بررسی اثر سطح تراکم و مقدار غذا بر رشد، تکوین و بقای لاروهای وزغ سبز (*Bufotes variabilis*)، دوزیستان: بی‌دمان

نساره ابراهیمی، مظفر شریفی و سمیه ویسی*

ایران، کرمانشاه، دانشگاه رازی، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۸/۴/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۸/۴

چکیده

رشد، تکوین و بقا تأثیرات مهمی بر زندگی و پویایی جمعیت‌ها دارند، زیرا تعامل این عوامل بر اندازه و سن افراد در گذرهای خاصی از دوره زندگی (ازجمله دگردیسی و بلوغ) اثرات تعیین‌کننده‌ای دارد. برای بسیاری از دوزیستان، تراکم و غذا بعنوان عوامل اصلی و اولیه زیست‌محیطی به شمار می‌روند که بر رشد، تکوین و میزان بقا تأثیرگذار هستند. در این مطالعه، اثرات مستقل و تعاملی تراکم و سطح غذا بر رشد، دگردیسی و بقا در لاروهای وزغ سبز*Bufotes variabilis* موردبررسی قرارگرفت. بطوریکه، یک آزمایش ۲×۲ فاکتوری از دو سطح از تراکم (تراکم بالا و پایین) و دو سطح از غذا (غذای زیاد و کم) به مدت ۱۱۲ روز طراحی شد. براساس نتایج، سطح غذا تأثیر معنی‌داری بر رشد، دگردیسی و بقا داشت. در مقابل، تراکم تأثیر معنی‌داری بر رشد، بقا و سن دگردیسی نداشت اما تأثیر معنی‌داری بر اندازه SVL به هنگام دگردیسی و درصد دگردیسی نشان داد. بیشترین نرخ رشد، اندازه SVL به هنگام دگردیسی، درصد دگردیسی و بقای لاروها در تیمار با تراکم کم/ غذای زیاد مشاهده شد. کمترین رشد و اندازه SVL به هنگام دگردیسی، و بیشترین سن دگردیسی در تیمار با تراکم بالا/ غذای کم مشاهده شد. کمترین میزان بقا و درصد دگردیسی در تیمار تراکم کم/غذای کم مشاهده شد. اثرات تعاملی غذا و تراکم بر رشد در طول زمان، اندازه SVL به هنگام دگردیسی، درصد دگردیسی و سن دگردیسی معنی‌دار نشان داده شد اما این تعامل برای بقا معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: فاکتورهای زیستی، رشد، دگردیسی، نرخ بقا، وزغ سبز

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۸۸۹۱۷۳۲ ، پست الکترونیکی: veisi.somaye@gmail.com

مقدمه

دوزیستان اولین مهره‌داران چهارپایی بودند که توانستند روی زمین جابجا شده و از خود نگه‌داری کنند (۲۳). دوزیستان حلقه اتصال تحول بین ماهی‌ها و خزندگان را تشکیل می‌دهند. دوزیستان خونسرد هستند و با تنزل دمای محیط از فعالیت آنها کاسته می‌شود و هنگامی که دما از حد خاصی پایین‌تر برود فعالیت‌شان متوقف می‌شود (۱۳). این مهره‌داران به رغم اینکه خاستگاه دریایی دارند تحمل آب‌شور را ندارند. بااین‌حال بعضی گونه‌ها، مانند وزغ سبز در ایران، قادرند در تالاب‌های کم شور زیست و تخم‌گذاری کنند (۱۳). دوزیستان شکارگر هستند و غذای آنها از گروه حشرات، حلزون و بی‌مهرگان دیگر است. ولی گونه‌های بزرگتر، بیشتر اوقات انواع کوچک سوسمار، مار، پرنده و پستانداران ریز و دوزیستان دیگر را نیز می‌خورند (۱۳). سمندرها روز را معمولاً در مخفی‌گاه‌هایی مانند زیر تنه درختان یا توده برگ‌های روی زمین‌های جنگلی و حفره‌های مختلف، می‌گذرانند و فقط شب برای تغذیه ظاهر می‌شوند. انواع وزغ‌ها و قورباغه‌ها ممکن است علاوه بر مخفی‌گاه‌های بالا، زیرخاک مرطوب و داخل آب‌های راکد حاوی رستنی‌ها نیز مخفی شوند (۱۳).

رشد و بلوغ جنسی به‌عنوان یک ویژگی مهم در چرخه زندگی گروه‌های مختلف جانوری ازجمله دوزیستان مطرح است (۴۲). بررسی متغیرهای تأثیرگذار بر رشد، تکوین و ارتباط آن با شایستگی افراد ازجمله در لاروها و جوان‌های (پست متامورف) دوزیستان به‌عنوان یک زمینه مطالعاتی مورد علاقه در رشته زیست‌شناسی مطرح است (۴۵). لاروها و افراد جوان قادر به ترک محیط زندگی آبی نیستند تازمانیکه دگردیسی خود را به‌طور کامل انجام دهند (۴۲). تغییرات سنی و اندازه بدن در طی دگردیسی، بازتابی از ارتباط و هماهنگی بین عوامل زیستی (زنده) و غیرزیستی (غیرزنده) است که با تحلیل رفتن و کوچک شدن بدن در هنگام دگردیسی رخ می‌دهد (۴۳). این رویداد اغلب در تالاب‌ها و جوی‌های فصلی زودگذر اتفاق می‌افتد (۴۲). بنابراین طول زندگی لاروی و اندازه بدن موجود به هنگام دگردیسی از مهم‌ترین ویژگی‌های دوره زندگی دوزیستان به شمار می‌رود. در بسیاری از گونه‌های دوزیستان، اندازه بدن به هنگام دگردیسی و سن دگردیسی می‌تواند به‌طور مستقیم روی نرخ بقا، میزان تولیدمثل و حرکت جانور (بعنوان مثال پرش) تأثیرگذار باشد (۵).

تراکم، کمیت و کیفیت غذای قابل‌دسترس و حضور شکارگر ازجمله فاکتورهای زیستی هستند که می‌تواند بر نرخ رشد، تکوین و بقای دوزیستان تأثیرگذار باشد. از فاکتورهای غیرزیستی نیز می‌توان به نوسانات سطح آب، اشعه‌های ماورای بنفش و دمای آب اشاره کرد (۳۴ و ۴۲). نرخ رشد در ابتدا بستگی به دما و سپس میزان غذای در دسترس دارد. دوزیستان مکانیسم کارآمدی برای تنظیم حرارت فیزیولوژیکی ندارند (خونسرداند) بنابراین درجه حرارت فرایندهای رشد و تکوین را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲). به‌طورکلی، تراکم‌های بالا باعث افزایش استرس فیزیولوژیکی و محیطی می‌شود (۳۷) که منجر به کاهش سرعت رشد و اندازه دگردیسی، و نیز طولانی شدن دوره‌های لاروی در دوزیستان بی‌دم (۳۶ و ۳۸) و همچنین دوزیستان دمدار می‌شود (۴۲). نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که کاهش سطح آب باعث می‌شود که رشد لاروها کاهش یابد و همچنین باعث افزایش مرگ‌ومیر می‌گردد (۱۷). نتایج برخی از مطالعات، نشان می‌دهد که لارو دوزیستان در حضور شکارچیان، رشد کمتری دارند و دگردیسی در اندازه کوچکتر اتفاق می‌افتد (۳۰). در مقابل مطالعات دیگر نشان داده است که در حضور شکارگر رشد بیشتر شده و تکوین تسریع می‌یابد (۲۵).

تراکم عبارت است از تعداد لاروها در یک مساحت، که باعث کاهش و یا افزایش رقابت بین لاروها بر سرفضا، منبع غذایی و اکسیژن موجود در آب می‌شود که این رقابت خود باعث ایجاد اثراتی بر رشد، بقا و زمان دگردیسی می‌شود و حتی باعث همنوع خواری (کانیبالیسم) نیز می‌گردد و از این طریق جمعیت دوزیستان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۸). در مطالعاتی که روی دوزیستان صورت گرفته نشان داده‌شده است که تراکم نقش مهمی بر رشد، تکوین و بقا آن‌ها دارد. بعنوان مثال، در مطالعه موری و رزنیک (۲۰۰۱) روی لارو قورباغه *Spea hammondii* (Baird, 1859) نشان داده شد که در تراکم بالای جمعیت، دوره لاروی طولانی‌تر، رشد آهسته‌تر و دگردیسی در اندازه کوچکتر رخ می‌دهد و بقا کاهش می‌یابد (۲۷). همچنین گزارش‌شده است که لاروهای *Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758) هنگامی که به‌صورت جداگانه و انفرادی پرورش داده می‌شوند، دارای بقای ۱۰۰ درصد می‌باشند، اما هنگامی که آنها در گروه شش نفره در هر آکواریوم رشد می‌کنند، میزان بقا به ۴۳ درصد کاهش می‌یابد (۱۲). بعبارتی، هرچه میزان تراکم بیشتر باشد میزان رشد لاروها به دلیل کمبود فضا و کاهش سطح اکسیژن موجود در آب، کاهش پیدا می‌کند که به دنبال آن میزان مرگ‌ومیر نیز افزایش پیدا می‌کند (۳۳). در برخی مواقع تراکم به‌تنهایی بر رشد، تکوین یا بقا دوزیستان تأثیر نمی‌گذارد اما هنگامی‌که در کنار چند فاکتور دیگر ازجمله مقدار غذای قابل‌دسترس قرار گیرد، می‌تواند اثرگذار باشد (۴۲ و ۴۳).

تحقیقات علمی، چندین فرضیه را برای توضیح اثرات منفی تراکم در تکوین لاروهای دوزیستان ارائه می‌دهد: ۱- رقابت بر سر منابع غذایی به دلیل افزایش تراکم، افزایش می‌یابد (۸ و ۴۶). ۲- برخورد فیزیکی افراد، استرس و تنش ایجاد می‌کند (۱۵) و ۳- در دوزیستان بی‌دم، در تراکم‌های بالای جمعیت، تراکم نوعی جلبک تک‌سلولی به‌نام *Prototheca richardsi* که بطور طبیعی در روده بزرگ این جانوران وجود دارد، از طریق دفع مدفوع، در محیط افزایش می‌یابد (۳۱). طبق مطالعات کرامپ (۱۹۸۱) این جلبک در تراکم بالا اثر منفی روی رشد لاروها دارد (۷). به هر حال، باوجود منابع غذایی نامحدود، تراکم لاروی، باعث ایجاد استرس و تنش در لاروها می‌شود (۳۱). دریافت غذا فرایندی طبیعی و فیزیولوژیکی است که نقش بسیار مهمی در تداوم حیات موجودات زنده دارد. فرایند به‌ظاهر ساده‌ای که شامل احساس گرسنگی، حرکت و اقدام برای یافتن مواد غذایی مناسب و درنهایت خوردن آنها توسط یک جاندار است و به دنبال یک مکانیزم کنترلی پیچیده صورت می‌گیرد که خود تحت تأثیر عوامل متعدد محیطی و مرکزی در سیستم عصبی و هورمونی است (۲۸). کیفیت و کمیت منابع غذایی از عوامل مؤثر بر رشد و دگردیسی و بقای لاروهای دوزیستان به شمار می‌رود (۴۲). بررسی‌ها نشان می‌دهد که میزان غذای موجود در محیط، بر بقای موجود زنده تأثیر بسیار مهمی دارد، بطوریکه افزایش منابع غذایی، نرخ زنده ماندن لاروها را افزایش می‌دهد (۴۲ و ۴۳). بااین‌وجود، پاسخ گونه‌های مختلف دوزیستان، باتوجه به مقدار غذای در دسترس برای رشد و تکوین متفاوت است (۴۲). به‌طور مثال در گونه *Neurergus derjugini* (Nesterov, 1916) (۴۲) و *Ambystoma macrodactylum* (Baird 1950) (۴۸)، با افزایش مقدار غذای قابل‌دسترس، سرعت رشد افزایش پیداکرده و لاروها در زمان کوتاه‌تر و با اندازه بدنی بزرگتر دگردیسی می‌کنند (۴۲ و ۴۸). در مقابل در برخی دیگر از گونه‌ها بطور مثال در گونه *Scaphiopus couchii* (Baird, 1854)، کاهش مواد غذایی منجر به کوتاه شدن دوره لاروی و همچنین کاهش اندازه دگردیسی می‌شود (۲۹).

مطالعات نشان می‌دهد که سطح غذا، میزان ترشح هورمونهای تیروئیدی را در انواع مهره‌داران تنظیم می‌کند. بطوریکه پس از شروع تغذیه لاروها، غده تیروئید شروع به فعالیت می‌کند. با افزایش مقدار غذای قابل دسترس، تولید هورمون‌های تیروئیدی در بدن افزایش می یابد و به دنبال آن افزایش رشد و تسریع روند دگردیسی قابل ملاحظه است (۲۰). از طرف دیگر ذکر این نکته ضروری است، غذا نیز بر دیگر هورمونها علاوه بر هورمون تیروئید ازجمله هورمون رشد، انسولین، فاکتور رشد شبه انسولین و پرولاکتین تأثیرگذار می‌باشد، که این هورمون‌ها می‌توانند اثرات مثبت یا منفی بروی دگردیسی داشته باشند و باعث پیچیده نشان دادن مکانیسم دگردیسی باتوجه به مقدار غذای قابل در دسترس شود (۲۰). اما در توضیح با افزایش میزان غذای قابل‌دسترس، و به دنبال آن طولانی شدن دوره‌ی لاروی اینطور بیان می‌شود، که نرخ تکوین لاروها در مرحله خاصی از تکوین تثبیت شده است (۲۰). همچنین، بیان می‌شود گرسنگی لاروها را مجبور به مصرف بخش‌هایی از بدن خود می‌کند (خودخوری درونی) و درنتیجه روند دگردیسی را تسریع می‌کند تا لارو بتواند بقا خود را تضمین کند (۱۴).

وزغ سبز(*Bufotes variabilis* (Pallas 1769 (قبلاً با عنوان *Bufo viridis* یا *Pseudepidalea* شناخته می‌شد) یکی از گسترده‌ترین گونه‌های جهان است که به خانواده Bufonidae تعلق دارد (۴۰). این خانواده جهان شمول است و به غیر از قطب جنوب، استرالیا، ماداگاسکار و جزایر اقیانوسی در سایر نقاط جهان یافت می‌شود (۴۴). در ایران این خانواده دارای ۳ جنس و ۸ گونه است (۳۵). وزغ سبز (*B. variabilis*) با پراکنش گسترده در ایران می‌باشد و بیشتر در استان‌های شمالی و نیمه غربی پراکنش دارد و توسط IUCN به‌عنوان گونه‌ای با کمترین میزان

آسیب‌پذیری باتوجه به پراکنش وسیع و اندازه جمعیت‌های بزرگ آن شناخته‌شده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات مستقل و تعاملی دو فاکتور تراکم و سطح غذای در دسترس بر رشد، دگردیسی و بقای لاروهای گونه‌ی وزغ سبز (*B. variabilis*) می‌باشد.

مواد و روشها

طراحی آزمایش: دراین تحقیق، چندین رشته از تخم وزغ سبز *B. variabilis* در خردادماه سال ۱۳۹۶ از منطقه برناج (E47º23´08" N34º28´26") واقع در استان کرمانشاه جمع‌آوری و درون ظرفی حاوی آب‌زیستگاه به آزمایشگاه منتقل گردید. با شروع دوره‌ی لاروی (گاسنر ۲۶) آزمایش شروع شد. دراین مطالعه، یک آزمایش ۲×۲ فاکتوری با دو رژیم غذایی (بالا و پایین) و دو سطح تراکم کم (n=۱۰) و تراکم زیاد (n=۴۰) که درمجموع شامل ۴ تیمار: تراکم زیاد/غذای زیاد، تراکم زیاد/غذای کم، تراکم کم/غذای زیاد و تراکم کم/غذای کم، هر تیمار در ۳ تکرار و در ۱۲ ظرف (۱۲/۵ × ۱۴سانتیمتری) طراحی گردید. آماده‌سازی محیط پرورش بدین‌صورت بود که ظرف‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۲/۵ × ۱۴ سانتی‌متری به تعداد ۱۲ عدد تهیه شد، در هرکدام تا سطح ۲۰۰۰ سی‌سی از آب شهری پر شد. آب شهری چند ساعت قبل از استفاده، جهت کلرزدایی در ظروف جداگانه نگه‌داری می‌شد. در ظرف‌های دارای تراکم بالا، تعداد ۴۰ لارو و در ظرف‌های دارای تراکم کم، تعداد ۱۰ لارو در نظر (درمجموع ۳۰۰ لارو) گرفته شد (۴۰ و ۴۸). درجه حرارت آب موجود در ظرف‌های استفاده شده بین ۲۲-۲۴ درجه‌ی سلسیوس تنظیم شد. به‌منظور اکسیژن دهی آب، یک پمپ اکسیژن در هر ظرف تعبیه شد.

تغذیه لاروها بوسیله اسفناج پخته شده انجام شد به طوریکه در دو هفته اول آزمایش یک روز درمیان برای تیمارهای دارای سطح غذای پایین به ازای هر لارو یک صدم گرم و برای تیمارهای دارای سطح غذای بالا به ازای هر لارو یک‌دهم گرم اسفناج پخته شده (۱۰برابر سطح غذای کم) داده شد (۹ و ۲۵). با بزرگ شدن لاروها این مقدار تغییر کرد. در هفته دوم این مقدار غذا افزایش یافت به طوریکه در سطح غذای کم به ازای هر لارو چهارصدم گرم و در سطح غذای بالا به ازای هر لارو چهاردهم گرم هر ۳ روز یک‌بار غذا داده شد. از ماه دوم آزمایش، مقدار غذای داده‌شده ۵ برابر گردید. به طوریکه به ازای هر لارو در سطح غذای کم دودهم گرم و در سطح غذای زیاد به ازای هر لارو دو گرم غذا داده شد (هفته‌ای ۲ بار). ظرف‌ها بعد از ماه اول به بعد ازنظر دگردیسی نیز کنترل شد. پس از شروع دگردیسی و ظهور دست و پا به دلیل آغاز تنفس با شش برای لاروها، یک قطعه‌سنگ که بخشی از آن بیرون از آب بود در ظرف‌ها قرار داده شد، این قطعه برای تمام ظروف یکسان بود. آب ظرف‌ها قبل از غذا دادن تعویض می‌شد. به‌طور کلی محیط آزمایش به‌صورت روزانه بررسی می‌شد. نمونه‌ها در شرایط نور طبیعی نگهداری شدند. این مطالعه تا مرحله دگردیسی لاروها (گاسنر ۴۶) به مدت ۱۱۲ روز انجام شد. در پایان آزمایش نمونه‌های باقی‌مانده در زیستگاه اولیه که تخم‌ها جمع‌آوری شده بود، رهاسازی شدند.

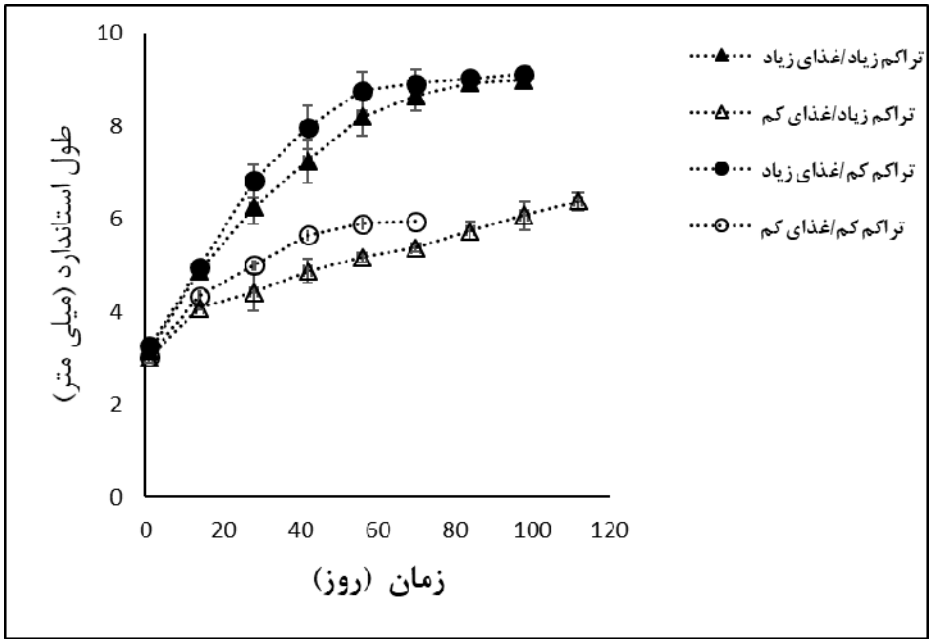
عکس‌برداری: طریقه‌ی عکسبرداری بدین ترتیب بود که از ابتدا تا پایان آزمایش یک هفته در میان از همه‌ی ظرفها به‌وسیله‌ی دوربین سونی مدل DSC-H7 متصل به سه‌پایه از فاصله‌ی ۳۹ سانتی‌متری عکس گرفته شد. تعداد لاروهای هر ظرف به‌منظور ثبت میزان بقا به‌صورت روزانه شمارش گردید. تاریخ و تعداد دگردیسی نیز به‌صورت روزانه مورد بررسی قرارگرفت. اندازه‌گیری طول پوزه تا مخرج (SVL) لاروها در نرم‌افزار Digimizer version 4.6.0 انجام شد. لازم به ذکر است هنگامی که لاروها شروع به دگردیسی کردند، اندازه SVL به هنگام دگردیسی نیز اندازه‌گیری شد.

متغیرهای موردبررسی و تحلیل آماری: دراین مطالعه متغیرهای موردبررسی شامل: ۱- طول استاندارد یا طول

پوزه تا مخرج (SVL): عبارت است از فاصله از نوک پوزه تا شکاف مخرجی. ۲- طول استاندارد یا اندازه طول پوزه تا مخرج (SVL) دگردیسی: عبارت است از فاصله از نوک پوزه تا شکاف مخرجی به هنگام دگردیسی. ۳- زمان (سن) دگردیسی: عبارت است از سنی که لاروها دگردیسی می‌کنند. ۴- درصد دگردیسی: عبارت است از تعداد لاروهای دگردیسی کرده به تعداد کل لاروهای اولیه ضربدر ۱۰۰. ۵- بقا: عبارت است از تعداد لاروهای باقی‌مانده به تعداد کل لاروهای اولیه ضربدر ۱۰۰، موردبررسی قرار گرفت. تحلیل آماری، محاسبه میانگین و انحراف معیار اولیه با نرم‌افزار Spss ورژن ۲۲ (https://www.ibm.com/products/spss-statistics) انجام شد. برای بررسی اثر مستقل و تعاملی فاکتورها (تراکم و غذا) و همچنین بررسی اثر آن در طول زمان از تست آماری دو متغیره و سه متغیره ANOVA و از نرم‌افزار Stata ورژن۱۴(https://www.stata.com) استفاده گردید.

نتایج

طول پوزه تا مخرج (SVL): میانگین و انحراف معیار طول استاندارد (SVL) لارو وزغ سبز (*B. variabilis*) در طی آزمایش (۱۱۲ روز) در شکل ۱ نشان داده شده است. دراین مطالعه، بیشترین میانگین رشد طول پوزه تا مخرج لاروها (SVL) در پایان آزمایش برای تیمار تراکم کم/غذای زیاد با میزان ۹/۱۲±۰/۱۲ میلی‌متر به ثبت رسید (شکل۱). در دیگر تیمارها میانگین طول پوزه تا مخرج لاروها (SVL) برای تیمار تراکم زیاد/غذای زیاد با اندازه ۸/۹۸±۰ میلی‌متر، تیمار تراکم زیاد/غذای کم با اندازه ۶/۳۷±۰/۲ میلی‌متر و تیمار تراکم کم/غذای کم با اندازه ۵/۹۵±۰ میلی‌متر ثبت شد. بیشترین نرخ رشد لاروهای وزغ سبز، به‌طور مشترک برای دو تیمار تراکم زیاد/غذای زیاد و تراکم کم/غذای زیاد به میزان ۰/۰۵ میلی‌متر در روز به ثبت رسید. کمترین نرخ رشد به تیمار تراکم زیاد/غذای کم تعلق گرفت که با میزان ۰/۰۳ میلی‌متر در روز به ثبت رسید. نتایج ANOVA نشان داد، اثر تراکم به‌صورت مستقل و متعامل بی‌معنا و اثر غذا به‌صورت مستقل و متعامل با تراکم در طول زمان معنی‌دار است (جدول ۱).

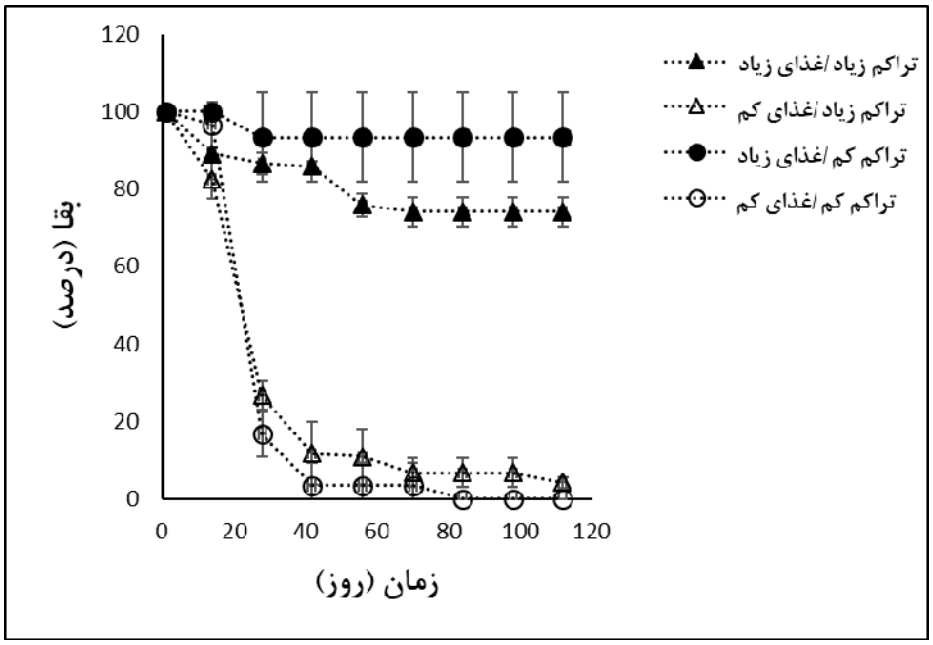


شکل۱- میانگین و انحراف معیار طول پوزه تا مخرج (SVL) لارو وزغ سبز (*Bufotes variabilis*) از ابتدا تا پایان آزمایش

جدول ۱- تست آماری دو متغیره و سه متغیره ANOVA برای اثر تراکم و غذا بر طول پوزه تا مخرج (SVL) لارو وزغ سبز (*Bufotes variabilis*) از ابتدا تا پایان آزمایش.F: فراوانی، df: درجه آزادی، p-value: درجه معنی‌داری

منبع تغییرات	F	df	p-value
طول پوزه تا مخرج			
تراکم	۰/۰۱	۱	۰/۹۹
غذا	۲۹/۲۸	۱	۰/۰۰۰۱
تراکم × غذا	۱/۴۲	۱	۰/۲۳
طول پوزه تا مخرج در زمان			
تراکم × زمان	۱/۱۴	۱	۰/۲۸
غذا × زمان	۱۳/۰۵	۱	۰/۰۰۰۶
تراکم × غذا × زمان	۳/۸۰	۱	۰/۰۵

بقا: میانگین و انحراف معیار بقا لارو وزغ سبز (*B. variabilis*) در طی آزمایش در شکل ۲ نشان داده شده است. دراین مطالعه، به ترتیب بیشترین و کمترین درصد بقا برای تیمارتراکم کم/غذای زیاد ۱۱/۵۴ ±۹۳/۳۳ و تیمار با تراکم کم/غذای کم با میزان صفر درصد ثبت گردید (شکل۲). در دیگر تیمارها بقا لاروها برای تیمار تراکم زیاد/غذای زیاد با ۳/۸۱±۷۴/۱۶ درصد و تیمار تراکم زیاد/غذای کم با ۱/۴۴±۴/۱۶ درصد ثبت شد. نتایج حاصل از ANOVA نشان داد، فقط فاکتور غذا به‌صورت مستقل بر بقای این‌گونه معنی‌دار است (جدول ۲).



شکل۲- میانگین و انحراف معیار میزان بقای لارو وزغ سبز (*Bufotes variabilis*) از ابتدا تا پایان آزمایش

جدول ۲- تست آماری دو متغیره و سه متغیره ANOVA برای اثر تراکم و غذا بر بقای لارو وزغ سبز (*Bufotes variabilis*) از ابتدا تا پایان آزمایش.F: فراوانی، df: درجه آزادی، p-value: درجه معنی‌داری

منبع تغییرات	F	df	p-value
بقا			
تراکم	۰/۸۲	۱	۰/۳۶
غذا	۱۳/۱۹	۱	۰/۰۰۰۱
تراکم × غذا	۲/۵۱	۱	۰/۱۱
بقا در طول زمان			
تراکم × زمان	۰/۱۸	۱	۰/۶۸
غذا × زمان	۴۵/۳۰	۱	۰/۰۰۰۱
تراکم × غذا × زمان	۱/۴۳	۱	۰/۲۳

طول پوزه تا مخرج (SVL) به هنگام دگردیسی: میانگین و انحراف معیار اندازه SVL به هنگام دگردیسی لارو وزغ سبز (*B. variabilis*) در شکل ۳ نشان داده شده است. در طی این مطالعه، بیشترین اندازه SVL در زمان دگردیسی در تیمار تراکم کم/غذای زیاد با اندازه ۲۱/. ± ۱۳/۵۶ میلی‌متر ثبت گردید. در دیگر تیمارها میانگین طول پوزه تا مخرج لاروها (SVL) به هنگام دگردیسی برای تیمار تراکم زیاد/غذای زیاد با اندازه ۶۸/۳۳±۱۲/میلی‌متر و تیمار تراکم زیاد/غذای کم با اندازه ۹/۶۲±۰/۳۱ میلی‌متر ثبت شد. نتایج حاصل از ANOVA نشان داد، هر دو فاکتور غذا و تراکم به‌صورت مستقل و متعامل بر SVL به هنگام دگردیسی اثر معنی‌داری دارد (جدول ۳).

سن دگردیسی: میانگین و انحراف معیار سن دگردیسی لارو وزغ سبز (*B. variabilis*) در شکل ۴ نشان داده شده است. در این مطالعه به ترتیب بیشترین و کمترین سن دگردیسی در تیمار با تراکم زیاد/غذای کم با ۱۱۵/۵±۴/۹۲ روز و تراکم کم/غذای کم با صفر روز ثبت گردید (شکل ۴). در دیگر تیمارها سن دگردیسی لاروها برای تیمار تراکم کم/غذای زیاد با ۶۱/۶۷±۴/۵۵ روز، و در تیمار تراکم زیاد/غذای زیاد با ۵۵/۱۳±۱/۵۱ روز ثبت شد. نتایج حاصل از ANOVA نشان داد، اثر مستقل و متعامل غذا بر سن دگردیسی معنی‌دار ولی اثر مستقل تراکم بی‌معنا بود (جدول ۳).

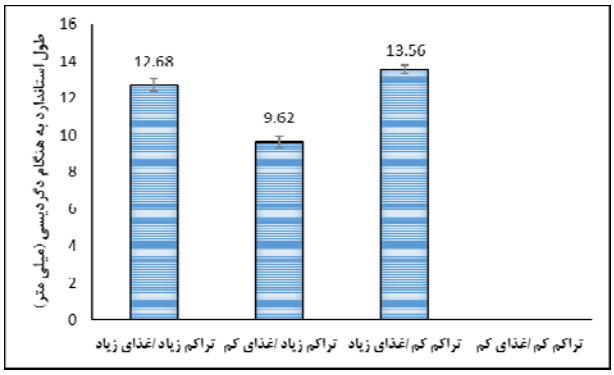
درصد دگردیسی: میانگین و انحراف معیار درصد دگردیسی لارو وزغ سبز (*B. variabilis*) در شکل ۵ نشان داده شده است. بیشترین درصد برای تیمار با تراکم کم/غذای زیاد با مقدار ۹۳/۳۳±۱۱/۵۴ و کمترین درصد برای تیمار با تراکم کم/ غذای کم با مقدار صفر درصد ثبت گردید (شکل ۵). در دیگر تیمارها درصد دگردیسی لاروها برای تیمار تراکم زیاد/غذای زیاد با مقدار ۳/۸۱ ± ۷۴/۱۶ درصد، و در تیمار تراکم زیاد/غذای کم با مقدار ۴/۱۶±۱/۴۴ درصد ثبت شد. نتایج حاصل از ANOVA نشان داد، هر دو فاکتور تراکم و غذا به‌صورت مستقل و متعامل اثر معنی‌دار بر روی درصد دگردیسی داشتند (جدول ۳).

بحث

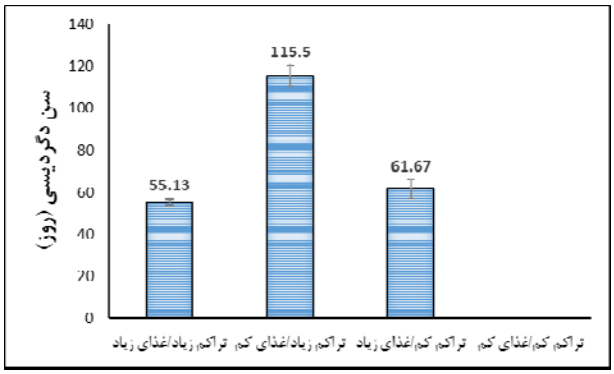
دراین مطالعه، نشان داده شد که تغییرات تراکم و میزان غذای در دسترس بر رشد، تکوین و بقای لاروهای وزغ سبز(*B. variabilis*) تأثیرگذار است. به‌طورکلی می‌توان گفت که میزان غذای موجود نقش مهمی بر روی نرخ رشد، دگردیسی و بقا لاروهای وزغ سبز دارد، بطوریکه

بیشترین اندازه طول پوزه تا مخرج (SVL)، بیشترین میزان بقا، کمترین سن دگردیسی، بیشترین درصد دگردیسی و بزرگترین اندازه SVL به هنگام دگردیسی در تیمار تراکم کم/غذای زیاد به دست آمد. در مقابل کمترین اندازه SVL، بیشترین میزان مرگ‌ومیر و کمترین درصد دگردیسی به تیمار تراکم کم/غذای کم تعلق گرفت.

جانوران به‌طور مستمر در معرض خطر هستند. به‌عنوان مثال ممکن است در دست‌یابی به منابع غذایی خود همیشه موفق نباشند، یا در فرصتی که برای تولیدمثل خواهند داشت ناتوان بمانند. این امر ممکن است به سازگاری فرد به‌صورت جزیی در درازمدت تأثیر بگذارد (۱۹). جانورانی که دارای چرخه زندگی پیچیده هستند، (به‌عنوان مثال، دوزیستان)، اغلب یک دوره بحرانی را برای زنده ماندن در انتقال از یک محیط آبی (مرحله لاروی) به محیط خشکی در بزرگسالی، تجربه می‌کنند (۲ و ۴۷).



شکل ۳- میانگین و انحراف معیار اندازه طول پوزه تا مخرج (SVL) به هنگام دگردیسی لارو وزغ سبز (*Bufotes variabilis*)



شکل ۴- میانگین و انحراف معیار سن دگردیسی لارو وزغ سبز (*Bufotes variabilis*)

شکل۵- میانگین و انحراف معیار درصد دگردیسی لارو وزغ سبز (*Bufotes variabilis*)

جدول ۳- تست آماری دو متغیره ANOVA برای اثر تراکم و غذا بر اندازه (SVL) ، سن و درصد دگردیسی وزغ سبز (*Bufutes variabilis*) از ابتدا تا پایان آزمایش.F: فراوانی، df: درجه آزادی، p-value: در جه معنی‌داری

منبع تغییرات	F	df	p-value
اندازه (SVL)			
دگردیسی			
تراکم	۱۳/۵۳	۱	۰/۰۱
غذا	۱۶/۶۱	۱	۰/۰۰۰۱
تراکم × غذا	۱۵/۱۳	۱	۰/۰۰۰۱
سن دگردیسی			
تراکم	۴/۰۷	۱	۰/۰۹
غذا	۳۴/۹۲	۱	۰/۰۰۰۱
تراکم × غذا	۲۰/۸۹	۱	۰/۰۰۰۱
درصد دگردیسی			
تراکم	۱۱/۰۲	۱	۰/۰۱
غذا	۱۴/۷۰	۱	۰/۰۰۰۱
تراکم × غذا	۱۳/۲۱	۱	۰/۰۰۰۱

سرعت رشد لارو و طول مرحله لاروی تحت تأثیر عوامل خارجی(تراکم، غذا، دما، سطح آب و...) و عوامل داخلی (محتوای ژنتیکی، میزان متابولیسم، ذخایر زرده) است (۴۳). غذا بعنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای زیستی، می‌تواند روی زنده ماندن و حیات دوزیستان جهت دگردیسی و طول مدت آن تأثیر داشته باشد. مطالعات متعددی در زمینهٔ تأثیر میزان غذای در دسترس بر روی رشد، دگردیسی و بقای دوزیستان وجود دارد. گرسنگی یکی از موارد استرس‌زایی است که آبزیان در طول حیات خود تجربه می‌نمایند (۱). احساس گرسنگی با چندین اثر فیزیولوژیک (نظیر انقباضات ریتمیک معده و بی‌قراری) همراه است که فرد را به جستجو برای دریافت غذا وادار می‌کند. اشتها، میل به غذا خوردن (اغلب یک غذای خاص) می‌باشد و به انتخاب یک غذا باکیفیت مطلوب کمک می‌کند. اگر تقاضا برای غذا موفقیت‌آمیز باشد، احساس سیری حاصل می‌شود (۱۶). حالات فوق، به عوامل محیطی و فیزیولوژیکی بستگی دارد که بر مراکز اختصاصی در مغز (به‌ویژه هیپوتالاموس) اثر می‌گذارند (۱۶و ۴۸). از دیگر متغیرهای اکولوژیکی (بوم‌شناختی) که بر دوزیستان در محیط آبی تأثیر می‌گذارد، تراکم افراد است، که می‌تواند منابع سرانه را کاهش دهد، درنتیجه شدت رقابت داخلی را افزایش می‌دهد (۴۶). به‌طور کلی، تراکم‌های بالا باعث افزایش استرس فیزیولوژیکی و محیطی می‌شود (۳۷) که منجر به کاهش سرعت رشد و اندازه در دگردیسی، و نیز طولانی شدن دوره‌های لاروی در دوزیستان بی‌دم می‌شود (۳۶ و ۳۸). این تنش و استرس گاهی می‌تواند برای لارو کشنده باشد (۲۴). علاوه بر این، لاروهایی که در محیط‌های با تراکم بالا تکوین می‌یابند ممکن است از زمان کاهش رشد آنها در دوران نوجوانی رنج ببرند، اگرچه چنین کاهش رشدی می‌تواند در مراحل بعد از لارو و نوجوانی جبران شود (۱۱).

مطالعات صورت گرفته توسط لیپس و همکاران (۱۹۹۴)، روی دو گونه قورباغه درختی *Hyla gratiosa* (LeConte, 1856) و *H. cinerea* (Schneider 1799) نشان داد که هرچه غذای در دسترس افزایش پیدا کند، به‌تبع آن نرخ رشد افزایش‌یافته و اندازه لاروها در زمان دگردیسی بزرگتر می‌شود (۲۲). در مطالعات صورت گرفته توسط هیکرسون و همکاران (۲۰۰۵) روی گونه *Desmognathus quadramaculatus* (Holbrook 1840)، تأثیر میزان غذا بر طول زمان دگردیسی موردبررسی قرار داده شد، نتایج نشان داد، که اگر میزان غذای در دسترس افزایش یابد زمان دگردیسی کوتاه می‌شود (۱۷). در مطالعه صورت گرفته توسط آرندت و همکاران (۲۰۰۵) روی لاروهای *S. hammondii* (Baird 1859)، تأثیر سطح غذا و دما بر دگردیسی و اندازه بدن لارو موردبررسی قرارگرفت. نتایج نشان داد که لاروها با افزایش بیشتر مواد غذایی سریع‌تر رشد می‌کنند و زودتر دچار دگردیسی می‌شوند. همچنین اندازه بدن این لاروها بزرگتر و درشت‌تر از افراد با غذای

کم بود (۳). مطالعه صورت گرفته روی دوزیستان بی‌دم در سال ۲۰۱۳ توسط اورزلای و همکارانش، تأثیر دو عامل غذای در دسترس و خشک شدن آب تالاب‌ها روی قورباغه گونه *Discoglossus pictus* (Otth 1837) را مورد ارزیابی قرارداده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که در دسترس بودن غذا بر کل فاصله زمانی که یک لارو طی می‌کند تا به دگردیسی کامل برسد، تأثیر قابل‌توجهی گذاشت، به طوریکه تیمارهای دارای غذای کافی، دارای سن دگردیسی کوتاهتر، وزن بیشتر و اندازه بزرگتری نسبت به تیمارهای دارای محدودیت غذایی بودند (۴۱). مطالعه روی جمعیت‌های کمپلکس قورباغه مردابی، *Pelophylax ridibundus* (Pallas 1771) توسط پسرکلو (۲۰۱۵)، تأثیرات غذا و دمای آب را بر تکوین لاروها مورد بررسی قرارداد. در پایان دوره آزمایش، لاروهایی که غذای دائمی در دسترس آنها بود بالاترین تعداد دگردیسی را نسبت به سایر گروه‌ها داشتند. همچنین دراین مطالعه نشان داده شد که نرخ بقا در تیمار با دمای پایین (۲۰ درجه سانتی گراد) و غذای در دسترس و دائمی بیشتر از نرخ بقا در تیمار با دمای بالا (۲۷ درجه سانتی‌گراد) و غذای دوره‌ای (تنش غذایی) است (۳۲).

تأثیر تراکم بر رشد، تکوین و بقا با توجه به نوع گونه متفاوت است. مطالعه صورت گرفته توسط Smelitch و همکاران (۱۹۸۲) روی گونه‌ی (Harlan 1835) *Scaphiopus holbrookii* نشان داد که در تراکم بالا رشد سریع و دوره لاروی کوتاه و همچنین اندازه بدن در دگردیسی کوچکتر خواهد بود (۳۶). در مطالعه دو فاکتوری صورت گرفته توسط کولینس و همکاران (۱۹۸۳) اثرات غذا و تراکم بر رشد لاروهای گونه‌ی *Ambystoma tigrinum nebulosum* (Hallowell 1853) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، تراکم در ایجاد چندریختی لاروها نقش مهمی دارد و فقط در بالاترین میزان تراکم ایجاد می‌شود. در تراکم بالا نرخ رشد کمتر شده و بقای لاروها کاهش می‌یابد و دوره تکوین نیز طولانی‌تر می‌شود.

این آزمایش در سه سطح تراکم بالا، متوسط و پایین انجام شد و شامل ۱۸۰ لارو بود (۶). مطالعه بر روی لاروهای وزغ آمریکایی *Bufo americanus* (Holbrook 1836) توسط رینولدز و همکاران (۲۰۱۱)، تأثیر تراکم جمعیت لاروها را بر بقا و دگردیسی این‌گونه مورد بررسی قرارداد. در نتایج به‌دست‌آمده مشخص گردید که تراکم نقش مهمی بر میزان رشد و بقا و دگردیسی دارد. به طوریکه هرچه میزان تراکم جمعیت لاروها بیشتر باشد، رشد کوتاهتر و بقا افزایش می‌یابد. همچنین مشخص شد که تراکم بالا باعث طولانی‌تر شدن دوره تکوین و زمان دگردیسی می‌شود (۳۳). مطالعه روی قورباغه *Leptodactylus melanotus* (Hollowell 1861) توسط هافمان (۲۰۱۲)، تأثیر تراکم بر رشد و تکوین لاروهای این‌گونه مورد بررسی قرارگرفت. نتایج نشان داد که هرچه میزان تراکم در جمعیت لاروی بیشتر گردد، به‌تبع آن میزان رشد کمتر شده و زمان تکوین طولانی‌تر می‌شود (۱۸). بنابراین وجود یک لارو در یک مساحت مشخص در مقایسه باوجود تعداد بیشتر از یک لارو در همان مساحت، بر رشد و تکوین اثر مهم و معنی‌داری خواهد داشت (۴۳). مطالعه روی لاروهای قورباغه درختی *Hyla savignyi* (Audouin 1827) توسط استین و بلاوستین (۲۰۱۵)، چگونگی تراکم لاروی درون گونه‌ای بر عملکرد لاروی و انتخاب زیستگاه تخمک‌گذاری در تراکم‌های ۱۰ و۴۰ با ۴ تکرار مورد بررسی قرارگرفت. دراین مطالعه مشخص شد که سن دگردیسی و اندازه دگردیسی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تراکم اولیه لاروی نیست. بااین‌حال اثرات رقابتی شدید درون گونه‌ای به‌صورت کاهش اندازه دگردیسی در تراکم بالا مشاهده شد. با توجه به مطالعات، نشان داده شده است که جنس ماده با انتخاب زیستگاه‌های بدون تراکم یا تراکم کم جهت تخمک‌گذاری، اثرات رقابت درون گونه‌ای (برای نسل‌های بعدی خود) را کاهش می‌دهند (۳۹). بنابراین به نظر می‌رسد که رقابت درون‌گونه‌ای عامل مهمی در تراکم مربوط به اکولوژیکی است (۲۶ و ۳۹). مطالعه روی

قورباغه‌ی سبز (*Bufotes variabilis*) توسط مرادی و همکاران (۲۰۱۹)، تأثیر تراکم، سطح آب و دما بر رشد، بقا، تکوین و همنوع‌خواری لاروهای این‌گونه مورد بررسی قرارگرفت. نتایج نشان داد که افزایش تراکم باعث کاهش نرخ بقا می‌شود. همچنین تراکم بالا باعث افزایش زمان دگردیسی و کاهش درصد دگردیسی می‌گردد. اما بر رشد و اندازه‌ی دگردیسی اثر معناداری نداشت. در این مطالعه بیشترین درصد همنوع خواری در تراکم پایین، حرارت بالا، سطح آب کم مشاهده شد (۲۶).

مطالعاتی وجود دارد که اثر تعاملی غذا با تراکم بر رشد و بقای لارو دوزیستان بررسی‌شده است. در مطالعات وایلی و همکاران (۲۰۰۱) اثرات مشترک دو فاکتور سطح غذا و تراکم بر روی سمندر *Ambystoma macrodactylum* (Baird 1950) آزمایش شد. لاروها در دو سطح غذای کم و زیاد و تراکم بالا و پایین تحت شرایط آزمایشگاهی بررسی شدند و در این آزمایش میزان بقا و درصد صدمات وارده و همنوع‌خواری اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تغییر سطوح غذائی که در آن لاروها پرورش یافتند، منجر به تغییرات شدیدی در اندازه جمعیت درون‌گروهی شد و جراحات داخلی را افزایش داد. میزان گرسنگی در تیمارهای دارای غذای کم و تراکم بالا بیشتر بود، بنابراین بر میزان بقای لارو اثر منفی داشت و باعث کاهش آن گردید (۴۸). در مطالعات بلاخال و همکاران (۲۰۱۴)، اثر سه فاکتور حرارت، غذا و تراکم روی رشد و تکوین قورباغه *Pelophylax saharicus* (Boulenger 1913) بررسی گردید و مشاهده شد که بیشترین مقدار رشد در دمای بالا و سطح غذای زیاد اتفاق می‌افتد. همچنین سطح غذای بالا، سرعت دگردیسی را افزایش داده و دوره لاروی را کاهش می‌دهد. سطح غذای پایین سرعت دگردیسی را کاهش می‌دهد و دوره لاروی را افزایش می‌دهد. بیشترین مقدار نرخ رشد با سطح غذای زیاد و متوسط ثبت‌شده است (۴). مطالعه انجام شده توسط دینگ و همکاران (۲۰۱۵) بر روی لاروهای گونه (Wiegmann 1834) *Hoplobatrachus rugulosus* اثرات مشترک نوع غذا و تراکم لاروها در رشد، بقا و دگردیسی قورباغه ببری چینی بررسی شد و نتایج نشان داد نرخ دگردیسی با افزایش تراکم کاهش پیدا می‌کند، اما تفاوتی بین رفتار تغذیه‌ای لاروها مشاهده نشد. تراکم لاروها بیشترین نقش را در نرخ دگردیسی داشت و سطح غذا بیشترین نقش را در تعیین زمان دگردیسی نشان داد (۱۰). در مطالعه بررسی اثر مقدار غذا و سطح تراکم بر روی رشد، تکوین و بقا سمندر خال زرد *N. derjugini* (Nesterov, 1916) توسط ویسی و شریفی (۲۰۱۶) نشان داده شد که سطح غذای در دسترس نقش اساسی بر رشد و بقا و همچنین دگردیسی ایفا می‌کند. لاروهای سمندر خال زرد در تیمارهای با تنش سطح غذای زیاد در مقابل با سطح غذای کم، مرگ‌ومیر کمتری را از خود نشان دادند. به طور کلی نشان دادند که هرچه میزان غذا بیشتر و تراکم کمتر باشد، نرخ رشد و بقا بیشتر و زمان دگردیسی کوتاهتر می‌گردد. در این مطالعه اثرات تراکم و میزان و نوع غذا بر روی همنوع‌خواری لاروها نیز بررسی شد (۴۳). در مطالعه صورت گرفته توسط لهتینن و همکاران (۲۰۱۷) اثرات دو فاکتور تراکم و مقدار مواد غذایی بر نرخ رشد و همچنین همنوع‌خواری را در لاروهای قورباغه *Polypedates braueri* (Vogt 1911) مورد بررسی قراردادند (۲۱). این مطالعه نشان داد، با تغییر در مقدار غذا یا سطح تراکم، میزان بقا یا همنوع خواری تغییری نمی‌کند.

در مطالعه ما، با بررسی اثر مستقل میزان غذا (صرف‌نظر از اثر تراکم) بر روی لاروهای وزغ سبز نشان داده شد که رشد، تکوین و میزان زنده ماندن لاروها وابستگی زیادی به میزان غذای در دسترس دارد، بطوریکه با افزایش مقدار غذا نرخ رشد، تعداد دگردیسی و میزان بقاء افرایش یافت. همچنین اندازه لاروها در هنگام دگردیسی بزرگتر از تیمارهای غذای کم بود و لاروها زودتر دچار دگردیسی شدند. با بررسی اثر مستقل تراکم (صرف‌نظر از اثر غذا) در این مطالعه، مشخص شد که تراکم بر رشد و بقای لاروهای

وزغ سبز اثر معنی‌داری نداشته ولی اثر تراکم بر ویژگی‌های دگردیسی ازجمله اندازه دگردیسی، سن دگریسی و درصد دگردیسی اثر معنی‌داری دارد. با بررسی اثر تعاملی میزان غذا و سطح تراکم بروی رشد، تکوین و بقا لاروهای وزغ سبز نتایج نشان داد، لاروهای پرورش‌یافته در تیمار تراکم کم/غذای زیاد، دارای بزرگترین اندازه SVL در طول آزمایش، بزرگترین اندازه SVL به هنگام دگردیسی، بیشترین درصد دگردیسی، بیشترین نرخ بقا نسبت به بقیه تیمارها بودند. اثر تعاملی غذا و تراکم بر اندازه SVL در زمان دگردیسی، سن دگردیسی و درصد دگردیسی معنی‌دار نشان داده شد. همچنین اثر تعاملی غذا و تراکم بر اندازه SVL در طول زمان معنی‌دار بود. اما اثر تعاملی این دو فاکتور بر بقای لاروها در طول زمان بی‌معنا ثبت شد. باتوجه به پراکنش زیاد وزغ سبز در ایران، این‌گونه دارای مقاومت زیادی در شرایط بحرانی است، بنابراین توانسته با افزایش سازگاری در محیط‌های پرتنش بقای خود را تضمین کند. این دلیل می‌تواند بی‌معنا بودن اثر مستقل و تعاملی تراکم بر رشد و بقا را توجیه می‌کند. البته این احتمال نیز وجود دارد که تعداد لاروهای استفاده شده برای تراکم زیاد، نتوانسته فشار و تنش تراکمی قابل‌انتظار را به وجود آورد. بنابراین پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده برای روشن شدن این موضوع و برای بررسی بیشتر اثر تراکم یا اثر تعاملی تراکم با دیگر فاکتورها ازجمله حرارت، میزان سطح آب، شکارگری، شوری و ... برای این‌گونه، از فشار تراکمی بیشتری استفاده شود.

سپاسگزاری

از دانشگاه رازی به جهت حمایت‌های مالی جهت انجام این مطالعه به‌عنوان بخشی از پایان‌نامه نویسنده اول تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1- Akbary, P., Biabani, S., and Sandak Zehi, A., 2015. Effect of food deprivation on biochemical and haematological parameters in two different sizes of yellowfin seabream *(Acanthopagrus latus*, Houttyn, 1782), Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 29(2), PP: 119-130.

2- Alvarez, D., and Nicieza, A. G., 2002. Effects of temperature and food quality on anuran larval and metamorphosis, Functional Ecology, 16, PP: 640-648.

3- Arendt, J., and Hoang, L., 2005. Effect of food level and rearing temperature on burst speed and muscle composition of Western Spadefoot Toad (*Spea hammondii*), Ecology, 19, 82 p.

4- Bellakhal, M., Neveu, A., Fartouna-Bellakhal, M., Missaoui, H., 2014. Effects of temperature, density and food quality on larval growth and metamorphosis in the North African green frog *pelophylax saharicus*, Journal of Thermal Biology, 45, PP: 81-86.

5- Cabrera-Guzmant, E., Crossland, M. R., Brown, G. P., and Shine, R., 2013. Larger body size at metamorphosis enhances survival, growth and performance of Young Cane Toads (*Rhinella marina*), Plos One, 87, PP: 70–121.

6- Collins, J. P., and Cheek, J. E., 1983. Effect of food and density on development of typical and cannibalistic salamander larvae in *Ambystoma tigrinum nebulosum*, American Zoologist, 23, PP: 77–84.

7- Crump, M. L., 1981: Energy accumulation and amphibian metamorphosis, Oecologia, 49, PP: 167-169.

8- Dash, M. C., and Hota, A. K., 1980. Density effects on the survival, growth-rate, and metamorphosis of *Rana tigrina* tadpoles, Ecology, 61, PP: 1025–1028.

9- Dastansara, N., 2015. The effect of temperature and hydroperiod changes on growth and metamorphism *Bufo viriabilis*. MSc Thesis. Razi University of Iran, 71p.

10- Ding, G. H., Lin, Z. H., Fan, X. L., and Ji, X., 2015. The combined effects of food supply and larval density on survival, growth and metamorphosis of Chinese tiger frog (*Hoplobatrachus rugulosa*) tadpoles, Aquaculture, 435, PP: 398-402.

11- Distel, C. A., and Boone, M. D., 2009. Effects of aquatic exposure to the insecticide carbaryl and density on aquatic and terrestrial growth and survival in American toads, Environmental Toxicology and Chemistry, 28, PP: 1963–1969.

12- Eitam, A., Blaustein, L., and Mangel, M., 2005. Density and intercohort priority effects on larval *Salamandra salamandra* in temporary pools. Oecologia, 146, PP: 36–42.

13- Firooz, A., 2008. Iranian Wild life (vertebrates). Tehran University Publication Center, Second Edition, 491 p.

14- Gilbert, S. F., 2000. Developmental Biology, 6th edition. Sunderland, Massachusetts. Sinauer Associates, Inc, 749 p.

15- Gromko, Mason, M. H., and SmithgilSj, F. S., 1973. Analysis of the crowding effect in *Rana pipiens* tadpoles, Journal of Experimental Zoology, 186, PP: 63–71.

16- Hall, J., 2015. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 13th Edition, eBook ISBN: 9780323389587, Imprint**:** Saunders, 1168 p.

17- Hickerson, C. A. M., Barker, E. L., and Beachy, C. K., 2005. Determinants of metamorphic timing in the black-bellied salamander, *Desmognathus quadramaculatus*, Southeastern Naturalist, 4, PP: 33-50.

18- Haffmann, H., 2012. Studies on the mechanisms that affect the growth and development rates of *Leptodactylus melanonotus* tadpoles (Anura: Leptodactylidae) at different population densities, Salamandra, 48, PP: 213-223.

19- Jefferson, D. M., 2015. Characterization of mechanisms influencing cannibalism among larval amphibians, PhD thesis. University of Saskatchewan Saskatoon, 221 p.

20- Kupferberg, S. J., 1997. The role of larval diet in anuran metamorphosis, American Zoologist, 37, PP: 146-149.

21- Lehtinen, Richard, M., and Yeong-Choy, K., 2017. No experimental evidence for cannibalism in tadpoles of a Rhacophorid tree frog, *Polypedates braueri*, Current Herpetology, 36, PP: 54-57.

22- Leips, J., and Travis, J., 1994. Metamorphic responses to changing food levels in two species of hylid frogs, Ecology, 75, PP: 1345-1356.

23- Lenzey, D. W., 2016. Vertebrate Zoology, Publisher: Johns Hopkins University Press; second edition (February 13, 2012). 608 p.

24- Loman, J., 2004. Density regulation in tadpoles of *Rana temporaria*: a full pond experiment, Ecology, 85, PP: 1611–1618.

25- Mogali, S., Saidapur, S., and Shanbhag, B., 2016. Influence of desiccation, predatory cues, and density on metamorphic traits of the bronze frog *Hylarana temporalis*, Amphibia-Reptilia, 37, PP: 199-205.

26- Moradi, F., Vaissi, S., and Akmali, V., 2019. Impacts of temperature, water level and density on cannibalism of larval *Bufotes variabilis* (Pallas, 1769), Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 32(1), PP: 25-35.

27- Morey, S., and Reznick, D., 2001. Effects of larval density on post metamorphic spadefoot toads (*Spea hammondii*), Ecology, 82, PP: 510-522.

28- Morton, G. J, Cumming, D. E., Baskin, D. G., Barsh, G. S., and Schwartz, M. W., 2006. Centeral nervous system control of food intake and body weight, Nature, 443(21), PP: 661-671.

29- Newman, R. A., 1994. Effects of changing density and food level on metamorphosis of a desert amphibian, *Scaphipus couchih.* Ecology, 75(4), PP: 1885-1095.

30- Nosaka, M., and Katayama, N., and Kishida, O., 2015, Feedback between size balance and consumption strongly affects the consequences of hatching phenology in size-dependent predator–prey interactions, Oikos, 124, PP: 225-234.

31- Ortiz-Santaliestra, M., Fernandez-Beneitez, M. J., and Marco, A., 2012. Density effects on ammonium nitrate toxicity on amphibians. Survival, growth and cannibalism, Aquatic Toxicology, 110– 111, PP: 170– 176.

32- Pesarakloo, A., 2015. Evaluation of the Iranian populations of Marsh frog, *Pelophylax ridibundus* Complex using molecular, morphological and ecological data. PhD Thesis, Razi University, Kermanshah, Iran, 153 p.

33- Reynolds, M., Blakeslee, C., Paciorek, T., and McRobert, S. P., 2011. The effect of population density on survival and metamorphosis in American Toad (*Bufo americanus*), Tadpoles. Russian Journal of Physical Chemistry A., 18, PP: 241-246.

34- Rose, C. S., 2005. Integrating ecology and developmental biology to explain the timing of frog metamorphosis. Trends in Ecology and Evolution, 20(3), PP: 129–135.

35- Safaei-Mahroo, B., Ghaffari, H., Fahimi, H., Broomand, S., Yazdanian, M., Najafi Majd, E., and Yousefkhani, S. S., 2015. The herpetofauna of Iran: checklist of taxonomy, distribution and conservation status, Asian Herpetological Research, 6, PP: 257–290.

36- Semlitsch, R. D., and Caldwell, J. P., 1982. Effects of density on growth, metamorphosis, and survivorship in tadpoles of *Scaphiopus holbrooki*, Ecology, 63, PP: 905–911.

37- Sibly, R. M., 1999. Efficient experimental designs for studying stress and population density in animal populations, Ecological Applications, 9, PP: 496–503.

38- Skelly, D. K., 1995. Competition and the distribution of spring peeper larvae, Oecologia, 103, PP: 203–207.

39- Stein, M., and Blaustein, L., 2015. Larval performance and oviposition habitat selection of the tree frog, *Hyla savignyi*, in response to conspecific larval density, Israel Journal of Ecology and Evolution, 61(1), PP: 61-66.

40- Taheri Khas, Z., 2016. Effects of rising temperature and presence of introduced predatory fish (*Gambusia affinis*) on growth, development and survival in larvae and tadpole of *Bufotes variabilis.* MSc Thesis. Razi University, Kermanshah, Iran, 115 p.

41- Urzelai, U. E., Sebastian, O. S., Garriga, N., and Llorente, G. A., 2013. Food availability determines the response to pond desiccation in anuran tadpoles, Oecologia, 173, PP: 117–127.

42- Vaissi, S., and Sharifi, M., 2016. Changes in food availability mediate the effects of temperature on growth, metamorphosis and survival in endangered yellow spotted mountain newt: implications for captive breeding programs, Biologia, 71, PP: 444-451.

43- Vaissi, S., and Sharifi, M., 2016, Variation in food availability mediate the impact of density on cannibalism, growth, and survival in larval yellow spotted mountain newts (*Neurergus derjugini*): Implications for captive breeding programs, Zoo Biology, 35, PP: 513-521.

44- Vitt, L. J., and Caldwell, J. P., 2014. Herpetology. An introductory biology of amphibians and reptiles.4th edition Academic Press, 757 p.

45- Wells, K. D., 2010. The ecology and behavior of amphibians. University of Chicago Press.

46- Wilbur, H. M., 1977. Density-dependent aspects of growth and metamorphosis in *Bufo americanus*, Ecology, 58, PP: 196–200.

47- Wilbur, H. M., 1980. Complex life-cycles, Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 11, PP: 67–93.

48- Wildy, E. L., Chivers, D. P., Kiesecker, J. M., and Blaustein, A. R., 2001. The effects of food level and conspecific density on biting and cannibalism in larval long-toed salamanders, *Ambystoma macrodactylum*, Oecologia, 128(2), PP: 202-209.

Effect of density and food level on the growth, development and survival of larvae of the green toad (*Bufotes variabilis*), Amphibian: Anura

Ebrahimi N., Sharifi M. and Vaissi S.

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

Abstract

Growth, development and survival have important effects on life-history and population dynamics, as they interact to determine an individual's size and age at particular life cycle transitions (e.g. metamorphosis and maturity). For many amphibians, density and food are the primary biotic environmental factors affecting growth, development and survival rates. In this study, the independent and interactive effects of density and food levels on growth, metamorphosis, and survival were studied in larval of Green toad *Bufotes variabilis*. We designed a 2 × 2 factorial experiment in which larvae were raised either at high and low density of conspecifics and fed either a high and low level of food that carried out within 112 days. Food level had a significant effect on growth, metamorphosis, and survival. However, density did not significant influence on growth, survival and metamorphosis time but showed a significant effect on metamorphosis size and percentage of metamorphosis. Growth, metamorphosis size, percent of larval metamorphosed, and survival were all highest in the low density / high food. The lowest growth and metamorphosis size, the greatest age of metamorphosis were in the high density / low food. The lowest survival rate and percentage of metamorphosis were in the low density / low food. Combined effects of food level and density showed significant effects on growth, metamorphosis size, percentage of metamorphosis and metamorphosis time over time but this interaction was not significant for survival.

Key words: Biotic factors, Growth, Metamorphosis, Survival rate, Green toad