فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۴۴، جلد ۱۲، شماره ۱، زمستان۹۷، صفحه ۶۹ تا ۷۹
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۱۷۳۵-۹۸۸۰

بررسی اثر وجود پناهگاه بر بقای لارو وزغ سبز(*Bufo variabilis*) طی مراحل ۳۰-۲۶ تکوینی در حضور گونه اگزوتیک *Gambusiaaffinis*

مهسا نجفی[۱]، سمیه ویسی[۱]، **سمیه اسمعیلی رینه**[۱]
۱-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. **sesmaeili@razi.ac.ir**

تاریخ دریافت:۹۷/۶/۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: ارزیابی جهانی از وضعیت حفاظتی جانوران نشان می‌دهد که دوزیستان بیشتر از سایر مهره‌داران در معرض خطر می‌باشند و سرعت کاهش جمعیت آن ها بیشتر از پرندگان و پستانداران است. حضور گونه‌های بیگانه ازطریق شکار تخم و لارو در کاهش جمعیت دوزیستان نقش دارند. در تحقیقات قبلی مشخص شده است که پناهگاه می‌تواند به عنوان روشی کارآمد جهت حفاظت از دوزیستان در مقابل گونه‌های بیگانه از جمله ماهی گامبوزیا باشد.

روش کار: در این مطالعه، به منظور بررسی اثر پناهگاه بر بقای لارو وزغ سبز(*Bufo variabilis*) در حضور گونه بیگانه ماهی گامبوزیا (*Gambusia affinis*)، اثرات مستقل و متعامل دو فاکتور پناهگاه(شامل سه تیمار فاقد پناهگاه، پناهگاه ساده و پناهگاه پیچیده) و شکارگر(شامل سه تیمار فاقد شکارگر، حضور یک و سه شکارگر) به مدت ۱۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه بیشترین میزان بقا در تیمار پناهگاه پیچیده/عدم وجود شکارگر با ۱۷/۱۰±۹۶/۶۶ درصد و پایین‌ترین درصد بقا در تیمار عدم وجود پناهگاه/ وجود سه شکارگر با میزان صفر درصد ثبت گردید. نتایج حاصل از آنالیز ANOVA نشان داد.

یافته ها: به طورکلی هر دو فاکتور تراکم شکارگر و نوع پناهگاه به‌صورت مستقل اثر معناداری بر میزان بقا دارند، اما اثر تعاملی آن-ها معنادار نمی‌باشد. هم چنین با در نظر گرفتن اثر زمان، تراکم شکارگر به‌صورت مستقل اثر معناداری روی میزان بقا نشان داد، اما این اثر برای نوع پناهگاه و اثر تعاملی آن با تراکم شکارگر در طول زمان بی‌معنا است.

نتیجه گیری: تعداد لاروهای وزغ سبز در محیط آزمایش با وجود پناهگاه مناسب با افزایش تراکم شکارگر، به‌شدت کاهش می‌یابد.

واژه های کلیدی: گونه بیگانه، ماهی گامبوزیا، پیچیدگی پناهگاه، نرخ بقاء، وزغ سبز.

مقدمه

اکوسیستم‌های آب شیرین، اهمیت زیادی به خصوص در میان اکثر گونه‌های در معرض خطر انقراض دارند(۹،۲۵). عوامل مختلفی منجر به تغییرات در مشخصه‌های آب شیرین شده و بر تنوع زیستی اکوسیستم‌های آن اثر می‌گذارند(۱۶). رده دوزیستان مشتمل بر چهارپایانی است که در گذار از زندگی آبی به خشکی هستند. اعضای این گروه در زیستگاه‌های آبی متنوعی تولیدمثل می‌کنند. اولین ارزیابی جهانی از وضعیت حفاظتی دوزیستان که توسط اتحادیه بین المللی حفاظت از طبیعت(IUCN) صورت گرفت، زمینه‌ی جدیدی را برای آگاهی از پدیده‌ی کاهش جهانی دوزیستان فراهم کرد. این ارزیابی‌ها نشان داد قورباغه‌ها و وزغ‌ها متنوع‌ترین گروه دوزیستان می‌باشند و به‌طور متوسط نزدیک به ۳۱/۶ درصد آن ها(شامل ۱۷۹۴ گونه)

در معرض تهدید و یا در معرض انقراض می‌باشند(۲۳). بر طبق مطالعه Blaustein و Wake در سال ۱۹۹۵، فاکتورهای مهمی بر کاهش جمعیت دوزیستان تاثیرگذار هستند که می‌توان به تخریب زیستگاه، نوسانات سطح آب، حرارت، تراکم، کاهش غذا و حضور شکارگر اشاره کرد. تخریب زیستگاه می‌تواند ناشی از آلودگی، افزایش پرتوهای فرابنفش، گسترش بیماری‌ها(به خصوص بیماری‌های میکروبی) و یا تغییر تالاب‌ها باشد. امروزه حضور گونه‌های بیگانه یا اگزوتیک در سیستم‌های آب شیرین تهدیدی برای تنوع زیستی در سراسر جهان می-باشند(۱۳). بر طبق بررسی‌ها مشخص شده است که گونه-های اگزوتیک در کاهش ویا انقراض جمعیت دوزیستان نقش داشته و اثرات نامطلوبی بر اکوسیستم‌های آبی دارند(۸). گونه‌های جنس گامبوزیا(*Gambusia affinis* و *G. holbrooki*) جز موفق‌ترین مهاجمان در محیط‌های آب شیرین محسوب می‌شوند که در سرتاسر نواحی گرم جهان پراکنش یافته‌اند. اعضای این تاکسون به عنوان شکارگر دوزیستان هم در دامنه پراکنش بومی و هم به عنوان گونه بیگانه در خارج از دامنه پراکنش معرفی شده اند(۷). اثرات نامطلوب آن ها بر قورباغه‌های بومی در چندین مطالعه به ثبت رسیده است(۶) که ازطریق شکار تخم و لارو باعث کاهش جمعیت دوزیستان شده‌اند(۱۷). گونه *G. affinis* در سال ۱۹۲۸ به عنوان فاکتور بیولوژیکی جهت کنترل پشه آنوفل وارد ایران شده و به دنبال آن در بسیاری از نقاط کشور گسترش پیدا کرده است و جمعیت‌های دوزیستان را در معرض تهدید قرار داده است(۲۸). بقای گونه‌های بومی که تحت تاثیر خطر مهاجمان قرار دارند می‌تواند از طریق از بین بردن گونه‌های مهاجم و یا از طریق منابع حمایت کننده گونه‌های بومی بهبود یابد(۲۲،۲۹). یکی از این منابع، پناهگاه است(۱۹،۲۷،۲۹). تاکنون تحقیقات اندکی به بررسی نقش اثر پیچیدگی زیستگاه در برهم‌کنش لارو-شکارگر متمرکز شده است. تصور می‌شود زیستگاه‌های پیچیده، پناهگاه‌هایی را برای لاروها فراهم می‌کنند تا اثر شکارگر را از طریق کاهش شایستگی و یا از طریق کاهش دامنه دید شکارگر کم کند(۱،۲،۲۶). برای سهولت در توصیف مراحل جنینی و لاروی در چرخه زندگی دوزیستان بی‌دم از سیستم شماره‌گذاری استفاده می‌گردد که از مرحله(Gosner) یک آغاز و به مرحله(Gosner) ۴۶ ختم می‌گردد. به ۲۵ مرحله اول، مرحله جنینی(Embryonic stage) گفته می‌شود که در این مراحل تغذیه‌ای صورت نمی‌گیرد. اندازه و نرخ رشد و نمو جنینی در این مراحل به صورت فردی متغیر می‌باشد. فرآیندهای رشد و نمو جنینی از لقاح و تشکیل تخم، تسهیم، بلاستولا و گاسترولا در اکثر گونه‌های دوزیستان مشابه می‌باشد. تسهیم‌های اولیه در مراحل جنینی دوزیستان منظم بوده و کم و بیش متقارن می‌باشد. بلاستوپور در مراحل ۱۲-۱۱ جنینی شکل می‌گیرد و در مرحله ۱۳ جنینی صفحه عصبی شکل گرفته و در بخش‌های لوله‌ای سطح پشتی جنین ظاهر می‌گردد. در مرحله ۱۴ جنینی چین‌خوردگی‌های عصبی و شیار عصبی ایجاد می‌شوند. صفحات آبششی در مرحله ۱۶ جنینی ظاهر شده و سر جنین قابل تشخیص است. جنین اکثر گونه‌ها در بین مراحل ۲۰-۱۷ جنینی تفریخ می‌شوند. در این مراحل اندام‌هایی نظیر مکنده‌های دهانی رشد و نمو می‌یابند. در مراحل ۲۵-۲۱ موجود به یک تغذیه کننده و شناگر آزاد تبدیل می‌شود. مراحل ۲۶ تا ۴۰ از مراحل رشد و نمو دوزیستان بی‌دم را مرحله لاروی(Larval Stages) می‌نامند. مراحل ۲۶ تا ۳۰ به‌راحتی با بررسی جوانه‌های حرکتی در حال رشد قابل تشخیص هستند.

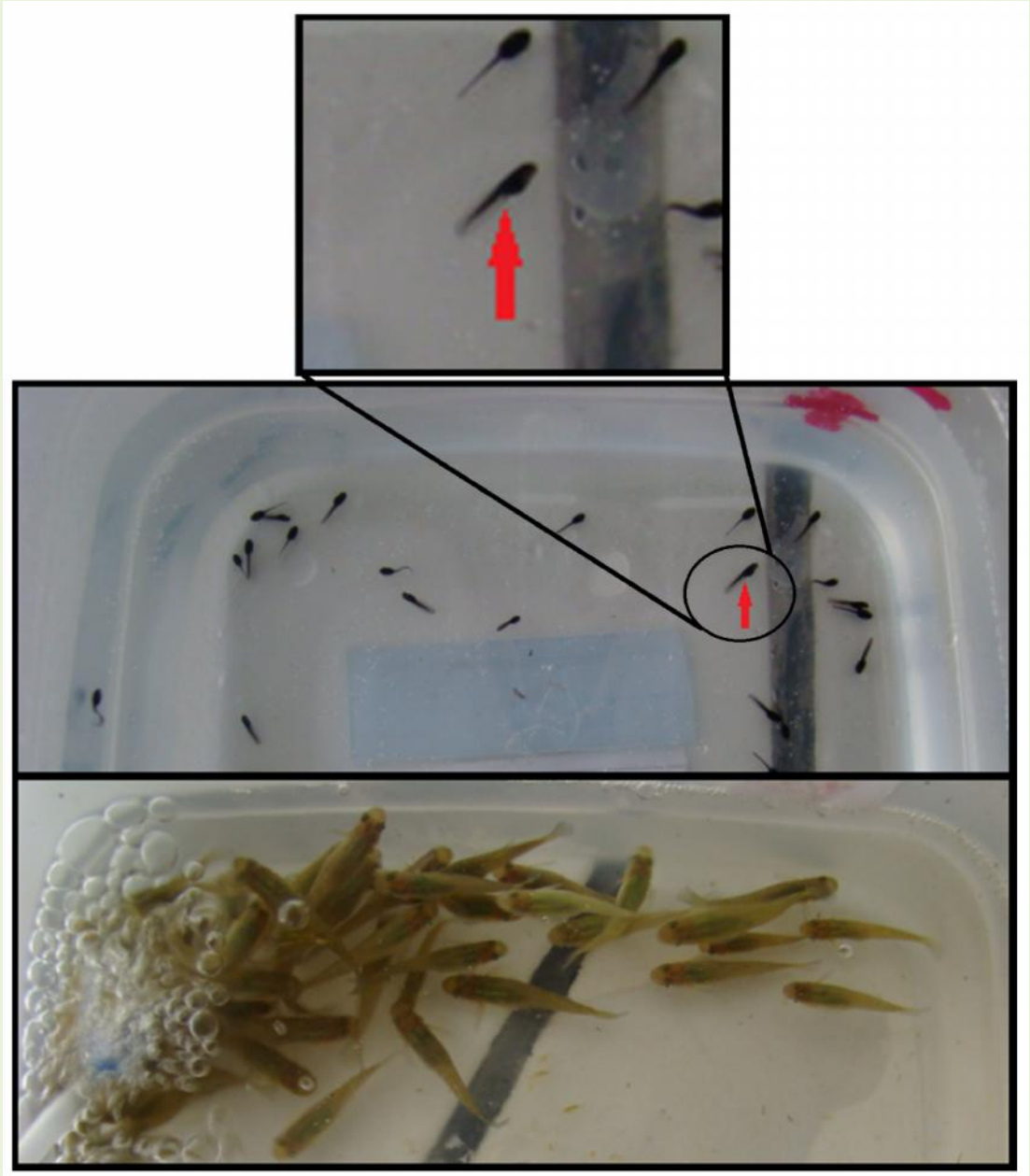
مراحل ۴۰-۳۸ نیز از طریق تغییرات در طول انگشتان و ظهور توبرکل‌ها و استخوان کف پایی مشخص می‌شوند. از مرحله ۴۰ به بعد تغییرات مهم در دگردیسی آغاز می‌شود. مراحل ۴۶-۴۲ نیز از طریق ایجاد تغییرات در ساختار دهان شناسایی می‌شود(۱۰). وزغ سبز *B. variabilis* Laurenti 1768گونه‌ای با پراکنش گسترده در ایران می‌باشد که بیشتر در استان‌های شمالی و غربی پراکنش دارد. این گونه توسط IUCN به‌عنوان گونه‌ی با کم‌ترین میزان آسیب‌پذیری شناخته شده است(۱۹). هدف از این مطالعه، بررسی اثر پناهگاه وتراکم شکارگر بر بقای لارو وزغ سبز *B. variabilis*در مراحل ۳۰-۲۶ تکوینی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

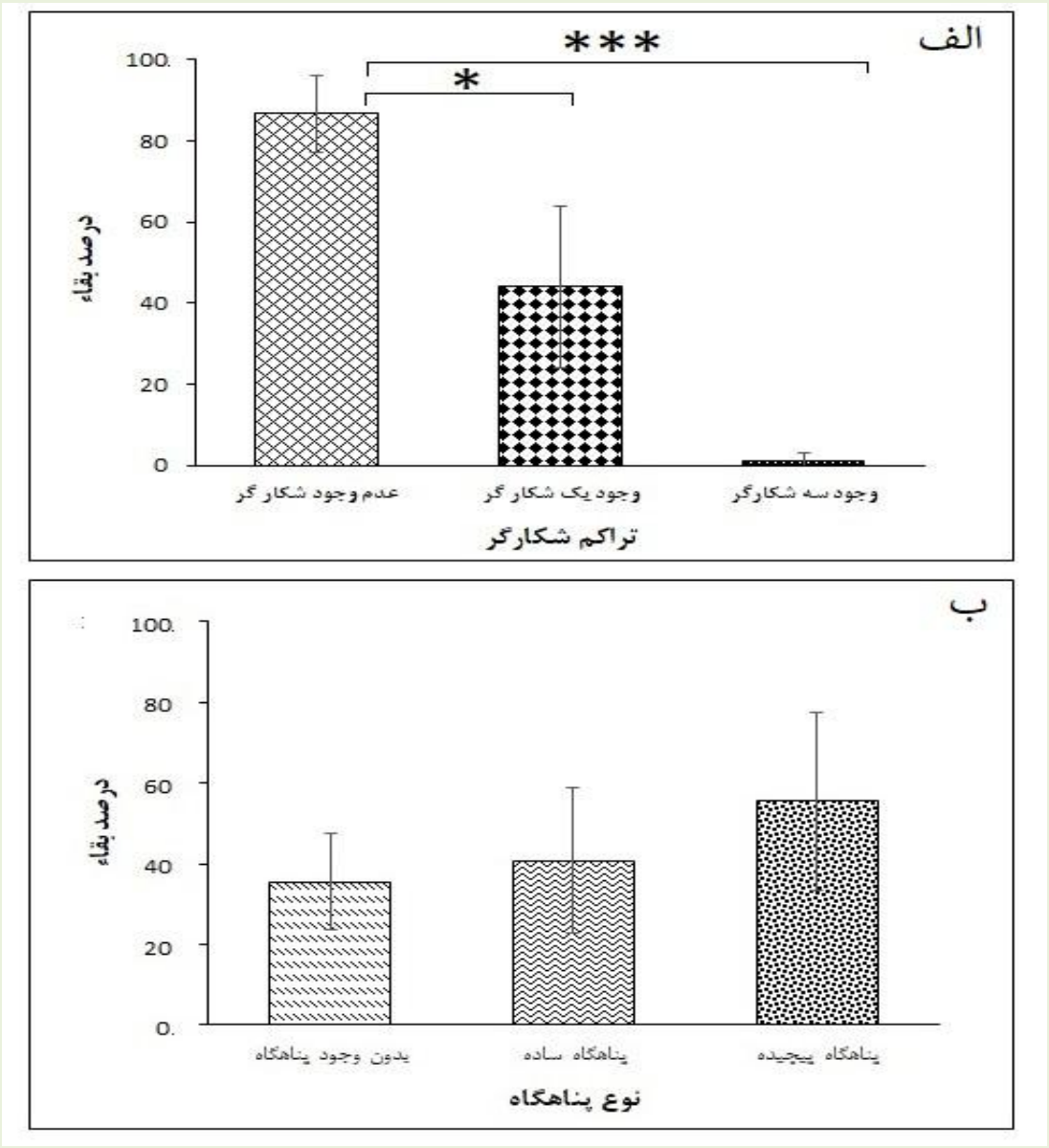
در این تحقیق تخم‌های لقاح یافته وزغ سبز در خرداد ماه ۹۶ از روستای برناج(N34° 28′, E47° 22′) جمع-آوری شد. عمق و دمای آب در محل تخم‌گذاری به‌ترتیب حدود ۱۰ سانتی‌متر و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. سپس تخم‌های لقاح یافته درون ظرفی حاوی آب زیستگاه به آزمایشگاه منتقل شد. در این تحقیق دو فاکتور پناهگاه و شکارگر مورد بررسی قرار گرفت. متغیر پناهگاه شامل سه تیمار(فاقد پناهگاه، پناهگاه ساده و پناهگاه پیچیده) بود که هر تیمار با سه تکرار انجام شد. پناهگاه ساده حاوی ۴۰۰ گرم و پناهگاه پیچیده حاوی ۱۲۰۰ گرم از گونه گیاهی *Cabombacaro liniana* بود که در زیستگاه طبیعی آن ها وجود دارد. متغیر شکارگر نیز شامل سه تیمار(فاقد شکارگر، یک شکارگر و سه شکارگر) بود که هر تیمار با سه تکرار انجام شد. لاروهای وزغ سبز وقتی به مرحله(gosner) ۲۶ از دوره لاروی رسیدند به ظروف اصلی آزمایش منتقل شدند(۱۰). سپس در ۲۷ ظرف با ابعاد ۱۴ × ۱۲/۵ سانتی‌متر و به ازای هر ظرف ۳۰ لارو مورد آزمایش قرار گرفت. حجم آب در همه ظروف ۲۰۰۰ سی‌سی بود و به منظور اکسیژن‌دهی، یک پمپ اکسیژن در هر ظرف تعبیه شد. ماهی گامبوزیا(*Gambusia affinis*) یک هفته قبل از شروع آزمایش از سراب یوان(N34° 38′, E 46° 35′) در استان کرمانشاه جمع آوری گردید. برای شروع آزمایش از نمونه‌ها با اندازه مشابه استفاده شد. چهل وهشت ساعت قبل از شروع آزمایش طول کل بدن و عرض سر ماهی‌های گامبوزیا اندازه‌گیری شد که به ترتیب میانگین ۳۴/۸۴±۲/۵۹ و ۴/۷۷±۰/۴۴میلی متر به ثبت رسید. از زمان آغاز آزمایش(۱۳۹۶/۳/۲۰) تا پایان آن(۱۳۹۶/۳/۲۹)، لاروهابه‌وسیله اسفناج پخته شده(به ازای هر لارو یک دهم گرم) و سه بار در طول آزمایش تغذیه شدند. پس از پایان آزمایش لاروهای باقی مانده از وزغ سبز(مرحله ۳۰ تکوینی) به زیستگاه اولیه خود باز گردانده شدند. تعداد لاروهای هر ظرف به منظور ثبت میزان بقا روزانه شمارش و از لاروها به‌وسیله دوربین Sony,DSC-HX9V, 3.6V متصل به پایه‌ها از فاصله ۳۸/۵ سانتی‌متری عکس گرفته شد. طول استاندارد(SVL) توسط نرم‌افزار Digimizer version 4.6.0 (http://digimizer.findmysoft.com) اندازه‌گیری گردید. تحلیل آماری، محاسبه میانگین و انحراف معیار اولیه و تست Tukey از نرم‌افزار Spss ورژن ۲۲ (https://www.ibm.com/products/spss-statistics) انجام شد. برای بررسی اثر سه در سه فاکتوری(اثر سه تراکم شکارگر و سه نوع پیچیدگی پناهگاه) و بررسی اثر آن در طول زمان(روز اول تا روز دهم آزمایش) از نرم افزار Stata ورژن ۱۴(https://www.stata.com) استفاده گردید.

نتایج

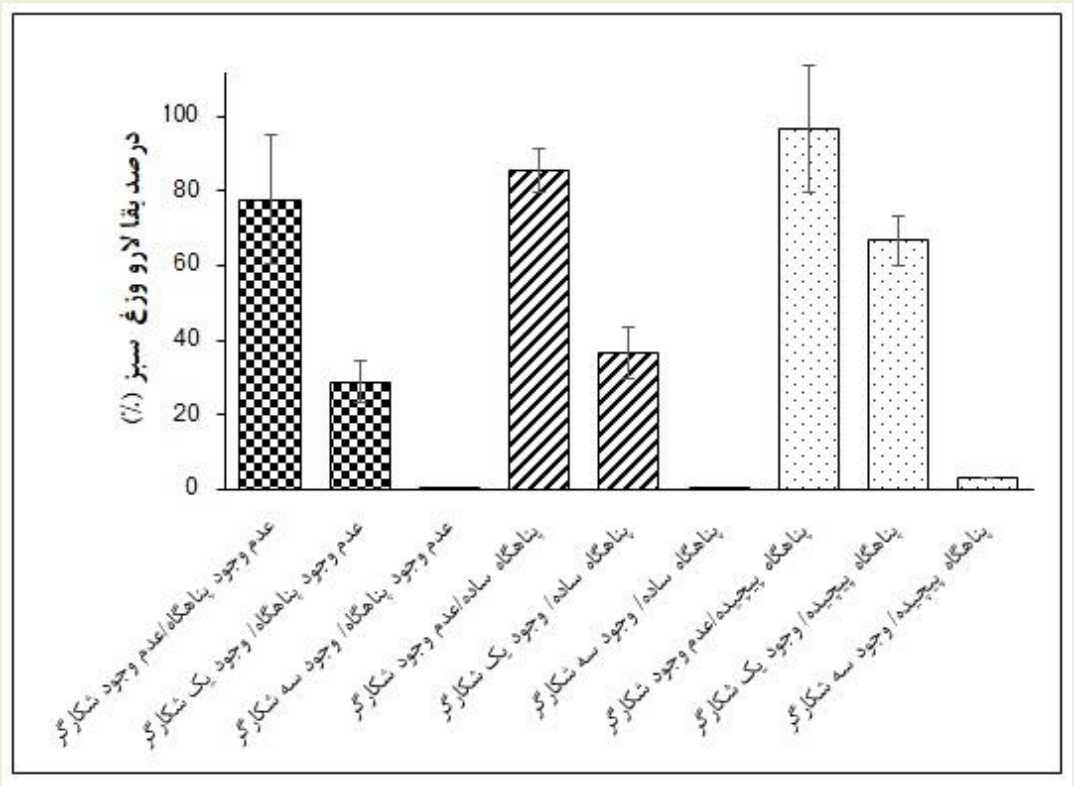
میانگین طول استاندارد اولیه(شامل فاصله از نوک پوزه تا شکاف مخرجی(SVL)) به همراه انحراف معیار لاروهای وزغ سبز(*Bufov ariabilis*)به هنگام شروع آزمایش برای هر تیمار شامل عدم وجود پناهگاه/عدم وجود شکارگر(۰/۰۹±۳/۳۸ میلی متر)، عدم وجود پناهگاه/ وجود یک شکارگر(۰/۰۸±۳/۴۱ میلی متر)، عدم وجود پناهگاه/ وجود سه شکارگر(۰/۰۴±۳/۳۵ میلی متر)، پناهگاه ساده/عدم وجود شکارگر(۰/۰۵±۳/۳۷ میلی متر)،پناهگاه ساده/ وجود یک شکارگر(۰/۰۲±۳/۳۷ میلی متر)، پناهگاه ساده/ وجود سه شکارگر(۰/۰۵±۳/۲۸ میلی متر)، پناهگاه پیچیده/عدم وجود شکارگر(۰/۰۵±۳/۲۳ میلی متر)،پناهگاه پیچیده/ وجود یک شکارگر (۰/۰۲±۳/۲۷ میلی متر)، پناهگاه پیچیده/ وجود سه شکارگر(۰/۰۱±۳/۱۸ میلی متر) اندازه‌گیری شد. میانگین و انحراف معیار بقای لارو وزغ سبز در پایان روز آزمایش(روز دهم) برای سه نوع تراکم شکارگر(بدون حضور شکارگر گامبوزیا، حضور یک شکارگر و حضور سه شکارگر گامبوزیا) و سه نوع پیچیدگی زیستگاه(شامل عدم وجود پناهگاه، پناهگاه ساده و پناهگاه پیچیده) به‌دست آمد. به طور کلی بیشترین میزان بقا در تیمار بدون وجود شکارگر(شکل ۲-الف) و در تیمار با پناهگاه پیچیده(شکل ۲-ب) مشاهده شد. با بررسی اثر تعاملی دو فاکتور تراکم شکارگر و پناهگاه، بیشترین میزان بقای لارو وزغ سبزدر تیمار پناهگاه پیچیده/عدم وجود شکارگر با ۱۷/۱۰±۹۶/۶۶ درصد ثبت گردید. در مقابل پایین‌ترین درصد بقا در تیمار عدم وجود پناهگاه/ وجود سه شکارگر با میزان صفر درصد ثبت گردید. میزان بقا در دیگر تیمارها به‌ترتیب شامل پناهگاه ساده/عدم وجود شکارگر(۵/۷۷±۸۵/۵۵ درصد)، عدم وجود پناهگاه/عدم وجود شکارگر(۱۷/۱۰±۷۷/۷۷ درصد)، پناهگاه پیچیده/ وجود یک شکارگر(۶/۵۵ ±۶۶/۶۶درصد)، پناهگاه ساده/ وجود یک شکارگر(۶/۹۳±۳۶/۶۶ درصد)، عدم وجود پناهگاه/ وجود یک شکارگر(۵/۷۷±۲۸/۸۸ درصد)، پناهگاه پیچیده/ وجود سه شکارگر(۰۰/۰۰±۳/۳۳ درصد) ثبت گردید(شکل ۳). نتایج حاصل از آنالیز ANOVA و تست TUKEY، برای روز آخر آزمایش نشان داد، برای تراکم شکارگر(شامل عدم وجود شکارگر، وجود یک شکارگر و وجود سه شکارگر) رابطه معناداری بین عدم وجود شکارگر با تراکم یک($p<۰/۰۱$) و سه شکارگر($p<۰/۰۰۰۱$) وجود دارد. این آنالیز در مقابل برای نوع پناهگاه نیز نشان داد، بین وجود پناهگاه ساده و پیچیده و عدم پناهگاه رابطه معناداری برای بقاء وجود ندارد($p\geq۰/۰۵$)(شکل ۳). نتایج حاصل از تست دو متغیره ANOVA نشان داد، بطورکلی هر دو فاکتور تراکم شکارگر($p<۰/۰۰۰۱$) و نوع پناهگاه ($p<۰/۰۴$) به صورت مستقل اثر معناداری بر میزان بقا دارند، اما اثر تعاملی آن ها معنادار نمی‌باشد($p\geq۰/۲۲$)(جدول ۱). نتایج حاصل از تست سه متغیره ANOVA نیز نشان داد، تراکم شکارگر($p<۰/۰۴$) به صورت مستقل اثر معناداری بر میزان بقا در طول زمان دارد، در مقابل این اثر برای نوع پناهگاه($p\geq۰/۸۸$) و اثر تعاملی آن با تراکم شکارگر($p\geq۰/۹۴$) در طول زمان بی‌معنا بود. پس ازآزمایش لاروهای باقی مانده از وزغ سبز (مرحله ۳۰ تکوینی) به زیستگاه اولیه خود باز گردانده شدند.



شکل ۱- عکس بالا: لاروهای وزغ سبز(*Bufo variabilis*) در مرحله‌ی گاسنر ۲۶. جوانه‌های حرکتی در گاسنر ۲۶ شروع به نمایان شدن می‌کنند (فلش قرمز). عکس پایین: ماهی جنس ماده‌ی گامبوزیا (*Gambusia affinis*) قبل از شروع آزمایش.



نمودار۱-میانگین و انحراف معیار بقای کلی لارو وزغ سبز(*Bufo variabilis*) برای تراکم شکارگر(الف) و نوع پناهگاه (ب) در پایان آزمایش. ***= $P\leq0.0001$ و *: $P\leq0.01$.



نمودار ۲-میانگین و انحراف معیار بقای لارو وزغ سبز(*Bufo variabilis*) برای اثر تعاملی تراکم شکارگر و نوع پناهگاه.

جدول ۱-تست آماری دو و سه متغیره ANOVA برای اثر تراکم شکارگر و نوع پناهگاه بر بقای لارو وزغ سبز (*Bufovariabilis*) طی روزهای اولتا دهم آزمایش.

فاکتورها	f	df	p-value
بقاء کلی			
تراکم شکارگر	۲٦/۷۸	۲	۰/۰۰۰۱
پناهگاه	۳/۱۲	۲	۰/۰٤
تراکم شکارگر× پناهگاه	۱/٤٤	٤	۰/۱۰
بقاء در طول زمان			
تراکم شکارگر× زمان	۳/۱۵	۲	۰/۰٤
پناهگاه × زمان	۰/۱۲	۲	۰/۸۸
تراکم شکارگر×پناهگاه×زمان	۰/۱۹	٤	۰/۹٤

بحث و نتیجه گیری

گونه‌های مهاجم و غیربومی در کاهش و انقراض گونه‌های بومی در سرتاسر جهان نقش دارند. یکی از گونه‌های مهره‌دار و مهاجمی که در تخریب اکولوژیکی زیستگاه‌ها نقش دارد، ماهیان جنس *Gambusia* هستند که به‌دلایل اقتصادی و یا در جهت کنترل عامل مالاریا از طریق انسان به زیستگاه‌های جدید وارد می‌شوند(۲۸). این ماهیان در بین ۱۰۰ گونه مهاجم جهان هستند و تاثیر زیادی در ساختار جمعیتی گونه‌های آب شیرین دارند(۱۲). دوزیستان به حضورماهی*G. affinis* واکنش

یکسان ندارند و این ماهیان مهاجم ممکن است تا اندازه‌ای برای بعضی لاروهای دوزیستان مضر باشد. به‌طور مثال Lawler و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که با وجود آسیب لاروهای گونه *Ranaaurora* توسط شکارگرها، درصد بقای جمعیت‌های این گونه در مرحله لاروی چه در محیط‌های دارای شکارگر وچه فاقد شکارگر تقریباً برابر است. هم چنین در گونه *G. carolinensis*، لاروها می‌توانند در حضورشکارگر با تراکم کم زندگی کنند. در حالی‌که بررسی جمعیت‌های قورباغه درختی گونه *Hyla squirella* نشان داد که جمعیت لاروها حتی در تراکم کم ماهیان گامبوزیا نیز کاهش یافته است(۴). بقای دوزیستانی که تحت‌تاثیر خطر گونه‌های بیگانه قرار دارند، می‌تواند از طریق ایجاد پناهگاه‌ها چه به صورت طبیعی یا مصنوعی بهبود یابد(۱۵). به‌عبارتی وجود پناهگاه می‌تواند به عنوان یک روش موثر جهت حفاظت از دوزیستان به خصوص گونه‌های بومی، تا زمانی که گونه نسبت به حضور گونه بیگانه سازش پیدا کند، باشد(۱۳). اما می‌بایست توجه داشت، در طولانی مدت همزیستی بین گونه اگزوتیک و گونه بومی جهت ریشه‌کن کردن اثر تهاجمی گونه‌های اگزوتیک، برای بسیاری از گونه‌ها نمی‌تواند به عنوان یک گزینه قابل اجرا باشد(۱۱). از سوی دیگر، ممکن است اثر پیچیدگی زیستگاه و حضور پناهگاه‌های مناسب بر برهم کنش شکار–شکارگر بسته به نوع گونه شکار متفاوت باشد. به‌طور مثال با تغییر درجه پیچیدگی زیستگاه(پناهگاه‌های مناسب)، تعداد لاروهای گونه *Hyla squirella* که توسط ماهی گامبوزیا شکار شدند ثابت بود؛ در حالی‌که با افزایش پیچیدگی زیستگاه، شکار لاروهای وزغ *Gastrophryne carolinensis* توسط ماهی گامبوزیا کاهش یافت(۳). بنابراین، پیچیدگی زیستگاه یک سطح حفاظتی برای *G. carolinensis* در مقابل ماهی گامبوزیا ایجاد می‌کند، اما در مقابل پیچیدگی زیستگاه حفاظت کمی برای لاروهای *H. squirella* به دنبال دارد(۴). در مطالعه صورت گرفته توسط Orizaola و Braña در سال ۲۰۱۶ نشان داده شد، بقای سمندر *Ambystomama crodactylum* در حضور پناهگاه در برابر شکارگران افزایش پیدا می‌کند(۱۸). در مطالعه انجام شده توسط Taheri Khas و همکاران در سال ۲۰۱۸ اثر مستقیم ماهی شکارگر گامبوزیا بر روی رشد، تکوین و بقا وزغ سبز در دوره‌های جنینی و لاروی به مدت ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه نشان داده شد که حضور ماهی شکارگر گامبوزیا بر رشد و تکوین دوره لاروی این گونه تاثیر معناداری ندارد در حالی که به طور معناداری باعث کاهش زمان تفریخ و نرخ تفریخ قبل از ورود به مرحله لاروی می‌شود. لازم به ذکر است در این مطالعه دوره تکوین از مرحله(Gosner) ۱۲ تا مرحله ۳۰ مورد بررسی قرار گرفت. هم چنین نتایج این مطالعه نشان داد حضور شکارگر گامبوزیا، به طور معناداری میزان بقا را کاهش می‌دهد(۲۴). نتایج مطالعه حاضر مشابه مطالعه فوق نشان می‌دهد ماهی گامبوزیا اثر مخربی بر جمعیت لاروهای وزغ سبز دارد و با افزایش تراکم شکارگر درصد بقا آن به شدت کاهش می‌یابد. از سوی دیگر، بر اساس مطالعات انجام شده بر روی دوزیستان وجود پناهگاه، به عنوان یک ابزار حفاظتی در مقابل گونه‌های خارجی و مهاجم از جمله ماهی شکارگر گامبوزیا پیشنهاد می‌شود(۳۰، ۱۸، ۱۵، ۴). بنابر این در این مطالعه سعی شد با توجه به اثر مخربی که ماهی گامبوزیا در طی مراحل اولیه زندگی وزغ سبز دارد، نشان داده شود که آیا وجود پناهگاه و در نتیجه پیچیدگی زیستگاه برای این گونه نیز می‌تواند به عنوان یک ابزار حفاظتی عمل کند و در نهایت منجر به افزایش بقاء و حفاظت آن در

برابر ماهی مهاجم گامبوزیا در محیط طبیعی شود یا خیر. نتایج مطالعه حاضر نشان داد نرخ بقا لاروهای وزغ سبز در محیط آزمایش دارای پناهگاه مناسب و در حضور گونه اگزوتیک گامبوزیا افزایش می‌یابد اما این تفاوت در گذر زمان معنادار نیست. به‌طورکلی بایستی عنوان کرد که در این مطالعه با افزایش تراکم شکارگر، تعداد لاروهای وزغ سبز با وجود پناهگاه مناسب به شدت کاهش یافت.

منابع

1.Babbitt, K., Jordan, F. (1996). Predation on Bufoterrestris tadpoles: effects of cover and predator identity. Copeia, 2; 485–488.

2.Babbitt, K. J., Tanner, G.W. (1997). Effects of cover and predator identity on predation of Hylasquirella tadpoles. J. Herpetol, 31(1); 128-130.

3.Baber, M.J. (2001). Understanding anuran community structure in temporary wetlands: the interaction and importance of landscape and biotic processes. PhD Dissertation, Florida International University, Miami, Florida, USA.

4.Baber, M. J., Babbitt,K. J. (2004). Influence of habitat complexity on predator-prey interactions between the fish (*Gambusia holbrooki*) and tadpoles of *Hyla squirella* and *Gastrophryne carolinensis*. Copeia,4;173–177.

5.Blaustein, A.R., Wake, D.B. (1995). The puzzle of declining amphibian populations. Sci. Am, 272; 52–57.

6.Bradford, D.F., Tabatabai, F., Graber, D.M. (1993). Isolation of remaining populations of the native frog, Ranamuscosa, by introduced fishes in Sequoia and Kings Canyon National Parks, California. Conserv. Biol, 7; 882–888.

7.Buttermore, E.N. (2011). Contaminants and trophic dynamics of tropical stream ecosystems(M.S. Thesis). North Carolina State University, Raleigh.

8.Diamond, J., Case, T.J. (1986). Overview: introductions, extinctions, exterminations, and invasions. In: Community Ecology (eds Diamond, J. & Case, T.J.). New York:Harper and Row, 65–79.

9.Dudgeon, D., Arthington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z-I., Knowler, D.J., Lévêque, C. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. Biol. Rev, 81; 163–182.

10. Gosner, K.L. (1960). A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. Herpetologica, 16;183–190.

11. Hayes, N.M., Butkas, K.J., Olden, J.D.,Zanden, M.J. (2009). Behavioural and growth differences between experiencedand nativepopulations of a native crayfish in the presence ofan invasive rusty crayfish. Freshw.Biol, 54; 1876–1887.

12. Lawler, S.P., Dritz, D., Strange, T.,Holyoak, M. (1999). Effects of introduced mosquitofish and bullfrogs on the threatened California Red-legged Frog. Conserv. Biol, 13; 613–622.

13. Lodge, D.M., Stein, R.A., Brown, K.M., Covich, A.P., Brönmark, C., Garvey, J.E. (1998). Predicting impact of freshwater exotic species on native biodiversity: challenges in spatial scaling. Australian Ecology, 23; 53-67.

14. Matsuzaki, S.S., Sakamoto, M., Kawabe, K., Takamura, N. (2012). Alaboratory study of the effects of shelter availability andinvasive crayfish on the growth of native stream fishes.Freshw. Biol, 57; 874–882.

15. Magellan, K., García-Berthou, E. (2016). Experimental evidence for the use of artificial refugia to mitigate the impacts of invasive gambusiaholbrooki on an endangered fish. Biol. Invasions, 18; 873-882.

16. Mack, R.N., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Evans, H., Clout, M., Bazzaz, F.A. (2000). Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. Ecol.Appl, 10; 689–710.

17. Nosaka, M., Katayama, N., Kishida, O. (2015). Feedback between size balance and consumptionstrongly affects the consequences of hatching phenology in size-dependent predator–prey interactions.Oikos, 124; 225-234.

18. Orizaola, G., Braña,F. (2006). Effect of salmonid introduction and other environmental characteristics on amphibian distribution and abundance in mountain lakes of northern Spain. Animal Conserv, 9(2); 171–178.

19. Safaei-Mahroo, B., Ghaffari, H., Fahimi, H., Broomand, S., Yazdanian, M., NajafiMajd, E.

(2015). The herpetofauna of iran: checklist of taxonomy, distribution and conservation status. As. Herpetol. Res, 6; 257–290.

20. Sass, G.G., Gille, C.M., Hinke, J.T., Kitchell, J.F. (2006). Whole-lake influences of littoral structural complexity and prey body morphology on fish predator–prey interactions. Ecol. Freshw. Fish, 15; 301–308.

21. Schlaepfer, M.A., Sherman, P.W., Blossey, B., Runge, M.C. (2005). Introduced species as evolutionary traps. Ecol.Lett, 8; 241–246.

22. Simberloff, D. (2014). Biological invasions: What's worth fighting for and what can be won?. Ecol.Eng, 65;112–121.

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

24. Taheri Khas, Z., Vaissi, S., Yaghobi, S., Sharifi, M. (2018). Experimental evaluation of predatory impacts of Mosquitofish(*Gambusia affinis*) on embryos and larvae of the Green Toad *Bufotes variabilis* (Amphibia: Anura). Zoo. Ecol, 0; 1-6.

25.Vörösmarty, C.J., McIntyre, P.B., Gessner, M.O., Dudgeon, D., Prusevich, A., Green, P. (2010). Global threats to human water security and river biodiversity. Nature, 467; 555–561.

26. Werner, E.E., Mittlebach, G.G., Hall, D.J., Gilliam, J.F. (1983). Experimental tests of optimal habitat use in fish: the role of relative habitat profitability. Ecol, 64; 1525–1539.

27. Westhoff, J.T., Watts, A.V., Mattingly, H.T. (2013). Efficacy of artificial refugia to enhance survival of young *Barrens topminnows* exposed to western mosquitofish. AquatConserv: Mar.Freshw.Ecosyst, 23; 56–76.

28. Williamson, M. (1996). Biological invasions. Population and community biology. Series 15. London, UK: Chapman & Hall.

29. Yokomizo, H., Haccou, P., Iwasa, Y. (2007). Optimal conservation strategy in fluctuating environments with species interactions: resource enhancement of the native species versus extermination of the alien species. J.Theor.Biol, 244; 46–58.

30. Zaim, M. (1987). Malaria control in iran present and future. J. Am. Mosq. Control Assoc, 3; 392-396**.**

The Effects of Refugia on *Bufo variabilis* Survival Across Developmental Stages 26-30 in the Presence of Invasive Species *Gambusia affinis*

M. Najafi[1], S. Vaissi[1],**S. Esmaeili-Rineh[1]**

1. Department of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, Iran. **sesmaeili@razi.ac.ir**

Received:2018.31.8 **Accepted: 2018.11.11**

Abstract

Inroduction & Objective: The global assessment of animals provides amphibians are more threatened and declining more rapidly than either birds or mammals. The presence of alien or exotic species is an important factor in the decline or extinction of amphibian populations, which contribute to the decline of the amphibian population by hunting eggs and larvae. Also, it has been recognized in previous researches that refugia can be an effective way to protect amphibians against invasive species, including Mosquitofish.

Materials and Methods: In this study, in order to investigate the effect of refugia on the survival of *Bufovariabilis* in the presence of *Gambusiaaffinis*, the independent and interactive effects of two factors of refugia type (including three treatments of absent, simple and complex refugia) and predator density (including three treatments of non-predator, one and three predators) carried out within 10 days.

Results: In this study, the highest survival rate was observed in the complexrefugia / non-predator with 96.66% ±17.10, and the lowest survival rate was observed in the absence of refugia / three predators (0%). In general,the results of ANOVA showed both predator density and refugia type had a significant effect on survival, but their interactive effect is not significant.Considering the effect of time, predator density independently showed a significant effect on the survival rate, but this effect is not significant for the type of refugiaand its interactive effect with predator density over time.

Conclusion: The number of Green toad in the test environment, with suitable refugia, greatly decreases with increasing predator density.

Keywords: Alien species, *Gambusia*, refugiacomplexity, Survival rates, *Bufovariabilis*.