

## بررسی تغییرات شکل بدن ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی در طی مراحل اولیه تکوین

شهرام سلیمانان<sup>۱</sup>، محمد امینی چرمهینی\*<sup>۱</sup>، سهیل ایگدری<sup>۲</sup>، علی سواری<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران.

<sup>۲</sup>گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

<sup>۳</sup>مرکز تکثیر ماهیان بومی سوسنگرد، اداره کل شیلات خوزستان، سوسنگرد، ایران.

\*نویسنده مسئول: mamini57@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۸/۷/۴

### چکیده

لارو ماهیان در طی مراحل اولیه تکوین تغییرات پیچیده‌ای را متحمل می‌شوند که در نتیجه آن تغییرات سازگاری آن‌ها با محیط زیست بهبود می‌یابد. ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) یکی از ماهیان اقتصادی در جنوب غرب ایران به دلیل کیفیت بالای گوشت و بازارپسندی بالا است. از این رو پژوهش حاضر به منظور بررسی روند تغییرات ریختی لارو این ماهی در مراحل اولیه تکوین تا روز ۵۰ پس از تفریح انجام شد. لاروهای مورد نیاز از مرکز تکثیر ماهیان بومی استان خوزستان تهیه شد. نمونه‌برداری از لاروها در دو هفته اول به صورت روزانه و بعد از آن تا روز ۵۰ هر ۵ روز یک‌بار انجام شد. برای تغییرات ریخت بدن لارو ماهی از روش ریخت‌سنجی هندسی با تعریف تعداد ۹ لندمارک انجام شد. جهت بررسی روند تغییرات ریختی در طی مراحل مختلف تکوینی از آزمون Relative warp و رگرسیون براساس ارزش P حاصل از ۱۰۰۰ تکرار استفاده شد. تغییرات مراحل مختلف ریختی براساس شبکه تغییر شکل نسبت به شکل اجماع مصورسازی شد. بر اساس نتایج آنالیز ریخت‌سنجی هندسی مراحل لاروی این گونه براساس ویژگی‌های ریختی از زمان تفریح تا ۵۰ روز بعد از آن به چهار مرحله مجزا (۱) ۱-۴، (۲) ۵-۲۵، (۳) ۳۰-۳۵ و (۴) ۴۰-۵۰ روز پس از تخم‌گشایی قابل تقسیم می‌باشد. نقطه عطف تغییرات ریختی نیز روز ۲۰ پس از تخم‌گشایی بود. پایان مرحله ۱ مطابق با آغاز شروع تغذیه مخطط بود و مرحله دو بیشتر مربوط به تغییرات ریخت بدن شامل افزایش عمق بدن و افزایش تراکم رنگدانه‌ها به ویژه در قسمت پشتی بدن بود که نشان دهنده افزایش سازگاری ماهی برای مانور بیشتر، استتار با محیط و افزایش قابلیت شکار موجودات ریز می‌باشد. در مراحل سوم و چهارم این گونه تقریباً به صورت شکل مینیاتوری ماهی بالغ البته با بدنی نسبتاً کشیده و دوکی شکل نسبت به آن‌ها می‌باشد.

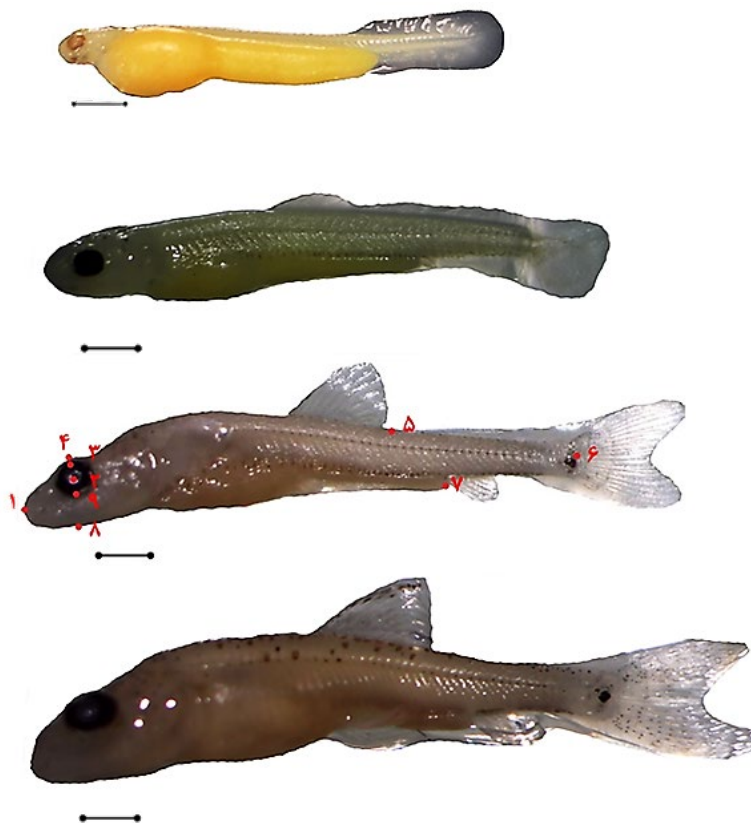
واژگان کلیدی: ریخت‌سنجی، تکوین، ماهی شیربت، لاروها.

### مقدمه

غیربومی همچون کپورماهیان چینی و هندی بوده است.

تکثیر و پرورش موفقیت آمیز هر گونه پرورشی نیازمند شناخت ویژگی‌های زیستی آن به ویژه در مرحله لاروی می‌باشد، چرا که در این مرحله تغییرات تکوینی سریع است که بیانگر تغییر سریع نیازهای حیاتی آن است (Gisbert, 1999; Osse and van den Boogaart, 1999; Loy et al., 2001). از این رو شناخت این تغییرات و توالی زمانی آن‌ها اهمیت زیادی در مدیریت پرورش لارو یک گونه دارد. بررسی تغییرات شکل بدن ماهیان در مراحل اولیه رشد با استفاده از روش‌های ریخت‌سنجی سنتی،

ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) از اعضای کپورماهیان مهم و اقتصادی آب‌های داخلی ایران می‌باشد (Borkenhagen, 2017). این گونه بومی در استان خوزستان با نام‌های شبوط و سرخه شناخته می‌شود (Esmaeili et al., 2017) و به دلیل جذابیت بالا برای صیادان بومی، اهمیت حفظ ذخایر آن اهمیت بالایی دارد. از این رو بجه ماهیان انگشت‌قد این گونه هر ساله برای بازسازی ذخایر تکثیر به آب‌های استان خوزستان رهاسازی می‌گردند. همچنین ماهی شیربت همواره یکی از گونه‌های کاندید برای پرورش در استخرهای گرمابی و جایگزین گونه‌های



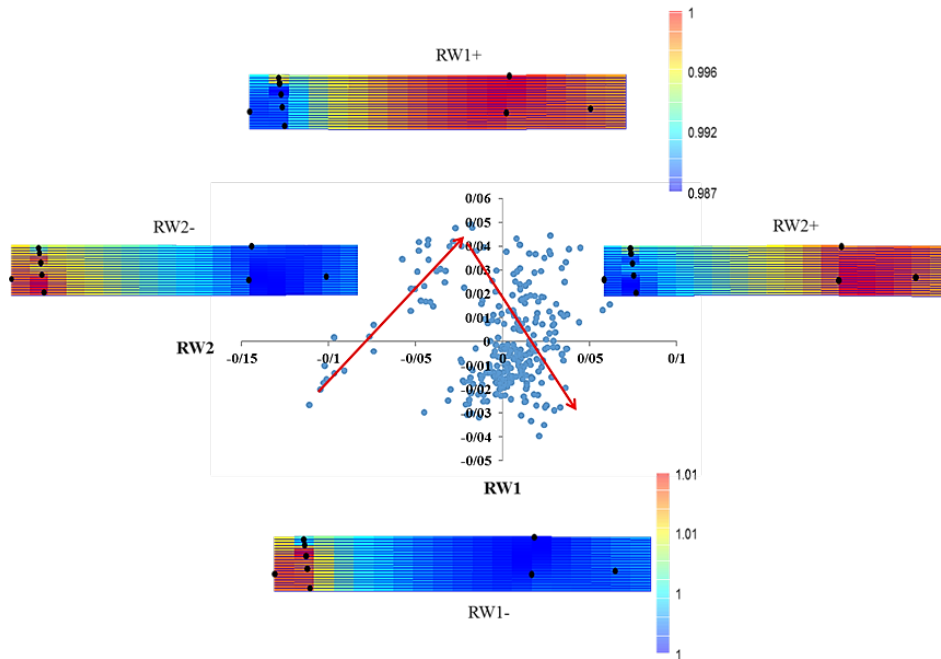
شکل ۱ - مراحل اولیه تکوین در ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*)، (الف) لارو ۱، (ب) ۵، (ج) ۱۳ و (د) ۴۰ روز پس از تفریح، شامل لندمارک‌های تعریف شده به منظور استخراج داده‌های شکل بدن: (۱) ابتدایی‌ترین بخش فک بالا، (۲) مرکز چشم، (۳) لبه بالایی چشم، (۴) نقطه عمود از مرکز چشم بر لبه بالایی سر، (۵) نقطه عمود بر منفذ مخرج، (۶) انتهای قاعده باله دمی، (۷) منفذ مخرج، (۸) نقطه عمود از مرکز چشم بر لبه پایینی سر و (۹) لبه پایینی چشم (مشیدی و همکاران، ۱۳۹۴) (مقیاس نشان دهنده ۱ میلی‌متر است).

هندسی به اجرا درآمد.

### مواد و روش‌ها

**تهیه لارو و روش نمونه‌برداری:** لاروهای مورد نیاز این تحقیق از مرکز تکثیر ماهیان بومی استان خوزستان واقع در جاده اهواز-سوسنگرد تهیه و به مرکز تحقیقات ژنتیکی ماهی‌های گرم‌آبی شهید ملکی اهواز منتقل شد. لاروهای یک روزه به انکوباتورهای مخروطی ۳۰۰ لیتری معرفی و نگهداری شدند. روزانه درجه حرارت و pH آب مورد سنجش قرار گرفت و روشنایی در محیط سرپوشیده با استفاده از نور فلورسنت و نور طبیعی تأمین شد. در طول مدت نگهداری، ابتدا لاروها با زرده تخم‌مرغ و سپس با استفاده از غذای پودری و آب سبز تغذیه شدند. نمونه‌برداری از لاروها در دو هفته ابتدایی به صورت روزانه و بعد از آن تا روز ۵۰ بعد از تخم‌گذاری (dph)

مبتنی بر اندازه‌گیری فواصل طولی بدن در ماهیان Peña and Dumas, ) متعدد انجام شده است (Gisbert et al., Russo et al., 2007, 2009, 2014). این روش به واسطه دقت کمتر و همچنین تغییرات ریختی سریع ماهی در مراحل اولیه تکوین این روش با محدودیت‌هایی مواجه است. روش ریخت‌سنجی هندسی لندمارک پایه از جمله روش‌های نوین ریخت‌سنجی است که داده‌های مربوط به شکل بدن را براساس داده‌های هندسی از قبیل لندمارک‌ها و خط سیر پیرامونی استخراج، تحلیل آن‌ها را با استفاده از آزمون‌های آماری چندمتغیره فراهم و مصورسازی تغییرات ریختی را میسر می‌کند (Zelditch et al., 2004). از این‌رو، به منظور کسب اطلاعات پایه‌ای از تکوین ماهی شیربت، این تحقیق با هدف بررسی تغییرات شکل بدن ماهی شیربت در مراحل اولیه تکوین با استفاده از روش ریخت‌سنجی



شکل ۲- پراکندگی داده‌های مربوط به آنالیز Relative warp نمونه‌های ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*)، از روز اول بعد از تفریح تا ۵۰ روز پس از آن در طول محور RW1 و RW2. جهت فلش‌های قرمز رنگ از نمونه‌های کم سن‌تر به نمونه‌های با سن بیشتر است.

گردید (Rohlf, 1993). در این آزمون امتیازات مؤلفه‌های RW (RW1 و RW2) به عنوان شاخص برای توصیف تغییرات ریختی مورد استفاده قرار گرفت (Bookstein, 1996). به منظور بررسی ارتباط بین مؤلفه‌های توصیف‌کننده ریخت لارو یعنی RW1 و RW2 و طول مرکز (Centroid size) در طی تکوین، آنالیز رگرسیون با استفاده از P حاصل از ۱۰۰۰ تکرار آزمون جایگشت (Permutation) توسط نرم‌افزار tpsReg مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از مجموع نمونه‌های هر مرحله شکل میانگین (اجماع: Consensus) با استفاده از نرم‌افزار TpsSmall استخراج شد. شکل اجماع هر مرحله نسبت به شکل اجماع کل جهت مصورسازی تغییرات مراحل مختلف ریختی رشد و نمو براساس شبکه تغییر شکل مورد استفاده قرار گرفت (van Snik et al., 1997).

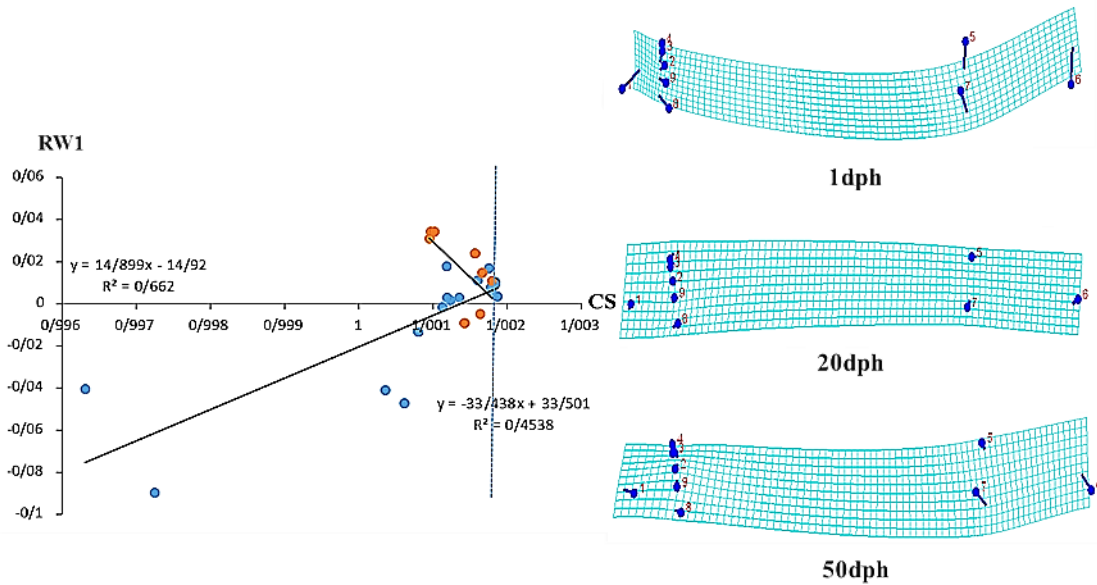
### نتایج

در آنالیز Relative warp، دو RW اول در مجموع ۷۳/۸ درصد از واریانس داده‌های تغییرات شکل بدن را به خود اختصاص دادند ( $RW1=53/94$  و  $RW2=19/86$ ). شکل ۲ پراکنش نمونه‌های لارو را

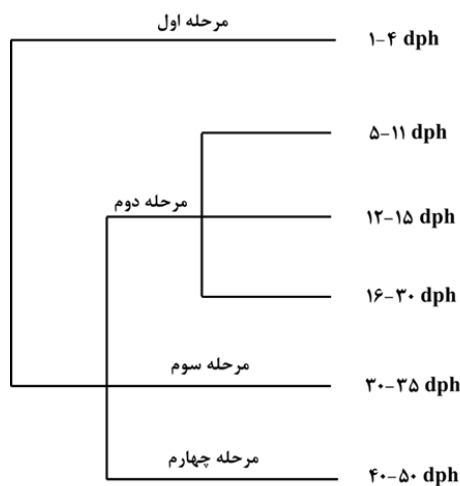
هر ۵ روز یک‌بار به تعداد ۱۰-۲۰ عدد انجام گرفت. لاروها بلافاصله پس از نمونه‌برداری در عصاره گل میخک بیهوش و سپس از نیمرخ چپ آن‌ها با استفاده از لوپ مجهز به دوربین دیجیتال (Cannon) با قدرت تفکیک ۱۰ مگاپیکسل تصاویر دوبعدی تهیه شد.

**بررسی تغییرات شکل بدن:** به منظور بررسی تغییرات ریخت بدن لارو ماهی شیربت در مراحل اولیه تکوین در روش ریخت‌سنجی هندسی، تعداد ۹ نقطه لندمارک (شکل ۱) براساس ریخت لاروها تعریف و با استفاده از نرم‌افزار tpsDig2 بر روی عکس‌ها رقومی و سپس فایل tps تهیه شد (Rohlf, 2005). نقاط لندمارک براساس روش مشیدی و همکاران (۱۳۹۴) تعریف شدند. به منظور حذف اثرات اندازه، جهت و موقعیت لارو در داده‌های حاصل از لندمارک‌های رقومی شده، آنالیز پروکراست (Generalized Procrustes analysis (GPA)) انجام شد.

جهت بررسی روند تغییرات در طی مراحل مختلف تکوینی از آزمون Relative warp که معادل تحلیل تجزیه به مؤلفه‌های اصلی است، استفاده



شکل ۳- روند رشد ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) از روز اول بعد از تفریخ تا ۵۰ روز پس از آن، براساس پراکندگی داده‌های مربوط به RW1 نسبت به طول مرکزی (CS) (نقطه چین نشان‌دهنده نقطه عطف است).



شکل ۴- دندروگرام آنالیز خوشه‌ای براساس ۹ لندمارک رقومی شده بر روی بدن ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) از روز اول بعد از تفریخ تا ۵۰ روز بعد از آن.

شکل بدن براساس شکل اجماع هر مرحله، مراحل مختلف تکوینی لاروها را در ۴ گروه اصلی دسته‌بندی نمود (شکل ۴) به عبارت دیگر مراحل اولیه تکوین به ۴ مرحله مجزا قابل تقسیم است.

#### بحث

تغییرات عملکردی دستگاه‌های بدن براساس توسعه شکل آن‌ها به وقوع می‌پیوندد و در واقع مراحل اولیه تکوین شکل بدن ارتباط نزدیکی با تغییرات عملکردی

براساس روند تغییرات شکل در امتداد محورهای RW1 و RW2 نشان می‌دهد. براساس نتایج Relative warp تغییرات شکل بدن در طول محور RW1 براساس سن نمونه‌ها از -RW1 به +RW1 شامل افزایش عمق بدن و جابجایی قدامی موقعیت چشم‌ها بود. نتایج همچنین نشان داد که از روز اول تا روز ۲۰ پس از تفریخ پراکنش نمونه‌ها بیشتر در امتداد محور RW1 و بدون هیچ الگوی مشخصی است. به عبارت دیگر در این دوره تنوع شکل و تغییرات شکل بدن در طول محور RW2 (از -RW2 به +RW2) براساس سن نمونه‌ها نیز شامل تغییرات مربوط به افزایش عمق بدن می‌باشد.

داده‌های مربوط به مدل رگرسیون تغییرات شکل بدن با استفاده از نرم‌افزار tpsReg و آزمون Goodal F با مقدار ۴۸/۸۲ درصد ( $P < 0.0001$ ) رابطه مناسبی بین متغیرهای شکل بدن و طول کل را در مراحل اولیه رشد نشان داد. همچنین نتایج نشان داد که رابطه بین شاخص توصیف‌کننده شکل بدن RW1 و طول مرکز شامل دو مرحله با یک نقطه عطف در روز ۲۰ بعد از تفریخ بود که در مرحله اول قبل از عطف  $R^2 = 0/66$  و در مرحله دوم بعد از نقطه عطف  $R^2 = 0/45$  بود (شکل ۳). آنالیز خوشه‌ای داده‌های

مانورپذیری بالا در روند شکل‌گیری یک موجود بالغ و تغییر جایگاه زندگی و تغذیه از منابع مختلف از اهمیت بالایی برخوردار است. قابلیت مانورپذیری، همچنین ویژگی مهمی در رفتار شکارچی‌گری دارد و با توجه به عادت غذایی (همه‌چیزخوار و گوشتخواری) این گونه، اهمیت این ویژگی در آن بارزتر می‌شود. با توجه به تغییرات شکل ماهی، در مراحل سوم و چهارم این گونه تقریباً به صورت شکل مینیاتوری ماهی بالغ البته با بدنی نسبتاً کشیده و دوکی شکل نسبت به آن‌ها می‌باشد. عمده ساختارهای زیستی مهم این گونه برخلاف ماهیان آب شور دیرتر و پس از روز ۳۰ بعد از تفریخ شکل می‌گیرد (مشیدی و همکاران، ۱۳۹۴).

#### تشکر و قدردانی

از کارکنان محترم مرکز تکثیر ماهیان بومی سوسنگرد و مرکز تحقیقات ژنتیکی ماهی‌های گرم‌آبی شهید ملکی اهواز و همچنین از آقای حسن علیجانی و خانم فاطمه مشیدی برای کمک‌های فراوان در انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

#### منابع

- اکبرنژاد م.، خدادادی م.، اکبرنژاد م. ۱۳۸۹. بررسی مراحل تکامل جنینی و لاروی ماهی شیربت، مجله علمی-تخصصی تالاب - دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، ۲(۳): ۶۷-۷۹.
- مشیدی ف.، ایگدری س.، ناظم رعایا س. ۱۳۹۴. تغییرات شکل بدن و توسعه خصوصیات ریختی در طی مراحل اولیه تکوینی ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*)، نشریه توسعه آبی‌پروری، ۹(۴): ۷۱-۸۰.
- Bookstein F.L. 1996. Combining the tools of geometric morphometry. In: L.F. Marcus, M. Corti, A. Loy, G.J.P. Naylor, D.E. Slice (Eds.). *Advances in morphometry*. New York: Plenum Press. pp: 131-152.
- Borkenhagen K. 2017. Molecular phylogeny of the tribe Torini Karaman, 1971 (Actinopterygii: Cypriniformes) from the Middle East and North Africa. *Zootaxa* 4236, 291-301.

و در نتیجه تغییرات شرایط محیطی و منابع مورد استفاده دارد (Russo et al., 2007). در روش‌های معمول، طبقه‌بندی مراحل لاروی ماهیان عمدتاً براساس ویژگی‌های ریختی ظاهری و الگوی رشد ماهیان در طی مراحل اولیه تکوین می‌باشد. اما در تحقیق حاضر طبقه‌بندی مراحل لاروی ماهیان با تکیه بر تغییرات شکل بدن مستخرج از روش ریخت-سنجی هندسی و با استفاده از آنالیز خوشه‌ای به دست آمد. بنابراین تغییرات جایگاه لندمارک‌های تعریف شده، مراحل لاروی این گونه را از زمان تفریخ تا ۵۰ روز بعد از آن به چهار مرحله مجزا شامل (۱) ۱-۴، (۲) ۵-۲۵، (۳) ۳۰-۳۵ و (۴) ۴۰-۵۰ روز پس از تخم‌گشایی تقسیم کرد.

اکبرنژاد و همکاران (۱۳۸۹) تکامل جنینی و لاروی ماهی شیربت را بررسی و تغییرات ریختی مهم لارو این گونه شامل (۱) باز شدن دهان ۱۸۸ ساعت بعد از لقاح، (۲) تشکیل و تکمیل باله سینه‌ای و اوپرکلوم و حرکت آرواره‌ها (در پایان روز دوم بعد از تفریخ)، (۳) تشکیل کیسه شنا دو حفره‌ای (روز پنجم بعد از تفریخ) و (۴) جذب کیسه زرده (پایان روز ۴) بیان نمودند که منطبق با نتایج تحقیق حاضر معادل مرحله اول (۱-۴ dph) تکوینی لارو این گونه می‌باشد. در واقع به علت کامل نشدن ساختارهای مربوط به تغذیه همانند دهان و مخرج و ساختارهای عملکردی شنا، وجود کیسه زرده به عنوان منبع و تأمین‌کننده انرژی در این دوره لاروی حائز اهمیت بوده (van Snik et al., 1997) و در ادامه به علت متابولیسم زیاد و رشد شدید لارو کاهش حجم کیسه زرده رخ می‌دهد (Maneewongsa et al., 1981).

مرحله دوم بعد از پایان وقایع مهم مرحله اول تا پایان روز ۲۵ بعد از تفریخ می‌باشد. با توجه به وقوع نقطه عطف در روز ۲۰ بعد از تفریخ، می‌توان مهمترین تغییر شکل در این مرحله را به افزایش عمق بدن نسبت داد. افزایش عمق بدن در ماهیان می‌تواند به افزایش قابلیت مانورپذیری موجود مرتبط باشد (Ontario, 2011) و به نظر می‌رسد که قابلیت

- gilthead sea bream *Sparus aurata* L., 1758. *Journal of Fish Biology* 71, 629-656.
- Van Snik G.M.J., Van Den Boogaart J.G.M. Osse J.W.M. 1997. Larval growth patterns in *Cyprinus carpio* and *Clarias gariepinus* with attention to finfold. *Journal Fish Biology* 50, 1339-1352.
- Zelditch M.L., Swiderski D.L., Sheets H.D., Fink W.L. 2004. Geometric morphometrics for biologists: A primer. Elsevier (USA).
- Esmaeili H.R., Mehraban H., Abbasi, K., Keivany Y., Coad B. 2017. Review and updated checklist of freshwater fishes of Iran: Taxonomy, distribution and conservation status. *Iranian Journal of Ichthyology* 4(Suppl. 1), 1-114.
- Gisbert, E., 1999. Early development and allometric growth patterns in Siberian sturgeon and their ecological significance. *Journal of Fish Biology*, 54: 852-862.
- Gisbert E., Asgari R., Rafiee G., Agh N., Eagderi S., Eshaghzadeh H. Alcaraz C., 2014. Early development and allometric growth patterns of beluga *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Ichthyology* 30, 1264-1272.
- Loy A., Bertelletti M., Costa C., Ferlin L. Cataudella S. 2001. Shape changes and growth trajectories in the early stages of three species of the genus *Diplodus* (Perciformes, Sparidae). *Journal of Morphology* 250, 24-33.
- Maneewongsa S., Ruangpanit N., Petchmanee T., Tattanon T. 1981. Propagation of seabass, *Lates calcarifer* Bloch. Nat. Inst. Coastal Aquaculture. Brackish water Fish Division of Department of Fisheries *Contribution*. 24 p. (In Thai with English abstract).
- Ontario B. 2011. Fish morphology. Retrieved from <http://www.eoearth.org>.
- Osse J.W.M. Van den Boogaart J.G.M. 1999. Dynamic morphology of fish larvae, structural implications of friction forces in swimming, feeding and ventilation. *Journal of Fish Biology* 55(Suppl A), 156-174.
- Peña R., Dumas S. 2009. Development and allometric growth patterns during early larval stages of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidae: Serranidae). *Scientia Marina* 73, 183-189.
- Rohlf F.J. 1993. Relative warp analysis and an example of its application to mosquito wings. In: Marcus L.F., Bello E. Garcia-Valedcasas A. (Eds.). *Contributions to Morphometrics*. Museo Nacional de Ciencias Naturales.
- Rohlf F.J. 2005. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.05. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Available: <http://life.bio.sunysb.edu/morph>
- Russo T., Costa C., Cataudella S. 2007. Correspondence between shape and feeding habit changes throughout ontogeny of

## Body shape changes of Shirbot, *Arabibarbus grypus* (Heckel, 1843) during early development using geometric morphometric method

Shahram Soleimani<sup>1</sup>, Mohammad Amini Chermahini<sup>\*1</sup>, Soheil Eagderi<sup>2</sup>, Ali Savari<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran.

<sup>2</sup>Department of Fisheries, Natural Resources faculty, University of Tehran, Karaj, Iran.

<sup>3</sup>Native Fishes Reproduction Center of Sousangerd, Khuzestan Fisheries Organization, Sousangerd, Iran.

\*Corresponding author: mamini57@yahoo.com

Received: 2019/9/29

Accepted: 2021/5/5

### Abstract

During the early development stages, fish larvae undergo complex changes that result in improved their adaptation to their environment. Shirbot, *Arabibarbus grypus*, is one of the economical valuable fish in the southwest of Iran due to its high-quality meat and marketing. Hence, the current study was conducted to investigate the morphological changes in its larvae during early development stages up to 50 days post-hatching. The larvae were obtained from the native fish breeding center of Khuzestan Province. Larvae were sampled daily for the first two weeks and then every 5 days until 50 dph. To study the body shape changes of larvae, geometric morphometric technique with the definition of 9 landmark-points was used. Relative warp and regression analysis based on P-value obtained from 1000 replications were used to study the morphological changes during early developmental stages. The changes of morphological stages were visualized based on the deformation grids compared to the consensus one. Based on the results of the geometric morphometric analysis, the larval stages of this species from hatching up to 50 days can be divided into four distinct stages of (1) 1-4, (2) 5-25, (3) 30-35 and (4) 40-50 DPH in terms of morphological changes. The inflexion point of morphological changes was 20 dph. The end of stage 1 coincided with the beginning of exogenous feeding, and stage 2 was more concerned with changes in the body shape, including the increase of the body depth as well as increasing pigment density, especially in the dorsal part of the body, indicating increased fish adaptability for greater maneuverability, camouflage, and increased the ability to prey small organisms. In the third and fourth stages, this species is almost in the form of a miniature form of adult fish, one but with a relatively elongated, fusiform body shape.

**Keywords:** Morphology, Development, Shirbot, Larvae.