زیست‌شناسی جانوری، سال چهاردهم، شماره اول، پاییز ۱۴۰۰، صفحات ۷۹- ۶۵

مقاله پژوهشی

بررسی تغییرات محیطی بر ویژگی‌های قورباغه درختی (*Hyla savignyi* Audouin, 1827)، تولید صوت و تلاش تولیدمثلی در جنس نر

راضیه علائی[۱]، علیرضا پسرکلو[۱*]، معصومه نجیب زاده[۲]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۲- گروه خزنده و دوزیست شناسی فلات ایران، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

*مسئول مکاتبات: A.pesarakloo@gmail.com

DOI: 10.22034/ascij.2021.684777

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۱۵

چکیده

درک تکامل تاریخ زندگی مستلزم تجزیه تحلیل تعادل بین انرژی اختصاص داده شده به فعالیت‌های رشد، نمو، تولیدمثل و چگونگی تنظیم این تعادل برای به حداکثر رساندن موفقیت تولیدمثل در طول زندگی است. از سوی دیگر، تماس‌های صوتی دارای نقش اساسی در خصوصیات تاریخ زندگی می‌باشند که از ارتباط مستقیم با فعالیت‌های تولیدمثلی و در نهایت موفقیت تولیدمثلی برخوردارند. با توجه به نقش مؤثر محیط بر ویژگی‌های دوزیستان، هدف اصلی این تحقیق مطالعه تغییرات محیطی بر صفات صوتی و میزان تلاش تولیدمثلی در جمعیت‌های جنس نر قورباغه درختی *H. savignyi* در مرکز و غرب ایران می‌باشد. جهت بررسی تلاش تولیدمثلی، صفات وزن و اندازه بیضه در کنار صفات وزن و طول بدن (SVL) افراد در جمعیت‌های *H. savignyi* در دامنه ارتفاعی ۱۰۰۰-۲۱۱۷ متر مورد مطالعه قرار گرفتند. همچنین جهت انجام مطالعات صوتی، تعداد پنج صفت استاندارد طول صوت (CD)، فاصله بین دو صوت متوالی (IC)، طول نت (ND)، فاصله بین دو نت متوالی (IN) و تعداد نت‌ها در هر صوت (N/C) این گونه در جمعیت‌ها و طیف‌های دمایی متفاوت مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. مطالعه صفات کمی بیضه و صفات مرتبط با وضعیت بدن (SVL و وزن)، وجود یک ارتباط منفی معنادار را در وزن و اندازه بیضه با افزایش ارتفاع نشان داد، در حالی که این ارتباط برای دو صفت SVL و وزن افراد نتیجه عکس را در پی داشت که بازگوکننده وجود یک تعادل بین فعالیت‌های رشد و تولیدمثل در این گونه می‌باشد. نتایج مقایسه تماس‌های صوتی نشان داد که صوت‌های *H. savignyi* در همه‌ی جمعیت‌ها از ساختار مشترکی برخوردارند. از سوی دیگر، تأثیر درجه حرارت بر پارامترهای صوتی به صورت معناداری ($P\leq ۰/۰۵$) حاکی از نقش تعیین کننده‌ی دما بر کلیه‌ی ویژگی‌های صوتی مورد مطالعه بود.

کلمات کلیدی: *Hyla savignyi*، تلاش تولیدمثلی، تغییرات محیطی، تماس‌های صوتی

مقدمه

بقاء گونه‌ها عموماً به موفقیت تولیدمثلی آن‌ها وابسته است، از این رو مطالعه زیست شناسی تولیدمثل جهت درک استراتژی‌های تاریخ زندگی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۲۶، ۴۲). تلاش تولیدمثلی معرف نسبتی از منابع مصرف شده توسط یک موجود زنده در یک دوره زمانی مشخص جهت تولیدمثل می‌باشد (۱۶). منبع تولید انرژی برای فعالیت باروری سالیانه ممکن است میزان انرژی موجود برای رشد،

بقاء و باروری آینده را تحت تأثیر قرار دهد (۳۸). بنابراین، ایجاد تعادل جهت تخصیص منابع پر انرژی برای چنین فعالیت‌هایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۲). با این حال، تئوری تاریخ زندگی پیش بینی می‌کند، هنگامی که یک موجود زنده میزان انرژی بیشتری را به تولیدمثل اختصاص می‌دهد، انرژی مورد نیاز برای رشد بدن کاهش می‌یابد و منجر به ایجاد یک تعادل بین دو صفت تاریخ زندگی می‌شود که نمی‌توانند بطور همزمان به حداکثر برسند (٤٥).

گرادیانت‌های دمایی و فصلی اغلب با تأثیر بر دوره‌های فعالیت از عوامل محدود کننده زمان نمو، جذب منابع و فعالیت‌های تولیدمثل حیوانات محسوب می‌شوند (۱٥). از این رو، تغییر در دوره‌های فعال و در دسترس بودن منابع بر میزان تلاش تولیدمثلی در هر دو جنس نر و ماده تأثیرگذار می‌باشد (٥۰). مطالعات اخیر با تمرکز عمده بر تغییرات جغرافیایی در اندازه بیضه بیانگر ارتباط منفی اندازه بیضه با ارتفاع و یا عرض جغرافیایی می‌باشند زیرا کاهش جذب انرژی به دلیل کاهش دمای محیط و کوتاه شدن فصل تولیدمثل این امکان را می‌دهد که انرژی کمتری برای تولیدمثل یا رقابت میان نرها اختصاص یابد (۱٤، ۲۳، ۲۸، ٥۰).

از این رو مطالعات انجام شده در مورد تغییرات در اندازه بیضه و صفات اسپرم در دوزیستان بی دم می‌تواند اطلاعات مهمی در مورد سازگاری‌ها و محدودیت‌های اجتماعی در میزان تلاش‌های تولیدمثلی ارائه دهد (٥۰).

تولید صوت از جمله ویژگی‌های رفتاری و وجه تمایز دوزیستان بی دم می‌باشد. تماس‌های صوتی از اهمیت تاکسونومیکی بالایی برخوردارند و برای هر گونه منحصر به فرد می‌باشند (۳۲).

در میان دوزیستان بی دم، آواز خواندن و سایر جنبه‌های رفتاری ناشی از آن، حالت اولیه برقراری ارتباط و واسطه اصلی تعاملات اجتماعی محسوب می‌شود (۷، ۱۸، ۳۲، ٤۰).

علاوه براین، ارتباطات صوتی در دوزیستان بی دم نقش اساسی در خصوصیات تاریخ زندگی و تأثیر بر خطر شکارگری داشته و با فعالیت تولیدمثلی و موفقیت آن ارتباط مستقیم دارد (۲۷، ٤۸) و در نهایت نقش بسیار مهمی در بیولوژی و تکامل این رده از مهره داران ایفا می‌کنند (٤).

مطالعه تنوع صوتی اطلاعات مفیدی را جهت طبقه‌بندی صحیح گروه‌های جانوران ارائه می‌دهد و به عنوان یک ویژگی اساسی برای شناسایی گونه‌ها استفاده می‌شود (٦، ۳۰، ۳٦، ٤۱).

صوت‌های تولید شده توسط دوزیستان بی دم از یک ساختار اساسی تشکیل شده است که به طور معمول تحت تأثیر عوامل ذاتی از قبیل تاریخچه تکوین و آهنگ‌های شبانه روزی و عوامل خارجی از جمله شرایط محیطی قرار می‌گیرند (٥، ۳۳).

تفاوت در خصوصیات زیستگاه می‌تواند منجر به تغییرات صوتی درون گونه‌ای شود. تاکنون چندین مطالعه نشان داده است که عوامل محیطی مانند دمای محیط بر ویژگی‌های صوتی تأثیرگذار می‌باشد (۸، ۹، ۲٥، ۳۱، ۳٥، ٤۷).

تأثیر شرایط محیطی بر ساختارهای صوتی حاکی از آن است که جمعیت‌های یک گونه با توزیع جغرافیایی متفاوت و در نتیجه شرایط آب و هوایی متفاوت ممکن است تفاوت‌های چشمگیری را در هنگام مقایسه پارامترهای صوتی نشان دهند (٥). بنابراین بسیاری از تغییرات جغرافیایی در ویژگی‌های صوتی ممکن است به دلیل تفاوت‌های آب و هوایی در مناطق مختلف توزیع جمعیت‌های یک گونه باشد (۱۷).

قورباغه درختی غرب آسیا، *Hyla savignyi* (Audouin, 1827) به طور گسترده‌ای در آسیای غربی شامل

شمال غرب، غرب و جنوب غرب فلات ایران اغلب در آب‌های دائمی همراه با گیاهان متراکم در رشته کوه‌های البرز و زاگرس در یک محدوده ارتفاعی از ۳۵۰ تا ۲۰۰۰ متر بالاتر از سطح دریا پراکنش دارد (۲، ۳، ۱۳).

با نظر به فقدان اطلاعات کافی در خصوص ساختار صوتی جمعیتی و میزان تلاش تولیدمثلی *H. savignyi* در ایران، مطالعه تغییرات جغرافیایی بر صفات صوتی و تلاش تولیدمثلی جمعیت‌های این گونه در مرکز و غرب ایران از اهداف اصلی این پژوهش در نظر گرفته شدند.

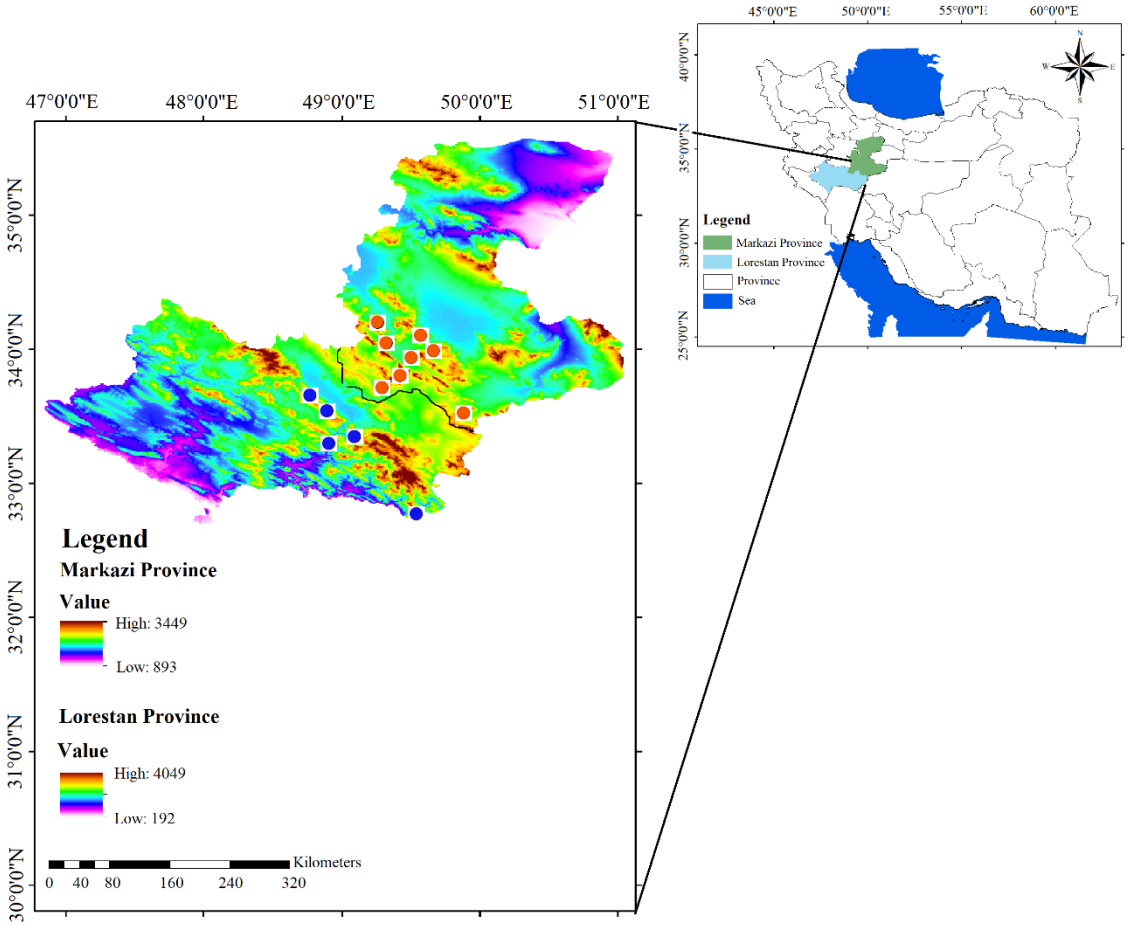
مواد و روش‌ها

منطقه مطالعه و نمونه‌گیری: مطالعات میدانی از اسفند ۱۳۹۷ تا تیرماه ۱۳۹۹ از دو ناحیه جغرافیایی متفاوت در مرکز و غرب ایران صورت گرفت. به منظور انجام مطالعات مرتبط با تلاش تولیدمثلی در مجموع تعداد ٦٦ نمونه نر *H. savignyi* توسط دست و تورهای مخصوص نمونه‌گیری در هنگام غروب خورشید تا نیمی از شب با استفاده از چراغ‌قوه از ۱۳ زیستگاه آبی پراکنده واقع در مناطق جغرافیایی مختلف گرفته شدند (شکل ۱). نمونه‌های نر با توجه به وجود کیسه‌های صوتی بزرگ‌تر و تیره‌تر نسبت به ماده‌ها در ناحیه زیر گلو و توانایی تولید صوت در زیستگاه‌های پرورشی تشخیص داده شدند. نمونه‌های به دام افتاده پس از بیهوش شدن توسط دی‌اتیل اتر به منظور فیکس شدن در الکل اتیلیک ۷۵٪ قرار گرفتند. به منظور اندازه‌گیری صفت طول پوزه تا مخرج (SVL) از کولیس دیجیتال (دقت اندازه‌گیری= ۰/۱ میلی‌متر) و جهت اندازه‌گیری وزن نمونه‌ها از ترازوی دیجیتال (دقت اندازه‌گیری= ۰/۱ گرم) استفاده شد. همچنین به منظور اندازه‌گیری صفات وزن و اندازه بیضه‌ها پس از تشریح نمونه‌ها، بافت‌های گنادی از بدن آن‌ها خارج و سپس توسط ترازوی میکرودیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم و کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شدند.

مطالعه تلاش تولیدمثلی جنس نر *H. savignyi* در مناطق جغرافیایی مختلف: به منظور بررسی اثر ارتفاع بر متغیرهای SVL، وزن افراد، وزن و اندازه بیضه در *H. savignyi* مناطق جغرافیایی مطالعه شده به ٦ گروه؛ سه گروه ارتفاع پایین (۱۰۰۰-۱۳۰۰متر) و سه گروه ارتفاع بالا (۱۸۵۵-۲۱۱۷متر) تقسیم شدند. در جهت مطالعه میزان تلاش تولیدمثلی جنس نر در جمعیت‌های *H. savignyi* و نیز ارتباط بین دو متغیر SVL و وزن افراد در ارتفاعات مختلف، تفاوت‌ها در متغیرهای وزن و اندازه بیضه، SVL و وزن افراد در میان جمعیت‌ها با کاربرد روش آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA مورد ارزیابی قرار گرفت. به علاوه از یک رگرسیون خطی جهت تعیین روابط بین وزن بیضه و صفات مرتبط با وضعیت بدن (SVL و وزن افراد) استفاده گردید. همچنین به منظور برقراری فرض نرمال بودن داده‌ها در آزمون‌های پارامتری از لگاریتم بر مبنای ۱۰ متغیرهای وزن و اندازه بیضه استفاده شد.

مطالعات صوتی: دمای هوا توسط یک دماسنج دیجیتال و در نزدیکی نمونه‌های مشاهده شده گرفته شد. صداها توسط یک ضبط صوت قابل حمل Olympus DM-1 ضبط شدند. تحلیل‌های صوتی در نرم افزار Sound Ruler ورژن ۰/۹٦ (۲۰۰۷/۳/۱۰) صورت پذیرفت. تعداد ۵ صفت استاندارد طول یک صوت (CD)، فاصله بین دو صوت متوالی(IC)، طول نت(ND)، فاصله بین دو نت متوالی(IN) و تعداد نت‌ها در هر صوت (N/C) که به عنوان صفات متمایز کننده در سطوح بین گونه‌ای شناخته شده‌اند از ۵۱ نمونه نر *H. savignyi* در ۹ جمعیت مختلف مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱).

جهت ارزیابی تأثیر دمای محیط بر ویژگی‌های تماس‌های صوتی از آزمون همبستگی پیرسون به همراه نمودار پراکنش (Scatter plot) بر مبنای متغیرهای صوتی در طیف‌های دمایی متفاوت استفاده شد. از سوی دیگر، مقایسات درون جمعیتی بر اساس صفات صوتی از طریق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شد. علاوه براین، به منظور بررسی ساختار کلی تماس‌های صوتی در میان جمعیت‌های متفاوت از آنالیز تشخیصی (DFA) استفاده شد. کلیه‌ی مطالعات آماری در این پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS 25 انجام شد.



شکل ۱- نقشه جغرافیایی مناطق نمونه‌گیری؛ (الف) نقاط آبی رنگ در استان‌های لرستان و خوزستان؛ (ب) نقاط نارنجی رنگ در استان مرکزی (تهیه نقشه با استفاده از نرم افزار Arc GIS توسط نگارنده).

جدول ۱- اطلاعات جغرافیایی مکان‌های مطالعه شده جهت بررسی ویژگی‌های صوتی *Hyla savignyi* در طول ماه‌های مختلف سال در دو استان لرستان و مرکزی.

مکان های جغرافیایی	تاریخ	تعداد نمونه ها	دمای هوا (°c)	ارتفاع (متر)
۱- لرستان- ده باقر (L.D)	۱۳۹۸ /۳/۳	٤	۲۰	۱۲۲۰
۲- لرستان- مخمل کوه (L.M)	۱۳۹۸ /۱/۱٤	۲	۵/۱۳	۱۳۰۰
۳- لرستان- دره گرم (L.Da)	۱۳۹۹/٤/۱۲	۹	۳۰	۱۲۳٦
٤- لرستان- رباط نمکی (L.R)	۱۳۹۹/٤/۱۲	۳	۳۰	۱۳۰۰
٥- مرکزی- تحت محل (M.T)	۱۳۹۹/٤/٥	۱۱	۲٤	۱۸۷٥

٦- مرکزی- عباس آباد (M.A)	۱۳۹۸ /۲/ ۱٤	٤	۱۱	۱۸۹٥
۷- مرکزی- شازند (M.Sh)	۱۳۹۸ /۳/ ۲۸	٤	۱۲	۱۹۰۰
۸- مرکزی- سورانه (M.S)	۱۳۹۸ /۲/ ۱٤	٤	۱۰	۱۹۳۷
۹- مرکزی-آستانه-سرسختی (M.A.Sa)	۱۳۹۸ /٤/ ۱٤	۸	۲٥	۲۱۱۷

نتایج

تلاش تولیدمثلی: دو صفت اندازه و وزن نسبی بیضه به طور قابل توجهی در میان جمعیت‌ها متفاوت بود (آنالیز واریانس یک طرفه: درجه آزادی=۱۹٥/۸، سطح معناداری= ۰/۰۰؛ درجه آزادی = ٦۸۲/٤، سطح معناداری= ۰/۰۰۱، به ترتیب وزن و اندازه بیضه). همچنین نمودار پراکنش بر اساس تأثیر ارتفاع بر وزن و اندازه بیضه نشان‌دهنده یک روند کاهشی در صفات بیضه با افزایش ارتفاع می‌باشد. از سوی دیگر، نتایج حاصل از بررسی اثر ارتفاع بر متغیرهای SVL و وزن افراد، ارتباط معناداری را نشان نداد در حالی که نمودار پراکنش Scatter plot بیانگر یک روند مثبت و صعودی صفات یاد شده با افزایش ارتفاع بود (جدول ۲، شکل ۲).

از طرف دیگر، تغییرات در وزن بیضه ارتباط چندانی با وضعیت بدن افراد نداشت. به عبارت دیگر بین صفات تعیین کننده وضعیت بدن (SVL و وزن افراد) و متغیر وزن بیضه وابستگی معناداری دیده نشد (F =۲٤/۱، سطح معناداری= ۲٦۷/۰؛ F =۰۲۹/۰، سطح معناداری= ۸٦٥/۰، به ترتیب برای متغیرهای SVL و وزن).

مطالعات صوتی: بررسی خصوصیات صوتی در *H. savignyi* همانند مطالعات پیشین نشان داد که این گونه از طول صوت متوسط برخوردار می‌باشد و فرکانس غالب در دامنه kHz ۲-۳ قرار گرفته است. کلیه صفات صوتی مورد آنالیز به همراه نوسان سنج و سونوگرام پیوسته در شکل ۳ تعریف شده‌اند.

مقایسه خصوصیات صوتی در جمعیت‌های مختلف: نتایج حاصل از تحلیل واریانس، تفاوت معنادار همه متغیرها را در بین جمعیت‌های مختلف نشان داد (CD: معناداری= ۰/۰۰؛ IC: معناداری= ۰/۰۰؛ ND: معناداری= ۰/۰۰؛ IN: معناداری= ۰/۰۰؛ N/D: معناداری= ۰/۰۱۷، جدول ٤). که از این میان جمعیت مخمل کوه، میانگین مقادیر بالاتری را در اغلب صفات صوتی از قبیل CD، IC و IN را به خود اختصاص داد (جدول ٤).

اثر دما بر متغیرهای صوتی: آنالیز همبستگی پیرسون نشان داد که صفات CD، IC، ND، IN و N/C بطور منفی با دما در ارتباط می‌باشند و این ارتباط از نظر آماری معنادار بود (جدول ۳، شکل٤).

تحلیل ممیزی بر اساس داده‌های صوتی در جمعیت‌های مختلف *H. savignyi*: بر طبق اطلاعات آماری دریافت شده از تحلیل تشخیصی، تماس‌های صوتی *H. savignyi* در همه جمعیت‌ها از ساختار مشترکی برخوردار بود. آنالیز تشخیصی ٥ تابع را جدا کرد که از این میان دو تابع کانونی اول از نظر آماری معنادار بودند (سطح معناداری≤ ۰/۰٥). تابع اول ٦/٥۱ درصد و تابع دوم ۹/۳٥ درصد و در مجموع هر دو تابع ٥/۸۷ درصد از کل واریانس‌ها را به خود اختصاص دادند. متغیرهای CD، IN و IC در تابع اول و متغیر ND در تابع دوم به ترتیب بیشترین تأثیرگذاری را داشتند. اگرچه الگوی پراکنش جمعیت‌های مختلف *H. savignyi* بر اساس توابع اول و دوم نشان دهنده همپوشانی زیاد میان آن‌ها بود، در هنگام گروه‌بندی ۸/٥۸ درصد از افراد به درستی در گروه‌های اصلی خود قرار گرفتند (جدول ٥، شکل ٥).

جدول ۲- تفاوت در اندازه بدن (SVL)، وزن، لگاریتم وزن بیضه و لگاریتم اندازه بیضه جنس نر *Hyla savignyi* در ارتفاعات مختلف.

صفات	تعداد	ارتفاع (متر)	میانگین±انحراف استاندارد	بیشترین-کمترین	سطح معناداری
SVL (mm)	۵	۱۱۶۶-۱۰۰۰	۲۵/۴±۳۱/۳۷	۲۵/۴۲-۲۵/۳۳	۶۲۸/۰
	۹	۱۲۳۶-۱۲۲۰	۳۳/۲±۴۷/۳۸	۹۰/۴۱-۰۹/۳۵	
	۱۷	۱۳۰۰	۲۴/۳±۵۹/۳۷	۴۱/۴۳-۴۸/۳۳	
	۱۵	۱۸۷۵-۱۸۵۵	۸۶/۴±۵۵/۳۸	۹۱/۴۳-۵۶/۳۰	
	۱۰	۱۹۳۷-۱۹۰۰	۶۹/۳±۶۱/۳۸	۶۴/۴۱-۳۴/۲۹	
	۱۱	۲۱۱۷-۲۰۱۵	۷۰/۳±۰۹/۴۰	۰۳/۴۴-۳۰/۳۳	
Weight (g)	۵	۱۱۶۶-۱۰۰۰	۵/۷۲±۷۱/۵	۴۳/۸-۲۸/۳	۲۳۲/۰
	۹	۱۲۳۶-۱۲۲۰	۶۵/۰±۳۹/۵	۴۰/۶-۴۶/۴	
	۱۷	۱۳۰۰	۹۷/۰±۲۹/۵	۰۲/۷-۰۷/۴	
	۱۵	۱۸۷۵-۱۸۵۵	۳۰/۲±۶۲/۵	۳۴/۱۰-۴۰/۳	
	۱۰	۱۹۳۷-۱۹۰۰	۴۳/۱±۸۸/۵	۹۰/۷-۴۷/۳	
	۱۱	۲۱۱۷-۲۰۱۵	۸۸/۱±۴۵/۶	۰۷/۹-۸۳/۲	
Log_{10} g weight (mg)	۵	۱۱۶۶-۱۰۰۰	(-۶۶/۲)±۰۴/۰	(-۲۴/۲)-(-۱۴/۲)	۰۰۰/۰
	۹	۱۲۳۶-۱۲۲۰	(-۲۹/۲)±۳۶/۰	(-۶۶/۲)-(-۶۰/۱)	
	۱۷	۱۳۰۰	(-۹۲/۱)±۲۷/۰	(-۲۸/۲)-(-۳۳/۱)	
	۱۵	۱۸۷۵-۱۸۵۵	(-۵۳/۲)±۳۳/۰	(-۱۵/۳)-(-۹۶/۱)	
	۱۰	۱۹۳۷-۱۹۰۰	(-۲۸/۲)±۱۴/۰	(-۵۲/۲)-(-۰۹/۲)	
	۱۱	۲۱۱۷-۲۰۱۵	(-۳۶/۲)±۲۸/۰	(-۹۶/۲)-(-۹۲/۱)	
Log_{10} g size (mm)	۵	۱۱۶۶-۱۰۰۰	۰۹/۰±۴۶/۰	۵۸/۰-۳۲/۰	۰۰۱/۰
	۹	۱۲۳۶-۱۲۲۰	۰۵/۰±۴۶/۰	۵۵/۰-۳۷/۰	
	۱۷	۱۳۰۰	۰۸/۰±۵۰/۰	۷۵/۰-۴۲/۰	
	۱۵	۱۸۷۵-۱۸۵۵	۰۸/۰±۳۹/۰	۴۹/۰-۱۸/۰	
	۱۰	۱۹۳۷-۱۹۰۰	۰۵/۰±۴۵/۰	۵۴/۰-۳۹/۰	
	۱۱	۲۱۱۷-۲۰۱۵	۰۴/۰±۴۲/۰	۴۹/۰-۳۴/۰	

جدول ۳. آزمون همبستگی پیرسون جهت بررسی ارتباط بین ویژگی‌های صوتی و دمای هوا در *Hyla savignyi* (مقادیر شامل: r= ضریب همبستگی پیرسون و p-value= سطح معناداری می‌باشند).

صفات صوتی	r	*p*
CD (طول صوت)	-۷۱۴/۰	۰۰/۰
IC (فاصله بین دو صوت متوالی)	-۳۹۶/۰	۰۰۴/۰
ND (طول نت)	-۷۴۰/۰	۰۰/۰
IN (فاصله بین دو نت متوالی)	-۴۶۶/۰	۰۰۱/۰
N/C (تعداد نت‌ها در هر صوت)	-۳۸۴/۰	۰۰۵/۰

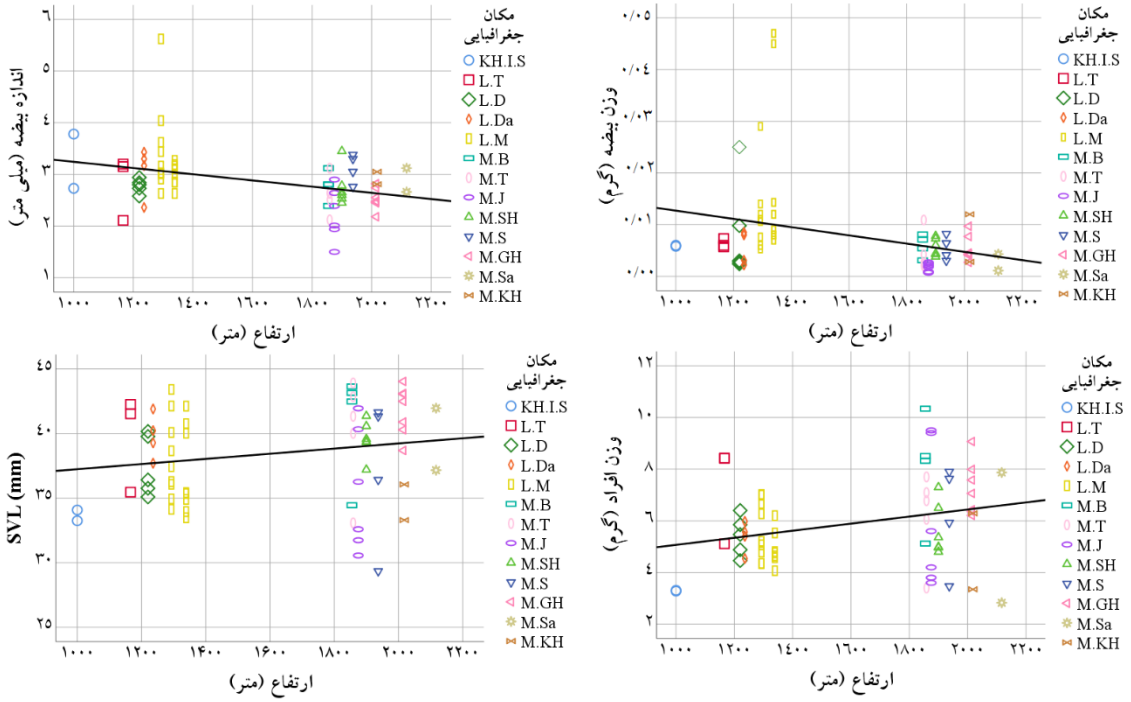
جدول ٤. آنالیز واریانس یک طرفه به همراه میانگین±انحراف استاندارد (SD) صفات صوتی در جمعیت‌های مختلف *Hyla savignyi*. برای کد صفات به جدول ۳ و برای کد مکان‌های جغرافیایی به جدول ۱ مراجعه شود.

صفات/ مکان جغرافیایی	L.D	L.M	L.Da	L.R	M.T	سطح معناداری
CD±SD	۷۵/۱۳۵±٦۷/۳٥	۱۸۸±۸۹/۹	٦٤/۱۱۲±٤۸/۱۱	۰٦/۹٦±۱۷/۲٤	۷۸/۱۲٦±۱۳/۱۷	۰۰/۰
IC±SD	۲۰٦±۸۸/۲٤	/۲٦٦±۷٤/۱۲۳	٦۱/۱٦٥±۷٦/۱۳	۱۳/۱٤٦±٥٥/۳	۲٥/۲۰۲±٥٦/٤۱	۰۰/۰
ND±SD	٥۰/٤±٦۰/۰	٤۰/٥±۰۰/۰	۲۲/٤±۳۸/۰	٤۰/٤±۷۲/۰	۷۲/٤±٦۷/۰	۰۰/۰
IN±SD	٤٥/۲±۱۷/۱	۹۰/۳±۷۰/۰	۹۳/۱±۱٤/۰	۳۳/۱±٥۷/۰	۲٤/۲±۷۳/۰	۰۰/۰
N/C±SD	۲٥/۱٤±٥۰/۰	۱٦±٤۱/۱	٥٥/۱٥±۸۱/۱	۱٦±٦٤/۲	٥٤/۱٥±۰۳/۱	۰۱۸/۰

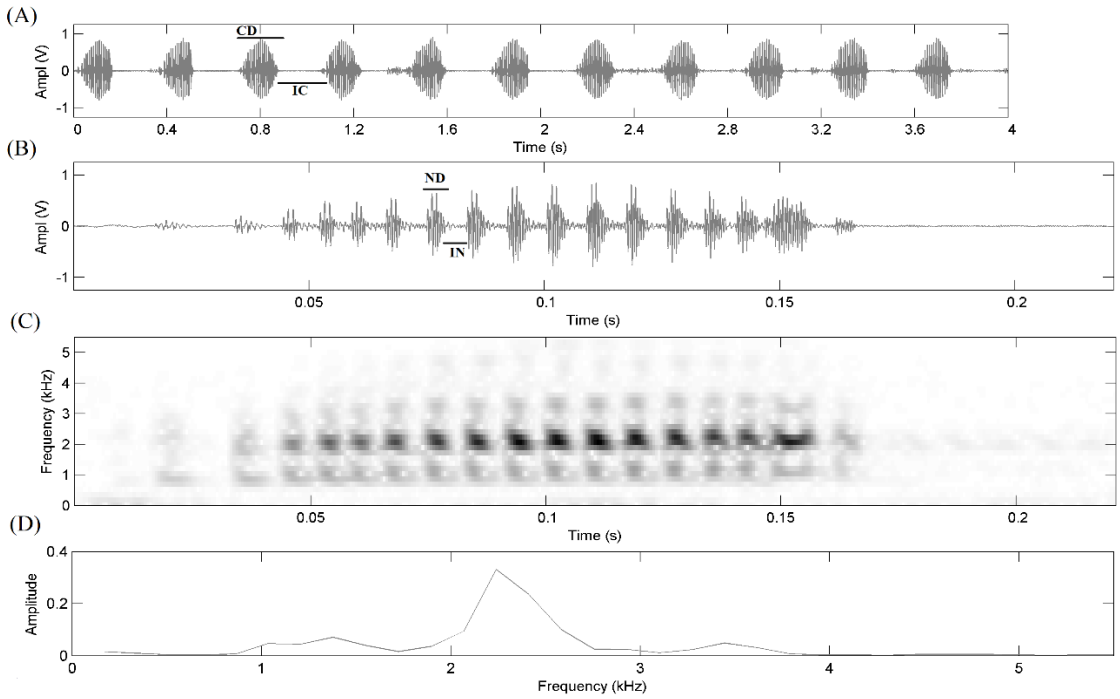
صفات/ مکان جغرافیایی	M. A	M.Sh	M.S	M.A.Sa	سطح معناداری
CD±SD	۲٥/۱٥٤±۰٤/۳۱	٦٦/۱٤۲±٤۲/۱۲	۱۷٥±۹٦/٤	۱۲/۱۱٦±۰۱/۱۲	۰۰/۰
IC±SD	۲٥/۲۰۱±۲٤/۸۷	۱٦/۱۸٦±٥۳/۱۷	۲٥/۲۱۸±٥۹/۱۳	۳۷/۱۱۳±٤٦/٤۷	۰۰/۰
ND±SD	۹٥/٥±٤٤/۰	۷۰/٥±٦۰/۰	۸۰/٥±۱٦/۰	۸۷/٤±٥۹/۰	۰۰/۰
IN±SD	٤٥/۲±٦٦/۰	٤۳/۲±۳۸/۰	٦٥/۲±۱۰/۰	۸۰/۱±۱٥/۰	۰۰/۰
N/C±SD	۲٥/۱٦±۰٦/۲	۸۳/۱۷±۹۸/۰	۲٥/۱۷±۷۰/۱	۷٥/۱٤±۹۰/۱	۰۱۸/۰

جدول ٥. نتایج تحلیل ممیزی صفات صوتی *Hyla savignyi* در جمعیت‌های مختلف. برای کد صفات به جدول ۳ مراجعه شود.

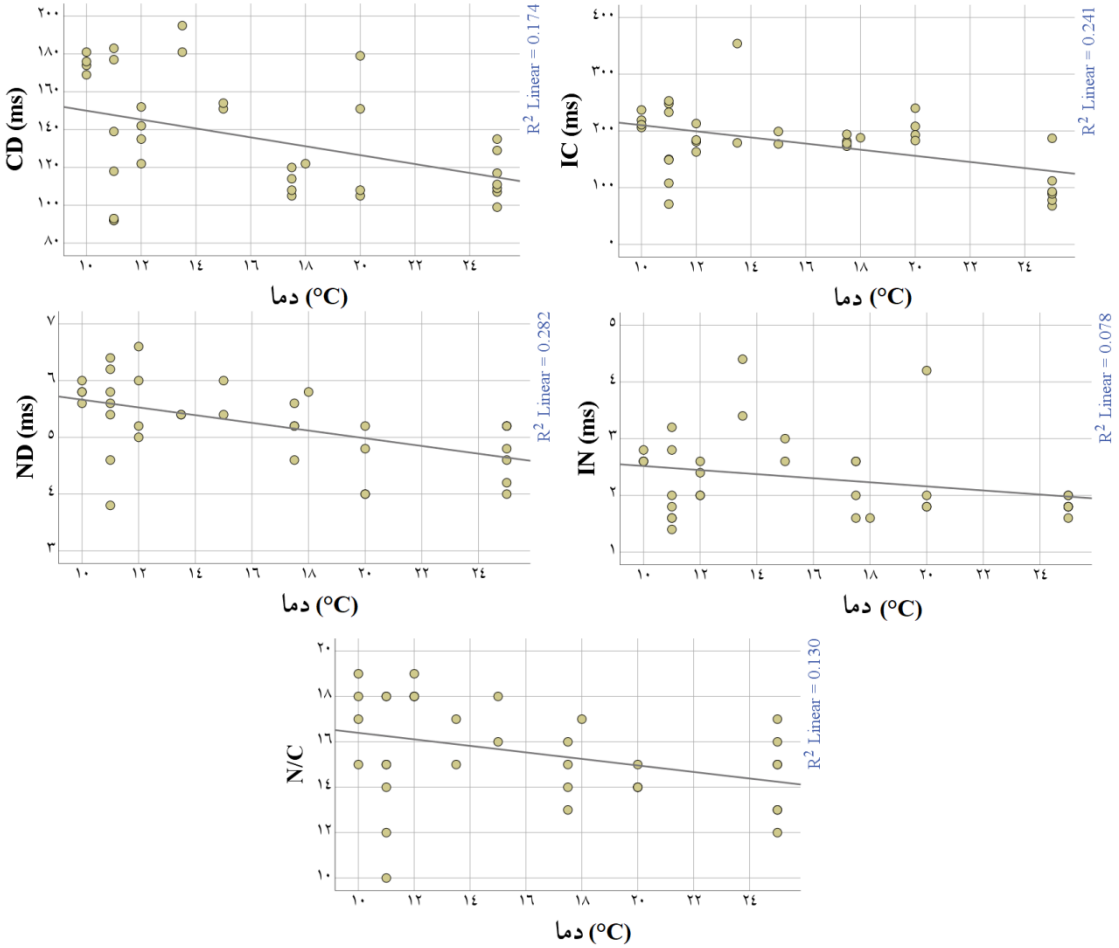
صفات		تابع اول	تابع دوم
CD		۷٥۷/۰	۰/٤۲۳
IN		٥٥۳/۰	۰/۰۹۲
IC		٥٤۱/۰	−۰/۰٥۱
ND		۳٤٤/۰	۰/۷٥٥
N/C		۱۰۸/۰	۰/۳۸۹
مقادیر ویژه	%واریانس	٦/٥۱	۳٥/۹
	واریانس تجمعی	٦/٥۱	۸۷/٥



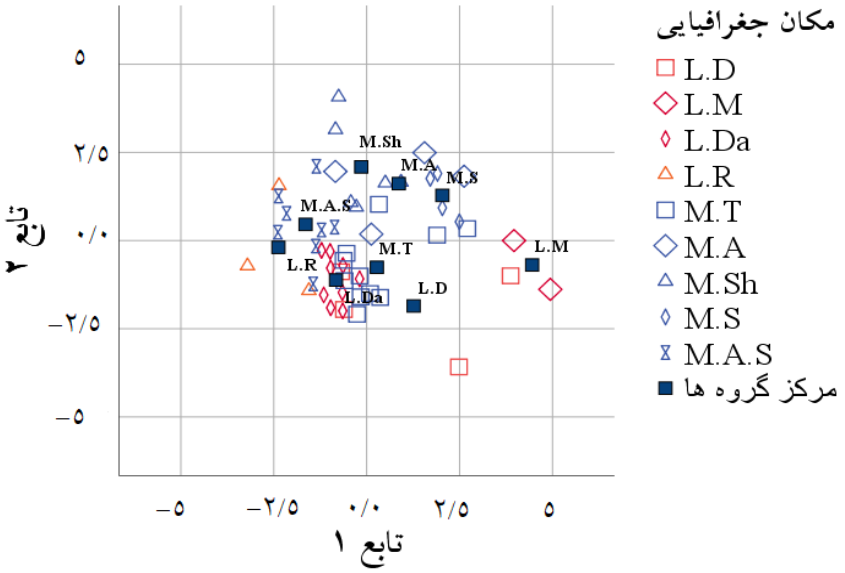
شکل ۲. ارتباط بین متغیرهای SVL، وزن افراد، وزن و اندازه بیضه در شیب‌های ارتفاعی مختلف در *Hyla savignyi*



شکل ۳. اطلاعات صوتی قورباغه درختی *Hyla savignyi* در منطقه لرستان- مخمل کوه. ارتفاع: ۱۳۰۰ متر، دمای هوا: ^{o}C ۵/۱۳، (A) نوسان سنج؛ CD: طول صوت، IC: فاصله بین دو صوت متوالی، (B) طول صوت؛ ND: طول نت، IN: فاصله بین دو نت متوالی، (C) سونوگرام پیوسته، (D) فرکانس غالب صوت. اطلاعات صوتی کسب شده در نرم افزارSound Ruler ورژن ۹۶۷۰.



شکل ٤. تأثیر دما بر متغیرهای صوتی *Hyla savignyi*؛ برای کد صفات به جدول ۳ مراجعه شود.



شکل ۵. افتراق صوتی افراد *Hyla savignyi* از ۹ جمعیت مطالعه شده بر اساس دو تابع اصلی. آزمون آماری تحلیل تشخیصی (DFA). جمعیت‌های لرستان و مرکزی به ترتیب با رنگ‌های قرمز و آبی نشان داده شده‌اند. برای کد مکان‌ها به جدول ۱ مراجعه شود.

بحث

مطالعات تلاش تولیدمثلی: اندازه نسبی بیضه عموماً در جهت اندازه‌گیری میزان تلاش تولیدمثلی جنس نر استفاده می‌شود (۱۱). در نتیجه، نرهایی که در شرایط مناسب زیست می‌کنند، بطور نسبی از منابع در دسترس بیشتری برای افزایش تولیدمثل در بیضه‌ها برخوردارند که منجر به موفقیت تولیدمثلی آن‌ها می‌شود (۳۷، ٤٤). تفاوت در اندازه بیضه در سطوح بین جمعیتی و درون جمعیتی در سرتاسر سلسله حیوانات مشهود و مرسوم است (۱۰، ۲۱، ۲۳). سیستم‌های تولیدمثلی و همچنین شرایط محیطی می‌توانند انرژی اختصاص یافته برای تولیدمثل را تحت تأثیر قرار دهند (۱۱، ۲۳). Parker (۱۹۷۰)، بیان می‌کند که رقابت شدید اسپرمی می‌تواند منجر به افزایش تولید اسپرم و در نتیجه افزایش وزن بیضه شود (۳٤). جنس‌های نر ساکن ارتفاعات پایین، احتمالاً جهت کسب ماده‌ها به شدت با یکدیگر رقابت می‌کنند و در این صورت وجود اسپرم‌های قوی و حجیم ممکن است به افزایش موفقیت تولیدمثلی آن‌ها کمک کند (۱٤).

مطالعات اخیر بر مبنای تغییرات جغرافیایی در خصوصیات بیضه (وزن و اندازه)، نشان می‌دهد که اندازه بیضه با ارتفاع و عرض جغرافیایی ارتباط منفی دارد (۱٤، ۲٤، ۲۸، ۵۰). بسیاری از محققین معتقدند که اندازه نسبی بیضه با توجه به خصوصیات اکولوژیکی از قبیل طول فصل جفت گیری و مدت زمان دسترسی به منابع تعیین می‌شود (۱٤، ۲۳، ۲۸). در مطالعه صورت گرفته بر روی هر دو جنس نر و ماده *Rana temporaria* در طول یک شیب جغرافیایی از جنوب سوئد تا شمال فنلاند، وزن بیضه با افزایش ارتفاع کاهش می‌یابد (۲۳). نتایج مشابه همچنین در بررسی‌های جداگانه بر روی جنس‌های نر وزغ‌های تبتی *Scutiger boulengeri* در ارتفاع ٤۰۷۸–٤۳۸۷ متر (٤۹) و قورباغه *R. kukunoris* در ارتفاع ۲۳۰۰–۳۵۰۰ متر (۱٤) در فلات تبت و قورباغه درختی

Hyla gongshaneris jingdonsensis در ارتفاع ۲۰۲۸-۲۵۲۰ متر بالاتر از سطح دریا در کشور چین (۲۸) به دست آمده است. این الگو ممکن است با توجه به تنش‌های محیطی بیشتر، دماهای پایین، محدودیت منابع برای تلاش در تولیدمثل، کاهش سطح رقابت نرها برای جفت گیری و همچنین به عنوان نتیجه‌ای از دوره‌های کوتاه مدت فعالیت (۱٤، ۵۰) در زیستگاه‌های واقع در ارتفاعات بالا ناشی شود که منجر به محدود کردن میزان مصرف منابع و به طبع تخصیص انرژی کمتر به تولیدمثل و در عوض واگذاری انرژی بیشتر به فرآیندهای رشد و بقاء در حیوانات ساکن مناطق مرتفع شود (۱٤، ۲٤، ۲۸، ۵۰). در واقع این فرضیه با مطالعات اخیر برروی *R. temporaria* و جنس نر *R. kukunoris* تأیید می‌شود که نشان دهنده تخصیص انرژی کمتر به تولیدمثل در ارتفاعات می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی‌های صورت گرفته در مطالعه حاضر بر روی جمعیت‌های نر *H. savignyi* در شیب‌های ارتفاعی ۱۰۰۰ متر تا ۲۱۱۷ متر بالاتر از سطح دریا بر اساس صفات وزن و اندازه بیضه، نشان دهنده یک رابطه منفی معنادار بین صفات بیضه‌ای با افزایش ارتفاع می‌باشد. به نظر می‌رسد که وجود شرایط مطلوب به همراه استرس‌های محیطی کمتر در ارتفاعات پایین و کاهش جذب انرژی به دلیل کاهش دمای محیط در ارتفاعات بالا در کنار دلایل ذکر شده در مطالعات سابق را می‌توان در خصوص تغییرات مشاهده شده مطرح کرد. از سوی دیگر مقایسه صفات وزن و اندازه بدن در ارتفاعات مختلف بیانگر افزایش پارامترهای ذکر شده با افزایش ارتفاع بود که عکس رابطه صفات بیضه‌ای در ارتفاعات مختلف می‌باشد. از آنجا که درک تکامل تاریخ زندگی مستلزم تجزیه تحلیل تعادل بین انرژی اختصاص داده شده به فعالیت‌های رشد، نمو، تولیدمثل و چگونگی تنظیم این تعادل برای به حداکثر رساندن موفقیت تولیدمثل در طول زندگی است (۳۹، ٤٦)، بنابراین، ایجاد تعادل جهت تخصیص منابع پر انرژی برای چنین فعالیت‌هایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۲). با توجه به نتایج کسب شده از مطالعه حاضر می‌توان وجود یک تعادل در تخصیص انرژی کسب شده برای فعالیت‌های رشد و تولیدمثل را در این گونه مشاهده کرد.

مطالعات صوتی: میانگین طول صوت *H. savignyi* ؛ ۳۸/۱۲۳ میلی ثانیه در استان لرستان و ۲۶/۱۳٦ میلی ثانیه در استان مرکزی و میانگین تعداد نت‌ها در هر صوت؛ ۳۸/۱۵ در استان لرستان و ۰٦/۱٦ در استان مرکزی به ثبت رسید که با نتایج حاصل در مطالعه Kaya و Simmons (۱۹۹۹) در ترکیه با طول صوت ۱٤۵-۲۲۰ میلی ثانیه و ۱۵-۲۵ نت در هر صوت مطابقت دارد (۲۹). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، طول صوت ۱۳۳-۱٦۹ میلی ثانیه و ۱۸-۲۰ نت در هر صوت برای جمعیت‌های *H. savignyi* در دو منطقه کردستان و جنوب غرب تالش در کشور ایران گزارش شده است (۲۰). بر اساس مطالعه صورت گرفته در رابطه با خصوصیات صوتی قورباغه‌های درختی جنس *Hyla* در محدوده غرب پالئارکتیک، گونه *H. savignyi* در گروه قورباغه‌های درختی با صوت متوسط معرفی شده است (۱۹). همچنین سیگنال‌های صوتی ایجاد شده در این گونه صدایی مشابه جیرجیر در جیرجیرک را به گوش انسان می‌رساند (۱) که در این پژوهش نیز مورد تأیید قرار گرفتند.

مطالعات صورت گرفته در خصوص اثر درجه حرارت بر پارامترهای صوتی، حاکی از نقش تعیین کننده دما بر ویژگی‌های صوتی جمعیت‌های مختلف آنورن‌ها می‌باشد (٤، ۲۹، ٤۳). همانطور که در مورد جمعیت‌های *Hypsiboas cordobae* در آرژانتین گزارش شده است، متغیرهای CD، ND و IN یک

رابطه منفی با افزایش دما را به نمایش می‌گذارند (٤). در مطالعه‌ای بر روی جمعیت‌های *H. savignyi* و *H. arborea* در ترکیه، تأثیر درجه حرارت بر متغیرهای صوتی به وضوح بیان شده است (۲۹). از سوی دیگر، Hatano و همکاران (۲۰۰۲)، وجود یک رابطه معنادار بین تعداد صوت در هر ساعت و دمای هوا را در گونه قورباغه روز فعال گرمسیری *Hylodes phyllodes* گزارش دادند (۲۲). در بررسی صورت گرفته بر روی جمعیت‌های *H. savignyi* در مطالعه حاضر، تغییرات مشاهده شده در خصوصیات صوتی در طیف‌های دمایی متفاوت، تأثیرگذاری درجه حرارت بر پارامترهای صوتی را تأیید می‌کند.

از طرف دیگر در پژوهش حاضر، الگوی مکانی تغییرات تماس‌های صوتی در میان جمعیت‌های *H. savignyi* در دو محدوده جغرافیایی توزیع گونه در مرکز و غرب ایران تحلیل شد. داده‌های اولیه حاکی از تفاوت معنادار در مورد همه صفات صوتی در جمعیت‌های مختلف می‌باشد، که از این میان جمعیت مخمل کوه، میانگین مقادیر بالاتری را در اغلب متغیرهای صوتی از قبیل CD، IC و IN را به خود اختصاص داد. از سوی دیگر نتایج کسب شده از آنالیز تشخیصی، همپوشانی شدید میان جمعیت‌های طبقه‌بندی شده را نشان داد که بیانگر ساختار یکسان تماس‌های صوتی در همه جمعیت‌ها می‌باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعات بسیاری بیان کرده‌اند که دوزیستان بی دم ساکن ارتفاعات بالا نسبت به تغییرات محیطی حساس‌ترند و در مطالعه حاضر نیز جمعیت‌های نر *H. savignyi* در ارتفاعات بالا تمایل بیشتری به داشتن بیضه‌های کوچک‌تر و سبک‌تر را نشان دادند. از سوی دیگر، نتایج ما از مطالعه خصوصیات صوتی اگرچه ساختار مشترک بین همه‌ی جمعیت‌ها را نشان داد اما نمی‌توان از نقش تأثیرگذار تغییرات محیطی همچون دمای هوا بر ویژگی‌های صوتی چشم پوشی کرد. تفاوت‌های مشاهده شده ممکن است استراتژی‌های تولیدمثلی را منعکس کنند و تأثیرات شایانی را در ویژگی‌های تکاملی آینده این گونه ایجاد کنند. این یک چالش برای قورباغه‌های درختی *H. savignyi* است که به نقش شرایط محیطی در جهت تخصیص میزان تلاش در تولیدمثل، بقاء و نیز بر ویژگی‌های صوتی در این گونه توجه دارد.

منابع

1. AmphibiaWeb. 2020. Amphibia Web: Information on amphibian biology and conservation. University of California, Berkeley (CA). Available from: https://amphibiaweb.org.

2. Anderson S.C. 1985. Amphibians. *Encyclopaedia Iranica*, 1: 987-990.

3. Baloutch M., Kami H.G. 1995. Amphibians of Iran. Tehran University Press, Tehran (in Persian).

4. Baraquet M., Grenat P.R., Salas N.E., Martino A.L. 2015. Geographic variation in the advertisement call of *Hypsiboas cordobae* (Anura, Hylidae). *Acta ethologica*, 18(1): 79-86.

5. Baraquet M., Salas N., DI Tada I. 2007. Variación geográfica en el canto de advertencia de Hypsiboas pulchellus (Anura, Hylidae) en Argentina. *Revista española de herpetología*, 21: 107-118.

6. Bastos R.P. 2003. Vocalizações e interações acústicas em *Hyla raniceps* (Anura, Hylidae) durante a atividade reprodutiva. Iheringia. *Série Zoologia*, 93(2): 149-158.

7. Bastos R.P., Haddad C.F. 2002. Acoustic and aggressive interactions in *Scinax rizibilis* (Anura: Hylidae) during the

17. Gerhardt H.C. 1991. Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Animal Behaviour*, 42(4): 615-635.

18. Gerhardt H.C., Huber F. 2002. Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions. University of Chicago Press.

19. Gvoždík V., Canestrelli D., García-París M., Moravec J., Nascetti G., Recuero E. ... Kotlík P. 2015. Speciation history and widespread introgression in the European short-call tree frogs (*Hyla arborea sensu lato, H. intermedia* and *H. sarda*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 83: 143-155.

20. Gvoždík V., Moravec J., Klütsch C., Kotlík P. 2010. Phylogeography of the Middle Eastern tree frogs (Hyla, Hylidae, Amphibia) as inferred from nuclear and mitochondrial DNA variation, with a description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(3): 1146-1166.

21. Harcourt A.H., Harvey P.H., Larson S.G., Short R.V. 1981. Testis weight, body weight and breeding system in primates. *Nature*, 293(5827): 55-57.

22. Hatano F.H., Rocha C.F., Van Sluys M. 2002. Environmental factors affecting calling activity of a tropical diurnal frog (Hylodes phyllodes: Leptodactylidae). *Journal of Herpetology*, 314-318.

23. Hettyey A., Laurila A., Herczeg G., Jönsson K.I., Kovács T., Merilä J. 2005. Does testis weight decline towards the Subarctic? A case study on the common frog, *Rana temporaria*. *Naturwissenschaften*, 92(4): 188-192.

24. Hettyey A., Roberts J.D. 2006. Sperm traits of the quacking frog, Crinia georgiana: intra-and interpopulation variation in a species with a high risk of sperm competition. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 59(3): 389-396.

reproductive activity in southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 23(1): 97-104.

8. Bionda C., Salas N., DI Tada I. 2006. Variación bioacústica en poblaciones de *Physalaemus biligonigerus* (Anura: Leptodactylidae) en Córdoba, Argentina. *Revista española de herpetología*, 20: 95-104.

9. Bosch J., De la Riva I. 2004. Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolivia. *Canadian Journal of Zoology*, 82(6): 880-888.

10. Briskie J.V., Montgomerie R. 2007. Testis size, sperm size and sperm competition. *Reproductive biology and phylogeny of birds*, 6: 513-551.

11. Byrne P.G., Roberts J.D., Simmons L.W. 2002. Sperm competition selects for increased testes mass in Australian frogs. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(3): 347-355.

12. Castellano S., Cucco M., Giacoma C. 2004. Reproductive investment of female green toads (*Bufo viridis*). *Copeia*, 2004(3): 659-664.

13. Cheatsazan H., Mahjoorazad A., Rabani V., Kami H.G. 2005. Distribution of the Yellow-Lemon Tree Frog, *Hyla savignyi* Audouin, 1827 (Anura: Hylidae) in Iran. *Zoology in the Middle East*, 36(1): 109-111.

14. Chen W., Pike D. A., He D., Wang Y., Ren L., Wang X. ... Lu X. 2014. Altitude decreases testis weight of a frog (*Rana kukunoris*) on the Tibetan plateau. *The Herpetological Journal*, 24(3): 183-188.

15. Endler J.A. 1977. Geographic variation, speciation, and clines. Princeton University Press. Princeton, New Jersey, USA.

16. Gadgil M., Bossert W.H. 1970. Life historical consequences of natural selection. *The American Naturalist*, 104(935): 1-24.

reptiles: ecological implications. *Biological Rhythm Research*, 35(1-2): 105-120.

34. Parker G.A. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biological reviews*, 45(4): 525-567.

35. Platz J.E., Forester D.C. 1988. Geographic variation in mating call among the four subspecies of the chorus frog: *Pseudacris triseriata* (Wied). *Copeia*, 1988(4): 1062-1066.

36. Pombal J.P., Bastos R.P. 2003. Vocalizações de *Scinax perpusillus* (A. Lutz and B. Lutz) e S. arduous Peixoto (Anura, Hylidae) com comentários taxonômicos. *Revista Brasileira de Zoología*, 20: 607-610.

37. Preston B.T., Stevenson I.R., Pemberton J.M., Coltman D.W., Wilson K. 2003. Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: *Biological Sciences*, 270(1515): 633-640.

38. Quiroga L.B., Sanabria E.A. 2012. Variation in reproductive parameters of *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) (Anura: Bufonidae) between the reproductive and post-reproductive periods. *Belgian Journal of Zoology*, 142(1): 68-73.

39. Roff D.A. 2002. Life History Evolution Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts, USA.

40. Ryan M.J. 2001. Anuran communication. Smithsonian Institution Press, Washington, London. p.252

41. Salas N.E., Zavattieri M.V., Tada I.E.D., Martino A.L., Bridarolli M.E. 1998. Bioacustical and etho-ecological features in amphibian communities of southern Córdoba province (Argentina). *Cuadernos de Herpetología*, 12: 37-46

42. Seigel R.A. 1987. Reproductive ecology. *Snakes: Ecology and evolutionary biology*, 210-252.

25. Heyer W.R. 1994. Variation within the *Leptodactylus podicipinus-wagneri* complex of frogs (Amphibia: Leptodactylidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 546: 1-124.

26. Holycross A.T., Goldberg S.R. 2001. Reproduction in northern populations of the ridgenose rattlesnake, Crotalus willardi (Serpentes: Viperidae). *Copeia*, 2001(2): 473-481.

27. Hutter C.R., Esobar-Lasso S., Rojas-Morales J.A., Gutiérrez-Cárdenas P.D.A., Imba H., Guayasamin J.M. 2013. The territoriality, vocalizations and aggressive interactions of the red-spotted glassfrog, *Nymphargus grandisonae*, Cochran and Goin, 1970 (Anura: Centrolenidae). *Journal of Natural History*, 47(47-48): 3011-3032.

28. Jin L., Mi Z.P., Liao W.B. 2016. Altitudinal variation in male reproductive investment in a polyandrous frog species (*Hyla gongshanensis jingdongensis*). *Animal Biology*, 66(3-4): 289-303.

29. Kaya U., Simmons A.M. 1999. Advertisement calls of the tree frogs, *Hyla arborea* and *Hyla savignyi* (Anura: Hylidae) in Turkey. *Bioacoustics*, 10(2-3): 175-190.

30. Köhler J., Lötters S. 1999. Advertisement calls of two *Bolivian Leptodactylus* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia*, 20(2): 215-219.

31. Martino A.L., Sinsch U. 2002. Speciation by polyploidy in *Odontophrynus americanus*. *Journal of Zoology*, 257(1): 67-81.

32. Muniz S., Moura C., Moraes A., Galindo M., Chaves L., Kokubum M., Moura G. 2016. Acoustic characteristics of the mating call of *Dendropsophus elegans* (Anura: Hylidae). *Herpetology Notes*, 9: 99-102.

33. Oishi T., Nagai K., Harada Y., Naruse M., Ohtani M., Kawano E., Tamotsu S. 2004. Circadian rhythms in amphibians and

43. Shy E. 1985. Individuality in the mating calls of the treefrog *Hyla arborea savignyi*. *Amphibia-reptilia*, 6(4): 343-353.

44. Simmons L.W., Kotiaho J.S. 2002. Evolution of ejaculates: patterns of phenotypic and genotypic variation and condition dependence in sperm competition traits. *Evolution*, 56(8): 1622-1631.

45. Stearns S.C. 1989. Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology*, 3: 259–268.

46. Stearns S.C. 1992. The evolution of life histories. Oxford Univ. Press, Oxford.

47. Vasara E., Sofianidou T.S., Schneider H. 1991. Bioacoustic analysis of the yellow-bellied toad in northern Greece (*Bombina variegata scabra L*., Anura, Discoglossidae). *Zoologischer Anzeiger*, 226(5-6): 220-236.

48. Wells K.D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*, 25: 666-693.

49. Zhang L., An D., He Y., Li Z., Fang B., Chen X., Lu X. 2018. Variation in testis weight of the Tibetan toad *Scutiger boulengeri* along a narrow altitudinal gradient. *Animal Biology*, 68(4): 429-439.

50. Zhong M., Yu X., Liao W. 2018. A review for life-history traits variation in frogs especially for anurans in China. *Asian Herpetological Research*, 9(3): 165-174.