

مقایسه شکل در پیش لاروهای سالم و تلف شده فیل ماهی (*Huso huso*) و

الگوهای بد شکلی با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی

حمید اسحق‌زاده^(۱)؛ سهیل ایگدری*^(۲)؛ هادی پور باقر^(۳) و رضوان اله کاظمی^(۴)

Soheil.Eagderi@ut.ac.ir

۱-۲،۳- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی: ۴۳۱۴

۴- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۰

چکیده

تلفات بالا در زمان پیش لاروی از مهمترین مشکلات مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری می‌باشد. به نظر می‌رسد که اکثر این لاروهای تلف شده دارای انواع ناهنجاری در قسمت‌های مختلف بدن باشند. از اینرو این تحقیق با هدف مقایسه شکل بدن بین نمونه‌های سالم و تلف شده و بررسی انواع الگوهای بد شکلی در پیش لاروهای دارای کیسه زرده با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی به اجرا درآمد. عکسبرداری از نمونه‌ها توسط دوربین دیجیتال و گذاشتن نشانه‌های اختصاصی (لند مارک) روی تصاویر دو بعدی با استفاده از نرم افزار tpsDig2 انجام شد. داده‌های نشانه‌های اختصاصی پس از روی هم گذاری براساس آنالیز پروکراست (GPA) با استفاده از روش‌های آماری چند متغییره PCA و DFA مورد تحلیل قرار گرفتند. بین نمونه‌های سالم و تلف شده اختلاف معنی‌داری از نظر شکل وجود داشت. انواع بد شکلی در قسمت سرپوش آبخشی، حجم کیسه زرده و ناحیه دم پیش لاروها مشاهده شد. مطالعات آتی در مورد این ناهنجاری‌ها در مراحل لاروی و جوانی پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: فیل ماهی، بد شکلی، ریخت‌سنجی هندسی

مقدمه

(*al.*, 2003). دلایل ظاهر شدن بد شکلی‌ها در زمان جنینی و لاروی مربوط به شرایط نامناسب زیستی در زمان تکثیر و انکوباسیون، استفاده از هورمون‌های القاء کننده، فاکتورهای محیطی دوره پرورش، دستکاری بیش از حد، وجود مواد زنبوبیوتیک و تغذیه نامناسب می‌باشد (Polo *et al.*, 1991; Koumoundouros *et al.*, 2001; Gavaia *et al.*, 2002; Cahu *et al.*, 2003; Sfikianakis *et al.*, 2006b).

تمرکز اصلی در آبی‌پروری، اصلاح تکنیک‌ها برای موفقیت تکثیر، بازماندگی و رشد می‌باشد (Verhaegen *et al.*, 2007). اگرچه موفقیت تکثیر ممکن است حاصل شود، اما مشکلات بعدی از جمله کیفیت لاروها و متعاقباً ماهیان جوان می‌تواند سبب افزایش تلفات گردد. مطالعات متعددی روی کیفیت لارو ماهیان انجام شده است ولی با وجود این کمتر به تغییرات شکل لاروها در اثر بد شکلی و علل آن پرداخته شده است (Cahu *et*

*نویسنده مسئول

مواد و روش کار

در این تحقیق از مولدین پرورشی ۹ ساله ۳ عدد ماهی نر و ۱ عدد ماهی ماده در بخش تکثیر و پرورش انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت استفاده شد. در فرآیند تکثیر مصنوعی، هورمون تراپی توسط $LHRH_2$ طی دو مرحله به فاصله ۱۲ ساعت از یکدیگر صورت گرفت. هورمون تزریقی به میزان ۴ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن جنس ماده بود. نسبت تزریق اول هورمون به ماهی ماده ۱۰ درصد و نسبت تزریق دوم ۹۰ درصد بود. ماهی نر در یک مرحله و همزمان با مرحله دوم تزریق هورمون به ماهی ماده به میزان ۲/۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن صورت پذیرفت. دمای آب هنگام تزریق ۱۱ درجه سانتیگراد بود. پیش‌لارو ها بعد از ۸ روز از تخم خارج شدند و بلافاصله با تراکم ۳۳ گرم در ۳ تانک پرورشی فایبرگلاس ۰/۵ تنی در ابعاد ۵۲×۱۰۲×۱۰۵ (طول×عرض×ارتفاع) که تا ارتفاع آبیگری ۲۰ سانتیمتری آبیگری شده بودند، منتقل گردیدند. منبع و دبی آب با استفاده از مخلوط آب چاه و رودخانه بترتیب با دبی ۴۰۰ سی‌سی در دقیقه و ۲۵۰ سی‌سی در دقیقه بود. به منظور جلوگیری از کاهش دما، در نوسانات شبانه‌روزی بالای دمای آب رودخانه، از آب چاه استفاده شد. شرایط دما، اکسیژن و pH در طول دوره پرورش بصورت روزانه ثبت گردید. در این دوره میانگین (± انحراف معیار) pH آب ۷/۲±۰/۰۸، دمای آب ۱۵/۹±۰/۹۷ درجه سانتیگراد و اکسیژن آب ۸/۷±۰/۳۶ppm بودند.

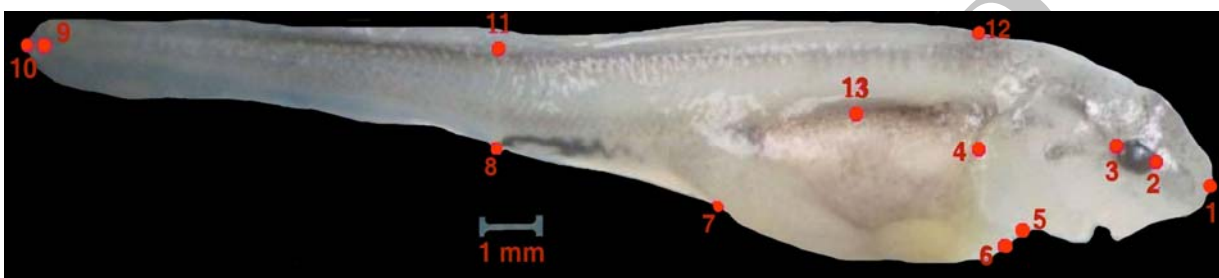
برای مطالعات ریخت‌سنجی ۲۶۶ نمونه تلف شده و ۳۰ نمونه زنده و سالم پیش لارو (Eleutheroembryo) فیل ماهی در ۵ روز پس از تفریح (5 DPH) بطور کاملاً تصادفی نمونه‌برداری و در فرمالین بافری فسفات ۱۰ درصد تثبیت شدند. سمت چپ سطح جانبی نمونه‌ها با استفاده از لوپ مجهز به دوربین Cannon با قدرت تفکیک ۸ مگا پیکسل عکسبرداری شدند. فواصل خطی نمونه‌ها از جمله طول کل توسط نرم افزار ImageJ مورد سنجش قرار گرفتند. برای استخراج داده‌های شکل در روش ریخت‌سنجی هندسی تعداد ۱۰ لندمارک (Landmark) و ۳ لندمارک کاذب (Pseudo-Landmark) طبق شکل ۱ مشخص و با استفاده از نرم‌افزار tpsDig2 روی تصاویر دو بعدی قرار داده شدند. به منظور حذف ویژگی‌های غیرشکل و استخراج داده‌های شکل، جایگاه لندمارک‌های تمام نمونه‌ها با استفاده از آنالیز پروکراس (Generalized Procrustes Analysis)

سنگین بعنوان عامل بدشکلی ستون فقرات در ماهی خاویاری چینی (*Acipenser sinensis*) شناخته شده است (Hou et al., 2011). در کارگاههای تکثیر فیل ماهی بیشترین بدشکلی ظاهری در لاروها بترتیب شامل معیوب شدن باله‌های راست و چپ، کج شدن ستون فقرات، آویزان بودن دم، گوژ پستی و دفرمه شدن کیسه زرده گزارش شده است (Mohseni et al., 2000). بروز تلفات ناشی از چنین بدشکل‌هایی در مراحل مختلف زندگی ماهیان از لارو دارای کیسه زرده تا بچه ماهی در گونه‌های مختلف گزارش شده است (Morrison & MacDonald, 1995).

با توجه به تلفات بسیار زیاد لاروهای فیل ماهی در مرحله قبل از تغذیه فعال و در زمانی که هنوز دارای کیسه زرده هستند، این سوال مطرح است که آیا تفاوتی بین شکل بدن لاروهای تلف شده و لاروهای سالم وجود دارد که بتوان این تفاوت شکل را دلیلی بر تلفات بالای آنها نسبت داد. دانستن الگوی تفاوت بین لاروهای معیوب و سالم می‌تواند به درک بهتر دلایل تلفات کمک کرده و بعنوان شاخصی برای شناخت احتمال بروز تلفات در تفریخگاه‌ها بکار رود. چرا که مزیت چنین شاخص‌های ریختی زمان کوتاه، راحتی و کاهش هزینه در برآورد وضعیت لارو می‌باشد (Theilacker, 1978). بررسی شکل نقش مهمی در بسیاری از مطالعات زیست‌شناسی دارد (Abdolhay et al., 2010) و قادر است تفاوت‌های شکل بین افراد و بخش‌های مختلف آنها را که ناشی از بدشکلی‌ها، بیماری و جراحی‌ها، فردزایی و سازگاری به فاکتورهای جغرافیایی و تکامل است را نشان دهد (Sfakianakis et al., 2006b). ریخت‌سنجی هندسی یک روش نوین در مطالعه شکل موجودات است که می‌تواند الگوهای مختلف تغییر شکل را در نتیجه فرآیندهایی از قبیل رشد و ناهنجاری‌های شکلی نمایان سازد (Rohlf & Slice, 1990; Sfakianakis et al., 2006a). در این روش برخلاف روش ریخت‌سنجی سنتی، با استفاده از نشانه‌های اختصاصی و مختصات آنها (X,Y) بعنوان متغیرهای مرتبط با شکل، الگوهای مختلف تفاوت شکل استخراج و با استفاده از آنالیزهای چند متغیره مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرند (Rohlf & Marcus, 1993). از اینرو تحقیق حاضر با هدف مقایسه الگوی شکل بدن دو گروه از لاروهای تلف شده و لاروهای سالم و به منظور یافتن الگوهای مختلف بدشکلی با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی به اجرا در آمد.

اجماع (Consensus) نمونه‌های سالم و بدشکل به منظور نشان دادن انحراف از میانگین حالت سالم اشکال نیز ارائه گردید. به منظور مقایسه شکل دو گروه، این مصورسازی براساس تغییر از میانگین یک حالت (سالم) به میانگین وضعیت بدشکل می‌باشد که اندازه استاندارد تفاوت‌های شکل است (Bookstein, 1996). تجزیه و تحلیل داده‌های طول کل لاروها بین نمونه‌های سالم و تلف شده با استفاده از آنالیز (t- test) در نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

GPA روی هم‌گذاری شدند (Zelditch *et al.*, 2004). سپس داده‌های دو گروه لاروهای سالم و تلف شده با استفاده از آنالیزهای چند متغیره تجزیه به تابع‌های اصلی (PCA) و DFA (Discriminate Functional Analysis) و توسط نرم‌افزار آماری Past مورد تحلیل قرار گرفتند. انواع الگوهای مختلف بدشکلی با استفاده از روش Thin plate spline توسط نرم‌افزار tpsplin در شبکه‌های تغییر شکل (Deformation grid) مصور سازی شدند (Rohlf, 2001). مصورسازی شکل



شکل ۱: نشان‌های اختصاصی تعیین شده روی پیش لاروها: ۱- ابتدایی‌ترین نوک پوزه، ۲- ابتدای چشم، ۳- انتهای چشم، ۴- قسمت میانی انتهای سرپوش آبششی، ۵- قسمت پایین انتهای سرپوش آبششی، ۶- ابتدای کیسه زرده، ۷- انتهای کیسه زرده، ۸- مخرج، ۹- انتهای ستون فقرات، ۱۰- انتهای باله دم، ۱۱- لندمارک کاذب در نقطه مقابل مخرج در قسمت پشتی بدن، ۱۲- لندمارک کاذب در نقطه مقابل لندمارک ۴ در قسمت پشتی بدن و ۱۳- لندمارک کاذب در محل تلاقی لندمارک ۱۲ و ۷ (ارتفاع کیسه زرده).

نتایج

می‌باشد (شکل ۱). آنالیز شکل نمونه‌های بدشکل نشان داد که الگوهای شکل بدن در بین آنها متنوع می‌باشد (شکل ۲). نتایج Thin plate spline در شبکه تغییر شکل (Deformation grid) بین نمونه‌های زنده و تلف شده نشان داد (اشکال ۱ و ۲) که بیشترین جابجایی بین لندمارک‌های تعیین شده در نمونه‌های تلف شده برترتیب در نواحی کیسه زرده، ناحیه پشتی و سرپوش آبششی بود، بطوریکه در لندمارک‌های شماره ۱۳، ۶، ۷ (مربوط به ناحیه کیسه زرده)، لندمارک شماره ۱۲ (مربوط به ناحیه پشتی) و لندمارک‌های شماره ۴ و ۵ (مربوط به سرپوش آبششی) نمونه‌های تلف شده نسبت به نمونه‌های سالم جابجایی رخ داده است. کمترین جابجایی نیز در لندمارک‌های ۱، ۲، ۳ (مربوط به ناحیه سر) و لندمارک‌های ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱ (مربوط به ناحیه دم) مشاهده شد.

میانگین (\pm انحراف معیار) طول کل نمونه‌های سالم و تلف شده $17/14 \pm 1/08$ میلی‌متر بود (جدول ۱). بین نمونه‌های سالم و تلف شده از نظر طول کل تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). طول کل کمتر در لاروهای تلف شده مشاهده شد که مربوط به نمونه‌های کوتوله یا عقب مانده از رشد بود. نتایج حاصل از آنالیز ریخت‌سنجی هندسی پیش لاروهای تلف شده و زنده، تفاوت شکل بدن بین این دو گروه را در زمان ۵ روز پس از تفریخ اثبات کرد. بدین معنی که شکل بدن پیش لاروهای تلف شده و زنده بطور معنی‌داری متفاوت بودند ($P < 0.001$) (نمودار ۱). همچنین آنالیز PCA نیز دو گروه نمونه‌های تلف شده و زنده را کاملاً از هم جدا نمود (شکل ۱). تفاوت عمده بین شکل اجماع دو گروه تلف شده و زنده بطور عمده بواسطه بدشکلی‌ها در قسمت‌های قدامی و خلفی بدن

بود و این به این معناست که فاصله مخرج تا ناحیه سرپوش آبششی نسبت به نمونه‌های سالم کمتر بود.

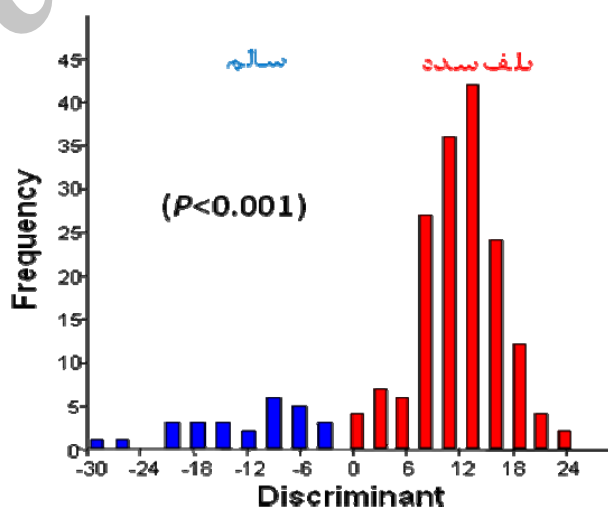
عمده تفاوت بین دو گروه سالم و تلف شده در ناحیه سرپوش آبششی مشاهده شد (شکل ۲). در نمونه‌های تلف شده ناحیه سرپوش آبششی فشرده‌تر بودند. اندازه و شکل کیسه زرده نیز بین دو گروه متفاوت بود (شکل ۲). بدین صورت که کیسه زرده در هر دو حالت حجیم و کوچک شدن سبب انحنای قسمت ابتدایی تنه و انتهایی سر شده بودند. بنابراین با جمع شدگی ناحیه سر، قسمت قدامی سر بطرف پایین سر انحنا پیدا کرده‌اند. از اینرو یک حالت بدشکلی گوژپشتی در اکثر نمونه‌های تلف شده قابل مشاهده بود. شبکه تغییر شکل میزان جمع شدن ناحیه آبششی و برآمدگی قسمت فوقانی این ناحیه را در هر دو حالت بدشکلی ناشی از گوژپشتی و حجیم شدن ناحیه کیسه زرده نشان داد (اشکال ۱ و ۲). در نهایت در بررسی شکل ظاهری لاروهای تحت مطالعه مشاهده شد که تمام لاروهای سالم دارای توده ملانین پروپکا در روده بودند در حالی که تنها حدود ۴۲/۸۲ درصد لاروهای تلف شده این توده را داشتند.

براساس جابجایی لندمارک‌ها روی شکل نمونه‌های تلف شده ۲ نوع الگو بدشکلی کوتولگی یا بازمانده از رشد، حالت بدشکلی گوژپشتی و بدشکلی‌ها ناشی از تغییر در حجم کیسه زرده مشاهده شدند (شکل ۲). در الگوی نوع اول کوتولگی، لندمارک‌های شماره ۹ و ۱۰ (قسمت انتهایی باله دم) نسبت به نمونه‌های سالم کوتاه‌تر بودند و در الگوی نوع دوم، کوتولگی لندمارک‌های شماره ۸ و ۱۱ (قسمت ابتدایی ساقه دم) یا ابتدای مخرج) نسبت به نمونه‌های سالم کوتاه‌تر بودند و بیشترین جابجایی لندمارک را از خود نشان دادند (شکل ۲). مقایسه انفرادی سایر الگوهای بدشکلی مشاهده شده و شکل اجماع نمونه‌های سالم با استفاده از شبکه تغییر شکل در شکل ۲ آورده شده است که جابجایی لندمارک‌ها ناشی از این بدشکلی‌ها را نشان می‌دهد.

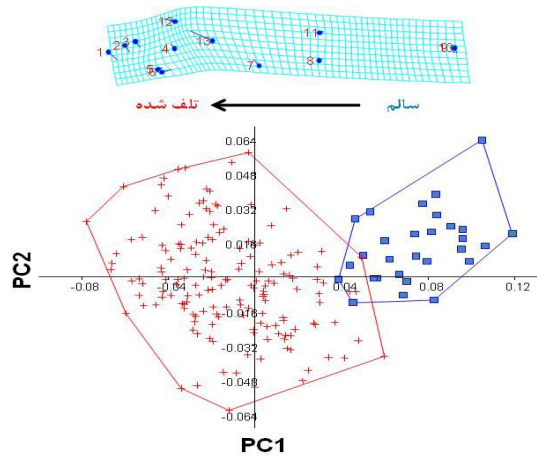
گروه‌های بدشکل نسبت به نمونه‌های سالم دارای ناحیه دم کوتاه‌تری بودند. در بدشکلی ناشی از کوتولگی، کوتاهی و فشردگی ناحیه دم بیشتر بود و عمده دلیل کوتولگی ناشی از کوتاهی ناحیه دم بود (شکل ۲). ناهنجاری‌ها با بدشکلی‌های ناحیه قدامی در قسمت سرپوش‌های آبششی و اندازه و شکل کیسه زرده می‌باشد. در گروه لاروهای تلف شده، لندمارک ۷ به قسمت قدامی تر تغییر مکان داده

جدول ۱: زیست‌سنجی نمونه‌های جمع‌آوری شده

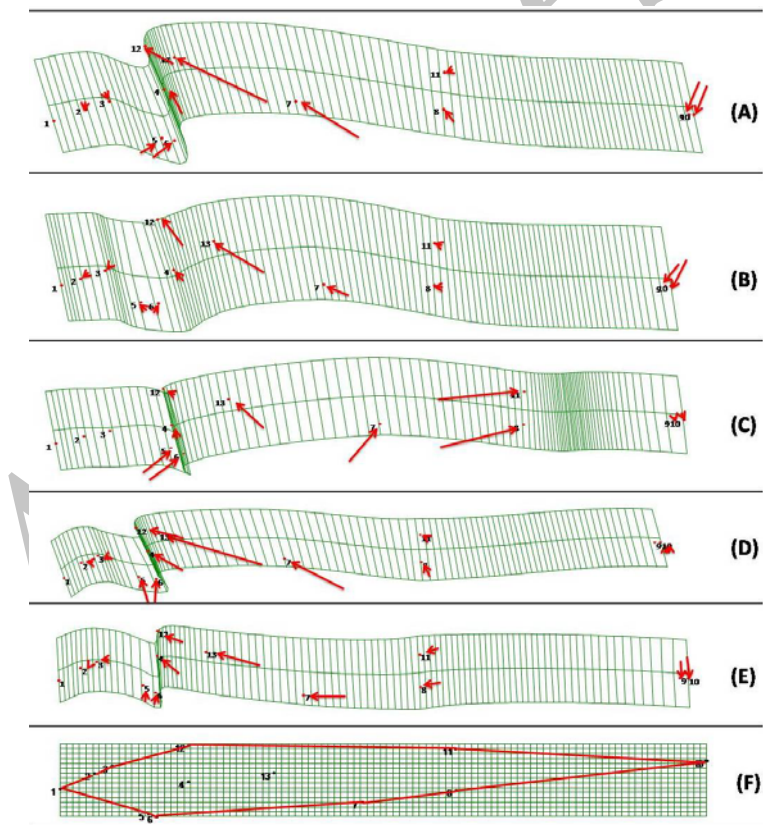
تعداد نمونه‌ها	میانگین (\pm انحراف معیار)	دامنه طول کل (میلیمتر)		لاروهای ۵ روزه
		حداقل	حداکثر	
۲۰	۱۷/۱۷ \pm ۱/۱۱	۱۴/۹۴	۱۸/۴۸	تلف شده
۲۰	۱۷/۱۰ \pm ۱/۰۸	۱۵/۸۶	۱۸/۹۴	سالم
۴۰	۱۷/۱۴ \pm ۱/۰۸	۱۵/۴	۱۸/۷۱	میانگین



نمودار ۱: نمودار Discriminant Functional Analysis



شکل ۲: نمودار تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) بین نمونه‌های سالم (رنگ آبی) و تلف شده (رنگ قرمز). (جهت فلش نشان‌دهنده تغییر الگوی شکل از نمونه‌های سالم به نمونه‌های تلف شده است)



شکل ۳: شبکه تغییر شکل نمونه‌های سالم (F) و الگوهای بدشکل (A) گوژپستی، (B) کوتولگی نوع اول، (C) کوتولگی نوع دوم، (D) حجیم شدن کیسه زرده، (E) کوچک شدن کیسه زرده) با استفاده از آنالیز Thin plate spline. (فلش‌های قرمز جهت جابجایی لندمارک‌ها و الگوهای بدشکلی از نمونه‌های سالم به نمونه‌های بدشکل را نشان می‌دهد)

بحث

موفقیت یا عدم موفقیت یک گونه ممکن است تا حد زیادی بوسیله اتفاقاتی که مراحل ابتدایی تکامل را تحت تاثیر قرار می‌دهد، تعیین شود و نسبت به مرحله بلوغ تاثیر آشکارتری بگذارد. قبل از شروع تغذیه فعال و در حالیکه ساختارهای تغذیه در حال تکامل هستند، مواد مغذی کیسه زرده بیشتر نیازهای داخلی لارو را تأمین کرده و کمک قابل توجهی در بازماندگی در این دوره ایفاء می‌کنند (Geerinckx et al., 2008). بنابراین انواع بد شکلی‌های در این دوره می‌تواند روی رشد، بقاء و عملکردهای بیولوژیکی ماهی در مراحل بالاتر زندگی تاثیر بگذارد و آنها را نسبت به عوامل استرس‌زا و بیماری‌زا آسیب‌پذیر نماید. از سوی دیگر برخی از بدشکلی‌ها مانند بدشکلی سرپوش آبششی اگرچه می‌تواند خیلی جدی نباشد ولی بعلاوه تاثیر که روی بازارپسندی ماهیان می‌گذارد، می‌تواند روی سودآوری تولید تاثیر گذار باشند (Verhaegen et al., 2007). از اینرو به منظور افزایش سود حاصل از سرمایه‌گذاری برای پرورش دهندگان ماهی یک تشخیص سریع و ابتدایی بدشکلی‌ها برای پرورش دهندگان ماهی نیاز است. بنابراین، تلاش‌های تحقیقاتی با استفاده از روشهای زیست‌سنجی لاروها برای تشخیص چنین بدشکلی‌هایی ضرورت دارد (Koumoundouros et al., 1997).

نتایج این تحقیق نشان داد که شکل نمونه‌های تلف شده و زنده تفاوت معنی‌داری دارند. این تفاوت‌ها را می‌توان نتیجه تکثیر مصنوعی یا تاثیر فاکتورهای محیطی دانست که در مراحل تکوین اولیه لاروی تاثیر می‌گذارد. Varkonyi و همکاران (۱۹۹۸) فعالیت تکثیر بیش از زمان مورد انتظار را دلیل بروز ناهنجاری‌های فنوتیپی و ژنوتیپی گزارش کرده‌اند. تراکم تخم و لارو در مرحله انکوباسیون بعنوان فاکتورهای دیگری که سبب ناهنجاری شکلی میشوند، بیان شده‌اند (Mohseni et al., 2000). اما برخلاف نتایج فوق، انکوباسیون تخم در مناطق تخم‌ریزی طبیعی نیز باعث ظهور جنین‌های غیرطبیعی با بدن‌های بدشکل شده است (Garman & Denton, 1886). همچنین در ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) با منشاء وحشی و پرورشی تفاوت‌هایی از نظر ریختی در ارتفاع و عرض بدن و بدشکلی در کانالهای خط جانبی مشاهده شد که علت آن محیط پرورش متفاوت، تغذیه و فاکتورهای محیطی گزارش شده است (Ellis et al., 1997).

الگوهای بدشکلی مشاهده شده در این تحقیق شامل: کوتولگی، گوژپستی و تغییرات ناحیه سرپوش آبششی و حجم کیسه زرده بودند. Mohseni و همکاران (۲۰۰۰) در کارگاههای تکثیر فیل ماهی بیشترین بدشکلی ظاهری در لاروها را معیوب شدن باله راست و چپ، کج شدن ستون فقرات، آویزان بودن دم، گوژ پستی و بدشکلی کیسه زرده گزارش کرده‌اند. در تراکم بهینه ذخیره‌سازی، از نظر ظاهری و سنتی حدود ۱۶ نوع ناهنجاری ظاهری در پیش لاروهای تلف شده فیل ماهی گزارش شده است که بیشتر این ناهنجاری‌ها در قسمت قدامی بدن بودند. نتایج مطالعات ریخت‌سنجی هندسی نشان داد که بیشترین بدشکلی‌ها در ناحیه سرپوش آبششی و کیسه زرده می‌باشد. دلیل تفاوت الگوهای بدشکلی مشاهده شده با مطالعه قبلی، می‌تواند متفاوت بودن در هورمونهای القاء کننده و روش بررسی بدشکلی‌ها نسبت به این مطالعه باشد. در این مطالعه از LHRH_{a2} برای تحریک مولدین استفاده شد، در صورتیکه در مطالعه Mohseni و همکاران (۲۰۰۰) از عصاره هیپوفیز برای تحریک مولدین استفاده شده بود. در مورد تاثیر القا کننده‌ها برای تکثیر، در گربه ماهیان *Heteropneustes fossilis* و *Mystus vittatus* نیز بدشکلی‌های مشاهده شده بواسطه تزریق Ovaprim به مولدین گزارش شده است (Teji & Thomas, 2006). از سوی دیگر روش ریخت‌سنجی هندسی نسبت به روشهای کیفی بررسی بدشکلی‌ها توانایی بالایی در آشکار کردن و اندازه‌گیری شکلهای زیستی دارد. این روش با کمی کردن تفاوت‌های ریختی، شکلهای را بدون توجه به نظر محقق آشکار می‌سازد. از اینرو بنظر می‌رسد، نتایج حاصل از این روش قابل اطمینان‌تر باشد.

بدشکلی‌های ریختی در پیش لاروهای فیل ماهی یعنی در زمان قبل از شروع تغذیه فعال، به ناحیه آبشش، کیسه زرده و دم محدود می‌شدند. عمده تلفات مشاهده شده در لاروهای فیل ماهی بواسطه بدشکلی‌های در ناحیه آبششی و تغییرات در قسمت کیسه زرده بود. کیسه زرده در هر دو حالت حجیم و کوچک شدن سبب انحنای قسمت ابتدایی بدن پیش لاروهای فیل ماهی و در نتیجه بدشکلی گوژپستی شده بود. ناهنجاری‌ها در قسمت سرپوش آبششی در پیش لارو فیل ماهی بالاترین میزان شیوع را داشت. در گربه ماهیان (*Heteropneustes fossilis*) و (*Mystus vittatus*) بیشترین بدشکلی‌ها در منطقه سر و کیسه زرده گزارش شده‌اند و لاروها با

ناشی از ضعف در سیستم تنفسی و فعالیت شنا نسبت داد. این لاروهای بدشکل حتی در صوت ادامه حیات، در مراحل تکوینی بعدی نیز می‌توانند بطور معنی‌داری میزان تولیدات لاروی را کاهش داده و باعث زیان اقتصادی در پروسه تولید لارو بعلت کاهش بازماندگی شوند. بنابراین بایستی به پایش کیفیت لاروها در تفریخگاههای تجاری توجه شود. با توجه به بروز تلفات لاروهای فیل ماهی تا روز ۴۰ پس از تفریخ و مشخص نبودن علت انواع بدشکلی در مراحل بعد از جذب کیسه زرده، مطالعات آتی برای درک الگوهای بدشکلی و علل آن پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از همکاری مسئولان و کارشناسان محترم انستیتو تحقیقاتی بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و راهنمایی‌های دکتر یزدانی و مهندس پور دهقانی تشکر داریم.

منابع

- Abdolhay H.A., Daud S.K., Pourkazemi M., Siraj S.S., Rezvani S., Mostafa, K.A.S. and 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.
- Boglione C., Cagliardi F., Scardi M. and Cataudella S., 2001. Skeletal descriptors and quality assessment in larvae and post-larvae of wild-caught and hatchery-reared gilthead sea bream (*Sparus aurata* L 1758). Aquaculture, 192:1-22.
- Bookstein F.L., 1996. Landmark methods for forms without landmarks: Localizing group differences in outline shape. In: (F.L. Bookstein ed.). Mathematical methods in biomedical image analysis. IEEE, pp.279-289.
- Cahu C., Infante J.Z. and Takeuchi T., 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. Aquaculture, 227:245-258.
- Ellis T., Howell B.R. and Hayes J., 1997. Morphological differences between wild and hatchery-reared turbot. Journal of Fish Biology, 50:1124-1128.

بدشکلی در قسمت سر نسبت به سایر بدشکلی‌ها در ناحیه تنه و دم زودتر از بین رفته‌اند (Teji & Koumoundouros et al., 2001; Thomas, 2006). همچنین در ماهی سی‌باس (*Dicentrarchus labrax*) گزارش شده است که گوشتی در این ماهی در ارتباط با بدشکلی در شعاع‌های آبششی است که در نهایت لاروها را برای فیلتر کردن آب به منظور تامین نیازهای اکسیژنی با مشکل مواجه می‌سازد (Koumoundouros et al., 2002).

بخشی دیگری از تلفات مشاهده شده در پیش لاروهای فیل ماهی بواسطه بدشکلی‌های ناشی از کوتولگی بود. موارد متعددی از تلفات ناشی از بدشکلی مربوط به ناهنجاری اسکلت در ماهیان دریایی (Koumoundouros et al., 2002; Verhaegen et al., 2007)، بدشکلی در قسمت دم و تورم در قسمت شکم گزارش شده است، چنین بدشکلی‌هایی در بدست آوردن غذا، فعالیت شنا و فرار از شکارچی می‌توانند مشکل ایجاد کنند (Varkonyi et al., 1998). در گربه ماهیان (*Heteropneustes fossilis*) و (*Mystus vitattusk*) لاروهای غیرطبیعی با بدشکلی دم و کج شدن ستون فقرات بدلیل باقی ماندن در موقعیت جانبی روی بستر تعادلشان را از دست داده و خفگی در آنها بوقوع می‌پیوندد (Koumoundouros et al., 2001; Teji & Thomas, 2006). از اینرو با توجه به عدم تغذیه فعال در پیش لاروهای فیل ماهی، کاهش عملکرد شنا جهت برآوردن نیازهای زیستی از جمله تامین نیازهای اکسیژنی می‌توانسته روی بازماندگی اثرگذار باشد.

نتایج مشاهدات ظاهری لاروها نشان داد که تمام لاروهای سالم دارای توده ملانین پروپکا در روده بودند ولی این میزان در لاروهای تلف شده حدود ۴۲/۸۲ درصد بود. از اینرو فقدان توده ملانین پروپکا در روده بیشتر پیش لاروهای تلف شده می‌تواند نشان دهنده یک نقص ذاتی و اختلال در پروسه جذب کیسه زرده یا سایر فرآیندهای فیزیولوژیکی باشد که بعلت مختلفی حاصل شده که کیفیت لارو و شانس بقاء لارو را کاهش می‌دهد (Boglione et al., 2001).

مطالعات روی بدشکلی‌ها در ماهیان پرورشی بطور واضح نشان داده است که پایش متوالی در کل دوره تفریخگاهی برای حفاظت استاندارد کیفی لاروها در یک سطح مناسب اهمیت بالایی دارد (Koumoundouros et al., 2001). نتایج این مطالعه تفاوت شکل بدن را بین پیش لاروهای سالم و تلف شده صرف نظر از نوع بدشکلی‌ها را نشان داد. با توجه به بدشکلی‌های موجود در قسمت سرپوش آبششی، کوتولگی، کج شدن ستون فقرات و دم در پیش لاروهای فیل ماهی، این تلفات را می‌توان

- Garman S. and Denton F., 1886.** Abnormal embryos of trout and salmon. *Science Observer*, 49:1-7.
- Gavaia P.J., Dinis M.T. and Cancela M.L., 2002.** Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stages of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 211:305-323.
- Geerinckx T., Verhaegen Y. and Adriaens D., 2008.** Ontogenetic allometries and shape changes in the suckermouth armoured catfish *Ancistrus cf. triradiatus* Eigenmann (Loricariidae, Siluriformes), related to suckermouth attachment and yolk-sac size. *Journal of Fish Biology*, 72:803-814.
- Hou J.L., Zhuang P., Zhang L.Z., Feng L., Zhang T., Liu J.Y. and Feng G.P., 2011.** Morphological deformities and recovery, accumulation and elimination of lead in body tissues of Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*, early life stages: A laboratory study. *Journal of Applied Ichthyology*, 27:514-519.
- Koumoundouros G., Oran G., Divanach P., Stefanakis S. and Kentouri M., 1997.** The opercular complex deformity in intensive gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larviculture. Moment of apparition and description. *Aquaculture*, 156:165-177.
- Koumoundouros G., Divanach P. and Kentouri M., 2001.** The effect of rearing conditions on development of saddleback syndrome and caudal fin deformities in *Dentex dentex* L. *Aquaculture*, 200:285-304.
- Koumoundouros G., Maingot E., Divanach P. and Kentouri M., 2002.** Kyphosis in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Ontogeny and effects on mortality. *Aquaculture*, 209:49-58.
- Mohseni M., Pourkazemi M., Mojazi Amiri B., Kazemi R. and Kaladkova L.N., 2000.** A study on the effects of stocking density of eggs and larvae on the survival and frequency of morphological deformities in Persian sturgeon, Great sturgeon and Stellate sturgeon. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 2:75-90.
- Morrison C.M. and MacDonald C.A., 1995.** Normal and abnormal jaw development of the yolk-sac larva of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 22:173-184.
- Polo A., Yu'fera M. and Pascual E., 1991.** Effects of temperature on eggs and larval development of *Sparus aurata* L. . *Aquaculture*, 92:375-367.
- Rohlf F.J., 2001.** Comparative methods for the analysis of continuous variables: Geometric Interpretations. *Evolution*, 55:2143-2160.
- Rohlf F.J. and Slice D.E., 1990.** Extension of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39:40-59.
- Rohlf F.J. and Marcus L.F., 1993.** A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*, 8:129-132.
- Sfakianakis D.G., Georgakopoulou E., Kentouri M. and Koumoundouros G., 2006a.** Geometric quantification of lordosis effects on body shape in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 256:27-33.
- Sfakianakis D.G., Georgakopoulou E., Papadakis I.E., Divanach P., Kentouri M. and Koumoundouros G. 2006b.** Environmental determinants of haemal lordosis in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 254:54-64.
- Teji K.T. and Thomas K.J., 2006.** Observations on the morphological abnormalities in induced bred larvae of some freshwater fishes. *Indian Journal of Fisheries*, 53:353-358.
- Theilacker G.H., 1978.** Effect of starvation on the histological and morphological characteristics of jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, larvae. *Fisheries Bulletin*, 76:403-414.
- Varkonyi E., Bercsenyi M., Ozouf-costaz C. and Billrd R., 1998.** Chromosomal and morphological abnormalities caused by oocyte ageing in *Silurus glanis*. *Fish Biology*, 56:899-906.

Verhaegen Y., Adriaens D., Wolf T. D., Dhert P. and Sorgeloos P., 2007. Deformities in larval gilthead sea bream (*Sparus aurata*): A qualitative and quantitative analysis using geometric morphometrics. *Aquaculture*, 268:156-168.

Zelditch M., Swiderski D.L., Sheets H.D. and Fink W., 2004. Geometric morphometrics for biologists: A primer. Academic Press, 433P.

**A comparative study of alive and dead eleutheroembryo of
Beluga (*Huso huso*) shape (5DPH) using geometric
morphometric method**

Eshaghzadeh H.⁽¹⁾; Eagderi S.*⁽²⁾; Poorbagher H.⁽³⁾ and Kazemi R.⁽⁴⁾

Soheil.eagderi@Ut.ac.ir

1, 2, 3 -Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, P.O. Box: 4314 Karaj, Iran

4-International Sturgeon Research Institute, P.O. Box: 41635-3464 Rasht, Iran

Received: March 2012

Accepted: August 2011

Keywords: Beluga, Deformity, Geometric morphometrics

Abstract

High mortality of beluga prelarvae (*Huso huso*) occurs in hatcheries and this appears to be linked to various abnormalities. Hence, this study was conducted to compare the body shape of alive and dead beluga prelarvae (5DPH) and to find the patterns of deformities among losses using geometric morphometric method. This method was applied to extract shape data as landmark's Cartesian coordinates. Specimens were photographed using digital camera and the landmarks put on two-dimensional images using tpsDig2. Landmark data after GPA (Generalized Procrustes Analysis) analyzed using PCA and DFA. Results showed significant differences between alive and dead prelarvae shapes. In addition, various pattern of deformities found in the operculum, yolk sac and caudal peduncle parts. Future studies are suggested on larvae and juvenile stage.

*Corresponding author