

تنوع ریخت بال در بین جمعیت‌های سنجاقک *Calopteryx splendens* در آسیای مرکزی

صابر صادقی^۱، یاسر بخشی^۱ و هنری دومنت^۲

^۱ بخش زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

^۲ بخش لیمنولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه گنت، گنت، بلژیک

چکیده

در مطالعه حاضر، روش‌های ریخت‌شناسی هندسی برای نشان دادن تغییرات مورفولوژیک بال جلویی در جمعیت‌های *Calopteryx splendens* از کشورهای: آذربایجان، ازبکستان، ایران، تاجیکستان، ترکمنستان، ترکیه، روسیه، قرقیزستان و قزاقستان به کار گرفته شده و بر مطالعه ارتباطات فنتیک بین جمعیت‌های آسیای مرکزی این گونه تمرکز شده است. نتایج نشان داد که بزرگترین و کوچکترین اندازه بال بر اساس centroid size بال‌ها به ترتیب مربوط به جمعیت‌هایی از شمال و غرب ایران بوده است. افزون بر این، مشخص شد که تفاوت‌های مشاهده شده در ریخت بال ۱۰ جمعیت مطالعه شده *C. splendens* کاملاً معنی‌دار است. نتایج مشخص کرد که جمعیت تاجیکستان واگرایی متمایزی دارد و جمعیت‌های ترکمنستان و شمال ایران هر دو بسیار به هم نزدیک است و به طور مشترک در یک تبارنما (clade) جداگانه قرار می‌گیرند. جمعیت‌های آذربایجان، ازبکستان، غرب ایران، ترکیه، روسیه، قرقیزستان و قزاقستان نسبت به سه جمعیت پیشین ارتباط بیشتری را با یکدیگر نشان دادند؛ گرچه به نظر می‌رسد که جمعیت‌های قرقیزستان و قزاقستان بسیار بیشتر از دیگر جمعیت‌ها به یکدیگر مرتبط هستند.

واژه‌های کلیدی: ایران، سنجاقک‌شکلان (Odonata)، مورفومتری هندسی، Calopterygidae

مقدمه

هستند (Misof *et al.*, 2000). اعضای این گونه را می‌توان با توجه به اندازه، رنگ بدن و بال و همچنین رفتارشان و به ندرت از روی مورفولوژی آنها تشخیص داد (Asahina, 1976). تاکنون به طور معمول، اندازه و تراکم رنگدانه‌های بال‌ها یا لکه بالی برای مطالعه تاکسونومی و دامنه پراکنش گونه‌های جنس *Calopteryx* Leach, 1815 استفاده شده است

سنجاقک با نام علمی *Calopteryx splendens* Harris, 1782 پراکنش وسیعی در اوراسیا دارد، اما جمعیت‌های مختلف آن، به طور قابل توجهی از لحاظ ریخت‌شناسی و انتخاب زیستگاه یک شکل هستند (Dumont *et al.*, 2005). آنها یک کمپلکس گونه‌ای هولارکتیک (Holarctic) مشتمل بر حدود ۲۰ گونه

* ssadeghi@shirazu.ac.ir

Calopteryx splendens وجود ندارد. برخلاف مطالعات اکولوژیک و مورفولوژیک متعدد روی گونه *C. splendens*، مطالعه کمتری در مورد تبارشناسی (phylogeny) و جغرافیای تباری (phylogeography) این گونه و زیرگونه‌های آن انجام شده است. وجود تعداد زیادی هیبرید و زیرگونه بر اساس تنها یک ویژگی مورفولوژیک که چندان هم قابل اطمینان نیست، یعنی اندازه لکه تیره بال در این گونه، پژوهشگران را به کاربرد شاخص‌های زیستی دیگر از جمله نشانگرهای مولکولی (Misof et al., 2000)؛ Weekers et al., 2001؛ Dumont et al., 2005) و روش‌های نوین مورفولوژیک هدایت کرده است تا بتوانند تنوع جغرافیایی جمعیت‌ها در این گونه را مقایسه کنند. شایان ذکر است که Sadeghi و همکاران (۲۰۰۹) با هم‌مین روش، ۱۰ جمعیت اروپایی *C. splendens* را مقایسه کردند.

اخیراً عرصه نسبتاً جدید مورفومتری هندسی که بر اساس مختصات لندمارک‌های همولوگ است، فوایدی را در مقایسه با روش مورفومتری سنتی ارائه کرده است. مورفومتری هندسی یک روش کمی برای مطالعه مقایسه‌ای ریختی و روش آماری مهمی برای آنالیز تنوع اغلب پدیده‌ها (ساختارهای زیستی) است که توسط Bookstein (۱۹۹۱) تهیه شده و خلاصه آموزنده‌ای از آن توسط Rohlfs و Marcus (۱۹۹۳) ارائه شده است. این روش نتایج ارزشمندی را در بسیاری از عرصه‌های مورفومتری کلاسیک به دست داده است.

انواع مختلفی از فرآیندهای زیستی، از جمله سازش با عوامل جغرافیایی محلی، تکوین اوتوژنیک یا گوناگون شدن تکاملی بلند مدت، ریخت افراد یا بخش‌هایی از بدن آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

(Siva-Jothy, 1999؛ Dumont et al., 1993)؛ Rantala et al., 2000). اما چون صفات متریک و مرستیکی معمولاً ممکن است تنها بخشی از اطلاعات برگرفته از موقعیت نسبی لندمارک‌هایی را ارائه کند که این اندازه‌گیری‌ها بر مبنای آنها هستند، ارتباطات فضایی بین متغیرهای اندازه‌گیری شده نادیده گرفته می‌شوند. مورفومتری هندسی، مقایسه را بر اساس مختصات لندمارک‌های هم‌خاستگاه (homologous) اجرا می‌کند و در نتیجه برخی برتری‌ها را نسبت با روش مورفومتری سنتی ارائه می‌دهد. دلایل تنوع در اندازه لکه بالی هنوز مشخص نیست اما عقیده عمومی بر این است که رنگدانه‌های بال تحت تأثیر عواملی نظیر: دما، انگل‌های داخلی (Siva-Jothy, 2000)؛ Koskimäki et al., 2004)، محیط زیست (Stock, 1980)، عوامل شیمیایی و حشره‌کش‌ها هستند و احتمالاً با سلامت و کیفیت جنس نر ارتباط مستقیم دارد (Cordoba-Aguilar and Cordero-Rivera, 2005). بررسی‌های مولکولی اخیر نیز منشأ آنها را نشان داده است (Misof et al., 2000)؛ Weekers et al., 2001؛ Dumont et al., 2005). بنابراین، مورفولوژی یک معیار برجسته برای طبقه‌بندی این گروه نیست (Dumont et al., 2005).

برای مدت‌های طولانی، در مطالعه سیستماتیک حشرات بال‌دار از ویژگی‌های الگوی رنگ‌بندی و مورفومتری بال استفاده شده است، گرچه ممکن است این ویژگی برای پی بردن به روابط تبارشناسی به اندازه کافی قابل اعتماد نباشد (Grimaldi, 2001). ترتیب خاص رگبال‌ها در چندین تحقیق برای مطالعه گونه‌های سنجاقک‌شکلان استفاده شده است (Wootton, 1991)؛ Zeng, 1996)، اما تحقیقی در این زمینه در مورد گونه

ریخت بال جلویی چپ در ۱۰ جمعیت آسیایی از گونه *C. splendens* با استفاده از روش مورفومتری هندسی بوده است. در این تحقیق، تنوع و گوناگونی لکه بالی به طور کلی نادیده گرفته شد و تنها الگوی بال چپ جلویی در جنس نر ارزیابی شد تا هر گونه اختلاف مربوط به تفاوت بال‌های نر و ماده و همچنین اختلاف ناشی از عدم تقارن بال‌های چپ و راست حذف شده باشد.

مواد و روش‌ها

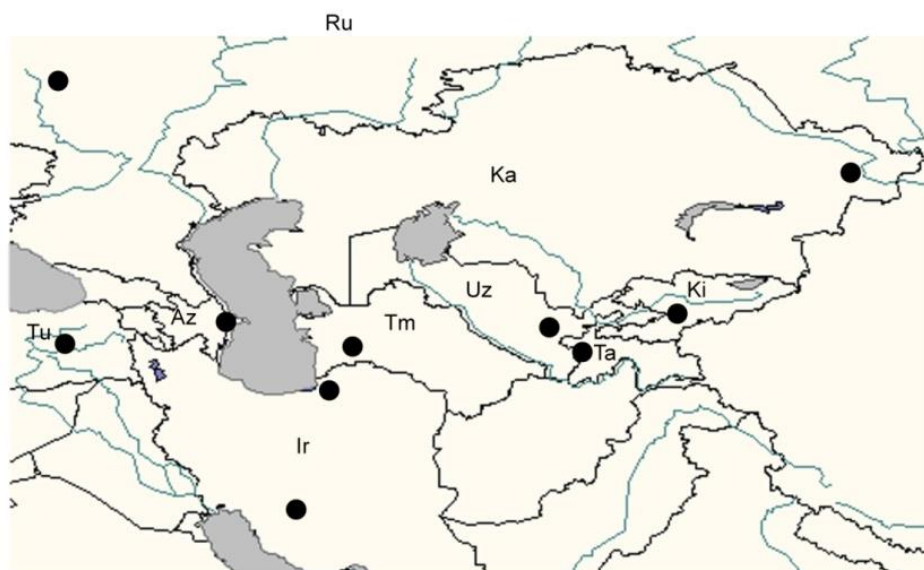
نمونه‌های مورد مطالعه: در مطالعه حاضر بال جلویی نرها از ۱۰ جمعیت *Calopteryx splendens* که در غرب و مرکز آسیا زندگی می‌کنند بررسی شد. تعداد ۲۴۲ نمونه نر از ۱۰ زیستگاه از کشورهای مختلف شامل: آذربایجان، ازبکستان، ایران (با دو جمعیت از سه زیستگاه)، تاجیکستان، ترکمنستان (هر کدام با یک جمعیت)، ترکیه، روسیه، قرقیزستان و قزاقستان مطالعه شد (جدول ۱). مکان‌های جمع‌آوری از نظر جغرافیایی به خوبی از هم جدا بوده است که برای سهولت بیشتر، جمعیت هر محل را با نام کشور مربوط ذکر می‌کنیم (شکل ۱).

ریخت (shape) به عنوان «تمام اطلاعات هندسی که پس از کنار گذاشتن آثار ناشی از اندازه (size)، گردش (translation) و چرخش (rotation) یک جسم باقی می‌ماند» تعریف می‌شود (Kendall, 1977). اطلاعات مورفومتریک به طور سنتی شامل اندازه‌گیری فواصل خطی، زوایا و نسبت‌های مختلف بین اجزا می‌شود. این متغیرهای خطی به طور تپیک تنها بخشی از اطلاعاتی را ارائه می‌کنند که ممکن است از موقعیت نسبی نقاط مورد اندازه‌گیری به دست آید (Rohlf, 2002). این اطلاعات شامل اطلاعاتی در مورد ارتباطات فضایی بین متغیرهای اندازه‌گیری شده نیست و به نظر می‌رسد که برای تحلیل‌ها و تفسیرهای تکاملی مناسب نباشد (Bogdanowicz et al., 2005).

ریخت بال به ویژه در خانواده Calopterygidae از این جهت جالب است که ویژگی‌های آن در حد بالایی حفظ (conserve) شده است. بنابراین، مطالعه ریخت بال در گونه‌های این خانواده و از جمله گونه *C. splendens* می‌تواند با اطلاعات ارزشمند خود افق جدیدی را در بررسی‌های مورفولوژی و تکاملی به ویژه در مورد گونه‌های پیچیده فراهم کند. رویکرد اصلی مطالعه حاضر کمی‌سازی و تفسیر

جدول ۱- تعداد حشرات نر جمع‌آوری شده گونه *Calopteryx splendens* برای هر جمعیت و موقعیت محل‌های نمونه‌برداری

Population (country)	No. of males	Localities
Azerbaijan (Az)	20	Kura valley, Aghsu, Azerbaijan, 8.09.2004 (40:34 N, 48:23 E)
Northern Iran (I6)	20	Golestan, Minudasht, 27.06.2003 (37:15 N, 55:28 E)
		Mazandaran, Alamdeh, 22.07.1996 (36:33 N, 51:57 E)
Southern Iran (I9)	26	Kohgiluyeh and Boyer Ahmad, Cheshmeh Belgheis, 14.08.2003, (30:43 N, 50:31 E)
Kazakhstan (Ka)	20	Irtys River, China border, 11.07.2004
Tajikistan (Ta)	30	Gissar, 40 km W of Dushanbe, 22.07.1991 (38:30 N, 68:36 E)
Turkmenistan (Tm)	27	Kara- Kala, W Kopet- Daq, 08.06.1988 (38:29 N, 56:18 E)
Uzbekistan (Uz)	26	Tahskent, Boshkizilsay River, 4.07.2005 (41:16 N, 69:10 E)
Kyrgyzstan (Ki)	20	Sary- Tschelek, natural reservoir, 31.07.1985 (39:45 N, 73:10E)
Russia (Ru)	31	Ismaylowsky Park, Moscow, 12.07.1989 (57:44 N, 37:37 E)
Turkey (Tu)	22	Golderesi-kemer, Fethiye, Mugla, 21.07.87 (36:39 N, 29:22 E)

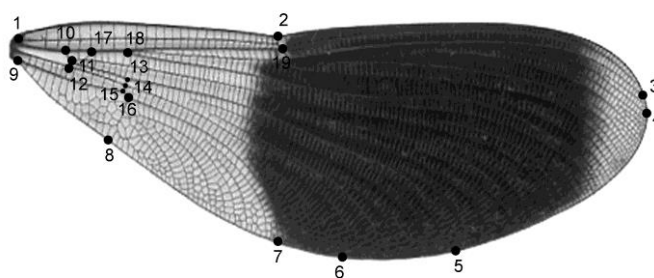


شکل ۱- موقعیت جغرافیایی جمعیت‌های نمونه‌برداری شده از گونه *Calopteryx splendens*

جمع‌آوری اطلاعات و تفسیر ریخت‌بال:

نمونه‌های بررسی شده به یکی از دو شکل خشک شده یا نگهداری شده در اتانول ۷۰ درصد (preserve) بود که بخشی توسط نگارندگان جمع‌آوری شده است و بخشی دیگر از مجموعه پروفسور هنری دومنت (دانشگاه گنت، کشور بلژیک) به امانت دریافت و استفاده شد. نمونه‌های

آسیب دیده حذف و بقیه با دقت و با دستگاه اسکنر کتابی (مدل Agfa SNAPSCAN 1236) اسکن و به صورت تصاویر دیجیتال با کیفیت 400 dpi ذخیره شدند. سپس، با استفاده از نرم‌افزار Dig2 tps (Rohlf, 2010) ۱۹ نقطه شاخص یا لندمارک هم‌خاستگاه روی تصویر هر بال نشانه‌گذاری شد (شکل ۲).



شکل ۲- موقعیت ۱۹ لندمارک استفاده شده روی بال جلویی سمت چپ در *Calopteryx splendens*. مشخصات لندمارک‌ها: (1) Costa (C)-Subcosta (Sc)؛ (2) Nodus (N)؛ (3) محل تلاقی Radius2 (R2) و حاشیه بال؛ (4) رأس انتهایی بال، (5) محل تلاقی Media (M) و حاشیه بال؛ (6) محل تلاقی Cubitus1 (Cu1) و حاشیه بال؛ (7) محل تلاقی Cubitus1 (Cu2) و حاشیه بال؛ (8) رأس شکمی anal triangle؛ (9) رأس پروکسیمال anal triangle؛ (10, 11, 12) رأس‌های زوایای دیستال arculus؛ (13) محل منشأ رگبال M؛ (14) محل منشأ رگبال Cubitus1؛ (15) زاویه دیستال anal triangle؛ (16) محل منشأ رگبال Cubitus2؛ (17) محل تلاقی R+M and Ru+Rs؛ (18) محل منشأ رگبال IR3؛ (19) محل منشأ رگبال Radius. نامگذاری رگبال‌های اقتباس از Dumont (۱۹۹۱).

آشکار شود. آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) روی ماتریس تشابه واریانس-کوواریانس مختصات نمونه‌ها انجام شد. همچنین، اختلاف‌های موجود در ریخت بال در بین جمعیت‌ها با اجرای آزمون تحلیل واریانس چند متغیره یا MANOVA (Wilk's lambda) به عنوان معیار و Hotelling's test (به عنوان Post-hoc مقایسه شد و از آزمون Goodall's (Goodall, 1991)؛ Bookstein, 1997) و آزمون Hotelling's T^2 به عنوان آلترناتیو، به ترتیب توسط نرم‌افزارهای IMP و PAST برای آزمودن اختلاف ریخت بال بین گروه‌ها استفاده شد. برای تجسم بهتر تنوعات ریخت بال، میانگینی (consensus) از پیکربندی بال در هر جمعیت با استفاده از نرم‌افزارهای tpsSmall و tpsRelw (Rohlf, 2003, 2007) محاسبه شد و به عنوان نمونه مرجع برای تعیین اختلاف هر نمونه بال مورد استفاده قرار گرفت. اختلاف‌های ریخت بال با ایجاد شبکه‌های تغییر شکل فیزیکی ناشی از thin-plate spline در طول نخستین محور (Relative Warp, RW) با استفاده از نرم‌افزار tpsSpline (Rohlf, 2004) به تصویر کشیده شد. یک تحلیل خوشه‌ای (cluster analysis) نیز با استفاده از ماتریکس فواصل پروکراست بین جفت جمعیت‌ها انجام شد تا ارتباطات فنتیک بین این ۱۰ جمعیت بررسی شود. فنوگرامی با بیشترین همبستگی ریختگی حاصل از ماتریکس فواصل پروکراست با روش (Unweighted Pair-Group Method with UPGMA Arithmetic means) در نرم‌افزار NTSyspc نسخه ۲/۱ (Rohlf, 2000) رسم شد.

نتایج

تنوع اندازه بال: آزمون Shapiro-wilk توزیع

خطای لندمارک گذاری (digitizing error) با استفاده از پروتکل مربوط به آن (Adriaens, 2007) تعیین شد. خطای تخمین زده شده در بررسی حاضر حدود ۷/۱ درصد از تنوع مشاهده شده بود که خطای قابل چشم‌پوشی به شمار می‌آید. برای تعیین تغییرات مختصات نقاط و روی هم قرار دادن پیکربندی نقاط نشانه‌گذاری شده و تبدیل آن به یک شکل میانگین مشترک (common mean shape)، تحلیل پروکراست (procrustes) یا GPA استفاده شد (Adams *et al.*, 2004؛ Zelditch *et al.*, 2004). اختلاف‌ها در ریخت بال بین جمعیت‌ها بر حسب آن چه که توسط شبکه‌های تغییر شکل thin-plate (thin-plate deformation grids) به تصویر کشیده شده بود، توصیف گردید (Rohlf, 2004). سپس مختصات نقاط لندمارک‌ها برای تخمین اندازه بال که centroid size نامیده می‌شود (Bookstein, 1996)؛ Slice and Bookstein, 2007) با نرم‌افزار tps Relw (Rohlf, 2007) به دست آمد. نرم‌الیتی و همگون بودن واریانس برای اندازه بال جمعیت‌ها به ترتیب با آزمون‌های Shapiro-Wilk و Leven's بررسی شد (Milliken and Johnson, 1984). اختلاف‌های اندازه بال میان جمعیت‌ها و درون جمعیت‌ها با استفاده از آزمون ANOVA یک طرفه سنجیده شد و آزمون Tukey نیز برای مشخص کردن اختلاف زوج جمعیت‌ها نسبت به هم به کار برده شد (Sokal and Rohlf, 1995).

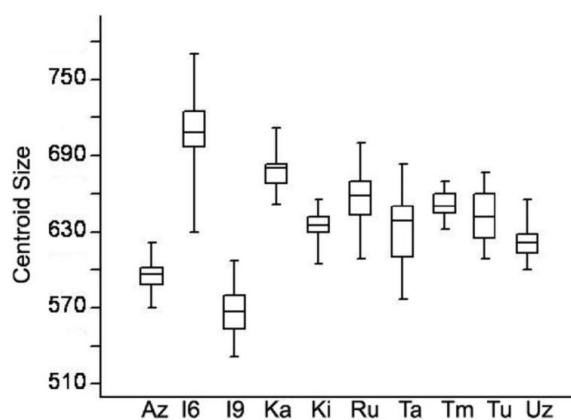
اطلاعات مختصات لندمارک‌های به دست آمده از نرم‌افزار tps Dig، برای آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و آنالیز کانونی تشخیصی (CVA) در نرم‌افزارهای PAST (Hammer and Harper, 2007) و IMP (Sheets, 2000) وارد شد تا ترتیب الگوی تنوع رگبال‌ها و اختلاف ریخت‌های بال در بین جمعیت‌ها

ترکمنستان، ازبکستان و ترکیه و سومین گروه که کوچکترین اندازه بال را داراست جمعیت غرب ایران (I9) و آذربایجان را شامل می‌شود. آزمون‌های T و F برای اندازه بال در جفت جمعیت‌ها نشان داد که جمعیت‌های شمالی و غربی ایران (I6 و I9)، و جمعیت‌های آذربایجان و قزاقستان با دیگر جمعیت‌ها اختلاف معنی‌داری در اندازه بال (centroid size) داشتند (جدول ۲). گرچه بیشتر جمعیت‌ها اختلاف معنی‌داری در اندازه بال نشان دادند اما نتیجه‌گیری خاصی از نظر جغرافیایی قابل استخراج نبود.

نرمالی را در هر یک از جمعیت‌ها نشان داد ($P > 0.05$) و آزمون Levene's یکدستی (homogeneity) واریانس را بر اساس میانگین اندازه آشکار ساخت. نتایج آزمون Tukey HSD روی اندازه بال (centroid size) اختلاف بالایی را بین جمعیت‌ها نشان داد (جدول ۲). نتایج نشان داد که جمعیت‌ها از نظر اندازه بال به سه گروه مشخص تقسیم می‌شوند (شکل ۳): نخستین گروه با بزرگترین اندازه بال جمعیت شمال ایران (I6) است، دومین گروه که اندازه‌ای متوسط را نشان می‌دهند شامل جمعیت‌های: قزاقستان، قرقیزستان، روسیه، تاجیکستان،

جدول ۲- نتایج آزمون Tukey HSD روی اندازه بال (مقادیری که معنی‌دار نیستند با علامت * مشخص شده‌اند). Az، آذربایجان؛ I6، شمال ایران؛ I9، غرب ایران؛ Ka، قزاقستان؛ Ki، قرقیزستان؛ Ru، روسیه؛ Ta، تاجیکستان؛ Tm، ترکمنستان؛ Tu، ترکیه؛ Uz، ازبکستان

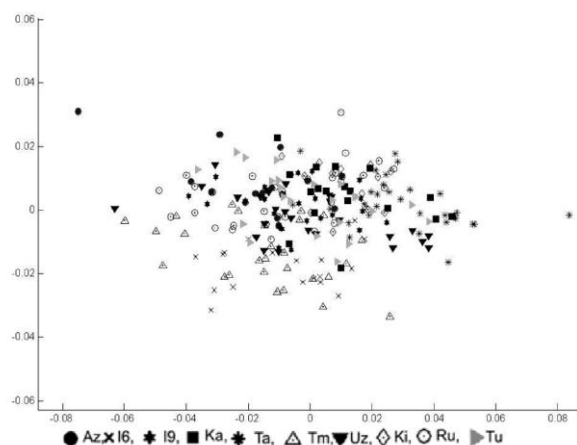
	Az	I6	I9	Ka	Ta	Tm	Uz	Ki	Ru	Tu
Az	-									
I6	108.91	-								
I9	29.41	138.31	-							
Ka	83.83	25.08	113.23	-						
Ta	37.01	71.90	66.41	46.82	-					
Tm	61.03	47.87	90.45	22.79	24.3	-				
Uz	36.00	72.90	65.41	47.82	1.00 *	25.04	-			
Ki	54.11	54.79	83.52	29.72	17.11 *	6.93 *	18.11 *	-		
Ru	45.75	63.16	75.15	38.08	8.74 *	15.29 *	9.74 *	8.36 *	-	
Tu	25.06	83.85	54.47	58.77	11.95 *	35.98	10.94 *	29.05	20.69	-



شکل ۳- میانگین اندازه بال (centroid size) در ۱۰ جمعیت آسیایی *Calopteryx splendens*. Az، آذربایجان؛ I6، شمال ایران؛ I9، غرب ایران؛ Ka، قزاقستان؛ Ki، قرقیزستان؛ Ru، روسیه؛ Ta، تاجیکستان؛ Tm، ترکمنستان؛ Tu، ترکیه؛ Uz، ازبکستان

عنوان Post-hoc) نیز به همراه نتایج آزمون Goodall's در جدول ۳ خلاصه شده است. نتایج تحلیل واریانس چند متغیره MANOVA اختلاف معنی داری (Wilk's $\lambda = 0.00056$, $P = 0.0000$) جمعیت‌های مطالعه شده نشان داد و نتایج مقایسه زوج جمعیت‌ها با آزمون Hotelling مشخص کرد که جمعیت‌های قزاقستان و آذربایجان در سطح معنی داری ۰/۰۵ و سایر جمعیت‌ها در سطح معنی داری بسیار پایین‌تر اختلاف ریخت بال را نشان دادند. این نتایج همچنین با آزمون F Goodall's تأیید شد (جدول ۳). تصویر حاصل از نتایج آنالیز متغیرهای کانونی یا CVA بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم نیز به خوبی نشان دهنده تفاوت معنی دار بین ریخت بال در جمعیت‌های مورد مطالعه بود (شکل ۵).

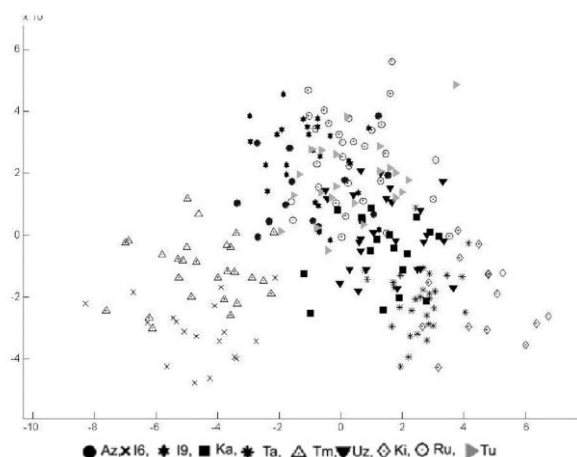
تنوع ریخت بال: نتایج حاصل از آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای مختصات نقاط که با روش پروکراست استاندارد شده‌اند نشان داد که دو مؤلفه اصلی PC1 و PC2 بخش اعظمی از تنوع موجود در ریخت بال را در بر می‌گیرد ($PC1 = 49/54$ و $PC2 = 12/65$) این مقدار بیش از ۶۲ درصد تنوع را برای ماتریس واریانس-کوواریانس آشکار ساخت. تصاویر اغلب نمونه‌ها بر اساس ارتباط PC1 در مقابل PC2 نشان داد که جمعیت‌های شمال ایران (I6) و ترکمنستان (Tm) تمایل به گروه‌بندی در سمت منفی PC1 و PC2 و جمعیت‌های تاجیکستان، ازبکستان، قزاقستان و ترکیه تمایل به گروه‌بندی در سمت مثبت PC1 و PC2 داشتند (شکل ۴). نتایج آنالیز واریانس چند متغیره MANOVA (Wilk's λ به عنوان معیار و Hotelling's test به



شکل ۴- نتیجه تصویری تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۱ و ۲ (PC1 در مقابل PC2)

جدول ۳- نتایج آزمون Hotelling's pair-wise (نیمه بالا) و آزمون Goodall's F (نیمه پایین) و مقادیر P برای ۱۰ جمعیت آسیایی *Calopteryx splendens*. $0.01 < ** < 0.05 < *$. Az، آذربایجان؛ I6، شمال ایران؛ I9، غرب ایران؛ Ka، قزاقستان؛ Ki، قرقیزستان؛ Ru، روسیه؛ Ta، تاجیکستان؛ Tm، ترکمنستان؛ Tu، ترکیه؛ Uz، ازبکستان.

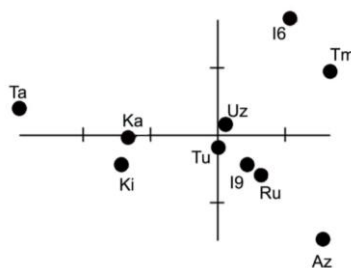
	Az	I6	I9	Ka	Ta	Tm	Uz	Ki	Ru	Tu
Az	-	0.0044**	0.0003**	0.05*	9.5E-9**	2.2E-5**	2.8E-7**	0.005**	1.4E-10**	0.0001**
I6	12.76**	-	1.99E-5**	0.001**	4.1E-8**	0.0005**	2.7E-8**	0.003**	2.8E-7**	0.0015**
I9	5.66*	10.00**	-	0.0011**	2.3E-8**	9.6E-8**	2.0E-5**	8.1E-6**	9.4E-5**	0.0008**
Ka	14.65**	14.00**	9.00*	-	2.6E-7**	1.4E-6**	0.0007**	0.01**	0.001**	0.0071**
Ta	35.3**	29.95**	25.41**	8.69**	-	1.8E-12**	4.5E-6**	1.8E-6**	3.1E-12**	1.17E-7**
Tm	8.12**	2.41	6.97**	14.50**	37.95**	-	2.1E-9**	2.6E-8**	4.1E-8**	1.50E-5**
Uz	7.50**	5.35**	2.82**	5.88*	17.90**	5.71**	-	1.2E-9**	1.4E-5**	7.09E-5**
Ki	16.64**	18.80**	10.90**	3.24**	10.14**	19.32**	5.26**	-	4.99E-5**	2.87E-5**
Ru	16.64**	8.76**	4.00**	8.47**	29.80**	7.05**	2.58*	8.17**	-	2.74E-5**
Tu	17.88*	6.98**	5.06*	5.79**	18.07**	7.96**	1.80**	5.53**	1.82**	-



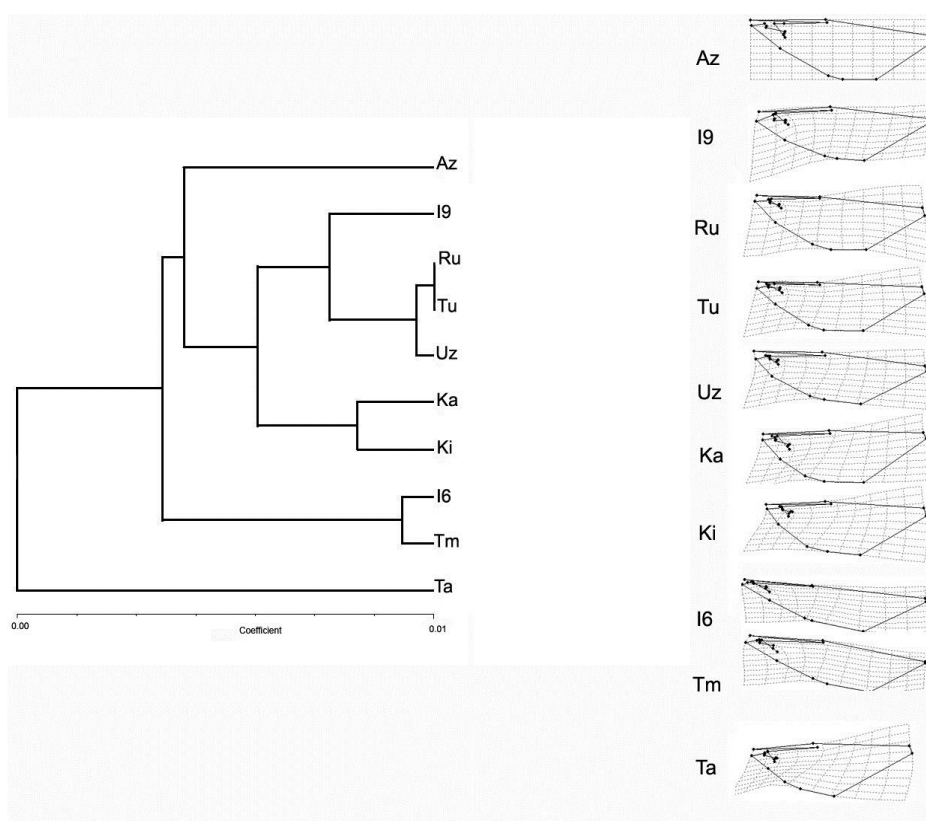
شکل ۵- نتیجه تصویری آنالیز کانونی تشخیصی ۱ و ۲ (CV1 در مقابل CV2)

جمعیت روسیه قرار گرفت. شبکه‌های تغییر شکل (thin-plate deformation grids) ریخت بال چپ جلویی برای هر جمعیت، که در مقایسه با برآیند اطلاعات مختصاتی همه جمعیت‌ها به دست آمد، اختلاف ریخت بال مشخصی را بین گروه‌های جمعیتی جدا شده در شکل ۷ به تصویر کشیده است. شبکه‌های تغییر ریخت بال برای جمعیت‌های ترکمنستان و شمال ایران (I6) باریکترین ریخت بال را در بین جمعیت‌های مطالعه شده مشخص کرد و برای جمعیت آذربایجان پهن‌ترین ریخت بال را نشان داد. از سوی دیگر، جمعیت تاجیکستان نیز به خاطر وجود تفاوت در قسمت عقبی ریخت بال به وضوح از سایر جمعیت‌ها قابل تشخیص بود (شکل ۷).

تصویر دسته‌بندی جمعیت‌ها بر اساس آرایش فضایی مؤلفه‌های اصلی (Relative Warp Ordination) (plot نشان داد که یک الگوی جغرافیایی وجود دارد که در تمام دسته‌بندی‌های مؤلفه‌ها می‌تواند در نظر گرفته شود. برای بال مورد آزمایش، موقعیت نسبی میانگین پیکربندی بال در جمعیت‌های ازبکستان، ترکیه، غرب ایران (I9) و روسیه با هم دسته‌بندی شد و جمعیت‌های قزاقستان و قرقیزستان گروه دومی را در بین تاجیکستان و گروه اول تشکیل دادند (شکل ۶) از سوی دیگر، جمعیت‌های ترکمنستان و شمال ایران (I6) سومین گروه مجزا را تشکیل داد و جمعیت آذربایجان که از دیگر جمعیت‌ها دور افتاده بود، در طرف مقابل گروه اخیر و نسبت به جمعیت ترکیه بسیار نزدیکتر به



شکل ۶- طرح دسته‌بندی جمعیت‌ها بر اساس relative warp و اطلاعات میانگین ریخت بال در هر جمعیت



شکل ۷- فنوگرام UPGMA و طرح تغییر شبکه‌ای ریخت بال (thin-plate deformation grid) در جمعیت‌های کشورهای مختلف آسیای مرکزی. Az، آذربایجان؛ I6، شمال ایران؛ I9، غرب ایران؛ Ka، قزاقستان؛ Ki، قرقیزستان؛ Ru، روسیه؛ Ta، تاجیکستان؛ Tm، ترکمنستان؛ Tu، ترکیه؛ Uz، ازبکستان

بحث و نتیجه‌گیری

سازگاری به عوامل زیستی و غیرزیستی در محیط زیست گونه‌ها اغلب به عنوان تنوع جغرافیایی شناخته می‌شود (McPeck, 1990; Ricklefs and Miles, 1994). ریخت بال و حالت طبیعی آن بسیاری از جنبه‌های پرواز حشرات از جمله توانایی مانور و ایجاد جریان‌های گردابی به وسیله زنش بال‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. چون ریخت طبیعی بال‌ها به تطابق آنها با شرایط محیط‌شان وابسته است بنابراین بررسی ریخت بال ممکن است به یافتن ویژگی‌های کلیدی بال‌ها در ارتباط با انجام پرواز منجر شود و از این رو بایستی تحت تأثیر "انتخاب" قرار گرفته باشد (Sadeghi et

al., 2009). در برخی از سنجاقک‌ها و آسیابک‌ها (Outomuro et al., 2013 a,b) و همچنین مگس سرکه (Klingenberg and Gidaszewski, 2010)، ریخت بال یک ساختار فیلوژنتیک را نشان داده است. تحلیل‌های ما در مورد تنوع ریخت بال نشان داد که منابع متنوع و احتمالاً مستقل محیطی ریخت بال را در *Calopteryx splendens* تحت تأثیر قرار داده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که محیط‌های زیست مختلف که به نحوی به صورت مجزا یا ایزوله جمعیت‌هایی از *C. splendens* را در خود جای داده‌اند عمدتاً اختلاف معنی دار و مشخصی را در ریخت بال جلویشان نشان می‌دهند. به بیان دیگر، به استثنای

دو مؤلفه بیشترین مسؤولیت را در بروز تنوع ریخت بال در میان جمعیت‌های مطالعه شده دارند. آنالیز واریانس چند متغیره MANOVA اختلاف معنی دار ریخت بال را در بین جمعیت‌های مطالعه شده آشکار ساخت، به استثنای دو جمعیت ترکمنستان و شمال ایران (I6) که مقدار F حاصل از آزمون Goodall نیز وجود منشأ یکسانی برای این دو جمعیت را تأیید کرد.

در مطالعه حاضر، فنوگرام UPGMA سه انشعاب جداگانه را به وضوح مشخص کرد. نخستین انشعاب شامل جمعیت‌های آذربایجان، روسیه، غرب ایران، ترکیه، ازبکستان، قزاقستان و قرقیزستان بود. دومین شاخه، جمعیت‌های شمال ایران و ترکمنستان را در بر گرفت و سومین شاخه تنها شامل جمعیت تاجیکستان بود. جمعیت‌های ترکیه و روسیه بیشترین ارتباط را با یکدیگر و با جمعیت ازبکستان نشان دادند. این سه جمعیت در ارتباط نزدیک با جمعیت غرب ایران است. این نتایج همچنین با نتایج پیشین حاصل از تحلیل مولکولی با روش AFLP مطابقت دارد (Sadeghi *et al.*, 2010). جمعیت‌های قزاقستان و قزاقستان نیز در ارتباط نزدیک با هم بوده، به عنوان گروه خواهری گروه قبلی قرار گرفتند. این نکته قابل توجه است که جمعیت آذربایجان در این فنوگرام با فاصله زیاد از دیگر جمعیت‌ها قرار گرفته است. به نظر می‌رسد که جمعیت آذربایجان نسبتاً از سایر جمعیت‌های شاخه اول جدا شده است، این نتیجه پیش از این در نتایج حاصل از AFLP مشاهده شده بود (Sadeghi *et al.*, 2010).

همان‌طور که Johansson و همکاران (۲۰۰۹) اشاره کرده‌اند بخش اعظم اختلاف ریخت بال در بین جمعیت‌های بررسی شده، نشان دهنده این است که ریخت بال به وسیله ویژگی‌های محیط زیست و رفتار

اختلاف بین دو جمعیت شمال ایران (I6) و ترکمنستان (Tm) که معنی دار نبود و انتظار آن نیز وجود داشت (چون این دو جمعیت از نظر جغرافیایی و منشأ به یکدیگر بسیار نزدیک هستند) سایر جمعیت‌ها به طور معنی دار ریخت بال متفاوت نسبت به یکدیگر داشتند. این اختلاف در فنوگرام UPGMA به دست آمده نیز منعکس بود (شکل ۷) به طوری که به خوبی سه دسته مشخص و جدا را در فنوگرام نشان داد. نخستین دسته شامل جمعیت تاجیکستان، شرقی‌ترین جمعیت مورد مطالعه است، دومین انشعاب شامل جمعیت‌های شمال ایران (I6) و ترکمنستان (Tm) می‌شود، دو جمعیتی که از نظر جغرافیایی نیز به هم وابسته‌اند. سومین یا بزرگترین خوشه، شامل دیگر جمعیت‌هاست. در این انشعاب بزرگ، جمعیت آذربایجان وضعیت کاملاً متمایزی را نسبت به دیگر جمعیت‌ها نشان می‌دهد. در حالی که جمعیت‌های روسیه و ترکیه از نزدیک به هم وابسته‌اند، جمعیت قزاقستان و قرقیزستان به طور جالبی یک گروه وابسته به هم را تشکیل داده که از جمعیت تاجیکستان جدا شده است. افزون بر این، جمعیت ازبکستان به جمعیت‌های ترکیه و روسیه نزدیکتر است تا قزاقستان و قرقیزستان، که در واقع جمعیت‌های همسایه آن از نظر جغرافیایی هستند.

اندازه بال (centroid size) به عنوان تنها معیار اندازه حشره، در مطالعه حاضر هیچ گونه شیب پیوسته (cline) جغرافیایی را نشان نداد. اختلاف ریخت بال در بین ۱۰ جمعیت مطالعه شده *C. splendens* معنی دار بود و بخش اعظم تنوع مشاهده شده (بیش از ۶۰ درصد) در دو مؤلفه اول در آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) خلاصه می‌شود و این امر یک توضیح روشن هندسی در این جمعیت‌ها را ارائه می‌دهد. بنابراین، این

ایزوله شده که شامل جنوب ترکمنستان و حاشیه جنوبی دریای خزر (در شمال ایران) می‌شود جدا می‌کند. علاوه بر کپه داغ، ناحیه ایزوله شده دوم از جنوب به کوه‌های البرز و بخشی در شمال و شرق محدود به دریای خزر محدود می‌شود که نسبت به سایر نقاط مطالعه شده دست کم از نظر رطوبت و دما، کاملاً متفاوت است. سومین ناحیه ایزوله شده احتمالاً از مرز غربی تاجیکستان به سمت شرق کشیده شده است. این ناحیه از غرب به دریای سیاه و از شرق به دریای خزر محدود می‌شود و بین کوه‌های قفقاز قرار گرفته است. بر اساس اطلاعات پیشین (Sadeghi, et al., 2009) در 2010 به نظر می‌رسد که جمعیت *C. splendens* در این منطقه، ارتباطی نزدیک و اجدادی با جمعیت‌های شمال ترکیه و اروپای مرکزی دارد و این ارتباط با جمعیت‌های جنوب ترکیه و ایران بسیار کمتر است.

سپاسگزاری

نگارندگان از زحمات و تلاش دوستان و همکاران سنجاقک‌شناس که در کشورهای مختلف آسیای مرکزی اقدام به جمع‌آوری و ارسال نمونه‌ها نمودند و امکان ذکر نام همه آنها در این مقاله ممکن نیست تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تولید مثلی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. البته سنجاقک‌ها در بسیاری از جنبه‌های حیاتی که می‌تواند ریخت بال را متأثر سازد از جمله رفتار غذایی (foraging) و رفتار جفت‌گیری با یکدیگر متفاوت هستند. اما در بین جمعیت‌های یک گونه واحد، برخی از این رفتارهای حیاتی یکسان است و بیشتر اختلاف‌های قابل مشاهده در ریخت بال در واقع به اختلاف‌های اکولوژیک ناشی از وضعیت جغرافیایی خاصشان نسبت داده می‌شود.

نقش برخی رودخانه‌ها از جمله ولگا، اورال، آمودریا، سیر دریا و حتی رودخانه ایرتیش در آسیای مرکزی در پراکنش حشرات آبرزی مهم بوده است، چون همه این رودخانه‌ها به حوضه آبی دریای آرال، دریای خزر و دریای سیاه وارد می‌شوند. بنابراین، پس از جدایی این دریاها از یکدیگر تصور این که جمعیت‌های آسیای مرکزی نیز به چهار جمعیت جداگانه، تقسیم شده باشند دور از ذهن نیست. گسترده‌ترین این جمعیت‌ها در بین رودخانه ولگا و دریای خزر و مرز غربی قرقیزستان و تاجیکستان و حتی تا رودخانه ایرتیش یعنی بخش اعظم فلات ایرانی-تورانی مستقر شده است. این منطقه شامل بخش اصلی فلات ایران نیز می‌شود، کوه‌های کپه داغ و صحرای قره قوم در جنوب این ناحیه، آن را از دومین ناحیه

منابع

- Adams, D. C., Rohlf, F. J. and Slice, D. (2004) Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology* 71: 5-16.
- Adriaens, D. (2007) Morphometrics. Retrieved from <http://www.fun-morph-ugent.be/research/methodology/Pdf>. On: 22 June 2007.
- Asahina, S. (1976) Indian paddy field Odonata taken by Miss I. Hattori. *Mushi* 46: 115-127.
- Bogdanowicz, W., Juste, J., Owen, R. D. and Sztencel, A. (2005) Geometric morphometrics and cladistics: testing evolutionary relationships in mega- and microbats. *Acta Chiropterologica* 7(1): 39-49.
- Bookstein, F. L. (1991) *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press, Cambridge.

- Bookstein, F. L. (1996) Combining the tools of geometric morphometrics. In: Advances in morphometrics (Eds. Marcus, L. F., Corti, M., Loy, A., Naylor, G. J. P. and Slice, D. E.) 131-152. NATO ASI Series Plenum Press, New York.
- Bookstein, F. L. (1997) Shape and the information in medical images: a decade of the morphometric synthesis. *Compute Vis Image Understanding* 66: 97-118.
- Cordoba-Aguilar, A. and Cordero-Rivera, A. (2005) Evolution and ecology of Calopterygidae (Zygoptera: Odonata): Status of knowledge and future research perspectives. *Neotropical Entomology* 34: 861-879.
- Dumont, H. J. (1991) Odonata of the Levant. Fauna Palestina V, Israel Academy of Sciences, Jerusalem.
- Dumont, H. J., Mertens, J. and De Coster, W. (1993) The *Calopteryx splendens*-cline in southwestern France, analyzed by quantitative wingspot analysis (Zygoptera: Calopterygidae). *Odonatologica* 22: 345-351.
- Dumont, H. J., Vanfleteren, J. R., De Jonckheere, J. F. and Weekers, P. H. H., (2005) Phylogenetic relationships, divergence time estimation and global biogeographic patterns of calopterygoid damselflies (Odonata: Zygoptera) inferred from ribosomal DNA sequences. *Systematic Biology* 54: 347-362.
- Goodall, C. R. (1991) Procrustes methods in the statistical analysis of shape. *Journal of the Royal Statistical Society B* 53: 285-339.
- Grimaldi, D. (2001) Insect evolutionary history from Handlirsch to Hennig, and beyond. *Journal of Paleontology* 75: 1152-1160.
- Hammer, Ø. Y. and Happer, D. A. T. (2007) PAST - paleontological statistics, version 1.62, Retrieved from <http://folk.uio.no/ohammer/past>. On: 11 June 2007.
- Johansson, F., Soderquist, M. and Bokma, F. (2009) Insect wing shape evolution: independent effects of migratory and mate guarding flight on dragonfly wings. *Biological Journal of the Linnean Society* 97: 362-372.
- Kendall, D. G. (1977) The diffusion of shape. *Advances in Applied Probability* 9: 428-430.
- Klingenberg, C. P. and Gidaszewski, N. A. (2010) Testing and quantifying phylogenetic signals and homoplasy in morphometric data. *Systematic Biology* 59: 245-261.
- Koskimäki, J., Rantala, M. J., Taskinen, J., Tynkkynen, K. and Suhonen, K. (2004) Immunocompetence and resource holding potential in the damselfly, *Calopteryx virgo* L.. *Behavioral Ecology* 15(1): 169-173.
- McPeck, M. A. (1990) Behavioral differences between *Enallagma* species (Odonata) influencing differential vulnerability to predators. *Ecology* 71: 1714-1726.
- Milliken, G. A. and Johnson, D. E. (1984) Analysis of messy data. vol. 1, Designed Experiments. Van Nostrand Reinhold Co., New York.
- Misof, B., Anderson, C. L. and Hadrys, H. (2000) A phylogeny of the damselfly genus *Calopteryx* (Odonata) using mitochondrial 16S rDNA markers. *Molecular Phylogeny and Evolution* 15: 5-14.
- Outomuro, D., Adams, D. C. and Johansson, F. (2013a) The evolution of wing shape in ornamented-winged damselflies (Calopterygidae, Odonata). *Evolutionary Biology* 40(2): 300-309.
- Outomuro, D., Dijkstra, K. D. and Johansson, F. (2013b) Habitat variation and wing coloration affect wing shape evolution in dragonflies. *Journal of Evolutionary Biology* 26(9): 1866-1874.
- Rantala, M. J., Koskimäki, J., Taskinen, J., Tynkkynen, K., and Suhonen, J. (2000) Immunocompetence, developmental stability and wingspot size in the damselfly *Calopteryx splendens*. *Proceeding of the Royal Society of London B* 267: 2453-2457.

- Ricklefs, R. E. and Miles, D. B. (1994) Ecological and evolutionary inferences from morphology: an ecological perspective. In: Ecological morphology. Integrative organismal biology (Eds. Wainwright, P. C. and Reilly, S. M.) 13-41. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Rohlf, F. J. (2000) NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1 user guide. Department of Ecology and Evolution, State University New York, Stony Brook, New York.
- Rohlf, F. J. (2002) Geometric morphometrics and phylogeny. In: morphology, shape and phylogeny (Eds. MacLeod, N., and P. L. Forey) 175-193. Systematics Association Special Volume Series 64. Taylor and Francis, London.
- Rohlf, F. J. (2003) tpsSmall, version 1.20. Department of Ecology and Evolution. State University New York, Stony Brook, New York.
- Rohlf, F. J. (2004) Thin-plate spline, digitize landmarks and outlines, version 1.20. Department of Ecology and Evolution. State university of New York, Stony Brook, New York.
- Rohlf, F. J. (2007) tpsRelw, relative warps analysis, version 5/13/05. Department of Ecology and Evolution. State University of New York, Stony Brook, New York.
- Rohlf, F. J. (2010) tpsDig2, digitize landmarks and outlines, version 2.10. Department of Ecology and Evolution. State University of New York, Stony Brook, New York.
- Rohlf, F. J. and Marcus, L. F. (1993) A revolution in morphometrics. Trends in Ecology and Evolution 8: 129-132.
- Sadeghi, S., Adriaens, D. and Dumont, H. J. (2009) Geometric morphometric analysis of wing shape variation in ten European populations of *Calopteryx splendens* Harris (1782) (Zygoptera: Odonata). Odonatologica 38 (4): 343-360.
- Sadeghi, S., Kyndt, T. and Dumont, H. J. (2010) Genetic diversity, population structure and taxonomy of *Calopteryx splendens* (Odonata: Calopterygidae) an AFLP analysis. European Journal of Entomology 107: 137-146.
- Sheets, H. D. (2000) Integrated morphometrics package (IMP). Retrieved from <http://www3.canisius.edu/~sheets/moremorph.html>. On: 24 March 2013.
- Siva-Jothy, M. T. (1999) Male wing pigmentation may affect reproductive success via female choice in a calopterygid damselfly (Zygoptera). Behaviour 136: 1365-1377.
- Siva-Jothy, M. T. (2000) A mechanistic link between parasite resistance and expression of sexually selected trait in a damselfly. Proceeding of the Royal Society of London B 267: 2523-2527.
- Slice, D. E. and Bookstein, F. L. (2007) A glossary for geometric morphometrics. Retrieved from <http://life.bio.sunysb.edu/morph/glossary/gloss1.html>. On: 23 May 2013
- Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. (1995) Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 3rd edition, W. H. Freeman, San Francisco.
- Stock, M. W. (1980) Wing pigmentation variation in *Saldula fernaldi* Drake (Heteroptera, Saldidae). Journal of the Kansas Entomological Society 53(2): 227-286.
- Weekers, P. H. H., De Jonckheere, J. F. and Dumont, H. J. (2001) Phylogenetic relationships inferred from ribosomal ITS sequences and biogeographic patterns in representatives of the Genus *Calopteryx* (Insecta: Odonata) of the West Mediterranean and adjacent West European zone. Molecular Phylogenetics and Evolution 20: 89-99.
- Wootton, R. J. (1991) The functional morphology of the wings of Odonata. Advances in Odonatology 5: 153-169.
- Zelditch, M. L., Swideriski, D. L., Sheets, H. D. and Fink, W. L. (2004) Geometric morphometrics for

biologists: a primer. Elsevier Academy Press, London.

Zeng, L. (1996) High-resolution method for measuring the torsional deformation of a dragonfly wing by combining a displacement probe with an acousto-optic deflector. *Optical Engineering* 35(2): 507-513.

Wing shape variation among central Asian populations of *Calopteryx splendens*

Saber Sadeghi ^{1*}, Yaser Bakhshi ¹ and Henri Dumont ²

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

² Department of Limnology, Faculty of Sciences, University of Gent, Gent, Belgium

Abstract

We applied geometric morphometric techniques to explore the morphological variation of forewings between 10 Asian *Calopteryx splendens* populations including Azerbaijan, Russia, Turkey, Uzbekistan, Iran, Turkmenistan, Tajikistan, Kazakhstan, and Kyrgyzstan countries. We focused on the study of the phenetic relationships among the populations in central Asia. The results showed that the northern and western populations of Iran had the largest and smallest centroid size of the wings, respectively. In addition, differences among wing shape of the 10 studied populations of *C. splendens* were significant. Our results indicated that Tajikistan population has quite distinct divergence and also Turkmenistan and northern part of Iran populations both were very close each other and located in a separate clade. The Azerbaijan, Russia, Turkey, Uzbekistan, west Iran, Kazakhstan and Kyrgyzstan populations were revealed to be more interrelated to each other, although Kazakhstan and Kyrgyzstan populations seems to be more closer than the other.

Key words: Iran, Odonata, Geometric morphometrics, Calopterygidae

* ssadeghi@shirazu.ac.ir