسی نمونه‌ها در ایستگاه‌های شمالی و جنوبی استان خوزستان نشان داد که در ایستگاه‌های نواحی جنوبی بیش‌ترین فراوانی در جنس نر وجود داشت، این در حالی است که ایستگاه‌های شمالی دارای بیش‌ترین فراوانی در جنسیت ماده بودند، در این میان جمعیت ایستگاه شوش از نسبت جنسی متعادل برخوردار بود.

به‌منظور آماده‌سازی وزغ‌ها جهت مطالعه کارپولوژیکی، ابتدا نمونه‌ها به‌دقت توزین گردیده و سپس از محلول کلشیسن با غلظت ۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر به‌میزان ۰/۱ میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم وزن بدن به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. پس از ۸ ساعت انکوباسیون نمونه‌ها تشریح شده و بافت مغز استخوان جهت استخراج پلاک‌های متافازی مورد استفاده قرار گرفت. اسلایدها به‌وسیله محلول گیمسای ۵ درصد برای مدت ۱۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شد. از بهترین اسلایدها به‌وسیله میکروسکوپ مجهز به دوربین عکس‌برداری شد. ویژگی‌های هر کروموزم از قبیل طول کل و طول بازوها در محیط نرم‌افزاری (Imag.z) اندازه‌گیری شد در ادامه کاربوتیپ گونه مطابق روش‌های استاندارد تهیه شد (Session و Green، ۱۹۹۱). به‌منظور مطالعه شاخص‌های تولیدمثلی در نرها نسبت وزن بیضه‌ها به وزن کل بدن به‌عنوان شاخص GSI محاسبه شد هم‌چنین در ماده‌ها میزان هم‌آوری به‌روش نسبت وزنی و با شمارش تعداد تخم‌ها در قطعه کوچکی از تخمدان محاسبه گردید. جهت مقایسه پارامترهای بیومتریکی بین وزغ‌های هر دو جنس



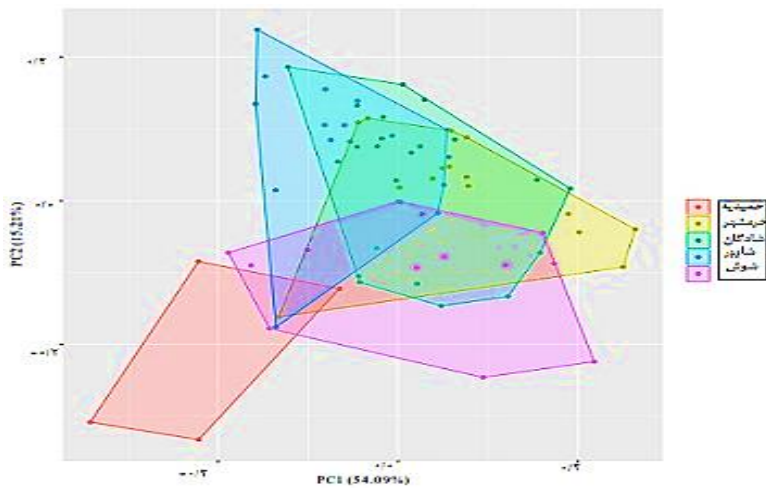
شکل ۱: گونه *Bufo variabilis* از نواحی شمالی-جنوبی خوزستان (الف: شادگان، ب: شوش)

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 تک‌متغیره نشان داد که از بین صفات مورفومتریکی اندازه‌گیری شده، تفاوت معنی‌داری بین جنس نر و ماده از نظر صفات وزن، طول بدن، فاصله نوستریل تا پوزه، فاصله انگشت‌ها در پای جلویی و طول غده پاراتوتئید وجود داشت در سایر صفات اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج حاصل از تحلیل آنالیز واریانس (ANOVA) صفات مورفومتریکی 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.

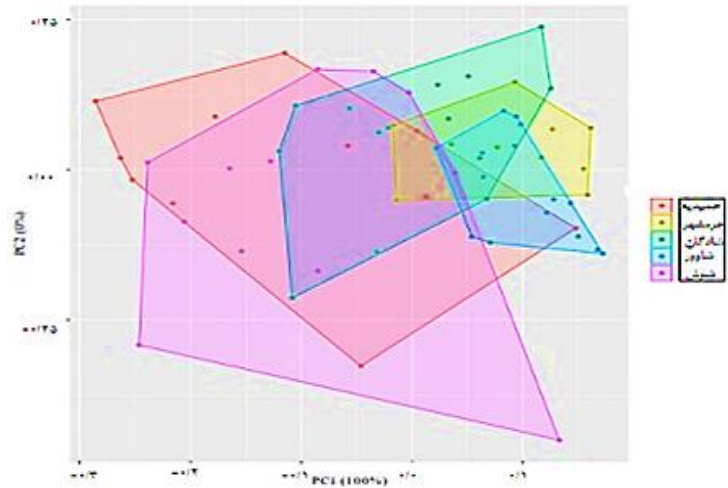
نتایج حاصل از آزمون T-test در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) برای مقایسه میانگین‌های صفات شاخص بین دو جنس نر و ماده در نواحی شمالی نشان داد که در صفات وزن، طول کل، فاصله چشم تا نوک پوزه، اختلاف معنی‌دار وجود داشت در همه این صفات میانگین جنس ماده بیش‌تر و بیانگر جثه بزرگ‌تر در ماده‌ها بود، در سایر صفات اندازه‌گیری 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

از روش رگرسیون خطی نمودار پراکنش (Scatter plot) به طور جداگانه برای افراد نر و ماده گونه ترسیم شد (شکل های ۲ و ۳)، تاثیر مولفه های اول و دوم در جدایی بین جمعیت ها، در جمعیت های جنس ماده نشان داد که در برخی از ایستگاه ها الگوی جغرافیایی معنی داری بود به عنوان مثال جمعیت شوش و شاورر کاملاً مجزا از هم قرار گرفتند در حالی که جمعیت های شادگان و خرمشهر تقریباً به طور کامل روی هم افتاده اند. به علاوه در جمعیت های جنس نر در بیش تر ایستگاه ها جدایی جغرافیایی معنی داری مشاهده نشد. ایستگاه های حمیدیه و شادگان کمترین شباهت را به هم داشتند در حالی که جمعیت های نر ایستگاه های شاورر، شادگان و خرمشهر بیش ترین شباهت را به هم داشتند (شکل ۴).

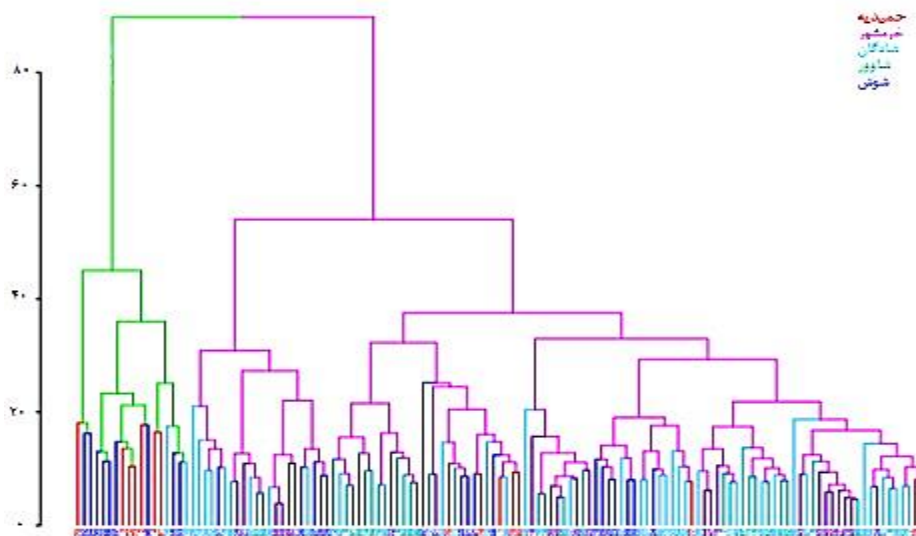
نتایج حاصل از تحلیل آنالیز واریانس (ANOVA) صفات مورفومتریک اندازه گیری شده در جمعیت های نر این گونه نشان داد که تنها در دو صفت طول پاراتوئید و قطر ران تفاوت معنی داری وجود نداشت و در سایر صفات تفاوت معنی داری مشاهده گردید ($P < 0.05$). میزان هم آوری در ۵ ایستگاه شمال و جنوبی نشان داد که بیش ترین میزان هم آوری در ایستگاه حمیدیه (شمال) و کمترین میزان در ایستگاه شاورر (شمال) وجود داشت. هم چنین در مقایسه شاخص گنادی وزغ های نر در سطح ایستگاه های مختلف، بیش ترین میزان شاخص گنادی در ایستگاه شادگان (جنوبی) و کمترین میزان در ایستگاه شاورر (شمال) مشاهده شد. پس از انجام آزمون تحلیل چندمتغیره به روش PCA با استفاده



شکل ۳: نمودار PC1 در مقابل PC2 در صفات مورفومتریک در بین جمعیت های جنس نر گونه *B. variabilis* در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان



شکل ۲: نمودار PC1 در مقابل PC2 در صفات مورفومتریک در بین جمعیت های جنس ماده گونه *B. variabilis* در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان



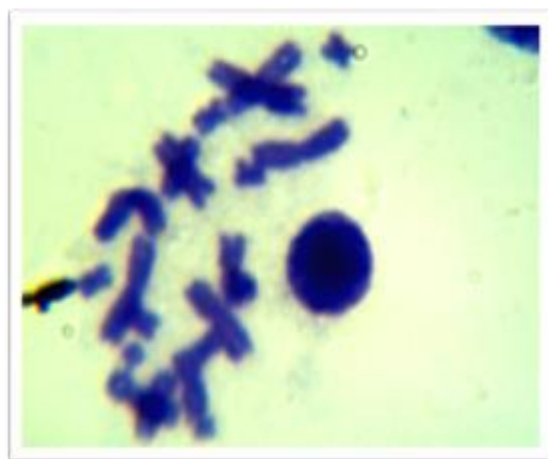
شکل ۴: دندوگرام صفات مورفومتریک در جمعیت های گونه *B. variabilis* در نواحی شمال و جنوب استان خوزستان

کروموزومی (در عدد هاپلوئید) برابر با ۶۱/۶۴ میکرون بود نسبت بازویی کروموزومها ($\frac{q}{p}$) بین حداقل ۱/۰۵ میکرومتر (جفت شماره ۸) تا حداکثر ۲/۴ میکرومتر (جفت شماره ۹) متغیر بود. شاخص سانترومری ($\frac{p}{p+q}$) بین ۰/۳۰ میکرومتر (جفت شماره ۹) تا حداکثر ۰/۴۹ میکرومتر (جفت شماره ۳) قرار داشت (جدول ۳). کلیه مطالعات کاریولوژیکی برای نمونه‌های ایستگاه‌های شمالی و جنوبی استان تکرار گردید نتایج نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری از این نظر بین دو ناحیه وجود نداشت.

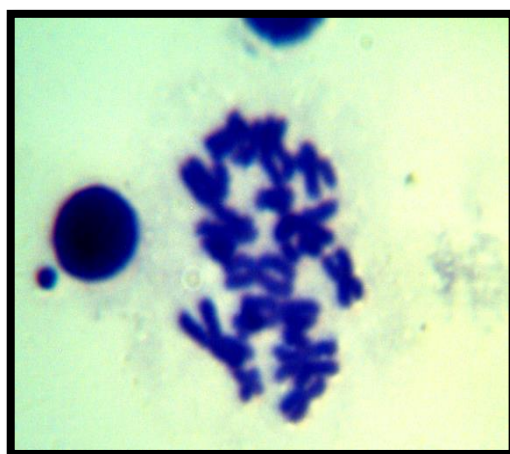
در این پژوهش عدد کروموزومی به دست آمده برای گونه *B. Variabilis*، در هر دو ناحیه شمال و جنوب استان خوزستان برابر با $2n=22$ بود. در مجموعه کروموزومی این گونه، کروموزوم‌های هترومورف جنسی مشاهده نشد، تعداد بازوها $NF=44$ بود. در مجموعه کروموزوم‌های این گونه، ۵ جفت کروموزوم بزرگ (جفت‌های ۱-۵)، ۳ جفت کروموزوم متوسط (جفت‌های ۶-۸) و ۳ جفت کروموزوم کوچک (جفت‌های ۹-۱۱) مشاهده شد (شکل‌های ۵ و ۶). بر اساس نسبت بازویی و محل استقرار سانترومر، ۷ جفت کروموزوم متاسانتریک (جفت‌های ۱، ۲، ۳، ۵، ۶، ۷، ۸) و ۴ جفت کروموزوم‌های ساب متاسانتریک (جفت‌های ۴، ۹، ۱۰، ۱۱) مشاهده شد. مجموعه طول

جدول ۳: 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 ($\frac{p}{p+q}$)
۱	متاسانتریک	۱۰/۲۵	۵/۳۰	۴/۹۰	۱/۰۸	۰/۴۷
۲	متاسانتریک	۹/۷۵	۵/۵	۴/۲۵	۱/۲	۰/۴۲
۳	متاسانتریک	۹/۱۵	۵/۰۰	۴/۵۰	۱/۱	۰/۴۹
۴	ساب متاسانتریک	۶/۷۶	۳/۹۰	۲/۷۵	۱/۴	۰/۴۰
۵	متاسانتریک	۶/۲۵	۳/۲۵	۳/۰۰	۱/۰۸	۰/۴۸
۶	متاسانتریک	۵/۹۵	۳/۲	۲/۷۵	۱/۱	۰/۴۶
۷	متاسانتریک	۴/۲۵	۲/۴۰	۱/۹۵	۱/۲	۰/۴۵
۸	متاسانتریک	۳/۹۵	۲/۰۰	۱/۹۰	۱/۰۵	۰/۴۸
۹	ساب متاسانتریک	۲/۳۳	۱/۷	۰/۷۰	۲/۴	۰/۳۰
۱۰	ساب متاسانتریک	۱/۷۵	۱/۰۵	۰/۷۵	۱/۵	۰/۴۲
۱۱	ساب متاسانتریک	۱/۲۵	۰/۷۵	۰/۵۲	۱/۴	۰/۴۱



A



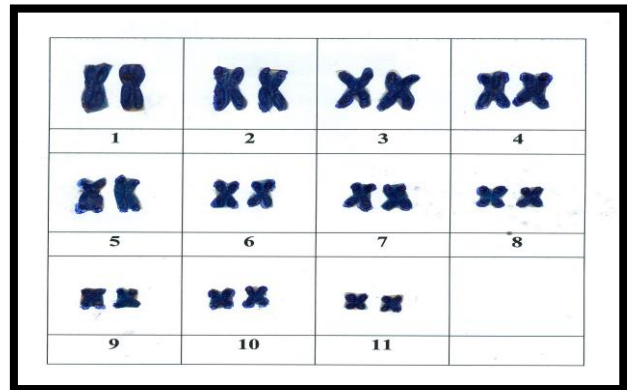
B

شکل ۵: پلاک‌های متافازی حاصل از بافت مغز استخوان *Bufo variabilis* -A ایستگاه جنوبی، B- ایستگاه شمالی خوزستان



به شدت محدود بوده است. آزمون های T-test، آنالیز واریانس تک متغیره، آنالیز واریانس چندمتغیره و T2-Hotelling ضمن تایید جدایی جنسیتی بین نر و ماده در هر دو ناحیه شمالی و جنوبی استان نشان داد که در بیش تر صفات مورفومتریک تفاوت معنی دار بین دو جنس وجود داشت با این حال در برخی از صفات از جمله طول غدد پاراتوئید و قطر ران تفاوت معنی داری نبود.

نتایج این مطالعه وجود دوریختی جنسی در سطح جمعیت وزغ سبز را براساس صفات مورفومتریک تایید نمود به طوری که در اغلب موارد ماده های این گونه دارای جثه بزرگ تر و وزن بیش تری بودند. از سوی دیگر نتایج نشان داد که این گونه در ناحیه شمالی از جمعیت همگن تری برخوردار بود، این امر می تواند به علت وجود تنش های اقلیمی و زیست محیطی شدیدتر در نواحی جنوبی باشد زیرا به ویژه در تالاب شادگان و هورالعظیم طی سال های اخیر به علت تغییرات اقلیمی، کاهش بارندگی، افزوده شدن آلودگی های زیست محیطی به آب های سطحی، افزایش شوری آب تالاب و خشک شدن نیمی از گستره تالاب های مذکور امکان تولیدمثل و تثبیت جمعیتی بسیاری از گونه ها به ویژه دوزیستان و از جمله وزغ سبز فراهم نبوده است (نزاکتی و همکاران، ۱۳۸۹). در بررسی کاربیلوژی و مورفومتریکی گونه های کمپلکس *B. Viridis* مناطق مختلف جنوب ایران و تجزیه و تحلیل ۱۸ پارامتر مورفومتریک تفاوت معنی داری بین سه جمعیت کمپلکس، شامل *B. variabilis*، *B. turanicus* و *B. surdus* از جنوب ایران را نشان داد (Fakharzadeh و همکاران، ۲۰۱۵). 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 ماده ها بود و در ایستگاه های شاور (از نواحی شمال) و خرمشهر (از نواحی جنوب) نسبت جنسی به سمت غالبیت نسبی نرها گرایش داشت این امر می تواند وابسته به برخی رفتارهای متمایز در دو جنس باشد از جمله مهاجرت تولیدمثلی ماده ها در فصل تخم ریزی که پیش از نرها به مجاورت زیستگاه های آبی نقل مکان می کنند و شانس صید ماده ها را نسبت به نرها افزایش می دهد (نجیب زاده و همکاران، ۱۳۹۳). از سوی دیگر جثه بزرگ تر و وزن بیش تر ماده ها در مقابل چابکی و قدرت عضلانی نرها، شانس فرار و مخفی شدن وزغ های نر را در برابر صیاد افزایش می دهد این امر به ویژه در فصل تولیدمثل موجب افزایش شانس صید ماده ها می شود (اشکاوندی و همکاران، ۱۳۹۱). شاخص های جنسی، شامل شاخص گنادی در نرها (GSI) و میزان هم آوری نسبی (F) در ماده ها می توانند علاوه بر تعیین سن بلوغ افراد گونه، میزان موفقیت تولیدمثلی گونه را تعیین نمایند و بنابراین در اکثر مطالعات زیستی جانوران کاربرد گسترده ای دارند (ابراهیم نژاد، ۱۳۹۰).



شکل ۶: کاریوتایپ چیده شده *Bufo variabilis*

بحث

گونه *Bufo variabilis* که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت، پراکنش گسترده ای در نواحی مختلف ایران و کشورهای همسایه از جمله عراق و ترکیه داشته و در اکثر زیستگاه ها، گونه ای غالب دارای ثبات جمعیتی است (عمادی، ۱۳۸۴). طی فعالیت های کوهزایی با توجه به ثبات نسبی صفحه اوراسیا و حرکت صفحه عربستان به سمت ایران از چین خوردگی رسوبات بستر دریایی تتیس کوه های البرز در شمال و زاگرس در جنوب ایران شکل گرفت. به علاوه نواحی شمال تا شرق خوزستان تحت اثر این جنبش به صورت مجموعه ای کوهستانی در آمد، به این ترتیب رودخانه هایی 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 می ریزد از سوی دیگر چون مصب رود دز در رودخانه کارون قرار دارد ارتباط بین زیستگاه های شمالی و جنوبی استان برقرار شده و امکان جابه جایی تخم و لارو گونه های وابسته به آب در طی این مسیر وجود دارد (بلمکی و همکاران، ۱۳۸۶). از آن جا که امکان جابه جایی مهاجرتی برای گونه مورد مطالعه تا حدودی میسر است (فیروز، ۱۳۷۸) و نیز امکان جابه جایی تخم و لارو گونه از طریق آب های سطحی (به ویژه رودخانه های داخلی استان از جمله کرخه و کارون) وجود دارد به نظر می رسد حضور این گونه در نواحی شمالی می تواند حاصل مهاجرت وزغ سبز از جنوب استان لرستان نیز بوده باشد. به علاوه در نواحی جنوبی به ویژه در آبادان و خرمشهر (جزیره مینو) مجاورت با زیستگاه های 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 سال های جنگ تحمیلی و به سبب احداث موانع فیزیکی به ویژه در تالاب هورالعظیم



استان خوزستان برابر با $n=22$ 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 بررسی کاربوتایپ وزغ سبز در استان مرکزی و نیز در شهر اهواز یک مجموعه $n=22$ کروموزومی شامل ۶ جفت کروموزوم متاسانتریک و ۵ جفت کروموزوم ساب متاسانتریک گزارش نموده‌اند (هزاوه و همکاران، ۱۳۸۶؛ حاتمی، ۱۳۹۲).

منابع

۱. ابراهیم‌نژاد، م.، ۱۳۹۰. زیست‌شناسی مهره‌داران. لینی، د. انتشارات دانشگاه اصفهان. صفحات ۱۲۴ تا ۱۳۰.
۲. اشکانندی، ص.؛ قارزی، ا. و عباسی، م.، ۱۳۹۱. مقایسه ترکیب سنی در دو جمعیت از گونه‌های دوزیستان بی‌دم در مخمل کوه با استفاده از اسکلتوکرونولوژی. مجله پژوهش‌های جانوری. دوره ۲۷، شماره ۲، صفحات ۱۷۶ تا ۱۸۴.
۳. امین، ا. و شکوهی‌نژاد، م.، ۱۳۸۶. زیست‌شناسی جانوری. انتشارات امیرکبیر.
۴. ایافت، س.ا.، ۱۳۷۹. فواید تالاب‌ها. دیویس، ج. و کلاریچ، گ. چاپ دوم. سازمان حفاظت محیط زیست ایران.
۵. بلمکی، ب.؛ پاک‌فرصت، س.؛ خیرخواه، ش. و شیرزادی، آ.، ۱۳۸۶. بررسی جغرافیای زیستی مهره‌داران ایران در جهت جذب اکوتوریست. همایش ملی جغرافیا و آمایش سرزمین، همدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان.
۶. بلوچ، م. و کمی، ح.ق.، ۱۳۸۵. دوزیستان ایران. انتشارات دانشگاه تهران.
۷. حاتمی، ا.، ۱۳۹۲. شناسایی و رده‌بندی دوزیستان بی‌دم منطقه الشتر (استان لرستان) با تأکید بر مورفومتی و کاربوتایپ. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. گروه زیست‌شناسی. دانشکده علوم. دانشگاه شهید چمران اهواز.

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 تأکید نماید چنان‌چه تالاب‌ها در شرایط بهینه و سلامت باشند بهترین پناهگاه جهت تغذیه، تولیدمثل و بقای گونه‌های 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، ۱۳۷۹). در مطالعه حاضر دو ریختی جنسی با اندازه‌گیری بیش از ۲۰ 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 (اشکانندی و همکاران، ۱۳۹۱؛ هزاوه و همکاران، ۱۳۸۶؛ Stock و همکاران، ۲۰۰۱).

به‌منظور تایید دوریختی 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 دوریختی 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 کاربوتایپ بر پایه مشاهده، دسته‌بندی و اندازه‌گیری کروموزوم‌ها در هسته‌های متافازی طراحی می‌شوند و در تحقیقات بیوسیستماتیکی از اهمیت به‌سزایی برخوردارند (Stock و همکاران، ۲۰۰۱). اگرچه به اقتضای وجود کمپلکس و وقوع پدیده پلی‌پلوئیدی در جمعیت این گونه می‌توان اعداد کروموزومی متنوعی از جمله تریپلوئید ($n=33$) و تترا پلوئید ($n=44$) را انتظار داشت (Sinch و همکاران، ۲۰۰۷؛ Stock و همکاران، ۲۰۰۵). در این مطالعه در هیچ‌یک از ایستگاه‌های نواحی شمالی و جنوبی پلی‌پلوئیدی مشاهده نگردید. عدد کروموزومی این گونه در مناطق مورد مطالعه در شمال و جنوب



۸. حسن‌زاده‌کیایی، ب.، ۱۳۸۶. جانورشناسی. جلد دوم. انتشارات دانشگاه پیام نور تهران. صفحات ۴۰ تا ۴۳.
۹. عمادی، ن.، ۱۳۸۴. 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.
۱۰. فخارزاده، ف.، ۱۳۸۲. بررسی بیوسیستماتیکی دوزیستان بی‌دم مناطقی از شمال و شرق استان خراسان (کاریولوژی، بیومتری، مورفولوژی). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. گروه زیست‌شناسی. دانشکده علوم. دانشگاه فردوسی مشهد.
۱۱. فیروز، ا.، ۱۳۷۸. حیات وحش ایران. مهره‌داران. مرکز نشر دانشگاهی.
۱۲. موحدی، س.؛ حیدری، ب.؛ هاشمی‌عنا، ک. و رنجبر، ف.، ۱۳۹۱. پهنه‌بندی نواحی اقلیمی خوزستان. فصلنامه فضای جغرافیایی. دوره ۱۲، شماره ۴۰، صفحات ۶۴ تا ۷۳.
۱۳. نجیب‌زاده، م.؛ درویش، ج.؛ کمی، ح.ق. و قاسم‌زاده، ف.، ۱۳۹۳. مقایسه زیستگاه رفتار جفتگیری و تخم‌ریزی سه گونه از دوزیستان بی‌دم در استان لرستان مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران). دوره ۲۷، شماره ۲، صفحات ۱۹۹ تا ۲۹۱.
۱۴. نژادکنی، ر.؛ حائری‌پور، س. و ملاماسی، س.، ۱۳۸۹. دستورالعمل پهنه‌بندی زیستگاه‌های تالابی براساس سیستم MED WET انتشارات دایره سبز. چاپ اول.
۱۵. هزاوه، ن.؛ قاسم‌زاده، ف. و درویش، ج.، ۱۳۸۶. بررسی بیوسیستماتیک (مورفولوژی و کاریولوژی و مورفومتری) دوزیستان بی‌دم در استان مرکزی. مجله زیست‌شناسی ایران. دوره ۲۰، شماره ۴، صفحات ۱۶ تا ۲۷.
۱۶. 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.
۱۷. 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.
۱۸. 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. *Zoosytema*. Vol. 40, No. 24, pp: 507-537.
۱۹. Fakharzadeh, F.; Darvish, J.; Kami, H.; Ghasenzadeh, 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.
۲۰. Green, D.M. and Session, K., 1991. *Amphibian cytogenetic and evolution academic press. inc. san diego, California.* 456 p.
۲۱. Ozdemir, N. and Lkutru, P.B., 2007. Intraspecific variation of Turkish GreenToads, *Bufo viridis* (Pesudepidalea) LAURENTI.1768, based on 16 Sribosomal RNA sequences. *Herpetozoa*. Vol. 20, No. 2, pp: 3-10.
۲۲. 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.
۲۳. 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.
۲۴. Shffer, H.B.; Gidis, M.; McCartney-Melstand, E.; Neal, K.M.; Oyamaguchi, H.M.; Tellez, M.; Sinsch, U.; Leskovar, C.; Drobog, 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.

۲۵. **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.
۲۶. **Stock, M.; Steinlein, C.; Lamatsch, D.; Schartl, M. and Schmid, M., 2005.** Multiple origins of tetraploid taxa in Eurasian *Bufo viridis* subgroup. Genetica. Vol. 124, pp: 255-272.
۲۷. **www. Amphibia species of the world. 2019.**



Biosystematic study in population of green toad *Bufo variabilis* (Pallas, 1769) In the Northern and Southern habitats of Khuzestan province

- **Ashraf Jazayeri***: Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
- **Tayebeh Mohammadi**: Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
- **Somayeh Bayat**: Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: November 2019

Accepted: February 2020

Key words: Animal biosystematic, Animal geography, Anura, Green toad

Abstract

Green toad (*Bufo variabilis*) is the most successful species of the Bufonidae family distributed throughout Iran due to its high ecological tolerance. In this study, the populations of this species in the northern and southern regions of Khuzestan province were studied with emphasis on microclimate differences and sea level elevation. The results showed that: sex ratio in Northern Province was in favor of females and in south in favor of males. Results of multivariate analysis of variance confirmed the existence of sexual dimorphism in the species populations of both regions. Demographic separation between the northern and southern populations of both sexes was confirmed. Female populations were completely separated at Shush and Shavour stations, and at Shadegan and Khorramshahr stations, respectively. In the male population, Hamidieh and Shadegan stations had the least similarity and Shavour, Shadegan and Khorramshahr stations were the most similar. The number of chromosomes was $2n=22$ in both regions and no polyploidy was observed.

* Corresponding Author's email: jazayeriashraf@gmail.com

