Reproduktivne značajke smeđe krastače Bufo bufo Linnaeus (Amphibia, Anura) na bjelovarsko-bilogorskom području

Veljković, Monika

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:718947

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Monika Veljković

Reproduktivne značajke smeđe krastače, *Bufo bufo* Linnaeus (Amphibia; Anura) na bjelovarsko-bilogorskom području

Diplomski rad

Zagreb, 2015. godina

Ovaj rad je izrađen u Zoologijskom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom prof. dr. sc. Milorada Mrakovčića. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra ekologije i zaštite prirode, modul Kopno.

Zahvale

Zahvaljujem se svom mentoru prof. dr. sc. Miloradu Mrakovčiću na stručnom vodstvu i pomoći oko izrade ovog rada.

Veliko hvala mom neslužbenom mentoru dr.sc. Dušanu Jeliću na odabiru teme i nesebično utrošenom vremenu, te na svim smjernicama i savjetima oko ovog rada.

Hvala svim članovima HYLA-e na pomoći i susretljivosti te na ugodnim druženjima u pauzama od rada.

Hvala Veterinarskoj stanici Bjelovar d.o.o. na ustupanju mikroskopa za potrebe ovog istraživanja.

Zahvaljujem se gospodinu Miroslavu Severu koji me informirao o migracijama smeđe krastače na lokaciji Rajić.

Zahvaljujem se gospodinu Adnanu Zimiću na pomoći u izradi skica punoglavaca smeđe krastače.

Hvala svim mojim kolegicama i kolegama s fakulteta zbog kojih će mi studiranje ostati u lijepom sjećanju.

Veliko hvala mojoj obitelji na bezuvjetnoj potpori i ljubavi, bez koje ne bih bila ovdje gdje jesam.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek Diplomski rad

REPRODUKTIVNE ZNAČAJKE SMEĐE KRASTAČE, *Bufo bufo* LINNAEUS (AMPHIBIA; ANURA) NA BJELOVARSKO-BILOGORSKOM PODRUČJU

Monika Veljković

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Smeđa krastača, *Bufo bufo*, jedna je od najučestalijih vrsta vodozemaca u Hrvatskoj, ali postoji malo podataka o njezinoj reprodukciji na bjelovarsko-bilogorskom području i u Hrvatskoj. Ovaj rad obuhvaća određivanje reproduktivnog kapaciteta ženki i mužjaka smeđe krastače te istraživanje morfometrije punoglavaca ove vrste. 7 mužjaka i 5 ženki smeđe krastače, sakupljenih na lokacijama Rajić kod Bjelovara i lokaciji kod Grubišnog Polja, iskorišteno je za određivanje ukupnog broja spermija mužjaka i broja jaja/masi jaja ženki. Za 63 punoglavca smeđe krastače, provedeno je određivanje stadija njihova razvoja (prema Gosner 1960) i mjerenje 29 morfometrijskih mjera. Rezultati su pokazali da masa i dužina tijela ne utječu na ukupni broj spermija mužjaka te da se broj spermija smanjuje sa starošću mužjaka. Odnos mase tijela ženki i broja jaja nije statistički značajan, vjerojatno kao posljedica prisustva ženki sa nevijabilnim jajima. Gustoća populacije punoglavaca ne utječe jednako na sve punoglavce te kod manjih punoglavaca može uzrokovati ugibanje ili sporiji razvoj.

(55 stranica, 24 slike, 6 tablica, 138 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: reproduktivni kapacitet, morfometrija, lokacija Rajić, lokacija Grubišno Polje

Voditelj: Prof. dr. sc. Milorad Mrakovčić

Ocjenitelji: Prof. dr. sc. Milorad Mrakovčić

Doc. dr. sc. Renata Šoštarić

Doc. dr. sc. Duje Lisičić

Rad prihvaćen: 15.9.2015.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Division of Biology

Graduation Thesis

REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS OF COMMON TOAD, *Bufo bufo* LINNAEUS (AMPHIBIA; ANURA) IN BJELOVAR-BILOGORA AREA

Monika Veljković

Rooseveltov trg 6, HR- 10000, Zagreb, Croatia

Common toad, *Bufo bufo*, is one of the most frequent amphibian species in Croatia, but there is only few data about her reproduction in Bjelovar-Bilogora area and in Croatia. This paper includes research of reproductive capacity of common toad females and males and research of tadpoles morphometry. 7 males and 5 females of common toad, collected on locations Rajić near Bjelovar and location near Grubišno Polje, was used for determination of total number of sperm from males and number of eggs/mass of eggs from females. For 63 tadpoles of common toad was performed determination of stages of their development (according Gosner 1960) and measurement of 29 morphometry measures. Results show that mass and lenght of the body don't affect total number of male sperm and that the number of sperm decrease with age of males. Relation of female body mass and number of eggs is not statisticaly significant, probably because of presence of females with non-viabile eggs. Abundance of population of tadpoles don't have the same effect on all tadpoles and at small tadpoles can cause mortality or slower development.

(55 pages, 24 figures, 6 tables, 138 references, original in: Croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library

Key words: reproductive capacity, morphometry, location Rajić, location Grubišno Polje

Supervisor: Dr. Milorad Mrakovčić, Prof.

Reviewers: Dr. sc. Milorad Mrakovčić, Prof.

Dr. sc. Renata Šoštarić, Doc.

Dr. sc. Duje Lisičić, Doc.

Thesis accepted: 15.9.2015.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Vodozemci, njihova ugroženost i važnost zaštite 1
1.1.1. Brojnost vodozemaca 1
1.1.2. Uzroci pada brojnosti populacija vodozemaca 1
1.1.3.Vodozemci kao biološki indikatori i uloga u ekosustavu 4
1.2. Biologija smeđe krastače (*Bufo bufo* L.) 5
1.2.1 Osnovne značajke smeđe krastače 5
1.2.2. Životni ciklus i razmnožavanje 8
1.2.3. Relacija mužjak- ženka 10
1.2.4 Reproduktivni kapacitet mužjaka smeđe krastače 12
1.2.5. Reproduktivni kapacitet ženki smeđe krastače 14
1.2.6.Razvoj i morfometrija punoglavaca smeđe krastače 16
1.3. Cilj istraživanja 18
2. MATERIJALI I METODE 19
2.1. Područje istraživanja 19
2.2. Materijal 20
2.3..Metode istraživanja 20
2.3.1. Metode rada na terenu 20
2.3.2. Metode rada u laboratoriju 21
2.3.3. Metoda obrade podataka 23
3. REZULTATI 24
3.1. Reproduktivni kapacitet mužjaka 24
3.2. Reproduktivni kapacitet ženki 25
3.3. Razvoj punoglavaca 28
4. RASPRAVA 40
5. ZAKLJUČAK 44
6. LITERATURA 45

1.UVOD

1.1. Vodozemci, njihova ugroženost i važnost zaštite

1.1.1. Brojnost vodozemaca

Prema IUCN- ovoj Crvenoj listi iz 2008. godine danas je poznato 6260 vrsta vodozemaca, ali taj broj se često mijenja zbog otkrivanja novih vrsta vodozemaca (IUCN 2014). Od ukupnog broja danas poznatih vrsta opisano je 5532 vrste bezrepaca (red Anura), 552 vrste repaša (red Urodela) i 176 vrsta beznožaca (red Apoda) (IUCN 2014). Od ukupno 28 porodica reda Anura, njih 7 nastanjuje područje Europe (Alytidae, Bombinatoridae, Pelobatidae, Pelodytida, Bufonidae, Hylidae i Ranidae) s ukupno 38 vrsta žaba (Jelić i sur. 2012). Procijenjeno je da je porodica krastača (Bufonidae) u svijetu zastupljena sa 508 vrsta (IUCN 2014).

U Hrvatskoj živi 20 vrsta vodozemaca, od toga 13 vrsta čine bezrepci (red Anura), 7 vrsta su repaši te se zbog svog geografskog položaja Hrvatska nalazi u samom vrhu zemalja po broju vrsta vodozemaca i gmazova. U Hrvatskoj su definirane dvije „herpetološke“ regije: kontinentalno- gorska, koju naseljava 19 vrsta vodozemaca te mediteranska regija sa 9 vrsta vodozemaca. Uobičajene vrste koje su prisutne u cijeloj Hrvatskoj kao što su žuti mukač, šareni daždevnjak, smeđa krastača, planinski vodenjak itd. su ujedno i najzastupljenije te je za smeđu krastaču u zadnjih 100 godina zabilježeno 673 nalaza što ju čini jednom od najčešćih vrsta vodozemaca u Hrvatskoj (Jelić i sur. 2012). Također, smeđa krastača je dio herpetološke liste Hrvatske u (Jelić 2014).

1.1.2. Uzroci pada brojnosti populacija vodozemaca

Postoje brojna istraživanja koja procjenjuju i preispituju uzroke pada brojnosti vodozemaca (Blaustein i Wake 1990, Berger i sur. 1998, Alford i Richards 1999, Lips 1999, Pounds i sur. 1999; 2006, Houlahan i sur. 2000, Stuart i sur. 2004, Beebee i Griffiths 2005, Allentoft i O’Brien 2010, Hussain i Pandit 2012) jer su vodozemci, unutar kralješnjaka, skupina koja je najviše pogođena gubitkom bioraznolikosti. 32,5 % globalno ugroženih vodozemaca odnosno vrsta koje su prema IUCN- ovim kriterijima procijenjene kao osjetljive, ugrožene i kritično ugrožene (VU, EN, CR) i 7,2 % vodozemaca koliko je, prema kriterijima

IUCN- a, procijenjeno kao globalno kritično ugroženo (CR) čini vodozemce ugroženijim i od sisavaca i ptica (Stuart i sur. 2004, Jelić i sur. 2012).

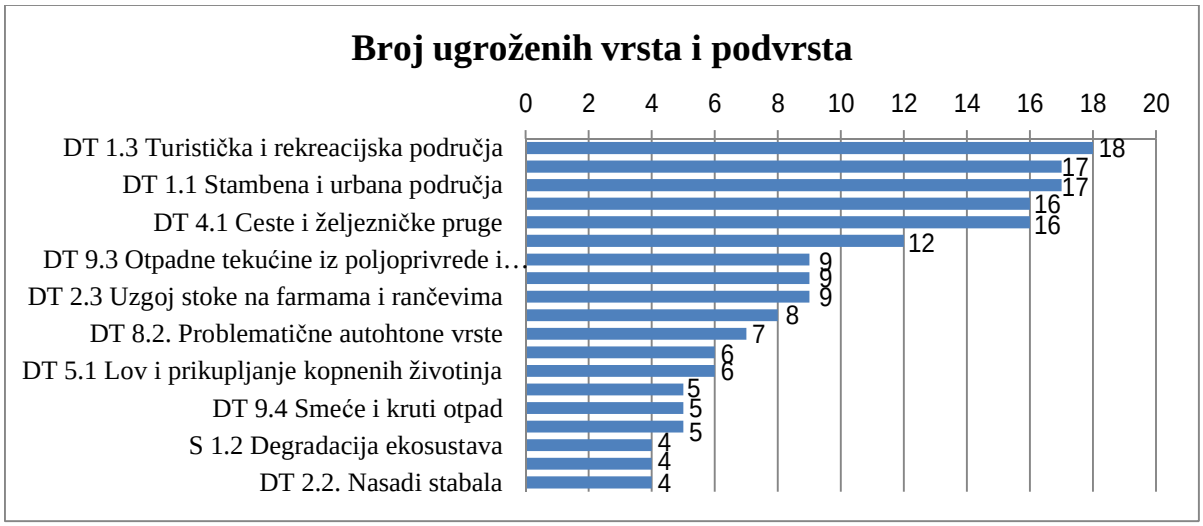
Smatra se da je 159 vrsta već izumrlo (IUCN 2014), a za 42 % od ukupnog broja vrsta zabilježen je pad brojnosti populacija te se očekuje da će u budućnosti broj ugroženih vrsta rasti dok samo manje od 1 % vrsta bilježi rast populacija. Najveći broj ugroženih vrsta je zabilježen u Latinskoj Americi dok su najviše razine ugroženosti na području Kariba (IUCN 2014). Brzina izumiranje vodozemaca je alarmantna, a uzroci njihovog pada brojnosti mogu postati prijetnja i ostalim vrstama (Alford i Richards 1999, Beebee i Griffiths 2005, Hussain i Pandit 2012).

Prema procjenama IUCN- a najveće prijetnje za populacije vodozemaca današnjice su gubitak i degradacija staništa koje utječu na približno 4000 vrsta vodozemaca. Gubitak i degradacija staništa utječu na gotovo četiri puta veći broj vrsta vodozemaca od druge najveće, zajedničke prijetnje- onečišćenja (IUCN 2014). Prema nekim autorima, jedan od glavnih uzroka gubitka globalne bioraznolikosti, a time i vodozemaca su klimatske promjene koje predstavljaju jednu od najvećih prijetnji bioraznolikosti u 21. stoljeću (Thomas i sur. 2004, Filz 2013). Budući da temperatura i vlažnost utječu na mnoge aspekte njihove biologije, upravo su vodozemci i gmazovi najbolji indikatori utjecaja klimatskih promjena na bioraznolikost (Duellman i Trueb 1986, Angilletta i sur. 2002). Također, recentne klimatske promjene povećavaju podložnost obolijevanju od patogena *Saprolegnia ferax* (Blaustein i sur. 2011) i pružaju optimalne uvjete za širenje bolesti uzrokovane *Batrachochytrium dendrobatidis* (Pounds i sur. 2006).

Promjena načina korištenja zemljišta, koja je najbolje dokumentirani uzrok smanjenja brojnosti populacija vodozemaca, reducira brojnost i raznolikost vodozemaca u takvim područjima (Hussain i Pandit 2012). S time je usko povezano i dramatično stradavanje vodozemaca na prometnicama (Fahring i sur. 1995, Hels i Buchwald 2001, Fahring 2003, Glista i sur. 2007, Santos i sur. 2007, Fahring i Rytwinski 2009). Brojne studije u vezi stradavanja vodozemaca na prometnicama su detektirale vrste koje su najranjivije po tom pitanju te su u tu svrhu utvrđene „crne točke“ na cestovnoj mreži (Santos i sur. 2007). U većini europskih zemalja, smeđa krastača je najčešća vrsta vodozemaca koja je pronađena mrtva na prometnicama (Santos i sur. 2007). Također, i u Hrvatskoj, od svih vrsta žaba koje u proljeće kreću na mrješćenje, najviše stradavaju smeđe krastače (Janev Hutinec i sur. 2013). Njezin mortalitet na cestama je najčešće povezan sa migracijom na mjesta razmnožavanja (Van Gelder 1973, Hels i Buchwald 2001, Orlowski 2007, Santos i sur. 2007) kada stotine

jedinki stradaju u prometu (Cooke 1995, Santos i sur. 2007). Upravo smeđa krastača, zbog toga što prelazi velike udaljenosti tijekom proljetnih migracija (do 3 km) i što se sporo skreće hodajući, najčešće stradava na prometnicama. Stoga su na dijelu staništa provedene mjere koje reduciraju njihovo stradavanje na prometnicama tijekom migracija (Agasyan i sur. 2009, Janev Hutinec i sur. 2013).

Većina razloga smanjenja brojnosti vodozemaca u Hrvatskoj se može pripisati istim ugrozama već identificiranim na globalnom nivou (Jelić i sur. 2012). Prema analizi izravnih opasnosti (DT- direct threats) u Crvenoj knjizi vodozemaca i gmazova Hrvatske, koje djeluju na hrvatske populacije vodozemaca, neke od najčešćih su one koje izravno djeluju na nestanak i degradaciju kvalitete staništa odnosno urbanizacija i intenzivna poljoprivreda (DT 1.1, 1.2, 1.3, 2.1), intenzivni cestovni promet (DT 4.1) i značajne promjene ekosustava (DT 7.3). Vrlo su zastupljene i izravne opasnosti poput unesenih stranih vrsta i problematičnih autohtonih vrsta (DT 8.1 i 8.2), te intenzivan uzgoj domaćih životinja (DT 2.3) kao i onečišćenje otpadom (DT 9.3 i 9.4) Također, definirana su opterećenja (S–Stresses) koja mogu imati negativan utjecaj na herpetofaunu u Hrvatskoj (Jelić i sur. 2012, Slika 1).



Slika 1. Pregled nekih od najznačajnijih izravnih opasnosti (DT) i opterećenja (S) koja utječu na ugrožene vrste i podvrste vodozemaca (Jelić i sur. 2012).

Prema IUCN- ovoj Crvenoj listi, smeđa krastača se ubraja u kategoriju najmanje zabrinjavajućih (LC- Least Concern) zbog svoje široke rasprostranjenosti, tolerancije širokog raspona staništima i pretpostavljene velike populacije što upućuje da neće doći do skorog bržeg i znatnijeg smanjenja brojnosti ove vrste (Agasyan i sur. 2009). Reliktne populacije u

planinskim područjima Libanona mogu postati ugrožene zbog utjecaja globalnog zatopljenja (Agasyan i sur. 2009), a u Španjolskoj je smeđa krastača već uvrštena u kategoriju gotovo ugrožene vrste (NT- Near Threatened). U Crvenoj knjizi vodozemaca i gmazova Hrvatske svrstana je u kategoriju najmanje zabrinjavajućih (LC) vrsta jer joj, prema dostupnim podatcima, trenutno ne prijeti izumiranje. Smeđa krastača navedena je u Dodatku III Bernske konvencije, čiji je potpisnik i Hrvatska, te je zaštićena mnogim nacionalnim i sub-nacionalnim legislativama. U Hrvatskoj je smeđa krastača zaštićena zavičajna svojta te je navedena u Prilogu III Pravilnika o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim (NN 99/09) (Jelić i sur. 2012).

1.1.3.Vodozemci kao biološki indikatori i uloga u ekosustavu

Vodozemci su indikatori stresa u okolišu, a razlozi pada brojnosti vodozemaca mogu biti prijetnja i nekim drugim vrstama (Hussain i Pandit 2012). Vodozemci su kao skupina pogodni za proučavanje raznih negativnih utjecaja na ekosustave jer su vrlo osjetljivi na promjene u okolišu zbog nekoliko razloga kao što su:

- Vodozemci održavaju prirodnu ravnotežu ekosustava i ključan su dio hranidbene mreže u kojoj sudjeluju kao plijen, herbivori i predatori te na taj način reguliraju brojnosti drugih skupina životinja (Blaustein i sur. 1994, Blaustein i Kiesecker 2002, Jelić i sur. 2012, Janev Hutinec i sur. 2013).
- Vodozemci većinu svog života ovise o dostupnosti vode i humidnim staništima (Duellman i Trueb 1986) stoga im veliku opasnost predstavljaju isušivanja takvih staništa što može dovesti do potpunog nestanka nekih vrsta iz svog staništa, a mogućnost ponovnog naseljavanja jedinki tih vrsta iz susjednih područja je mala (Stebbins i Cohen 1995).
- Svojim načinom života omogućuju cirkulaciju energije i hranjivih tvari između kopnenih i vodenih ekosustava (Jelić i sur. 2012).
- Velik dio vrsta vezan je uz vodena staništa kao larve, a većina ima kontakt i sa kopnom kao odrasle jedinke. Stoga mogu biti pod utjecajem akvatičkih i terestričkih stresora (Hussain i Pandit 2012) i ukazivati na negativne promjene u okolišu (Janev Hutinec i sur. 2013).
- Vodozemci imaju vlažnu i propusnu kožu za tekućine i plinove te jaja bez ljuske, a budući da su izloženi tlu, vodi i svjetlosti mogu apsorbirati toksične supstance (Hussain i Pandit 2012).

- Zabilježeni su molekularni, fiziološki i mehanizmi ponašanja koji mogu ograničiti izloženost vodozemaca UV- B zračenju ili pomoći u obnavljanju štete od izlaganja takvom zračenju (Epel i sur. 1999, Blaustein i Belden 2003) kao što su, pigmentacija koja apsorbira UV zračenje, zaštitni omotač koji okružuje jaja i štiti ih od UV zračenja, zamatanje jaja u lišće ili molekularni mehanizmi za popravak oštećenja uzrokovanog UV zračenjem (Blaustein i Belden 2003).
- Važni su u istraživanjima antitumorskih značajki, analgetika, protuupalnih sredstava i prirodnih adheziva (Tyler i sur. 2007), a žlijezde u koži vodozemaca stvaraju niz spojeva iz kojih se dobivaju lijekovi za mnoge ljudske bolesti (Janev Hutinec i sur. 2013).

1.2. Biologija smeđe krastače (*Bufo bufo* L.)

1.2.1 Osnovne značajke smeđe krastače

Porodica Bufonidae (krastače) kao i vrsta smeđa krastača široko su rasprostranjene diljem svijeta, a zbog toga se smeđa krastača smatra jednim od najuspješnijih kralješnjaka na svijetu (Beebee 1996, Coles 2013). Smeđa krastača nastanjuje veći dio Europe (osim krajnjeg sjevera, Irske, Korzike, Sardinije, Baleara, Malte i Krete), sjeverne Euroazije sa populacijama u zapadnoj Aziji i sjevernoj Africi (Agasyan i sur. 2009). Nedavno je pronađena i na dvije planinske lokacije u Libanonu. U Africi ima vrlo fragmentirano stanište u planinskim područjima (Agasyan i sur. 2009). Žive i u nizinskim i planinskim područjima - u Alpama do 2200 m, a na Pirinejima do 2600 m nadmorske visine (Kwet 2005).

Smeđa krastača je jedna od najrasprostranjenijih europskih vrsta vodozemaca jer je prilagodljiva i tolerira različite uvjete staništa. Najčešće je nalazimo u crnogoričnim, mješovitim i listopadnim šumama, ali i šumarcima, grmlju, livadama, u aridnim područjima, parkovima i vrtovima (Kwet 2005, Agasyan i sur. 2009, Janev Hutinec i sur. 2013). Obično živi u vlažnim područjama s bujnom vegetacijom te uglavnom izbjegava velika otvorena područja (Agasyan i sur. 2009). Iako je smeđa krastača dobro prilagođena na terestrički način života i živi pojedinačno izvan vode, vodena staništa su joj potrebna za razmnožavanje. Razmnožavanje i razvoj larvi se odvija u mirnim vodama i dijelovima rijeka i potoka sa sporijim tokom, a prisutna je i u mnogim modificiranim staništima (Agasyan i sur. 2009).

Taksonomija roda *Bufo* je kompleksna i još uvijek nije točno definirana u Europi. Do 2006. godine, rod *Bufo* je činilo 280 vrsta koje su zatim raspodijeljene u nekoliko rodova

(Frost i sur. 2006). Podvrste smeđe krastače, koje žive u Hrvatskoj, su *Bufo bufo bufo*, koja je široko rasprostranjena u Hrvatskoj te *Bufo bufo spinosus* koja je crvenkaste boje, a živi na Mediteranskom području (Arnold 2002).

Smeđa krastača je najveća europska krastača. Ima zdepasto tijelo i kratke noge, nema rep i zube, a zjenice su joj vodoravne dok je oko bakrene boje (Janev Hutinec i sur. 2013). Jedinke smeđe krastače imaju bradavičastu kožu sa upečatljivim ispupčenjima iza glave koja se nazivaju parotoidne žlijezde, a koje su kod ove vrste kose prema krajevima tijela (Arnold 2002). Parotoidne žlijezde predstavljaju nakupine otrovnih žlijezda koje luče mješavine alkaloida, peptida, steroida i amina koje ju štite od prodora štetnih tvari i predatora, a te tvari su uglavnom nadražujućeg i neugodnog okusa (Arnold i Burton 1978, Arnold 2002). Budući da otrov jako iritira mukozne sluznice, predator ju odmah ispljune, ali neki predatori su imuni na otrov (bjelouška, jež itd.) te ju oni koriste u prehrani.

Krastače su najčešće neupadljive smeđe boje sa različitim nijansama i pjegama. Boja kože varira od crvenkaste, pješčane, tamno smeđe, sive do maslinaste boje, a to najviše ovisi o staništu u kojem žive (Slika 2). Leđa su joj uglavnom smeđa ili sivkasta, a ponekad s tamnijim mrljama dok je trbušna strana tijela najčešće prljavo bijele ili sive boje s tamnim mrljama (Janev Hutinec i sur. 2013). Smeđa krastača preferira kretanje hodanjem jer lopatične kosti nisu spojene (Young 1981), a kada je u opasnosti, može skakati u obliku kratkih skokova te je pretežno spora životinja (Arnold i Burton 1978). Pred predatorom može zauzeti karakterističnu pozu tako da glavu spusti prema dolje, ispruži noge, pluća napuni zrakom, a podigne stražnji dio tijela da bi izgledala veće i zastrašila neprijatelja (Arnold i Burton 1978, Arnold 2002).

Slika 2. Smeđa krastača, *Bufo bufo* Linnaeus.

Smeđa krastača je uglavnom noćna životinja, postaje aktivna u sumrak, a najaktivnija je tijekom kišnih noći dok tijekom dana većinom boravi na jednom određenom mjestu, skrivena ispod korijenja i lišća (Arnold 2002). Odrasle jedinke smeđe krastače se hrane uglavnom beskralješnjacima kao što su različiti kukci, puževi i gujavice (Janev Hutinec i sur. 2013) te će pojesti svaki plijen koji mogu uhvatiti. Plijen love izbacivanjem ljepljivog jezika ili hvatanjem čeljustima, a nakon što ga uhvate, plijen najčešće cijeli progutaju (Arnold i Burton 1978, Arnold 2002). Za razliku od odraslih jedinki, punoglavci se hrane ostacima biljaka i mikroskopskim algama koje stružu rožnatim zubićima s dna ili vodenog bilja (Arnold i Burton 1978, Arnold 2002, Janev Hutinec i sur. 2013).

Budući da krastače nemaju rezonatore, glasaju se piskutavim zovom (Arnold i Burton 1978, Arnold 2002). Za smeđu krastaču karakteristična su dva tipa glasanja. Prvi i najčešći tip glasanja je „release call“, koji je vrlo visokog tonaliteta, a čine ga dva, tri ili čak više slogova u sekundi (Arnold 2002). Mužjaci ga proizvode kada ih drugi mužjaci uhvate u ampleksus, ali i ženke, koje su se već mrijestile, kada ih mužjaci ponovno pokušavaju uhvatiti u ampleksus (Duellman i Trueb 1994). „Mating call“ ili mužjački zov je drugi tip glasanja koji je sporiji i rjeđi, sa dužim slogovima. Njime mužjak, tijekom sezone razmnožavanja, nastoji privući ženke na mrjestilišta. Postoje individualne razlike u glasanju, primjerice u brzini, koje uglavnom ovise o temperaturi zraka, dok variranja u visini glasa ovise o veličini jedinke (Arnold i Burton 1978, Arnold 2002). Zimi smeđe krastače hiberniraju skrivene u rupama ispod lišća i korijenja čiji ulaz zatvore zemljanim nasipom. Period hibernacije počinje u razdoblju od rujna do studenog, a završava u ožujku ili travnju kada migriraju do obližnjih mrjestilišta radi razmnožavanja (Coles 2013). Mnogi autori su pokušali dovesti u vezu takve proljetne migracije s određenom minimalnom temperaturom zraka i vode koja je potrebna za

izlazak krastača iz skrovišta i početak mrješćenja (Reading i Clarke 1983, Gittins i sur. 1980, Reading 1998, Tryjanowski i sur. 2003, Reading 2010).

Duellman i Trueb (1994) su zaključili da reproduktivna aktivnost većine vrsta bezrepaca iz umjerenog klimatskog pojasa ovisi o kombinaciji temperature i kišnog režima. Tryjanowski i sur. (2003) su uočili da postoji trend ranijeg početka razmnožavanja (8- 9 dana ranije), a smatra se da je to povezano sa blagim zimama i ranijim početkom proljeća što je posljedica klimatskih promjena s kojima vodozemci moraju uskladiti vrijeme migracije do mrjestilišta i razmnožavanja (Cooke 1977, Wisniewski i sur. 1981, Beebee 1995, Reading 1998; 2003, Reading i Clarke 1999, Tryjanowski i sur. 2003, Reading 2010).

1.2.2. Životni ciklus i razmnožavanje

Amphibia (grč. *amphi* + *bios* = dvostruki život) znanstveno je ime vodozemaca. I hrvatski naziv „vodozemci" upućuje na to da dio života provode u vodi, a dio na kopnu (Janev Hutinec i sur. 2013). Vodozemci su hladnokrvni (ektotermni) organizmi koji uglavnom polažu jaja te veći dio vrsta tijekom svog životnog ciklusa prolazi kroz preobrazbu (metamorfozu), tijekom kojeg razvojem udova i pluća prelaze iz ličinačkog stadija (uglavnom vodenog), u odrasle kopnene oblike (Jelić i sur. 2012). Tako i jedinke smeđe krastače provode ličinačku fazu života u vodi (kao punoglavci), a na kopno odlaze nakon preobrazbe. Prema vremenu trajanja i intenzitetu sezone razmnožavanja, smeđa krastača pripada skupini tzv. „explosive breeders" jer na mrjestilišta dolaze u velikom broju (stotine ili tisuće jedinki) i mrijeste se u kratkom vremenskom periodu (Duellman i Trueb 1994, Beebee 1996).

Spolni dimorfizam se očituje u veličini tijela i postojanju palčanih žuljeva kod mužjaka. Jedinke smeđe krastače narastu do 15 cm, a ženke su veće od mužjaka (Janev Hutinec i sur. 2013). Maksimalna dužina mužjaka, u Srednjoj Europi, iznosi 8-9 cm, a ženki 11-12 cm. U južnim dijelovima mužjaci su veći od 10 cm, a maksimalna veličina ženki je 18 cm (Kwet 2005). Mužjaci dostižu spolnu zrelost otprilike godinu dana ranije nego ženke te ranije dolaze na mrjestilište i ostaju duže od ženki (Davies i Halliday 1979). Mužjaci su mnogobrojniji te do mrjestilišta dolaze prvi. Iako najčešće čekaju ženke, ponekad se pokušavaju prihvatiti za njih prije nego što dođu do vode (Slika 3). Mužjaci se popnu ženkama na leđa te se uhvate u ampleksus i dodatno ga učvšćuju palčanim žuljevima tako da većina ženki dolazi na mrjestilište već noseći mužjaka na leđima. Budući da se smeđe krastače najčešće kreću sporo hodajući te na taj način prelaze velike udaljenosti, najčešće

stradavaju na prometnicama (Janev Hutinec i sur. 2013). Kad ženka dođe na mrjestilište ne polaže odmah jaja nego pliva uokolo noseći mužjaka na leđima dok ga drugi mužjaci pokušavaju zbaciti da bi zauzeli njegovo mjesto. To je posljedica izražene kompeticije među mužjacima koja je karakterizirana aktivnim traženjem i borbom za ženku (Davies i Halliday 1979), a isti autori navode da veći mužjaci imaju veću mogućnost skinuti drugog mužjaka sa leđa ženke i zauzeti njegovo mjesto te time postižu veći reproduktivni uspjeh. Često obuhvaćaju druge mužjake, koji ih odbijaju glasanjem, kao i korijenje, granje u vodi, daždevnjake, kornjače i druge vrste žaba (Arnold 2002). Također, postoji nalaz mužjaka smeđe krastače koji je obuhvatio nakupinu blata (Đorđević i Simović 2014).

Slika 3. Ampleksus mužjaka i ženke smeđe krastače.

Budući da je spolni nagon mužjaka u vrijeme razmnožavanja vrlo snažan, često se više od jednog mužjaka pokušava popeti na ženku te pritom stvaraju tzv. „lopte“. Stoga se može vidjeti čak i do sedam mužjaka na jednoj ženki što može dovesti do smrti ženke koja se najčešće uguši u vodi. U Bugarskoj je uočen slučaj abnormalnog ampleksusa od 9 mužjaka i jedne ženke (Mollov i sur. 2010). Stoga je za ženke vrlo važna prednost njihove veće tjelesne veličine upravo u takvim situacijama kada se trebaju obraniti od drugih mužjaka koji žele izgurati mužjaka na njihovim leđima(Arnold 2002, Coles 2013).

Palčani žuljevi nalaze se na prva tri prsta prednjih nogu mužjaka te su žljezdanog porijekla, a luče tvari koje im omogućuju čvrsto držanje na ženki. Mužjak se prednjim nogama prihvaća za prsni pojas ženke, iza njenih prednjih nogu te formiraju aksilarni ampleksus (Arnold 2002). Birkhead i Moller (1998) navode da ampleksus omogućuje mužjacima lakše čuvanje ženki od drugih mužjaka, ali predstavlja i jako dobru metodu čuvanja energije mužjaka jer ga ženka cijelo vrijeme nosi na leđima.

Razmnožavanje smeđe krastače se odvija u obalnom dijelu mrjestilišta, uz vodeno bilje i korijenje. Ženka istodobno polaže jaja u dvije duge sluzave vrpce koje mogu nabubriti do 5 m dužine i 5-10 mm debljine te ih omata oko korijenja. Prilikom ispuštanja vrpci s jajima, mužjak ih oplođuje (Arnold 2002). Jaja bezrepaca su najčešće zaštićena želatinoznom tvari koja ih štiti od isušivanja. Jedna ženka položi oko 3000- 8000 jaja te odrasle jedinke napuštaju mrjestilište nekoliko dana nakon razmnožavanja (Arnold 2002).

Mrijest se odvija u vodi, a nakon nekog vremena, ovisno o temperaturi, iz jajašaca u okolnu vodu izlaze punoglavci koji plivaju u jatima koristeći se udarcima svoga repa. Dišu pomoću dva para vanjskih škrga, a hrane se mikroskopskim algama. Tijekom preobrazbe koja traje oko 2- 3 mjeseca nastaju brojne promjene u izgledu i načinu života, a sama preobrazba se odvija pod utjecajem hormona štitnjače, tiroksina T4. Tijekom preobrazbe nestaju škrge, rep, rožnati zubići, bočna pruga, a razvijaju se najprije stražnje, a zatim i prednje noge, očni kapci i pluća, a crijevo se skraćuje zbog prijelaza na prehranu životinjama. Nakon toga počinje druga faza života koja je vezana uz kopno, a u vodu odlaze kada dostignu spolnu zrelost radi razmnožavanja i polaganja jaja (Young 1981). Juvenilni oblici su nakon preobrazbe još uvijek mali, oko 7- 12 mm te su u prvim mjesecima života aktivni danju (Arnold 2002). Reading (2010) navodi da je tjelesna kondicija juvenilnih oblika nakon preobrazbe povezana sa temperaturom vode u kojoj su bili kao punoglavci kao i da je potencijalna dobrobit ranije preobrazbe u mogućnosti duljeg rasta i razvoja juvenilnih jedinki prije nego što započne prva hibernacija, ali to može uzrokovati lošiju tjelesnu kondiciju takvih jedinki nego onih koje prolaze preobrazbu kasnije.

1.2.3. Relacija mužjak-ženka

Smeđa krastača, zbog kratke sezone razmnožavanja, ima limitiran broj prilika za razmnožavanje te je za nju kao i za ostale vrste iz skupine tzv. „explosive breeders“ karakteristična kompeticija između mužjaka koja se manifestira aktivnim traženjem ženki i intenzivnim borbama mužjaka (Eibl- Eibesfeldt 1950, Davies i Halliday 1977; 1978; 1979, Höglund i Robertson 1987, Marco i Lizana 2002). Na mjestu razmnožavanja se javlja velik broj mužjaka koji tamo provode najveći dio sezone razmnožavanja te se u tom razdoblju mogu razmnožavati s nekoliko ženki koje mogu odlagati jaja samo jednom godišnje i provode manje vremena na tom području (Bateman 1948, Davies i Halliday 1979, Reading i Clarke 1983, Loman i Madsen 1986, Höglund i Robertson 1987, Höglund 1989). Na početku sezone razmnožavanja omjer spolova može doseći 5.8 ili čak 9 mužjaka po ženki što može

uzrokovati snažnu kompeticiju među mužjacima (Reading i Clarke 1983, Hodrova 1985, Mollov i sur. 2010) koja unutar reda bezrepaca, predstavlja neposredni mehanizam selekcije unutar spola na koji može djelovati tjelesna veličina mužjaka (Howard i Kluge 1985, Semlitsch 1994) kao dobar pokazatelj kompetitivne sposobnosti mužjaka jer su u mnogim slučajevima veliki mužjaci uspješniji u kompeticiji, pristupu ženki ili istjerivanju manjeg mužjaka iz ampleksusa sa ženkom (Davies i Halliday 1977; 1978; 1979, Höglund 1989, Cherry 1992, Semlitsch 1994, Coles 2013). Iako, prema Höglund i Robertson (1987) ženke ne odabiru mužjake na temelju tjelesne veličine, važna prednosti za ženke ako odaberu velike mužjake, je njihovo lakše odupiranje napadima rivala (Davies i Halliday 1979, Höglund i Robertson 1987) što smanjuje vjerojatnost da će se ženka naći u „lopti“ koja može dovesti do njezinog utapanja. Pretpostavlja se da i veličina ženke modificira ishod kompeticije među mužjacima kroz uspjeh razmnožavanja jer je mužjacima često teško zadržati velike ženke u ampleksusu. Prema Lengagne i sur. (2007) kada se mali mužjaci razmnožavaju s velikim ženkama proporcija uspješnog razmnožavanja drastično pada. Također, prvo razmnožavanje sa velikom ženkom može reducirati uspjeh razmnožavanja u sljedećim pokušajima razmnožavanja (Lengagne i sur. 2007).

U mnogim slučajevima, mužjaci mogu biti u poziciji izbora partnera. Zbog pozitivne korelacije između veličine ženke i fekunditeta, mužjaci najčešće preferiraju veće ženke (Kaplan i Salthe 1979, Verrell 1982, Lengagne i sur. 2007) što je slučaj i kod vrste *Bufo gargarizans* (Cheong i sur. 2008). Prema istraživanju na jezeru Peces u Španjolskoj, Marco i Lizana (2002) navode da mužjaci smeđe krastače ne razlikuju vrste, spolove ili veličine tijekom traženja partnera. Nakon što mužjak obuhvati drugog mužjaka, on oslobađa „release call“ i ampleksus traje samo nekoliko sekundi. Takav uzvik je vjerojatno jedini element prepoznavanja spolova od strane mužjaka smeđe krastače, koji se javlja tek nakon izvršenog ampleksusa dok mužjaci ove vrste ne prepoznaju takvo glasanje drugih vrsta vodezemaca. Slično je i kod mužjaka vrste *Bufo gargarizans* koji ne razlikuju spolove, ali ako obuhvate drugog mužjaka u ampleksus, on ubrzo oslobađa „release call“, dok ženke to ne čine (Cheong i sur. 2008). Stoga, reproduktivna strategija mužjaka smeđe krastače može biti da brzo obuhvati svaku pokretnu životinju slične veličine, a zatim određuje je li obuhvatio ženku. Jørgensen (1986) navodi da ženke smeđe krastače koje su odložile jaja imaju izbjegavajuće reakcije koje najčešće uključuju „release calls“ čime se sprječava dugotrajno obuhvaćanje ženki od strane mužjaka i osigurava povlačenje ženke sa mrjestilišta.

Kod razmnožavanja bezrepaca, ispuštanje sperme treba biti sinkronizirano sa ispuštanjem jaja da bi oplodnja uspjela. Postoji određeni stimulus ili signal za svaku vrstu koji

omogućava takvu sinkronizaciju (Jameson 1955). Kod mnogih vrsta roda *Bufo*, ženka započinje odlaganje jaja rastezanjem tijela tako da prednji dio tijela savije prema gore, a mužjak svoju kloaku postavlja uz kloaku ženke pomoću nožnih prstiju (Liu 1931, Aronson 1944, Jameson 1955, Beebee 1983). Tada se formira prostor između stopala i nogu mužjaka i nogu i tijela ženke, koji Aronson (1944) naziva „košarom“ te u taj prostor ženka polaže jaja, a mužjak tada simultano izbacuje spermu. *Bufo torrenticola* ima gotovo isti obrazac polaganja jaja. Mužjaci ove vrste imaju dva načina kretanja prstiju prije i tijekom izbacivanja jaja te je prvi pokret, kojim miješaju izbačenu spermu da bi olakšali oplodnju jaja, brz i snažan dok je drugi sporiji i slabiji što nije zabilježeno kod drugih vrsta iz roda *Bufo* (Tsuji i Kawamichi 1998).

1.2.4. Reproduktivni kapacitet mužjaka smeđe krastače

Prilikom razmnožavanja vodozemaca, potrebna je visoka koncentracija spermija da bi došlo do oplodnje jer omotač jajeta blokira većinu spermija (Reinhart i sur. 1998, Browne i Zippel 2007). Postoje kompleksne interakcije između pokretljivosti spermija, osmolarnosti, fertilizacije i kvalitete sperme. Brojni faktori utječu na pokretnost spermija vodozemaca kao što su filogenija spermija, kompeticija, morfologija, fiziologija i fertilizacijski okoliš. Tijekom kompeticije između spermija, uspijeh oplodnje ovisi o njihovim fiziološkim adaptacijama na pokretljivost u vodenim okolišima koji variraju u osmolarnosti, viskoznosti, temperaturi, pH vrijednosti, lokaciji sperme u odnosu na prostornu distribuciju oocita i pokretljivosti spermija da bi stigli do površine oocita (Byrne i sur. 2002, Cosson i sur. 2008). Kad je sperma vodozemaca oslobođena u vodu, maksimalna brzina spermija je postignuta gotovo trenutno (Browne i sur. 2001, Browne i sur. 2014) kao i pokretljivost spermija koja se javlja gotovo trenutno, a zatim se postepeno smanjuje (Browne i sur. 2014). Prema Kouba i sur. (2003) spermiji mužjaka vrsta iz roda *Bufo* nisu pokretni u njihovom reproduktivnom traktu sve do njihovog oslobađanja u hipotonični vodeni okoliš gdje pad osmolalnosti aktivira pokretljivost spermija. Spermiji bezrepaca su sposobni održati pokretljivost satima zbog brze sinteze ATP-a i njihovih velikih energetskih rezervi (Del Rio 1979). Trajanje pokretljivosti ovisi o temperaturi i specifično je za pojedinu vrstu, a limitirano je i oštećivanjem tijekom perioda pokretljivosti. Spermiji bezrepaca pokazuju visok srednji vijek trajanja što dokazuje njihovu visoku otpornost na osmotski stres (Browne i sur. 2014), ali neka preliminarna istraživanja pokazuju da otapanje inaktiviranih uzoraka u velikom volumenom vode reducira oporavak pokretljivosti vjerojatno zbog velikog osmotskog šoka što je slučaj i kada se krastače

razmnožavaju u prirodi. Kada su spermiji oslobođeni u okolnu vodu, dožive značajnu redukciju osmolalnosti što rezultira ubrzanim padom pokretljivosti spermija kada većina postaje nepokretna za 10- 15 minuta (Kouba i sur. 2003).

Sperma vodozemaca može se prikupiti izdvajanjem i maceriranjem testisa eutaniziranih ili uginulih mužjaka koja se čuva u ledenoj emulziji pri temperaturi od 0- 4°C (Kaurova i sur. 1997, Browne i sur. 2002a, b, Mansour i sur. 2010), a kao alternativna metoda može se koristiti hormonalna indukcija (Obringer i sur. 2000, Iimori i sur. 2005, Uteshev i sur. 2012). Shishova i sur. (2013) su pokazali da je najjednostavnija metoda za kratkotrajno čuvanje spermija iz nedavno uginulih jedinki bezrepaca držanje cijelih mužjaka, bez izdvajanja testisa, u hladnjaku pri 4°C.

Prema Warner (1984), Berglund (1991) i Aday i sur. (2003) veći mužjaci bi trebali imati veći reproduktivni uspjeh jer manji ili mlađi mužjaci, za razliku od većih ili starijih, ulažu manje resursa u reprodukciju, a više u rast. Bezrepci su idealni za istraživanje te pretpostavke jer je, prema Arak (1983) i Ryser (1989), ulaganje mužjaka bezrepaca u reprodukciju veliko budući da gube oko 20% njihove tjelesne mase tijekom reproduktivne sezone. Stoga oni nastoje optimizirati svoje ulaganje u reprodukciju jer mužjaci nekih vrsta pokazuju limitirani reproduktivni potencijal koji im omogućuje samo nekoliko uspješnih pokušaja razmnožavanja (npr. *Bufo bufo*: Hettyey i sur. (2009); *Rana temporaria*: Gibbons i McCarthy (1986). Veliki mužjaci, koji si mogu osigurati veći broj pokušaja razmnožavanja, trebaju ulagati manje u rast, a više u reprodukciju jer im još veća tjelesna veličina vjerojatno neće omogućiti još veći broj pokušaja razmnožavanja, a moraju biti sposobni fertilizirati nekoliko vrpci s jajima. Moguće je da manji mužjaci čuvaju resurse za rast na drukčiji način, a ne kroz manje ulaganje u rast testikularnog tkiva, produkciju sperme i održavanje visoke sposobnosti fertilizacije i spremnosti na ponovno razmnožavanje (Hettyey i sur. 2012). Tako manji mužjaci mogu koristiti energetski manje zahtjevne taktike nego veliki mužjaci. Veliki mužjaci smeđe krastače koriste taktiku stacionarnog glasanja dok manji mužjaci koriste taktiku aktivnog traženja koje može biti jednako energetski zahtjevno kao i glasanje (Ryan i sur. 1983). Stoga, mali mužjaci ne koriste taktike koje zahtijevaju manje uložene energije, a relativna potrošnja energije povezana sa reprodukcijom može biti slična između mužjaka različitih veličina (Hettyey i sur. 2012). Također, relativni broj spermija proizvedenih u testisima nije povezan sa veličinom tijela mužjaka te testisi manjih mužjaka ne proizvode manje sperme/gramu testisa od većih mužjaka. Nakon niza razmnožavanja, kada se potpuno zreli i kvalitetni spermiji potroše, sperma može sadržavati nezrele spermije lošije kvalitete ili nedovoljne količine kvalitetnih dodatnih komponenti sperme što rezultira nižim

reproduktivnim uspjehom te takvi mužjaci gube interes za razmnožavanje (Bissoondath i Wiklund 1996, Strzezek i sur. 2000, Hettyey i sur. 2009). Prema Hettyey i sur. (2012) veličina tijela mužjaka ne utječe na uspjeh oplodnje ili na spremnost mužjaka na ponovno razmnožavanje.

Sperma vodozemaca je osjetljiva na promjene izvanstanične osmotske koncentracije, a proces smrzavanja inducira velike poraste izvanstanične osmolalnosti (Voituron i Lengagne 2008). Vrste koje su netolerantne na smrzavanje, kao što je i smeđa krastača, akumuliraju manje tvari za zaštitu od smrzavanja, te su manje uspješne u zaštiti svoje sperme. Također, prema nekim hipotezama smatra se da bi veće jedinke smeđe krastače bile manje pogođene smrzavanjem nego manje jedinke. Prema istraživanju Voituron i Lengagne (2008) na jezeru 40 km južno od Lion- a, male i velike jedinke su jednako pogođene smrzavanjem, a u nekim slučajevima manje jedinke mogu biti manje pogođene od većih. Smatra se da su manji mužjaci smeđe krastače reducirali troškove smrzavanja što im omogućuje da prvi stignu na mrjestilište da bi limitirali kompeticiju s većim mužjacima (Voituron i Lengagne 2008).

U istraživanjima bezrepaca, tjelesna veličina je često korištena kao mjera kvalitete partnera te su mnoga istraživanja proučavala prednost većih mužjaka prilikom reprodukcije (Ryan 1980, Forester i Czarnowsky 1985, Robertson 1990). Tjelesna veličina mužjaka pozitivno utječe na reproduktivni uspjeh, ali ne objašnjava dovoljno varijabilnost (Davies i Halliday 1977, Lengagne i sur. 2007). Stoga sam ovim radom pokušala istražiti odnos tjelesne mase mužjaka i ukupnog broja spermija u njihovim testisima u svrhu testiranja pretpostavke da manji mužjaci proizvode manji broj spermija za razliku od većih mužjaka. U tu svrhu analizirala sam ukupan broj spermija i postotak njihove pokretljivosti na 7 mužjaka smeđe krastače.

1.2.5. Reproduktivni kapacitet ženki smeđe krastače

Kao i kod mnogih ektoterma, tjelesna veličina ženke je dobar pokazatelj fekunditeta smeđe krastače. Banks i Beebee (1986) navode da postoji značajna povezanost između dužine tijela, broja proizvedenih jaja, veličine jaja i starosti ženke kao i eksponencijalna povezanost dužine tijela i broja položenih jaja. Ipak, jednike smeđe krastače na obalnim pješčanim nanosima u Cumbriji u Engleskoj imaju veći fekunditet pri manjim tjelesnim veličinama za razliku od jedinki sa juga Engleske, a razlog za njihovo veće ulaganje u produkciju jaja pri manjoj tjelesnoj veličini može biti kraći životni vijek te vrste na obalnim pješčanim nanosima.

Prema istraživanju Cvetković i sur. (2003) na mrjestilištima Trenja i Zuce u blizini Beograda, fekunditet je značajno koreliran sa dužinom tijela ženke, dok relativna masa ovarija ukazuje na značajnu sezonsku varijabilnost sa najnižim vrijednostima u travnju i svibnju. Značajna godišnja varijabilnost u masi ovarija je povezana sa sezonskom aktivnošću gonada, minimalnim vrijednostima u periodu razmnožavanja i odlaganja jaja (Cvetković i sur. 2003).

Također, veličina ženke može utjecati i na proporciju jaja koja su uspješno oplođena jer mali mužjaci ponekad ne mogu oploditi jaja kada se razmnožavaju sa velikim ženkama zbog velike udaljenosti između njihovih kloaka (Robertson 1990, Bourne 1993, Lengagne i sur. 2007). Veliki razmak između kloaka ženke i mužjaka (Licht 1976) ili loša sinkronizacija oslobađanja gameta (Taborsky 1994) može smanjiti uspjeh razmnožavanja, ali smatra se da je utjecaj udaljenosti između kloaka na oplodnju smanjen jer mužjak može svojim stražnjim nogama približiti jaja iz vrpce svojoj kloaki radi oplodnje.

Iako je smeđa krastača jedna od najraširenijih vrsta bezrepaca, postoji malo podataka o broju i veličini jaja ženki ove vrste (Davies i Halliday 1977). Hemmer i Kadel (1971) navode da postoji eksponencijalna povezanost dužine i mase tijela sa brojem položenih jaja, a prema Lengagne i sur. (2007) proizvodnja jaja smeđe krastače je funkcija veličine tijela ženke. Slična je situacija i sa srodnim vrstama jer prema Yu i Lu (2010) postoji pozitivna korelacija između veličine tijela ženki i fekunditeta vrste *Bufo gargarizans* jer velike ženke mogu odložiti pet puta više jaja od manjih ženki. Značajne korelacije između suhe mase jaja sa dužinom i masom tijela pokazuju da ženke slične veličine mogu proizvesti jaja različite mase, ali smatra se da masa jaja raste s porastom veličine ženke. Masa jaja raste i sa suhom masom ovarija pa je očekivano da su jaja proizvedena od strane većih ženki čak 1,5- 2 puta teža od jaja koja proizvede najmanja ženka. Ipak, velika veličina ovarija ne mora uvijek rezultirati velikim brojem jaja jer masa pojedinačnog jajeta može porasti dok broj jaja ostaje konstantan. Ženke iste veličine ne pokazuju značajnu korelaciju između mase jaja i mase ovarija što znači da je ulaganje u reprodukciju usmjereno na produkciju više jaja, a ne većih jaja (Reading 1986). Također, Reading (1986) navodi da za ženku određene veličine, veliki broj jaja rezultira malom masom jaja i obrnuto odnosno da ženke određene veličine proizvode ili puno malih jaja ili manje velikih jaja. Smatra se da je za ženku najbolja strategija ona koja će joj omogućiti proizvodnju većeg broja potomaka koji će doživjeti spolnu zrelost. Nevijabilne gamete su jedan od faktora koji ograničava eksponencijalni porast produkcije jaja s godinama kod ženki vrste *Bufo calamita.* Banks i Beebee (1986) pokušali su kvantificirati utjecaj nevijabilnih jaja i neefikasne oplodnje na reprodukciju. Prema njihovom istraživanju u Engleskoj (Hampshire i Cumbria), u Hampshire- u su najduže vrpce s jajima ujedno imale i

najveći broj nevijabilnih jaja, a jedinke koje su proizvele nevijabilna jaja bile su stare 11 i 12 godina. Sve ženke iz Cumbrije proizvele su vijabilna jaja, a niti jedna nije bila starija od šest godina te se na temelju takvih rezultata može zaključiti da samo najveće i najstarije ženke polažu vrpce s nevijabilnim jajima. Ipak, ne proizvode sve starije ženke nevijabilna jaja pa se takvi nalazi trebaju uzeti s oprezom. Starost ženki je jedan od najčešćih razloga proizvodnje nevijabilnih jaja, a vjerojatno ne i jedini, a često se jaja sa nedostatkom melanina mogu normalno razvijati (Banks 1985).

1.2.6. Razvoj i morfometrija punoglavaca smeđe krastače

Razvoj ličinki bezrepaca je podijeljen na dva različita perioda, na period prije preobrazbe i preobrazbu koja se odvija u kratkom vremenskom periodu, a praćena je fiziološkim promjenama i povećanim mortalitetom (Duellman i Trueb 1986, Kovalenko i Kruzhkova 2013). Prema istraživanju Kovalenko i Kruzhkova (2013) period razvoja od oplodnje do početka preobrazbe varira od 63 do 153 dana, ali većina jedinki ulazi u preobrazbu bez definiranog obrasca, u različito vrijeme i u grupama koje se razlikuju u veličini. Slično je i sa periodom do završetka preobrazbe koji varira od 66 do 162 dana gdje većina jedinki završava preobrazbu u različito vrijeme i u malim grupama.

Ekološki faktori kao što su temperatura, količina hrane, gustoća punoglavaca, stopa isparavanja jezera i prisutnost predatora reguliraju i ubrzavaju preobrazbu (Hayes 1997). Indermaur i sur. (2010), u sklopu istraživanja na jezerima u nizinskom području rijeke Tagliamento na sjeveroistoku Italije, navode da ličinke jedinki vrste *Bufo bufo spinosus* rastu brže i dosežu veću tjelesnu veličinu ako se preobrazba odvija u toplim i velikim ribnjacima dok u hladnim šumskim vodenim tijelima rastu sporije i dosežu malu tjelesnu veličinu. Stoga su veliki ribnjaci produktivniji od manjih te su potrebne više temperature za povoljan rast ličinki krastače (Indermaur i sur. 2010). Prema istraživanju Manteifel i Bastakov (1986) na jezeru Glubokoe u Rusiji, kada punoglavci smeđe krastače dosegnu stadij aktivnog kretanja, počinju noću napuštati obalnu vodu i odlaziti u dublju vodu (ne zna se do koje dubine) te se ujutro vraćaju u obalnu vodu u velikim jatima. Dnevne migracije ličinki smeđe krastače mogu imati dvije funkcije: termoregulacijska funkcija kojom optimiziraju temperaturne uvjete za razvoj i zaštitna funkcija od malih predatora koji love plijen u plitkom vodama uz obalu, uglavnom noću. Reading i Clarke (1999) navode da u godinama kada se razmnožavanje odvija ranije (rana veljača), punoglavci napuštaju mrjestilište 25 dana ranije nego u godinama

kada se odvija kasnije (kasni ožujak). Povećanje sa 4% na 16% u broju hladnih dana (minimalna temperatura manja ili jednaka nuli) tijekom faze punoglavaca rezultira povećanjem trajanja te faze za otprilike 30 dana.

Da bi se odredili parametri tipičnog razvoja jedinki određene vrste, potrebno je uzeti uzorak potomaka, za što je kod bezrepaca dovoljna grupa od 100- 300 punoglavaca na kojoj se može proučavati napredak kroz glavne stadije razvoja i bilježiti parametre karakteristične za većinu jedinki, a takva grupa može biti jednostavno selektirana po stadijima napuštanja jaja, razvoja stražnjih nogu i drugih ontogenetskih stadija važnih za bezrepce, uključujući početak i završetak preobrazbe. U tu svrhu postoje i tzv. tablice normalnog razvoja gdje je svaki stadij karakteriziran normama morfoloških i funkcionalnih karakteristika te početka razvoja, ali u praksi ti parametri na stvarnim objektima rijetko točno odgovaraju parametrima u tablicama jer npr. punoglavci simultano razvijaju stražnje noge, ali se mogu razlikovati u razvoju aksijalnog skeleta i nekih drugih organa (Kovalenko 1985). To ipak ne utječe na identifikaciju stadija punoglavaca gdje je važno da većina karakteristika odgovara određenom standardu.

Gosner (1960) je razvio sustav podjele razvoja punoglavaca u 46 stadija u kojem je najpogodnije da punoglavci budu u stadiju razvoja od 26. do 38. stadija da bi bili precizno identificirani i da bi se mogla raditi istraživanja morfometrije punoglavaca koji su u istom stadiju razvoja i među punoglavcima u različitim stadijima. Stadiji od 26. do 30. se određuju iz odnosa dužina/promjer noge u razvoju. U stadiju 27 dužina začetka noge je veća ili jednaka polovici promjera začetka, a u stadiju 28 ta dužina je veća ili jednaka promjeru začetka nogu. U stadiju 31 stopalo je oblika vesla, a sljedeći stadiji do stadija 37 pokazuju razvoj individualnih prstiju. Stadije od 38. do 40. možemo razlikovati na temelju proporcionalnih razlika u dužini pojedinog prsta i pojavi metatarzalne i subartikularne kvržice (tuberkula). U stadiju 39. su vidljivi kao svjetliji dijelovi, a u stadiju 40 kao kvržice. Kod *Bufo valliceps* odnosi nekoliko tjelesnih proporcija se ne mijenjaju od 26. do 40. stadija te se dijelovi usta ne mijenjaju između stadija 29 i 40. Budući da su te promjene relativno spore tijekom određenog dijela ličinačkog perioda, kompliciraju upotrebu takvih karakteristika za identifikaciju. Nakon 40. stadija preobrazbe počinju drastične promjene. Zbog resorpcije repa smanjuje se ukupna dužina tijela, a ličinački usni dijelovi nestaju. U stadijima od 42. do 46. stadija, koji su ujedno ključni u razvoju ličinki bezrepaca, javljaju se promjene na glavi odnosno usta. Prednji udovi se javljaju u 42. stadiju, a u stadiju 43 počinje resorpcija repa punoglavaca koja završava u stadiju 46 kada završava preobrazba (Gosner 1960).

1.3. Cilj istraživanja

Podataka o smeđoj krastači, *Bufo bufo* i njezinim reproduktivnim značajkama u Hrvatskoj vrlo je malo te do sada nisu objavljeni radovi koji se bave ovom problematikom na bjelovarsko-bilogorskom području. Ciljevi ovog rada bili su određivanje reproduktivnog kapaciteta ženki i mužjaka vrste *B.bufo* te istraživanje morfometrije punoglavaca ove vrste. Prikupljene podatke usporedila sam s dostupnom domaćom i stranom literaturom kako bi se podatci pravilno interpretirali.

Ovim se radom pokušalo doprinijeti stjecanju više saznanja o reproduktivnim značajkama ovog vodozemca u Hrvatskoj.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Područje istraživanja

Bjelovarsko-bilogorsko područje je dio Bjelovarsko-bilogorske županije koja obuhvaća prostor četiri karakteristične zemljopisne cjeline: Bilogoru (sjeverno i sjeveroistočno), rubne masive Papuka i Ravne gore (istočno), Moslavačku goru (jugozapadno) i dolinu rijeke Česme i Ilove (zapadno, središnje i južno). Bjelovarsko-bilogorska županija zauzima površinu od 2.652 km², što je 3,03% od ukupne površine Hrvatske. Središte županije je grad Bjelovar (http://www.bbz.hr). Bilogora je nisko prostrano gorje u sjevernoj Hrvatskoj (Poljak 2001). Sastoji se od niza humaka i brežuljaka, te kratkih niskih bila zaobljenih grbina i glavica, koji se pružaju duž jugozapadnog ruba Podravine od sjeverozapada na jugoistok u dužini oko 80 km, s najvišim šumovitim vrhom nazvanim Stankov vrh (309 metara nadmorske visine). Cijela je površina pokrivena biljnim plaštom. Niži su pristranci pod vinogradima, voćnjacima, i kukuruzištima, a iznad njih je šuma, pretežno bjelogorična. Po sastavu spada u nizinske hrastove šume. Uz manje komplekse hrasta kitnjaka i graba ima i nešto hrasta lužnjaka, a na sjevernim padinama pod grebenom i malo bukve (Poljak 2001).

Lokacija Rajić (45,899788° N, 16,705122° E), koja je udaljena od Bjelovara oko 15 kilometara, obuhvaća cestu između sela Rajić i Bolč, gdje su sakupljane odrasle jedinke pregažene u prometu te sportski ribnjak gdje su sakupljani punoglavci (Slika 4). Cestovni transekt i sportski ribnjak okruženi su bjelogoričnim šumama hrasta lužnjaka kao i poljoprivrednim površinama.

Slika 4. Sportski ribnjak na lokaciji Rajić.

Druga lokacija, koja je udaljena oko 500 metara od Grubišnog Polja i oko 35 kilometara od Bjelovara (45,712919° N, 17,152216° E) obuhvaća cestu između sela Velika Barna i grada Grubišno Polje gdje su sakupljane odrasle jedinke smeđe krastače pregažene u prometu, a okružena je bjelogoričnim šumama hrasta lužnjaka.

2.2. Materijal

Materijal obrađen u ovom radu prikupljan je tijekom 2015. godine u vrijeme proljetnih migracija smeđe krastače, *Bufo bufo* L., na lokaciji Rajić kod Bjelovara i lokaciji kod Grubišnog Polja na bjelovarsko- bilogorskom području.

Migracija se na tom području 2015. godine odvijala od 19. do 26. ožujka te je u tom razdoblju sakupljeno 27 jedinki smeđe krastače. Dana 25. ožujka na lokaciji kod Grubišnog Polja sakupljeno je 7 mužjaka i 1 ženka smeđe krastače, a na lokaciji Rajić kod Bjelovara 8 mužjaka i 2 ženke. Slijedeći dan, 26. ožujka je na lokaciji Rajić kod Bjelovara sakupljeno 7 mužjaka i 2 ženke smeđe krastače. Mužjaci su čuvani bez izdvajanja testisa, u hladnjaku pri 4°C dok su ženke čuvane u zamrzivaču do izdvajanja jaja.

Nakon završetka mrijesta, kada su odrasle jedinke napustile mrjestilište, praćen je razvoj punoglavaca od 28. travnja do 3. lipnja 2015. godine. Punoglavci su sakupljani pomoću akvarijske mrežice te je na taj način 28. travnja 2015. prikupljeno 36 punoglavaca na lokaciji Rajić, koji su istog dana stavljeni u 60 %-tni etanol. Na istoj lokaciji je 2. svibnja 2015. prikupljeno 50 punoglavaca smeđe krastače koji su stavljeni u plastičnu kadicu sa vodom gdje je dalje praćen njihov razvoj. S napredovanjem preobrazbe punoglavaca jednom tjedno se izuzima 10 punoglavaca iz kadice i stavlja u alkohol radi istraživanja njihove morfometrije u različitim razvojnim stadijima u laboratoriju.

2.3. Metode istraživanja

2.3.1. Metode rada na terenu

Upotrebljena je metoda cestovnog transekta pri čemu su sakupljane jedinke pregažene prilikom prelaska ceste do mrjestilišta. Na sakupljenim jedinkama vršeno je označavanje jedinki i određivanje sljedećih značajki smeđe krastače:

1. Spol - prisutan je spolni dimorfizam, odrasle ženke su veće od mužjaka,
2. Dužina tijela (DT) - od vrha nosa do stražnjeg ruba kloake,
3. Dužina potkoljenice (DP) - mjerena duž potkoljenične kosti,
4. Širina glave (ŠG),
5. Dužina glave (DG),
6. Razmak nosnica - usta (RNU) - udaljenost između donje margine nosnice i gornje margine usta,
7. Promjer oka (PO),
8. Masa (M)

Navedeni podatci, uz podatke o opažačima, lokalitetu i vrsti (*Bufo bufo* L.) bilježeni su u protokole za inventarizaciju pregaženih jedinki smeđe krastače, a primjer takvog protokola nalazi se na Slici I. u prilogu.

2.3.2. Metode rada u laboratoriju

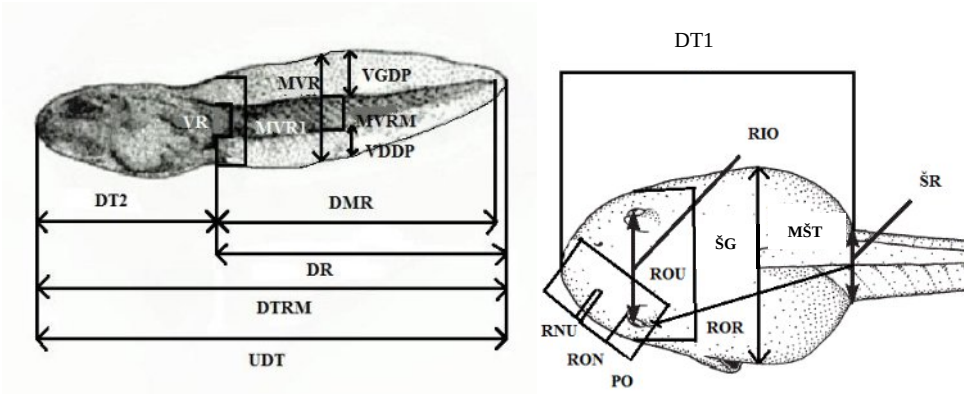
Laboratorijski dio obrade sastoji se od određivanja ukupnog broja spermija i postotka njihove pokretljivosti za 7 mužjaka smeđe krastače sa dvije navedene lokacije u svrhu određivanja reproduktivnog kapaciteta mužjaka. U tu svrhu 7 mužjaka je pohranjeno u hladnjak na temperaturu između 0 i 4 ° C te su mužjaci prikupljeni 25. ožujka čuvani 2 dana, a oni sakupljeni 26. ožujka. jedan dan u takvim uvjetima. Dana 27. ožujka u laboratoriju Veterinarske stanice Bjelovar je vršeno proučavanje pokretljivosti i ukupnog broja spermija na mikroskopu. U svrhu određivanja reproduktivnog kapaciteta ženki, za 5 ženki smeđe krastače, pomoću vage VAGA MINI 200g/0,01g HCP 8, prebrojana su jaja u 1,5; 3 i 4 g te je to preračunato na ukupnu masu. Budući da su kod nekih ženki uočena crna i bijela jaja, uzorke jaja podijelila sam po klasifikaciji prema kojoj su Banks i Beebee (1986) podijelili crna (C) i bijela (B) jaja na vijabilna i nevijabilna jaja. U laboratoriju je pomoću digitalnog mikroskopa Dino-Lite Basic AM2000/AM3000 series VGA/640 x 480 vršeno fotografiranje punoglavaca, a pomoću računalnog programa KLONK Image Measurement Trial vršeno je mjerenje punoglavaca (Slika 5) pri čemu su dobivene vrijednosti:

1. Promjer oka (PO),
2. Razmak između orbita (RIO) - udaljenost između središta margina orbita,
3. Razmak oko - nosnica (RON) - udaljenost između prednjeg ugla oka do stražnje margine nosnice,

4. Dužina tijela 1 (DT1) - udaljenost od vrha ustiju do junkcije stražnjeg tijela i repnog mišičja, mjereno s leđne strane tijela punoglavaca,
5. Dužina tijela 2 (DT2) - udaljenost od vrha ustiju do junkcije stražnjeg tijela i repnog mišičja, mjereno s bočne strane tijela punoglavaca,
6. Razmak nosnica - usta (RNU) - udaljenost između prednje margine nosnice i vrha usta,
7. Razmak oko- usta (ROU) - udaljenost između prednjeg ugla oka i vrha usta,
8. Maksimalna širina tijela - (MŠT),
9. Širina glave (ŠG) - širina glave u ravnini očiju,
10. Razmak oko- rep (ROR) - udaljenost između očiju i početnog dijela repa,
11. Širina repa (ŠR) - širina repa pri njegovoj bazi,
12. Širina usta (ŠU),
13. Ukupna dužina tijela (UD) - od vrha usta do vrha repa,
14. Dužina repa (DR) - udaljenost od junkcije na stražnjem dijelu tijela i mišićja repa do vrha repa,
15. Visina repa (VR) - visina repa pri njegovoj bazi,
16. Maksimalna visina repa 1(MVR 1) - maksimalna visina repa pri njegovoj bazi,
17. Maksimalna visina repa (MVR) - najveća visina repa,
18. Maksimalna visina repnog mišićja (MVRM),
19. Visina gornjeg dijela peraje (VGDP) - najveća visina gornjeg dijela peraje, od gornje margine mišićja repa do gornje margine gornjeg dijela peraje,
20. Visina donjeg dijela peraje (VDDP) - najveća visina donjeg dijela peraje, od donje margine donjeg dijela peraje do donje margine mišićja repa,
21. Dužina tijela i repnog mišićja (DTRM) - od vrha usta do kraja repnog mišićja,
22. Dužina mišićja repa (DMR) - od početka do kraja repnog mišićja,
23. Dužina bedra (DB) - od početka bedra do središnjeg dijela kraja bedrene kosti,
24. Dužina tibiofibule (DTF),
25. Dužina tarsusa (DT) - od kraja tibiofibule do početka metatarsusa,
26. Razmak tarsus- prst (RTP) - dužina između kraja tarsusa do vrha najduljeg prsta,
27. Dužina humerusa (DH) - udaljenost od početka kosti humera do središnjeg dijela kraja kosti humera,
28. Dužina radioulne (DRU) - udaljenost od sredine kraja kosti humera do kraja radioulna kosti,
29. Razmak radioulna- prst (RRP) - udaljenost od kraja radioulna kosti do vrha najduljeg prsta

Isti način fotografiranja i mjerenja korišten je i za svakih 10 punoglavaca karakterističnih za pojedini stadij uz dodatna mjerenja prednjih i stražnjih nogu.

A B



Slika 5. Osnovne oznake punoglavaca smeđe krastače (*Bufo bufo* Linneaus) po Gosner (1960). A. Bočni prikaz; B. Leđni prikaz. Oznake su objašnjene u tekstu.

2.3.3. Metoda obrade podataka

U radu su korišteni sljedeći parametri statistike:

Average- srednja vrijednost, SDEV- standardna devijacija, SE- standardna pogreška, Min- minimum, Max - maksimum. Za statističku obradu podataka korišten je program Microsoft Office Excel (verzija 2007) i program Past 2.17c. (Hammer & Harper).

3. REZULTATI

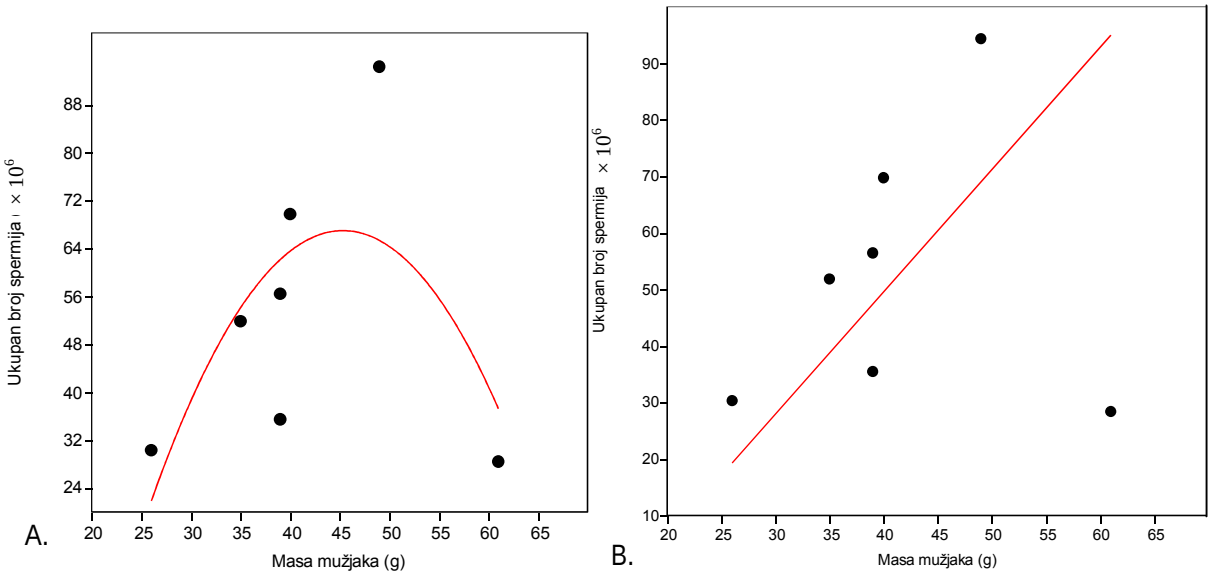
3.1. Reproduktivni kapacitet mužjaka

Podatci dobiveni mjerenjem određenih morfometrijskih vrijednosti na terenu te mase i ukupnog broja spermija mužjaka u laboratoriju sumirani su u Tablicu 1. U ovom uzorku mužjaka, zabilježena je maksimalna dužina tijela od 8,5 cm, a minimalna od 6,2 cm dok je maksimalna masa mužjaka iznosila 61 g, a minimalna 26 g. Iako je masa većine mužjaka u rasponu od 35-49 g, odstupa najteži i najduži mužjak koji, suprotno očekivanom, ima najmanji ukupan broj spermija. Zabilježena je veća širina glave od dužine glave (Tablica 1).

Tablica 1. Prikaz rezultata mjerenja mužjaka smeđe krastače sa bjelovarsko-bilogorskog područja na terenu i u laboratoriju koji su svrstani prema lokalitetu i datumu sakupljanja mužjaka na terenu.

Mužjaci *Bufo bufo*	**Lokalitet**	**Datum**	**Dužina tijela (cm)**	**Dužina potkoljenice (cm)**	**Dužina glave (cm)**	**Širina glave (cm)**	**Promjer oka (cm)**	**Masa mužjaka (g)**	**Ukupan broj spermija ($\times 10^6$)**
1.	Grubišno Polje	25.3.2015.	8	2,9	2,3	3,5	0,9	40	69,73
2.	Grubišno Polje	25.3.2015.	7,5	3	2,3	3,3	0,8	39	35,46
3.	Rajić	25.3.2015.	6,9	2,3	1,2	3	0,7	35	51,84
4.	Rajić	25.3.2015.	7,9	2,9	2	3	0,8	49	94,32
5.	Rajić	26.3.2015.	8,5	3	2,3	4	0,9	61	28,39
6.	Rajić	26.3.2015.	6,2	2,5	2,5	2,9	0,5	26	30,32
7.	Rajić	26.3.2015.	7,2	3	2,3	3,5	0,5	39	56,43

Budući da vrijednost p u polinomijalnom modelu (Polynomial Model) iznosi 0,269, a 0,789 u linearnom modelu, polinomijalni model bolje pokazuje odnos mase mužjaka i ukupnog broja spermija. Ipak, oba modela ukazuju na to da odnos mase mužjaka i ukupnog broja spermija ($\times 10^6$) nije statistički značajan, ali se iz Slike 6 može zaključiti da postoji generalna tendencija da teži mužjaci imaju veći ukupan broj spermija iako najveći mužjak odstupa od takve tendencije. Također, procijenjeno je da je maksimum brojnosti spermija od 67×10^6 spermija, u ovom uzorku, pri masi mužjaka od 46 g te postoji tendencija da broj spermija raste do određene mase (u ovom slučaju do 46 g), a zatim taj broj opada kod najvećeg i vjerojatno najstarijeg mužjaka (Slika 6).



Slika 6. A. Odnos tjelesne mase (g) i ukupnog broja spermija ($\times 10^6$) mužjaka smeđe krastače (r^2=0,480; p=0,269, polinomijalni model) B. Odnos tjelesne mase (g) i ukupnog broja spermija ($\times 10^6$) mužjaka smeđe krastače (r=0,125; r^2=0,015; p=0,789, linearni model).

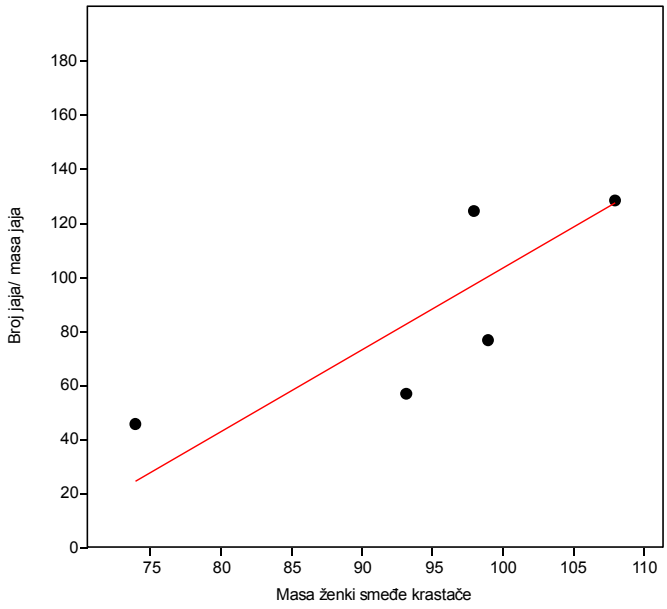
3.2. Reproduktivni kapacitet ženki

Podatci dobiveni mjerenjem određenih morfometrijskih vrijednosti na terenu te mase i broja jaja u laboratoriju sumirani su u Tablicu 2. Zabilježena je maksimalna dužina tijela od 12,4 cm, a minimalna od 9,5 cm dok je maksimalna masa ženki iznosila 108 g, a minimalna 74 g. Najveći broj jaja/masi jaja je zabilježen kod najteže ženke, koja ujedno ima i najveću dužinu tijela u ovom uzorku.

Tablica 2. Prikaz rezultata mjerenja ženki smeđe krastače sa bjelovarsko-bilogorskog područja na terenu i u laboratoriju koji su svrstani prema lokalitetu i datumu sakupljanja ženki na terenu (B- označava bijela (nevijabilna) jaja, a C- crna (vijabilna jaja).

Ženke *Bufo Bufo*	Lokalitet	Datum	Dužina tijela (cm)	Dužina potkoljenice (cm)	Dužina glave (cm)	Širina glave (cm)	Promjer oka (cm)	Masa ženke (g)	Broj jaja (1,5g)	Broj jaja (3g)	Broj jaja (4g)	Broj jaja/g	Broj jaja/masa jaja
1.	Grubišno Polje	25.3. 2015.	10,4	3,5	3	4	1	74	145	317	452	9,14	45,52
2.	Rajić	25.3. 2015.	12,4	4,5	2,5	5,5	0,9	108	249	496	678	14,23	128,21
3.	Rajić	25.3. 2015.	11,3	4,2	2,3	4,8	1	99	201 B 1C	396B 2C	593B 3C	11,96	76,54
4.	Rajić	26.3. 2015.	9,5	4	3	3,8	0,8	98	219	443	580	12,42	124,32
5.	Rajić	26.3. 2015.	11	4	2,3	4,5	1	93,2	127B 36C	293B 79C	443B 115C	10,93	56,73

Budući da je kod ženki u ovom uzorku p=0,109, odnos mase ženki i broja jaja/masi jaja nije statistički značajan, ali je iz grafa vidljivo da postoji generalna tendencija da teže ženke proizvode veći broj jaja (Slika 7).

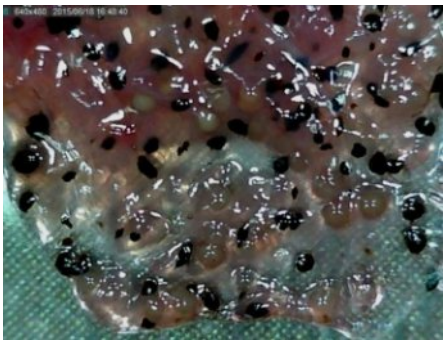


Slika 7. Odnos tjelesne mase (g) i broja jaja po ukupnoj masi jaja ženki smeđe krastače sa bjelovarsko-bilogorskog područja (r=0,793; r^2=0,629; p=0,109).

U ovom istraživanju zabilježene su dvije ženke koje uz vijabilna (crna) imaju i nevijabilna (bijela jaja) (Slika 8). To su ženke pod rednim brojem 3. i 5. u Tablicama 2 i 3 koje su u ovom slučaju imale veći broj nevijabilnih nego vijabilnih jaja. Kod ženke smeđe krastače, koja je sakupljena 25. ožujka 2015. na lokaciji Rajić, u masi jaja od 1,5 g omjer između nevijabilnih i vijabilnih jaja iznosio je 99,50 % : 0,49 % , u masi od 3 g 99,49 % :0,50 % jaja, dok je u masi od 4 g on iznosio 99,49 % : 0,50 % u korist nevijabilnih jaja. Kod ženke smeđe krastače koja je sakupljena 26. ožujka 2015. na lokaciji Rajić, omjer nevijabilnih i vijabilnih jaja u masi jaja od 1,5 g bio je 77,91 % : 22,08 %, u masi od 3 g 78,76 % : 21,23 % dok je taj omjer u 4 g jaja bio 79,39 % : 20,60 % u korist nevijabilnih jaja. Zbog sličnosti u njihovim promjerima, nevijabilna i vijabilna jaja su brojena zajedno u uzorcima od 1,5; 3 i 4g (Tablica 3). Ženke pod rednim brojem 3. i 5., sudeći prema masi i duljini tijela predstavljaju starije ženke koje proizvode vijabilna i nevijabilna jaja. Ipak, iz ovog uzorka ženki utvrđeno da najveća i vjerojatno najstarija ženka ima samo vijabilna jaja.

Tablica 3. Prikaz rezultata mjerenja prosječnog promjera vijabilnih i nevijabilnih jaja ženki smeđe krastače na bjelovarsko-bilogorskom području svrstanih po datumu i lokaciji sakupljanja, (prosječan promjer vijabilnih jaja (mm)- promjer zametka vijabilnih (crnih) jaja; prosječan promjer nevijabilnih jaja (mm)- promjer zametka nevijabilnih (bijelih) jaja smeđe krastače).

Ženke *Bufo bufo* L.	**Datum**	**Lokacija**	**Prosječan promjer vijabilnih jaja (mm)**	**Prosječan promjer nevijabilnih jaja (mm)**
1.	25.3.2015.	Grubišno Polje	2,5525	
2.	25.3.2015.	Rajić	1,3883	
3.	25.3.2015.	Rajić	0,6425	0,6912
4.	26.3.2015.	Rajić	2,4131	
5.	26.3.2015.	Rajić	0,7456	0,6943

A B 

Slika 8. A. Vijabilna (crna) jaja ženke sa lokacije kod Grubišnog Polja; B. Vijabilna (crna) i nevijabilna (bijela) jaja sa lokacije Rajić.

3.3. Razvoj punoglavaca

U Tablici 4, na temelju izmjerenih morfometrijskih mjera punoglavaca, sumirane su srednje vrijednosti i vrijednosti standardne pogreške za te mjere. Vidljiva je centralna tendencija prema kojoj prosječan punoglavac, u uzorku od 63 punoglavca, ima ukupnu dužinu tijela 29,683± 0,4966 mm, a dužinu tijela i repnog mišićja 28,778± 0,5156 mm. Sukladno tome, dužina repa prosječnog punoglavca iznosi 17,356± 0,3457 mm, a dužina mišićja repa iznosi 16,422± 0,3647 mm dok je vidljiva centralna tendencija prema kojoj maksimalna širina tijela i širina glave prosječnog punoglavca iznosi 8,123± 0,1078 mm odnosno 6,835± 0,0805 mm (Tablica 4).

U Tablicama 5 i 6, na temelju izmjerenih morfometrijskih mjera punoglavaca, sumirane su srednje vrijednosti i vrijednosti standardne pogreške za te mjere, svrstane prema stadijima razvoja punoglavaca. Za stadije 29, 32, 35 i 42 nisu izražene dvije navedene vrijednosti zbog malog broja punoglavaca u tim stadijima (1 punoglavac u svakom stadiju). Također, za 7 punoglavaca iz uzorka od 63 punoglavca nije bilo moguće odrediti stadij razvoja. Iz Tablica 5 i 6 vidljiva je centralna tendencija prema kojoj ukupna dužina tijela prosječnog punoglavca raste prema višem stadiju razvoja punoglavaca smeđe krastače što je vidljivo i iz grafikona na Slici 9, gdje je vidljiva generalna tendencija da je ukupna dužina tijela punoglavaca smeđe krastače veća prema višem stadiju razvoja. Od stadija 27 do stadija 40 raste ukupna dužina tijela prosječnog punoglavca dok u stadiju 41 počinje njezino smanjenje kao što je slučaj i sa dužinom tijela i repnog mišićja prosječnog punoglavca koja se smanjuje u stadiju 41, a takav pad se nastavlja i u stadiju 42 (1 punoglavac) gdje je zabilježena vrijednost dužine tijela i repnog mišićja od 32,16 mm i ukupne dužine tijela od

32,41 mm (Tablica 5 i 6). Vidljiva je tendencija da dužina repa prosječnog punoglavca, uz odstupanje srednje vrijednosti dužine repa u stadiju 31, raste od stadija 27 te ne bilježi pad u stadiju 41 nego u stadiju 42 gdje je vrijednost dužine repa za jednu jedinku punoglavca iz tog stadija 18,56 mm. Dužina mišićja repa prosječnog punoglavca, uz odstupanja srednjih vrijednosti u stadiju 31 i 38, raste od 27 do 41 stadija, a pad bilježi u stadiju 42 (18,07 mm). Vidljiva je tendencija da se maksimalna širina tijela prosječnog punoglavca smanjuje u stadiju 41, a takvo smanjenje nastavlja se i u stadiju 42 te je minimalna vrijednosti maksimalne širine tijela (7,2 mm) uočena u stadiju 42. Širina glave prosječnog punoglavca, također, raste prema višem stadiju razvoja, a smanjenje srednje vrijednosti počine u stadiju 40 dok se širina usta prosječnog punoglavca smanjuje u stadiju 41.

S napredovanjem razvoja nogu, vidljiva je tendencija povećanja dužine bedra prosječnog punoglavca od stadija 38 koje se nastavlja do stadija 41, a maksimalna vrijednost dužine bedra zabilježena je u stadiju 42 (4,1 mm). Dužina tibiofibule prosječnog punoglavca raste od stadija 38 do 41, uz odstupanje stadija 40 dok se dužina tarsusa prosječnog punoglavca, u ovom slučaju, smanjuje u stadiju 41. Uz izuzetak stadija 40, vidljiva je centralna tendencija prema kojoj razmak tarsus- prsti raste od nižeg prema višem stadiju razvoja (Tablica 6).

Tablica 4. Prikaz rezultata mjerenja 25 morfometrijskih mjera, izraženih kroz srednju vrijednost i standardnu pogrešku. Mjerenje je provedeno na lokaciji Rajić (n= 63).

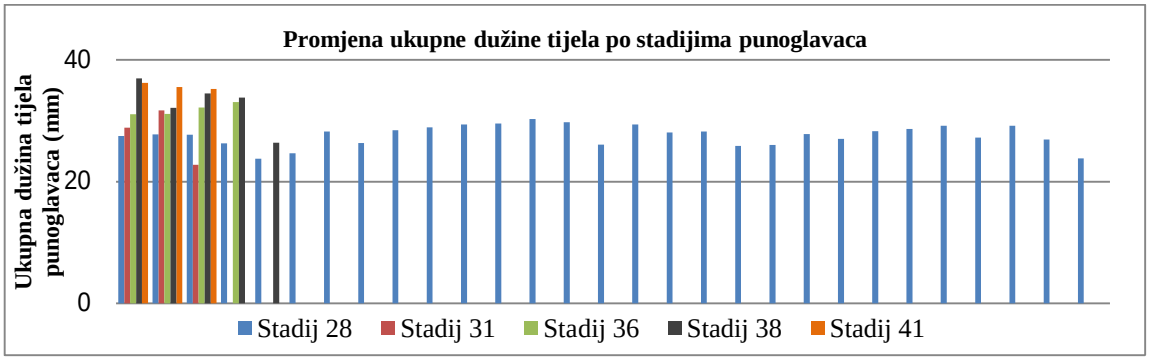
Morfometrijske mjere punoglavaca	Srednja vrijednost	Standardna pogreška
Ukupna dužina tijela (mm)	29,683	0,4966
Dužina tijela (mm)	12,589	0,1861
Dužina repa (mm)	17,356	0,3457
Maksimalna širina tijela (mm)	8,123	0,1078
Promjer oka	1,553	0,0303
Razmak oko- nosnica (mm)	0,842	0,0116
Razmak nosnica- usta (mm)	1,445	0,0313
Razmak između orbita (mm)	2,898	0,0681
Razmak oko- usta (mm)	4,233	0,0624
Širina glave (mm)	6,835	0,0805
Razmak oko- rep (mm)	9,124	0,1676
Visina repa (mm)	2,322	0,0605
Maksimalna visina repa 1 (mm)	3,838	0,0859
Širina repa (mm)	1,745	0,0473
Dužina mišićja repa (mm)	16,422	0,3647
Maksimalna visina repa (mm)	4,873	0,1079
Maksimalna visina repnog mišićja (mm)	1,772	0,0402
Visina gornjeg dijela peraje (mm)	1,775	0,0561
Visina donjeg dijela peraje (mm)	1,697	0,0556
Dužina tijela i repnog mišićja (mm)	28,778	0,5156
Širina usta (mm)	3,399	0,0319
Dužina bedra (mm)	2,541	0,2485
Dužina tibiofibule (mm)	1,737	0,1680
Dužina tarsusa (mm)	1,001	0,1460
Razmak tarsus- prst (mm)	2,960	0,1701

Tablica 5. Prikaz rezultata mjerenja 21 morfometrijske mjere, izraženih kroz srednju vrijednost i standardnu pogrešku koji su svrstani prema stadijima razvoja punoglavaca (stadij 27, 28,31 i 36). Mjerenje je provedeno na lokaciji Rajić (n= 63).

	Stadij 27		**Stadij 28**		**Stadij 31**		**Stadij 36**	
Morfometrijske mjere punoglavaca	Srednja vrijednost	Standardna Pogreška	Srednja Vrijednost	Standardna pogreška	Srednja vrijednost	Standardna pogreška	Srednja vrijednost	Standardna Pogreška
Ukupna dužina tijela (mm)	26,343	0,7698	27,589	0,3171	27,763	2,639	31,858	0,4740
Dužina tijela (mm)	11,377	0,1255	11,655	0,1254	12,843	0,5768	13,033	0,2128
Dužina repa (mm)	15,103	0,9103	16,165	0,2560	15,300	2,3056	18,792	0,6054
Maksimalna širina tijela (mm)	7,623	0,0555	7,559	0,0727	8,243	0,4698	8,360	0,2523
Promjer oka	1,353	0,0203	1,404	0,0231	1,600	0,1589	1,673	0,0361
Razmak oko-nosnica (mm)	0,887	0,0406	0,841	0,0182	0,807	0,0418	0,770	0,0406
Razmak nosnica-usta (mm)	1,557	0,2761	1,512	0,0434	1,487	0,0797	1,158	0,1530
Razmak između orbita (mm)	2,627	0,0219	2,509	0,0496	2,890	0,1692	3,103	0,0551
Razmak oko- usta (mm)	4,107	0,2491	3,998	0,0580	4,393	0,2433	4,050	0,1298
Širina glave (mm)	6,753	0,1135	6,563	0,0684	6,817	0,3254	6,615	0,2381
Razmak oko- rep (mm)	7,990	0,2982	8,228	0,1021	9,383	0,4013	9,965	0,1670
Visina repa (mm)	1,910	0,0361	2,134	0,0771	2,287	0,2924	2,460	0,1962
Maksimalna visina repa 1 (mm)	4,147	0,3267	3,810	0,1394	4,243	0,2985	4,143	0,6728
Širina repa (mm)	1,590	0,1629	1,671	0,0702	1,625	0,0939	1,615	0,0035
Dužina mišićja repa (mm)	13,857	0,8881	15,036	0,2402	14,207	2,6382	18,148	0,6817
Maksimalna visina repa (mm)	4,187	0,2109	4,317	0,1111	4,783	0,2251	5,038	0,4041
Maksimalna visina repnog mišićja (mm)	1,660	0,1473	1,666	0,0524	1,577	0,1345	1,848	0,0772
Visina gornjeg dijela peraje (mm)	1,557	0,0524	1,570	0,0761	1,950	0,1850	1,613	0,1179
Visina donjeg dijela peraje (mm)	1,617	0,2643	1,435	0,0608	1,337	0,1695	1,910	0,1583
Dužina tijela i repnog mišićja (mm)	25,567	0,8391	26,452	0,3039	26,640	3,0125	31,243	0,5704
Širina usta (mm)	3,020	0,0416	3,290	0,0305	3,507	0,0829	3,553	0,0309

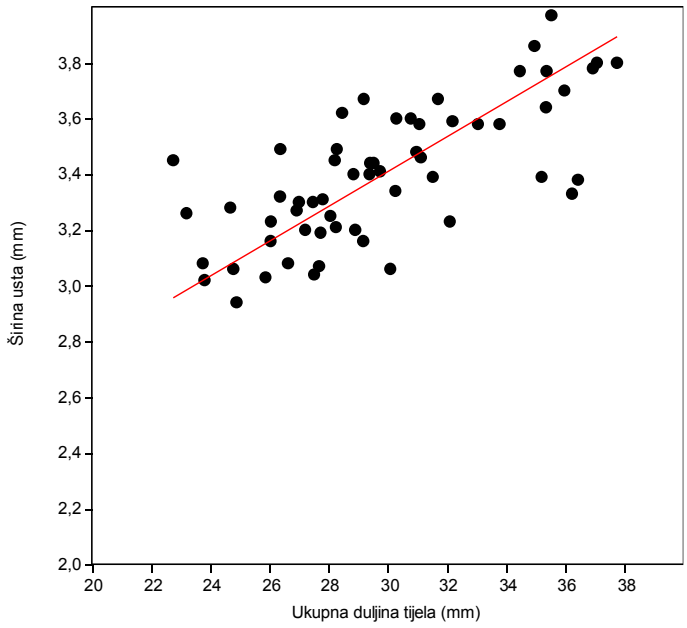
Tablica 6. Prikaz rezultata mjerenja 25 morfometrijskih mjera, izraženih kroz srednju vrijednost i standardnu pogrešku koji su svrstani prema stadijima razvoja punoglavaca (stadij 38, 39,40 i 41). Mjerenje je provedeno na lokaciji Rajić (n= 63).

	Stadij 38		**Stadij 39**		**Stadij 40**		**Stadij 41**	
Morfometrijske mjere punoglavaca	Srednja vrijednost	Standardna Pogreška	Srednja vrijednost	Standardna pogreška	Srednja vrijednost	Standardna pogreška	Srednja vrijednost	Standardna pogreška
Ukupna dužina tijela (mm)	32,730	1,7694	35,787	0,4341	36,220	0,8500	35,653	0,3037
Dužina tijela (mm)	14,486	0,4379	15,307	0,1627	15,280	0,4100	14,290	0,1301
Dužina repa (mm)	18,732	1,5179	21,097	0,2448	21,285	0,6950	21,893	0,2226
Makismalna širina tijela (mm)	9,332	0,2807	9,133	0,7683	9,500	0,1700	9,263	0,1938
Promjer oka	1,678	0,0641	1,873	0,0426	2,030	0,0200	1,927	0,0517
Razmak oko- nosnica (mm)	0,826	0,0453	0,913	0,0441	0,855	0,0550	0,890	0,0702
Razmak nosnica- usta (mm)	1,336	0,0662	1,640	0,0917	1,530	0,0200	1,347	0,0649
Razmak između orbita (mm)	3,590	0,1303	3,823	0,0203	3,540	0,1100	3,763	0,0667
Razmak oko- usta (mm)	4,542	0,1710	5,063	0,1419	5,085	0,0050	4,920	0,0954
Širina glave (mm)	7,238	0,2120	8,407	0,6791	7,530	0,4500	7,533	0,1791
Razmak oko- rep (mm)	11,022	0,3615	11,360	0,2065	11,285	0,5350	10,500	0,1401
Visina repa (mm)	2,560	0,1540	3,037	0,1533	2,955	0,1550	2,677	0,1965
Maksimalna visina repa 1 (mm)	3,293	0,1068	3,950	0,1026	3,690	0,2800	3,543	0,1419
Širina repa (mm)	2,098	0,1628	1,963	0,0677	2,035	0,1150	2,017	0,1740
Dužina mišićja repa (mm)	17,982	1,5227	20,620	0,2043	20,520	0,7900	21,107	0,1719
Maksimalna visina repa (mm)	5,998	0,1140	6,187	0,2717	5,995	0,0350	5,653	0,1868
Maksimalna visina repnog mišićja (mm)	2,006	0,1646	2,043	0,1499	2,080	0,1900	1,867	0,1714
Visina gornjeg dijela peraje (mm)	2,126	0,1525	2,470	0,1710	2,390	0,1400	2,110	0,1646
Visina donjeg dijela peraje (mm)	2,216	0,0946	2,230	0,1308	1,865	0,0850	2,050	0,1153
Dužina tijela i repnog mišićja (mm)	32,088	1,7306	35,273	0,4508	35,420	1,0400	34,883	0,2916
Širina usta (mm)	3,570	0,1015	3,647	0,1411	3,785	0,0150	3,563	0,2041
Dužina bedra (mm)	1,742	0,2390	2,807	0,3683	2,980	0,3100	3,530	0,3828
Dužina tibiofibule (mm)	1,160	0,2391	2,183	0,2037	1,995	0,1250	2,333	0,4433
Dužina tarsusa (mm)	0,576	0,2098	1,167	0,0953	1,335	0,2850	1,223	0,3571
Razmak tarsus- prst (mm)	2,572	0,2752	3,203	0,2543	3,165	0,0650	3,693	0,3970

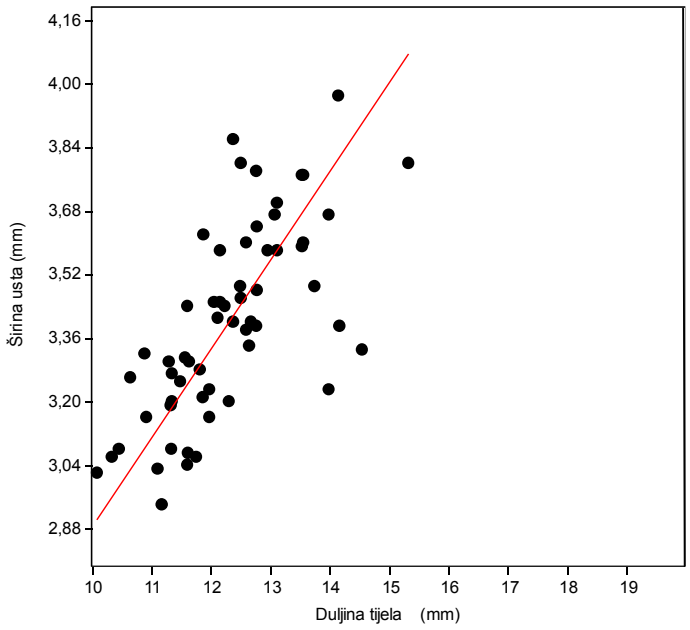


Slika 9. Prikaz promjene ukupne dužine tijela 44 punoglavca sa promjenom stadija razvoja punoglavaca (prema Gosner 1960). Stadiji 27, 29, 32, 35, 39, 40 i 42 nisu prikazani zbog malog broja punoglavaca u tim stadijima i bolje preglednosti grafikona.

Prema vrijednosti p od $1{,}060 \times 10^{-10}$, u ovom uzorku, odnos ukupne dužine tijela i širine usta punoglavaca smeđe krastače je statistički značajan, a vrijednost r od 0,722 upućuje na dobru povezanost među navedenim varijablama, što je slučaj i sa odnosom dužine tijela i širine usta koji je, također, statistički značajan ($1{,}731 \times 10^{-9}$) te postoji umjerena povezanost među tim varijablama (r=0,688). Stoga, u oba slučaja postoji generalna tendencija da punoglavci veće ukupne dužine tijela i dužine tijela imaju šira usta (Slika 10 i 11.)



Slika 10. Prikaz odnosa ukupne dužine tijela (mm) i širine usta (mm) punoglavaca smeđe krastače sakupljenih na lokaciji Rajić (n=63, r=0,722, r^2=0,521,p=1,060x 10^{-10}).

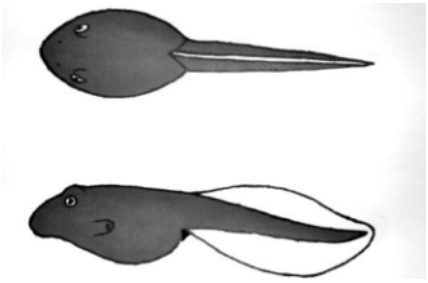
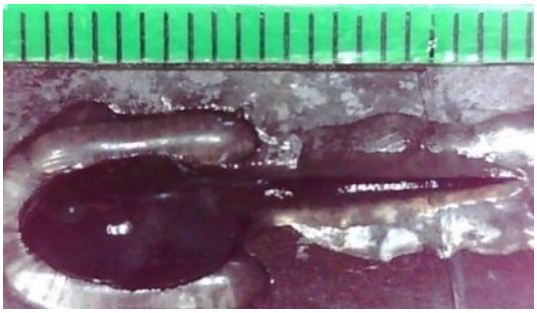


Slika11. Prikaz odnosa dužine tijela (mm) i širine usta (mm) punoglavaca smeđe krastače sakupljenih na lokaciji Rajić (n=63, r=0,688, r^2=0,473, p=1,731x 10^{-9}).

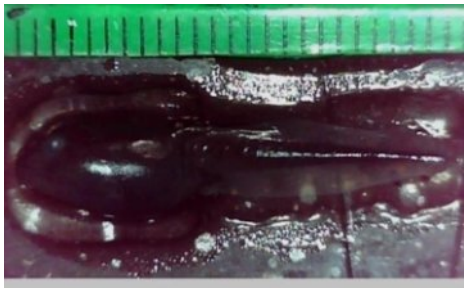
U ovom radu razvoj punoglavaca praćen je od 28. travnja 2015. do 3. lipnja 2015. na lokaciji Rajić kada je završio proces preobrazbe punoglavaca smeđe krastače koji je trajao 67 dana. Također, od 50 jedinki punoglavaca koji su stavljeni u plastičnu kadicu, pronađeno je i izmjereno 27 punoglavaca dok preostalih 23 nije pronađeno. Prema Gosner (1960) punoglavci od 26. do 38. stadija razvoja su najpogodniji za precizno identificiranje i istraživanje morfometrije punoglavaca. Ovim radom su obuhvaćeni punoglavci smeđe krastače od 27. do 42. stadija razvoja, a identifikacija stadija se provodila proučavanjem razvoja stražnjih nogu punoglavaca. Morfometrijske mjere, iz kojih su izračunate srednje vrijednosti i vrijednosti standardnih pogrešaka, navedene u tablicama, dobivene su mjerenjem u programu Klonk Image Measurement Trial pri čemu je jedinična mjera bila 5 mm, počevši od početka 1. do početka 5. crne crte na skali prikazanoj na slikama punoglavaca. Mjerenja struktura vršena su od početnih margina struktura, osim kod mjerenja dužine bedra gdje je mjerenje vršeno od sredine te strukture.

Kod punoglavaca smeđe krastače u stadiju 27 i 28 (prema Gosner 1960) koji su zabilježeni u uzorku od 36 punoglavaca sakupljenih 28. travnja 2015., vidljiv je početak razvoja stražnjih nogu (Slike 12 i 13). Kod 3 punoglavca u stadiju 27 zabilježena je dužina začetka noge veća od polovice promjera začetka, a u stadiju 28 ta dužina je većinom bila jednaka promjeru začetka nogu, osim kod punoglavaca pod rednim brojem 8. i 34. gdje je bila veća od promjera začetka nogu. Uočeno je i da punoglavci u stadiju 28 mogu imati neke

vrijednosti morfometrijskih mjera koje su manje od vrijednosti istih mjera u stadiju 27 kao što je primjer dužine repa čija je minimalna dužina od 13,45 mm (izuzeti punoglavci nepoznatog stadija) zabilježena u stadiju 28 kao i ukupne dužine tijela čija je minimalna vrijednost od 23,75 mm (izuzeti punoglavci nepoznatog stadija) zabilježena, također, u stadiju 28.

A  B 

Slika 12. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 27 (prema Gosner 1960), sa lokacije Rajić, sakupljenog 28.travnja 2015.

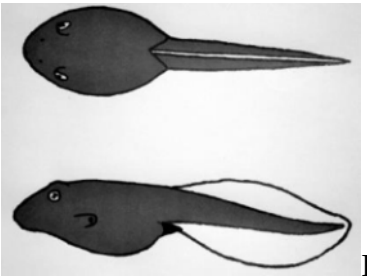
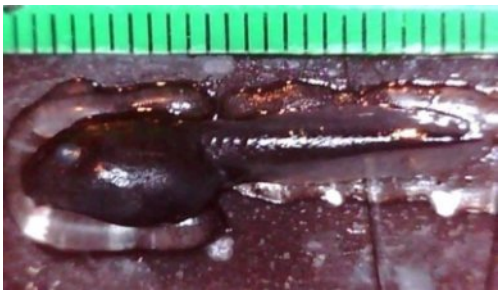
A B 

Slika 13. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 28 (prema Gosner 1960).

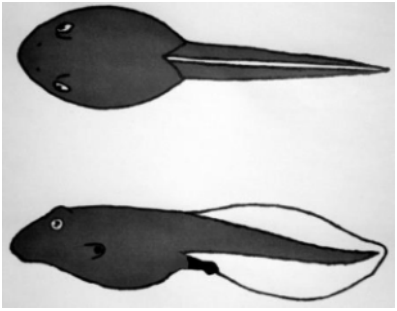
8.svibnja 2015. izuzeto je 10 od ukupno 50 punoglavaca smeđe krastače koji su se nalazili u plastičnoj kadici. Na slikama od 14. do 18. se nalaze punoglavci smeđe krastače u 29., 31., 32., 35. i 36. stadiju razvoja koji potječu iz tog uzorka punoglavaca. Kod punoglavca iz stadija 29, uočena je veća dužina začetka stražnjih nogu nego u prijašnjim stadijima te je bila jednaka 3/2 promjera začetka (Slika 14). U stadiju 32, 35 i 36 nastavljen je razvoj prstiju stražnjih nogu te se u stadiju 32 mogu razlikovati četvrti i peti prst (Slika 16). U stadiju 34 se mogu razlikovati drugi i treći prst, u stadiju 35 postaju vidljivi prvi i drugi prst (Slika 17) dok su u stadiju 36 prsti od trećeg do petog postali odvojeni (Slika 18). Vremenski razmak između stadija 28 i 29 iznosio je 11 dana (od 28. travnja do 8. svibnja) dok vremenski razmak između

stadija 27 i 28 u uzorku od 28. travnja nije moguće odrediti budući da se radi o punoglavcima iz istog uzorka što je slučaj i sa stadijima 29, 31, 32, 35 i 36 iz uzorka od 8. svibnja.

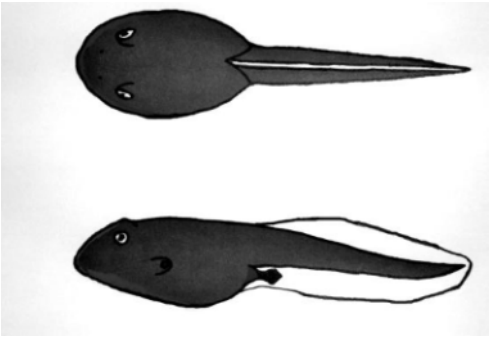
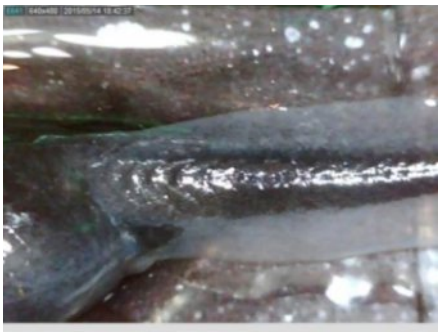
U uzorku od 10 punoglavaca sakupljenih 8. svibnja, za 9 punoglavaca je bilo moguće odrediti stadij razvoja te je zabilježeno čak pet različitih stadija (prema Gosner 1960). Najviše punoglavaca zabilježeno je u stadiju 31 i 36 što ukazuje da postoji tendencija prema kojoj se tijekom 11 dana razvoja određeni punoglavci razvijaju različitim brzinama. Također, na to ukazuje i maksimalna vrijednost dužine tijela od 13,99 mm koja je zabilježena u stadiju 31 u kojem je zabilježena i njezina minimalna vrijednost od 12,16 mm kao što vrijedi i za maksimalne vrijednosti maksimalne širine tijela (9,18 mm) i širine glave (7,45 mm) koje su, u ovom uzorku, zabilježene u 31 stadiju.

A  B 

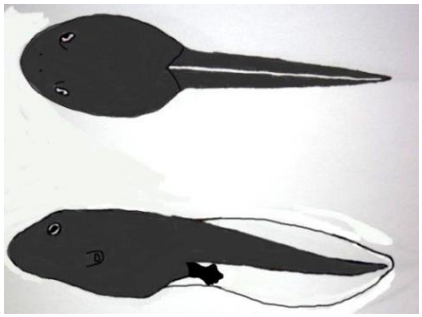
Slika 14. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 29 (prema Gosner 1960), sa lokacije Rajić, sakupljenog 8. svibnja 2015.

A  B

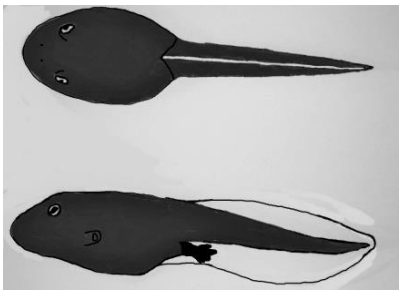
Slika 15. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 31 (prema Gosner 1960).

A  B 

Slika 16. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 32 (prema Gosner 1960).

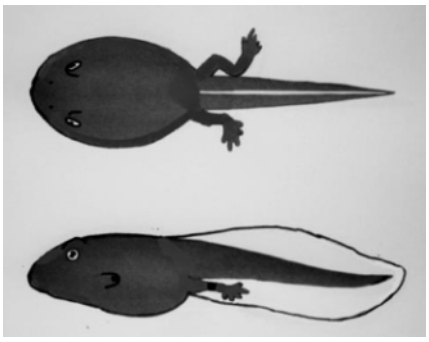
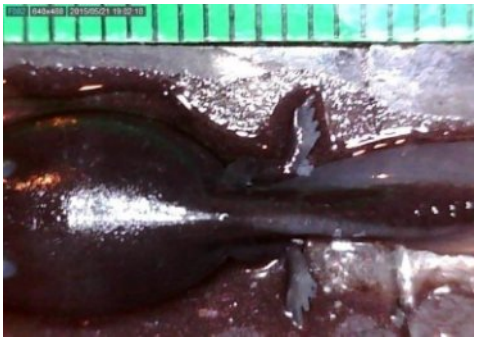
A  B

Slika 17. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 35 (prema Gosner 1960).

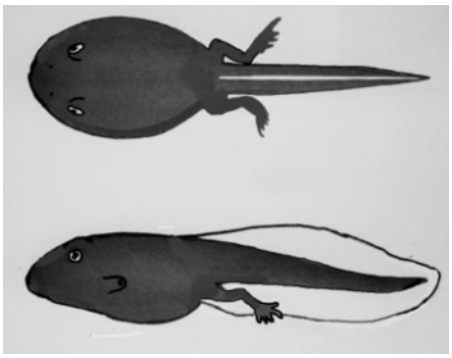
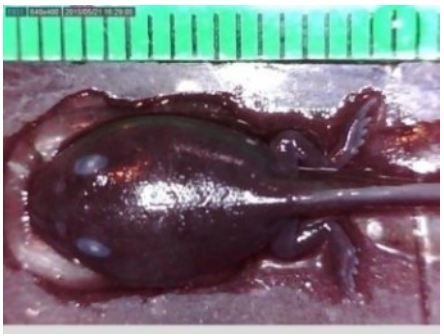
A  B

Slika 18. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 36 (prema Gosner 1960).

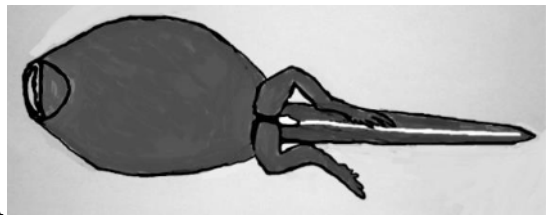
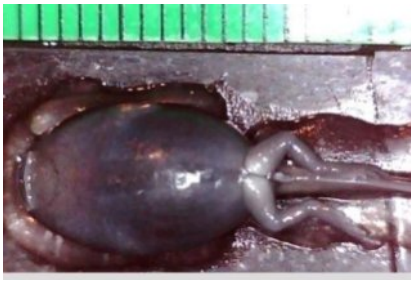
15. svibnja 2015. prikupljen je uzorak od 10 punoglavaca iz plastične kadice radi mjerenja i određivanja stadija razvoja. Na slikama od 19. do 21. nalaze se punoglavci smeđe krastače u stadijima 38, 39 i 40. U stadiju 38 utvrđena je unutarnja metatarzalna kvržica (Slika 19). U stadiju 40 još je bila vidljiva ventralna cijev (Slika 21). U ovom istraživanju vremenski razmak među stadijima 36 i 38 bio je 7 dana dok se za ostala dva stadija ne može odrediti vremenski razmak jer potječu iz istog uzorka.

A  B 

Slika 19. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 38 (prema Gosner 1960), sa lokacije Rajić, sakupljenog 15. svibnja 2015.

A  B 

Slika 20. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 39 (prema Gosner 1960).

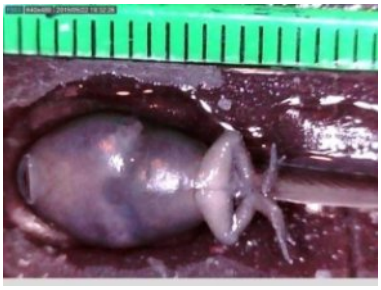
A  B 

Slika 21. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 40 (prema Gosner 1960).

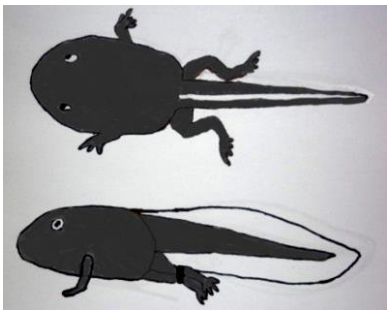
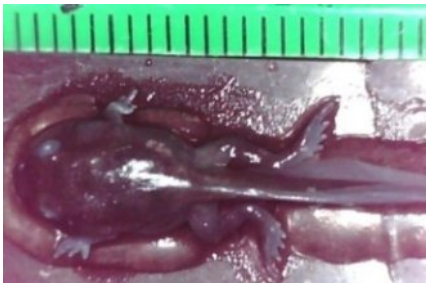
U uzorku od 15. svibnja, nakon 7 dana razvoja punoglavaca, od ukupno 9 punoglavaca kojima je bilo moguće odrediti stadij razvoja, zabilježena su tri različita stadija razvoja punoglavaca. Najviše punoglavaca (4 punoglavca) nalazio se u stadiju 38, a najmanje u stadiju 40 (dva punoglavca). Također, maksimalna vrijednost dužine tijela (16,03 mm) nije zabilježena u stadiju 40, kao što bi bilo očekivano, nego u stadiju 38 kao što je slučaj i sa

maksimalnom dužinom repa (22,11 mm) zabilježenom u stadiju 38. Stoga je i u ovom uzorku vidljiva tendencija da pojedini punoglavci imaju različitu brzinu razvoja.

19. svibnja 2015. iz plastične kadice, prikupljen je uzorak od 7 punoglavaca smeđe krastače, od kojih se samo jedna jedinka nalazila u stadiju 42. Nakon stadija 41 prednje noge su postale vidljive, a ventralna cijev počinje izostajati (Slika 23). Vremenski razmak između stadija 40 i 41 bio je 4 dana (od 15. svibnja - 19. svibnja). Također, u uzorku punoglavaca od 19. svibnja zabilježena je tendencija različitih brzina razvoja punoglavaca smeđe krastače jer je u uzorku od 6 punoglavaca (za koje je bilo moguće odrediti stadij razvoja) zabilježeno 4 različita stadija razvoja te je najveći broj punoglavaca zabilježen u stadiju 41 dok su ostali stadiji imali po jednog punoglavca. Također, na različitu brzinu razvoja pojedinih punoglavaca ukazuje i nalaz stadija 36 u ovom uzorku što je 11 dana nakon prve pojave tog stadija zabilježene u uzorku od 8. svibnja. Isto vrijedi i za nalaz punoglavca u stadiju 38 u ovom uzorku koji ima niže vrijednosti morfometrijskih mjera od punoglavaca iz istog stadija u uzorku od 15. svibnja.

A B 

Slika 22. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 41 (prema Gosner 1960), sa lokacije Rajić, prikupljenog 19. svibnja 2015.

 B 

Slika 23. A. Skica i B. Fotografija punoglavca smeđe krastače u stadiju 42 (prema Gosner 1960).

4. RASPRAVA

Raspon između minimalnih i maksimalnih vrijednosti dužine i mase tijela mužjaka, u ovom radu, se slaže s rezultatima Curl (2008) gdje je raspon između minimalne i maksimalne dužine tijela (6,10-8,01 cm) i mase mužjaka (20-61 g) vrlo sličan onom u mom istraživanju. Kod ženki, u istraživanju Curl (2008) radi se o manjim jedinkama te je raspon dužine tijela (7,14-9,24 cm) i mase (45-80 g) nešto drukčiji od raspona dužine i mase tijela ženki u mom istraživanju, koje imaju veću dužinu i masu tijela. Takvi rezultati u oba istraživanja su posljedica spolnog dimorfizma između mužjaka i ženki koji se očituje većom dužinom tijela ženki u odnosu na mužjake, a budući da, u ovom radu, postoji generalna tendencija da mužjaci i ženke veće tjelesne mase imaju veću dužinu tijela, spolni dimorfizam može se očitovati i masom mužjaka i ženki (veća masa ženki, a manja mužjaka).

Budući da prema rezultatima ovog rada odnos mase tijela mužjaka smeđe krastače i ukupnog broja spermija nije statistički značajan, masa mužjaka ne utječe na ukupni broj spermija. Također, postoji tendencija da teži mužjaci imaju veću dužinu tijela te se može zaključiti da i dužina tijela ne utječe na ukupni broj spermija. To se slaže s rezultatima Hettyey i sur. (2012) koji navode da dužina tijela nema značajan utjecaj na broj spermija u testisima niti na uspijeh oplodnje jer prema njegovim rezultatima odnos dužine tijela mužjaka i broja spermija u testisima nije statistički značajan ($p=0,286$). Ipak, u ovom radu je vidljiva generalna tendencija da teži mužjaci imaju veći ukupan broj spermija iako najveći mužjak odstupa od takve tendencije što može biti posljedica raspada spermija kod mužjaka koji su, nakon stradavanja, dulje vrijeme ostali na prometnici te prilikom analize takvi spermiji nisu uočeni dok drugi razlog može biti gubitak spolnog nagona kod najvećih (starijih) mužjaka zbog čega dolazi do smanjenja broja spermija. Također, na temelju rasta broja spermija do određene tjelesne mase mužjaka nakon koje se taj broj smanjuje, može se zaključiti da broj spermija ne raste kontinuirano sa rastom mužjaka nego raste do određene mase i opada sa starošću mužjaka.

U ovom istraživanju prilikom proučavanja pokretljivosti spermija nije uočen niti jedan pokretan spermij što je vjerojatno posljedica okolnosti vezanih uz prikupljanje mužjaka koje se odvijalo nakon njihovog stradavanja na prometnicama na dvjema navedenim lokacijama te je prošlo određeno vrijeme između njihovog pronalaska i stavljanja u hladnjak što reducira vijabilnost i pokretljivost spermija.

Iako u mom istraživanju postoji generalna tendencija da teže ženke proizvode više jaja, odnos mase tijela ženki i broja jaja nije statistički značajan što nije u skladu s rezultatima Reading-a (1986) koji navodi postojanje velike korelacije broja jaja sa dužinom i masom tijela ženki. Jedan od razloga za izostanak značajne korelacije, uz malu veličinu uzorka ženki, vjerojatno je prisustvo 2 (3. i 5.) ženke sa vijabilnim i nevijabilnim jajima manjeg promjera i brojnosti. Prema Banks i Beebee (1986) upravo je nevijabilnost gameta jedan od faktora koji ograničava eksponencijalni rast broja jaja sa starošću kod ženki vrste *Bufo calamita*. Ženke pod rednim brojem 3. i 5., sudeći po masi i dužini tijela, predstavljaju starije ženke što se može dovesti u vezu s pojavom tako velikog udjela nevijabilnih jaja u ukupnoj masi jaja, ali je, također, iz ovog uzorka ženki vidljivo da najveća i vjerojatno najstarija ženka ima samo vijabilna jaja što potvrđuje pretpostavku da iako najčešće starije ženke imaju veći broj neoplođenih jaja, to nije uvijek slučaj. Također, prema rezultatima istraživanja na populaciji, koja se mrijestila u trećem Maksimirskom jezeru 2006. godine, starost jedinki se ne može sa sigurnošću utvrditi na osnovu dužine tijela (Curl 2008), a Gittins i sur. (1985) zaključuju da nema značajnog odnosa između dužine tijela i starosti krastača te u svojem radu navode i da su neke od najmanjih krastača ujedno bile i najstarije. Stoga, postoji mogućnost da najveće ženke u uzorku od 5 ženki sa lokacije Rajić nisu i najstarije.To se slaže s rezultatima Banks i Beebee (1986) koji navode da starost, iako je najčešći uzrok pojave nevijabilnih jaja nije jednini. Prema Salthe (1969) i Wilbur (1977) veća jaja imaju prednost jer se iz njih razvijaju i veći potomci koji će se ranije metamorfozirati. Stoga, u ovom uzorku, vijabilna i nevijabilna jaja, koja su manjeg promjera od vijabilnih jaja, mogu utjecati na reproduktivni uspjeh ženki i na razvoj punoglavaca smeđe krastače.

Iako je, u ovom radu, preobrazba punoglavaca sa lokacije Rajić trajala neznatno dulje od optimalnog perioda preobrazbe (50- 65 dana), ne razlikuje se značajno od rezultata koje navode Kovalenko i Kruzhkova (2013) gdje su prvi punoglavci završili preobrazbu 66. dana i Bulaić (2008) gdje je preobrazba trajala 62 dana. U mom istraživanju, od 50 punoglavaca, 27 se razvilo do određenog stadija dok ostalih 23 nije pronađeno što je vjerojatno posljedica mortaliteta u ranim stadijima razvoja u velikim grupama ličinki. Mortalitet punoglavaca je teško pratiti jer se uginule jedinke vrlo brzo razgrade ili ih iskoriste žive ličinke. U svojim rezultatima, Kovalenko i Kruzhkova (2013) navode da je od 1648 jedinki, oko 120 jedinki uginulo u ranim stadijima razvoja, ubrzo nakon napuštanja jaja dok je 57 larvi uginulo tijekom preobrazbe. Jedan od mogućih razloga takvog mortaliteta je veća gustoća punoglavaca u kadici s kojom, prema Reading i Clarke (1999) proporcionalno raste mortalitet punoglavaca.

U uzorku od 36 punoglavaca, koji su sakupljeni direktno iz mrjestilišta i zatim mjereni, nije bilo velikog broja stadija i velikih promjena vrijednosti morfometrijskih mjera, iako su neke morfometrijske mjere imale veće vrijednosti u nižem, a ne u višem stadiju razvoja. Razlog tome može biti u kasnijem metamorfoziranju odnosno metamorfoziranju punoglavaca pri manjoj veličini gdje oni mogu doseći određeni stadij, ali imaju manju veličinu nego što bi bilo karakteristično za određeni stadij. To se slaže s rezultatima Lynn i Edelman (1936), Brockelman (1969), Hota i Dash (1981) gdje pri većoj gustoći punoglavaca manji punoglavci mogu uginuti ili se kasnije metamorfozirati i metamorfozirati se pri manjoj veličini.

Suprotno uzorcima s mrjestilišta, uzorci izuzeti iz plastične kadice imali su velik broj različitih stadija te je iz vremenskog razmaka između stadija vidljivo da pojedini punoglavci brže prelaze u više stadije dok je kod drugih to sporije. Primjerice, u uzorku od 8. svibnja, gdje je razmak između 28. i 29. stadija 11 dana, ne postoji samo stadij 29, već i stadij 31, 32, 35 i 36. Stoga, u tih 11 dana neki punoglavci brže prelaze u više stadije, a drugi sporije. To se slaže s rezultatima istraživanja na vrstama kao što su *Rana pipiens, Bufo americanus i Pseudacris triseriata,* koja su provodili Lynn i Edelman (1936), Rose (1960), Brockelman (1969) i Smith (1983), gdje je brzina rasta punoglavaca obrnuto proporcionalna gustoći punoglavaca, dok je trajanje stadija punoglavaca prilikom preobrazbe proporcionalno gustoći punoglavaca. Budući da punoglavac u stadiju 38 u uzorku od 19. svibnja ima niže vrijednosti morfometrijskih mjera od punoglavaca iz istog stadija u uzorku od 15. svibnja vidljivo je da on ulazi u stadij 38 pri manjoj veličini od punoglavaca od 15. svibnja. Također, sporiji razvoj određenih punoglavaca u uzorku od 63 punoglavaca potvrđuje i primjer pojave punoglavca u stadiju 36 u uzorku od 19. svibnja, što je 11 dana nakon prve pojave tog stadija u uzorku od 8. svibnja. Možemo zaključiti da se tu radi o manjim punoglavcima kod kojih je veća gustoća punoglavaca uzrokovala sporiji razvoj. To se slaže s pretpostavkom da gustoća populacije punoglavaca ne utječe jednako na sve punoglavce jer najčešće brzina rasta velikih punoglavaca i njihova veličina pri metamorfozi nisu utjecane velikom gustoćom dok kod malih punoglavaca to može uzrokovati ugibanje ili sporiji razvoj.

Također, razvoj punoglavaca je povezan sa veličinom i promjerom jaja koje položi ženka smeđe krastače jer dio ženki smeđe krastače proizvodi manji broj velikih jaja dok druge proizvode veliki broj malih jaja što utječe na veličinu i gustoću punoglavaca. Tako je moguće da će kod 3. i 5. ženke iz mog uzorka ženki, ako i dođe do razvoja punoglavaca iz vijabilnih i nevijabilnih jaja manjeg promjera, oni biti manji i sporijeg rasta što im otežava optimiziranje

tjelesne veličine prilikom preobrazbe i postizanje dobrih fizioloških osobina za terestrički okoliš.

U ovom radu postoji generalna tendencija da ukupna dužina tijela punoglavaca raste od nižeg prema višem stadiju razvoja (od 27.- 40. stadija), a u stadiju 41 i 42 se počinje smanjivati. Takvo smanjenje ukupne dužine tijela je posljedica smanjenja i postupnog gubitka repa koje počine u stadiju 42. Također, punoglavci veće ukupne dužine tijela i veće dužine tijela imaju i šira usta. Budući da su ukupna i dužina tijela veće u višem stadiju razvoja, šira usta su vjerojatno posljedica razvoja usta prema završnim stadijima preobrazbe jer Gosner (1960) navodi da nakon stadija 42 dolazi do promjene građe usta punoglavaca.

5. ZAKLJUČAK

- Iako postoji generalna tendencija da mužjaci veće mase imaju veći ukupan broj spermija, masa i dužina tijela ne utječu na ukupni broj spermija mužjaka smeđe krastače.

- Gustoća populacije punoglavaca ne utječe jednako na sve punoglavce jer najčešće brzina rasta velikih punoglavaca i njihova veličina pri metamorfozi nisu utjecane velikom gustoćom populacije punoglavaca dok kod manjih punoglavaca to može uzrokovati ugibanje ili sporiji razvoj.

- Razvoj punoglavaca smeđe krastače je povezan s veličinom i promjerom jaja koje položi ženka smeđe krastače jer o tome ovisi optimiziranje tjelesne veličine punoglavaca prilikom preobrazbe i poboljšanje fizioloških osobina za terestrički okoliš.

- Odnos mase tijela ženki i broja jaja nije statistički značajan, vjerojatno kao posljedica prisustva ženki sa nevijabilnim jajima.

- Potrebno je provesti višegodišnja istraživanja reproduktivnih značajki smeđe krastače da se utvrdi odnos morfometrijskih i reprodukcijskih značajki.

6.LITERATURA

Aday D. D., Wahl D. H., Philipp D. P. (2003): Assessing population- specific and environmental influences on bluegill life histories: a common garden approach. Ecology **84**: 3370-3375.

Agasyan A., Avisi A., Tuniyev B., Crnobrnja Isailovic J., Lymberakis P., Andrén C., Cogalniceanu D., Wilkinson J., Ananjeva N., Üzüm N., Orlov N., Podloucky R., Tuniyev S., Kaya U. (2009): *Bufo bufo*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014. 3., www.iucnredlist.org, pristupljeno 12.2.2015.

Alford R. A., Richards S. J. (1999): Global amphibian declines: a problem in applied ecology. Annual Review of Ecology and Systematics **30**: 133-165.

Allentoft M. E., O'Brien J. (2010): Global amphibian declines, loss of genetic diversity and fitness: A review. Diversity **2**: 47-71.

Angilletta M. J., Niewiarowski P. H., Navas C. A. (2002): The evolution of thermal physiology in ectotherms. Journal of Thermal Biology **27**: 249-268.

Arak A. (1983): Male- male competition and mate choice in anuran amphibians. Cambridge University Press, Cambridge.

Arnold E. N., Burton J. A. (1978): A field guide to the Reptiles and Amphibians of Britain and Europe. Collins, London.

Arnold E. N. (2002): A field guide to the reptiles and amphibians of Britain and Europe. Collins, London.

Aronson L. R. (1944): The sexual behavior of anuran. VI. The mating pattern of *Bufo americanus*, *Bufo fowleri*, and *Bufo terrestris*. American Museum Novitates **1250**: 1-15.

Banks B. (1985): Notes on the survival and development of pallid tadpoles of the natterjack toad *Bufo calamita* (Laurenti) from a Cumbrian saltmarsh pool. Bulletin British Herpetological Society **11**: 26-27.

Banks B., Beebee T. J. C. (1986): A comparison of the fecundities of two species of toad (*Bufo bufo* and *B. calamita*) from different habitat types in Britain. Journal of Zoology **208**: 325-337.

Bateman A. J. (1948): Intra- sexual selection in *Drosophila*. Heredity **2**: 349-368.

Beebee T. J. C. (1983): The Natterjack Toad. Oxford University Press, Oxford.

Beebee T. J. C. (1995): Amphibian breeding and climate. Nature **374**: 219-220.

Beebee T. J. C. (1996): Ecology and Conservation of Amphibians. Chapman and Hall, London.

Beebee T. J. C., Griffiths R. (2005): The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology? Biological Conservation **125**: 271-285.

Berger L., Speare R., Daszak P., Green E., Cunningham A. A., Goggin C. L., Slocombe R., Ragan M. A., Hyatt A. D., McDonald K. R., Hines H. B., Lips K. R., Marantelli B., Parker H. (1998): Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **95**: 9031-9036.

Berglund A. (1991): Egg competition in a sex- role reversed pipefish: subdominant females trade reproduction for growth. Evolution **45**: 770-774.

Birkhead T. R., Moller A. P. (1998): Sperm competition and sexual selection. Academic Press, Waltham.

Bissoondath C. J., Wiklund C. (1996): Effect of male mating history and body size on ejaculate size and quality in two polyandrous butterflies, *Pieris napi* and *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). Functional Ecology **10**: 457-464.

Blaustein A. R., Wake D. B. (1990): Declining amphibian populations: a global phenomenon? Trends in Ecology and Evolution **5**: 203-204.

Blaustein A. R., Wake D. B., Sousa W. P. (1994): Amphibian declines: Judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. Conservation Biology **8**: 60-71.

Blaustein A. R., Kiesecker J. M. (2002): Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. Ecology Letters **5**: 597-608.

Blaustein A. R., Belden L. K. (2003): Amphibian defenses against UV- B radiation. Evolution & Development **5**: 81-97.

Blaustein A. R., Han B. A., Relyea R. A., Johnson P. T., Buck J. C., Gervasi S. S., Kats L. B. (2011): The complexity of amphibian population declines: Understanding the role of cofactors in driving amphibian losses. Annals of the New York Academy of Sciences **1223**: 108-119.

Bourne G. R. (1993): Proximate costs and benefits of mate acquisition at leks of the frog *Ololygon rubra*. Animal Behaviour **45**: 1051-1059.

Brockelman W. Y. (1969): An analysis of density effects and predation in *Bufo americanus* tadpoles. Ecology **50**: 632-644.

Browne R. K., Clulow J., Mahony M. (2001): Short- term storage of cane toad (*Bufo marinus*) gametes. Reproduction **121**: 167-173.

Browne R. K., Davis J., Pomering M., Clulow J. (2002a): Storage of cane toad (*Bufo marinus*) sperm for 6 days at 0 degrees C with subsequent cryopreservation. Reproduction, Fertility and Development **14**: 267-273.

Browne R. K., Clulow J., Manony M. (2002b): The short- term storage and cryopreservation of spermatozoa from hylid and myobatrachid frogs. CryoLetters **23**: 29-36.

Browne R. K., Zippel K. (2007): Reproduction and Larval Rearing of Amphibians. Institute for Laboratory Animal Research (ILAR) Journal **48**: 214-234.

Browne R. K., Kaurova S. A., Uteshev V. K., Shishova N. V., McGinnity D., Figiel C. R., Mansour N., Agnew D., Wu M., Gakhova E. N., Dzyuba B., Cosson J. (2014): Sperm motility of externally fertilizing fish and amphibians. Theriogenology **12928**: 1-40.

Bulaić M. (2008): Rast ličinki *Bufo bufo* u Maksimiru. Diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 66 str.

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**: 347-355.

Cheong S., Sung H., Park S. (2008): Inability of mate and species recognition by male Asian toads, *Bufo gargarizans.* Animal Cells and Systems **12**: 93-96.

Cherry M. I. (1992): Sexual selection in the leopard toad, *Bufo partialis*. Behaviour **120**: 164-176.

Coles R. (2013): The use of genetic markers to reveal dynamic processes in a common toad (*Bufo bufo*) population. Dissertation. School of Environment and Life Sciences, University of Salford, 155 str.

Cooke A. S. (1977): Spawning dates of the frog (*Rana temporaria*) and the toad (*Bufo bufo*) in Britain. British Journal of Herpetology **5**: 585-589.

Cooke A. S. (1995): Road mortality of common toads (*Bufo bufo*) near a breeding site 1974-1994. Amphibia- Reptilia **16**: 87-90.

Cosson J., Groison A. L., Suquet M., Fauvel C., Dreanno C., Billard R. (2008): Studying sperm motility in marine fish: an overview on the state of the art. Journal of Applied Ichthyology **24**: 460-486.

Curl T. (2008): Određivanje starosti smeđe krastače (*Bufo bufo* L.) metodom skeletokronologije. Diplomski rad. Prirodoslovno- matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 39 str.

Cvetković D., Aleksić I., Crnobrnja- Isailovic J. (2003): Reproductive traits in common toad *Bufo bufo* from the vicinity of Belgrade. Archives of Biological Sciences **55**: 25-26.

Davies N. B., Halliday T. R. (1977): Optimal mate selection in the toad *Bufo bufo*. Nature **269**: 56-58.

Davies N. B., Halliday T. R. (1978): Deep croaks and fighting assessment in toads *Bufo bufo*. Nature **274**: 683-685.

Davies N. B., Halliday T. R. (1979): Competitive mate searching in male common toads, *Bufo bufo*. Animal Behaviour **27**: 1253-1267.

Del Rio A. G. (1979): Metabolism of amphibian spermatozoa in relation to their motility. Experimentia **35**: 185-186.

Duellman E. W., Trueb L. (1986): Biology of Amphibians. The Johns Hopkins University Press, Baltimore.

Duellman E. W., Trueb L. (1994): Biology of Amphibians. The Johns Hopkins University Press, Baltimore.

Đorđević S., Simović A. (2014): Strange affection: male *Bufo bufo* (Anura: Bufonidae) passionately embracing a bulge of mud. Ecologica Montenegrina **1**: 15-17.

Eibl- Eibesfeldt I. (1950): Ein Beitrag zur Paarungsbiologie der Erdkrote (*Bufo bufo* L.). Behaviour **2**: 217-236.

Epel D., Hemela K., Shick M., Patton C. (1999): Development in the floating world: defenses of eggs and embryos against damage from UV radiation. American Zoologist **39**: 271-278.

Fahring L., Pedlar J. H., Pope S. E., Taylor P. D., Wegner J. F. (1995): Effect of road traffic on amphibian density. Biological Conservation **73**: 177-182.

Fahring L. (2003): Effects of habitat fragmentation on biodiversity. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics **34**: 487-515.

Fahring L., Rytwinski T. (2009): Effects of Roads on Animal Abundance: an Empirical Review and Synthesis. Ecology and Society **14:** 1-20.

Filz K. J. (2013): Global change impacts on biodiversity and their implications for species conservation. Dissertation. Geowissenschaften, Universität Trier, 210 str.

Forester D. C., Czarnowsky R. (1985): Sexual selection in the springer peeper, *Hyla crucifer* (Amphibia, Anura): role of the advertisement call. Behaviour **92**: 112-128.

Frost D. R., Grant T., Faivovich J., Bain R. H., Haas A., Haddad C. F. B., de Sa´ R O., Channing A., Wilkinson M., Donnellan S. C., Raxworthy C. J., Campbell J. A., Blotto B. L., Moler P., Drewes R. C., Nussbaum R. A., Lynch J. D., Green D. M., Wheeler W. C. (2006): The amphibian tree of life. Bulletin of the American Museum of Natural History **297**: 1-370.

Gibbons M. M., McCarthy T. K. (1986): The reproductive output of frogs *Rana temporaria* (L.) with particular reference to body size and age. Journal of Zoology **209**: 579-593.

Gittins S. P., Parker A. G., Slater F. M. (1980): Population characteristics of the common toad (*Bufo bufo*) visiting a breeding site in Mid- Wales. Journal of animal ecology **49**: 161-173.

Gittins E. N., Kennedy R. I., Williams R. (1985): Aspects on the population age- structure of the common toad (*Bufo bufo*) at LIandrindod Wells Lake, Mid- Wales. British Journal of Herpetology **6**: 447-449.

Glista D. J., Devault T. L., Dewoody J. A. (2007): Vertebrate road mortality predominantly impacts amphibians. Herpetological Conservation and Biology **3**: 77-87.

Gosner K. L. (1960): A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. Herpetologica **16**: 183-190.

Hayes T. B. (1997): Amphibian metamorphosis- an Intergrative approach. American Zoologist **37**: 121-123.

Hels T., Buchwald E. (2001): The effect of road kills on amphibian populations. Biological Conservation **99**: 331-340.

Hemmer H., Kadel K. (1971): Untersuchungen zur Laichgrobe nebst Bemerkungen zur Populationsdynamik der Kreuzkrote (*Bufo calamita* Laur.) und der Wechselkrote (*Bufo viridis* Laur.). Zoologische Beiträge **17**: 327-336.

Hettyey A., Vági B., Hevizi G., Török J. (2009): Changes in sperm stores, ejaculate size, fertilization success, and sexual motivation over repeated matings in the common toad, *Bufo bufo* (Anura: Bufonidae). Biological Journal of the Linnean Society **96**: 361-371.

Hettyey A., Vági B., Török J., Hoi H. (2012): Allocation in reproduction is not tailored to the probable number of matings in common toad (*Bufo bufo*) males. Behavioral Ecology and Sociobiology **66**: 201-208.

Hodrova M. (1985): Beitrag zur populationsdynamik der Erdkröte, *Bufo bufo*. Folia Zoologica **34**: 159-170.

Höglund J., Robertson G. M. (1987): Random mating by size in a population of common toads (*Bufo bufo*). Amphibia- Reptilia **8**: 321-330.

Höglund J. (1989): Pairing and spawning patterns in the common toad, *Bufo bufo*: the effects of sex ratios and the time available for male- male competition. Animal Behaviour **38**: 423-429.

Hota A. K., Dash M. C. (1981): Growth and metamorphosis of *Rana tigrina* larvae: effects of food level and larval density. Oikos **37**: 349-352.

Houlahan J. E., Findlay C. S., Schmidt B. R., Myer A. H., Kuzmin S. L. (2000): Quantitative evidence for global amphibian population declines. Nature **404**: 752-755.

Howard R. D., Kluge A. G. (1985): Proximate mechanisms of sexual selection in wood frogs. Evolution **39**: 260-277.

http://www.bbz.hr/bjelovarsko-bilogorska-zupanija/detaljnije/zemljopisni-polozaj.htm. pristupljeno 7.9.2015.

Hussain Q. A., Pandit A. K. (2012): Global amphibian declines: A review. International Journal of Biodiversity and Conservation **4**: 348-357.

Iimori E., D'Occhio M. J., Lisle A. T., Jonston S. D. (2005): Testosterone secretion and pharmacological spermatozoal recovery in the cane toad (*Bufo marinus*). Animal Reproduction Science **90**: 132-173.

Indermaur L., Schaub M., Jokela J., Tockner K., Schmidt B. R. (2010): Differential response to abiotic conditions and predation risk rather than competition avoidance determine breeding site selection by anurans. Ecography **33**: 887- 895.

IUCN (2014): The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014. 3., http://www.iucnredlist.org, pristupljeno 10.2.2015.

Jameson D. L. (1955): Evolutionary trends in the court- ship and mating behavior of Salientia. Systematic Zoology **4**: 105-119.

Janev Hutinec B., Jovanović O., Šafarek G., Janković S. (2013): Žaba, Kača, Kuščar- Vodozemci i gmazovi u Međimurju. Međimurska priroda- Javna ustanova za zaštitu prirode, Mursko Središće.

Jelić D., Kuljerić M., Koren T., Treer D., Šalamon D., Lončar M., Podnar- Lešić M., Janev Hutinec B., Bogdanović T., Mekinić S., Jelić K. (2012): Crvena knjiga vodozemaca i gmazova Hrvatske (Red Book of Amphibians and Reptiles of Croatia). Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.

Jelić D. (2014): Checklist of Amphibians and Reptiles of Croatia with bibliography of 250 years of research. Croatian Institute for Biodiversity, Croatian Herpetological Society – Hyla, Zagreb.

Jørgensen C. B. (1986): External and internal control of patterns of feeding, growth and gonadal function in a temperate zone anuran, the toad *Bufo bufo*. Journal of Zoology **210**: 211-241.

Kaplan R. H., Salthe S. N. (1979): The allometry of reproduction: an empirical view in salamanders. American Naturalist **113**: 671–689.

Kaurova S. A., Uteshev V. K., Chekurova N. R., Gakhova E. N. (1997): Cryopreservation of testis of frog *Rana temporaria*. Infusionsther Transfusionsmed **24**: 78-79.

Kouba A. J., Vance C. K., Frommeyer M. A., Roth T. L. (2003): Structural and Functional Aspects of *Bufo americanus* Spermatozoa: Effects of Inactivation and Reactivation. Journal of experimental zoology **295**: 172-182.

Kovalenko E. E. (1985): Structure, development, and variability of the spine of the common frog (*Rana temporaria* L.), Extended Abstract of Candidate Sci. (Biol.) Dissertation, Leningrad.

Kovalenko E. E., Kruzhkova Y. I. (2013): Individual Variation in the Development of the Common Toad, *Bufo bufo* (Anura, Bufonidae): 1. Timing of Development and Anomalies of External Structure. Russian Journal of Developmental Biology **44**: 173-179.

Kwet A. (2005): Reptilien und Amphibien Europas. Franckh- Kosmos Verlags- GmbH & Co. KG, Stuttgart.

Lengagne T., Arthaud F., Cormier M., Joly P. (2007): Cost of sexually embracing a large female offset by the number of eggs fertilized for small male *Bufo bufo* L. Biological Journal of the Linnean Society **92**: 755-762.

Licht L. E. (1976): Sexual selection in toads (*Bufo americanus*). Canadian Journal of Zoology **54**: 1277-1284.

Lips K. R. (1999): Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in western Panama. Conservation Biology **13**: 117-125.

Liu C. C. (1931): Sexual behavior in the Siberian toad, *Bufo raddei* and the pond frog, *Rana nigromaculata*. Peking Natural History Bulletin **6**: 43-60.

Loman J., Madsen T. (1986): Reproductive tactics of large and small male toads *Bufo bufo*. Oikos **46**: 57-61.

Lynn W. G., Edelman A. (1936): Crowding and metamorphosis in the tadpole. Ecology **17**: 104-109.

Mansour N., Lahnsteiner F., Patzner R. A. (2010): Motility and cryopreservation of spermatozoa of European common frog *Rana temporaria*. Theriogenology **74**: 724-732.

Manteifel Y. B., Bastakov V. A. (1986): On the biology of Amphibia in the ecosystem of Lake Glubokoe. Hydrobiologia **141**: 135-137.

Marco A., Lizana M. (2002): The absence of species and sex recognition during mate search by male common toads, *Bufo bufo.* Ethology Ecology & Evolution **14**: 1-8.

Mollov I. A., Popgeorgiev G. S., Naumov B. Y., Tzankov N. D., Stoyanov A. Y. (2010): Cases of abnormal amplexus in anurans (Amphibia: Anura) from Bulgaria and Greece. Biharean Biologist **4**: 121-125.

Obringer A. R., O'Brien J. K., Saunders R. L. (2000): Characterization of the spermiation response, luteinizing hormone release and sperm quality in the American toad (*Bufo americanus*) and the endangered Wyoming toad (*Bufo baxiteri*). Reproduction, Fertility and Development **12**: 51-58.

Orlowski G. (2007): Spatial distribution and seasonal pattern in road mortality of the common toad *Bufo bufo* in an agricultural landscape of south– western Poland. Amphibia- Reptilia **28**: 25-31.

Poljak Ž. (2001): Hrvatske planine. Golden marketing, Zagreb.

Pounds J. A., Fogden M. P. L., Campbell J. H. (1999): Biological response to climate change on a tropical mountain. Nature **398**: 611-615.

Pounds J. A., Bustamante M. R., Coloma L. A., Consuegra J. A., Fogden M. P. L., Foster P. N., La Marca E., Masters K. L., Merino- Viteri A., Puschendorf R., Ron S. R., Sánchez-Azofeifa G. A., Still C. J., Young B. E. (2006): Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. Nature **439**: 161-167.

Reading C. J., Clarke R. T. (1983): Male breeding behaviour and mate acquisition in the common toad, *Bufo bufo*. Journal of Zoology **201**: 237-246.

Reading C. J. (1986): Egg production in the Common toad, *Bufo bufo*. Journal of Zoology **208**: 99-107.

Reading C. J. (1998): The effects of winter temperatures on the timing of breeding activity in the common toad *Bufo bufo*. Oecologia **117**: 469-475.

Reading C. J., Clarke R. T. (1999): Impacts of climate and density on the duration of the tadpole stage of the common toad *Bufo bufo*. Oecologia **121**: 310-315.

Reading C. J. (2003): The effects of variation in climatic temperature (1980- 2001) on breeding activity and tadpole stage duration in the common toad, *Bufo bufo*. Science of the Total Environment **310**: 231-236.

Reading C. J. (2010): The impact of environmental temperature on larval development and metamorph body condition in the common toad, *Bufo bufo*. Amphibia- Reptilia **31**: 483-488.

Reinhart D., Ridgway J., Chandler D. E. (1998): *Xenopus laevis* fertilisation: Analysis of sperm motility in egg jelly using video light microscopy. Zygote **6**: 173-182.

Robertson J. G. M. (1990): Female choice increases fertilization success in the Australian frog *Uperoleia laevigata*. Animal Behaviour **39**: 639-645.

Rose S. M. (1960): A feedback mechanism of growth control in tadpoles. Ecology **41**: 188-199.

Ryan M. J. (1980): Female mate choice in a neotropical frog. Science **209**: 523-525.

Ryan M. J., Bartholomew G. A., Rand A. S. (1983): Energetics of reproduction in a Neotropical frog, *Physalaemus pustulosus*. Ecology **64**: 1456-1462.

Ryser J. (1989): Weight loss, reproductive output, and the cost of reproduction in the common frog, *Rana temporaria*. Oecologia **78**: 264-268.

Salthe S. N. (1969): Reproductive modes and the number and sizes of ova in the Urodeles. American Midland Naturalist **81**: 467-490.

Santos X., Llorente G. A., Montori A., Carretero M. A., Franch M., Garriga N., Richter- Boix A. (2007): Evaluating factors affecting amphibian mortality on roads: the case of the Common Toad *Bufo bufo*, near a breeding place. Animal Biodiversity and Conservation **30.1**: 97-104.

Semlitsch R. D. (1994): Evolutionary consequences of non- random mating: do large males increase offspring fitness in the anuran *Bufo bufo*? Behavioral Ecology and Sociobiology **34**: 19-24.

Shishova N. V., Uteshev V. K., Sirota N. P., Kuznetsova E. A., Kaurova S. A., Browne R. K., Gakhova E. N. (2013): The Quality and Fertility of Sperm Collected From European Common Frog (*Rana temporaria*) Carcasses Refrigerated for up to 7 Days. Zoo Biology **9999**: 1-7.

Smith D. C. (1983): Factors controlling tadpole populations of the chorus frog (*Pseudacris triseriata*) on Isle Royale, Michigan. Ecology **64**: 501-510.

Stebbins R. C., Cohen N. W. (1995): A natural history of amphibians. Princeton University Press, New Jersey.

Strzezek J., Fraser L., Demianowicz W., Kordan W., Wysocki P., Holody D. (2000): Effect of depletion tests (DT) on the composition of boar semen. Theriogenology **54**: 949-963.

Stuart S. N., Chanson J. S., Cox N. A., Young B. E., Rodrigues A. S. L., Fischman D. L., Waller R. W. (2004): Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. Science **306**: 1783-1786.

Taborsky M. (1994): Sneakers, satellites, and helpers: parasitic and cooperative behaviour in fish reproduction. Advances in the Study of Behaviour **23**: 1-100.

Thomas C. D., Cameron A., Green R. E., Bakkenes M., Beaumont L. J. (2004): Extinction risk from climate change. Nature **427**: 145-148.

Tryjanowski P., Rybacki M., Sparks T. (2003): Changes in the first spawning dates of common frogs and common toads in western Poland in 1978- 2002. Annales Zoologici Fennici **40**: 459-464.

Tsuji H., Kawamichi T. (1998): Field Observations of the Spawning Behavior of Stream Toads, *Bufo torrenticola.* Journal of Herpetology **32**: 34-40.

Tyler M. J., Wassersug R., Smith B. (2007): How frogs and humans interact: influences beyond habitat destruction, epidemics and global warming. Applied Herpetology **4**: 1-18.

Uteshev V. K., Shishova N. V., Kaurova S. A., Browne R. K., Gakhova E. N. (2012): Hormonal induction of spermatozoa from amphibians with *Rana temporaria* and *Bufo bufo* as anuran models. Reproduction, Fertility and Development **24**: 599-607.

Van Gelder J. J. (1973): A quantitative approach to the mortality resulting from traffic in a population of *Bufo bufo*. Oecologia **13**: 93-95.

Verrell P. A. (1982): Male newts prefer large females as mates. Animal Behaviour **30**: 1254-1255.

Voituron Y., Lengagne T. (2008): Freezing before Mating Severely Affects the Fitness of a Capital Breeder. Physiological and Biochemical Zoology **81**: 204-210.

Warner R. R. (1984): Deferred reproduction as a response to sexual selection in a coral reef fish: a test of the life historical consequences. Evolution **38**: 148-162.

Wilbur H. M. (1977): Propagule size, number, and dispersion pattern in Amhystoma and Asclepias. The American Naturalist **111**: 43-68.

Wisniewski P. J., Paull L. M., Slater F. M. (1981): The effects of temperature on the breeding migration and spawning of the common toad (*Bufo bufo*). British Journal of Herpetology **6**: 119-121.

Young J. Z. (1981): The life of vertebrates. Oxford University Press, Oxford.

Yu T. L., Lu X. (2010): Sex recognition and mate choice lacking in male Asiatic toads (*Bufo gargarizans*). Italian Journal of Zoology **77**: 476-480.

7. Životopis

Rođena sam 10. travnja 1991. u Zagrebu. IV. osnovnu školu u Bjelovaru završila sam 2006. godine. Iste godine sam upisala Opću gimnaziju Bjelovar u Bjelovaru. Gimnaziju sam završila 2010. godine, kad sam i upisala Preddiplomski studij Znanosti o okolišu na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu. Zvanje prvostupnika struke Znanosti o okolišu (univ. bacc. oecol.) stekla sam 2013. godine, napisavši Seminarski rad pod nazivom „Morski sisavci u Jadranskom moru - rasprostranjenost i ugroženost“. Iste sam godine upisala diplomski studij Ekologija i zaštita prirode, modul Kopno. Članica sam Hrvatskog herpetološkog društva- Hyla.

PRILOG

Broj:

PROTOKOL ZA INVENTARIZACIJU PREGAŽENIH JEDINKI SMEĐE KRASTAČE (*Bufo bufo* L.)

PODATCI O OPAŽAČIMA

Ime i prezime: _____

Adresa: _____

Datum opažanja: ☐☐ ☐☐ ☐☐☐☐

PODATCI O LOKALITETU

Lokalitet:

Opis lokaliteta:

Fotografija lokaliteta: ☐ Prilog: ☐ Datoteka:

Vremenske prilike:

Vrijeme promatranja: OD ☐ DO ☐

PODATCI O VRSTI (*Bufo bufo* L.)

METODA ISTRAŽIVANJA: ☐ **1**-slučajno **2**- promatranje **3**- metoda cestovnog opažanja **4**- bilježenje glasanja **5**- lov rukom **6**- lov mrežicom **7**- lov omčicom **8**- drugo (upisati)

drugo:

Spol: M ☐ Ž ☐

Broj jedinki: ☐

Dužina tijela (DT)_____

Dužina potkoljenice (DP) _____

Širina glave (ŠG) _____

Dužina glave (DG) _____

Razmak nosnica- usta (RNU) _____

Promjer oka _____

Slika I. Primjer protokola za inventarizaciju pregaženih jedinki smeđe krastače.