تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال هفتم، شماره بیست و دوم، بهار ۱۳۹۴، صفحه ۱-۱۲
دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۸/۰۶ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۲/۱۷

بررسی مقایسه‌ای ریخت‌شناختی سه گونه از جنس *Paracobitis* با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی: با مروری بر وضعیت تاکسونومیک این جنس در ایران

امید جعفری [۱]، سهیل ایگدری [۲]*، مریم نصراله پورمقدم [۲]، هاشم نوفرستی [۱] و حامد موسوی ثابت [۳]
[۱] گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۲] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[۳] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران

چکیده

پژوهش حاضر با هدف امکان کاربرد روش ریخت‌سنجی هندسی در تفکیک گونه‌ای جمعیت‌های سه گونه از جنس *Paracobitis* در ایران و تشخص ویژگی‌های ریختی تمایز دهنده آنها اجرا شد، چرا که مطالعات پیشین بر اساس روش ریخت‌سنجی سنتی نتوانسته است گونه‌های این جنس را از لحاظ ریختی از یکدیگر تمایز دهد. به این منظور، تعداد ۱۵۰ قطعه ماهی از رودخانه‌های کردان، زرین گل، مادرسو، قمرود و چاه‌نیمه زابل نمونه‌برداری شد. از سطح جانبی سمت چپ بدن ماهی‌ها عکس‌برداری شد و روی تصاویر دو بعدی با استفاده از نرم‌افزار TpsDig2 تعداد ۱۵ عدد لندمارک گذاری تعیین شده رقومی گردید. داده‌های لندمارک پس از تحلیل پروکراست با روش‌های آماری چند متغیره PCA، CVA و تحلیل خوشه‌ای تحلیل شد. سپس، الگوهای تغییر شکل هر جمعیت نسبت به شکل میانگین کل جمعیت‌ها در شبکه تغییر شکل مصورسازی شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌دار در ویژگی‌های ریختی نه تنها سه گونه مورد بررسی بلکه بین جمعیت‌های مختلف آنها نیز وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱). این تفاوت‌ها مربوط به طول و عرض سر، پهنای بدن، طول ساقه دمی، جایگاه چشم و موقعیت باله پشتی بودند. نتایج همچنین نشان داد که جمعیت رودخانه کردان احتمالا گونه *P. iranica* نباشد. علاوه بر این، مطالعه پژوهش آشکار کرد که روش ریخت‌سنجی هندسی می‌تواند برای بسیاری از گونه‌ها با اندازه کوچک نظیر اعضای خانواده Nemachelinae به عنوان ابزاری مناسب برای مطالعات ریخت‌شناختی و آرایه‌شناسی باشد.

واژه‌های کلیدی: ریختی‌سنجی هندسی، *Paracobitis iranica*، *P. malapterura*، *P. rhadinaeus*

مقدمه

سگ‌ماهیان جویباری جنس *Paracobitis* Bleeker, 1863 با ۱۷ گونه، در غرب آسیا پراکنش یافته‌اند و حضور شش گونه از آنها شامل: *P. iranica* (Nalbant and Bianco, 1998)، *P. malapterura* (Valenciennes, 1846)، *P. rhadinaeus* (Regan, 1906)، *P. smithi*

* soheil.eagderi@ut.ac.ir

(Greenwood, 1976)؛ P. vignai (Nalbant and Bianco, 1998) و *Paracobitis* sp. (در رودخانـه کـر استان فارس) در ایران گزارش شده است (Coad, 2013). در اعضای این جنس، سر از بـالا بـه پـایین و سـاقه‌دمـی از طرفین فشرده بوده، ساقه‌دمی دارای یک تاج پشتی بلنـد و طویل است که از باله پشتی تا باله‌دمی کشیده شـده اسـت ولی به بخش جلویی باله‌دمی اتصال ندارد (Coad, 2013). اعضـــای جـــنس *Paracobitis* دارای الگوهـــای رنگـــی متفـاوتی هسـتند و حتـی در بـین جمعیـت‌هـای مختلـف گونه های آن تفـاوت در الگوهـایی رنگـی گـزارش شـده است (Coad, 2013). با این وجود، جداسازی اعضای این جنس اساسا بر اساس الگوی رنگی آنها بوده اسـت، بـرای نمونـه، گونـه *P. iranica* و *P. malapterura* بـر اسـاس الگوی رنگ و تاج چربـی از هـم جـدا شـده و بـه عنـوان گونه‌های مجزا معرفی شـده‌انـد (Nalbant and Bianco, 1998). مطالعه ۲۱ ویژگی ریختـی و ۶ ویژگـی شمارشـی این دو گونه نیز نتوانسته است این دو گونه را از هم متمایز نماید (Coad, 2013). به علاوه، گزارش‌هـای متعـددی از حضور اعضای این جنس در حوضه‌های مختلف ایران بـه ویژه در حوزه‌های آبریز جنـوب وجـود دارد کـه نیازمنـد یک بررسی جامع آرایـه‌شـناختی هسـتند (Coad, 2013). بنابراین، جدا نشدن اعضای این دو گونـه و احتمـالا سـایر گونه ها و حتـی جمعیـت هـا، علیـرغم تفـاوت ظـاهری در شکل بدن آنها، می توانـد بیـانگر عـدم توانـایی روش‌هـای ریخت‌سنجی سنتی در بررسی ویژگی های ریخت‌شناختی اعضای جنس *Paracobitis* باشد.

روش ریخـــت‌ســـنجی هندســـی (geometric morphometric) یـک روش مـدرن‌تـر نسـبت بـه روش سنتی اسـت کـه در آن داده هـای لنـدمارک و خـط سیر پیرامونی (outline) می تواند اطلاعات ساختارهای زیستی را در قالب شکل اصلی استخراج و به صـورت گرافیکـی به نمایش درآورد (Zelditch, 2004؛ Tabatabei *et al*., 2013). علاوه بر این، امکان تفسیر داده‌های این شـکل‌هـا و تحلیل آماری آنها به راحتی امکان‌پذیر اسـت (Adams *et al*., 2004؛ Eagderi *et al*., 2013). بـرخلاف روش سنتی کـه از فواصـل بـه عنـوان داده‌هـای شـکل اسـتفاده می‌نماید، در روش ریخت‌سنجی هندسی لنـدمارک پایـه الگوی شکل نمونه‌ها بر اساس مختصات فضایی نقـاط بـه عنوان بازتابی از تغییرات شکل در بین ساختارهای زیستی بررسـی و مقایسـه مـی‌گـردد (Adams *et al*., 2004؛ Ghanbari *et al*., 2013). از ایـن رو، بـا توجـه بـه قابلیـت‌هـای بـالای روش ریخـت‌سـنجی هندسـی در جداسازی اشکال زیستی، مطالعه حاضر با هـدف بررسـی و مقایسه شکل بدن (ویژگی ریخت شناختی) اعضای سـه گونه *P. iranica* (با دو جمعیت از رودخانه‌های قمرود و کـردان کـرج)، *P. malapterura* (بـا دو جمعیـت از رودخانـــه زریـــن‌گـــل گلســـتان و رودخانـــه تجـــن) و *P. rhadinaeus* (با یـک جمعیـت از چـاه‌نیمـه زابـل) بـا هـدف امکـان کـاربرد روش ریخـت‌سـنجی هندسـی در تفکیک ریختی اعضای ایـن جـنس بـه اجـرا در آمـد. بـا توجه به هدف این تحقیق و عدم دسترسـی بـه سـه گونـه گزارش شده دیگـر، تنهـا پـنج جمعیـت فـوق در مطالعـه حاضر بررسی شد. نتایج این تحقیق به واسطه کمی‌سـازی ویژگی‌های ریختی شکل بدن اعضای این جنس می تواند موجب شناسایی بهتر آنها شود و به درک بهتـر تاریخچـه تکاملی آنها در مناطق جغرافیایی مختلـف کمـک نمایـد، همچنین بـر اسـتفاده از روش ریخت‌سـنجی هندسـی بـه عنــوان ابــزاری بــرای تفکیــک گونــه‌ای در مطالعــات آرایه شناسی اعضای جنس *Paracobitis* در ایران، تأییـد می‌کند.

مواد و روش‌ها

جایگاه‌های نمونه‌برداری: تعداد ۱۵۰ نمونه جنس *Paracobitis* از پنج منطقه زرین گل (E:54°57', N:36°52') (۴۰ عدد)، مادرسو (E:55°50', N:37°23') (۴۰ عدد)، رودخانه کردان کرج (E:50°49', N:35°56') (۳۰ عدد)، رودخانه قمرود (N:34°39', E:49°58') (۲۵ عدد) و چاه‌نیمه زابل (E:30°51', N:61°41') (۱۵ عدد) با استفاده از الکتروشوکر و تور گوشگیر صید شد. نمونه‌های صید شده بلافاصله در محلول گل میخک بیهوش و در فرمالین ۱۰ درصد بافری تثبیت شدند و برای ادامه مطالعات به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور کاهش تغییرات شکل بدن ناشی از رشد آلومتریک، فقط نمونه‌های بالغ و بزرگتر از ۴۰ میلی‌متر انتخاب شدند.

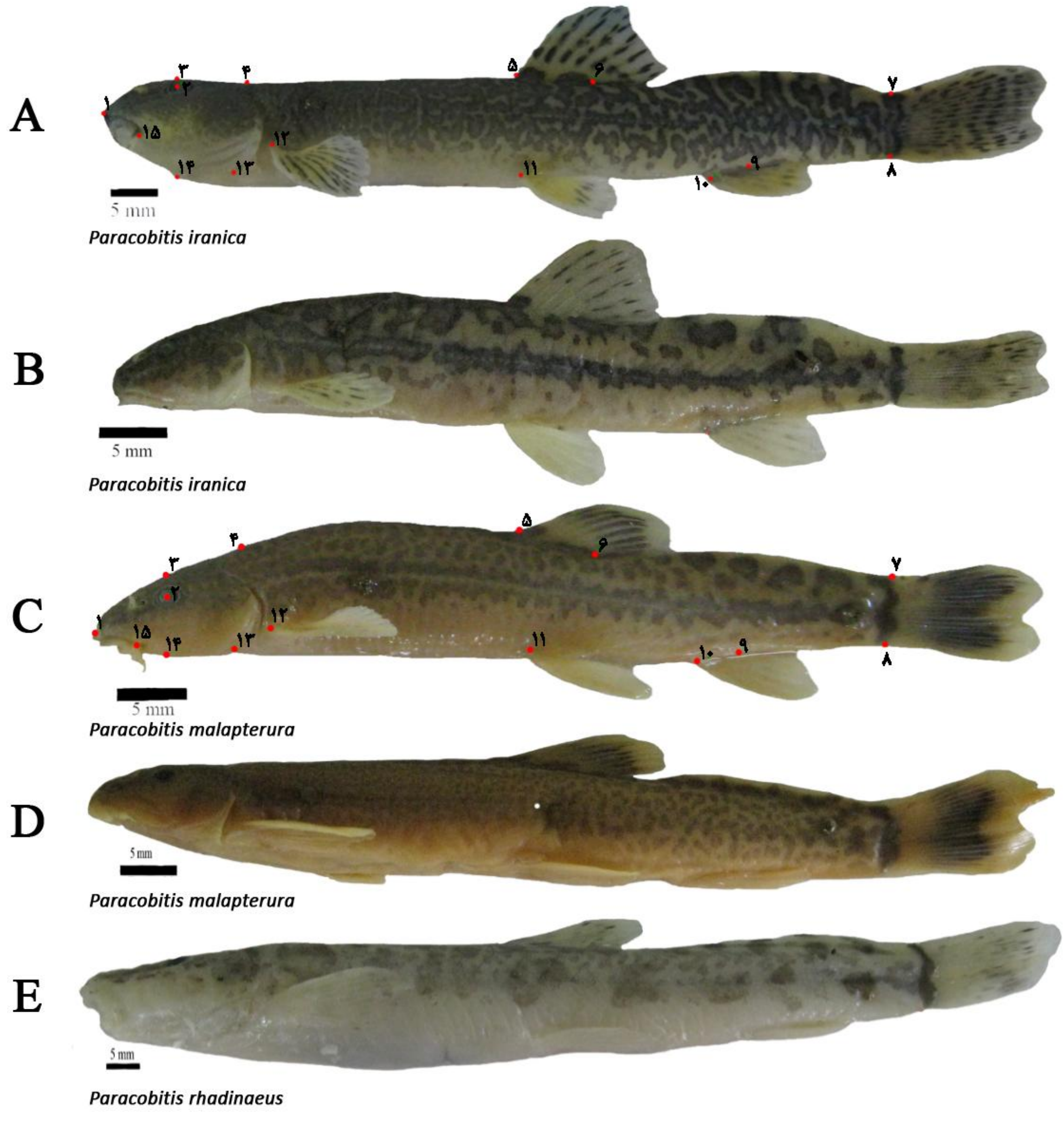
در روش ریخت‌سنجی هندسی، داده‌های حاصل، مختصات لندمارک ها است که برای استخراج داده های شکل مورد استفاده قرار می‌گیرند و می‌توانند در یک شبکه تغییر شکل مصورسازی شوند (Adams *et al*., 2004). از این رو، از سمت چپ سطح جانبی نمونه ها با استفاده از Copystand مجهز به دوربین دیجیتال Kodak با قدرت تفکیک شش مگاپیکسل عکس‌برداری شد. برای استخراج داده‌های شکل در روش ریخت‌سنجی هندسی تعداد ۱۵ لندمارک تعیین (شکل ۱) و با نرم‌افزار TpsDig2 روی تصاویر دو بعدی رقومی گردیدند. روی‌هم‌گذاری جایگاه لندمارک‌های نمونه‌ها به منظور حذف تغییرات غیرشکل (شامل مقیاس، جهت و موقعیت) با استفاده از تحلیل پروکراست (Generalised Procrustes Analysis) (Rohlf, 2001) در نرم‌افزارهای MorphoJ و Past انجام شد (Klingenberg, 1998).

داده‌های حاصل از شکل بدن جمعیت‌های مطالعه شده با استفاده تحلیل‌های چندمتغیره تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و تحلیل خوشه‌ای (CA) با انتخاب الگوریتم‌های Paired group و Eucilidean توسط نرم‌افزار PAST نسخه ۲/۱۰ و تحلیل همبستگی کانونی (CVA) بر اساس ارزش عدد P حاصل از Permutation test با ۱۰۰۰۰ تکرار در نرم‌افزار MorphoJ تحلیل شدند. بوت‌استرپ تحلیل خوشه‌ای با ۱۰۰۰۰ تکرار اجرا و درصد تکرار حمایت کننده هر شاخه، بر اساس بیش از ۵۰ درصد حمایت در دندوگرام آورده شد. به علاوه، فاصله Mahalanobis بین گروه ها نیز در تحلیل CVA استخراج گردید. مصورسازی تغییرات شکل بدن بر اساس میانگین شکل جمعیت‌ها نسبت به شکل میانگین کل (consensus configuration) با استفاده از شبکه تغییر شکل در نرم‌افزار MorphoJ صورت پذیرفت. این مقایسه بر اساس فاصله پروکراست است که سنجش استاندارد در بررسی تفاوت شکل در روش ریخت‌سنجی هندسی است (Rohlf, 2001). همچنین بر اساس جایگاه‌های متفاوت مشاهده شده روی شبکه تغییر شکل حاصل، فواصل طولی با نرم‌افزار ImageJ بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و به طول استاندارد نسبت‌گیری شدند.

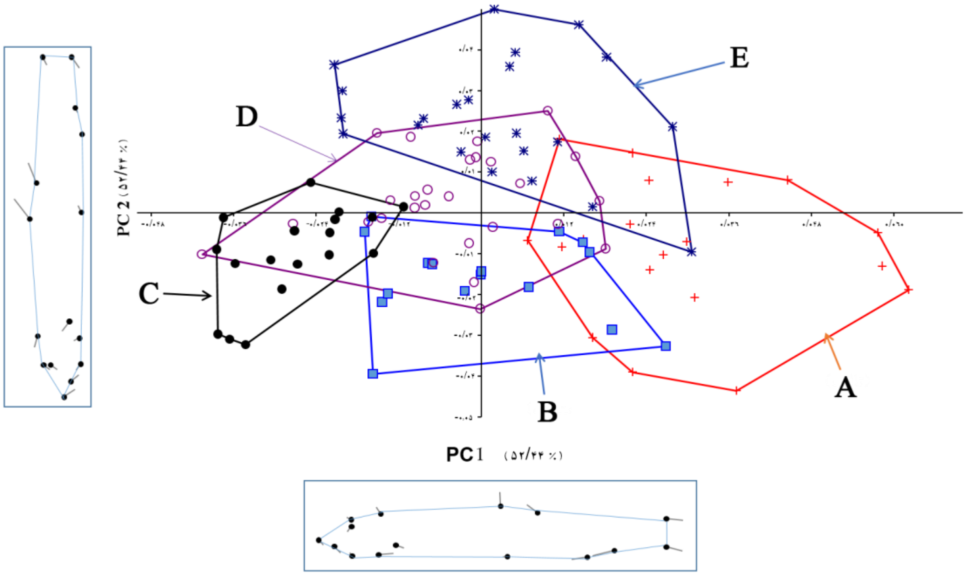
نتایج

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)، شش عامل نخست را با مجموع ۷۲ درصد از واریانس‌ها به عنوان مؤلفه‌های مؤثر تشخیص داد که سهم هر کدام از این مؤلفه‌ها از مؤلفه اول تا ششم به ترتیب ۲۲/۵۶، ۱۷/۳۰، ۱۴/۴۳، ۱۰/۴۸، ۷/۹۵ و ۵/۸۸ درصد بود. مؤلفه‌های اصلی اول و دوم که در مجموع حدود ۴۰ درصد واریانس را نشان می‌دادند، نسبت به یکدیگر پلات شدند

که نحوه توزیع جمعیت‌ها در نمودار PCA در شکل ۲ آورده شده است. مؤلفه اصلی اول مربوط به ویژگی‌هایی شامل: طویل شدن ساقه دمی، افزایش پهنای بدن، جابه‌جایی پشتی ناحیه آبششی، جابه‌جایی جایگاه چشم و تغییر موقعیت دهانی و مؤلفه اصلی دوم بیان کننده کوچک شدن سر، جابه‌جایی شکمی نوک پوزه، جابه‌جایی پشتی باله پشتی، پهن شدن بدن در ناحیه باله پشتی و کم عرض شدن ناحیه سر در مجاورت چشم بود.



شکل ۱- لندمارک‌های تعیین شده روی نمونه‌ها: ۱) ابتدایی‌ترین نقطه پوزه، ۲) مرکز چشم، ۳) نقطه لبه بالایی سر در امتداد مرکز چشم، ۴) نقطه انتهایی بخش سر، ۵) ابتدای قاعده باله پشتی، ۶) انتهای قاعده باله پشتی، ۷) قسمت بالای ساقه دمی در بخش بیشترین تورفتگی ساقه دمی، ۸) پایین ساقه دمی در قسمت بیشترین تورفتگی ساقه دمی، ۹) انتهای قاعده باله مخرجی، ۱۰) ابتدای قاعده باله مخرجی، ۱۱) ابتدایی‌ترین نقطه قاعده باله شکمی، ۱۲) ابتدایی‌ترین نقطه قاعده باله سینه‌ای، ۱۳) نقطه پایین شکاف سرپوش آبششی، ۱۴) نقطه لبه پایینی سر در امتداد مرکز چشم، ۱۵) ابتدایی‌ترین نقطه شروع جفت سبیلک زیرین



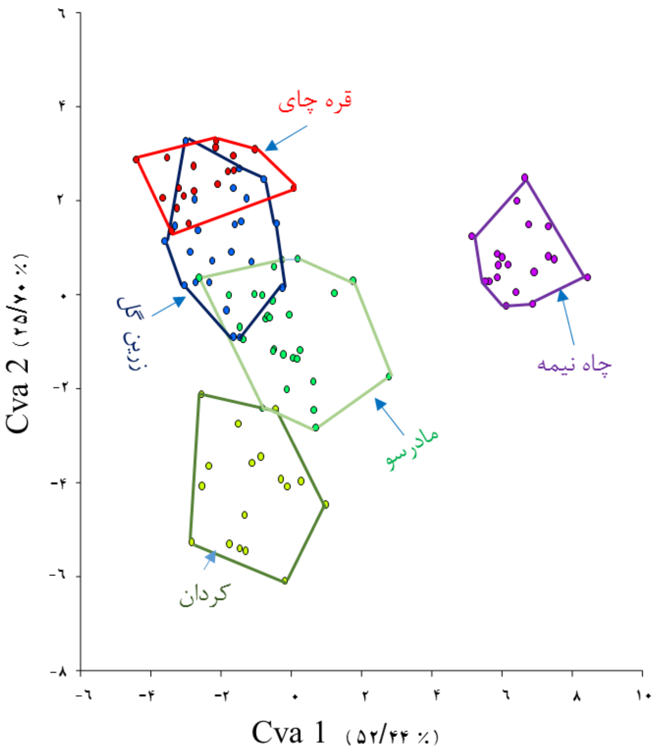
شکل ۲– نمودار تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) شکل بدن گونه‌های مطالعه شده. A) جمعیت گونه *Paracobitis iranica* رودخانه قمرود؛ B) جمعیت گونه *P. iranica* رودخانه کردان؛ C) جمعیت گونه *P. rhadinaeus* رودخانه چاه‌نیمه زابل؛ D) جمعیت گونه *P. malapterura* رودخانه مادرسو؛ E) جمعیت گونه *P. malapterura* رودخانه زرین گل.

تحلیل همبستگی کانونی (CVA) حدود ۱۰۰ درصد واریانس را در چهار مؤلفه اول نشان داد که هر کدام به ترتیب: ۵۲/۴۴، ۲۵/۷۰، ۱۲/۷۳و ۹/۱۳ از واریانس را به خود اختصاص دادند. CVA توانست ۹۹ درصد داده‌ها را به صورت صحیح کلاسه‌بندی کند. دو مؤلفه نخست با ۷۷ درصد واریانس به عنوان عوامل اصلی پلات شدند (شکل ۳). نمودار CVA پنج گروه بررسی شده را کاملا از یکدیگر متمایز نمود. در این نمودار گونه *P. rhadinaeus* و *P. iranica* رودخانه کردان را به طور کامل از دیگر گروه‌ها جدا نمود (شکل ۳). تحلیل Permutation test نیز نشان داد که بین شکل بدن تمام جمعیت‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱). فاصله Mahalanobis بین شکل بدن گروه‌های مطالعه شده در جدول ۱ آورده شده است.

بررسی الگوهای ریختی شکل بدن گروه‌های مطالعه شده بر اساس نتایج مصورسازی شده در شبکه تغییر شکل نشان داد که شکل بدن این گونه‌ها از الگوهای متنوعی تبعیت می‌کنند (شکل ۴). بر اساس الگوی جابه‌جایی لندمارک‌ها در گونه *P. iranica* رودخانه کردان بیشترین تفاوت مربوط به تغییر جایگاه لندمارک‌های مستقر در نیمه جلویی بدن بود. اعضای این گروه دارای سر بزرگتر و پهن‌تر بودند (جابه‌جایی لندمارک‌های ۱، ۳، ۱۳ و ۱۴). این گونه باله سینه‌ای کاملا شکمی‌تر (جابه‌جایی لندمارک‌های ۹ و ۱۰) و طول قاعده باله مخرجی کوتاه دارد. همچنین، در این گونه عرض در انتهای ساقه دمی نیز اندکی قدامی بود. گونه *P. iranica* رودخانه قمرود دارای پوزه کوتاه‌تر و سری کوچکتر است (جابه‌جایی لندمارک‌های ۱ و ۱۴) و ابتدای قاعده باله سینه‌ای آن نیز پشتی است. در این گروه، قاعده باله پشتی به سمت جلو جابه‌جا شده بود و دارای ساقه دمی درازتری نیز بود (جابه‌جایی پشتی لندمارک‌های ۷ و ۸). گونه *P. malapterura* رودخانه زرین گل داری سری کوچک

و کم عرض بوده، جفت سبیلک دوم در موقعیت شکمی‌تری قرار گرفته است (جابه‌جایی لندمارک‌های ۳ و ۱۴). در این گروه، جابه جایی پشتی باله پشتی، کوتاه شدن طول قاعده باله مخرجی، جابه جایی پشتی باله شکمی و جابه جایی شکمی نوک پوزه مشاهده شد. همچنین این جمعیت دارای ساقه دمی کوتاه تری نیز بود (جابه جایی لندمارک‌های ۷ و ۸). در جمعیت *P. malapterura* رودخانه مادرسو باله پشتی دارای جابه جایی پشتی بوده، طول قاعده کوتاه‌تری را نیز نشان داد. این گونه دارای ساقه دمی پهن‌تر و باله مخرجی با قاعده طویل‌تری بود (جابه جایی لندمارک های ۹ و ۱۰). همچنین در این گروه جابه‌جایی قدامی ابتدای قاعده باله شکمی و جابه‌جایی شکمی نوک پوزه نیز مشاهده شد. نتایج در گونه *P. rhadinaeus* نشان داد که این گونه دارای بدنی فشرده و سری کشیده است (جابه‌جایی لندمارک‌های ۱، ۳، ۴ و ۱۴). همچنین در این گونه جابه جایی قدامی نوک پوزه و جفت سبیلک زیرین نیز مشاهده شد. ساقه دمی این گونه طول کمتری دارد و باله مخرجی نیز دارای جابه‌جایی پشتی است (جابه جایی لندمارک‌های ۹ و ۱۰). همچنین گونه *P. rhadinaeus* دارای قاعده باله پشتی درازتری است و اندکی جابه جایی شکمی در این باله نیز مشاهده شد (جابه‌جایی لندمارک‌های ۵ و ۶).

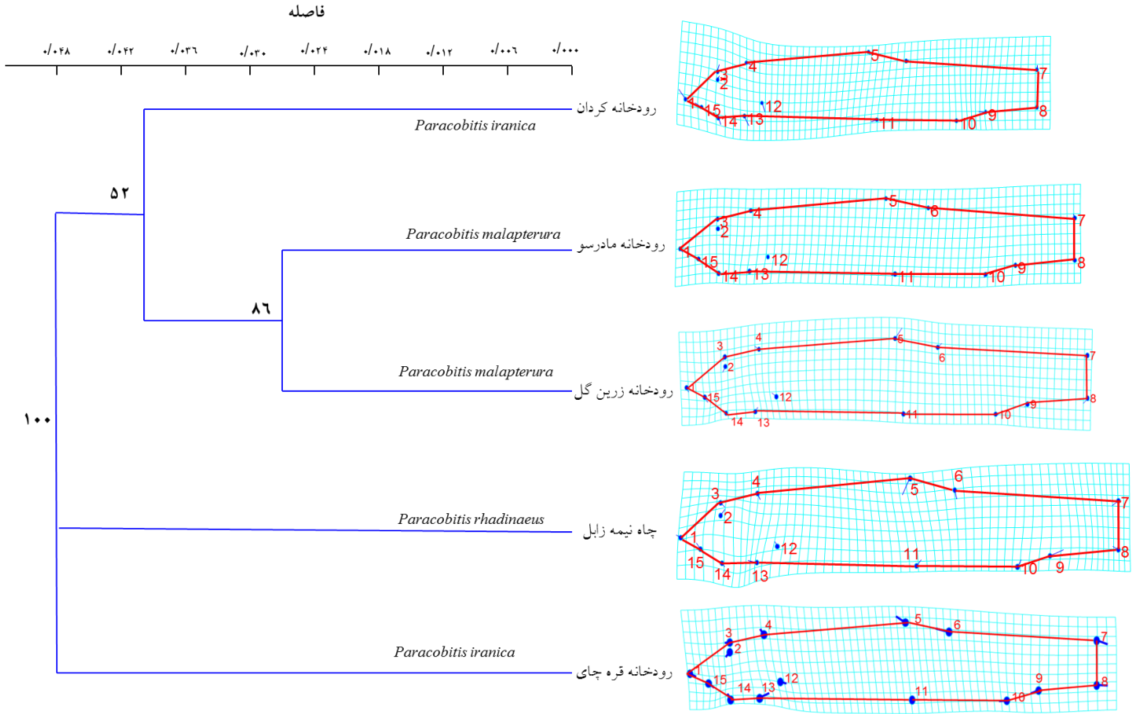
همچنین اندازه‌گیری برخی ویژگی‌های ریخت‌سنجی مشاهده شده در شبکه تغییر شکل بر اساس روش ریخت‌سنجی سنتی به صورت فواصل نسبت به طول استاندارد بین جمعیت‌ها و گونه‌ها بیانگر داده‌هایی بود که می‌تواند در شناسایی و معرفی گونه‌های جنس *Paracobitis* نیز به کار رود (جدول ۲).



شکل ۳- نمودار تحلیل CVA شکل بدن جمعیت‌های گروه‌های بررسی شده

جدول ۱- فواصل Mahalanobis شکل بدن گروه‌های بررسی شده حاصل از تحلیل CVA، (P<۰/۰۰۰۱)

	قمرود	کردان	مادرسو	زرین گل
کردان	۷/۰۶۸۶			
مادرسو	۵/۳۱۶۲	۴/۹۳۴۸		
زرین گل	۴/۸۳۸۷	۶/۲۴۰۱	۴/۳۸۷۸	
چاه‌نیمه	۹/۲۳۵۵	۸/۹۴۵۱	۷/۱۸۲	۸/۵۲۹۳



شکل ۴- نمودار تحلیل خوشه‌ای شکل بدن جمعیت‌های بررسی شده (شبکه‌های تغییر شکل نشان دهنده تفاوت هر گروه نسبت به شکل میانگین است)

جدول ۲- برخی ویژگی‌های اندازه‌گیری شده نسبت به طول استاندارد بر اساس جایگاه تفاوت مشاهده شده. مقادیر نشان داده شده بیانگر میانگین اعداد ± خطای انحراف معیار هستند (SD ± میانگین). n: تعداد نمونه بررسی شده در هر جمعیت

ویژگی بر حسب درصد	کردان	قمرود	زرین گل	مادرسو	چاه‌نیمه
	n=۳۰	n=۲۵	n=۴۰	n=۴۰	n=۱۵
طول پوزه به طول استاندارد	۵/۶ ±۰/۵	۶/۵±۰/۷	۱۱/۴ ± ۵/۱	۹/۱ ±۰/۶	۵/۲ ± ۰/۶
طول سر به طول استاندارد	۱۷/۷±۱/۴	۱۶±۱/۷	۲۰/۴ ±۰/۴	۱۷/۹±۳	۱۷/۶ ± ۲
طول ساقه دمی به طول استاندارد	۲۲/۱ ± ۱/۴	۲۳/۹ ± ۱/۱	۲۵/۰۲ ± ۳/۵	۲۵/۹ ±۶/۴	۲۰/۵ ± ۱
عرض سر به طول استاندارد	۲۰/۱ ± ۱۳/۹	۱۵/۱ ± ۴/۸	۱۲/۸ ± ۲/۲	۱۶/۷ ± ۳/۴	۱۵/۳ ± ۰/۹
فاصله پس باله پشتی به طول استاندارد	۵۳ ± ۰/۸	۵۰/۵ ± ۱/۱	۵۳/۱ ± ۱۵/۴	۵۱/۹ ± ۱/۶	۵۰/۶ ± ۶/۹
فاصله پس باله سینه‌ای به طول استاندارد	۲۲/۴ ± ۱/۴	۲۱/۸ ± ۱/۶	۱۲/۲ ± ۷/۳	۱۶/۳ ± ۶/۱	۱۵/۳ ± ۲/۴

تحلیل خوشه‌ای بر اساس بوت‌استرپ و انتخاب بیش از ۵۰ درصد حمایت، جمعیت‌های مورد بررسی را به سه شاخه شامل: جمعیت قمرود در شاخه اول، چاه‌نیمه در یک شاخه دوم و جمعیت‌های زرین گل، مادرسو و کردان را در شاخه سوم تقسیم نمود (شکل ۴). همچنین بر اساس فواصل Mahalanobis شکل بدن گروه‌های مورد بررسی، جمعیت‌های مادرسو و زرین گل دارای کمترین و جمعیت‌های قمرود و چاه‌نیمه دارای بیشترین فاصله بودند (شکل ۴).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که گروه‌های مطالعه شده به لحاظ ریختی با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی کاملا از یکدیگر متمایز هستند. با استفاده از این روش نه تنها تمایز بین گونه‌ای، بلکه بین جمعیت‌های مورد بررسی کاملا آشکار شد که می‌تواند بیانگر تمایز ریختی وابسته به فاصله جغرافیایی، زیستگاه یا به واسطه تعلق به آرایه متفاوت باشد (Langerhans *et al.*, 2003). اساسا بسیاری از گونه‌های ماهیان در زیستگاه‌های مختلف تفاوت‌های ریختی نشان می‌دهند (Robinson and Wilson, 1994,1995؛ Wimberger, 1994؛ Smith and Skulason, 1996؛ Ruzzante *et al.*, 1998؛ Mittelbach *et al.*, 1999؛ Holtmeier, 2001) که بیانگر چندشکلی‌های درون‌گونه‌ای به علت فشارهای محیطی انتخابگر مختلف بین زیستگاه‌های متفاوت است (Wimberger, 1992).

بر اساس نتایج ریخت‌سنجی هندسی، برخلاف پژوهش‌های پیشین که از روش ریخت‌سنجی سنتی استفاده کرده بودند (Coad, 2013)، این روش تفاوت‌های ریختی اعضای *Paracobitis* را به خوبی آشکار نمود و جداسازی گونه *P. iranica* از رودخانه قمرود (نزدیک شهر قم) و گونه *P. malapterura* از حوضه خزری را که بر اساس الگوی رنگ بدن و تاج چربی که توسط Nalbant و Bianco (۱۹۹۸) انجام شده بود را تأیید نمود. نتایج ریخت‌سنجی هندسی نشان داد که *P. iranica* رودخانه قمرود دارای ساقه دمی طویل‌تر و قاعده باله مخرجی قدامی‌تر، طول پوزه کوتاه‌تر و ابتدای باله سینه‌ای پشتی‌تر نسبت به گونه *P. malapterura* است که این ویژگی می‌تواند به عنوان ویژگی‌های قابل تشخیص گونه *P. iranica* رودخانه قمرود از *P. malapterura* مدنظر قرار گیرد.

همچنین نتایج نشان داد که دو جمعیت *P. iranica* رودخانه‌های قمرود و کردان از حوضه دریاچه نمک، از نظر شکل بدن تفاوت معنی‌داری با یکدیگر دارند. همان طور که در تحلیل خوشه‌ای نشان داده شده است، جمعیت *P. iranica* رودخانه کردان از لحاظ ویژگی‌های ریختی شکل بدن به گونه *P. malapterura* شباهت بیشتری نسبت به جمعیت *P. iranica* رودخانه قمرود دارد. با توجه به این که هیچ مطالعه آرایه‌شناسی روی جمعیت رودخانه کردان انجام نشده است و تنها بر اساس این جمله Coad (۲۰۱۳) که گونه حوضه دریاچه نمک، *P. iranica* است، اعضای جمعیت این گونه *P. iranica* در نظر گرفته می‌شود. به علاوه، هیچ ویژگی ریختی برای اعضای این جمعیت تعریف نشده است. مقایسه ویژگی‌های ریختی جمعیت *P. iranica* رودخانه کردان با جمعیت رودخانه قمرود نشان داد که در نمونه‌های *Paracobitis* کردان طول و عرض سر درازتر، قاعده باله سینه‌ای قدامی‌تر، قاعده باله پشتی پشتی‌تر و ساقه دمی کوتاه‌تر از نمونه‌های رودخانه

قمرود است. البته همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، الگوی رنگی این دو جمعیت کاملا از یکدیگر متمایز است. بنابراین، بر اساس تفاوت‌های ریختی (در روش‌های ریخت‌سنجی هندسی و سنتی) به نظر می‌رسد که جمعیت *Paracobitis* کردان می‌تواند در سطح گونه از جمعیت قمرود جدا باشد. البته بر اساس نتایج جمعیت *Paracobitis* کردان حتی می‌تواند به آرایه *P. malapterura* تعلق داشته باشد که در این صورت نیاز است که وضعیت آرایه‌شناختی این دو گروه بر اساس روش‌های استخوان‌شناسی و مولکولی بیشتر بررسی شود.

بر اساس نتایج دو جمعیت *P. malapterura* مربوط به رودخانه‌های مادرسو و زرین گل به علت شباهت‌های متعدد به یکدیگر در یک شاخه تحلیل خوشه‌ای واقع شدند، اما با این وجود نمونه‌های جمعیت زرین گل دارای بدنی پهن‌تر (در محل قاعده باله پشتی) و موقعیت شکمی‌تر نوک پوزه و چشم و جایگاه پشتی‌تر منشأ جفت سبیلک دوم هستند. ویژگی‌های مربوط به ارتفاع بدن و جایگاه چشم و ابتدای سبیلک زیرین بین دو جمعیت احتمالا به واسطه انعطاف‌پذیری ریختی تحت تأثیر عوامل محیطی هستند که در نتیجه سازگاری به شرایط محیطی زیستگاه در فرآیند تکامل موجودات حاصل می‌شود (Guill *et al.*, 2003). بنابراین، بر اساس ویژگی‌های ریختی می‌توان جمعیت این دو رودخانه را بر اساس موقعیت پوزه، جایگاه چشم آنها و موقعیت پشتی‌تر ابتدای باله سینه‌ای و منشأ جفت سبیلک دوم تشخیص داد. البته با توجه به گستره پراکنش بسیار بالای گونه *P. malapterura* که از حوضه خزر تا دجله ادامه می‌یابد (Banarescu and Nalbant, 1995) وجود تفاوت‌های ریختی در اعضای این گونه می‌تواند قابل انتظار باشد. با این حال به نظر می‌رسد که محدوده گسترش این گونه مربوط به حوضه خزر باشد و گونه منطقه دجله (رودخانه کر) نیاز به بازبینی تاکسونومیکی دارد (Coad, 2013) و احتمالا به آرایه‌های متفاوتی تعلق داشته باشند. بر اساس نظر Nalbant و Bianco (۱۹۹۸) گونه‌های *P. iranica*، *P. malapterura* و *P. longicauda* که بر اساس الگوی رنگی بدن و تاج بزرگ ساقه دمی جدا می‌شوند، می‌توانند با یکدیگر مرتبط باشند. پیش از این، این گروه‌ها در یک گونه با عنوان *Nemachielus malapterura* قرار داشتند. شایان ذکر است که گونه *P. longicauda* تنها در محدوده آسیای مرکزی (آمودریا) گزارش شده است و در ایران گزارشی از حضور این گونه وجود ندارد (Coad, 2013).

گونه *P. rhadinaeus* قبلا فقط از رودخانه هلمند افغانستان گزارش شده بود و به تازگی برای نخستین بار توسط Rahdari و همکاران (۲۰۱۳) برای ایران گزارش شده است. گونه *P. rhadinaeus* مطالعه شده در تحقیق حاضر، اندازه بسیار بزرگتری (۱۶۰ تا ۲۲۰ میلی‌متر طول کل) نسبت به سایر اعضای جنس *Paracobitis* داشتند. از ویژگی‌های قابل تشخیص این گونه در مقایسه با سایر اعضای جنس *Paracobitis* در ایران، می‌توان به داشتن طول سر درازتر، عرض سر کمتر، بدن کم عرض، جایگاه پشتی باله مخرجی و ساقه دمی کوتاه اشاره کرد.

پژوهش حاضر نشان داد که هر یک از سه گونه و جمعیت‌های مختلف جنس *Paracobitis* مطالعه شده، بر اساس ویژگی‌های ریختی قابل تمایز هستند. همچنین، روش ریخت‌سنجی هندسی-با قابلیت بالا در آشکارسازی تفاوت‌های ریختی نسبت به روش ریخت‌سنجی سنتی- می‌تواند برای بسیاری از گونه‌ها با

اندازه کوچک نظیر اعضای خانواده *Nemachelinae* به عنــوان ابــزاری بــرای مطالعــات ریخــت‌شــناختی و آرایه‌شناسی به جای تکیه بر الگوهای رنگی بـدن مـورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر با حمایت مـالی دانشـگاه تهـران انجـام شده است.

منابع

Adams, D. C., Rohlf, F. J. and Slice, D. E. (2004) Geometric morphometrics: Ten years of progress following the revolution. Italian Journal of Zoology 71: 5-16.

Banarescu, P. and Nalbant, T. (1995) A generical classification of Nemacheilinae with description of two new genera (Teleostei: Cypriniformes: Cobitidae). Catalogue of Travaux du Muséum d'histoire naturelle "Grigore Antipa" 35: 429-496.

Bleeker, P. (1963) Onzieme notice sur la faune ichthyologique de l'ile d'Obi. Neder. Tijdschri. Dierk, I. 228-238.

Coad, B. (2013) Fresh water fishes of Iran. Retrieved from http://www.briancoad.com/contents.htm. On: 19 May 2013.

Eagderi, S., Esmaeilzadegan, E. and Maddah, A. (2013) Body shape variation in riffle minnows (Alburnoides eichwaldii De Filippii, 1863) populations of Caspian Sea basin. Taxonomy and Biosystematics 5(14): 1-8 (in Persian).

Ghanbari, F., Kaboli, M., Eagderi, S. and 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).

Greenwood, P. H. (1976) A new and eyeless cobitid fish (Pisces, Cypriniformes) from the Zagros Mountains, Iran. Journal of Zoology, London 180: 129-137.

Guill, J. M., Hood, C. S. and Heins, D. C. (2003) Body shape variation within and among three species of darters (Perciformes: Percidae). Ecology of Freshwater Fish 12: 134-140.

Holtmeier, C. L. (2001) Heterochrony, maternal effects and phenotypic variation among sympatric pupfishes. Evolution 55: 330-338.

Klingenberg, C. P. (1998) Heterochrony and allometry: the analysis of evolutionary change in ontogeny. Biological Reviews 73: 79-123.

Langerhans, R. B., Layman, C. A., Langerhans, A. K. and DeWitt, T. J. (2003) Habitat-associated morphological divergence in two Neotropical fish species. Biological Journal of Linnean Society 80: 689-698.

Mittelbach, G. G., Osenberg, C. W. and Wainwright, P. C. (1999) Variation in feeding morphology between pumpkinseed populations: phenotypic plasticity or evolution? Evolutionary Ecology Research 1(1): 111-128.

Nalbant, T. T. and Bianco, P.G. (1998) The loaches of Iran and adjacent regions with description of six new species (*Cobitoidea*). Italian Journal of Zoology 65: 109-123.

Rahdari, A., Gharaei A., Ghaffari, M., Pakzad Tochaei, S., Karami, R., Righi, M., Raeisi Azizi, M. and Mishmast, A. (2013) A new record of *Paracobitis rhadinaeus* (Regan, 1906) after a hundred years from Sistan basin, southeast of Iran. Caspian Journal of Environmental Sciences 11(2): 253-257.

Regan, C. T. (1906) Two new cyprinoid fishes from the Helmand basin. Journal of the Asiatic Society of Bengal 2(1): 8-9.

Robinson, B. W. and Wilson, D. S. (1994) Character release and displacement in fishes: a neglected literature. The American Naturalist 144(4): 596-627.

Robinson, B. W. and Wilson, D. S. (1995) Experimentally induced morphological diversity in Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*). Copeia 2: 294-305.

Rohlf, F. J. (2001) Comparative methods for the analysis of continuous variables: geometric interpretations. Evolution 55(1): 2143-2160.

Ruzzante, D. E., Walde, S. J., Cussac, V. E., Macchi, P. J. and Alonso, M. F. (1998) Trophic polymorphism, habitat and diet segregation in Percichthys trucha (Pisces: Percichthyidae) in the Andes. Biological Journal of the Linnean Society 65: 191-214.

Smith, T. B. and Skulason, S. (1996) Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes, amphibians and birds. Annual Review of Ecology and Systematics 27: 111-133.

Tabatabei, S. N., Eagderi, S., Hashemzadeh Segherloo, I. and Abdoli, A. (2013) Geometric and morphometric analysis of fish scales to identity genera, species and populations case study: the Cyprinid family. Taxonomy and Biosystematics 5(17): 1-8 (in Persian).

Valenciennes, A. (1846) Histoire naturelle des poissons. 520-553. Tome dix-huitième. Bertrand, Paris.

Wimberger, P. H. (1992) Plasticity of fish body shape. The effects of diet, development, family and age in two species of Geophagus (Pisces: Cichlidae). Biological Journal of the Linnean Society 45: 197-218.

Wimberger, P. H. (1994) Trophic polymorphisms, plasticity and speciation in vertebrates. In: Theory and application in fish feeding ecology (Eds. Stouder, D. J., Fresh, K. L. and Feller, R. J.) 9-43. University of South Carolina Press, Columbia.

Zelditch, M. (2004) Geometric morphometrics for biologists: a primer. Academic Press, New York.

Comparison of morphological variations among three species of the genus *Paracobitis* in Iran using geometric morphometrics method with a taxonomical review on the genus in Iran

Omid Jafari [1], Soheil Eagderi [2]*, Maryam Nasrolah-Pourmoghadam [2], Hashem Noferesti [1] and Hamed Mosavi-Sabet [3]

[1] Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agriculture Science and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2] Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[3] Department of Fisheries Sciences, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran

Abstract
This study was conducted to apply the landmark-based geometric morphometrics technique to differentiate three species of the genus *Paracobitis* (*P. iranica*, *P. malapterura* and *P. rhadinaeus*) in Iran based on their body shape, because previous works, using traditional morphometrics, could not distinct them. A total of 150 specimens were sampled from the Zaringol, Madarsoo, Ghomrood, Kordan Rivers and Chahnimeh reservoir. The left side of the specimens was photographed using a digital camera and then fifteen landmark-points were digitized on two-dimensional images using TpsDig2. Landmark data were analyzed after a generalised procrustes analysis using PCA, CVA and cluster analysis. The patterns of body shape differences among the populations were illustrated in the deformation grids in relation to consensus configuration. The results showed a significant differences among the studied species and their populations in terms of morphological traits ($P<0.0001$). Some differences were found in the length and depth of head, depth of body, caudal peduncle length and position of eye and position of dorsal fin. The result also showed that *P. iranica* from Kordan River can be considered to be a distinct taxon compared to the Ghomrood taxon based on its morphological characteristics. In addition, our findings revealed that the geometric morphometrics approach can be a proper tool for morphological and taxonomic studies in species with small sizes including Nemachelinae.

Key words: Landmark-based geometric morphometrics, *Paracobitis iranica*, *P. malapterura*, *P. rhadinaeus*

* soheil.eagderi@ut.ac.ir