

مقایسه ریختی سر فیل ماهی (*Huso huso*)، تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*)، هیبرید دیپلوئیدی و تریپلوئیدی (نر تاس ماهی سیبری × ماده فیل ماهی) با استفاده از روش ریخت سنجی هندسی

حمید اسحق زاده^{۱*}، سهیل ایگدری^۲، محمد حسن زاده صابر^۳، مهدی مومن نیا^۴، رضا عسگری^۲

۱. باشگاه پژوهشگران جوان، مرکز لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
۲. گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران
۳. انیستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت
۴. موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱/۱۶

چکیده

به واسطه وجود پلی مورفیسم بین گونه‌ای در ماهیان خاویاری ناشی از وقوع هیبریدهای بین گونه ای طبیعی، دستکاری‌های انسانی و فرار هیبریدهای پرورشی از مراکز تکثیر و پرورش شناسایی آنها مشکل است. به همین خاطر، این مطالعه با هدف بررسی اختلاف شکل سر در بین دو گونه ماهی خاویاری فیل ماهی (*Huso huso*) و تاس ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) و هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی تولید شده و امکان شناسایی آنها با استفاده از روش ریخت سنجی هندسی به اجرا درآمد. تعداد ۳۰ نمونه از هر گروه نمونه برداری گردید. به منظور استخراج داده‌های شکل سر در روش ریخت‌سنجی هندسی، تعداد ۹ نقطه لندمارک در نمای جانبی سمت راست سر، ۱۲ نقطه لندمارک در نمای پشتی سر و ۱۳ نقطه لندمارک در نمای شکمی سر تعیین و با استفاده از نرم افزار tpsDig2 بر روی تصاویر دوبعدی نمونه‌ها قرار داده شد. نتایج حاصل از آنالیزهای CVA/MANOVA داده‌های شکل، پس از GPA نشان داد که تمام گروه‌های مورد مطالعه در هر ۳ نما از نظر شکل تفاوت معنی‌داری دارند و نمای شکمی قابلیت تفکیک بهتری نسبت به نمای پشتی و جانبی دارد. همچنین نتایج آنالیز خوشه‌ای و فواصل مهالانوبیس نشان داد که هیبرید دیپلوئیدی نسبت به هیبرید تریپلوئیدی تشابه بیشتری به والد پدری (تاس ماهی سیبری) دارند. نتایج نشان داد که روش ریخت سنجی هندسی یک تکنیک بسیار موثر، استاندارد و کم هزینه برای تشخیص گونه‌ها و هیبریدهای تاس ماهیان است.

واژگان کلیدی: فیل ماهی، تاس ماهی سیبری، هیبرید، ریخت سنجی هندسی

*نویسنده مسوول، پست الکترونیک: hamideshaghzade@ut.ac.ir

۱. مقدمه

رایج‌ترین معیارها برای تمایز گونه‌ها و هیبرید آنها، ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی است (Bemis and Kynard, 1997; Artyukhin, 1995; Tavaglini *et al.*, 1999; Vasil'eva E. D., 1999). براساس این ویژگی‌ها، بیش از ۲۵ گونه ماهی خاویاری (Acipenseridae) در جهان شناسایی شده است. در جایگاه‌های زیست طبیعی این ماهیان به واسطه وقوع هیبریدهای بین گونه ای طبیعی، دستکاری‌های انسانی در برنامه‌های بازسازی ذخایر و فرار هیبریدهای پرورشی از مراکز تکثیر و پرورش به محیط‌های طبیعی، پلی‌مورفیسم بین گونه‌ای مشاهده می‌شود که شناسایی آنها را با مشکل روبرو ساخته است و این امر همچنین می‌تواند ارتباط فیلوژنیک ماهیان خاویاری را تحت تاثیر قرار دهد (Gunette *et al.*, 1992; Ruban and Sokolov, 1986). مطالعات بسیاری تغییر پذیری ریختی درون و بین گونه‌های ماهیان خاویاری را اثبات کرده است (Sokolov *et al.*, 1986).

در سال‌های اخیر مطالعات مربوط به تفاوت در ریخت ظاهری ماهیان خاویاری از طریق ریخت‌سنجی سنتی انجام شده و فواصل خطی ویژگی‌های ریختی با آنالیزهای چند متغییره سنتی بررسی شده است که نتایج متناقضی داشته است (North *et al.*, 2002; Findeis, 1997). برای مثال به مطالعه گونه‌های (*Acipensersturio*) و (*Acipenser naccarii*) در رودخانه Guadalquivir با استفاده از ویژگی‌های ژنتیکی و ریخت‌سنجی سنتی می‌توان اشاره کرد (Garrido-Ramos *et al.*, 1997). چنین تناقضی می‌تواند نتیجه استفاده از ابزارهای نامناسب در مطالعات ریخت‌شناسی باشد (Bookstein, 1996). از جمله ابزارهای نوین در مطالعات ریختی، روش ریخت‌سنجی هندسی است که تکنیکی بر پایه استفاده از مختصات نقاط لندمارک، به‌عنوان نقاط برگزیده اطلاعات هندسی اشکال بیولوژیک است (Bookstein, 1996). این داده‌های حاصل نه تنها

قابلیت آنالیزهای آماری دارد بلکه امکان ارائه تصویری اختلافات شکلی از طریق شبکه‌های تغییر شکل و منحنی‌های تجسمی را می‌دهد (Rohlf, 2001; Rohlf and Slice, 1990).

در حالی که اختلاف دو گونه ماهی خاویاری خیلی آشکار و واضح است؛ ولی شناسایی هیبرید و انواع پلوئیدها با توجه به امکانات محدود و عدم دسترسی به تکنیک‌های رایج سیتولوژیک مانند تهیه کاریوتایپ، اندازه‌گیری حجم هسته و سلول مثل Flow cytometry در کارگاه‌ها و مزارع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شناسایی آنها را با مشکل مواجه می‌نماید. بنابراین روش‌های ریخت‌شناختی از جمله روش ریخت‌سنجی هندسی به‌عنوان یک گزینه قابل اجرا در این مراکز برای شناسایی گونه‌ها و هیبرید آنها پیشنهاد می‌شود. این روش برای مطالعه اختلاف شکل در ناحیه سر تاس‌ماهی سیبری، تاس‌ماهی آدریاتیک و هیبریدهای آنها (Costa *et al.*, 2006)، بررسی الگوی رشد در گربه ماهی مکنده (Geerinckx *et al.*, 2008)، مطالعات جمعیتی در خانواده شیشه‌ماهیان (Antonucci *et al.*, 2011) و همچنین مطالعات اکومورفولوژیک در خانواده Sparidae (Antonucci *et al.*, 2009) و الگوی بد شکلی لارو فیل ماهی (اسحق‌زاده و همکاران، ۱۳۹۱) مورد استفاده قرار گرفته است. این روش به‌عنوان ابزار بسیار کارآمد نه تنها آنالیزهای آماری داده‌های حاصل، بلکه امکان مصور سازی اشکال زیستی و تفاوت‌های آنها را به منظور مشاهده شکل و امکان شناسایی دقیق گونه و هیبرید را امکان‌پذیر می‌سازد. از اینرو این مطالعه با هدف بررسی اختلاف شکل بین دو گونه ماهی خاویاری فیل ماهی (*Huso huso*) و تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) و هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی تولید شده بین جنس نر تاس‌ماهی سیبری و جنس ماده فیل‌ماهی و همچنین امکان شناسایی آنها با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی به اجرا درآمد.

۲. مواد و روش ها

نمونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق حاصل تکثیر مصنوعی مولدین فیل ماهی و تاس ماهی سیبری در انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان بود. در این مطالعه از اسپرم فیل ماهی و تخمک تاس ماهی سیبری برای تولید هیبرید و هیبرید تریپلوئید شده استفاده شد. از شوک سرمایی نیم ساعت پس از لقاح برای تولید ماهیان تریپلوئید استفاده شد (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2008). پس از تفریح نمونه‌ها، ۴ گروه مورد نظر (فیل ماهی، تاس ماهی سیبری، هیبرید دیپلوئیدی و تریپلوئیدی) در شرایط یکسان پرورشی در مخازن پرورشی ۵۰۰ لیتری، تا روز ۸۶ پس از تفریح پرورش داده شدند. در کل تعداد ۳۰ عدد ماهی از ۴ گروه به‌طور تصادفی نمونه برداری گردید. نمونه‌های ۴ گروه به‌طور مجزا در محلول MS222 با غلظت ۱۴۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۵ دقیقه بیهوش شدند و از ۳ نمای جانبی، پشتی و شکمی ناحیه سر آنها با استفاده از لوب مجهز به دوربین دیجیتال با قدرت تفکیک ۸ مگاپیکسل عکسبرداری شد. سپس نمونه‌ها به مخازن پرورشی برگردانده شدند.

به‌منظور استخراج ویژگی‌های شکل سر به روش ریخت سنجی هندسی، تعداد ۹ نقطه لندمارک در نمای جانبی سمت راست سر، ۱۲ نقطه لندمارک در نمای پشتی سر و ۱۳ نقطه لندمارک در نمای شکمی سر (شکل ۱) مطابق با روش Costa و همکاران (۲۰۰۶) تعیین و با استفاده از نرم افزارهای tpsDig2 بر روی تصاویر دو بعدی قرار داده شدند (Rohlf, 2001). به منظور حذف ویژگی‌های غیر شکل و استخراج داده‌های شکل، جایگاه نقاط لندمارک تمام نمونه‌ها با استفاده از آنالیز پروکراست یا GPA (Generalized Procrustes Analysis) روی هم گذاری شدند (Zelditch, 2004). سپس داده‌های هر ۴ گروه با استفاده از آنالیزهای چند متغیره Manova، تجزیه همبستگی کانونیک (CVA) و آنالیز خوشه‌ای (Cluster analysis) براساس

الگوریتم Paired Group توسط نرم افزار Past مورد تحلیل قرار گرفتند. همچنین فواصل مهالانوبیس (Mahalanobis) شکل سر ۴ گروه مورد مطالعه در هر ۳ نمای مورد بررسی در نرم افزار MorphoJ استخراج گردید. مقایسه تصویری سر در هر نما، بر اساس مقایسه میانگین شکل سر هر گروه با میانگین شکل کل (Consensus) تمام گروه‌ها در آن نما به وسیله گراف Wireframe مستخرج از نرم افزار MorphoJ، انجام شد (Klingenberg, 2011).

۳. نتایج

آنالیزهای CVA/MANOVA مربوط به نمای پشتی سر تفاوت معنی داری را بین فیل ماهی، تاس ماهی سیبری و هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی آنها نشان داد ($P < 0.001$) (شکل ۳). براساس آنالیز خوشه‌ای نمای پشتی سر، نمونه‌های تاس ماهی سیبری و هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی در یک شاخه و نمونه‌های فیل ماهی در شاخه دیگر قرار گرفتند (شکل ۲) یا به عبارت دیگر براساس فاصله مهالانوبیس بیشترین و کمترین اختلاف ریختی فیل ماهی در نمای پشتی بترتیب با تاس ماهی سیبری و هیبرید تریپلوئیدی مشاهده شد و هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی دارای کمترین فاصله یا بیشترین شباهت نسبت به هم بودند (جدول ۱). مقایسه میانگین شکل سر نمای پشتی گروه‌های مورد بررسی نشان داد که بیشترین جابجایی نقاط لندمارک در فیل ماهی مربوط به نوک پوزه و انتهای شکاف سرپوش آبششی بود یا به عبارت دیگر آنها دارای طول پوزه کوتاه تر و سر عریض تری نسبت به تاس ماهی سیبری و هیبریدهای تولید شده هستند (شکل ۲).

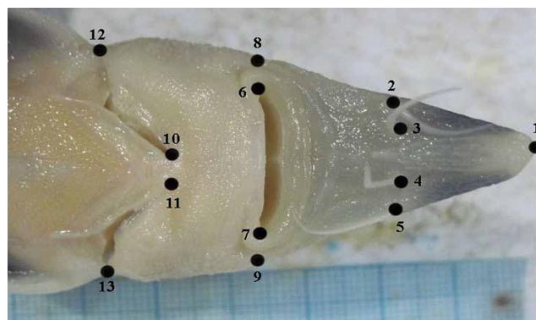
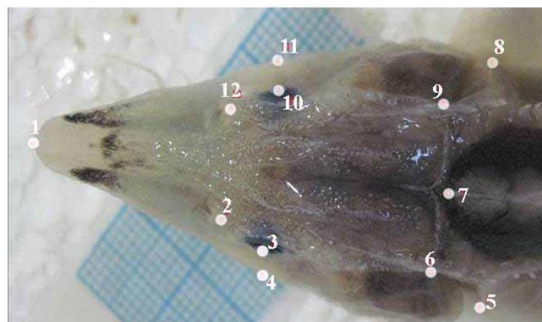
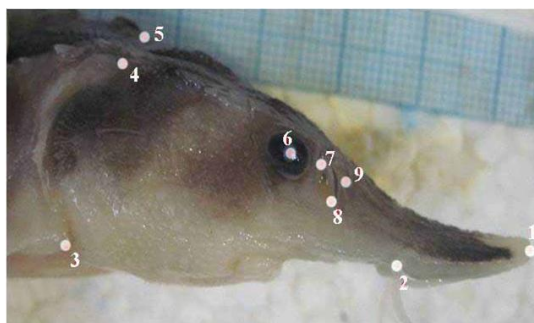
نتایج آنالیزهای CVA/MANOVA شکل نمای شکمی سر، تفاوت معنی داری را بین ۴ گروه مورد مطالعه نشان داد ($P < 0.001$) (شکل ۵). آنالیز خوشه‌ای نمای شکمی سر نیز نشان داد که تاس ماهی سیبری و هیبریدهای دیپلوئیدی و

بقیه گروه‌ها است و هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی نیز دارای کمترین فاصله نسبت به یکدیگر هستند (جدول ۱). مقایسه میانگین کل نمای جانبی گروه‌ها با هر یک از ۴ گروه مورد بررسی نشان داد که بیشترین جابجایی بین نقاط لندمارک مربوط به نوک پوزه، ابتدا و انتهای شکاف سرپوش آبششی و ابتدای اولین پلاک استخوانی ردیف پشتی فیلماهی می‌باشد یا به عبارت دیگر این گونه نسبت به گروه‌های دیگر طول سر بیشتر و طول پوزه کمتری دارد؛ همچنین اولین پلاک استخوانی ردیف پشتی فیلماهی در موقعیت نزدیک‌تر نسبت به نوک پوزه قرار دارد (شکل ۶).

به‌طور کلی نتایج نشان داد که هر چهار گروه مورد مطالعه، در هر ۳ نما از نظر شکل قابل تمایز بوده و تفاوت معنی‌داری دارند. از سوی دیگر نتایج فواصل مهالانوبیس مشخص نمود که نمای شکمی قابلیت تفکیک بهتری نسبت به نماهای پشتی و جانبی دارد. علاوه بر این، نتایج آنالیز خوشه‌ای و فواصل مهالانوبیس نشان داد که هیبرید دیپلوئیدی نسبت به هیبرید تریپلوئیدی تشابه بیشتری به والد پدری (تاس‌ماهی سیبری) دارند (جدول ۱ و شکل‌های ۲، ۴ و ۶).

تریپلوئیدی در یک شاخه و در فیلماهی در شاخه دیگر قرار می‌گیرند (شکل ۵). نتایج مقایسه شکل سر در نمای شکمی براساس فواصل مهالانوبیس مشابه نمای پشتی بود؛ یا به عبارت دیگر که فیلماهی دارای بیشترین فاصله با بقیه گروه‌ها و هیبرید دیپلوئیدی و تریپلوئیدی دارای کمترین فاصله نسبت به یکدیگر بودند (جدول ۱). براساس مقایسه میانگین نمای شکمی گروه‌های مختلف، بیشترین جابجایی نقاط لندمارک مربوط به نوک پوزه، طول و عرض سر، عرض دهان و موقعیت سبیلک‌ها در فیلماهی بود که دارای طول سر کوتاه‌تر، عرض سر و دهان بیشتر و موقعیت نزدیک سبیلک به شکاف دهان نسبت به بقیه گروه‌ها بود (شکل ۴). مقایسه نمای شکمی بین هیبرید تریپلوئیدی و تاس‌ماهی سیبری با میانگین کل نمای شکمی نشان داد که سبیلک در هیبرید تریپلوئیدی به شکاف دهان نزدیک‌تر است (شکل ۴). نتایج آنالیزهای CVA/MANOVA شکل نمای جانبی سر نیز همسو با نتایج شکل نماهای پشتی و شکمی بود ($P < 0.001$) (شکل ۷). نتایج آنالیز خوشه‌ای شکل نمای جانبی سر نیز همسو با نتایج بدست آمده از نمای پشتی و شکمی بود (شکل ۶). نتایج حاصل از فواصل مهالانوبیس نشان داد که شکل نمای جانبی سر فیلماهی دارای بیشترین فاصله با

نمای جانبی

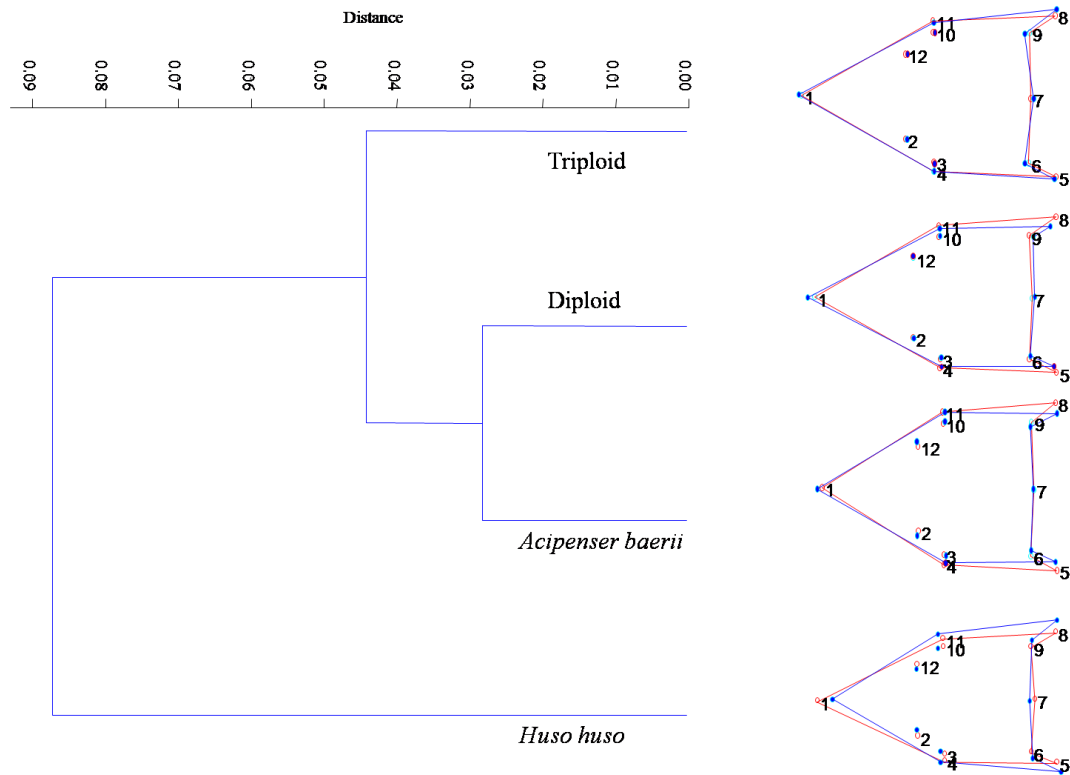


نمای پشتی

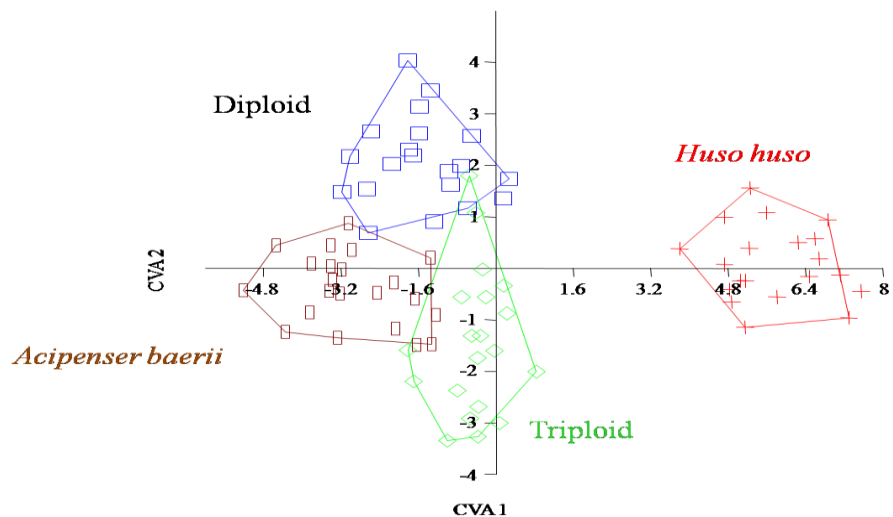
نمای شکمی

شکل ۱. نقاط لندمارک تعیین شده در ۳ نمای مورد بررسی روی نواحی مختلف سر فیل ماهی ۸۶ روز پس از تفریح.

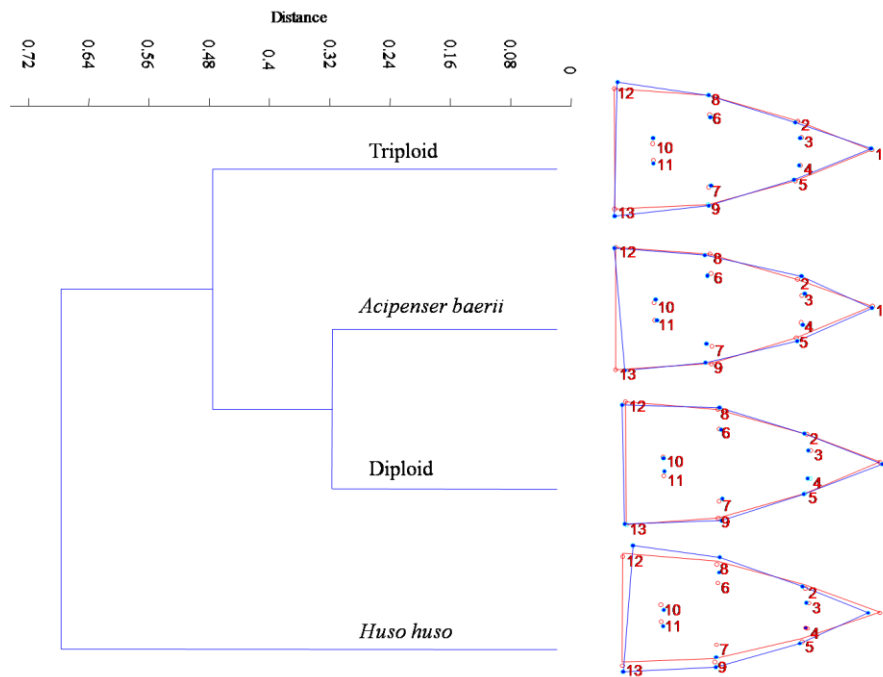
نمای پشتی - ۱- نوک پوزه، ۲ و ۱۲- منفذ بینی، ۳ و ۱۰- چشم، ۴ و ۱۱- نقاط بیرونی و هم عرض با نقاط اختصاصی ۳ و ۱۰، ۷- ابتدای اولین مهره پشتی در ردیف استخوانی پشت، ۵ و ۶ و ۸ و ۹- ابتدا و انتهای شکاف سرپوش آبششی در حالت باز. **نمای شکمی** - ۱- نوک پوزه، ۲ و ۳ و ۴ و ۵- قاعده سیبلیک، ۶ و ۷- حاشیه عرضی دهان، ۸ و ۹- نقاط بیرونی و هم عرض با نقاط اختصاصی ۶ و ۷، شروع شکاف آبششی از نمای پشتی، ۱۲ و ۱۳- قاعده باله سینه ای. **نمای جانبی** - ۱- نوک پوزه، ۲- جایگاه سیبلیک از نمای جانبی، ۳ و ۴- حدود و مرز سرپوش آبششی از نمای جانبی، ۵- ابتدای اولین مهره پشتی در ردیف استخوانی پشت، ۶- چشم، ۷ و ۸- منفذ بینی بزرگ، ۹- منفذ بینی کوچک.



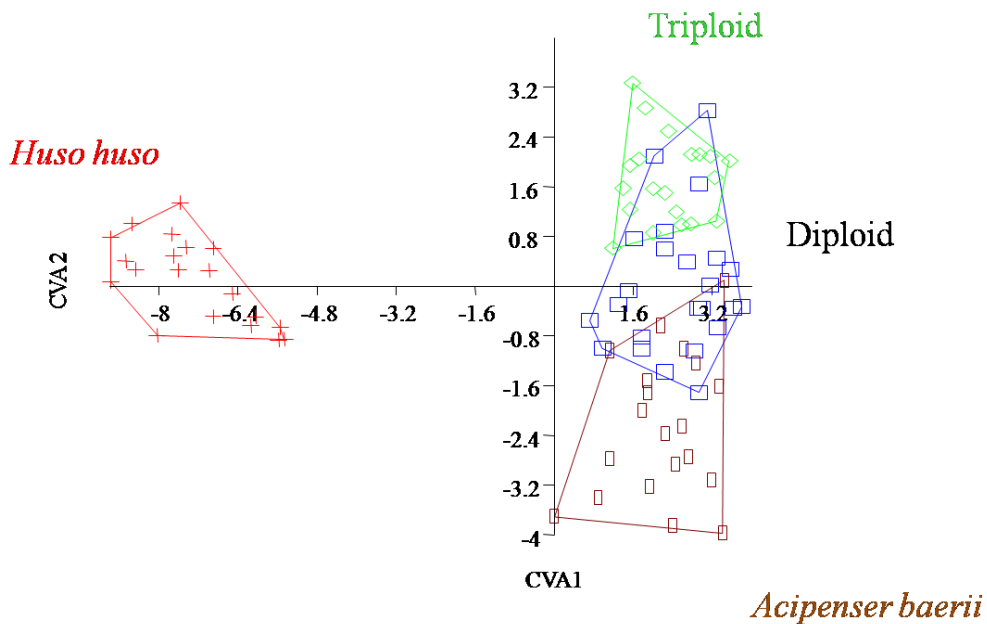
شکل ۲- نتایج Cluster analysis و مقایسه میانگین کلی شکل (Consensus) (رنگ قرمز) با ۴ گروه مختلف (بین فیل ماهی، تاس ماهی سیبری، هیبرید و هیبرید تریپلوئید شده در ۸۶ روز پس از تفریح) (رنگ آبی) از نمای پشتی سر.



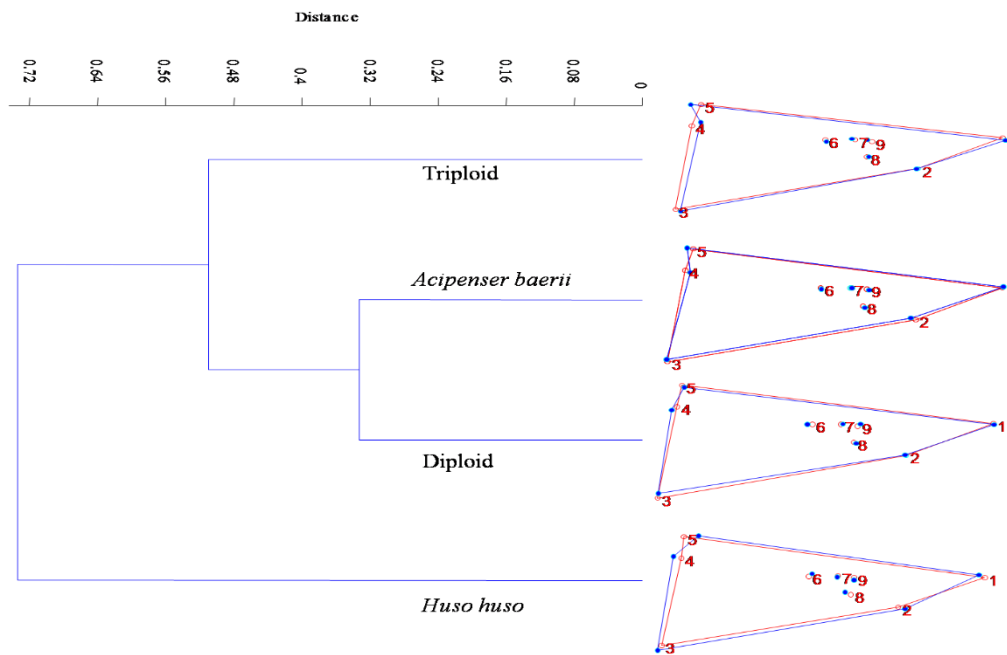
شکل ۳- پراکندگی افراد گروه های مختلف روی نمودار CVA از نمای پشتی در سر فیل ماهی، تاس ماهی سیبری و هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی آنها.



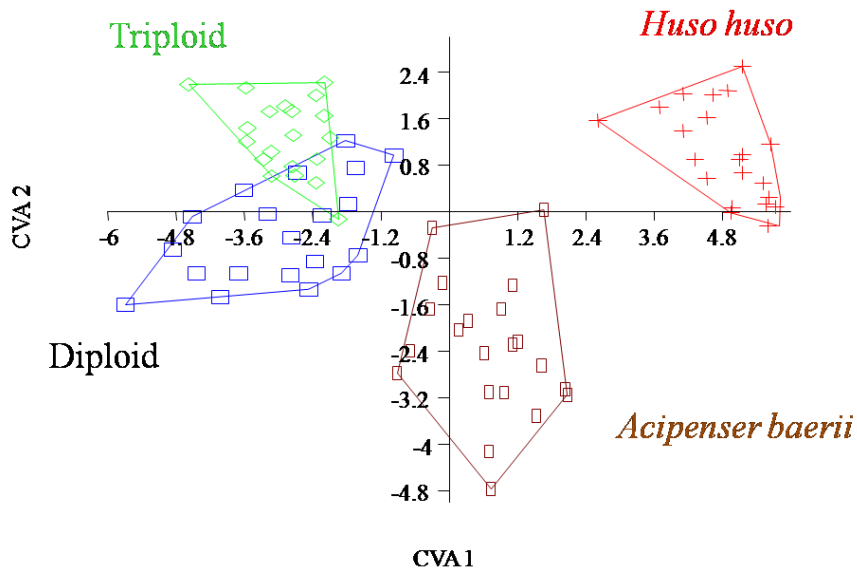
شکل ۴- نتایج Cluster analysis و مقایسه میانگین کلی شکل (Consensus) (رنگ قرمز) با ۴ گروه مختلف (بین فیلماهی، تاس ماهی سیبری، هیبرید و هیبرید تریپلوئید شده در ۸۶ روز پس از تفریخ) (رنگ آبی) از نمای شکمی سر.



شکل ۵- پراکندگی افراد گروه‌های مختلف روی نمودار CVA از نمای شکمی سر در سر فیلماهی، تاس ماهی سیبری و هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی آنها.



شکل ۶- نتایج Cluster analysis و مقایسه میانگین کلی شکل (Consensus) (رنگ قرمز) با ۴ گروه مختلف (بین فیلماهی، تاس ماهی سیبری، هیبرید و هیبرید تریپلوئید شده در ۸۶ روز پس از تفریح) (رنگ آبی) از نمای جانبی سر.



شکل ۷- پراکندگی افراد گروه های مختلف روی نمودار CVA از نمای جانبی سر در سر فیلماهی، تاس ماهی سیبری و هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی آنها.

جدول ۱. فواصل Mahalanobis بین گروه‌های مورد مطالعه از سه نما پشتی، شکمی و جانبی

نمای جانبی		نمای شکمی		نمای پشتی					
هیبرید	هیبرید	هیبرید	هیبرید	هیبرید	هیبرید				
تریپلوئید	دیپلوئیدی	تریپلوئید	دیپلوئیدی	تریپلوئیدی	دیپلوئیدی				
۷/۳۸۸۹	۶/۸۶۶۱	۵/۳۵۲۰	۹/۸۱۹۸	۹/۸۰۹۸	۹/۵۵۰۸	۶/۷۷۶۶	۷/۲۷۶۹	۸/۸۴۰۷	فیل ماهی
۴/۷۰۱۱	۳/۳۹۱۹		۴/۱۷۹۳	۳/۵۲۱۲		۴/۳۲۷۵	۳/۶۳۶۷		تاس ماهی
	۲/۳۸۹۰			۳/۱۷۵۹			۳/۴۷۶۰		هیبرید

۴. بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، تکنیک ریخت سنجی هندسی تمایز شکل سر ۲ گونه ماهی خاویاری (فیل ماهی و تاس ماهی روسی) و هیبریدهای آنها را نشان داد. مطالعات قبلی در مورد تاس ماهی سیبری و تاس ماهی آدریاتیک با استفاده از روش ریخت سنجی هندسی نیز نتایج مشابهی را نشان داده است (Costa et al., 2004). مطالعه دیگری نیز، آنالیز ریخت سنجی را برای مشخص کردن تفاوت شکل ناحیه سر ۲ گونه از ماهیان خاویاری مناسب شناخته است (Rincon, 2000). چنین نتایجی در مورد هیبریدهای دیپلوئید و تریپلوئید کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و گربه ماهی هندی (*Heteropneustes fossilis*) نیز به دست آمده است (Tiwary et al., 2004). ناحیه سر ماهیان خاویاری به عنوان حساس ترین جایگاه بروز تغییرات اکولوژیکی در زمان رشد مطرح شده است (Costa et al., 2006, Loy et al., 1999). بنابراین روش ریخت سنجی هندسی مشاهده اختلافات طبیعی شکل سر در بین ماهیان خاویاری را براساس نقاط لندمارک امکان پذیر می سازد. هیچ مستنداتی در ارتباط با معرفی گونه‌های خاویاری غیر بومی و تولید هیبرید آنها در محیط طبیعی روی گونه‌های بومی وجود ندارد ولی تاس ماهی سیبری در چند سال اخیر به مراکز و تاسیسات پرورشی ایران به عنوان یک گونه غیر بومی معرفی شده است و امکان فرار این ماهیان از مراکز پرورشی و ورود به آبهای طبیعی وجود دارد؛

از این رو تعریف یک ابزار ریخت سنجی موثر برای شناسایی هیبریدها در محیط طبیعی مهم است. زیرا مشکل شناسایی هیبرید یک مشکل در حیطه مدیریت ارزیابی ذخایر بوده و متداول ترین روش‌ها برای شناسایی هیبرید استفاده از ویژگی‌های ریختی (Wilson, 1992) و ژنتیکی (Ferguson et al., 1995) است.

تکنیک ریخت سنجی هندسی به طور موثری هیبریدهای دیپلوئیدی و تریپلوئیدی را از والدین متمایز و نشان داد که هیبریدهای تولید شده دارای شباهت پدری از نظر ریختی هستند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Costa و همکاران (2006) متناقض بود. Costa و همکاران (2006) گزارش کردند که هیبرید تولید شده دارای شباهت مادری از نظر ریختی هستند. دلیل این نتایج متفاوت می تواند به دلیل نقش یکی از والدین از نظر شرایط ژنتیکی روی شکل فرزندان باشد. Peruzz و همکاران (2010) تفاوت شکل به وجود آمده بین سی باس (*Dicentrarchus labrax*) و نتاج حاصل از تریپلوئید و ماده زایی را به وضعیت والدین و شرایط ژنتیکی آنها نسبت داده‌اند.

به طور کلی این تحقیق نشان داد که روش ریخت سنجی توان بالایی جهت آشکارسازی تفاوت شکل سر مولدین و هیبریدهای آنها دارد. ابزار ریخت سنجی به عنوان یک روش نوین بر پایه نقاط لندمارک در مدیریت آبی پروری و بررسی ذخایر آبیان شناخته شده است و می تواند به عنوان یک روش ارزان و موثر

- (Bonaparte, 1836) and their hybrid. *J. Appl. Ichthyol*, 22: 8-14.
- Ferguson, M.M., Likauskas, A.P., Danzmann, R.G. 1995. Genetic and environmental correlates of variation in body weight of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Can. J. Fish Aquat. Sci*, 52: 307-314.
- Findeis, E.K. 1997. Osteology and phylogenetic interrelationships of sturgeons (Acipenseridae). *Environ. Biol. Fish*, 48: 73-126.
- Garrido-Ramos, M.A., Soriguer, M.C., de la Herran, R., Jamilena, M., Ruiz Rejon, C., Domezain, A., Hernando, J.A., Ruiz Rejon, M. 1997. Morphometric and genetic analysis as proof of the existence of two sturgeon species in the Guadalquivir River. *Mar. Biol*, 129: 33-39.
- Geerinckx, T., Verhaegen, Y., Adriaens, D. 2008. Ontogenetic allometries and shape changes in the suckermouth armoured catfish *Ancistruscf. triradiatus* Eigenmann (Loricariidae, Siluriformes), related to suckermouth attachment and yolk-sac size. *J. Fish. Biol*, 72: 803-814.
- Gunette, S., Rassart, E., Fortin, F. 1992. Morphological differentiation of lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) from the St Lawrence River and Lac des Deux Montagnes (Quebec, Canada). *J. Fish. Aquat. Sci*, 49: 1959-1965.
- Hassanzadeh Saber, M., Noveiri, S.B., Pourkazemi, M., Yarmohammadi, M. 2008. Induction of gynogenesis in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) and its verification using microsatellite markers. *Aquaculture Res*, 39: 1483-1487.
- Klingenberg, C.P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol. Ecol. Res*, 11: 353-357.
- Loy, A., Bronzi, P., Molteni, S. 1999. Geometric morphometrics in the characterization of the cranial growth pattern of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii*. *J. Appl. Ichthyol. Journal Applied Ichthyology*, 15: 50-53.
- در شناخت هیبریدهای مختلف یک گونه ماهی به‌ویژه ماهیان خاویاری در محیط‌های پرورشی و طبیعت مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این، امکان کاربرد آن به عنوان یک آنالیز تکمیلی در مطالعات مولکولی و بیوشیمیایی وجود دارد.
- منابع**
- اسحق زاده، ح.، ایگدری، س.، پورباقر، ه.، کاظمی، ر.، ۱۳۹۱. مقایسه شکل در پیش لاروهای سالم و تلف شده فیل ماهی (*Huso huso*) و الگوهای بدشکلی با استفاده از روش ریخت سنجی هندسی. مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و یکم، شماره دوم، تابستان، صفحه ۱.
- Antonucci, F., Costa, C., Aguzzi, J., Cataudella, S. 2009. Ecomorphology of morpho-functional relationships in the family of sparidae: A quantitative statistic approach. *J Morphol*, 270: 843-855.
- Antonucci, F., Boglione, C., Cerasari, V., Caccia, E., Costa, C. 2012. External shape analyses in *Atherina boyeri* (Risso, 1810) from different environments. *Ital. J. Zool*, 79: 60-68.
- Artyukhin, E.N. 1995. On biogeography and relationships within the genus *Acipenser*. *Sturgeon Q*, 3: 6-8.
- Bemis, W.E., Kynard, B. 1997. Sturgeon rivers: an introduction to acipenseriform biogeography and life history. *Environ. Biol. Fish*, 48: 167-183.
- Bookstein, F.L., 1996. Landmark methods for forms without landmarks: localizing group differences in outline shape. In: (Ed.)^(Eds.). IEEE, pp. 279-289.
- Costa, C., Pasqualetto, L., Tibaldi, E., Loy, A. 2004. Shape changes and differences in the cranial region in *Acipenser baerii* and *A. naccarii* of different size. *Ital. J. Zool*, 71: 57-61.
- Costa, C., Tibaldi, E., Pasqualetto, L., Loy, A. 2006. Morphometric comparison of the cephalic region of cultured *Acipenser baerii* (Brandt, 1869), *Acipenser naccarii*

- sturgeon, *Acipenser baeri*, in the Lena River in relation with its culture in warm waters. *J Ichthyol*, 26: 88.
- Sokolov, L., Koshelev, B., Khalatyan, O., Ruban, G., Akimova, N., Sokolova, E. 1986. Ecomorphological characteristics of Siberian sturgeon *Acipenser baeri* from the Aldan river. *J. Ichthyol*, 26: 55-64.
- Tavaglioni, J., Conterio, F., Gandolf, i.G., Fontana, F. 1999. Mitochondrial DNA sequences of six sturgeon species and phylogenetic relationships within Acipenseridae. *J Appl Ichthyol*, 15: 17-22.
- Tiwary, B.K., Kirubakaran, R., Ray, A.K. 2004. The biology of triploid fish. *Rev. FishBiol. Fish*, 14: 391-402.
- Vasil'eva, E. D. 1999. Some morphological characteristics of Acipenserid fishes: considerations of their variability and utility in taxonomy. *J Appl Ichthyol*, 15: 32-34.
- Wilson, P. 1992. On inferring hybridity from morphological intermediacy. *Taxon*, 41: 11-23.
- Zelditch, M. 2004. Geometric morphometrics for biologists: a primer. Academic Press, pp.
- Neff, N.A., Smith, G.R. 1979. Multivariate analysis of hybrid fishes. *Syst. Zool*, 28: 176-196.
- North, J.A., Farr, A., Vecsei, P. 2002. A comparison of meristic and morphometric characters of green sturgeon *Acipenser medirostris*. *J. Appl. Ichthyol*, 18: 234-239.
- Peruzzi, S., Wiborg-Dahle, S., Haffray, P., Chatain, B., Primicerio, R. 2010. Body shape variation in meiotic gynogenetic and triploid sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquat. Living. Resour*, 23: 297-302.
- Rincon, P.A. 2000. Big fish, small fish: still the same species. Lack of morphometric evidence of the existence of two sturgeon species in the Guadalquivir River. *Mar. Biol*, 136: 715-723.
- Rohlf, F.J. 2001. Comparative methods for the analysis of continuous variables: geometric interpretations. *Evolution*, 55: 2143-2160.
- Rohlf, F.J., Slice, D.E. 1990. Extension of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Syst. Zool*, 39: 40-59.
- Ruban, G., Sokolov, L. 1986. Morphological variability of Siberian

A comparative study of head morphology shape between Sibrean sturgeon (*Acipenser baerii*), Beluga sturgeon (*Huso huso*) and their diploid and triploid hybrids (male Siberian sturgeon × female Beluga) using geometric morphometrics technique

Abstract

Polymorphism between the species of sturgeons due to natural hybridization, human manipulations and escaping hybrids from farms makes their identification difficult. Hence, this research was conducted to study the differences in head shape between the Great beluga (*Huso huso*), Sibrean sturgeon (*Acipenser baerii*) and their diploid and triploid hybrids (male Siberian sturgeon × female Beluga) using geometric morphometric technique. In total 120 specimens (30 specimens from each group) were sampled. Nine, twelve and thirteen landmark points were digitized on 2D images of the lateral, dorsal and ventral views of their head, respectively, using TpsDig2. Landmark data after GPA, was analyzed using CVA and MANOVA. The results showed significant differences in the terms of head shapes in all three views ($P < 0.001$). Based on Mahalanobis distances, the shape of head in ventral view has better ability to differentiate the species and their diploid and triploid hybrids. The results also showed that hybrids head shape are more similar to male parent. This study confirmed the ability of geometric morphometrics method as an effective, standard and low cost technique to identify sturgeon species and their hybrids.

Keywords: Beluga sturgeon, Siberian sturgeon, Hybrid, Geometric morphometrics

*Corresponding author, E-mail: hamideshaghzade@ut.ac.ir