امکان‌سنجی استفاده از ریخت‌سنجی هندسی لاروها در گونه سمندر لرستانی (*Neurergus kaiseri* , Schmidt 1952) جهت شناسایی جمعیت‌های آن

هادی خوش ناموند، منصوره ملکیان* و یزدان کیوانی

ایران، اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه محیط‌زیست

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

چکیده

سمندر لرستان (*Neurergus kaiseri* , Schmidt 1952) گونه‌ای از دوزیستان بومی کشور است که در رودخانه‌ها، چشمه‌ها و آبشارهای مناطق کوهستانی زاگرس مرکزی، در محدوده جنوب لرستان و شمال خوزستان، دیده می‌شود. این مطالعه برای اولین بار در کشور بر روی لاروهای گونه سمندر لرستانی انجام گرفت تا امکان استفاده از صفات ریختی در تمایزات جمعیتی این‌گونه بررسی شود. عکسبرداری از لاروها جهت تحلیل ریخت‌سنجی هندسی در هشت سایت و روی ۱۱۲ نمونه انجام گرفت. صفات موردنظر به روش لندمارک‌گذاری دو بعدی و با استفاده از تکنیک ریخت‌سنجی هندسی با ۱۹ لندمارک انتخاب و رقومی‌سازی شد. داده‌های شکلی حاصل پس از تحلیل رویهم گذاری، با استفاده از روشهای آماری چند متغیره (PCA و CVA) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ازنظر شکلی، تفاوت معنی‌داری بین لاروها در جمعیت‌های مورد مطالعه وجود دارد و جمعیت‌های شمالی و جنوبی این‌گونه دو گروه مجزا را تشکیل می‌دهند. با توجه به تفاوت‌های ریختی در سایت‌های موردمطالعه و لزوم حفاظت از آنها و دشواری تشخیص لاروهای این‌گونه باتوجه به الگوهای رنگی بدن، رهاسازی لاروهای کشف‌شده از شکارچیان باید بااحتیاط بیشتری صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: سمندر لرستانی، لارو، ریخت سنجی هندسی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۳۹۱۳۵۶۶-۰۳۱، پست الکترونیکی:mmalekian@cc.iut.ac.ir

مقدمه

ریخت‌سنجی عبارت است از توصیف شکل موجودات زنده و مقایسه آنها براساس صفات ظاهری، که بعنوان ابزاری بسیار مفید در پژوهش‌های بیوسیستماتیک، رشد و تکامل شناخته می‌شود (۱۰). فرایندهای مختلف نظیر تکامل و سازش با متغیرهای محیطی در درازمدت باعث تفاوت در شکل افراد می‌شود. بنابراین، تحلیل‌های ریختی روشی برای درک عوامل مؤثر بر تغییر شکل‌های ریختی است (۲۰). تحلیل‌های ریخت‌سنجی به دو روش: ۱) ریخت‌سنجی سنتی که بر پایه تحلیل‌های آماری فواصل اندازه‌گیری شده روی ساختارهای زیستی از قبیل: طول، عرض، عمق و گاهی اوقات نسبت‌ها و زاویه‌ها و ۲) ریخت‌سنجی هندسی که مبتنی بر لندمارک‌ها، منحنی‌های خط سیر پیرامونی و شبه لندمارک‌ها برای گرفتن اطلاعات هندسی از ساختارهای زیستی است، تقسیم می‌شوند. ریخت‌سنجی سنتی در علوم زیستی مورد استفاده قرارگرفته است ولی دارای محدودیت‌هایی اساسی ازجمله وقت‌گیر بودن، دقت کم، تعداد کم، تأثیرپذیری شدید از محیط، مرحله رشد و سن است. در ریخت‌سنجی سنتی اندازه‌گیری فاصله‌های خطی همبستگی بالایی با اندازه موجود دارد که ممکن است تحلیل شکل را مشکل سازد و با تعیین صفات نسبتی بین دو یا چند

صفت اندازشی می‌توان این همبستگی را کاهش و تأثیر آن را از تحلیل نهایی خارج نمود (۳۲).

ظهور ریخت‌سنجی هندسی به همراه کاربرد آمار چندمتغیره، باعث غلبه بر محدودیت‌های ریخت‌سنجی سنتی و تحول در آن شد (۲۴). روش مبتنی بر لندمارک در ریخت‌سنجی هندسی به مقایسه شکلها بر اساس اطلاعات نقاط لندمارک دوبعدی (x, y) و یا سه‌بعدی (x,y,z) به‌عنوان نقاط همولوگ می پردازد (۲۳). بزرگترین مزیت این روش حفظ موقعیت هندسی لندمارک‌ها در تحلیل آن‌ها می‌باشد که این امر، ارائه نتایج را بصورت گرافیکی و در قالب شبکه‌ای ممکن می‌کند که تفسیر آن بسیار آسان‌تر از تفسیر جداول ضرایب عددی درروش ریخت‌سنجی سنتی است (۲۴ و ۲۵). به‌علت محدودیت‌های روش ریخت‌سنجی سنتی، در سال‌های اخیر روش ریخت‌سنجی هندسی بسیار موردتوجه قرارگرفته است. لذا روشی جدید و باقابلیت بالا در مطالعات زیست‌شناسی و ازجمله مطالعات ریخت‌شناسی شناخته می‌شود (۲۴).

استفاده از ریخت‌سنجی هندسی در گونه‌های مختلف برای شناسایی بالغین و لاروها مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌عنوان مثال امینی و همکاران (۱۳۹۵) با استفاده از روش ریخت سنجی هندسی به شناسایی لاروهای گونه‌های مختلف در شورت‌ماهیان(*Sillaginidae*) پرداختند و نتیجه گرفتند که ابزار ریخت‌سنجی هندسی به‌عنوان ابزاری مکملی در کنار نتایج ژنتیکی برای جدایی جمعیت‌های یک‌گونه در هنگام لاروی بسیار مفید و کارآمد است. اسحق‌زاده و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی مقایسه‌ای لاروهای سالم و تلف‌شده فیل‌ماهی (Huso huso) پرداختند و اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌های سالم و تلف‌شده در این‌گونه ماهی مشاهده کردند. مشیدی و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه‌ای بااستفاده از ریخت‌سنجی هندسی، تغییرات شکل بدن و توسعه خصوصیات ریختی ماهی آنجل (Petophyllum scalare) در طی مراحل تکوین لاروها پرداخته و مراحل اولیه رشد این‌گونه را به پنج مرحله تقسیم نمود. لوسیا و همکاران (۲۰۱۷) ابزار ریخت‌سنجی هندسی را به‌عنوان روشی غیرتهاجمی برای بررسی تغییر شکل در قسمت سر لاروها در گونه سمندر آذرین (Salamandra salamandra) معرفی نمود. تغییرات شکل بدن لاروهای سمندر آذرین در مناطق مختلف بااستفاده از ریخت‌سنجی هندسی بررسی شد (۱۹ و ۲۱) و نشان داد که ریخت‌سنجی هندسی قادر است جمعیت‌های این‌گونه را در مرحله لاروی از یکدیگر بخوبی تفکیک نماید. در مقابل، مطالعاتی نیز وجود دارند که نشان می‌دهند صفات ظاهری لاروهای بعضی از جمعیت‌های گونه‌های سمندر بدون تغییر و ثابت است و دو شکلی جنسی و تغییرات در شکل ظاهری بدن در مراحل بعد از مرحله لاروی اتفاق می‌افتد (۱۶). بنابراین، باتوجه به موارد مذکور امکان استفاده از ریخت‌سنجی لاروها و شناسایی جمعیت‌ها براساس آنها در برخی از گونه‌ها وجود دارد.

دوزیستان به‌عنوان شاخص‌های زیستی تلقی می‌شوند که از اهمیت زیستی و بوم‌شناختی زیادی (مثل کنترل حشرات) برخوردار می‌باشند (۷). دوزیستان از انعطاف‌پذیری ریختی برخوردارند که به آنها اجازه می‌دهد تا نسبت به تغییرات محیطی به‌صورت فیزیولوژیک و رفتاری پاسخی دهند که منجر به تغییرات ریختی آن‌ها شده و بدین ترتیب اثر تغییرات محیطی تعدیل می‌گردد. مرحله لاروی از حساس‌ترین مراحل چرخه زندگی دوزیستان می‌باشد، زیرا با گذر از این مرحله سازگاری جانور با محیط به اوج خود می‌رسد و دوزیستانی که بتوانند از این مرحله به‌سلامت عبور کنند از شانس بیشتری برای تداوم نسل برخوردارند (۳۱).

سمندرها متعلق به راسته دوزیستان دم‌دار بوده که در ایران در مناطق کوهستانی و حاشیه جنگل‌های زاگرس و البرز زیست می‌کنند (۶). سمندر لرستانی (N. kaiseri) گونه‌ای بومی ایران است، در مناطق جنوبی رشته‌کوه‌های زاگرس در نهرها،

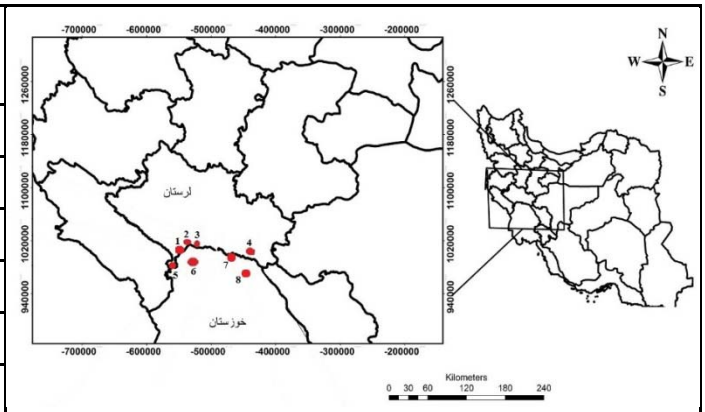
چشمه‌ها و آبشارهای مناطق کوهستانی و در جنوب استان لرستان و شمال استان خوزستان دیده می‌شود (۱۴ و ۲۲). تجارت و خریدوفروش غیرقانونی، سمندر لرستانی را تهدید نموده و جمعیت این‌گونه رو به کاهش بوده و در فهرست قرمز IUCN در رده آسیب‌پذیر قرار دارد (۱۷ و ۲۷). باوجود اهمیت زیستی و حفاظتی این‌گونه بومی کشور، مطالعات اندکی روی این‌گونه صورت گرفته است و مطالعات موجود اغلب محدود به بررسی توصیفی پراکنش و فراوانی این‌گونه (۲۲ و ۲۷) و بررسی رشد و تولیدمثل آن است (۱۳). بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت سمندر لرستانی نشان داد که جمعیت‌های این‌گونه به دو تبار ژنتیکی متمایز (تبار شمالی و جنوبی) تفکیک می‌شوند (۱۴). صید غیرقانونی لارو این‌گونه در مناطق مختلف صورت می‌گیرد و معمولاً بازگرداندن لاروهای کشف‌شده از شکارچیان شده باتوجه به الگوهای رنگی غیرهمسان در بین لاروهای سمندر لرستانی صورت می‌گیرد (شکل ۱) که کاری دشوار و توام با خطا است. مطالعات نشان داده است که تفاوت‌های اقلیمی بین مناطق زیست این‌گونه در دو استان خوزستان و لرستان وجود دارد (۲۲). بنابراین، رها کردن لاروهای بدست آمده از شکارچیان، بدون هیچ‌گونه مطالعه‌ای در خارج از محل تولد خود، می‌تواند به مرگ آن‌ها منجر شده و در صورت بقا آمیختگی ژنتیکی در هنگام بلوغ را فراهم آورده، که منجر به فرسایش ژنتیکی در بلندمدت خواهد شد. هدف از این پژوهش، امکان‌سنجی استفاده از ریخت‌سنجی هندسی لاروها برای شناسایی جمعیت‌های سمندر لرستانی در محدوده پراکنش آن و بررسی جدایی جمعیت‌های شمالی و جنوبی این‌گونه براساس صفات ریختی می‌باشد.

شکل ۱- الگوهای رنگی متفاوت لاروهای سمندر لرستانی.

مواد و روشها

سمندر لرستانی در مناطق کوهستانی زاگرس مرکزی، در استان‌های لرستان و خوزستان، و در محدوده ارتفاعی ۳۸۵ تا ۱۵۰۰ متر از سطح دریا پراکنش دارد (۱۷ و ۲۷). منطقه موردمطالعه در این پژوهش بخش‌هایی از جنوب استان لرستان و شمال استان خوزستان می‌باشد (شکل ۲). نمونه-برداری در آبان ماه ۱۳۹۵، طی یک هفته و در طول روز در بین ساعات ۹ صبح تا اواخر بعدازظهر صورت گرفت. لاروها بااستفاده از تور دستی (ساچوک) با قطر دهانه ۴۰ سانتی‌متر صید شدند. با بررسی دقیق کارشناسی (ارزیابی اندازه بدن و وجود آبشش) سعی شد که همه لاروها در یک مرحله رشدی بوده (لاروهای یکساله) تا تغییرات شکلی ناشی از رشد آلومتریک لاروها به حداقل برسد. لاروها بدون استفاده از بیهوشی و از طریق خارج کردن از آب و قراردادن آنها در معرض نور، بی‌حرکت و ثابت شدند و شرایط مناسب برای تهیه عکس‌ها فراهم گردید.

شماره	اسم منطقه	تعداد نمونه	مختصات جغرافیایی
۱	کول چپ	۱۴	32 ° 09 ′05″ N, 48 ° 23′ 01″E
۲	دره گل	۱۴	32 ° 55 ′03″ N, 48 ° 10′ 11″E
۳	کرسر	۱۵	32 ° 60′ 00″ N, 48 ° 10′ 34″ E
۴	وژن آب	۱۲	33 ° 00 ′ 30 ″N, 48 ° 11′ 32″ E
۵	شاهزاده احمد	۱۴	32 ° 09 ′09″ N, 48 ° 53′ 11″E
۶	توه	۱۴	49 ° 40 ′32″ N, 48° 00 ′42 °E
۷	تله زنگ	۱۵	32 ° 45 ′03″ N, 48 ° 50′ 21″E
۸	منگره	۱۴	32 ° 00 ′ 08″ N, 48º 02 ′ 12″ E



شکل ۲- موقعیت منطقه موردمطالعه و سایت‌های نمونه‌برداری به همراه تعداد نمونه در هر سایت

عکسبرداری از لاروها توسط یک فرد با رعایت اصول استاندارد (قرارگیری در یک‌فاصله معین و با گذاشتن مقیاس) انجام شد. نمونه‌ها به شیوه‌ای استاندارد (۹ و ۲۰) با یک دوربین دیجیتال مدل پاناسونیک و با بزرگنمایی ۸ مگاپیکسل عکسبرداری شدند. عکسبرداری از لاروها در ۸ ایستگاه (سایت) و روی۱۱۲ نمونه انجام گرفت. مراحل نمونه‌برداری و عکسبرداری از لاروها در محل انجام شد و سپس تمامی لاروها رهاسازی شدند. نام و موقعیت سایت‌های نمونه‌برداری و تعداد نمونه در هر سایت در شکل ۲ آمده است. صفات موردنظر به روش لندمارک گذاری دوبعدی و با استفاده از تکنیک ریخت‌سنجی هندسی با ۱۹ لند مارک با استفاده از نرم‌افزار $TpsDig_2$ بر روی قسمت سر و تنه جانور (شکل ۳) مشخص و رقومی سازی شدند (۲۴).

از تحلیل پروکراست برای حذف تغییرات غیرشکلی (اندازه، جهت و موقعیت) استفاده شد. به‌منظور یافتن متغیرهای فرضی (مؤلفه‌های اصلی) از روش PCA و همچنین از تحلیل تابع متمایز کننده (CVA) برای تمایز جمعیت سایت‌های مورد نظر و تحلیل خوشه‌ای در نرم‌افزار PAST استفاده گردید (۱۵). سپس داده‌های حاصله از شکل میانگین بدن جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار Morpho J مورد تحلیل قرارگرفتند (۲۴).

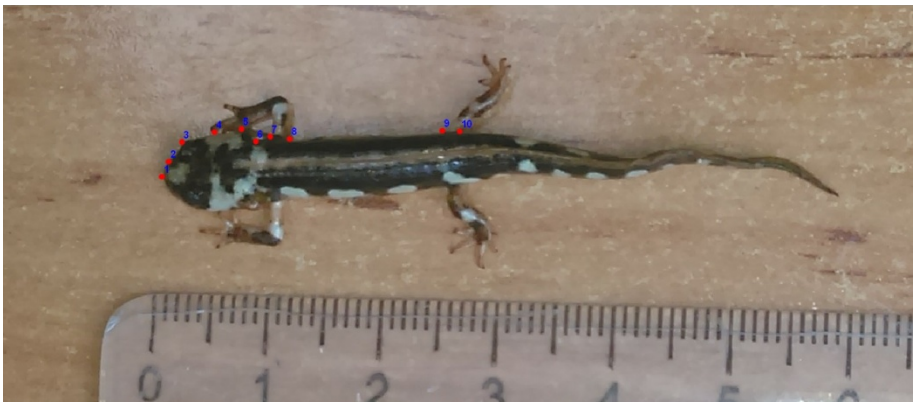
نتایج

بااستفاده از آزمون Scree plot و تحلیل PCA، تعداد ۳۸ عامل استخراج شد که از بین آنها ۴ عامل بالاتر از خط جولیف قرار داشتند و درمجموع ۶۷/۸ درصد واریانس‌ها را به خود اختصاص دادند (شکل ۴). به‌منظور بررسی احتمال وجود تفاوت بین نمونه‌ها، نمودار پراکنش براساس دو مؤلفه اصلی ترسیم شد که مؤلفه اصلی اول (PC_1) ۳۳/۵۳ درصد و مؤلفه اصلی دوم (PC_2) ۲۰/۵۴ درصد واریانس‌ها را به خود اختصاص دادند (جدول ۱).

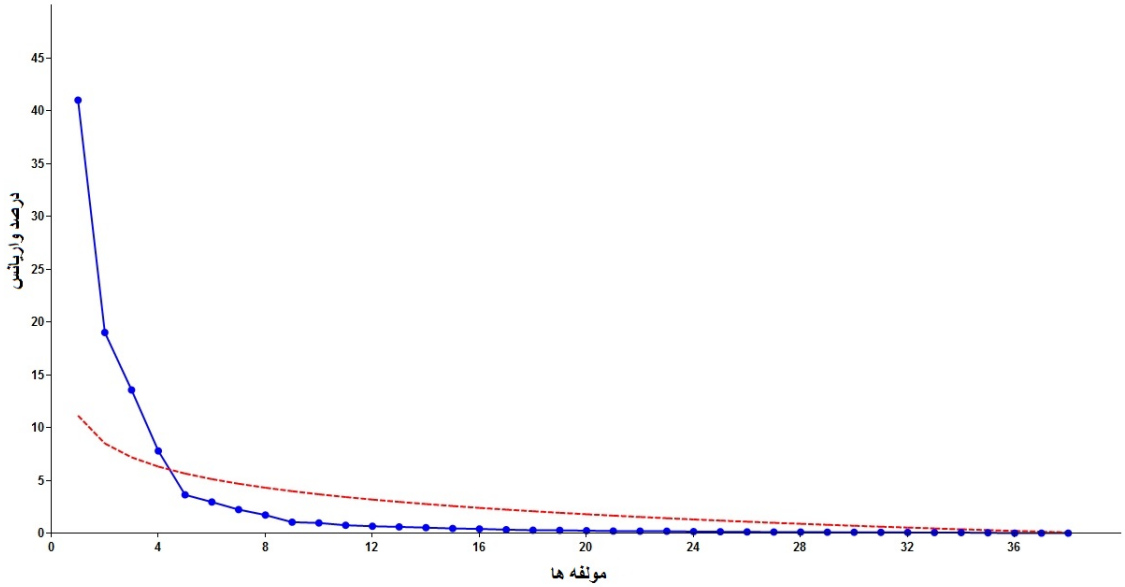
جدول ۱- مقادیر مربوط به مؤلفه های اصلی حاصل از تحلیل PCA

مؤلفه ها	درصد فراوانی	مقادیر ویژه (Eigenvalue)
۱	۳۳/۵۳	۰/۰۰۰۷۹
۲	۲۰/۵۴	۰/۰۰۰۴۸
۳	۸/۴۱	۰/۰۰۰۲
۴	۵/۳۲	۰/۰۰۰۱

نمودار پراکنش مؤلفهّای اصلی، جمعیت‌های موردنظر (کلاد شمالی و جنوبی) را از یکدیگر تفکیک نکرد (شکل ۵).



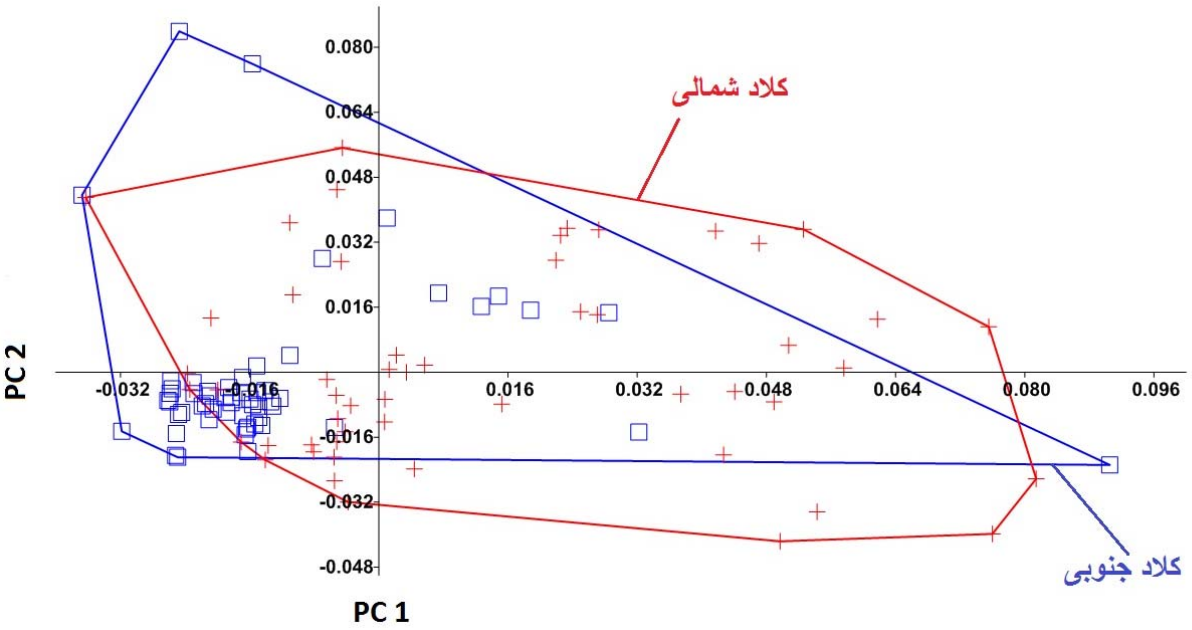
شکل ۳- لند مارک‌های تعیین‌شده بر روی نمونه‌های سمندر لرستانی: ۱- نوک پوزه، ۲- ابتدای حدقه چشم، ۳- حاشیه خارجی وسط حدقه چشم، ۴- انتهای حدقه چشم، ۵- لبه بالایی قاعده انتهای فک، ۶- انتهای سر، ۷- ابتدای قاعده دست، ۸- انتهای قاعده دست، ۹- ابتدای قاعده پا، ۱۰- انتهای قاعده پا



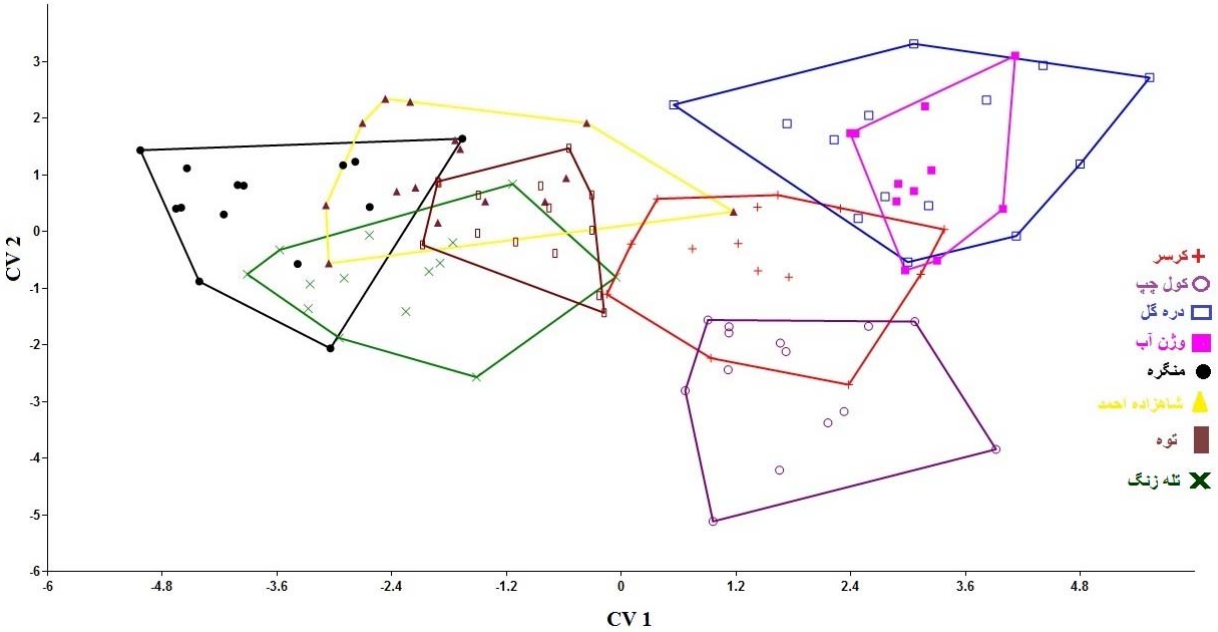
شکل ۴- نمودار نقطه‌ای مؤلفه‌های اصلی شکل و نمایش نقطه برش جولیف (خط نقطه‌چین) که نشان‌دهنده مرز مؤلفه‌های اصلی است.

برای بررسی اختلافات بین سایت‌های نمونه‌برداری از آزمون تحلیل متغیرهای کانونی (CVA) استفاده گردید. تحلیل متغیرهای کانونی فرض جدا بودن جمعیت‌های موردمطالعه، با کاهش واریانس درون‌گروهی و افزایش واریانس بین گروه‌ها، ارتباط بین جمعیت‌های موردمطالعه و میزان تفاوت آن‌ها را بهتر نشان می‌دهد و نمودار پراکنش نقاط جمعیت-های موردمطالعه را بر روی CVA_1 و CVA_2 نشان می‌دهد (شکل۶). با توجه به نتایج حاصل از این تحلیل دو گروه مجزا قابل‌تشخیص است که گروه اول شامل جمعیت‌های لرستان (کرسر، دره گل، وژن آب و کول چپ) و گروه دوم شامل جمعیت‌های شمال خوزستان (منگره، تله زنگ، توه و شاهزاده احمد) می‌باشد. نتایج حاصل از تحلیل خوشه‌ای نیز وجود دو گروه مجزا در این جمعیت‌ها را تائید کرد (شکل ۷)، بگونه ای که جمعیت‌های شمال خوزستان در خوشه‌ای مجزا از جمعیت‌های جنوب لرستان قرارگرفتند. تنها تفاوت مشاهده‌شده در این تحلیل، نمونه‌های سایت کول چپ می‌باشند که علی‌رغم موقعیت جغرافیایی (قرارگیری در استان لرستان)، در خوشه مربوط به جمعیت‌های خوزستان قرارگرفتند. براساس تحلیل نمودار شبکه‌ای مشخص شد که الگوهای جابجایی لندمارک ها نمونه‌های سایت وژن آب نسبت به بقیه جمعیت سایت‌های دیگر تمایل بیشتری به سمت عقب داشتند درصورتی‌که نمونه‌های سایت کرسر

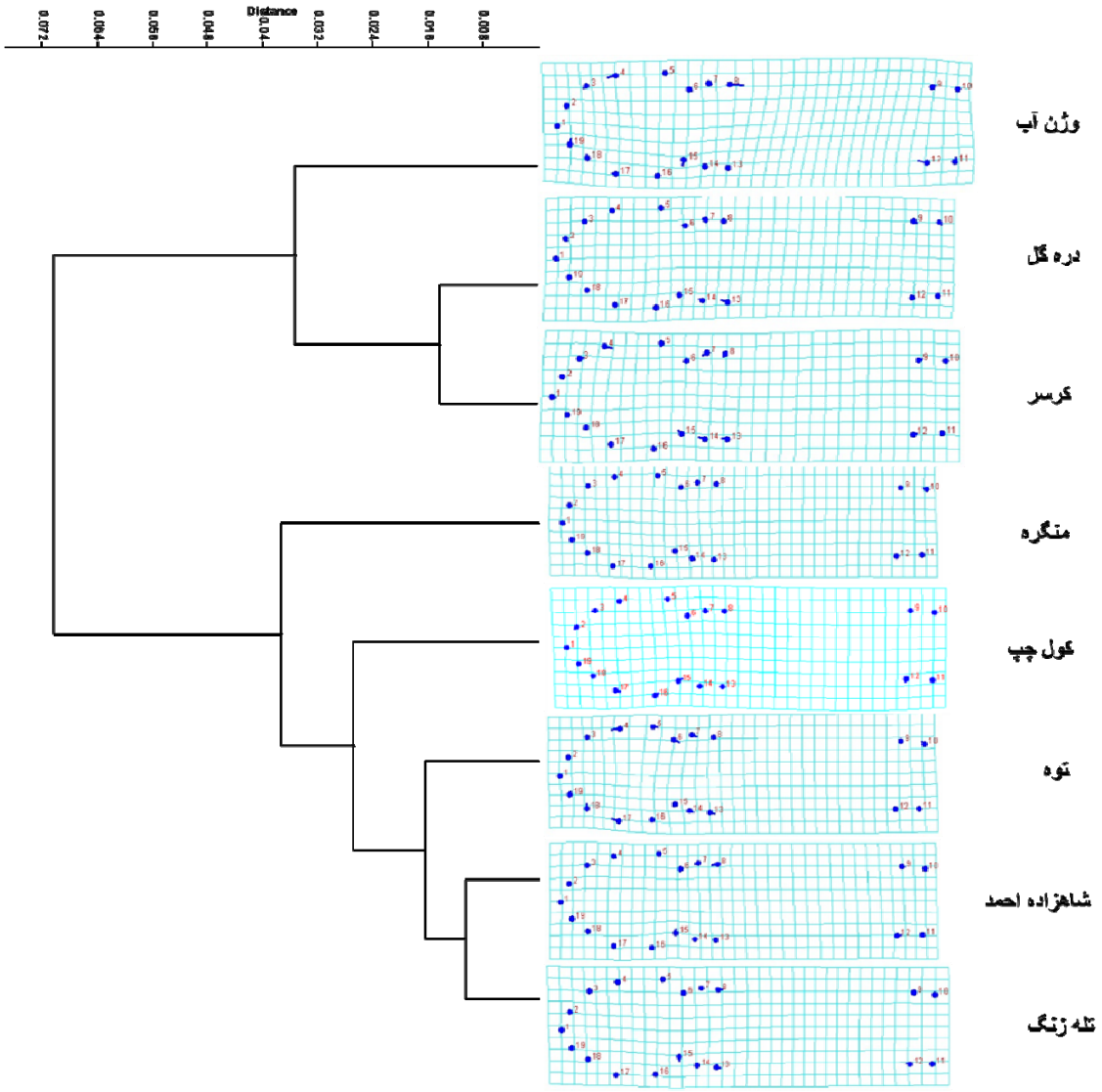
نسبت به بقیه جمعیت سایت‌های دیگر تمایل بیشتری به سمت جلو داشتند که این دو جمعیت همراه با جمعیت سایت دره‌گل در یک خوشه قرارگرفتند. همچنین جمعیت-های سایت‌های وژن آب، دره گل و کرسر دارای پوزه کشیده‌تر و عمق سر بیشتری نسبت به سایر جمعیت‌ها هستند. نمونه‌های سایت توه و تله زنگ در قسمت سر دارای تمایل به سمت جلو و قسمت تنه در آن‌ها تمایل به سمت عقب را داشتند که نشان از کشیده شدن بدن است.



شکل ۵- نمودار تمایز دو کلاد شمالی و جنوبی براساس صفات ریخت‌سنجی لاروهای سمندر لرستانی براساس دو مؤلفه اصلی اول (PC_1) و دوم(PC_2).



شکل ۶- نمودار تمایز جمعیت‌های موردمطالعه براساس دو مؤلفه اول و دوم حاصل از تجزیه‌وتحلیل کانونی (CV_1 و CV_2)



شکل۷- تحلیل خوشه‌ای شکل بدن هشت جمعیت موردمطالعه از سمندر لرستانی در شمال خوزستان (منگره، تله زنگ، توه و شاهزاده احمد) و جنوب لرستان (کرسر، دره گل، وژن آب و کول چپ)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بررسی حاضر نشان داد که جمعیت‌های سمندر تفاوت‌های ریخت‌شناسی معنی‌داری را نشان می‌دهند و به‌طورکلی دو گروه مجزا شامل جمعیت‌های جنوب لرستان و شمال خوزستان قابل‌تفکیک می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعه ژنتیکی در جمعیت‌های سمندر نیز وجود دو تبار مجزا در این‌گونه را نشان داد که تبار شمالی مشتمل بر جمعیت‌های جنوب استان لرستان و تبار جنوبی، جمعیت‌های شمال استان خوزستان را در برمی‌گرفت (۱۴). دراین تحقیق نمونه‌های سایت کول چپ برخلاف انتظار باجمعیت‌های استان خوزستان دریک خوشه قرارگرفت. این سایت در مرز دو استان و متمایل به استان خوزستان قرارداشته و سرشاخه اصلی آب آن از استان خوزستان تأمین می‌شود. در مطالعه

فراست و همکاران (۲۰۱۶) نمونه‌برداری از این سایت انجام‌نشده و از زیستگاه‌های نسبتاً جدیدی است که توسط محیط‌بانان استان لرستان ثبت‌شده است.

در این مطالعه نمونه‌برداری در طول کمتر از یک هفته انجام شد، لذا احتمال تأثیر فصل یا زمان نمونه‌برداری بر تفاوت-های شکلی مشاهده شده منتفی می‌باشد. باتوجه به تأثیراتی که عامل اندازه روی بسیاری از صفات ریختی می‌گذارد، تحلیل پروکراست توسط الیوت و همکاران (۱۹۹۵) جهت حذف عامل اندازه پیشنهاد گردیده که در حال حاضر در تمامی پژوهش‌های ریخت‌سنجی هندسی (از جمله مطالعه حاضر) جهت حذف عامل اندازه انجام می‌گیرد. بنابراین می‌توان انتظار داشت که تفاوت‌های شکلی مشاهده‌شده واقعی باشند.

شواهد نشان داده است که شکل بدن شاخص قابل‌اعتمادی برای رفتار شنا و انتخاب زیستگاه در موجودات آبزی است (۴ و ۵) بنابراین شکل بدن جانوران نه‌تنها ویژگی‌های ژنتیکی را نشان می‌دهد بلکه می‌تواند منعکس‌کننده وضعیت زیستگاه جانور نیز باشد (۳ و ۱۷). مشاهدات میدانی نشان داد که زیستگاه‌های سمندر در استان لرستان را بیشتر چشمه-ها و جویبارهایی تشکیل می‌دهند که آب با سرعت‌های متفاوت در آنها جاری است ولی در استان خوزستان زیستگاه سمندر برکه‌ها و حوضچه‌های آب راکد و یا با جریان نسبتاً کندی است. در اکوسیستم‌های آبی چنین سازگاری‌هایی درنتیجه نیاز به سازش با نیروهای هیدرودینامیکی برای حفظ انرژی طی رفتارهای زیستی مرتبط است (۲۲ و ۳۰). مطالعات نشان داده است که حتی در بین جمعیت‌های مختلف یک‌گونه نیز شرایط زیستگاهی می‌تواند تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر ریخت‌شناسی جانوران داشته باشد (۱۲) و عوامل محیطی بر نرخ رشد و تمایز جمعیت‌های یک‌گونه تأثیرگذار باشد (۱۸، ۳۰، ۳۱ و ۳۲). اسمیت و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که عامل محیطی دما باعث بوجود آوردن اختلاف بین اندازه لاروها در گونه سمندر (Taricha granulosa) می‌شود و تغییرات دمایی در هنگام لاروی باعث واکنش در این‌گونه سمندر می‌شود. در مطالعه فراست و همکاران (۲۰۱۶) به تفاوت‌های زیست- اقلیمی محدوده پراکنش دو تبار شمالی و جنوبی سمندر لرستانی اشاره شد. جمعیت‌های تبار شمالی (استان لرستان) زیستگاه‌های مرطوب و در ارتفاعات بالاتر در مقایسه با جمعیت‌های تبار جنوبی (استان خوزستان) که زیستگاه‌های خشک و کم‌ارتفاع هستند. باتوجه به نتایج پژوهش حاضر و وجود اختلاف ریختی بین لاروهای جمعیت‌های مورد مطالعه، به نظر می‌رسد که نیازهای زیستی- محیطی بین جمعیت‌ها در دوره لاروی یکسان نیست. هاسومی (۲۰۱۰) مشخص نمود که شکل بدن، اندازه و دوشکلی جنسی (Salamandrella keyserlingii) از مرحله لاروی اتفاق می‌افتد. همچنین والز و همکاران (۱۹۹۳) به بررسی وجود اختلافات ریختی در لاروهای سمندر پرداختند و نشان دادند که مصرف انواع مختلف طعمه منجر به شکل‌پذیری در فرم سر شده و شکل سر تحت تأثیر نوع تغذیه در دوره لاروی قرار می‌گیرد. تغذیه متفاوت نقش مهمی در انعطاف‌پذیری شکل بدن سمندرها دارد (۳۳). بنابراین، لاروهای سمندر لرستانی بعلت کوچکی جثه و یکسان بودن اندازه بدن و سر، احتمالاً رژیم غذایی متفاوتی را بر می‌گزینند و ممکن است تکامل در شکل و انعطاف‌پذیری لاروهای سمندر یک استراتژی برای سازش با شرایط زیست‌محیطی باشد (۱۸ و ۱۹). علاوه براین، تغییر در اندازه لاروهای سمندر می‌تواند نشانه رقابت بین افراد در تغذیه باشد. برانکو (۱۹۹۶) و اسمیت (۱۹۹۰) نشان دادند که در گونه‌های سمندری که در هنگام لاروی از لحاظ اندازه با یکدیگر متفاوتند، این تفاوت ناشی از رقابت تغذیه‌ای بین افراد است. بررسی رژیم غذایی و رقابت تغذیه‌ای در سمندر لرستانی نیازمند پژوهش‌های بیشتر است.

به‌طورکلی این پژوهش نشان می‌دهد که در مرحله لاروی ازلحاظ ریختی بین سمندر لرستانی در جمعیت سایت‌های موردمطالعه تفاوت وجود دارد و تغییری که در صفات ریختی در هنگام لاروی رخ می‌دهد می‌تواند پس‌ازاین مرحله به تفاوت بالغین در جمعیت‌های این‌گونه منجر شود. توصیه می‌شود که در رهاسازی لاروهای سمندر که از متخلفین به دست می‌آید دقت بیشتری صورت پذیرد تا لاروها به محیط اصلی خود برگردانده شوند و از اختلاط و فرسایش ژنتیکی جلوگیری شود.

تقدیر و تشکر

از همکاری صمیمانه مسئولان اداره‌های کل حفاظت محیط-زیست استان لرستان و خوزستان و همچنین راهنمایی‌های دلسوزانه مهندس محسن امیری و محیط‌بان مجتبی دریکوند سپاسگزاریم.

منابع

۱. اسحق زاده، ح.، ایگدری، س.، پورباقر، ه.، و کاظمی، ر.، ۱۳۹۱. مقایسه شکل در پیش لاروهای سالم و تلف‌شده فیل‌ماهی(*Huso huso*) الگوهای بدشکلی بااستفاده از روش ریخت سنجی هندسی، مجله علمی شیلات ایران، سال ۲۱. شماره ۲. صفحات ۱ – ۱۰.

۲. امینی، م.، قربانی، ر.، شعبانی، ع.، ربانیها، م.، نوری‌نژاد، م.، ندافی، ر.، و کلنگی میاندره، ح.، ۱۳۹۵. شناسایی لارو گونه‌های مختلف شوورت ماهیان (*Perciformes: Sillaginidae*) در خلیج‌فارس، با روشهای ریخت‌شناسی و خط شناسه گذاری DNA. مجله علمی شیلات ایران، سال بیست و پنجم. شماره ۱، صفحات ۱ – ۱۰.

۳. رضوی پور، پ.، ایگدری، س.، پورباقر، ه.، کیوانی، ی.، ۱۳۹۴. بررسی انعطاف‌پذیری ریختی سیاه ماهی توئینی (*Capoeta damascina* Valenciennes, 1842) (شعاع بالگان: کپور ماهیان)در بخش ایرانی حوضه دجله با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۸، شماره ۲، صفحات ۱۷۰ – ۱۷۹.

۴. طباطبایی، ص. ن.، ایگدری، س.، هاشم زاده سقرلو، ا.، و زمانی فرادنبه، م.، ۱۳۹۴. بررسی ویژگیهای زیستگاهی انتخابی بزرگ‌مقیاس سگ‌ماهی جویباری سفیدرود *Oxynoemacheilus bergianus* در رودخانه کردان (حوضه دریاچه نمک، استان البرز) در فصل پاییز، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۸ ، شماره ۳، صفحات ۳۶۱ – ۳۷۰.

۵. مشیدی، م.، ایگدری، س.، و موسوی‌ثابت، ح.، ۱۳۹۳. مطالعه تغییرات شکل بدن و توسعه خصوصیات ریختی ماهی آنجل(*Pterophyllum scalare*)، در طی مراحل اولیه تکوین. مجله علوم تکثیر و پرورش آبزیان. دوره ۲، شماره ۳، صفحات ۶۷ – ۷۶.

۶. نصراله پورمقدم، م.، و ایگدری، س.، ۱۳۹۲. تأثیر درجه‌حرارت برشکل بدن ماهی آنجل(*Pterophyllum scalare* Lichtenstein, 1823) در مراحل اولیه رشد بااستفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی، مجله بوم‌شناسی آبزیان، سال ۳، شماره ۲، صفحات ۳۰ – ۳۶.

۷. محمدیان، ح.، ۱۳۸۲. خزندگان و دوزیستان ایران، انتشارات شبپره، ۲۲۶ صفحه.

8. Brunkow, E., and Collins, P., 1996. Effects of individual variation in size on growth and development of larval salamanders. Ecology, Vol. 77, PP: 1483-1492.

9- Bookstein, F., 1997. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. Medical Image Analysis, Vol. 1, PP: 225-243.

10- Bookstein, F. L, 1991. Morphometric tools for landmark data:geometri and biology. Cambridge: Cambrige University Press.

11- Elliott, N. G., Haskard, K., and Koslow, J. A., 1995. Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atianticus*) off the continental slope of southern Australia. Journal of Fish Biology, 46(2), PP: 202-220.

12- Goldberg, T., Nevo, E., and Degani, G., 2012. Phenotypic plasticity in larval development of six amphibian species in stressful natural environments. Zoological Studies, Vol. 51, PP: 345-361.

13- Farasat, H., and Sharifi, M., 2015. Ageing and Growth of the Endangered Kaiser's Mountain Newt, *Neurergus kaiseri* (Caudata: Salamandridae), in the Southern Zagros Range Iran. Journal of Herpetology, Vol. 3(3), PP: 234-245.

14- Farasat, H., Akmali, V., and Sharifi, M., 2016. Population Genetic Structure of the Endangered Kaiser's Mountain Newt, *Neurergus kaiseri* (Amphibia: Salamandridae). PlosOne Doi: 10.1371/journal.pone.0149596.

15- Hammer, O., Harper, D., and Ryan, P., 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica.

16- Hasumi, M., 2010. Age, body size, and sexual dimorphism in size and shape in *Salamandrella keyserlingii* (Caudata: Hynobiidae), Evolutionary Biology (USA, International), Vol. 37(1), PP: 38-48.

17. IUCN Amphibian Specialist Group, 2016. *Neurergus kaiseri*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T59450A49436271. http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3. RLTS. T59450A49436271.en. Downloaded on September 2017.

18- Keckeis, S., 2013. Geometric morphometrics of body shape of *Salamandra salamandra* larvae from diverse water bodies, MSc Zoology (Mag.rer.nat program, Specialization: Zoology), University of Vienna.

19- Lucia, A., 2017. A non-invasive geometric morphometrics method for exploring variation in dorsal head shape in Urodeles: sexual dimorphism and geographic variation in *Salamandra salamandra*, Journal of Morphology, vol. 278 (4), PP: 475- 485.

20- Mitteroecker, P., and Gunz, P., 2009. Advances in geometric morphometrics. Evolutionary Biology, Vol. 36, PP: 235-247.

21- Manenti, R., Denoël, M., and Ficetola, G., 2013. Foraging plasticity favours adaptation to new habitats in fire salamanders. Animal Behaviour, Vol. 86, PP: 375-382.

22- Mobaraki, A., Amiri, M., Alvandi, R., Ebrahim Tehrani, M., Zarin Kia, H., Khoshnamvand, A., Bali, A., Forozanfar, E., and Browne, R., 2014. Conservation Reassessment of the Critically Endangered, Lorestan newt *Neurergus kaiseri* (Schmidt 1952) in Iran. Amphibian and Reptile Conservation. Vol. 9. PP: 16- 25.

23- Nacua, S. S., Dorado, E. L., Torres, M. A. J., and Demayo, C. G., 2010. Body shape variation between two populations of the white goby, Glossogobius giuris. Research Journal of Fisheries and Hydrobiology 5, PP: 44-51.

24- Pavlinov, I. Y., 2001. Geometric morphometrics, a new analytical approach to comparison of digitized images. In: "Information technologies in biodiversity research", St. Petersburg, PP: 40-64.

25- Rohlf, F. J., and Slice, D. E., 1990. Extension of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. Systematic Zoology, Vol. 39, PP: 40-59.

26- Rohlf, F. J., 2001. Comparative methods for the analysis of continuous variables: Geometric Interpretations. Evolution, Vol. 55, PP: 2143-2160.

27- Sharifi, M., Farasat, H., BaraNi-Beiran, H., Vaissi, S., and Foroozanfar, E., 2013. Notes on the Distribution and Abundance of the Endangered Kaiser's Mountain Newt, *Neurergus kaiseri* (caudata: salamandridae), in southwestern Iran. Herpetological Conservation and Biology, Vol. 8, PP: 724–731.

29- Smith, G., Hopkins, G., Mohammadi, S. h., Skinner, H., Hansen, T., Brodie, E., and French, J. r., 2015. Effects of Temperature on Embryonic and Early Larval Growth and Development in the Rough-Skinned Newt (*Tarichagranulosa*). Journal of Thermal Biology, Vol. 51, PP: 89–95.

30- Smith, C. K., 1990. Effects of Variation Body Size on Intraspecifc competion among Larval Salamanders. Ecology, Vol. 71, PP: 1777–1788.

31- Van Buskirk, J., 2009. Natural variation in morphology of larval amphibians: Phenotypic plasticity in nature? Ecological Monographs, Vol. 79, PP: 681-705.

32- Van Buskirk, J., 2002. A comparative test of the adaptive plasticity hypothesis: relationships between habitat and phenotype in anuran larvae. The American Naturalist, Vol. 160, PP: 87-102.

33- Walls, S. C., Belanger, S. S., and Blaustein, A. R., 1993. Morphological variation in a larval salamander: dietary induction of plasticity in head shape. Oecologia, Vol. 96, PP: 162-168.

Feasibility of using geometric morphometrics on larvae of Loristan newt for population identifications

Khoshnamvand H., Malekian M. and Keivany Y.

Dept. of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

Lorestan newt (*Neurergus kaiseri*, Schmidt 1952) is one of the native amphibians inhabiting streams, springs and waterfalls in the mountain regions of south and southwestern Iran. The current study was conducted, for the first time, to investigate the feasibility of using geometric morphometrics on larvae to distinguish the populations of this species. Image processing for morphometric analyses was performed on 112 larvae collected from eight sites. Two-dimensional land marking was used and 19 landmarks were selected for digitization. Morphometric data were then overlaid and analyzed using multivariate statistical methods (PCA and CVA). Results showed morphological differences between larvae of the studied populations and two morphological clusters can be distinguished within the populations. Therefore, due to differences between these populations and the difficulty of distinguishing these larvae based on the color patterns, it is recommended to be more cautious about releasing larvae to the wild.

Keywords: Loristan newt, larva, geometric morphometrics