



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره هفتم، شماره دوم، تابستان ۹۸

<http://jair.gonbad.ac.ir>

مقایسه کارایی ریخت‌سنجی سنتی و هندسی در تفکیک جوامع ماهی *Alburnus doriae* De Filippi, 1865 در حوضه‌های مرکزی و غربی ایران

زهرا پیشگاه‌پور^۱، هادی پورباقر^{۲*}، سهیل ایگدری^۲

^۱دانشجوی کارشناسی‌ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۲دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ ارسال: ۹۶/۷/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۸

چکیده

این مطالعه به منظور مقایسه دو روش ریخت‌سنجی سنتی و هندسی و تفکیک جوامع گونه *A. doriae* در حوضه‌های مختلف ایران انجام شد. تعداد ۱۳۲ نمونه از مناطق مختلف جمع‌آوری شد و عکس‌برداری صورت گرفت. برای حذف اثر سائز بر نمونه‌ها، آنالیز پروکراست انجام شد. برای ریخت‌سنجی سنتی از تجزیه واریانس چند متغیره (MANOVA) و برای ریخت‌سنجی هندسی از آنالیز واریانس پروکراست استفاده شد. تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌های مورد مطالعه در هر دو روش ریخت‌سنجی سنتی و ریخت‌سنجی هندسی به دست آمد. نتایج این مطالعه که با استفاده از آزمون مک‌نمار انجام شد نشان داد که هر دو روش ریخت‌سنجی هندسی و سنتی قابلیت مشابهی در تفکیک جمعیت‌های ماهی مورد مطالعه دارند.

واژه‌های کلیدی: *A. doriae*، ریخت‌سنجی سنتی، ریخت‌سنجی هندسی، آزمون مک‌نمار

*نویسنده مسئول: poorbagher@ut.ac.ir

مقدمه

شکل یک موجود زنده می‌تواند نشان‌دهنده سازگاری‌های محیطی و همچنین انعکاس‌دهنده تغییرات ژنتیک موجود باشد. تکنیک‌های مختلفی برای ریخت‌سنجی وجود دارد که به‌طور کلی می‌توان آن‌ها را به دو دسته سنتی و هندسی تقسیم نمود. روش‌های ریخت‌سنجی به‌طور گسترده‌ای برای شناسایی تفاوت بین جمعیت‌های ماهی مورد استفاده قرار گرفته است (Tzeng, 2004; Cheng *et al.*, 2008; Buj *et al.*, 2005). علاوه بر این ریخت‌سنجی ماهیان معمولاً برای مقایسه گونه‌های مختلف ماهی و برای توصیف تنوع در میان گونه‌ها استفاده می‌شود که از این نظر ماهی‌ها طیف وسیعی از تنوع ریخت‌شناختی را در جوامع درون‌گونه‌ای نشان می‌دهند که به لحاظ تنوع زیستی مهم است (Robinson and Wilson, 1994; Parker *et al.*, 2009). تنوع ریختی ماهیان می‌تواند تحت تأثیر تغییر شرایط زیستگاهی و رژیم غذایی آن‌ها قرار گیرد (Ehlinger and Wilson, 1988; Moles *et al.*, 2010). شرایط هیدرولوژیکی اکوسیستم‌های آبی که خود متأثر از شرایط مختلف زمین‌شناختی شیب کانال‌ها و شکل‌های متفاوت بستر می‌باشند می‌تواند به خودی خود بر آرگانیزم‌ها تأثیر بگذارد و باعث تنوع ریختی آن‌ها شود (Rajput *et al.*, 2013).

زیستگاه ماهیان به شدت تحت تأثیر شکل بستر رودخانه، عمق و سرعت جریان آب است. سرعت جریان آب می‌تواند سبب ایجاد ریخت‌های متنوعی شود. به‌طور کلی سرعت جریان آب سبب تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیک ماهی مانند فرآیندهای متابولیکی که خود بر اندازه ماهی و شکل بدن تأثیر گذارند می‌شود (Paez *et al.*, 2008). تنوع ژنتیکی نیز بر تنوع مورفولوژیک اثرگذار است که خود می‌تواند منجر به سازگاری با محل زیست شود و در ویژگی‌های رفتاری و فیزیولوژیکی منعکس شود (Taylor, 1991; Pakkasmaa and Piironen, 2001). روش‌های مختلفی برای توصیف الگوهای تغییر شکل بدن ماهیان وجود دارند از جمله روش ریخت‌سنجی سنتی و ریخت‌سنجی هندسی (James Rohlf and Marcus, 1993). در ریخت‌سنجی سنتی فواصلی از قبیل طول، عرض و عمق اندازه‌گیری می‌شود، اما گاهی اوقات نسبت‌ها را نیز شامل می‌شود (Adams *et al.*, 2004). این اندازه‌گیری‌ها معمولاً توسط ابزار ساده‌ای مانند کولیس انجام می‌گیرد (Tjarks, 2009). اما می‌توان از نمونه‌ها عکس گرفته و ابعاد مورد اندازه‌گیری را با نرم‌افزارهایی چون ImageJ استخراج نمود. ریخت‌سنجی هندسی مبتنی بر نقاط لندمارک می‌باشد. این نقاط، مختصات محل‌هایی در روی نمونه‌ها هستند که دارای ارزش ریخت‌شناختی می‌باشند. از این رو عکس‌برداری از نمونه‌ها انجام شده و با استفاده از نرم‌افزار TPSdig نقاط لندمارک روی شکل نمونه‌ها رقمی می‌گردد. ریخت‌سنجی هندسی دارای نوع سه‌بعدی نیز می‌باشد. تصاویر به‌دست آمده از میکروسی‌تی‌اسکن (micro CT) یا ام آر آی (magnetic resonance imaging = MRI) توسط نرم‌افزارهایی چون JDAV Landmark Editor، بسته geomorph در R و

Checkpoint by Stratovan لندمارک گذاری شده و آنالیز می‌شوند. همچنین امکان استخراج لندمارک سه بعدی توسط دستگاه‌هایی مانند MicroScribe وجود دارد که مستقیماً از روی نمونه لندمارک به دست می‌آید. در مطالعات ریخت‌سنجی، اثرات اندازه نمونه‌ها را حذف می‌نمایند (Schreck and Moyle, 1990) تا تنها اختلاف ریخت‌شناختی بین نمونه‌ها یا جمعیت‌ها مورد بررسی قرار گیرد (Turan, 2004). اختلافات و یافته‌های ناشی از روش‌های مختلف ریخت‌سنجی می‌تواند به‌طور مؤثری برای بهبود مدیریت شیلاتی مورد استفاده قرار گیرد (Pazhayamadam *et al.*, 2015). در بررسی کیفیت آب اکوسیستم‌های آبی از موجودات آبی مانند ماهی‌ها، جانداران کفزی و شناور استفاده می‌شود و واکنش آن‌ها را نسبت به تغییرات و شرایط محیطی بررسی می‌کنند (Bookstein, 1997). مطالعه پاسخ‌های ریخت‌شناختی ماهیان به تغییرات سرعت جریان، عمق، جنس بستر و کیفیت آب می‌تواند به‌عنوان شاخص مناسبی برای رصد تغییرات و مطالعه اکوسیستم‌های آبی مورد استفاده محققین قرار گیرد (Fries and Bowles, 2002).

ریخت همواره در تعامل با فاکتورهای محیطی و زیستی است که به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم بر شکل بدن موجودات اثر گذاشته و با انتخاب صفات مطلوب در یک محیط شانس بقا و تولید مثل دارندگان آن صفات را بیشتر می‌کند که این پدیده سبب ایجاد جمعیتی جدید یا گاهی سبب گونه‌زایی می‌شود (Spoljaric and Reimchen, 2007). بسیاری از مطالعات مورفومتریکی به‌خوبی جدایی جمعیت‌ها را نشان می‌دهند. یکی از محدودیت‌های روش ریخت‌سنجی، مطالعه تنوع ریختی درون گونه‌ای است، زیرا تنوع صفات ریختی در چنین مواردی بیشتر تحت تأثیر محیط است تا ژنتیک (Clayton, 1981). به‌طور کلی صفات‌های ریخت‌شناسی در ماهیان در مقایسه با سایر مهره‌داران بیشتر دچار تغییرات درون و بین گونه‌ای می‌شود و نسبت به تغییرات ناشی از محیط حساسیت بیش‌تری دارند. بنابراین اثرات بعضی از عوامل محیطی مانند دما، شوری، دسترسی به غذا می‌تواند به‌طور کلی تفاوت ریختی میان ماهیان را تعیین کند (Smith, 1966; Turan *et al.*, 2006).

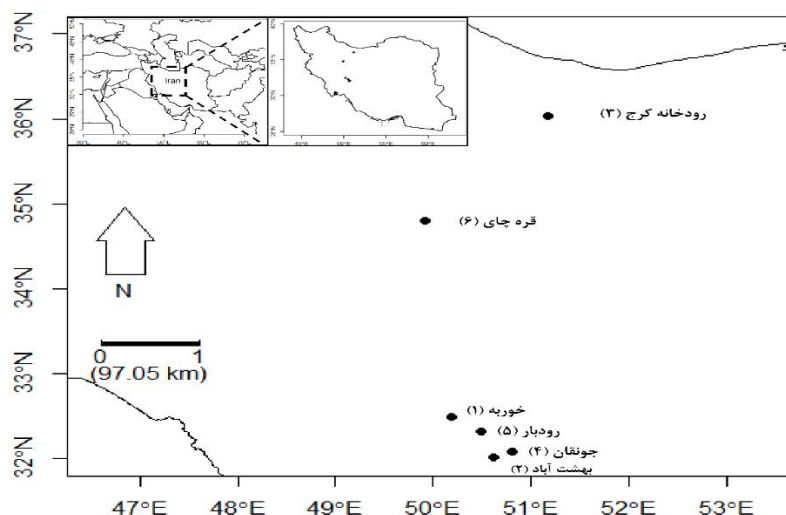
واکنش ماهیان در بروز تغییرات محیطی، تغییر در رفتار و فیزیولوژی آن‌ها می‌باشد و این تغییرات سبب تنوع در ریخت ماهیان شده که در نهایت باعث افزایش تولید مثل و بقا می‌گردد (Stearns, 1983; Meyer, 1987). مبنای روش ریخت‌سنجی هندسی، شکل و موقعیت اجزای بدن موجود است و می‌توان با استفاده از مقایسه شکل هندسی اشکال زیستی، درک بهتر و روشن‌تری از تغییرات حاصله را نشان داد (Rajaei *et al.*, 2013). نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل مورفومتریکی می‌تواند بستگی به مجموعه‌ای از اندازه‌گیری‌های انجام‌شده داشته باشد. اگرچه شرح نتایج حاصل از آن برای نشان دادن تفاوت‌های بین شکل بدن کافی نیست (Strauss and Bookstein, 1982).

خانواده Cyprinidae یکی از فراوان‌ترین و مهم‌ترین ماهیان از لحاظ تعداد گونه است که در مناطق مختلف جهان گسترش یافته است (Abdoli et al., 2011). ماهی *A. doriae* از جمله کپورماهیان آب‌های داخلی ایران است. دارای بدن کشیده با یک نوار پهن در کنار بدن می‌باشد. دارای دهان فوقانی بوده و از حشرات آبی، پلانکتون‌ها، کرم‌ها و سخت‌پوستان تغذیه می‌نماید. به‌طور کلی گونه‌های جنس *Alburnus* در حوضه آبریز دریاچه ارومیه (زرینه‌رود، صوفی چای، آجی چای (حیغاتو) و حوضه آبریز کرخه (گاماسیاب) و حوضه دریای خزر، نواحی فوقانی رودخانه ارس و سفیدرود و حوضه دجله (رودخانه‌های ماربر، بشار و چشمه‌ی قدمگاه) و حوضه‌های کرخه و کارون و بخش‌های فوقانی رودخانه کارون (ماریر و خراسان) پراکنش دارند (Esmaeili et al., 2014).

نظر به اینکه اکثر اکوسیستم‌های آبی به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم تحت تأثیر تعرضات انسانی قرار دارند، ممکن است تکثیر مصنوعی گونه‌ها ضرورت پیدا کند. در چنین مواردی انتخاب مولدین از جمعیت‌های مختلف می‌تواند تنوع زیستی موجود در گونه را کاهش دهد. از این‌رو آگاهی از وجود تنوع در جمعیت‌های مختلف می‌تواند از این مسئله جلوگیری نماید. از این گذشته مطالعات موفولوژیک و وجود تفاوت‌های بین جمعیتی می‌تواند ناشی از تغییرات ژنتیک و گونه‌زایی بوده و مطالعات بیشتر را ترغیب نماید. در حال حاضر در بسیاری از مطالعات از تکنیک‌های ریخت‌سنجی سنتی و هندسی استفاده می‌شود اما تاکنون مقایسه‌ای بین این دو روش به عمل نیامده است. از این رو مطالعه حاضر در نظر دارد تا عملکرد دو روش ریخت‌سنجی مذکور در تفکیک جمعیت‌های ماهی *A. doriae* را مورد بررسی قرار دهد.

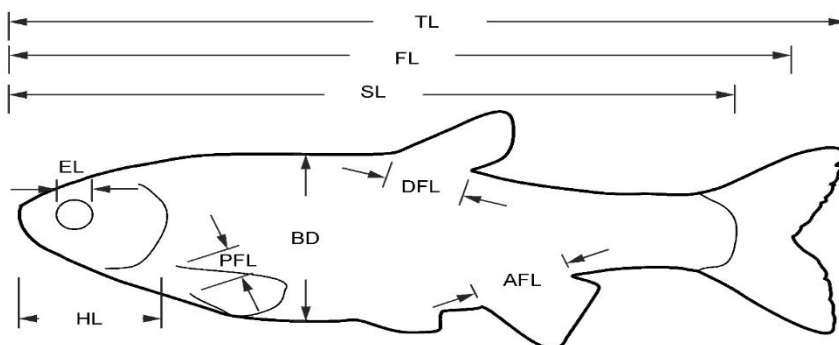
مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۱۳۲ نمونه از مناطق مختلف رودخانه‌های (خوربه، بهشت‌آباد، رودبار، جونقان، قره‌چای و کرخ) با استفاده از دستگاه الکتروشوکر (SAMUS725) صید شد (شکل ۱). نمونه‌ها در فرمالین ۴ درصد تثبیت شده و به آزمایشگاه منتقل شد.



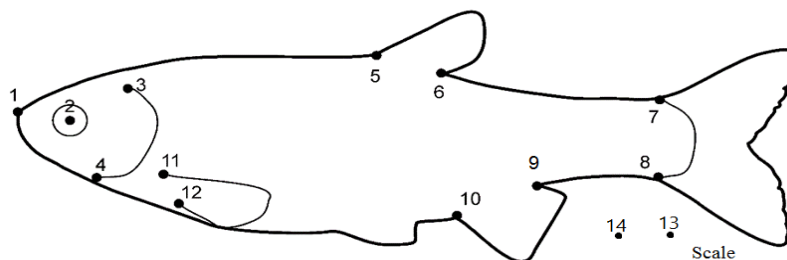
شکل ۱- موقعیت ایستگاه‌های نمونه‌برداری گونه *A. doriae*. شماره کنار هر ایستگاه در متن مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

نمونه‌ها را روی سطح مسطحی قرار داده و از نیم‌رخ چپ نمونه‌ها با استفاده از دوربین دیجیتالی SONY با رزولوشن ۱۰ مگاپیکسل عکس‌برداری گردید. به‌عنوان مقیاس عکس، یک خط‌کش در کنار نمونه‌ها در هنگام عکس‌برداری قرار داده شد. جهت اندازه‌گیری ریخت‌سنجی سنتی تعداد ۹ صفت با استفاده از نرم‌افزار ImageJ اندازه‌گیری شد (شکل ۲).



شکل ۲- ابعاد اندازه‌گیری شده برای مورفومتری سنتی در گونه *A. doriae*: TL: طول کل، SL: طول استاندارد، FL: طول چنگالی، EL: قطر چشم، PFL: قاعده باله سینه‌ای، DFL: قاعده باله پشتی، AFL: قاعده باله مخرجی، BD: ارتفاع بدن، HL: طول سر.

بر روی تصاویر همان نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار TpsDig2 ۱۲ لندمارک گذاشته شد (شکل ۳). دو لندمارک آخر نیز بر روی تصویر خط‌کش موجود در عکس به فاصله ۱ سانتی‌متر از هم قرار داده شد تا اثر سایز را با فاصله بین دو لندمارک آخر حذف شود. مختصات لندمارک‌ها در یک فایل tps ذخیره گردید.



شکل ۳- موقعیت لندمارک‌های تعیین شده روی نمونه‌های گونه *A. doriae*: ۱. نوک پوزه، ۲. مرکز چشم، ۳. ابتدای قاعده‌ی سرپوش آب‌ششی، ۴. انتهای قاعده باله پشتی، ۵. ابتدای قاعده باله پشتی، ۶. انتهای قاعده باله پشتی، ۷. لبه بالایی قاعده دم، ۸. لبه پایینی قاعده باله دم، ۹. انتهای قاعده باله مخرجی، ۱۰. ابتدای قاعده باله مخرجی، ۱۱. ابتدای قاعده باله سینه‌ای، ۱۲. انتهای قاعده باله مخرجی.

برای حذف اثر سایز داده‌های ریخت‌سنجی سنتی از روش الیوت و همکاران (Elliott et al., 1995) و با استفاده از نرم‌افزار PAST (Paleontological Statistics) نسخه ۳/۰۲ انجام گرفت. بین هر دو جمعیت به صورت دو به دو آنالیز واریانس چند متغیره (MANOVA) با استفاده از بسته stats در R انجام شد. برای تصحیح خطای نوع اول (Type-I error)، مقادیر P حاصل از آزمون‌ها به روش بونفرونی (Bonferroni) تنظیم شد (Underwood, 1997). در روش ریخت‌سنجی هندسی مشاهده مختصات لندمارک‌ها، فایل tps با نرم‌افزار Notepad که در سیستم عامل ویندوز قرار دارد بازگردید. برای حذف اثر سایز ابتدا فاصله اقلیدسی بین دو لندمارک آخر (d) با استفاده از مختصات دویبعدی (x و y) آن‌ها و معادله ۱ حذف گردید.

$$d = \sqrt{(x_1 - x_2)^2 + (y_1 - y_2)^2} \quad \text{معادله ۱}$$

مقادیر d در فایل tps تایپ گردید. به این منظور در فایل tps باز شده با Notepad، دو مختصات آخر مربوط به هر نمونه حذف گردید و مقدار d مربوط به آن نمونه به صورت SCALE= d (مثلاً SCALE=2.35) در فایل تایپ شد. سپس برای حذف اثر سایز از آنالیز پروکراست (روی هم‌گذاری) و بسته Geomorph در R استفاده شد. برای بررسی اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌ها به صورت دو به دو از آنالیز واریانس پروکراست (Procrustes ANOVA) در بسته Geomorph به صورت جای‌گشتی با

۱۰۰۰۰ جای گشت استفاده شد. بعد از وجود اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌ها، برای بررسی دو به دو جمعیت‌ها دو مدل فروکاسته (reduced)، که تنها حاوی عرض از مبدأ بود و مدل دیگر که کامل (full) بوده و فاکتور جمعیت را در خود داشت، به‌طور جای‌گشتی (با ۱۰۰۰۰ جای‌گشت) با هم مقایسه شده، سپس فاصله پروکراست جمعیت‌ها دو به دو با هم مقایسه گردید. تنظیم خطای نوع اول به روش بونفرونی انجام گرفت. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین دو جمعیت از نظر ریخت‌سنجی سنتی و هندسی با استفاده از آزمون مک‌نمار (McNemar) توسط بسته stats بررسی شد.

نتایج

آزمون MANOVA وجود اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌ها را نشان داد ($p < 0.001$). غیر از اختلاف بین جمعیت ۱ و ۶، ۳ و ۶ و همچنین ۴ و ۵، مقایسه بین جمعیت‌های دیگر در آزمون MANOVA وجود اختلاف معنی‌دار بین هر دو جمعیت مورد بررسی را نشان داد (جدول ۱). با توجه به مقدار p تفاوت معنی‌دار بین جمعیت‌های خوربه و رودخانه کرج و بین جمعیت‌های بهشت‌آباد و رودخانه کرج و همچنین رودبار و رودخانه کرج بودند.

جدول ۱- مقایسه دو به دو جمعیت‌های گونه *A. doriae* با MANOVA به همراه تصحیح مقادیر p به روش بونفرونی. ۱: خوربه، ۲: بهشت‌آباد، ۳: رودخانه کرج، ۴: جونقان، ۵: رودبار و ۶: قره‌چای

Populations	Residual Df	Pillai	approx F	num Df	Den Df	Pr(>F)	Adj. P
1 vs 2	58	0.44308	5.0719	8	51	0.0001	0.0017
1 vs 3	16	0.95507	23.915	8	9	<0.0001	0.0005
1 vs 4	34	0.64106	6.0278	8	27	0.0002	0.0027
1 vs 5	44	0.61335	7.3367	8	37	<0.0001	0.0001
1 vs 6	14	0.89978	7.8562	8	7	0.0067	0.1006
2 vs 3	54	0.79502	22.786	8	47	<0.0001	<0.0001
2 vs 4	72	0.40091	5.4373	8	65	<0.0001	0.0004
2 vs 5	82	0.31306	4.2725	8	75	0.0003	0.0043
2 vs 6	52	0.65063	10.475	8	45	<0.0001	<0.0001
3 vs 4	30	0.83658	14.717	8	23	<0.0001	<0.0001
3 vs 5	40	0.87835	29.785	8	33	<0.0001	<0.0001
3 vs 6	10	0.86704	2.4455	8	3	0.2490	1.0000
4 vs 5	58	0.23675	1.9775	8	51	0.0683	1.0000
4 vs 6	28	0.78486	9.5766	8	21	<0.0001	0.0002
5 vs 6	38	0.75650	12.039	8	31	<0.0001	<0.0001

نتایج حاصل از آنوای پروکراست وجود اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌ها را نشان داد ($p < 0.0001$). اختلاف معنی‌داری ($p < 0.0001$) بین مدل فروکاسته و مدل کامل وجود داشت که نشان داد مدلی که دارای جمعیت‌ها به‌عنوان متغیر مستقل می‌باشد با مدلی که تنها عرض از مبدأ را در خود دارد تفاوت

معنی‌داری داشت. مقایسه دو به دوی فاصله پروکراست جمعیت‌ها نشان داد که ماهیان جونقان و رودبار و همچنین بهشت‌آباد و قره‌چای از نظر ریخت‌سنجی هندسی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (جداول ۲ و ۳).

جدول ۲- مقدار p تصحیح‌شده به روش بونفرونی بعد از مقایسه دو به دوی فاصله پروکراست جمعیت‌های گونه

<i>A. doriae</i>					
	قره‌چای	رودبار	جونقان	رودخانه کرج	بهشت‌آباد
خوربه	0.0015	0.0075	0.0045	0.0015	0.0015
بهشت‌آباد	0.1440	0.0015	0.0015	0.0015	
رودخانه کرج	0.0045	0.0015	0.0015		
جونقان	0.0015	0.2685			
رودبار	0.0015				

جدول ۳- مقایسه نتایج بین ریخت‌سنجی سنتی و هندسی در مقایسه بین جمعیت‌های گونه *A. doriae*. $Y =$ وجود اختلاف معنی‌دار و $N =$ عدم وجود اختلاف معنی‌دار. ۱: خوربه، ۲: بهشت‌آباد، ۳: رودخانه کرج، ۴: جونقان، ۵: رودبار و ۶: قره‌چای. مقایسه بین جمعیت‌هایی که در جدول آورده نشده است اختلاف معنی‌داری را در هر دو روش سنتی و هندسی نشان داد.

دو جمعیت	سنتی	هندسی
1 vs 6	N	Y
2 vs 6	Y	N
3 vs 6	N	Y
4 vs 5	N	N

نتیجه آزمون مک‌نمار ($df = 1, P = 0.5637$) نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تعداد دفعاتی که دو روش اختلاف معنی‌دار یا عدم اختلاف معنی‌دار را نشان داده‌اند، نبود.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق تفاوت معنی‌داری را در بین جمعیت‌های ماهیان مورد مطالعه نشان داد. عوامل مختلف محیطی نقش مهمی در حیات زندگی ماهی در اکوسیستم‌های مختلف دارد. موجودات آبی برای بقا باید خود را با محیط‌زیست خود سازش دهند و به‌گونه‌ای عمل کنند که کمترین هزینه را در برابر عوامل تأثیرگذار محیطی بپردازند (Fuiman and Batty, 1997). وجود تنوع در شکل بدن این جوامع می‌تواند ناشی از تفاوت‌های رفتاری باشد (Guill et al., 2003). به‌دلیل شرایط موجود در محیط

آبی، شکل بدن می‌تواند بر عملکرد و رفتار ماهی و همچنین سایر موجودات آبی تأثیر بگذارد (Webb, 1984).

تغییرات ریختی جمعیت‌های ماهیان ناشی از سازش آنها با شرایط زیستگاه می‌باشد (Robinson and Wilson, 1994; Hendry et al., 2002; Nacua et al., 2010). در مطالعه حاضر تغییرات مشاهده شده در شکل بدن جمعیت‌های مختلف ماهی *A. doriae* می‌تواند تحت تأثیر شرایط رودخانه‌های محل زیست در حوضه‌های آبریز مختلف باشد. این تغییرات ریختی چنانچه منجر به سازگاری موجود در آن زیستگاه شود با اهمیت است. چنین سازش‌های ریختی می‌تواند سازگاری با نیروی هیدرودینامیکی برای حفظ انرژی موجود باشد و بقای جاندار را افزایش دهد (Vogel, 1994; Nacua et al., 2010).

تاکنون مطالعه‌ای برای مقایسه بین مورفومتری سنتی و هندسی صورت نگرفته بود و مطالعه حاضر اولین مطالعه می‌باشد. مشخص گردید که دو روش به‌طور کامل در یافتن اختلاف معنی‌دار بین خصوصیات مورفولوژیک بین جمعیت‌ها یکسان عمل نمی‌کنند اما در بیشتر موارد یکسان عمل می‌نمایند. عدم یکسان عمل نمودن صددرصد این دو روش را می‌توان تا حدی به مکانیزم تحلیل آنها نسبت داد. در ریخت‌سنجی سنتی متغیرهای مورفولوژیک مورد اندازه‌گیری یک بعدی (فاصله) هستند. در مورفومتری هندسی لندمارک‌های قرار داده شده بر روی نمونه دوبعدی می‌باشند. فاصله‌های اندازه‌گیری شده با روش سنتی همیشه بر آنچه توسط لندمارک‌ها قابل تعیین هستند، منطبق نیستند. هر چند در مطالعه حاضر سعی شد که تمامی فاصله و تمامی لندمارک‌های ممکن در این گونه مورد استفاده قرار گیرند.

آنالیز مورد استفاده برای مقایسه این دو روش دارای محدودیت است زیرا آنالیز مک‌نمار تنها در صورتی قابل استفاده است که حداقل تمام حالت‌های مقایسه‌ای بین دو روش صدق کند. یعنی حداقل یک مشاهده برای هر یک از چهار حالت زیر وجود داشته باشد: وجود اختلاف بین جمعیت‌ها با هر دو روش مورفومتری، عدم وجود اختلاف بین جمعیت‌ها با هر دو روش مورفومتری، وجود اختلاف بین جمعیت‌ها با روش مورفومتری سنتی ولی نه با مورفومتری هندسی، وجود اختلاف بین جمعیت‌ها با روش مورفومتری هندسی ولی نه با مورفومتری سنتی. از این رو این آنالیز می‌تواند در فقدان حداقل یک مورد مشاهده در یکی از چهار حالت فوق قابل استفاده نخواهد بود. افزایش تعداد نمونه‌ها ممکن است بتواند تا حدی این مشکل را رفع نماید.

در نهایت، مطالعه حاضر نشان داد که دو روش مورفومتری سنتی و هندسی به‌کار رفته روی این گونه تقریباً قضاوتی یکسان دارند. عدم تطبیق صددرصد دو روش فوق را می‌توان در ماهیت دو روش، یعنی به‌کارگیری داده‌های یک بعدی در مورفومتری سنتی و داده‌های دوبعدی (لندمارک) در

مورفومتری هندسی نسبت داد. یافتن روشی که تنها به وجود یا عدم وجود اختلاف بین جمعیت‌ها اکتفا نموده و درصد اختلاف این دو روش را بیان نماید، چالشی برای مطالعات آتی خواهد بود.

منابع

- Abdoli A., Golzarianpour K., Kiabi, B., Naderi M., Patimar R. 2011. Status of the endemic loaches of Iran. *Folia Zoologica*, 60(4), 362-368.
- Adams D.C., Rohlf F.J., Slice D.E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, 71(1): 5-16.
- Bookstein F.L. 1997. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*, Cambridge University Press. UK. 456P.
- Buj I., Podnar M., Mrakovcic M., Caleta M., Mustafic P., Zanella D., Marcic Z. 2008. Morphological and genetic diversity of *Sabanejewia balcanica* in Croatia. *Folia Zoologica*, 57(1-2): 100-110.
- Cheng Q.Q., Lu D.R., Ma L. 2005. Morphological differences between close populations discernible by multivariate analysis: a case study of genus *Coilia* (Teleostei: Clupeiforms). *Aquatic Living Resources*, 18(2): 187-192.
- Clayton J.W. 1981. The stock concept and the uncoupling of organismal and molecular evolution. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(12): 1515-1522.
- Ehlinger T.J., Wilson D.S. 1988. Complex foraging polymorphism in bluegill sunfish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(6): 1878-1882.
- Elliott N.G., Haskard K., Koslow J.A. 1995. Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia. *Journal of Fish Biology*, 46: 202-220.
- Esmaili H., Gholamifard A., Vatandoust S., Sayyadzadeh G., Zare R., Babaei S. 2014. Length-weight relationships for 37 freshwater fish species of Iran. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(5): 1073-1076.
- Fries L.T., Bowles D.E. 2002. Water quality and macroinvertebrate community structure associated with a sport fish hatchery outfall. *North American Journal of Aquaculture*, 64(4): 257-266.
- Fuiman L., Batty R. 1997. What a drag it is getting cold: partitioning the physical and physiological effects of temperature on fish swimming. *Journal of Experimental Biology*, 200(12): 1745-1755.
- Guill J., Hood C., Heins D. 2003. Body shape variation within and among three species of darters (Perciformes: Percidae). *Ecology of Freshwater Fish*, 12(2): 134-140.
- Hendry A.P., Taylor E.B., Donald McPhail J. 2002. Adaptive divergence and the balance between selection and gene flow: lake and stream stickleback in the Misty system. *Evolution*, 56(6): 1199-1216.

- James Rohlf F., Marcus L.F. 1993. A revolution morphometrics. Trends in Ecology & Evolution, 8(4): 129-132.
- Meyer A. 1987. Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes. Evolution, 41(6): 1357-1369.
- Moles M., Robinson B., Johnston T., Cunjak R., Jardine T., Casselman J., Leggett W. 2010. Morphological and trophic differentiation of growth morphotypes of walleye (*Sander vitreus*) from Lake Winnipeg, Canada. Canadian Journal of Zoology, 88(10): 950-960.
- Nacua S., Dorado E., Torres M., Demayo C. 2010. Body shape variation between two populations of the white Goby, *Glossogobius giuris* (Hamilton and Buchanan). Research Journal of Fisheries and Hydrobiology, 5(1): 44-51.
- Paez D.J., Hedger R., Bernatchez L., Dodson J.J. 2008. The morphological plastic response to water current velocity varies with age and sexual state in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*. Freshwater Biology, 53(8): 1544-1554.
- Pakkasmaa S., Piironen J. 2001. Morphological differentiation among local trout (*Salmo trutta*) populations. Biological Journal of the Linnean Society, 72(2): 231-239.
- Parker A.D., Stepien C.A., Sepulveda-Villet O.J., Ruehl C.B., Uzarski D.G. 2009. The interplay of morphology, habitat, resource use, and genetic relationships in young yellow perch. Transactions of the American Fisheries Society, 138(4): 899-914.
- Pazhayamadom D., Chakraborty S., Jaiswar A., Sudheesan D., Sajina A., Jahageerdar S. 2015. Stock structure analysis of 'Bombay duck' (*Harpadon nehereus* Hamilton, 1822) along the Indian coast using truss network morphometrics. Journal of Applied Ichthyology, 31(1): 37-44.
- Rajaei M., Poorbagher H., Farahmand H., Mortazavi M.S., Eagderi S. 2013. Interpopulation differences in shell forms of the pearl oyster, *Pinctada imbricata radiata* (Bivalvia: Pterioidea), in the northern Persian Gulf inferred from principal component analysis and elliptic Fourier analysis. Turkish Journal of Zoology, 38(1): 42-48.
- Rajput V., Johnson J., Sivakumar K. 2013. Environmental effects on the morphology of the Snow Trout *Schizothorax richardsonii* (Gray, 1832). TAPROBANICA: The Journal of Asian Biodiversity, 5(2): 102-110.
- Robinson B.W., Wilson D.S. 1994. Character release and displacement in fishes: a neglected literature. The American Naturalist, 144(4): 596-627.
- Schreck C.B., Moyle P.B. 1990. Methods for fish biology, American Fisheries Society Bethesda, Maryland, USA. 704p.
- Smith G.R. 1966. Distribution and evolution of the North American catostomid fishes of the subgenus *Pantosteus*, genus *Catostomus*. Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan, USA, 140 P.

- Spoljaric M., Reimchen T. 2007. 10000 years later: Evolution of body shape in *Haida gwaii* three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology*, 70(5): 1484-1503.
- Stearns S.C. 1983. A natural experiment in life-history evolution: Field data on the introduction of mosquitofish (*Gambusia affinis*) to Hawaii. *Evolution*, 37(3): 601-617.
- Strauss R.E., Bookstein F.L. 1982. The Truss: Body Form Reconstructions in Morphometrics. *Systematic Biology*, 31(2): 113-135.
- Taylor E.B. 1991. A review of local adaptation in Salmonidae, with particular reference to Pacific and Atlantic salmon. *Aquaculture*, 98(1-3): 185-207.
- Tjarks H. 2009. Geometric Morphometric Analysis of Head Shape in *Thamnophis elegans*. MSc thesis, California State University, Chicago. USA.
- Turan C. 2004. Stock identification of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) using morphometric and meristic characters. *ICES Journal of Marine Science*, 61(5): 774-781.
- Turan C., Oral M., Öztürk B., Düzgüneş E. 2006. Morphometric and meristic variation between stocks of Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Black, Marmara, Aegean and northeastern Mediterranean Seas. *Fisheries Research*, 79(1): 139-147.
- Tzeng T.D. 2004. Morphological variation between populations of spotted mackerel (*Scomber australasicus*) off Taiwan. *Fisheries Research*, 68(1): 45-55.
- Underwood A.J. 1997. Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance, Cambridge University Press, Cambridge, UK. 504 P.
- Vogel S. 1994. Life in moving fluids: the physical biology of flow, Princeton University Press. USA. 467 P.
- Webb P. 1984. Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates. *American Zoologist*, 24(1): 107-120.