



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره سوم، شماره چهارم، زمستان ۹۴

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

## مقایسه شکل هندسی جمجمه عصبی و قابلیت استفاده از آن در شناسایی گونه‌های جنس *Cyprinion* ایران

منوچهر نصری<sup>۱</sup>، سهیل ایگدری<sup>۲\*</sup>، حمید فرحمند<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

<sup>۳</sup> استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ ارسال: ۹۳/۱۱/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۲۱

### چکیده

به‌منظور بررسی قابلیت استفاده از شکل جمجمه عصبی در تفکیک گونه‌های جنس *Cyprinion* ایران بر اساس روش ریخت‌سنجی هندسی، تعداد ۳۰ قطعه ماهی از پنج گونه گزارش شده از ایران صید گردید. برای این منظور تعداد ۱۷ لندمارک هم‌ساخت روی تصاویر دو بعدی تهیه شده از نمای پشتی جمجمه عصبی ماهیان تعریف و رقومی سازی شد. داده‌های حاصله (مختصات لندمارک‌ها) با استفاده از روش‌های آماری تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA)، تجزیه و تحلیل تغییرات شکلی متعارف (CVA) و تحلیل خوشه‌ای (CA) به کمک نرم‌افزارهای Morpho J و PAST مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل‌های آماری به‌خوبی توانستند پنج گونه مورد مطالعه را بر اساس شکل جمجمه تفکیک نمایند. صفاتی که بر اساس آن‌ها می‌توان گونه‌های *Cyprinion* را تفکیک کرد به شرح زیر قابل بیان است: *C. kais* دارای کمترین عرض جمجمه در ناحیه پرویزنی جانبی، کمترین مقدار باریک‌شدگی جمجمه عصبی در بخش میانی و کمترین فاصله بین ابتدایی‌ترین محل اتصال آهیانه‌ها و انتهای‌ترین محل اتصال آن‌ها است، *C. macrostomum* دارای کمترین عرض استخوان بالاپرویزنی و دارای شکاف مشخص در لبه جلویی آن و همچنین بیشترین فاصله بین ابتدایی‌ترین محل اتصال آهیانه‌ها و انتهای‌ترین محل اتصال آن‌ها است، *C. milesi* دارای باریک‌ترین و کشیده‌ترین جمجمه عصبی بوده و بیشترین میزان باریک‌شدگی جمجمه در بخش میانی جمجمه را دارد. در *C. tenuiradius* عرض جمجمه در محل بالی‌گوشی زیاد بوده، در نواحی میانی جمجمه کاهش یافته و مجدداً در محل پرویزنی جانبی افزایش می‌یابد و در نهایت *C. watsoni* دارای پهن‌ترین و کوتاه‌ترین استخوان بالاپرویزنی است.

واژه‌های کلیدی: *Cyprinion* spp.، ریخت‌سنجی هندسی، آنالیز CVA، ریخت‌شناسی ماهیان

\*نویسنده مسئول: [soheil.eagderi@ut.ac.ir](mailto:soheil.eagderi@ut.ac.ir)

## مقدمه

ماهیان از نظر ریخت‌شناسی بسیار متنوع هستند و این تنوع بالا طبقه‌بندی آن‌ها را با چالش‌هایی روبرو کرده است (Nelson, 2006). شناسایی میدانی و موزه‌ای ماهیان عمدتاً بر اساس صفات ریختی (اندازشی و شمارشی) انجام می‌گیرد، زیرا این صفات به راحتی قابل اندازه‌گیری بوده و معمولاً صدمه‌ای به ماهیان زنده وارد نمی‌کند (Kottelat and Freyhof, 2007). استفاده از صفات شمارشی و اندازشی معمولاً برای تمایز گونه‌های ریختی مشخص قابل استفاده است اما همیشه نمی‌تواند جمعیت‌ها یا گونه‌هایی که به دلایل مختلف (به‌عنوان مثال تکامل همگرا) شباهت ریختی دارند را از هم تفکیک نماید. از طرفی صفات ریختی به‌ویژه الگوهای رنگی و صفات اندازشی می‌توانند تا حد زیادی تحت تأثیر محیط قرار گرفته و گمراه‌کننده باشند (Niecieza, 1995; Swain and Foote, 1999). چنین وضعیتی در بین ماهیان بخصوص ماهیان آب شیرین وجود دارد (Turan, 2004; Hashemzadeh-Segherloo *et al.*, 2012). روش‌های مقایسه‌ای جدیدی از قبیل استفاده از نشانگرهای ژنتیکی یا استخوان‌شناسی که کمتر تحت تأثیر عوامل محیطی می‌باشند، می‌توانند به شناسایی گونه‌ها و تفکیک جمعیت‌ها کمک نمایند (Briolay *et al.*, 1998; Doadrio *et al.*, 2002; Nasri *et al.*, 2015). این روش‌ها نیز مشکلات خاص خود را دارند. به‌عنوان مثال روش‌های ژنتیکی معمولاً پرهزینه و زمان‌بر بوده و در مواردی حتی لازم است تا ماهی کشته شود. روش‌های استخوان‌شناسی نیز بسته به تکنیک مورد استفاده دارای محدودیت‌هایی است. به‌عنوان مثال تکنیک‌های شفاف‌سازی و رنگ‌آمیزی معمولاً زمان‌بر هستند (Taylor, 1967). امروزه در دسترس بودن انواع ابزارهای عکس‌برداری با کیفیت و قابلیت‌های مختلف به همراه انواع نرم‌افزارهای جدید مانند تکنیک میکروسکوپی تی‌اسکن یا رادیوگرافی با اشعه ایکس سبب شده که روش‌های بسیار دقیقی برای مطالعات زیست‌شناسی و ریخت‌شناسی ماهیان قابل استفاده باشد (Abramoff *et al.*, 2004). به‌عنوان مثال توهکارینی (Tohkairin *et al.*, 2015) در مقایسه گونه‌های مختلف کفشک‌ماهی بر اساس الگوهای رنگی از تکنیک مقایسه ریختی بر اساس تصاویر دو بعدی استفاده کرده است. همچنین با استفاده از تکنیک‌های مقایسه شکلی مبتنی بر عکس‌برداری و پردازش تصویر، تشخیص لارو گونه‌های مختلف ماهیان از هم ممکن شده است (Yamazaki and Munehara, 2015). در حالی که این کارها پیش از این تنها به صورت توصیفی ممکن بوده و طبعاً از دقت کافی و پشتوانه‌های عددی و ریاضی مناسبی برخوردار نبودند. البته واضح است که هیچ روشی بدون نقص نیست اما هدف کلی محققین همواره جستجو، آزمودن و یافتن راه‌های مختلف است تا راهکار بهینه برای حل مشکلات علمی ارائه دهند. هرچند استفاده از روش‌های سنتی همچون روش‌های شمارشی و اندازشی هنوز هم در بسیار موارد دارای قابلیت‌های ارزشمندی در تمایز و تعریف گونه‌های ماهی هستند، در مواردی که تکنیک‌های سنتی قادر به روشن ساختن جنبه‌های تفاوت بین گونه‌ها نیستند،

کاربرد تکنیک‌های جدید می‌تواند بسیار راه‌گشا باشد. مطالعه ساختارهای اسکلتی کاربردهای متعددی در تحقیقات باستان‌شناسی (Carnevale *et al.*, 2011)، سیستماتیک (Roberts, 1986) و برخی دیگر از زمینه‌های زیست‌شناسی ماهیان دارد. کاربرد مطالعات ریختی اجزای اسکلتی به‌ویژه اشکال هندسی استخوان‌ها بسیار گسترده است. از این روش‌ها می‌توان در مطالعات تنوع زیستی و تفاوت‌های ریختی (Zelditch *et al.*, 2012)، مطالعات تکاملی (Gregory, 1933)، سیستماتیک (Diogo and Bills, 2006)، دیرین‌شناسی (Russ, 2009)، مدیریت ذخایر (King, 2007)، سیستماتیک ماهی (Geerinckx *et al.*, 2013) و مطالعات فردزایی (Britz, 1996) استفاده کرد.

بخش عمده مطالعات ریخت‌سنجی هندسی ساختارهای اسکلتی جمجمه با اهداف مختلف بر روی مهره‌داران خشکی‌زی مانند انسان (Kimmerle *et al.*, 2008)، میمون‌های وروت (Cardini *et al.*, 2007)، کیسه‌دار صاریغ (Morales *et al.*, 2000)، خفاش (Evin *et al.*, 2008) حتی در مورد لاک‌پشت‌های دریایی (Claude *et al.*, 2004) و کروکدیل‌ها (Pierce *et al.*, 2008) انجام شده است اما در مورد ماهیان به‌ویژه ماهیان ایران گزارش‌های کمی از سوی محققین ارائه شده است (Nasri *et al.*, 2013b). در مطالعه جمعیت‌های مختلف یک گونه (یک نوع موش) در مناطق جنوب غرب، مرکز و شرق آسیا که از نظر ریختی شباهت‌های بسیاری با هم داشتند، محققین توانستند از روی ساختار جمجمه عصبی آن‌ها جمعیت‌های هر گونه را به‌خوبی از هم تشخیص داده و در مواردی حتی اسکلت‌های موجود در موزه را با دقت بالا در دسته‌های مربوطه طبقه‌بندی کنند (Yazdi and Adriaens, 2013). همچنین طباطبائی یزدی و همکاران توانستند با استفاده از تجزیه و تحلیل هندسی شکل جمجمه عصبی موش صحرایی، وضعیت تاکسونومیک آن‌ها را بررسی کنند (Tabatabaei Yazdi *et al.*, 2012).

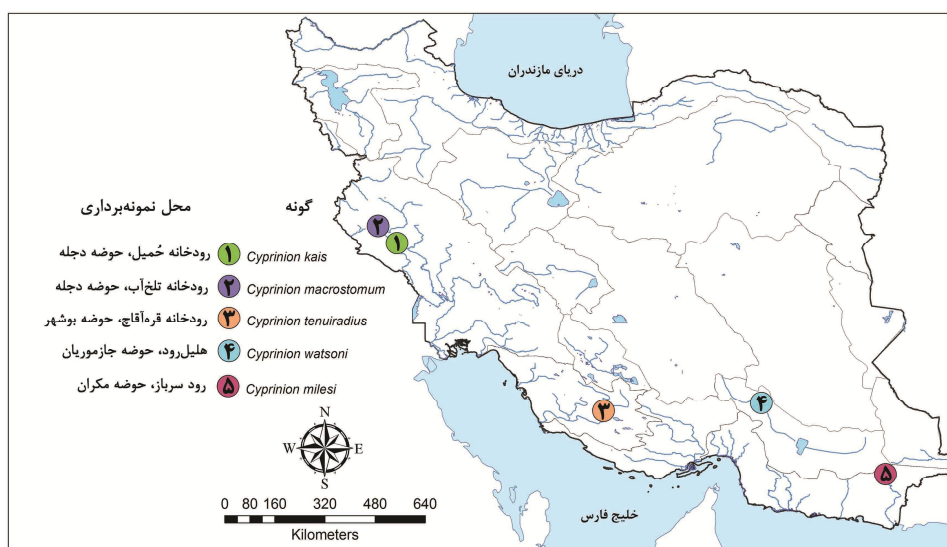
ماهی لوتک (جنس *Cyprinion*) در ایران دارای پنج گونه است که از کشورهای افغانستان و پاکستان در شرق ایران، حوضه‌های جنوب شرق و جنوب ایران تا نواحی غربی ایران و حتی تا کشور ترکیه نیز پراکنش دارند (Coad, 2014; Froese and Pauly, 2014). مطالعات متعدد حاکی از وجود تفاوت‌های ریختی (Banarescu and Herzig-Straschil, 1995; Nasri, 2008; Nasri *et al.*, 2013a)، ژنتیکی (Gaffaroğlu and Yüksel, 2004; Esmaili and Piravar, 2006; Nasri *et al.*, 2010) و آناتومیکی (Howes, 1982; Nasri *et al.*, 2013b) بین این پنج گونه است. بر اساس مطالعات انجام شده، صفات ریختی که می‌توان با استفاده از آن‌ها گونه‌های لوتک را از هم تشخیص داد به‌قرار زیر است: گونه‌ی *C. kais* به واسطه داشتن دهانی کوچک با لب‌های (زوائد) گوشتی جانبی مشخص و آخرین شعاع باله پشتی بسیار ستبر و مضرس در مقابل دهان عرضی و نسبتاً بزرگ از گونه *C. macrostomum* متمایز می‌گردد. آخرین شعاع غیرمنشعب باله پشتی در *C. tenuiradius* نسبت به

*C. macrostomum* ظریف‌تر بوده و حالت مضرس بودن لبه پشتی آن کمتر است و همچنین تعداد فلس روی خط جانبی آن کمتر است. با این حال هنوز در مورد معتبر بودن این گونه تردیدهایی وجود دارد (Coad, 2014). گونه‌های *C. milesi* و *C. watsoni* به واسطه قاعده باله پشتی کوتاه‌تر و ساقه دمی باریک‌تر از گونه‌های غرب و جنوب غرب ایران (سه گونه‌ی دیگر) متمایز می‌شوند و *C. milesi* با توجه به فرم ویژه دهان عرضی و نیمه انتهایی و سر بزرگ‌تر از *C. watsoni* متمایز می‌شود (Abdoli, 2000; Abdoli, 2000; Coad, 2014; Froese and Pauly, 2014). با توجه به دامنه پراکنش وسیع گونه‌های این جنس در ایران و تنوع ریختی بالایی که نشان می‌دهند (Nasri et al., 2013a)، استفاده از تکنیک‌های مدرن همانند ریخت‌سنجی هندسی لندمارک‌پایه می‌تواند در شناسایی این تنوع و تشخیص گونه‌های *Cyprinion* مفید باشد. بنابراین هدف این مطالعه، سنجش این فرض است که آیا می‌توان با استفاده از مقایسه هندسی فرم مجموعه عصبی گونه‌های مختلف جنس *Cyprinion* آن‌ها را از هم تفکیک و شناسایی کرد؟ در این مطالعه تلاش شده است تا برای اولین بار در ایران یک روش نسبتاً جدید مبتنی بر ریخت‌سنجی هندسی ساختارهای استخوانی برای این منظور استفاده شود. بدیهی است نتایج این مطالعه و توسعه و تکمیل چنین تکنیک‌هایی می‌تواند دریچه‌های جدیدی را بر روی محققین ماهی‌شناسی بگشاید و درک بهتری از الگوهای تنوع ریختی ماهیان ایران فراهم آورد.

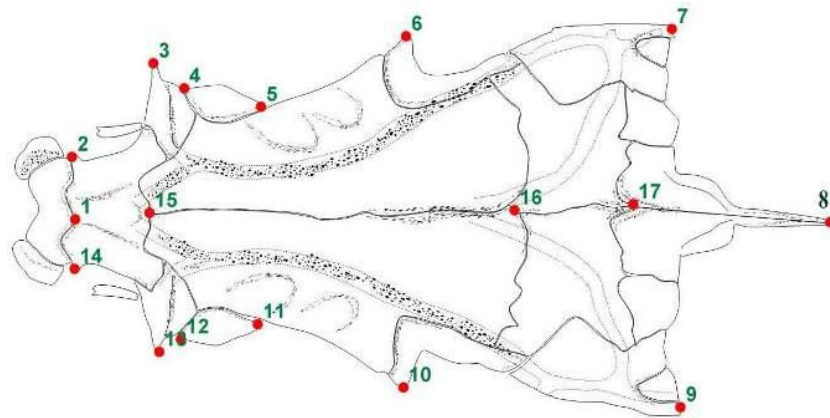
## مواد و روش کار

در این مطالعه تعداد ۳۰ قطعه ماهی (۶ قطعه از هر گونه) از پنج منبع آبی در حوضه‌های آبریز محل پراکنش آن‌ها شامل رودخانه حمیل در حوضه دجله ( $N: 33^{\circ} 46' 27''$  و  $E: 46^{\circ} 40' 54''$ )، تلخ‌آب در حوضه دجله ( $N: 33^{\circ} 16' 31''$  و  $E: 47^{\circ} 13' 33''$ )، رودخانه قره‌آقاج در حوضه بوشهر ( $N: 28^{\circ} 27' 13''$  و  $E: 53^{\circ} 09' 25''$ )، هلیل‌رود در حوضه جازموریان ( $N: 28^{\circ} 41' 09''$  و  $E: 41' 33''$ ) و رودخانه سرریز در حوضه مکران ( $N: 26^{\circ} 37' 54''$  و  $E: 61^{\circ} 15' 35''$ ) طی تابستان ۹۲-۱۳۹۱ با استفاده از الکتروشوک صید گردید (شکل ۱). شناسایی میدانی نمونه‌ها بر اساس کلید شناسایی (Abdoli, 2000; Coad, 2014) انجام شد. نمونه‌ها پس از بیهوشی در عصاره گل میخک ۱٪، در فرمالین ۱۰٪ بافری تثبیت و برای مطالعات بعدی به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه ابتدا نمونه‌ها با استفاده از روش (Taylor and Vandyke, 1985) شفاف‌سازی و رنگ‌آمیزی شده و از نمای پشتی مجموعه عصبی آن‌ها (پس از جداسازی مجموعه از بدن) به کمک اسکنر مجهز به حمام گلیسیرین با کیفیت ۲۴۰۰ dpi تصویربرداری به عمل آمد. به‌منظور مقایسه شکلی نمای پشتی مجموعه عصبی ماهی‌ها، تعداد ۱۷ لندمارک (شکل ۲) تعیین و با استفاده از نرم‌افزار tpsDig2 رقومی سازی گردید. جهت مقایسه آماری مختصات لندمارک‌های حاصله از نرم‌افزار PAST استفاده شد. از روش

روی هم گذاری عمومی (General Procrustes) جهت حذف اثرات اندازه و جهت از لندمارک‌های رقومی شده استفاده شد. به منظور درک واریانس درون گروهی و یافتن تفاوت‌های بالقوه از تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA)، جهت بررسی واریانس بین گروهی و مقایسه شکلی بین گونه‌ها از تجزیه و تحلیل تغییرات شکلی متعارف (CVA) ماتریکس مختصات‌های لندمارک‌ها و به منظور گروه‌بندی جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس شباهت شکلی مجسمه عصبی از آنالیز خوشه‌ای استفاده شد. به منظور نمایش تفاوت‌های شکلی بر اساس الگوی جایابی لندمارک‌ها (شبکه تغییر شکل) و مقایسه شکل میانگین مجسمه عصبی هر گونه با شکل میانگین کل از نرم‌افزار Small tps استفاده شد.



شکل ۱: ایستگاه‌های نمونه‌برداری شده از گونه‌های مختلف جنس *Cyprinion* در ایران.

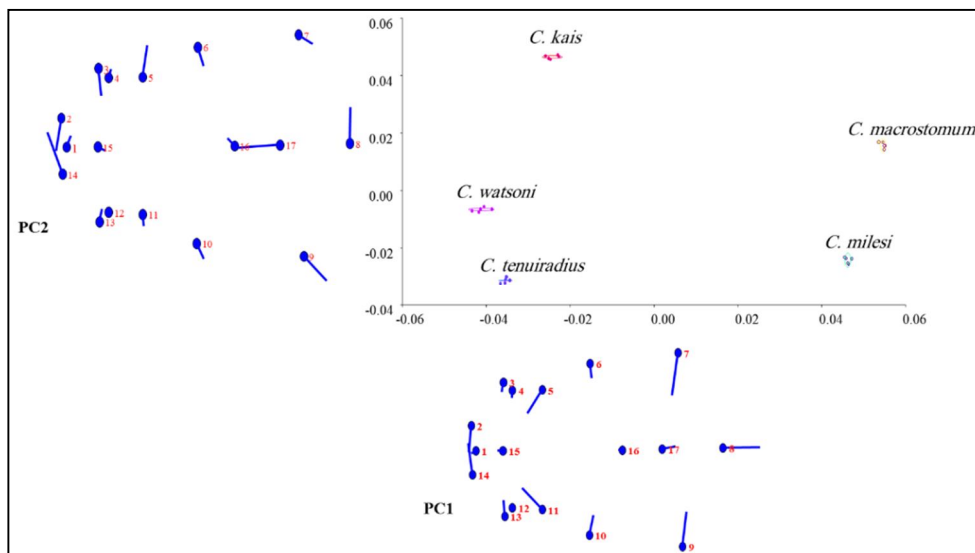


شکل ۲: لندمارک‌های تعیین شده برای مقایسه شکلی جمجمه گونه‌های Cyprinion در ایران. ۱: فرورفتگی لبه پیشین بالاپرویزنی (supraethmoid)، ۲ و ۱۴: گوشه‌های پیشین سمت راست و چپ بالاپرویزنی، ۳ و ۱۳: گوشه‌های جانبی پرویزنی جانبی (lateral ethmoid) سمت راست و چپ، ۴ و ۱۲: جلویی‌ترین گوشه بالاحدقه‌ای (supraorbital)، ۵ و ۱۱: عقبی‌ترین گوشه بالاحدقه‌ای، ۶ و ۱۰: گوشه‌های جانبی پروانه‌ای (sphenoid) سمت راست و چپ، ۷ و ۹: گوشه جانبی و عقبی بالای گوشه (pteroic) سمت راست و چپ، ۸: انتهای عقبی تاج بالاپس‌سری (supraoccipital crest)، ۱۵: جلویی‌ترین نقطه اتصال استخوان‌های پیشانی (frontals)، ۱۶: ابتدایی‌ترین محل اتصال آهیانه‌ها (parietal)، ۱۷: عقبی‌ترین نقطه اتصال استخوان‌های آهیانه.

### نتایج

همبستگی بین شکل تانژانت و شکل پروکراست معادل ۱ و شیب رگرسیون معادل ۰/۹۹۹ حاکی از تناسب مختصات لندمارک‌های رقومی شده برای انجام تجزیه و تحلیل آماری بود. نتایج تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی، تعداد ۲۴ مؤلفه را نشان داد که از بین آن‌ها، مؤلفه‌های ۱ و ۲ به ترتیب با ۵۱/۶۹۳ و ۲۴/۲۴۷ درصد بیشترین میزان تغییرات درون‌گروهی را نشان دادند. نمودار پراکنش نمونه‌ها بر اساس این دو مؤلفه اصلی، جمعیت‌ها را به خوبی از هم متمایز کرد (شکل ۳). بر اساس بار عاملی لندمارک‌ها در مؤلفه اصلی اول، مهم‌ترین تفاوت‌های بالقوه مربوط به پهنای جمجمه عصبی در نواحی بالای گوشه (لندمارک‌های ۷ و ۹)، پروانه‌ای (لندمارک‌های ۶ و ۱۰)، بالاحدقه‌ای (لندمارک‌های ۵ و ۱۱) و بالاپرویزنی (لندمارک‌های ۲ و ۱۴) بود. نتایج مقایسه بین‌گونه‌ای تفاوت‌های شکل جمجمه عصبی بر اساس آنالیز CVA تفاوت معنی‌دار بین گونه‌ها را نشان داد (جدول‌های ۱ و ۲). بر اساس فواصل ماهالانوبیس محاسبه شده، کمترین میزان تفاوت بین *C. tenuiradius* و *C. watsoni* و بیشترین فاصله ماهالانوبیس بین *C. milesi* و *C. kais* مشاهده گردید. نمودار پراکنش نمونه‌ها بر اساس CVهای ۱ و ۲ به خوبی گونه‌ها را بر اساس شکل جمجمه عصبی از هم تفکیک کرد (شکل ۴).

به منظور گروه‌بندی گونه‌های مورد مطالعه بر اساس میزان شباهت شکلی آن‌ها، از آنالیز خوشه‌ای با تعداد ۱۰۰۰ باز نمونه‌گیری استفاده شد. نتایج آنالیز خوشه‌ای نشان داد گونه‌های *Cyprinion* بر اساس شباهت شکلی به سه گروه کاملاً مجزا (با پشتیبانی ۱۰۰ درصد) شامل گروه ۱: *C. kais*، گروه ۲: *C. macrostomum* و *C. milesi* و گروه ۳: *C. watsoni* و *C. tenuiradius* تقسیم شدند (شکل ۵). مهم‌ترین وجه تفاوت‌های بین گونه‌ها بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل‌های CVA، شبکه تغییر شکل و آنالیز خوشه‌ای شامل موارد زیر بود: گروه ۱ یا *C. kais* بر اساس داشتن کمترین عرض جمجمه در ناحیه پرویزنی جانبی (لندمارک‌های ۳ و ۱۳)، کمترین باریک‌شدگی جمجمه عصبی در بخش میانی (لندمارک‌های ۳-۶ و ۱۳-۱۰) و کمترین فاصله بین ابتدایی‌ترین محل اتصال آهیانه‌ها و انتهایی‌ترین محل اتصال آن‌ها) از سایر گونه‌ها متمایز شد. گروه ۲: با پشتیبانی ۸۷ درصد و با داشتن بیشترین طول تاج پس‌سری (فاصله بین لندمارک‌های ۸ و ۱۷) و باریک‌تر بودن لبه پیشین بالاپرویزنی (لندمارک‌های ۲ و ۱۴) از دو گروه دیگر متمایز شدند و گروه ۳: با پشتیبانی ۹۵ درصد و با داشتن کمترین طول تاج پس‌سری و پهن‌تر بودن لبه پیشین بالاپرویزنی با گروه‌های دیگر تفاوت نشان دادند. بر اساس الگوی جابجایی لندمارک‌ها در شبکه تغییر شکل می‌توان صفات مختص هر گونه را به قرار زیر بیان کرد: *C. macrostomum* دارای کمترین عرض بالاپرویزنی و وجود شکاف مشخص در لبه جلویی آن و بیشترین فاصله بین ابتدایی‌ترین محل اتصال آهیانه‌ها و انتهایی‌ترین محل اتصال آن‌ها است. *C. milesi* دارای باریک‌ترین و کشیده‌ترین جمجمه عصبی بوده و بیشترین میزان باریک‌شدگی جمجمه در بخش میانی جمجمه عصبی را دارد (فواصل بین لندمارک‌های ۳-۶ و ۱۳-۱۰). در *C. tenuiradius* عرض جمجمه در محل بالی‌گوشی (لندمارک‌های ۹-۷) زیاد بوده و در نواحی میانی جمجمه کاهش یافته (فواصل بین لندمارک‌های ۳-۶ و ۱۳-۱۰) و مجدداً در محل پرویزنی جانبی افزایش می‌یابد (فاصله لندمارک‌های ۱۳-۳) و در نهایت *C. watsoni* دارای پهن‌ترین و کوتاه‌ترین استخوان بالاپرویزنی است.



شکل ۳: نمودار پراکنش گونه‌های *Cyprinion* بر اساس مؤلفه‌های اصلی ۱ و ۲ و نمایش میزان تأثیر هر یک از لندمارک‌ها در مؤلفه‌های استخراج شده.

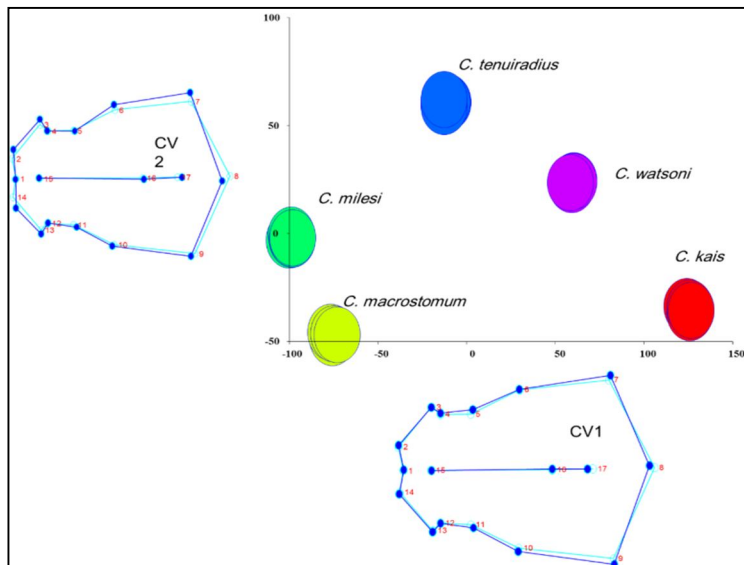
جدول ۱: ماتریکس فواصل ماهالانوبیس بین گونه‌های بر اساس تجزیه و تحلیل CVA

<i>C. tenuiradius</i>	<i>C. milesi</i>	<i>C. macrostomum</i>	<i>C. kais</i>
			۲۱۱/۴۸۵ <i>C. macrostomum</i>
		۱۰۳/۶۶۶	۲۲۸/۷۲۳ <i>C. milesi</i>
	۱۲۲/۶۱۶	۱۲۹/۲۴۶	۱۷۰/۶۴۴ <i>C. tenuiradius</i>
۸۸/۰۷۴	۱۷۶/۰۸۳	۱۵۴/۸۹۱	۱۰۳/۰۳۲ <i>C. watsoni</i>

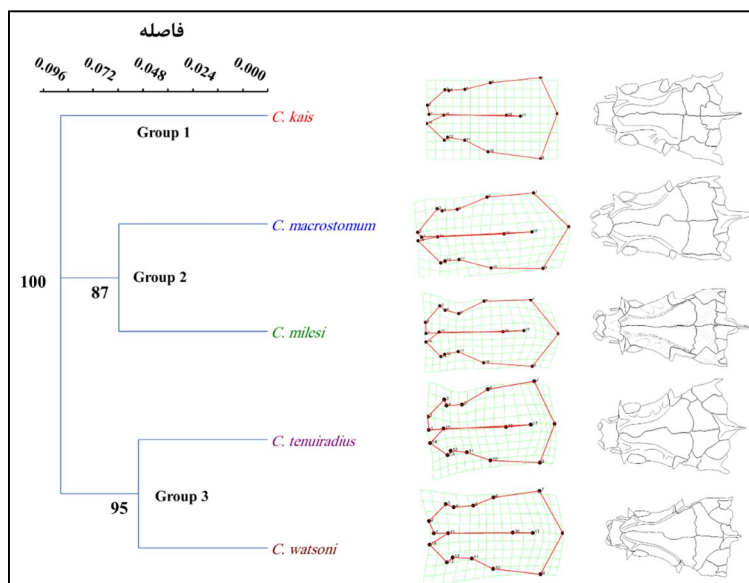
جدول ۲: ماتریکس مقادیر *p-values* برای مقایسه فواصل ماهالانوبیس بین گونه‌های بر اساس تجزیه و تحلیل CVA

<i>C. tenuiradius</i>	<i>C. milesi</i>	<i>C. macrostomum</i>	<i>C. kais</i>
			۰/۰۰۴۲ <i>C. macrostomum</i>
		۰/۰۰۶۸	۰/۰۰۶۴ <i>C. milesi</i>
	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۲۹	۰/۰۰۷۶ <i>C. tenuiradius</i>
۰/۰۰۶۵	۰/۰۰۶۸	۰/۰۰۶۸	۰/۰۰۰۵ <i>C. watsoni</i>

مقایسه شکل هندسی جمجمه عصبی و قابلیت استفاده از آن در شناسایی....



شکل ۴: نمودار پراکنش گونه‌های *Cyprinion* بر اساس CVهای ۱ و ۲ حاصل از آنالیز CVA.



شکل ۵: نمودار خوشه‌ای، نمای پشتی جمجمه عصبی و شبکه تغییر شکل جمجمه عصبی پنج گونه *Cyprinion* در ایران.

## بحث و نتیجه‌گیری

هرچند مطالعاتی در مورد استخوان‌شناسی ماهیان ایران انجام شده (Keivany, 2003; Nasri *et al.*, 2013b; Keivany, 2014)، اما به‌طور کلی این عرصه تحقیقاتی در ایران قدمت چندانی ندارد. جمجمه ماهیان نسبت به سایر مهره‌داران دارای تعداد قطعات بیشتری است (Gregory, 1933; Rojo, 1991) بنابراین به‌طور بالقوه می‌تواند دربردارنده الگوهای تنوع بیشتری باشد. در این مطالعه گونه‌های جنس *Cyprinion* بر اساس شکل جمجمه عصبی به‌خوبی از هم تفکیک شدند. بر این اساس گونه‌های *C. milesi* و *C. macrostomum* از نظر فرم جمجمه در یک گروه جای گرفتند. این مسئله با توجه به غیر هم‌بوم بودن آن‌ها قابل بحث است. بر اساس الگوی جابجایی لندمارک‌ها، باریک و کشیده‌تر بودن جمجمه عصبی وجه شباهت اصلی دو گونه *C. milesi* و *C. macrostomum* است. مطالعات نشان داده است که فرم جمجمه عصبی می‌تواند بر روی فرم ظاهری سر اثر گذاشته و در نهایت بر قابلیت هیدرودینامیک ماهی اثر بگذارد (Naples and McAfee, 2012). از طرفی ابعاد جمجمه می‌تواند بر فرم دهان و حفره دهانی و وضعیت تغذیه‌ای و رژیم غذایی نیز اثرگذار باشد (Gregory, 1933).

قرار گرفتن *C. macrostomum* و *C. milesi* در یک گروه را نمی‌توان به‌عنوان دلیلی برای قرابت خویشاوندی آن‌ها در نظر گرفت. برای قضاوت در این مورد لازم است جنبه‌های دیگری از قبیل سایر ساختارهای اسکلتی و مطالعات مولکولی نیز لحاظ گردد. اما شباهت این دو گونه از نظر فرم باریک جمجمه می‌تواند به واسطه تکامل هم‌گرایی آن‌ها تحت تأثیر شرایط اکولوژیکی مشابه باشد. گونه *C. macrostomum* در محیط‌های با شدت جریان بالا زندگی می‌کنند و از سوی دیگر *C. milesi* به واسطه نوع رژیم غذایی شکارگرانه خود نیازمند اکتساب حداکثر قابلیت هیدرودینامیکی و سازگاری در ناحیه دهانی است. بروز انعطاف‌پذیری ریختی مرتبط با شرایط اکولوژیکی در مورد برخی ماهیان تأیید شده است (Niecieza, 1995; Marcil *et al.*, 2006) حتی در مورد جنس *Cyprinion* نیز وجود تنوع ریختی در بین *C. watsoni* و *C. macrostomum* (Nasri *et al.*, 2013a) و جمعیت‌های مختلف گونه *C. macrostomum* (Nasri *et al.*, 2013a) و گونه *Cabdio morar* (Faradonbeh *et al.*, 2014) نیز تأیید شده است. در ماهیان *C. tenuiradius* و *C. watsoni* به‌طور مشخصی جمجمه عصبی و ساختار supraethmoid نسبت به سه گونه دیگر پهن‌تر است. اسکلت جمجمه عصبی علاوه بر حفاظت از بافت‌های آسیب‌پذیر همچون سیستم عصبی مرکزی، به‌عنوان تکیه‌گاهی برای اتصال عضلات نیز عمل می‌کند. رژیم غذایی این دو گونه ماهی عمدتاً جلبک‌های چسبنده است (Coad, 2014). اساساً ماهیان جنس *Cyprinion* به‌عنوان Sector mouth معروف‌اند یعنی لبه فک پایین آن‌ها حالت تیغه‌ای دارد (Howes, 1982). لذا همواره به کمک این لب‌های تیغه‌ای در حال کاوش و خراش دادن جلبک‌ها از روی بسترهای داخل آب هستند (Howes, 1982). چنین فعالیت‌هایی معمولاً نیاز به جنب و جوش و

تحرك بالا دارد كه خود نیازمند وجود عضلات ستبر و قوی است. عضلات قوی تر معمولاً نیازمند سطوح اتصال وسیع تر و محكم تر بر روی اسكلت هستند. در مطالعه‌ای كه روی دوریختی جنسی جمجمه عصبی خرس قهوه‌ای انجام شد، مشخص گردید كه خرس‌های نر به واسطه جثه بزرگ‌تر و فعالیت بیشتر در امر شكار و رقابت، دارای جمجمه بزرگ‌تری هستند كه سطح مقطع وسیع‌تری برای اتصال عضلات گاز گیرنده فك‌ها و همچنین عضلات گردنی برای مهار طعمه فراهم می‌آورند (Ghanbari et al., 2013). در مورد ماهیان استخوانی به‌ویژه در كپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ارتباط بین اندازه استخوان، ماهیچه و رژیم غذایی تأیید شده است. به‌عنوان مثال خاطر نشان شده كه وجود عضلات ستبر در نواحی حلقی منعكس‌كننده نیاز ماهی كپور معمولی برای خرد كردن اجزاء غذایی همانند دانه‌های گیاهی و پوسته نرم‌تنان آبی است (Eastman, 1971). گونه‌های *C. macrostomum* و *C. kais* در رودخانه‌های غرب و جنوب غرب كشور پراكش دارند كه اكثر غریب به اتفاق آن‌ها پرآب بوده و معمولاً از غنای غذایی بالایی نیز برخوردارند. در چنین رودخانه‌هایی هرچند وجود حجم بالای آب نیاز به عضلات قوی برای مقاومت در مقابل جریان آب را یادآور می‌كند، اما به نظر می‌رسد این دو گونه از استراتژی افزایش كارایی هیدرودینامیک به‌خوبی جهت سازگاری با شرایط محیطی خود استفاده کرده‌اند. این سازگاری‌ها را می‌توان در فرم دوکی شكل بدن آن‌ها به‌خوبی مشاهده كرد. وجود ذخایر چربی بسیار فراوان در محوطه احشایی و پر بودن روده *C. macrostomum* از جلبك‌ها و سایر مواد گیاهی (Nasri, 2008) نشان از وفور مواد غذایی در مناطق پراكش آن‌ها است كه سبب شده این ماهیان برای دستیابی به غذا نیاز كمتری به خراشیدن سرسختانه جلبك‌های چسبیده به بستر داشته باشند. از طرفی رژیم تغذیه‌ای *C. kais* از حشرات آبی و كرم‌ها و مواد گیاهی (Al-Rudainy, 2008) و فرم دهان خاص آن‌ها كه فاقد لبه تیغه‌ای است، عملاً نیاز به وجود عضلات قوی تر و متعاقب آن وجود تکیه‌گاه‌های استخوانی قوی تر و بزرگ‌تر نداشته باشند. بنابراین پیشنهاد می‌شود باریك‌تر بودن جمجمه عصبی به‌خصوص در نواحی اسفنوئیدها كه تکیه‌گاه عضلات مرتبط با حرکت و باز و بسته شدن دهان هستند، به همین دلیل باشد. دهان در *C. milesi* در موقعیت نیمه انتهایی قرار داشته و فرم آن با سایر *Cyprinion*ها متفاوت است به‌طوری‌كه دهان بسیار بزرگ بوده و فاقد لبه تیغه‌مانند در لب پایین است. هرچند مطالعات مشخصی در مورد تغذیه این ماهی انجام نشده است اما بر اساس فرم دهان این ماهی و تحقیقات منتشر نشده نویسندگان این مقاله، می‌توان الگوی شكارگری و تغذیه از انواع آبزیان همچون لارو حشرات را برای آن پیشنهاد كرد. این مسئله نیاز به مطالعات تكمیلی بافت‌شناسی و زیست‌شناسی دارد تا در مورد الگوی تغذیه‌ای و سازگاری‌های مربوطه اطلاعات دقیق‌تری به دست آید. قرار داشتن دهان در موقعیت نیمه انتهایی نیازمند تغییراتی در فرم جمجمه است. همان‌طور كه مشخص است استخوان بالاپرویزی در این ماهی نسبت به *C. macrostomum* و *C. kais* پهن‌تر و كشیده‌تر است كه

ممکن است برای پشتیبانی از وضعیت نیمه انتهایی دهان ایجاد شده باشند. از طرفی کشیده‌تر بودن زائده تاج پس‌سری که عضلات تنه‌ای به دو طرف آن متصل هستند به همراه بدن دوکی شکل آن نیز می‌تواند به نیاز این ماهی برای حرکت سریع‌تر و چابک‌تر این ماهی که لازمه زندگی شکارگری است تأکید کند. مطالعات نشان داده که فرم بدن ماهیان حاصل برهم‌کنش مداوم و سازگاری با شرایط خاص محیطی آن‌ها از قبیل فشار، چگالی و جریان است (Triantafyllou *et al.*, 2000).

در مورد دو گونه *C. watsoni* و *C. tenuiradius* باید خاطر نشان کرد که اساساً گونه *C. tenuiradius* از نظر جغرافیایی به گونه‌های دجله نزدیک‌تر است و حتی برخی محققین آن را به *C. macrostomum* نزدیک‌تر دانسته‌اند (Coad, 2014). رودخانه‌های محل زندگی دو گونه *C. watsoni* و *C. tenuiradius* فاقد بار مواد آلی کافی بوده و معمولاً از نظر غذایی نیز غنای بالایی ندارند. علت این مسئله ممکن است به خاطر کمبود مواد بیوژن ورودی به این آبراهه‌ها باشد. به‌رحال این ماهیان همواره در تلاش و تکاپوی بسیار برای کسب مواد غذایی از طریق خراشیدن جلبک‌های روی سطوح داخل آب هستند. یکی از اسامی محلی این ماهیان در ایران سنگ‌لیس است (Teimori *et al.*, 2011) که اشاره به همین حالت در آن‌ها دارد. پهن بودن جمجمه عصبی این ماهیان به‌ویژه در نواحی اسفونوئید می‌تواند به خاطر ایجاد سطح تماس بیشتر برای اتصال عضلاتی باشد که با حرکت دهان و آرواره‌ها مرتبط هستند که البته برای تأیید این مسئله لازم است ساختار عضلانی این ماهیان نیز مورد مطالعه و مقایسه قرار گیرد.

به‌عنوان جمع‌بندی نهایی، نتایج این مطالعه نشان داد که تجزیه و تحلیل شکل هندسی جمجمه عصبی می‌تواند به‌عنوان یک ابزار دقیق و قابل استفاده برای تشخیص و تمایز گونه‌های *Cyprinion* و حتی تبیین نقش کارکردی اجزاء اسکلتی بکار گرفته شود. بنابراین پیشنهاد می‌گردد با استفاده از تکنیک‌های مشابه و همچنین اجزاء دیگر اسکلت و همچنین روی گونه‌های دیگر ماهیان مطالعات مشابهی صورت گیرد تا به یک روش بهینه برای کاربرد ریخت‌سنجی هندسی در شناسایی جمعیت‌های ماهیان دست یابیم. نتایج این مطالعه می‌تواند در کنار مطالعات ریختی و مولکولی قرار گرفته و در پاسخ به برخی سؤالات مربوط به آرایه‌شناسی ماهیان مفید باشد.

## منابع

- Abdoli A. 2000. The Inland Water Fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife, Tehran. 377 P. (In Persian).
- Abramoff M.D., Magalhaes P.J., Ram S.J. 2004. Image Processing with Image. Biophotonics International, 11(7): 36-42.
- Al-Rudainy A.J. 2008. Atlas of Iraqi Fresh Water Fishes. Ministry of the Environment, Baghdad. (In English and Arabic).

- Banarescu P.M., Herzig-Straschil B. 1995. A revision of the species of the *Cyprinion macrostomus*-group (Pisces: Cyprinidae). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 97(B): 411- 420.
- Briolay J., Galtier N., Brito R.M., Bouvet Y. 1998. Molecular Phylogeny of Cyprinidae Inferred from cytochrome bDNA Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9(1): 100-108.
- Britz R. 1996. Ontogeny of the Ethmoidal Region and Hyopalatine Arch in *Macragnathus pancalus* (Percomorpha, Mastacembeloidei), with Critical Remarks on Mastacembeloid Inter- and Intra-relationships. *American Museum of Natural History*, 3181: 1-18.
- Cardini A., Jansson A.U., Elton S. 2007. A geometric morphometric approach to the study of ecogeographical and clinal variation in vervet monkeys. *Journal of Biogeography*, 34(10): 1663-1678.
- Carnevale G., Haghfarshi E., Abbasi S., Alimohammadian H., Reichenbacher B. 2011. A new species of silverside from the Late Miocene of NW Iran. *Acta Palaeontologica Polonica*, 56(4): 749–756.
- Claude J., Pritchard P.C.H., Tong H., Paradis E., Auffray J.C. 2004. Ecological Correlates and Evolutionary Divergence in the Skull of Turtles: A Geometric Morphometric Assessment. *Systematic Biology*, 53(6): 933-948.
- Coad B.W. 2014. Freshwater fishes of Iran. Updated 6 May 2014. [Cited 6 May 2014]. Available from: [www.briancoad.com](http://www.briancoad.com).
- Diogo R., Bills R. 2006. Osteology and Myology of the Cephalic Region and Pectoral Girdle of the South African Catfish *Austroglanis gilli*, With Comments on the Autapomorphies and Phylogenetic Relationships of the Austroglanididae (Teleostei : Siluriformes). *Animal Biology*, 56(1): 39-62.
- Doadrio I., Carmona J.A., Machordom A. 2002. Haplotype Diversity and Phylogenetic Relationships Among the Iberian Barbels (*Barbus*, Cyprinidae) Reveal Two Evolutionary Lineages. *Journal of Heredity*, 93(2): 140-147.
- Eastman J.T. 1971. The Pharyngeal Bone Musculature of the Carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Morphology*, 34(2): 131-140.
- Esmaili H.R., Piravar Z. 2006. On the karyotype of *Cyprinion tenuiradius* Heckle, 1849 (Pisces: Cyprinidae) from the Southwest of Iran. *Zoology in the Middle East*, 39: 75-80.
- Evin A., Baylac M., Ruedi M., Mucedda M., Pons J.M. 2008. Taxonomy, skull diversity and evolution in a species complex of *Myotis* (Chiroptera: Vespertilionidae): a geometric morphometric appraisal. *Biological Journal of the Linnean Society*, 95(3): 529-538.
- Faradonbeh M.Z., Eagderi S., Nasri M. 2014. Geometric morphometric comparison of populations of Waspi *Cabdio morar* (Hamilton, 1822) in Mashkil and Mokran Basins. *Iranian Journal of Fisheries*, 23(2): 61-72. (In Persian).

- Froese R., Pauly D. 2014. FishBase. Updated 08/2014. [Cited 08/2014]. Available from: [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org).
- Gaffaroglu M., Yüksel E. 2004. Karyotype Analysis of *Cyprinion macrostomus* Heckel, 1843 (Pisces: Cyprinidae). Gazi Üniversitesi Kirşehir Eğitim Fakültesi, 5(2): 235-239.
- Geerinckx T., Vreven E., Dierick M., Hoorebeke L.V., Adriaens D. 2013. Revision of *Notoglanidium* and related genera (Siluriformes: Claroteidae) based on morphology and osteology. Zootaxa, 3691(1): 165-191.
- Ghanbari F., Kaboli M., Eagderi S., Nezami-Balouchi B. 2013. Sexual dimorphism in skull morphology of the brown bear (*Ursus arctos* Linnaeus, 1758) in Iran using geometric morphometric technique. Taxonomy and Biosystematics, 5(16): 17-26. (In Persian).
- Gregory W.K. 1933. Fish Skulls: A Study of the Evolution of Natural Mechanisms. Krieger Publishing Company, Malabar.
- Howes G. 1982. Anatomy and evolution of the jaws in the semiplotine carps with a review of the genus *Cyprinion* Hechel, 1843 (Teleostei: Cyprinidae). Bulletin of the British Museum (Natural History). Zoology, 42(4): 299-335.
- Keivany Y. 2003. head skeleton of Zagross tooth carp *Aphanius vladykovi* (Cyprinodontidae). Iranian Journal of Biology, 15(3): 25-30. (In Persian).
- Keivany Y. 2014. Comparative osteology of the suspensorial and opercular series in representatives of the eurypterygian fishes. Iranian Journal of Ichthyology, 1(2): 73-90.
- Kimmerle E.H., Ross A., Slice D. 2008. Sexual Dimorphism in America: Geometric Morphometric Analysis of the Craniofacial Region. Journal of Forensic Sciences, 53(1): 54-57.
- King M. 2007. Fisheries biology assessment and management, 2nd. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Kottelat M., Freyhof J. 2007. Handbook of European Freshwater Fishes. Berlin.
- Marcil J., Swain D.P., Hutchings J.A. 2006. Genetic and environmental components of phenotypic variation in body shape among populations of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Biological Journal of the Linnean Society, 88(3): 351-365.
- Moraes D.A.D., Hingst-Zaher E., Marcus L.F., Cerqueira R. 2000. A geometric morphometric analysis of cranial and mandibular shape variation of didelphid marsupials. Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy, 11(1): 115-130.
- Naples V.L., McAfee R.K. 2012. Reconstruction of the cranial musculature and masticatory function of the Pleistocene panamerican ground sloth *Eremotherium laurillardii* (Mammalia, Xenarthra, Megatheriidae). Historical Biology, 24(2): 187-206.
- Nasri M. 2008. Taxonomy of bigmouth lotak (*Cyprinion macrostomum* Heckel, 1843) and smallmouth lotak (*Cyprinion kais* Heckel, 1843) in Karkheh River

- basin and Godarkhosh River in Ilam province. M.Sc., Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan. (In Persian).
- Nasri M., Eagderi S., Farahmand H., Hashemzade-SegharLoo I. 2013a. Body shape comparison of *Cyprinion macrostomum* (Heckel, 1843) and *Cyprinion watsoni* (Day, 1872) using geometric morphometric method. *International Journal of Aquatic Biology*, 1(5): 240-244.
- Nasri M., Keivany Y., Dorafshan S. 2010b. First karyological analysis of Smallmouth lotak, *Cyprinion kais* Heckel, 1843, an endemic cyprinid fish from Tigris-Euphrates basin. *Italian Journal of Zoology*, 77(3): 272-276.
- Nasri M., Keivany Y., Dorafshan S. 2013b. Comparative Osteology of Lotaks, *Cyprinion kais* and *C. macrostomum* (Cypriniformes, Cyprinidae), from Godarkhosh River, Western Iran. *Journal of Ichthyology*, 53(6): 455-463.
- Nasri M., Keivany Y., Dorafshan S. 2015. Karyological analysis of *Cyprinion macrostomum* Heckel, 1843, from Godarkhosh River, Ilam Province, Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(3): 786-796.
- Nelson J.S. 2006. *Fishes of the world*. 4<sup>th</sup> Edition, John Wiley, 624 P.
- Nicieza A.G. 1995. Morphological variation between geographically disjunct populations of Atlantic salmon: the effects of ontogeny and habitat shift. *Functional Ecology*, 9: 448-456.
- Pierce S.E., Angielczyk K.D., Rayfield E.J. 2008. Patterns of Morphospace Occupation and Mechanical Performance in Extant Crocodylian Skulls: A Combined Geometric Morphometric and Finite Element Modeling Approach. *Journal of Morphology*, 269(7): 840-864.
- Roberts T.R. 1986. Systematic Review of the Mastacembelidae or Spiny Eels of Burma and Thailand, with Description of Two New Species of *Macrognathus*. *Japanese Journal of Ichthyology*, 33(2): 95-109.
- Rojo A.L. 1991. *Dictionary of Evolutionary Fish Osteology*. 1<sup>st</sup> Edition, CRC Press, 288 P.
- Russ H. 2009. Introduction to archaeological fish remains. 29 BAJR Practical Guide, 9 P.
- Segherloo I.H., Bernatchez L., Golzarianpour K., Abdoli A., Primmer C.R., Bakhtiary M. 2012. Genetic differentiation between two sympatric morphs of the blind Iran cave barb *Iranocypris typhlops*. *Journal of Fish Biology*, 81(5): 1747-1753.
- Swain D.P., Foote C.J. 1999. Stocks and chameleons: The use of phenotypic variation in stock identification. *Fisheries Research*, 43: 113-128.
- Tabatabaei Yazdi F., Adriaens D., Darvish J. 2012. Geographic pattern of cranial differentiation in the Asian Midday Jird *Meriones meridianus* (Rodentia: Muridae: Gerbillinae) and its taxonomic implications. *Journal of Zoological Systematical and Evolutionary Research*, 50(2): 157-164.

- Taylor W.R. 1967. An enzyme method of clearing and staining small vertebrates. Proceedings of the United States National Museum, 122(3596): 1-17.
- Taylor W.R., Vandyke G.C. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. Cybium, 9(2): 107-119.
- Teimori A., Esmaeili H.R., Ansari T.H. 2011. Micro-structure Consideration of the Adhesive Organ in Doctor Fish, *Garra rufa* (Teleostei; Cyprinidae) from the Persian Gulf Basin. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 11: 407-411.
- Tohkairin A., Kai Y., Ueda Y., Hamatsu T., Ito M., Nakabo T. 2015. Morphological divergence between two color morphotypes of *Crystallichthys matsushimae* (Cottoidei: Liparidae). Ichthyological Research, 62: 145-155.
- Triantafyllou M.S., Triantafyllou G.S., Yue D.K.P. 2000. Hydrodynamics of Fishlike Swimming. Annual Review of Fluid Mechanics, 32: 33-53.
- Turan C. 2004. Stock identification of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) using morphometric and meristic characters. ICES Journal of Marine Science, 61: 774-781.
- Yamazaki A., Munehara H. 2015. Identification of larvae of two *Gymnocanthus* (Cottidae) species based on melanophore patterns. Ichthyological Research, 62: 240-243.
- Yazdi F.T., Adriaens D. 2013. Cranial variation in *Meriones tristrami* (Rodentia: Muridae: Gerbillinae) and its morphological comparison with *Meriones persicus*, *Meriones vinogradovi* and *Meriones libycus*: a geometric morphometric study. Journal of Zoological Systematical and Evolutionary Research, 51(3): 239-251.
- Zelditch M.L., Sheets D., Fink W.L. 2012. Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer, 2. Elsevier Science and Technology. Amsterdam, Boston.