

ORIGINAL ARTICLE

Morphological analysis for non-invasive sex determination in beluga (*Huso huso*)

Reza Dehghan¹, Mohammad Kazem Khalesi^{1*}, Sohrab Kohestan Eskandari¹

¹Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

Correspondence

Mohammad Kazem Khalesi
Email: mk_khalesi@yahoo.com

How to cite

Dehghan, R., Khalesi, M.K., & Kohestan Eskandari, S. (2023). Morphological analysis for non-invasive sex determination in beluga (*Huso huso*). *Experimental Animal Biology*, 12(46), 61-76.

ABSTRACT

Beluga (*Huso huso*) is one of the most important commercial fish in the Caspian Sea, whose reproduction and breeding, as well as caviar extraction, are of special importance. This study was conducted to investigate the morphological analysis for non-invasive sex determination in this sturgeon species to replace the invasive methods in the event of appropriate outcomes. A total of 180 fish were biometried at the Sea Abzigostaran Center, Sari, within 2 weeks. The samples were then photographed and the photos were analyzed by the TPS (transection processing system) technique for sex determination. The ANOVA test showed homogeneity of morphometric data. Leven's test showed that all the morphometric traits had uniform variances ($P \geq 0.05$). The analysis of the distinctive function for morphometric traits indicated that 100% of both male and female beluga samples displayed their characteristics. Overall, the results of this test revealed that on average 100% of the males and females were grouped accurately, which indicates the separation of the sexes based on this test. The UPGMA dendrogram for morphological traits based on the mean correlation showed that the samples of beluga were partially distinguished from each other by gender. However, the TPS technique could distinguish the male and female beluga samples, thus, it could be considered a non-invasive method for the sex determination of sturgeon fish.

KEYWORDS

Morphology, Non-invasive sex determination, Beluga (*Huso huso*).

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

آنالیز ریخت‌شناسی به منظور تعیین جنسیت غیر مهاجم در فیل ماهی (*Huso huso*)

رضا دهقان^۱، محمد کاظم خالصی^{۱*}، سهراب کوهستان اسکندری^۱

چکیده

فیل‌ماهی بلوگا (*Huso huso*) از مهمترین ماهیان تجاری دریای خزر است که تکثیر و پرورش و همچنین استحصال خاویار آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این مطالعه برای بررسی آنالیز ریخت‌شناسی به منظور تعیین جنسیت غیر مهاجم در فیل‌ماهی انجام شد تا در صورت نتیجه‌گیری مناسب، جایگزین تعیین جنسیت با روش‌های تهاجمی شود. تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی طی دو هفته از مرکز آبی‌گستران ساعی (ساری) مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. سپس از نمونه‌ها عکس‌برداری گردید و عکس‌ها با تکنیک TPS (Transaction processing system) جهت تعیین جنسیت بررسی شدند. تست آنوا همگنی داده‌های ریخت‌سنجی را نشان داد. آزمون لون وجود واریانس یکنواخت را در کلیه صفات ریخت‌سنجی نشان داد ($P \geq 0.05$). نتایج آنالیز تابع متمایزکننده در مورد صفات ریخت‌سنجی نشان داد که ۱۰۰ درصد ماهیان نر و همچنین ۱۰۰ درصد ماهیان ماده خصوصیات خود را نشان دادند. بر اساس نتایج این آزمون، به طور میانگین گروه‌بندی ماهیان نر و ماده به میزان ۱۰۰ درصد به صورت دقیق انجام گرفت که این دلالت بر جدایی جنس‌ها بر اساس این آزمون دارد. رسم دندروگرام UPGMA صفات ریخت‌سنجی بر اساس میانگین پیوستگی نشان داد که نمونه‌های فیل‌ماهی بلوگا بر اساس جنس تا حدود بسیار کمی از یکدیگر متمایز بودند. با این حال، تکنیک TPS توانست جنس‌های نر و ماده را از هم تفکیک کند، لذا می‌توان آن را به عنوان یک روش غیر مهاجم برای تعیین جنسیت ماهیان خاویاری مورد بررسی بیشتر قرار داد.

واژه‌های کلیدی

ریخت‌شناسی، تعیین جنسیت غیر مهاجم، فیل‌ماهی بلوگا.

^۱گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

نویسنده مسئول:

محمد کاظم خالصی

رایانامه: mk_khalesi@yahoo.com

استناد به این مقاله:

دهقان، رضا، خالصی، محمد کاظم و کوهستان اسکندری، سهراب (۱۴۰۲). آنالیز ریخت‌شناسی به منظور تعیین جنسیت غیر مهاجم در فیل ماهی (*Huso huso*). فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۱۲ (۴۶)، ۶۱-۷۶.

مقدمه

ویژگی‌های ریخت‌شناسی ماهیان به طور معمول در زیست‌شناسی آنها مورد استفاده قرار می‌گیرند تا اختلافات و روابط بین گروه‌های مختلف رده‌بندی را تعیین نمایند (Turan, 1999). اختلافات ریخت‌شناسی میان جمعیت‌ها یا گونه‌ها معمولاً به صورت بیان شکل کلی بدن و یا شکل‌های تشریحی خاص توضیح داده می‌شوند. بدین منظور بهتر است که برای بیان اختلاف بین افراد از لحاظ کمی، اندازه‌گیری‌های مختلفی در باره آنها صورت پذیرد و سپس این اندازه‌ها مورد تحلیل آماری قرار گیرند (Schreck & Moyle, 1990).

با این وجود، مهمترین محدودیت خصوصیات ریخت‌شناسی در سطح درون‌گونه‌ای آن است که تغییرات ریختی مستقیماً تحت کنترل ژنتیک نبوده، بلکه متأثر از تغییرات محیطی هستند (Clayton, 1981). انعطاف ریختی ماهیان به آنها امکان می‌دهد تا نسبت به تغییرات محیطی پاسخی به صورت تغییرات فیزیولوژیکی و رفتاری دهند که خود می‌تواند منجر به تغییرات ریختی، تولید مثلی و بقاء در آنها شود و بدین ترتیب اثرات تغییرات محیطی تعدیل گردد (Stearns, 1983; Meyer, 1987). این تغییرات ریختی الزاماً منجر به تغییرات ژنتیکی در جمعیت نمی‌گردد (Ihssen *et al.*, 1981; Allendorf, 1988) و بنابراین تعیین اختلافات ریختی میان جمعیت‌ها نمی‌تواند گواهی بر اختلافات ژنتیکی آنها باشد (Turan, 1999). تغییرات ریختی ناشی از محیط در شناسایی جمعیت‌ها دارای مزیت‌هایی است، بخصوص هنگامی که زمان لازم برای به وجود آمدن اختلاف ژنتیکی میان جمعیت‌ها وجود نداشته باشد (Hubbs & Lagler, 1947; Ward & Grewe, 1994; Carvalho & Hauser, 1994). بنابراین، نشانگرهای مولکولی برای تعیین وجود اختلاف میان جمعیت‌ها ناکافی هستند و در عوض نشانگرهای ریختی می‌توانند تغییرات ریخت‌شناسی ناشی از اختلاف زیستگاه‌های جدا شده از هم را مشخص کنند. از این رو، تحلیل‌های ریخت‌سنجی و شمارشی می‌توانند گام نخست در ارزیابی ساختار جمعیتی یک گونه باشند (Turan, 1999). نتایج بدست آمده در بررسی صفات مورفومتریک ماهی خارو باله‌سفید در خلیج فارس نشان داد که نمودار پراکنش بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم، دندروگرام صفات ریخت‌سنجی حداقل دو جمعیت مختلف از این گونه وجود دارند (Fekrandish *et al.*, 2022). تعیین جنسیت و رسیدگی جنسی ماهیان زنده از جهات مختلف دارای اهمیت است. تشخیص صحیح جنس و رسیدگی

جنسی در ماهیان فاقد علایم جنسی ظاهری و یا زمانی که این علایم رشد نکرده‌اند، معمولاً با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری سطوح هورمونی و یا تکه‌برداری انجام می‌گیرد. این روش‌ها علاوه بر صرف وقت و مواد آزمایشگاهی، خطراتی برای ماهی به همراه دارند. بنابراین، معرفی یک روش دقیق، موثر و غیر تهاجمی برای تعیین جنسیت و رسیدگی جنسی ماهیان خاویاری از نظر اقتصادی برای کشورهای تولیدکننده خاویار حائز اهمیت است.

فیل‌ماهی از بزرگترین ماهیان خاویاری آب شیرین است که در دریای خزر، سیاه و آزوف پراکنش طبیعی دارد. نسل این ماهی نیز همانند بسیاری از گونه‌های خاویاری به چند دلیل از جمله صید بی‌رویه و قاچاق، تخریب مناطق تخم‌ریزی و آلودگی‌های زیست‌محیطی شدیداً کاهش یافته است. با این حال، تلاش‌هایی برای حفظ ذخایر آن در تفریخگاه‌ها در حال انجام است. نظر به نرخ رشد سریع، بازماندگی بالا، مقاومت در برابر عوامل نامساعد زیست‌محیطی و استرس‌زا و کیفیت بالای گوشت و خاویار، بسیاری از کشورها به پرورش این گونه توجه ویژه‌ای کرده‌اند (Falahatkar *et al.*, 2009). در محیط‌های طبیعی، سن بلوغ این ماهی در نرها ۱۴-۱۲ سال و در ماده‌ها ۱۶-۱۴ سال است، اما با مدیریت نگهداری و تغذیه‌ای مناسب در محیط پرورش به نظر می‌رسد این سن در نرها به ۸-۶ سال و در ماده‌ها به ۱۰-۸ سال کاهش یابد (Gessner & Hochleithner 2001). در مولدین، رشد و توسعه‌ی گنادی و بلوغ و رسیدگی در شرایط پرورشی بسیار محدود است. با وجود این اطلاعات، مدیریت جنسیت در ماهیان خاویاری با توجه به سن بلوغ بالای آنها و نبود مشخصه خارجی که با آن بتوان جنسیت نر و ماده را از هم تفکیک کرد، از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است به طوری که برخی از مزارع پرورشی، ماهیان نر را پس از سه سال پرورش و رسیدن به وزن بازاری از چرخه تولید خارج و صرفاً به نگهداری ماهیان ماده برای تولید خاویار اقدام می‌کنند. روش‌های غیر تهاجمی، نظیر سونوگرافی (Colombo *et al.*, 2004; Evans *et al.*, 2004) برای مطالعات میکروسکوپی یا ماکروسکوپی بسیار دقیق هستند (Bryan *et al.*, 2005) و خصوصاً در تعیین مراحل رسیدگی طی دوره پرورش اهمیت دارند، اما در مطالعات میدانی یا صرفاً تعیین جنسیت در مراحل ابتدایی پرورش ماهیان خاویاری از اهمیت یا دقت کمتری برخوردارند، چرا که فرصت و امکانات لازم برای انجام دادن برخی شیوه‌های خاص در این خصوص وجود ندارد. این در

حالی است که تعیین جنسیت در تعداد بسیاری از ماهیان که عمدتاً در کارهای صحرایی (نظیر مزارع پرورش ماهی) انجام می‌شود، باید مبتنی بر سرعت عمل و دقت بالا باشد و حتی بعضاً این فرصت برای بیهوش کردن ماهی نیز وجود نداشته باشد (Kieffer and Kynard 2002) به طوری که ممکن است بیش از ۴۰۰ ماهی در یک روز کاری تعیین جنسیت شوند.

جهت شناسایی برخی از ماهیان، تعیین جنسیت و درک عوامل زیستی حاکم بر محیط زیست آنها، اندازه‌گیری فاصله‌ی قسمت‌های مختلف بدن و طول هریک از آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به خصوص در بررسی‌های آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها، اندازه‌گیری دقیق این قسمت‌ها در رسیدن به اهداف مورد نظر کمک شایانی می‌نماید (ماهیان آب شیرین، ۱۳۷۹). لازمه اینکار علاوه بر اندازه‌گیری قسمت‌های مختلف که در زیر آمده است، نیازمند شناخت خصوصیات زیستی گونه‌های مختلف ماهیان می‌باشد. با تلفیق این اطلاعات و سایر مواردی که به مرور در این مقاله توضیح داده خواهد شد، می‌توان اطلاعات مفیدی را در زمینه‌ی گونه مورد نظر، محیط زیست آن و دیگر عوامل حاکم بر رشد و نمو و به طور کلی زندگی ماهیان بدست آورد.

ماهیان خاویاری از جمله ماهیان تجاری در دنیا و بسیار مورد توجه هستند و نگهداری آنها به جهت گوشت و علی‌الخصوص استحصال خاویار درجه یک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بنابر این، دولت‌ها تدابیر ویژه‌ای را برای ایجاد امکانات و شرایط مناسب جهت تولید این ماهیان اندیشیده‌اند. به دلیل حساسیت بالای این ماهیان از نظر سلامت که باعث تولید خاویار مرغوب‌تر می‌شود، روش‌های مختلفی جهت تشخیص جنسیت آنها گسترش یافته‌اند که هر کدام دارای اشکالاتی نیز هستند. یکی از این روش‌های متداول جراحی است که اگر توسط متخصص این فن اجرا گردد تا ۹۵ درصد دقیق می‌باشد که این خود به دلیل بیهوشی بلندمدت و جراحت رساندن به ماهی دارای اشکالاتی است. یک روش راحت‌تر که سالیان دراز بر روی یکسری از ماهیان اجرا شده است، تعیین جنسیت از روی خصوصیات مورفولوژیکی است. در حال حاضر، با توجه به پیشرفت تکنولوژی و نرم افزارهای پیشرفته توانسته‌اند تا حدود زیادی در این امر موفق باشند ولی روش مذکور تاکنون بر روی فیل ماهی اجرا نشده است. لذا در پژوهش حاضر، تعیین جنسیت فیل ماهی ۲٫۵ ساله با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی و اینکه این ماهی در فصل تکثیر تمایز جنسی ندارد، از طریق عکسبرداری دیجیتالی و کاربرد نرم‌افزار با دقت بسیار بالا مورد بررسی قرار می‌گیرد تا یکی دیگر از روش‌های

جایگزین و غیر مهاجم برای تعیین جنسیت این ماهی مطرح گردد. با توجه به محدودیت و ضعف اندازه‌گیری‌های قدیمی، سیستم جدید اندازه‌گیری مورفومتریکی توسط استراس و بوک استین به نام سیستم شبکه تراس در تعیین تنوع با استفاده از صفات مورفومتریکی وارد شد (Turan, 1999). این سیستم شامل مجموعه منظمی از فواصل است که این فواصل بین یک سری نقاط از پیش طراحی شده که نقاط لندمارک نام دارند، دور تا دور بدن اندازه‌گیری می‌شوند و بدن را به واحدهای کاری تقسیم می‌کند. سیستم تراس فاقد ضعف‌ها و معایب روش‌های سنتی ریخت‌سنجی است، کل بدن را بطور منظم پوشش می‌دهد و بر خلاف روش سنتی مدل خوبی از شکل واقعی نمونه‌ها را ایجاد می‌کند (Akbarzadeh et al., 2009).

نظر به نرخ رشد سریع، بازماندگی بالا، مقاومت در برابر عوامل نامساعد زیست‌محیطی و استرس‌زا و کیفیت بالای گوشت و خاویار، بسیاری از کشورها به پرورش این گونه توجه ویژه‌ای پیدا کرده‌اند. به همین جهت هدف از این مطالعه این است که برای آسیب دیدن کمتر در جهت تشخیص جنسیت، یک روش جدید و غیر تهاجمی در کمک به توسعه علم شیلات معرفی گردد.

مطابق عنوان مقاله، تعیین جنسیت با روش‌های غیر تهاجمی در ماهیان خاویاری بسیار ضروری است. متأسفانه در مقدمه به اهمیت تعیین جنسیت ماهی خاویاری به میزان کافی توجه نشده است و مشخص نیست که چرا لازم است تعیین جنسیت انجام گردد. به عنوان مثال، تشخیص جنس ماده می‌تواند جهت برنامه ریزی‌های استحصال خاویار راهگشا باشد و یا برای برنامه‌های تکثیر مورد توجه قرار گیرد.

مواد و روش کار

محل تحقیق

این تحقیق در سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۶ بر روی فیل ماهیان بلوگای ۳ ساله در کارگاه پرورش ماهیان خاویاری آبری گستران ساعی در منطقه گلما واقع در شمال شهرستان ساری انجام گرفت. آب ورودی این کارگاه از چاه تأمین می‌شود و ماهیان آن در استخرهای چند ضلعی به طور مصنوعی پرورش داده میشوند.

آماده‌سازی نمونه‌ها

ماهیان استفاده شده در این تحقیق بوسیله ساچوک صید و جهت



شکل ۱. پارامترهای ریخت‌سنجی اندازه‌گیری شده در فیل ماهی (*Huso huso*)

صفات ریخت‌شناسی

تعداد ۱۸ لندمارک یا نقطه نشانه‌دار در سطح پهلویی دور تا دور حاشیه بیرونی بدن ماهیان انتخاب گردید و ۱۵۳ فاصله بین این نقاط بر روی سمت چپ بدن ماهی اندازه‌گیری شد. همچنین ۱۳ لندمارک و ۱۳۳ فاصله در سطح شکمی انتخاب گردید. صفات پهلویی و صفات شکمی در شکل ۱ نشان داده شده‌اند.

از آنجا که ویژگی‌های ریخت‌شناسی بر خلاف ویژگی‌های شمارشی در سرتاسر دوران زندگی ثابت نیست و با اندازه بدن ماهی ارتباط دارد (Poulet et al., 2004) و این ویژگی‌ها به طور پیوسته با افزایش اندازه بدن تغییر می‌کنند، بنابراین باید اثر اندازه‌ها را کاهش داد. معمولاً در مطالعات ریخت‌سنجی ماهیان، بجز در مواردی که هدف، تعیین اختلاف در اندازه متوسط دو گروه از ماهیان باشد، اثر اختلاف اندازه نمونه‌ها از تغییرات شکل بدن حذف می‌گردد (Schreck & Moyle, 1990)، چرا که اختلاف بین گروه‌ها باید ناشی از اختلاف شکل بدن و نه اختلاف در اندازه نسبی آنها باشد (Turan et al., 2004؛ اکبرزاده و همکاران، ۱۳۸۶). به همین دلیل، اصلاح داده‌های خام ریخت‌سنجی به متغیرهایی که مستقل از اندازه بدن هستند و تنها اختلاف شکل را نشان می‌دهند نخستین گام در تحلیل آماری داده‌های ریخت‌سنجی است (Turan, 1999). به منظور حذف

بیهوش شدن در وانی که توسط آب و پودر گل میخک با دز ۷۵ میلی گرم در لیتر به صورت مخلوط پر شده بود قرار داده شدند.

مطالعات ریخت‌شناسی

در این مطالعه به منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌سنجی فیل ماهی (*Huso huso*) از سیستم شبکه‌ای تراس (S. truss) (Bookstein, 1982; Bookstein, 1985) استفاده شد. تعداد ۱۸۰ نمونه فیل ماهی با سن ۳ سال از کارگاه پرورش ماهی آبی گستران ساعی بررسی شدند. متغیرهای وابسته به طول شامل طول استاندارد (S.L.)، طول فورک (FL)، طول لوب بالایی (CS)، طول لوب پایینی باله دمی (CI)، انتهای ستون فقرات تا طول فورک (CF)، انتهای باله مخرجی تا انتهای باله دمی (BI)، انتهای باله پشتی تا انتهای باله دمی (ES)، ابتدای باله پشتی تا انتهای دم (DS)، طول پایه باله پشتی (DE)، ارتفاع باله پشتی (DD')، طول پایه باله مخرجی (AB)، ارتفاع باله مخرجی (AA')، طول پایه باله سینه‌ای (PC)، ارتفاع باله سینه‌ای (PP')، طول باله شکمی (VV')، ابتدای باله شکمی تا سینه‌ای (PV)، ابتدای باله مخرجی تا دم (AK)، ابتدای باله شکمی تا پوزه (VL)، ابتدای باله پشتی تا پوزه (DL)، ابتدای باله مخرجی تا پوزه (AL)، ابتدای باله سینه‌ای تا مخرجی (PA)، ابتدای باله شکمی تا مخرجی (VA)، قبل از باله سینه‌ای (LP)، قبل از پیشانی (LT)، پیشانی تا باله پشتی (TD)، پیشانی تا باله شکمی (TV)، دهان تا حلق (LJ)، حلق تا باله شکمی (JV)، ابتدای باله شکمی تا پشتی (VD)، انتهای باله پشتی تا ابتدای مخرجی (EA)، انتهای باله پشتی تا مخرجی (EB)، ساقه دمی (BC)، ارتفاع پایه باله دمی (MK)، انتهای باله پشتی تا ابتدای دمی (EM)، انتهای باله مخرجی تا ابتدای لبه بالایی دمی (BM)، انتهای باله مخرجی تا ابتدای لبه پایینی دمی (BK)، حداکثر ارتفاع بدن (D↓)، ارتفاع ساقه دمی (B↑)، حداقل ارتفاع بدن (YY')، طول سر (LH)، ارتفاع سر (TJ)، عرض سر (X-X')، فاصله بین دو حدقه چشم (QQ')، فاصله سوراخ‌های بینی (NN')، قطر چشم (RO)، قطر مردمک (EE')، طول پوزه (LR)، پشت چشم تا انتهای سرپوش آبششی (OH)، فک پایین (μμ')، فک بالا (γγ')، پیش‌فک (LF)، عرض بدن (WW') و عرض ساقه دمی (UU') اندازه‌گیری شدند (شکل ۱).

ارتفاع ثابت صورت گرفت (لازم به ذکر است که ماهی باید در زیر دوربین در جایگاه ثابتی عکسبرداری شود). تمامی این عکس‌ها که با زاویه و ارتفاع مناسب و دقیق گرفته شدند به کامپیوتر انتقال یافتند و با نرم افزار TPS روی نقاطی از این عکس‌ها مثل فاصله بین باله سینه‌ای و مخرجی و غیره علامتگذاری و این فواصل توسط دستگاه اندازه‌گیری دیجیتالی کالیبره با دقت ± 0.1 میلی‌متر اندازه‌گیری شد و در نهایت از طریق این پاسخ به تعیین جنسیت نر و ماده پرداخته شد. برای راستی‌آزمایی این موضوع، ماهیان از طریق روش جراحی (بیوپسی) تعیین جنسیت شدند.

نتایج

صفات ریخت‌سنجی

آزمون لون^۴ نشان داد که کلیه صفات ریخت‌سنجی دارای واریانس یکنواخت بودند ($P > 0.05$). دوشکلی جنسی در ۲۱۵ صفت از ۲۳۱ صفت ریخت‌سنجی مشاهده گردید و این صفات در جنس نر و ماده اختلاف معنی‌داری داشتند ($P \leq 0.05$). این موضوع نشان می‌دهد که جنس‌های نر و ماده هر یک ویژگی‌های ریخت‌شناسی مخصوص به خود را دارند. دوشکلی جنسی در ۱۶ صفت (صفات مشخص شده به رنگ زرد) از ۲۳۱ صفت ریخت‌سنجی مشاهده نگردید ($P > 0.05$). A صفات پهلویی و B صفات شکمی را در جداول ۱ تا ۶ نشان می‌دهند.

این صفات عبارتند از A-1-5 (نوک پوزه تا ابتدای قسمت بالایی سرپوش آبششی)، A-1-7 (نوک پوزه تا ابتدای باله سینه‌ای)، A-2-6 (سبیلک تا ابتدای قسمت پایینی سرپوش آبششی)، A-3-6 (چشم تا قسمت پایینی سرپوش آبششی)، A-4-6 (قسمت انتهایی بریدگی دهان تا پایین سرپوش آبششی)، A-6-7 (قسمت پایینی سرپوش آبششی تا ابتدای باله سینه‌ای)، A-9-12 (ابتدای باله شکمی تا وسط پایه باله مخرجی)، A-11-14 (ابتدای باله مخرجی تا ابتدای قسمت بالایی باله دم)، A-12-14 (وسط پایه باله مخرجی تا ابتدای قسمت بالایی باله دم)، A-12-18 (وسط پایه باله مخرجی تا قسمت انتهایی پایینی باله دم)، A-13-14 (انتهای باله مخرجی تا ابتدای قسمت بالایی باله دم)، B-1-5 (قسمت انتهایی بریدگی دهان تا پایه باله سینه‌ای سمت چپ)، B-2-4 (انتهای بریدگی سمت چپ دهان تا ابتدای پایه باله سینه‌ای سمت راست)، B-3-6 (ابتدای حلق تا انتهایی پایه باله سینه‌ای سمت راست)، B-6-7 (انتهای پایه باله سینه‌ای سمت راست تا انتهایی باله سینه‌ای سمت چپ)، B-9-13 (انتهای پایه باله شکمی سمت راست تا ابتدای پایه باله مخرجی).

اندازه، داده‌های ریخت‌سنجی قبل از تجزیه و تحلیل به کمک فرمول الیوت^۱ استاندارد شدند (Elliot, 1995). استاندارد کردن داده‌های ریخت‌سنجی تغییرات ناشی از رشد آلومتریک را کاهش خواهد داد (Karakousis et al., 1991).

$$M_{(t)} = M_{(0)} (L / L_{(0)})^b$$

M_t : مقادیر استاندارد شده صفات

M_0 : طول صفات مشاهده شده

L : میانگین طول استاندارد برای کل نمونه و برای همه مناطق

L_0 : طول استاندارد هر نمونه

b : ضریب رگرسیونی یا شیب خط بین $\log M_0$ و $\log L_0$ برای همه مناطق

برای تعیین اختلاف بین جمعیت‌های مورد مطالعه در هر یک از صفات ریخت‌سنجی از آنالیز واریانس یک طرفه^۲ استفاده گردید (Mamuris et al, 1998) و برای صفات شمارشی از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس^۳ استفاده شد.

برای یکنواختی واریانس و توزیع نرمال داده‌ها، به ترتیب از آزمون‌های تک‌متغیره لون^۴ و آزمون کولموگروف-اسمیرنوف^۵ استفاده گردید (رحمانی، ۱۳۸۵). تست Wilks' Lambda به منظور بیان وجود اختلاف میان جنس‌های نر و ماده زمانی که صفات ریخت‌سنجی جداگانه با استفاده از فاکتور متمایز کننده مقایسه می‌شوند، استفاده گردید. همچنین از نرم‌افزارهای SPSS و Excel برای تمامی تجزیه و تحلیل‌های آماری و ترسیمی استفاده شد. نرم‌افزار مورد کاربرد برای این تحقیق TPS و روش تعیین جنسیت روش تراس بودند.

روش تهیه عکس و تعیین جنسیت

ماهیان مورد مطالعه (۱۸۰ نمونه) با سن ۳ سال در ابتدا به طور زنده صید و در آب محتوی ماده‌ی بیهوشی گل میخک قرار داده شدند چون در صورت عدم بیهوشی، حرکت ماهیان مانع از عکس‌برداری دقیق می‌شود. این ماهیان روی میز کاری که با پارچه برزنتی پوشیده شده بود، قرار داده شدند (پارچه برزنتی مانع از بروز خراشیدگی روی بدن ماهی می‌گردد). ماهیان توسط یک نفر نگهداری و عکسبرداری با یک دوربین دقیق (سامسونگ گلکسی جی ۵ با وضوح ۱۳ مگا پیکسل) که روی چهار پایه به طور کامل ثابت شد با زاویه مشخص و

1. Elliot

2. One-Way-ANOVA

3. Kruskal-Wallis

4. Leven test

5. Kolmogorov-Smirnov

جدول ۱. نتایج آنالیز واریانس صفات ریخت‌سنجی بین دو جنس نر و ماده فیل ماهی (*Huso huso*)

صفات (متغیر)	F	مقدار P	صفات (متغیر)	F	مقدار P	صفات (متغیر)	F	مقدار P
مورد بررسی	محاسباتی	(Sig.)	مورد بررسی	محاسباتی	(Sig.)	مورد بررسی	محاسباتی	(Sig.)
A-1-2	.000	.000	A-6-12	16.000	.002	B-1-9	12.000	.004
A-1-3	.023	.000	A-6-13	24.000	.000	B-1-10	27.000	.000
A-1-4	.000	.000	A-6-14	27.000	.000	B-1-11	43.000	.000
A-1-5	4.000	.056	A-6-15	22.000	.001	B-1-12	45.000	.000
A-1-6	2.000	.000	A-6-16	22.000	.001	B-1-13	34.000	.000
A-1-7	4.000	.058	A-6-17	26.000	.000	B-2-3	1.000	.000
A-1-8	45.000	.000	A-6-18	22.000	.001	B-2-4	4.000	.053
A-1-9	54.009	.000	A-7-8	19.100	.001	B-2-5	4.000	.048
A-1-10	34.000	.000	A-7-9	16.000	.002	B-2-6	6.000	.027
A-1-11	32.000	.000	A-7-10	18.000	.001	B-2-7	8.000	.014
A-1-12	22.000	.001	A-7-11	15.000	.002	B-2-8	53.000	.000
A-1-13	33.000	.000	A-7-12	12.000	.005	B-2-9	5.000	.039
A-1-14	56.000	.000	A-7-13	17.000	.001	B-2-10	58.000	.000
A-1-15	35.000	.000	A-7-14	20.000	.001	B-2-11	61.000	.000
A-1-16	36.000	.000	A-7-15	17.000	.002	B-2-12	54.000	.000
A-1-17	54.054	.000	A-7-16	16.000	.002	B-2-13	63.000	.000
A-1-18	32.000	.000	A-7-17	21.000	.001	B-3-4	1.000	.000
A-2-3	1.000	.000	A-7-18	17.000	.002	B-3-5	5.000	.044
A-2-4	.000	.000	A-8-9	13.000	.004	B-3-6	3.000	.083
A-2-5	9.000	.010	A-8-10	2.000	.000	B-3-7	9.032	.012
A-2-6	3.000	.078	A-8-11	13.000	.004	B-3-8	36.000	.000
A-2-7	6.000	.030	A-8-12	8.000	.013	B-3-9	4.000	.048
A-2-8	44.000	.000	A-8-13	6.088	.031	B-3-10	35.000	.000
A-2-9	49.000	.000	A-8-14	8.000	.015	B-3-11	34.000	.000
A-2-10	34.000	.000	A-8-15	6.000	.024	B-3-12	39.000	.000
A-2-11	32.000	.000	A-8-16	2.000	.000	B-3-13	36.000	.000
A-2-12	22.000	.001	A-8-17	1.000	.000	B-4-5	2.000	.000
A-2-13	34.000	.000	A-8-18	12.000	.004	B-4-6	13.000	.004
A-2-14	54.000	.000	A-9-10	7.000	.017	B-4-7	8.000	.014
A-2-15	36.000	.000	A-9-11	6.000	.026	B-4-8	15.000	.002
A-2-16	35.000	.000	A-9-12	3.000	.096	B-4-9	4.000	.050
A-2-17	60.019	.000	A-9-13	5.000	.033	B-4-10	36.000	.000
A-2-18	32.000	.000	A-9-14	11.099	.007	B-4-11	30.000	.000
A-3-4	9.000	.011	A-9-15	7.000	.020	B-4-12	22.000	.001
A-3-5	9.052	.012	A-9-16	6.000	.024	B-4-13	24.000	.000
A-3-6	4.000	.054	A-9-17	8.000	.013	B-5-6	.000	.000
A-3-7	6.000	.028	A-9-18	7.000	.018	B-5-7	.000	.000
A-3-8	50.000	.000	A-10-11	7.000	.020	B-5-8	7.000	.019
A-3-9	70.000	.000	A-10-12	6.000	.026	B-5-9	.000	.000
A-3-10	43.000	.000	A-10-13	10.000	.008	B-5-10	11.000	.006
A-3-11	42.000	.000	A-10-14	1.000	.000	B-5-11	15.000	.002
A-3-12	28.000	.000	A-10-15	1.000	.000	B-5-12	15.000	.002
A-3-13	46.000	.000	A-10-16	.001	.000	B-5-13	20.000	.001
A-3-14	68.000	.000	A-10-17	.000	.000	B-6-7	4.054	.069
A-3-15	47.000	.000	A-10-18	7.000	.020	B-6-8	7.058	.022
A-3-16	45.000	.000	A-11-12	.000	.000	B-6-9	1.000	.000
A-3-17	74.000	.000	A-11-13	.085	.000	B-6-10	23.000	.000
A-3-18	42.000	.000	A-11-14	4.015	.070	B-6-11	16.000	.002
A-4-5	16.000	.002	A-11-15	1.000	.000	B-6-12	11.000	.006
A-4-6	4.053	.069	A-11-16	.000	.000	B-6-13	16.000	.002
A-4-7	7.000	.018	A-11-17	2.000	.000	B-7-8	5.000	.041
A-4-8	49.000	.000	A-11-18	3.000	.089	B-7-9	.000	.000
A-4-9	54.000	.000	A-12-13	.000	.000	B-7-10	11.000	.005
A-4-10	37.000	.000	A-12-14	3.000	.093	B-7-11	12.000	.004
A-4-11	34.000	.000	A-12-15	1.000	.000	B-7-12	10.000	.007
A-4-12	23.000	.000	A-12-16	.000	.000	B-7-13	15.000	.002
A-4-13	37.000	.000	A-12-17	1.000	.000	B-8-9	.000	.000
A-4-14	51.000	.000	A-12-18	4.000	.062	B-8-10	.000	.000
A-4-15	36.000	.000	A-13-14	4.000	.062	B-8-11	.055	.000
A-4-16	35.000	.000	A-13-15	2.000	.000	B-8-12	.000	.000
A-4-17	71.000	.000	A-13-16	.000	.000	B-8-13	5.000	.040
A-4-18	30.000	.000	A-13-17	2.000	.000	B-9-10	1.000	.000
A-5-6	5.000	.040	A-13-18	8.000	.013	B-9-11	.096	.000
A-5-7	7.000	.019	A-14-15	13.000	.004	B-9-12	.000	.000
A-5-8	22.000	.001	A-14-16	1.000	.000	B-9-13	4.000	.066
A-5-9	30.000	.000	A-14-17	.000	.000	B-10-11	1.000	.000
A-5-10	30.000	.000	A-14-18	.000	.000	B-10-12	.021	.000
A-5-11	27.000	.000	A-15-16	.001	.000	B-10-13	.000	.000
A-5-12	21.000	.001	A-15-17	1.000	.000	B-11-12	1.000	.000
A-5-13	34.000	.000	A-15-18	3.000	.000	B-11-13	12.000	.005
A-5-14	36.000	.000	A-16-17	1.000	.000	B-12-13	7.000	.018
A-5-15	31.000	.000	A-16-18	2.000	.000			
A-5-16	29.008	.000	A-17-18	.000	.000			
A-5-17	34.000	.000	B-1-2	15.000	.003			
A-5-18	34.000	.000	B-1-3	1.000	.000			
A-6-7	4.000	.059	B-1-4	1.000	.000			
A-6-8	23.000	.001	B-1-5	4.000	.055			
A-6-9	23.000	.000	B-1-6	5.000	.042			
A-6-10	24.000	.000	B-1-7	8.000	.016			
A-1-2	20.000	.001	A-6-12	30.000	.000			

(انتهای قسمت بالایی باله دمی تا انتهای قسمت پایینی ساقه دمی)، B-4-5 (فاصله عرضی بین ابتدای پایه باله سینه‌ای دو طرف بدن)، و B-9-12 (انتهای پایه باله شکمی تا مخرج). تست Wilks' Lambda نشان داد که دو جنس نر و ماده بر اساس این آنالیز با یکدیگر در سطح بسیار معنی‌داری متفاوت بودند ($P \leq 0.01$).

اعتبارسنجی Cross a. تنها برای آن صفات در تجزیه و تحلیل انجام می‌شود. در Cross-validated^b، هر مورد بر اساس توابع مشتق شده از همه موارد غیر از این مورد طبقه‌بندی می‌شود. b. ۱۰۰٪ موارد جمعیت original به درستی طبقه‌بندی شده‌اند. c. ۱۰۰٪ موارد جمعیت Cross-validated به درستی طبقه‌بندی شده‌اند.

نتایج آنالیز تابع متمایزکننده (DFA) در مورد صفات ریخت‌سنجی نشان داد که ۱۰۰ درصد ماهیان نر و ماده خصوصیات خود را نشان دادند. بر اساس نتایج این آزمون، به طور میانگین به میزان ۱۰۰ درصد گروه‌بندی جمعیت‌ها به صورت دقیق انجام گرفت که بیانگر جدایی جمعیت‌ها بر اساس این آزمون است (جدول ۲).

مهمترین صفات در این آنالیز (جدول ۱) عبارتند از A-4-7 (قسمت انتهایی بریدگی دهان تا ابتدای باله سینه‌ای)، A-4-18 (قسمت انتهایی بریدگی دهان تا قسمت انتهایی باله دمی)، A-5-6 (فاصله بین قسمت بالایی و پایینی سرپوش آبششی)، A-8-15 (ابتدای باله پستی تا انتهای قسمت پایینی ساقه دمی)، A-14-15

جدول ۲. گروه‌بندی افراد بر اساس نتایج آزمون تابع متمایزکننده در مورد صفات ریخت‌سنجی در دو جنس نر و ماده فیل ماهی (*Huso huso*)

	Sex	Predicted Group Membership		Total
		1.00	2.00	
Original	Count	1.00	5	5
		2.00	0	8
	%	1.00	100.0	100.0
		2.00	.0	100.0
Cross-validated ^b	Count	1.00	5	5
		2.00	0	8
	%	1.00	100.0	100.0
		2.00	.0	100.0

جدول ۳. مقادیر فاکتور متمایز کننده (DF) در فیل ماهی (*Huso huso*)

DF	صفات (متغیر) مورد بررسی	DF	صفات (متغیر) مورد بررسی	DF	صفات (متغیر) مورد بررسی
.000	B-1-9	.000	A-6-12	.000	A-1-2
.009	B-1-10	.000	A-6-13	.000	A-1-3
-.048	B-1-11	.000	A-6-14	.000	A-1-4
-.047	B-1-12	.000	A-6-15	.000	A-1-5
.017	B-1-13	.000	A-6-16	.000	A-1-6
.076	B-2-3	.000	A-6-17	.000	A-1-7
-.040	B-2-4	-.038	A-6-18	-.036	A-1-8
.000	B-2-5	.000	A-7-8	.000	A-1-9
-.003	B-2-6	.000	A-7-9	-.075	A-1-10
-.014	B-2-7	.000	A-7-10	-.084	A-1-11
-.079	B-2-8	.000	A-7-11	-.071	A-1-12
.000	B-2-9	.000	A-7-12	-.046	A-1-13
-.028	B-2-10	.000	A-7-13	-.046	A-1-14
-.088	B-2-11	.000	A-7-14	-.023	A-1-15
-.083	B-2-12	.000	A-7-15	-.075	A-1-16
-.006	B-2-13	.000	A-7-16	.000	A-1-17
.034	B-3-4	.000	A-7-17	.047	A-1-18
-.075	B-3-5	-.033	A-7-18	.000	A-2-3
-.099	B-3-6	.097	A-8-9	.000	A-2-4
.000	B-3-7	.000	A-8-10	.097	A-2-5
.000	B-3-8	-.095	A-8-11	.028	A-2-6
.000	B-3-9	-.084	A-8-12	-.013	A-2-7
.000	B-3-10	.003	A-8-13	.000	A-2-8
.000	B-3-11	-.082	A-8-14	.000	A-2-9
.000	B-3-12	-.004	A-8-15	.000	A-2-10
-.098	B-3-13	.000	A-8-16	.000	A-2-11

ادامه جدول ۳. مقادیر فاکتور متمایزکننده (DF) در فیل ماهی (*Huso huso*)

DF	صفات (متغیر) مورد بررسی	DF	صفات (متغیر) مورد بررسی	DF	صفات (متغیر) مورد بررسی
-.025	B-4-5	.000	A-8-17	.000	A-2-12
.000	B-4-6	.032	A-8-18	.000	A-2-13
-.095	B-4-7	.030	A-9-10	.000	A-2-14
.000	B-4-8	.000	A-9-11	.000	A-2-15
.000	B-4-9	.023	A-9-12	.000	A-2-16
.000	B-4-10	.000	A-9-13	.000	A-2-17
.000	B-4-11	.090	A-9-14	-.022	A-2-18
.000	B-4-12	.000	A-9-15	.000	A-3-4
-.090	B-4-13	.029	A-9-16	.000	A-3-5
-.063	B-5-6	-.008	A-9-17	.000	A-3-6
.000	B-5-7	.000	A-9-18	.072	A-3-7
.000	B-5-8	.036	A-10-11	.000	A-3-8
.000	B-5-9	.025	A-10-12	.000	A-3-9
.000	B-5-10	.000	A-10-13	.000	A-3-10
.000	B-5-11	.000	A-10-14	.000	A-3-11
.000	B-5-12	.000	A-10-15	.000	A-3-12
-.089	B-5-13	-.008	A-10-16	.000	A-3-13
.032	B-6-7	.000	A-10-17	.000	A-3-14
.000	B-6-8	.000	A-10-18	-.080	A-3-15
.000	B-6-9	.073	A-11-12	.000	A-3-16
.000	B-6-10	.000	A-11-13	.000	A-3-17
.000	B-6-11	.000	A-11-14	-.005	A-3-18
.000	B-6-12	.000	A-11-15	.062	A-4-5
-.066	B-6-13	.002	A-11-16	.065	A-4-6
-.056	B-7-8	-.005	A-11-17	.009	A-4-7
.000	B-7-9	.000	A-11-18	.000	A-4-8
-.009	B-7-10	.092	A-12-13	.000	A-4-9
-.094	B-7-11	.061	A-12-14	.000	A-4-10
-.076	B-7-12	.000	A-12-15	.000	A-4-11
.014	B-7-13	-.048	A-12-16	.000	A-4-12
.000	B-8-9	.002	A-12-17	.000	A-4-13
.000	B-8-10	.000	A-12-18	.000	A-4-14
.000	B-8-11	.046	A-13-14	-.086	A-4-15
.000	B-8-12	.000	A-13-15	.000	A-4-16
.009	B-8-13	.000	A-13-16	.000	A-4-17
-.068	B-9-10	-.070	A-13-17	-.003	A-4-18
-.035	B-9-11	.000	A-13-18	-.036	A-5-6
-.002	B-9-12	-.013	A-14-15	.070	A-5-7
.080	B-9-13	.000	A-14-16	.000	A-5-8
-.094	B-10-11	.000	A-14-17	.000	A-5-9
-.068	B-10-12	.000	A-14-18	.000	A-5-10
.050	B-10-13	.000	A-15-16	.000	A-5-11
.010	B-11-12	-.078	A-15-17	.000	A-5-12
.000	B-11-13	.055	A-15-18	.000	A-5-13
.000	B-12-13	.000	A-16-17	.000	A-5-14
		.000	A-16-18	.000	A-5-15
		.000	A-17-18	.000	A-5-16
		.000	B-1-2	.000	A-5-17
		.000	B-1-3	-.068	A-5-18
		.000	B-1-4	.000	A-6-7
		.000	B-1-5	.000	A-6-8
		.000	B-1-6	.000	A-6-9
		.000	B-1-7	.000	A-6-10

*** مواردی که در آزمون شرکت کرده‌اند.

جدول ۴. نتایج تست Wilks' Lambda به منظور بیان وجود اختلاف میان جنس‌های نر و ماده زمانی که صفات ریخت‌سنجی جداگانه با استفاده از

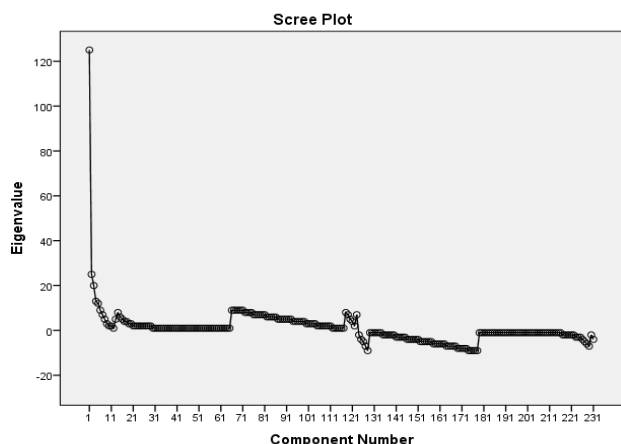
فاکتور متمایز کننده مقایسه می‌شوند.

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1	.002	46.000	7	.000

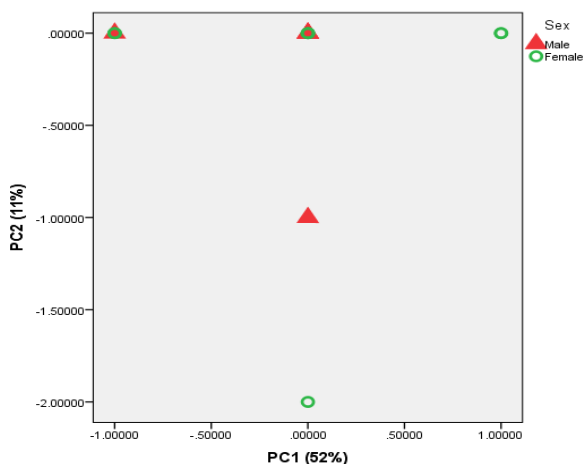
ماهی خاویاری تا حدودی همپوشانی دارند و جمعیت‌ها به طور کامل از یکدیگر قابل تفکیک نمی‌باشند (شکل ۳).

فاکتورهای اول و دوم (PC1 و PC2) مهمترین نقش را در تغییرات داده‌ها ایجاد کرده‌اند. در روش تجزیه به مولفه‌های اصلی در مورد صفات ریخت‌سنجی، در فاکتور اول صفات (صفات مشخص شده به رنگ زرد در ستون ۱ جدول ۶) و در فاکتور دوم صفات سبز رنگ 1-6, 1-7, 2-5, 2-6, 2-7, 3-5, 3-6, 3-7, 4-5, 4-6, 4-7) A و B (2-6, 2-8, 3-8, 3-9, 6-9, 10-13) دارای بیشترین تاثیر بودند.

رسم دندروگرام UPGMA صفات ریخت‌سنجی بر اساس میانگین پیوستگی نشان داد که افراد جنس‌های نر و ماده فیل ماهی تا حدود بسیار کمی از یکدیگر متمایز شدند (شکل ۴).



شکل ۲. Scree plot آنالیز PCA در مورد صفات ریخت‌سنجی در جنس‌های مختلف فیل ماهی (*Huso huso*)



شکل ۳. پراکنش افراد بر اساس روابط عامل‌های استخراجی اول و دوم در مورد صفات ریخت‌سنجی در جنس‌های مختلف فیل ماهی (*Huso huso*)

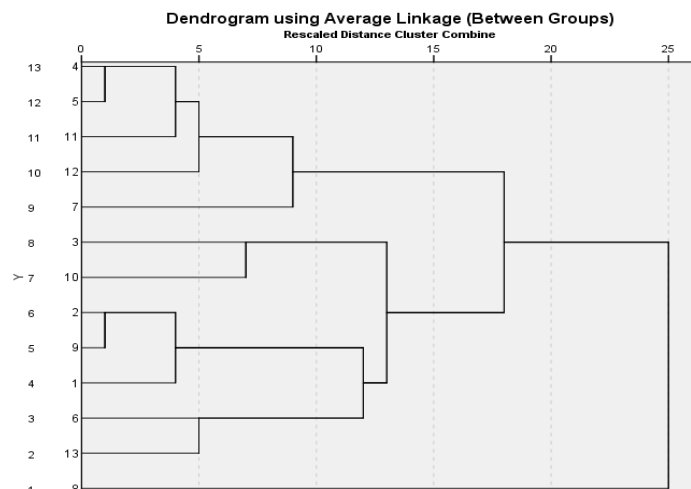
با استفاده از روش تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA)، از ترکیب خطی ۲۱۳ صفت ریخت‌سنجی فاکتورهایی به وجود آمد که ویژگی‌های خاصی از صفات را نشان می‌دهد. هر چه میزان واریانس یک عامل بیشتر باشد، ضریب شرکت آن عامل در تفکیک جمعیت‌ها بیشتر خواهد بود. با تجزیه و تحلیل عاملی برای صفات ریخت‌سنجی، تعداد ۱۲ فاکتور با مقادیر ویژه^۱ بزرگتر از ۱ انتخاب شدند که ۶۵ درصد تنوع صفات ریخت‌سنجی را شامل می‌شوند (جدول ۵).

جدول ۵. مقادیر ویژه، درصد واریانس و عوامل استخراجی صفات ریخت‌سنجی جنس‌های مختلف ماهی خاویاری

فاکتور	مقدار ویژه	درصد واریانس	درصد تجمعی واریانس
۱	125.000	54.000	54.000
۲	25.000	10.000	65.000
۳	20.000	8.000	74.000
۴	13.000	6.003	80.000
۵	12.000	5.000	85.000
۶	9.000	4.000	89.000
۷	7.000	3.000	92.000
۸	5.000	2.000	95.000
۹	3.000	1.000	96.000
۱۰	2.000	1.000	98.000
۱۱	2.000	.000	99.000
۱۲	1.000	.000	100.000

Scree test یک روش برای کاهش تعداد فاکتورها با استفاده از مقادیر ویژه‌ای که بالاتر از یک واحد مشخص هستند، می‌باشد (Cattell, 1966). در این تست مقادیر ویژه در مقابل فاکتورهایی که در طول محور X به صورت نزولی مرتب شده‌اند، رسم می‌شوند. تعداد فاکتورها با تعداد نقاط مولفه در نقطه‌ای که شیب تغییر می‌کند برابر است و با توجه به آن، تعداد فاکتورهای مفید استخراج شده محاسبه می‌شود. این روش تا حدی یک روش تقریبی است. استفاده از این روش برای این داده‌ها نتیجه گرفته می‌شود که تعداد ۱۲ فاکتور می‌تواند قابل قبول باشد (شکل ۲).

پراکنش افراد بر اساس روابط عامل‌های استخراجی اول و دوم در مورد صفات ریخت‌سنجی نشان داد که نمونه‌های جنس‌های مختلف



شکل ۴. دندروگرام UPGMA برای صفات ریخت‌سنجی بر اساس میانگین پیوستگی در مورد جنس‌های نر و ماده فیل ماهی (*Huso huso*). (افراد ۵-۱ نر و افراد ۱۳-۶ ماده هستند).

جدول ۶. فاکتورهای اول و دوم صفات ریخت‌سنجی در فیل ماهی (*Huso huso*)

	1	2		1	2
A-1-2			A-3-13	.000	
A-1-3			A-3-14	.000	
A-1-4			A-3-15	.000	
A-1-5			A-3-16	.000	
A-1-6		.000	A-3-17	.000	
A-1-7		.000	A-3-18	.000	
A-1-8	.000		A-4-5		.000
A-1-9	.000		A-4-6		.000
A-1-10	.000		A-4-7		.000
A-1-11	.000		A-4-8	.000	
A-1-12	.000		A-4-9	.000	
A-1-13	.000		A-4-10	.000	
A-1-14	.000		A-4-11	.000	
A-1-15	.000		A-4-12	.000	
A-1-16	.000		A-4-13	.000	
A-1-17	.000		A-4-14	.000	
A-1-18	.000		A-4-15	.000	
A-2-3			A-4-16	.000	
A-2-4			A-4-17	.000	
A-2-5		.000	A-4-18	.000	
A-2-6		.000	A-5-6		
A-2-7		.000	A-5-7		
A-2-8	.000		A-5-8	.000	
A-2-9	.000		A-5-9	.000	
A-2-10	.000		A-5-10	.000	
A-2-11	.000		A-5-11	.000	
A-2-12	.000		A-5-12	.000	
A-2-13	.000		A-5-13	.000	
A-2-14	.000		A-5-14	.000	
A-2-15	.000		A-5-15	.000	
A-2-16	.000		A-5-16	.000	
A-2-17	.000		A-5-17	.000	
A-2-18	.000		A-5-18	.000	
A-3-4			A-6-7		
A-3-5		.000	A-6-8	.000	
A-3-6		.000	A-6-9	.000	
A-3-7		.000	A-6-10	.000	
A-3-8	.000		A-6-12	.000	
A-3-9	.000		A-6-13	.000	
A-3-10	.000		A-6-14	.000	
A-3-11	.000		A-6-15	.000	
A-3-12	.000		A-6-16	.000	

ادامه جدول ۶. فاکتورهای اول و دوم صفات ریخت‌سنجی در فیل ماهی (*Huso huso*)

	1	2		1	2
A-6-17	.000		B-1-7		
A-6-18	.000		B-1-9		
A-7-8	.000		B-1-10	.000	
A-7-9	.000		B-1-11	.000	
A-7-10	.000		B-1-12	.000	
A-7-11	.000		B-1-13	.000	
A-7-12	.000		B-2-3	.000	
A-7-13	.000		B-2-4	.000	
A-7-14	.000		B-2-5		
A-7-15	.000		B-2-6		.000
A-7-16	.000		B-2-7		
A-7-17	.000		B-2-8		.000
A-7-18	.000		B-2-9		
A-8-9	.000		B-2-10	.000	
A-8-10			B-2-11		
A-8-11			B-2-12	.000	
A-8-12			B-2-13	.000	
A-8-13			B-3-4	.000	
A-8-14			B-3-5	.000	
A-8-15			B-3-6		
A-8-16			B-3-7		
A-8-17			B-3-8		.000
A-8-18			B-3-9		.000
A-9-10			B-3-10	.000	
A-9-11	.000		B-3-11		
A-9-12	.000		B-3-12	.000	
A-9-13	.000		B-3-13	.000	
A-9-14	.000		B-4-5	.000	
A-9-15	.000		B-4-6	.000	
A-9-16	.000		B-4-7		
A-9-17	.000		B-4-8		
A-9-18			B-4-9		
A- 10-11	.000		B-4-10	.000	
A-10-12			B-4-11		
A- 10-13			B-4-12	.000	
A-10-14			B-4-13	.000	
A- 10-15			B-5-6	.000	
A-10-16			B-5-7	.000	
A- 10-17			B-5-8		
A-10-18			B-5-9		
A-11-12			B-5-10	.000	
A-11-13			B-5-11		
A-11-14			B-5-12	.000	
A-11-15			B-5-13	.000	
A-11-16			B-6-7	.000	
A-11-17			B-6-8	.000	
A-11-18			B-6-9		.000
A-12-13			B-6-10	.000	
A-12-14			B-6-11		
A-12-15			B-6-12	.000	
A-12-16			B-6-13	.000	
A-12-17			B-7-8	.000	
A-12-18			B-7-9	.000	
A-13-14			B-7-10	.000	
A-13-15			B-7-11		
A-13-16			B-7-12	.000	
A-13-17			B-7-13	.000	
A-13-18			B-8-9	.000	
A-14-15			B-8-10	.000	
A-14-16			B-8-11		
A-14-17			B-8-12		
A-14-18			B-8-13		
A-15-16			B-9-10		
A-15-17			B-9-11		
A-15-18			B-9-12		
A-16-17			B-9-13		
A-16-18			B- 10-11		
A-17-18			B-10-12		
B-1-2			B- 10-13		.000
B-1-3			B-11-12		
B-1-4			B-11-13		
B-1-5			B-12-13		
B-1-6			B-1-9	.000	
			B-1-10	.000	

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه ویژگی‌های ریخت‌شناسی، چه ریخت‌سنجی و چه شمارشی و با هدف تعریف و شناسایی واحدهای جمعیتی، از پیشینه‌ای طولانی در دانش زیست‌شناسی ماهی برخوردار است. اطلاعات ریخت‌سنجی و شمارشی بر سطوح متفاوت اثر متقابل بین زیست‌شناسی گونه و محیط اطرافش دلالت می‌کند (Tudela, 1999).

نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌طرفه درباره ویژگی‌های ریخت‌سنجی اصلاح‌شده نشان داد که ۲۱۵ صفت از ۲۳۱ صفت ریخت‌سنجی بین نمونه‌ها دارای تفاوت معنی‌دار بودند (جدول ۱) که نشانگر وجود تنوع بالای فنوتیپی بین فیل‌ماهیان مورد مطالعه بود. در بیشتر مطالعات ریخت‌سنجی، فاکتور اندازه بدن ممکن است به میزان ۸۰ درصد و یا بیشتر در وجود تغییرات بین متغیرهای اندازه‌گیری شده تأثیرگذار باشد (Tzeng, 2004).

از آنجا که آزمون واریانس یک‌طرفه درباره ویژگی‌های ریخت‌سنجی بر اساس طول اصلاح شده، لذا هر گونه اختلاف معنی‌داری نشان‌دهنده اختلاف در شکل بدن است نه در اندازه آنها، زیرا با استاندارد کردن داده اثر اندازه کاهش می‌یابد. (Mamuris et al., 1998).

همپوشانی قابل ملاحظه‌ای در ۱۶ صفت از ۲۳۱ صفت ریخت‌سنجی (جدول ۱) مشاهده می‌شود.

آنالیز تابع متمایزکننده (DFA) می‌تواند یک ابزار موثر در تشخیص ذخایر مختلف از یک گونه در برنامه‌های مدیریتی مدنظر باشد بخصوص زمانی که صفات شمارشی نیز مورد بررسی قرار گیرند (Karakousiset al., 1991). طبقه‌بندی جنس‌ها بر اساس آنالیز تابع متمایزکننده در مورد صفات ریخت‌سنجی منجر به ۱۰۰ درصد گروه‌بندی صحیح گردید و افراد هر جنس در گروه‌های خود قرار گرفتند.

رسم دندروگرام UPGMA بر اساس ضریب مربع فاصله اقلیدسی در مورد صفات ریخت‌سنجی و شمارشی نیز مانند نتایج آنالیزهای تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) و تابع متمایزکننده نشان داد که جنسیت‌های فیل‌ماهی مورد مطالعه از یکدیگر متمایز هستند.

نتایج آنالیز تابع متمایزکننده در مورد صفات ریخت‌سنجی نشان داد که ۱۰۰ درصد ماهیان نر و ماده خصوصیات خود را نشان دادند. به طور کل بر اساس نتایج این آزمون به طور میانگین به میزان ۱۰۰ درصد گروه‌بندی جنس‌ها به صورت دقیق انجام گرفت که دلالت بر جدایی جنس‌ها بر اساس این آزمون دارد (جدول ۲).

رسم دندروگرام UPGMA صفات ریخت‌سنجی بر اساس میانگین پیوستگی نشان داد که افراد فیل‌ماهی بررسی شده بر اساس جنس تا حدودی بسیار کمی از یکدیگر متمایز شدند. *Ihssen et al.* (1981) ثابت کرده‌اند که تعداد ویژگی‌های شمارشی در اثر بر همکنش پیچیده‌ای بین فاکتورهای محیطی، ژنتیکی و فیزیولوژیکی شکل می‌گیرد. همچنین *Tudela* (1999) به این نکته اشاره می‌کند که تعداد نهایی ویژگی‌های شمارشی در ماهیان به شرایط محیطی غالب در خلال مرحله بحرانی تکامل افراد بستگی دارد. *Turan et al.* (2004) یکی از دلایل به وجود آمدن اختلافات ریختی ماهیان را در متفاوت بودن بسترهای تخم‌ریزی و در نتیجه جدا بودن منشأ آنها دانسته‌اند. *Cetkovic* & *Stamenkovic* (1996) نیز در بررسی تفاوت‌های ریخت‌شناسی ماهی سوف در رودخانه دانوب را در این منطقه تشخیص دادند و بیان کردند که این اختلاف نه در نتیجه مناطق جغرافیایی جدا از هم، بلکه به دلیل تفاوت در منشأ تولید مثلی آنها است. *Ledoré* (2021) در بررسی روی تفکیک جنسیت سوف اوراسیا (*Perca fluviatilis*) با روش اولتراسونوگرافی توانستند نرها و ماده‌های نابالغ را با دقت ۹۸٪ از هم تفکیک نمایند.

توضیح علل به وجود آمدن تفاوت‌های ریختی میان جمعیت‌ها بسیار دشوار است. به طور کل ویژگی‌های ریختی تحت کنترل و در همکنش دو عامل شرایط محیطی و ژنتیک می‌باشند (Swain & Foote, 1999; Poulet et al., 2004; Pinheiro et al., 2005; Salini et al., 2004). ویژگی‌های محیطی در خلال دوران اولیه تکامل ماهی غالب هستند و افراد نسبت به شرایط محیطی حساسیت بیشتری دارند. معمولاً ماهیانی که در دوران اولیه زندگی دارای شرایط محیطی مشابهی هستند از لحاظ ریختی وضعیت مشابهی دارند (Pinheiro et al., 2005). از سوی دیگر، هنگامی که ماهی در اوضاع محیطی جدیدی قرار گیرد، این امکان وجود دارد که تغییرات ریخت‌سنجی سریعاً در آن رخ دهد (Poulet et al., 2004). بنابراین با توجه به اینکه صفات ریخت‌سنجی بیشتر تحت تأثیر شرایط بوم‌شناختی هستند، بصورت بارزتری تفاوت‌های زیستگاهی و اختلاف فنوتیپی در سطح جمعیت را نشان می‌دهند (Jerri et al., 1998).

تغییرات ریخت‌شناسی در پاسخ به شرایط محیطی نسبت به تغییرات ژنتیکی و به صورت چند ژنی کنترل می‌شوند و در پاسخ به روابط صفتی بین ژن‌ها بوجود می‌آیند که افزایش بقاء افراد را

به تغییرات ناشی از محیط حساسیت بیشتری دارند. بنابراین اثرات بعضی از فاکتورهای محیطی نظیر درجه حرارت، شوری، دسترسی به غذا و یا فاصله مهاجرت می‌توانند به طور بالقوه تفکیک ریختی ماهیان را تعیین کنند (Smith, 1966; Lindsey, 1998; Turan, 2000; Turan et al., 2004, 2006).

در گذشته تصور می‌شد که تغییرات ریختی صرفاً ژنتیکی است، اما امروزه مشخص شده است که منشأ این تغییرات هم محیطی و هم ژنتیکی است (اکبرزاده و همکاران، ۱۳۸۶). پژوهش‌های اخیر مشخص کرده است که اختلافات ریخت‌شناسی بین گروه‌های مختلف ماهیان الزاماً آنها را از لحاظ ژنتیکی جدا نمی‌کنند و در عوض در پاره‌ای از موارد تفاوت‌های ریخت‌شناسی صرفاً ناشی از محیط هستند و اختلافات ژنتیکی هیچ نقشی در آن ندارند (Swain & Foote, 1999). بدین ترتیب، نقش محیط به عنوان عامل اصلی تغییرات ریختی به اثبات رسیده است (Tudela, 1999؛ اکبرزاده و همکاران، ۱۳۸۶).

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده در این بررسی نشان می‌دهد که جمعیت فیل ماهیان در بیشتر شاخص‌های پویایی جمعیت و ریخت‌شناسی از یکدیگر متمایز بودند هرچند که در بعضی صفات دارای شباهت‌هایی بودند. در آنالیزهای واریانس و تابع متمایزکننده، جنس‌های مورد مطالعه از هم قابل تفکیک بودند ولی در رسم دندروگرام جنس‌های مورد مطالعه به سختی از هم قابل تفکیک بودند. صفات دو جنس نر و ماده کاملاً از هم متمایز بودند اما نتوانستند سبب تفکیک جمعیت نرها و ماده‌ها شوند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی توسط نویسندگان وجود ندارد.

سبب می‌گردد که اصطلاحاً سازگاری نامیده می‌شود. ریخت‌شناسی معمولاً در پاسخ به شرایط زیستگاهی قابل تغییر هستند و اطلاعات مفیدی را در بررسی زیست‌شناختی گونه‌ها فراهم می‌نمایند. در اکثر موارد تغییرات ریخت‌شناسی به عنوان ریخت‌شناسی جمعیتی در نظر گرفته می‌شود زیرا نمونه‌هایی که در شرایط مختلف محیطی و ژنتیکی رشد و نمو دارند، انتظار می‌رود که فوتوتیپ‌های متنوعی را در سطح جمعیت از خود بروز دهند (Karakousis et al., 1991).

لازم به ذکر است که وجود تغییرات ریخت‌سنجی و شمارشی الزاماً منجر به تغییرات پارامترهای زیست‌شناختی نظیر رشد و هم‌آوری نمی‌گردد. وجود ساختارهای ریخت‌شناسی متفاوت، اطلاعات مختلفی را از اثر متقابل بین عوامل محیطی و وضعیت ریختی ماهیان فراهم می‌کند. با توجه به اینکه از مطالعات ریخت‌شناسی برای شناسایی واحدهای جمعیتی یک ماهی استفاده می‌شود، دیدگاه تاکسونومیک که واحدهای جمعیتی یک منطقه جغرافیایی را در زمان ثابتی بررسی می‌کند (مفهوم قدیمی "نژاد یا Race")، باید به این دیدگاه تبدیل شود که وضعیت ریختی ماهی با محیط اطراف آن مرتبط است. این امر باید نتایج مطالعات ریخت‌شناسی را به صورت انعکاسی از برهمکنش بین جنبه‌های زیست‌شناسی یک گونه (نظیر پویایی رفتارهای تجمعی و مهاجرتی) و جنبه‌های بوم‌شناختی و محیطی تفسیر کند. در واقع انجام چنین مطالعاتی نه تنها بی‌حاصل نیست، بلکه با استفاده از این اطلاعات ابزار ارزشمندی فراهم می‌شود تا بتوان اطلاعات غیر مستقیمی از جنبه‌های زیست‌شناسی ماهی و ارتباط آن با محیط را به دست آورد (Tudela, 1999).

به طور کلی، ویژگی‌های ریخت‌شناسی ماهیان در مقایسه با سایر مهره‌داران بیشتر دچار تغییرات درون و بین گونه‌ای می‌شوند و نسبت

منابع

انزلی با استفاده از سیستم Truss. نشریه دانشکده منابع طبیعی، دوره ۶۰، شماره ۱، ص. ۱۳۹-۱۲۷.
انوری فر، ح.، ۱۳۸۹. بررسی تنوع ژنتیکی و ریخت‌شناسی سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در رودخانه تجن ساری و اثر سد شهید رجایی بر روی آن. پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه شیلات و محیط زیست، دانشگاه تهران، ۱۰۵ ص.

ابراهیمی، م.ح. و شعبانی، ع. و سلطانلو، ح. و شعبان پور، ب. (۱۳۹۱). بررسی امکان شناسایی نشانگر جنسی در ماهی خاویاری ایرانی *A. persicus* با استفاده از روش AFLP. ژنتیک نوین، دوره ۷(۳)، پاییز ۱۳۹۱، ۲۸۵-۲۹۲.
اکبرزاده، آ.، کرمی، م.، نظامی، ش.، ایگدری، س.، بختیاری، م. و خارا، ح.، ۱۳۸۶. بررسی ساختار جمعیتی ماهی سوف (*Sander lucioperca*) در آبهای ایرانی دریای خزر و تالاب

یارمحمدی، م. و پورکاظمی، م. و قاسمی، ا. و حسن زاده صابر، م. و نوروز فشخامی، م.ا. و برادران نویری، ش. (۱۳۹۰). بررسی تعیین مارکر جنسیت در تاسماهی ایرانی با استفاده از نشانگر مولکولی AFLP. رشت، انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، بخش ژنتیک. بوشهر، دانشگاه خلیج فارس، مرکز تحقیقات و مطالعات خلیج فارس. مجله زیست‌شناسی ایران، (۶)، ۲۴، ۱۳۹۰.

References

- Abdolhay H.A., Daud S.K., Pourkazemi M., Siraj S.S., Rezvani S., Mostafa, K.A.S., & Hosseinzadeh S.H., (2010). Morphometrics studies of Mahisefid (*Rutilus frisii kutum*, Kamensky, 1901) from selected rivers in the southern Caspian Sea. Iranian Fisheries Scientific Journal, 9, 1-18.
- Abdoli, A., Rasooli, P., & Mostafavi, H. (2008). Length-weight relationships of *Capoeta capoeta capoeta* (Gueldenstaedt, 1772) in the Gorganrud River, south Caspian Basin. Journal Applied. Ichthyology, 24: 96-98.
- Akbarzadeh A., Farahmand, H., Shabani, A. A., Karami, M., Kaboli, M., Abbasi, K., & Rafiee, G. R. (2009). Morphological variation of the pikeperch *Sander lucioperca* (L.) in the southern Caspian Sea using a truss system. J. Appl. Ichthyol, 25, 576-582.
- Bianco, P.G., & Banarescu, P. (1982). A contribution to the knowledge of the Cyprinidae of Iran (Pisces, Cypriniformes). Cybium, 6, 75-96.
- Bryan, J. L., Wildhaber, M. L., & Noltie, D. B. (2005). Examining *Neosho madtom* reproductive biology using ultrasound and artificial photothermal cycles. North American Journal of Aquaculture 67, 221-230.
- Cahu C., Infante J.Z. and Takeuchi T., 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. Aquaculture, 227, 245-258.
- Cetkovic, J.K., & Stamenkovic, S. (1996). Morphological differentiation of the pikeperch *Stizostedion lucioperca* (L.) populations from the Yugoslav part of the Danube. Finnish Zoological and Botanical publishing Board, 711-723.
- Ledoré, Y., Bestin A., Haffray, P., Morvezen, R., Alix, M.; Schaerlinger, B., Fontaine, P., & Chardard, D. (2021). Sex identification in immature Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) using ultrasonography. Aquaculture Research, 52(12), 6046-6051.
- Clayton, J.W. (1981). The stock concept and the uncoupling of organismal and molecular evolution. Canadian Journal Fish. Aquatic Science, 1515-1522.
- Colombo, R., Wills, P., & Garvey, J. (2004). Using Ultrasound Imaging to Determinse Sex of Shovelnose Sturgeon. Published in North American Jurnal of Fisheries Management, Vol. 24, Issues 1 (February 2004) at doi:10.1577-016.
- Evans, A. F., Fitzpatrick, M. S., & Siddens, L. K. (2004). Use of Ultrasound Imaging and Steroid Concentrations to Identify Maturational Status in Adult Steelhead, North American Journal of Fisheries Management, 24, 967-978.
- حلاجیان، ع.، کاظمی، ر.ا.، جوردهی، ا.ی.، و پوردهقان، م. (۱۳۹۳). انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر. (۱)، ۸، بهار ۹۳، ۱۹-۲۸.
- خارا، ح.، کیوان، ا.، وثوقی، غ.، ح.، پور کاظمی، م.، رضوانی، س.، نظامی، ش.ع.، رامین، م.، سرپناه، ع.ن. و قناعت پرست، ا. ۱۳۸۵. بررسی مقایسه‌ای ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی ماهی سیم دریای خزر و تالاب انزلی. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۷۳، ۱۸۷-۱۷۷.
- فلاحکار، ب. و شاهواری، ح. (۱۳۹۳). استفاده از اتوسکوپ در تعیین جنسیت ماهیان خاویاری پرورشی. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، (۱)، ۶۷، بهار ۱۳۹۲، ۸۷-۹۴.
- فلاحکار، ب. و پورسید، س. (۲۰۱۳). فیل ماهی را با استفاده از مرفولوژی، استروئیدهای جنسی، هیستولوژی و آندوسکوپی تعیین جنسیت نمودند.
- فلاحکار، ب. و اخوان، س.ر. و طلوعی گیلانی، م.ح. و عباس عزیزاده، ا. (۲۰۱۳). تعیین جنسیت فیل ماهی با استفاده از روش بیوپسی. مجله پژوهشی دامپزشکی ایران، دانشگاه شیراز، ۲۰۱۳. (۲)، ۱۴، ۱۳۳-۱۳۹.
- فکراندیش، ح. و موسوی ثابت، ح. (۱۴۰۱). مطالعه تنوع خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شماری بر ساختار جمعیت ماهی خار و باله سفید (*Chirocentrus Swinson, 1839 nudus*) در سواحل خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران، سال ۳۱، زمستان ۱۴۰۱، ۸۰-۶۹.
- عباسی، ک.، کیوان، ا. و احمدی، م.ر. (۱۳۸۳). بررسی مورفومتریک، مریستیک ماهی سیاه کولی خزری *Vimba vimba persica* کوچگر به سفید رود. مجله علمی شیلات ایران، سال سیزدهم، ش ۱، بهار ۱۳۸۳، ۶۱-۷۶.
- کمال، ش.، بختیاری، م.، کرمی، م.، عبدلی، ا.، ایگدری، س.، ۱۳۸۹. بررسی و مقایسه ویژگی‌های مورفومتریک و مریستیک ماهی گورخری (*Aphanius sophiae*) چشمه علی دامغان و رودخانه شور اشتهارد. مجله علمی شیلات ایران، سال نوزدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۹، ۱۲۰-۱۱۱.
- ماهیان آب شیرین. تالیف: غلامحسین وثوقی، بهزاد مستجیر. جلد چهارم. انتشارات تهران. (۱۳۷۹).
- هدایتی‌فر، ع.ا. یاری، و.، موحدی نیا، ع.ا. پاشازانوسی، ح. (۱۳۹۱). بررسی امکان تعیین جنسیت و مراحل رشد گنادی ماهیان خاویاری با استفاده از شاخصهای خونی و مورفومتریک. مجله علوم و فنون دریایی، دوره ۱۰، شماره ۱، بهار ۱۳۹۰.

- Falahatkar, B., Akhavan, S. R., Tolouei Gilani, M. H., & Abbasalizadeh. (2013). Sex identification and sexual maturity stages in farmed great sturgeon, *Huso huso* L. through biopsy, Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 14(2), 133-139.
- Hochleithner, M., & Gessner, J. (2001). The Sturgeons and Paddlefishes (Acipenseriformes) of the world: Biology and Aquaculture—Aqua Tech Publications, Kitzbuehel: 207.
- Kynard, B., & Kieffer, M. (2002). Use of a borescope to determine the sex and egg maturity stage of sturgeons and the effect of borescope use on reproductive structures. J. Appl. Ichthyol., 18(4-6), 505-508.
- Turan, C. (1999). A Note on the Examination of Morphometric Differentiation among Fish Populations: The Truss System, Tr. J. of Zoology, 23, 259-263.