

کاربرد کد تصویری زنجیری در آنالیز شکل اتولیت در دو گونه از ماهیان

سرخو از جنس *Lutjanus*

- زهرا صدیق‌زاده*: موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صندوق پستی ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
- تورج ولی‌نسب: موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صندوق پستی ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
- غلامحسین وثوقی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، صندوق پستی ۷۷۵-۱۴۵۱۵
- محمدرضا فاطمی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، صندوق پستی ۷۷۵-۱۴۵۱۵
- عباسعلی مطلبی: موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صندوق پستی ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۱

چکیده

حاشیه اتولیت دو گونه از ماهیان متعلق به خانواده سرخوماهیان *Lutjanus johnii* و *Lutjanus malabaricus* از آب‌های خلیج فارس و دریای عمان جهت تفکیک‌پذیری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای این منظور، به ترتیب تعداد ۲۰ نمونه به ازای هر گونه در مرحله نخست و تعداد ۳۹ و ۴۱ نمونه در مرحله دوم به کار گرفته شد. حاشیه اتولیت‌های استخراج شده، پس از تصویربرداری دیجیتال، با روش آنالیز فوری بیضوی و توسط نرم‌افزار Shape تجزیه و تحلیل گردید. برای هر نمونه، کد زنجیری، هارمونیک‌ها و ضرایب فوری بیضوی به دست آمد. با استفاده از مقادیر ویژه، میانگین شکل حاشیه اتولیت بازسازی گردید. نتایج نشان دادند که تعداد نمونه‌ها، در میزان تفکیک‌پذیری این دو گونه نزدیک به هم، نقش به‌سزایی دارد. به‌طوری‌که، با تعداد ۲۰ اتولیت نمی‌توان این دو گونه را از همدیگر بازشناخت. در این بررسی نشان داده شد که با انتخاب شمار مناسبی از اتولیت‌ها، می‌توان میانگین شکل اتولیت برای هر گونه را بازسازی کرد اختلاف‌های اندک موجود در بین گونه‌های نزدیک را از نظر مورفولوژی اتولیت شناسایی نمود. در این بررسی تلاش گردید مزایای استفاده از هارمونیک‌های فوری بیضوی در شکل‌سنجی اتولیت تجزیه و تحلیل گردد.

کلمات کلیدی: اتولیت، آنالیز تصویری، توصیف‌گر فوری بیضوی، سرخوماهیان، کدهای زنجیری، هارمونیک



مقدمه

فن‌آوری تصویربرداری دیجیتال، تبدیل به ابزاری توانمند برای پژوهشگران دانش زیست‌شناسی و دیگر رشته‌های وابسته شده است (۲۱). در این فن‌آوری، تمامی اطلاعات تصویری با بهره‌گیری از سنسورهای برداشت‌کننده فوتون، تبدیل به بسته‌های مستقلی (پیکسل) می‌گردند که در کنار یکدیگر، توانایی بیان ویژگی‌های تصویر را دارند. هر پیکسل واحد برداشت‌کننده تصویر می‌باشد که توانمندی دوربین، وابسته به ویژگی‌های آن است. اندازه پیکسل بزرگ‌تر، بیان‌گر توانایی بالای آن در برداشت فوتون‌ها و عمق بیت (Bit depth) بیشتر آن، نشان‌دهنده حساسیت آن به انرژی هر فوتون می‌باشد (۲۶). شمار بالای فوتون به‌ازای هر پیکسل، کاهش در نویز (noise) تصویر و عمق بیت بیشتر، به افزایش گام‌های تیرگی رنگ تصویر می‌انجامد. بنابراین، هر چه شمار و عمق بیت پیکسل در سنسور دوربین افزایش یابد، تصویری با میزان وضوح و تفکیک رنگی بیشتر می‌تواند به‌دست خواهد آمد.

در شناسایی شکل، به‌ویژه حاشیه‌نگاری (Edge detection) که مهم‌ترین بخش از آنالیز شکل نمونه‌های زیستی است، نیاز به ایجاد تصویری با بالاترین کنتراست نسبت به زمینه وجود دارد. لذا در هر تصویر، تنها از دو رنگ سیاه و سفید بهره‌گیری می‌شود. برای این منظور فن‌آوری باینری کردن تصاویر خام دیجیتال به‌کار می‌رود (۷). در این فن‌آوری که مبتنی بر کدهای زنجیری می‌باشد، هر کد زنجیری با هشت بردار فضایی هم‌مرکز نشان داده می‌شود که در هشت جهت با زاویه ۴۵ درجه (بر خلاف جهت عقربه‌های ساعت)، چیده شده و از عدد صفر تا هفت کدبندی گردیده‌اند (۱۶). کدهای زنجیری، حاشیه تصویر هر نمونه را به سری‌های عددی تبدیل کرده و از این راه، زمینه را برای تبدیل شکل به توابع سینوسی و بسط فوریه فراهم می‌کنند.

اتولیت یکی از اجزای مهم گوش داخلی در ماهیان استخوانی است که از جنس کربنات کلسیم بوده و در تعادل و شنوایی آن‌ها نقش مهمی دارد. شکل اتولیت، گونه-اختصاصی است و دارای اختلاف ریختی در بین گونه‌ها می‌باشد (۱۴). هم‌چنین در برخی موارد، جمعیت-اختصاصی بودن اتولیت‌ها گزارش شده و از آن در شناسایی، رده‌بندی و دینامیک جمعیت ماهیان استخوانی بهره‌گیری شده است (۱۷؛ ۱۹؛ ۲۳). هم‌چنین با استفاده از این روش بسیاری از محققان توانسته‌اند به‌طرز موفقیت‌آمیزی ذخایر مختلف را از هم تفکیک نمایند (۳، ۶،

۱۰). بنابراین، ذخایر ماهی، جمعیت‌ها و گونه‌ها از روی اندازه و شکل اتولیت استنباط می‌شود (۶؛ ۳۲؛ ۲۰؛ ۲۷؛ ۸؛ ۱۸). این کار از دهه ۱۹۹۰ با تعیین ویژگی‌های ریخت‌شناختی کنتور نمای خارجی اتولیت بر اساس برازش یک بعدی محیط آن انجام می‌شود. این منحنی با تجزیه کنتور به اجزا متعدد و محاسبه فاصله بین انتهای هر تکه و مرکز ثقل اتولیت مورد آنالیز به دست می‌آید. ویژگی‌های ریخت‌شناختی اتولیت که به‌عنوان شاخص‌هایی برای جداسازی گونه‌ها و یا ذخایر استفاده می‌شوند، معمولاً در سه رده قرار می‌گیرند: دسته اول شامل اندازه‌گیری‌های طولی یک بعدی مثلاً اندازه‌گیری‌های طول و عرض اتولیت (۱؛ ۴) و نیز اندازه‌گیری فواصل قسمت‌های مشخصی از اتولیت (۲۹). اندازه‌گیری‌های داخلی اتولیت نظیر طول هسته (۱۷؛ ۱۹) و عرض نوارهای هیالین و حلقه‌های رشد روزانه (۲)، دسته دوم شامل یک سری از اندازه‌گیری‌های دو بعدی مانند مساحت و محیط (۶) و شاخص‌های شکلی متنوعی نظیر مانند مدور بودن یا چهارگوشی (۱؛ ۳۰) و دسته سوم شامل بررسی و تجزیه و تحلیل طرح (Outline) دو بعدی شکل اتولیت با استفاده از آنالیز فوریه است (۳). آنالیز فوریه یک سری منحنی‌های سینوسی و کسینوسی از مختصات یک طرح مشخص را تولید می‌کند که با اضافه شدن روی هم طرح شکل مورد نظر را تشریح می‌کند. منحنی‌های سینوسی و کسینوسی می‌توانند توسط یک سری از توصیف‌گرهای فوریه به‌صورت ریاضی تعریف شده و به‌عنوان متغیرهایی برای مقایسه شکل اتولیت در بین افراد و یا ذخایر احتمالی مورد استفاده قرار گیرند (۹).

بنابراین، با آنالیز شکل و حاشیه‌نگاری اتولیت، می‌توان اطلاعات با ارزشی از هر گونه به‌دست آورد. این کار هنگامی کارآمد خواهد بود که تبدیل فوریه شکل اتولیت با نرم‌افزارهای اختصاصی انجام یافته و قابل تعمیم به روش آماری تحلیل تشخیصی کانونی (Canonical Discriminant Analysis) باشد.

مطالعه شکل اتولیت با استفاده از آنالیز فوریه الیپتیک توسط تعدادی از اتولیت‌شناسان به انجام رسیده که از آن میان می‌توان به موارد زیر اشاره کرد. بررسی تنوع داخل گونه‌ای ماهی کاد (۶)، مطالعه تنوع جغرافیایی *Sebastes marinus* و شکل اتولیت توسط (Stransky et al., 2005)، جداسازی کاد ساحلی نروژ از کاد شمال شرقی قطب شمال از طریق آنالیز شکل بیرونی اتولیت توسط (۲۵)، آنالیز شکل حلقه‌های



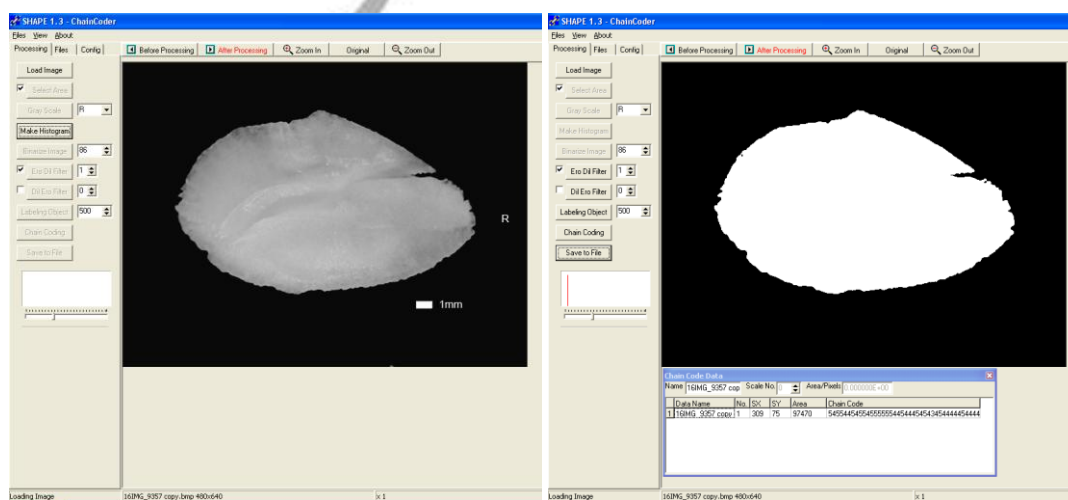
مواد و روش‌ها

در این بررسی، طی بازه زمانی آذر ماه ۱۳۸۸ شمار ۲۰ ماهی از دو گونه *L. malabaricus* و *L. johnii* با بهره‌گیری از گرگور و قلاب در آب‌های خلیج فارس و دریای عمان صید گردیدند. اتولیت چپ این تعداد ماهی پس از استخراج، تمیز کردن، خشک کردن و کدگذاری با بهره‌گیری از استرومیکروسکوپ نیکون مجهز به دوربین دیجیتال ۱۲ مگاپیکسل تصویربرداری گردید (طرفی از اتولیت که دارای شیار سولکوس آکوستیکوس است به سمت بالا قرار داده شد). در بازه زمانی دی ماه ۱۳۸۸، به ترتیب شمار ۱۹ و ۲۱ ماهی دیگر از دو گونه *L. johnii* و *L. malabaricus* صید گردیده و اتولیت آن‌ها به نمونه‌های موجود اضافه گردید. لازم به ذکر است که معمولاً ماهیان بالغ با طول کل حدوداً بین ۳۰ تا ۵۰ سانتی‌متر انتخاب گردیدند. برای نخستین مرحله شکل‌سنجی، اتولیت‌های استخراج شده در مرحله نخست (به ازای هر گونه ۲۰ عدد) به کار گرفته شد. در مرحله دوم، همه اتولیت‌های استخراج شده به ازای هر گونه در آنالیز تصویری و آماری مورد استفاده واقع شدند.

تصاویر برداشت شده پس از بارگذاری در نرم‌افزار Shape به تصاویر باینری (سیاه و سفید) تبدیل گردیدند (شکل ۱). در مرحله بعد، با به‌کارگیری کدهنده زنجیری، حاشیه تصاویر فرآوری شده اتولیت‌ها استخراج و اطلاعات مربوطه به‌صورت کد زنجیری ذخیره شد. اطلاعات ژئومتری حاشیه اتولیت‌ها با اعداد صفر تا ۷ کدبندی گردیده و هارمونیک‌های هر تصویر به‌دست آمد (۲۱).

سالانه اتولیت در ماهی هرینگ اطلس (*Clupea harengus*) به عنوان یک روش نوین در ردیابی جمعیت‌های این ماهی توسط (۵) و کاربرد آنالیز فوریه الیپتیک فرم اتولیت به‌عنوان ابزاری برای شناسایی ذخایر.

هر چند اتولیت، نمونه زیستی با ارزشی برای شناسایی ماهیان به‌شمار می‌آید، با این حال ممکن است در شرایطی نتوان به‌شمار زیادی از آن دسترسی پیدا نمود (۲۲). امکان‌سنجی انجام آنالیز تصویری و برآورد اعتبار داده‌های آماری در این شرایط، می‌تواند برای انجام تفکیک گونه‌ها مفید باشد. در این بررسی سعی می‌گردد به همراه بیان چگونگی بهره‌گیری از کدهای زنجیری و تبدیل فوریه، درجه تفکیک‌پذیری دو گونه *L. johnii* و *L. malabaricus* که جزو گونه‌های بسیار مهم و اقتصادی در آب‌های خلیج فارس و دریای عمان (۳۱) بوده و شکل اتولیت آن‌ها بسیار مشابه است (۲۲) را در ارتباط با شمار نمونه‌های اتولیت مقایسه نمود. برای انجام این آزمایش از یک نرم‌افزار اختصاصی (Shape)، بهره‌گیری شد که علی‌رغم سادگی و رایگان بودن، امکانات گرافیکی مناسبی در اختیار کاربر قرار می‌دهد. بنابراین فراهم کردن امکان کاربرد این نرم‌افزار در آنالیز شکل و حاشیه‌نگاری اتولیت، گامی در راستای پیشبرد پژوهش‌های وابسته در علوم دریایی و شیلات خواهد بود و ابزاری توانمند در اختیار پژوهشگران کشور قرار خواهد داد.

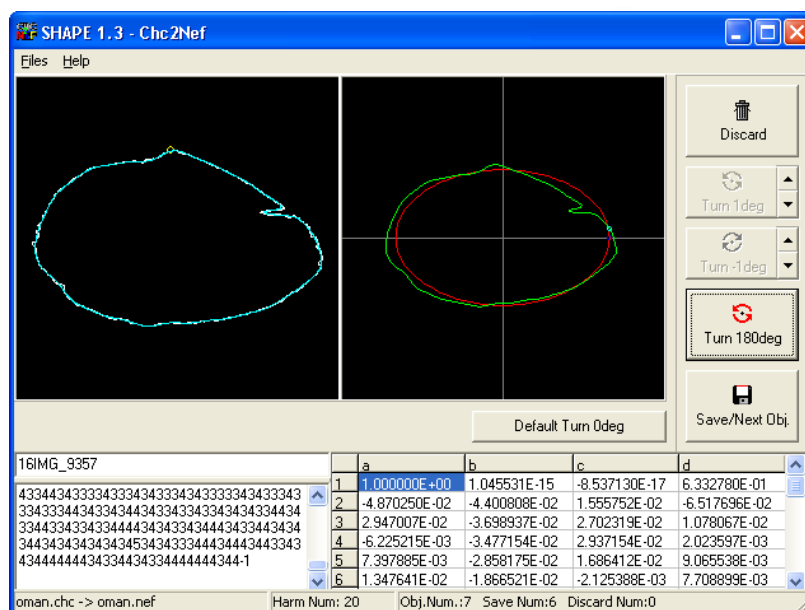


شکل ۱- تبدیل تصویر خام اتولیت (سمت چپ) به حالت سیاه و سفید (سمت راست)



مرحله، کد زنجیری اولین نمونه (اولین تصویر) به توصیف‌گرهای فوریه بیضوی (EFD) تبدیل گردیدند. در مرحله بعدی، حاشیه اتولیت بازسازی شده که نشان‌دهنده شکل تخمینی از میانگین تکرارهای هر اتولیت می‌باشد، به وسیله این توصیف‌گرها استخراج شد (شکل ۲).

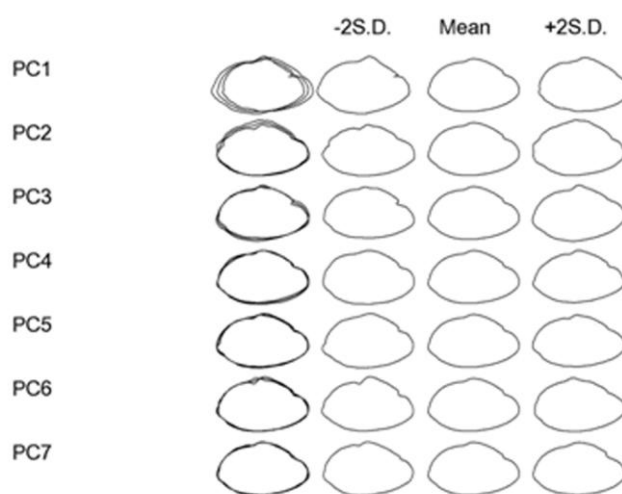
با زیربرنامه Chc2Nef از کد زنجیری هر اتولیت، توصیف‌گرهای فوریه بیضوی (EFD) محاسبه شد. ضرایب EFD به وسیله تبدیل فوریه گسسته حاشیه (۱۶) به دست آمدند. آنالیز شکل اتولیت، با ۲۰ هارمونیک اولیه انجام گردید. تمام هارمونیک‌ها نسبت به اولین هارمونیک نرمال شدند. در این



شکل ۲- فایل کد زنجیری و ایجاد توصیف‌گرهای فوریه بیضوی

فوریه، تعداد ضرایب EFD به ۸۰ افزایش پیدا کرد.

با زیربرنامه PrinComp تجزیه به مولفه‌های اصلی انجام گردید. با به کار بردن ۲۰ هارمونیک اولیه برای توصیف‌گرهای



شکل ۳- اشکال بازسازی شده بر پایه ۷ مولفه اصلی در گونه *L. johnii*

گونه به دست آمد. بر پایه کدهای زنجیری هر اتولیت در هر گونه، تعداد ۸۰ توصیفگر فوریه بیضوی به ازای هر نمونه به دست آمد. بنابراین در نمونه‌های بیست تایی در مجموع ۳۲۰۰ توصیفگر و در نمونه‌های ۳۹ تایی (*L. malabaricus*)، تعداد ۳۱۲۰ توصیفگر و برای نمونه‌های ۴۱ تایی (*L. johinii*)، ۳۲۸۰ توصیفگر فوریه برای انجام تجزیه آماری حاصل گردید.

آنالیز چند متغیره توصیفگرها توانست حداقل ضرایب فوریه لازم برای بازسازی میانگین شکل هر نمونه را تعیین کند. در این مورد تعداد ۵ ویژه مقدار (Eigenvalue) اولیه بیش از ۹۰ درصد و ۷ ویژه مقدار اولیه توانستند بیش از ۹۵ درصد از تغییرات شکل حاشیه اتولیت را در هر دو گونه توجیه کنند. مشاهده شد که با افزایش در تعداد ویژه مقادیر، تغییرات شکل کم‌تر شده و میانگین شکل اتولیت به شکل واقعی نزدیک‌تر گردید. به بیان دیگر، هر چه تعداد هارمونیک‌های به کار گرفته شده بیش‌تر باشد، درصد خطای بازسازی حاشیه اتولیت کم‌تر می‌شود.

از سوی دیگر، با مقایسه داده‌های مربوط به نمونه‌های بیست تایی با ۳۹ و ۴۱ تایی مشاهده شد که تعداد نمونه می‌تواند درجه تفکیک‌پذیری را تحت تاثیر قرار دهد. نتایج به دست آمده از تجزیه آماری داده‌های مربوط به نمونه‌های بیست تایی (نمونه‌های مرحله نخست) از دو گونه نشان دادند که تنها حدود ۵۰٪ امکان تفکیک‌پذیری بین آن‌ها وجود دارد (جدول ۱).

بازسازی شکل حاشیه اتولیت بر پایه مولفه‌های اصلی (۵ تا ۹ مولفه اصلی)، در محیط نرم‌افزار آنالیز تصویری انجام گردید (۱۳). برای این منظور، ابتدا ضرایب EFD محاسبه و نمره هر مولفه اصلی با میانگین به علاوه یا منهای دو برابر انحراف استاندارد تعیین گردید. سپس شکل کنتور از طریق تبدیل فوریه معکوس بازسازی شد (شکل ۳).

ضرایب ۸۰ گانه به دست آمده از هر اتولیت در آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 مورد استفاده قرار گرفت. داده‌های مربوط به مرحله نخست نمونه‌برداری (۲۰ اتولیت به ازای هر گونه) از نظر نرمال بودن و یکنواختی واریانس، به ترتیب با بهره‌گیری از آزمون K-S (Kolmogorov-Smirnov's) و آزمون لون (Levene's) بررسی گردیده و داده‌های غیرنرمال حذف شدند. اختلاف داده‌ها از طریق تجزیه تابع تشخیص (Discriminant Function Analysis) به دست آمد. درستی تفکیک گروه‌ها با استفاده از روش Leave-one-out cross validation مورد آزمون قرار گرفت (۱۰). تمامی روش‌های آماری گفته شده در بالا برای داده‌های مربوط به مرحله دوم نمونه‌برداری (۳۹ و ۴۱ اتولیت از دو گونه) نیز، به کار رفت.

نتایج

با به دست آوردن تصاویر سیاه و سفید از تصاویر خام مربوط به هر کدام از اتولیت‌ها، کدهای زنجیری در هر شکل و

جدول ۱- نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص در گروه‌بندی نمونه‌های بیست تایی

شرح	Tnum	Predicted Group Membership	
		۱	۲
Original	تعداد	۲۰	۰
	درصد	۱۰۰	۰
	تعداد	۱۱	۹
	درصد	۵۵	۴۵
Cross-validated	تعداد	۱۰	۱۰
	درصد	۵۰	۵۰
	تعداد	۰	۲۰
	درصد	۰	۱۰۰

به نظر می‌رسد از آنجایی که هر چه تعداد نمونه‌های استفاده شده بیش‌تر باشد، میزان تنوع شکل در حاشیه اتولیت نیز بیش‌تر است، در این صورت، تعداد ویژه مقادیر لازم برای توجیه حداکثر تغییرات شکل افزایش می‌یابد و بایستی از تعداد

حال آن‌که، درجه تفکیک‌پذیری در داده‌های مربوط به مرحله دوم (۳۹ و ۴۱ تایی) به ۸۰٪ افزایش پیدا نمود (جدول ۲).



ضرایب بیشتری برای به‌دست آوردن میانگین شکل اتولیت استفاده کرد.

جدول ۲- نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص در گروه‌بندی نمونه‌های ۳۹ و ۴۱ تایی

شرح	Tnum	Predicted Group Membership		جمع
		۱	۲	
Original	۱	۳۹	۰	۳۹
	۲	۰	۴۱	۴۱
	۱	۱۰۰	۰	۱۰۰
	۲	۰	۱۰۰	۱۰۰
Cross-validated	۱	۲۹	۱۰	۳۹
	۲	۶	۳۵	۴۱
	۱	۷۴/۴	۲۵/۶	۱۰۰
	۲	۱۴/۶	۸۵/۴	۱۰۰

بحث

می‌شود، تعداد ضرایب EFD نرمال شده به ۸۰ می‌رسد. اگر نرم‌افزار به‌طور خودکار این کار را انجام ندهد، امکان تجزیه و تحلیل دستی این حجم از داده‌ها وجود نخواهد داشت.

یکی از مزیت‌های اصلی روش به‌کار رفته در این بررسی نسبت به روش آنالیز فوریه سریع، عدم وابستگی آن به نقطه شروع است (۱۵). چون در روش آنالیز فوریه سریع، نقطه شروع و جهت چرخش بسیار مهم است و برای تمام نمونه‌ها بایستی یک نقطه شروع یکسان و استاندارد در نظر گرفته شود. به‌طور مثال اغلب محققین نوک روستروم اتولیت را برای نقطه شروع و یک جهت مشخص (در جهت عقربه‌های ساعت و یا خلاف آن) برای ردیابی مختصات هم فاصله X-Y در نظر می‌گیرند. مختصات هم فاصله X-Y و یا توصیف‌گرها تبدیل به اعداد پیچیده‌ای می‌شوند که محقق خود بایستی آن‌ها را نرمال کند (۲۳). از سوی دیگر، تعداد ضرایب به‌دست آمده در این روش بسیار زیاد بوده (اغلب ۵۱۲ عدد) که به پیچیدگی آنالیزهای آماری می‌انجامد.

هر چند بسیاری از پژوهشگران با استفاده از توصیف‌گرهای فوریه بیضوی بازسازی حاشیه اتولیت و تفکیک گونه را انجام دادند (۱۶؛ ۲۵؛ ۲۸؛ ۱۱)، با این‌حال به نقش تعداد اتولیت در میزان تفکیک‌پذیری، کم‌تر پرداخته شده است. در این آزمایش روشن شد که در دو گونه نزدیک، نمی‌توان با شمار پایین اتولیت تفکیک‌پذیری مناسبی را با استفاده از این روش ارائه نمود.

اتولیت‌ها توسط تعداد زیادی از پژوهشگران، برای شناسایی گونه‌های یک جنس از همدیگر استفاده شده‌اند (۵). Stransky and MacLellan (۲۰۰۵) نشان دادند که توصیف‌گرهای مورفومتریکی یک بعدی مانند طول، عرض و وزن توانایی تفکیک گونه‌ها را ندارند. با این‌حال وی، به‌هنگام بهره‌گیری از توصیف‌گرهای فوریه بیضوی توانست سه گونه نزدیک را از هم تفکیک نماید. او برای این منظور از نرم‌افزار Shape استفاده نکرد و روش دستی و بسیار مشکلی را برگزید. اما نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که در صورت انتخاب تعداد مناسبی از اتولیت، می‌توان با کدهای زنجیری، اقدام به تفکیک گونه‌های نزدیک به هم نمود. از آن‌جایی‌که در مطالعه اخیر از نرم‌افزار آنالیز تصویری مناسب برای این کار استفاده گردید، تعداد بیش‌تر تصویر در روند تجزیه و تحلیل نتایج مشکل‌ساز نشد.

ضرایب نرمال شده EFD به‌طور مستقیم نمی‌توانند ویژگی‌های شکل را بیان کنند. زیرا به‌طور معمول تعداد ضرایب خیلی زیاد بوده و خیلی سخت خواهد بود که معنی مورفولوژیکی هر ضریب جداگانه تفسیر شود. هر چه تعداد نمونه بیش‌تر باشد، به‌علت تنوع شکل بیش‌تر، دستیابی به بازسازی میانگین شکل حاشیه اتولیت نیاز به تعداد ضرایب فوریه بیش‌تری دارد و تعداد ویژه مقدارهای بیش‌تری برای توجیه درصد بالایی از تغییرات شکل لازم است. هنگامی‌که شکل حاشیه اتولیت با ۲۰ هارمونیک اولیه توصیف‌گرهای فوریه بیان



- neural networks. Applied and Computational Harmonic Analysis, 6(2):197-218
8. **Cardinale, M.; Doering- Arjes, P.; Kastowsky, E. and Mosegaard, H., 2004.** Effects of sex, stock, and environment on the shape of know-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic science. 61,158-167
 9. **Christopher, R.A. and Waters, J.A., 1974.** Fourier series as a quantitative descriptor of miospore shape. Journal of Paleontology 48:697-709.
 10. **Colura, R.L. and King, T.L., 1995.** Using scale and otolith morphologies to separate spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*) collected from two areas within Galveston Bay. In: Secor, D.H., Dean, J.M. and Campana, S.E. (eds.): Recent developments in fish otolith research. University of South Carolina Press, Columbia, p. 617-628.
 11. **Farias, I.; Vieira, A.R.; Gordo, L.S. and Figueiredo, I., 2009.** Otolith shape analysis as a tool for stock discrimination of the black scabbardfish, *Aphanopus carbo* Lowe, 1839 (Pisces: Trichiuridae), in Portuguese waters. Scientia Marina 73:47-53.
 12. **Freeman, H., 1974.** Computer processing of line drawing images, Computer Surveys. 6:57-97.
 13. **Furuta, N.; Ninomiya, S.; Takahashi, S.; Ohmori, H. and Ukai, Y., 1995.** Quantitative evaluation of soybean (*Glycine max* L., Merr.) leaflet shape by principal component scores based on elliptic Fourier descriptor. Breed Science. 45:315-320.
 14. **Gaemers, P.A.M., 1984.** Taxonomic position of the Cichlidae (Pisces, Perciformes) as demonstrated by the morphology of their otoliths. Neth.J.Zool. 34:566-595.
 15. **Iwata, H. and Ukai, Y., 2002.** SHAPE: a computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. Journal of Heredity 93:384-85.
 16. **Kuhl, F.P. and Giardina, C.R., 1982.** Elliptic Fourier features of a closed contour. Computer Graphics and Image Processing 18:236-58.
 17. **Messieh, S.N., 1972.** Use of otoliths in identifying herring stocks in the Southern Gulf of St. Lawrence and adjacent waters. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 29,1113-1118.
 18. **Messieh, S.N.; Mac Dougall, C. and Claytor, R., 1989.** Separation of Atlantic herring (*Clupea harengus*) stocks in the southern Gulf

هر چند توصیف‌گرهای فوریه بیضوی تفاوت‌های اندک در شکل اتولیت را که چشم قادر به تشخیص آن‌ها نمی‌باشد، ردیابی می‌کند، با این حال توانایی شناسایی اختلاف‌ها در منطقه‌ای خاص در حاشیه اتولیت را ندارند (۱۶). به بیان دیگر، این توصیف‌گر، تفاوت کلی حاشیه دو اتولیت را بیان می‌کند و قادر نیست نقاطی را که تفاوت مربوط به آن‌هاست، نشان دهد. از این دیدگاه مناسب خواهد بود، برای افزایش تفکیک‌پذیری با استفاده از هارمونیک‌ها، برخی دیگر از صفات مورفومتریک در تجزیه و تحلیل آماری به کار گرفته شوند. هم‌چنین بهره‌گیری از ویولت‌ها (Wavelets) برای بالا بردن میزان تفکیک در بین چندین گونه نزدیک بسیار موثر خواهد بود (۲۲). در این صورت می‌توان از ویژگی‌های اتولیت در مطالعات مربوط به شناسایی گونه‌های نزدیک به هم و تفکیک ذخایر و تعیین سن ماهیان در تحقیقات شیلاتی بهره جست.

منابع

1. **Begg, G. A. and Brown, R.W., 2000.** Stock identification of haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank based on otolith shape analysis. Transactions of the American Fisheries Society. 129:935-945.
2. **Begg, G.A.; Overholtz, W.J. and Munroe, N.J., 2001.** The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stocks on Georges Bank. Fisheries Bulletin 99:1-14.
3. **Bird, J.L.; Eppler, D.T. and Checkley, D.M., 1986.** Comparisons of herring otoliths using Fourier-series shape-analysis. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 43(6):1228-1234.
4. **Bolles, K.L. and Begg, G.A., 2000.** Distinction between silver hake (*Merluccius bilinearis*) stocks in US waters of the northwest Atlantic based on whole otolith morphometrics. Fisheries Bulletin. 98:451-62.
5. **Burke, N.; Brophy, D. and King, P.A., 2008.** Otolith shape analysis: its application for discriminating between stocks of Irish Sea and Celtic Sea herring (*Clupea harengus*) in the Irish Sea. Journal of Marine Science. 65:1670-75.
6. **Campana, S.E. and Casselman, J.M., 1993.** Stock discrimination using otolith shape analysis. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 50:1062-83.
7. **Candes, E.J., 1999.** Harmonic analysis of



- Separation of Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod by outer otolith shape analysis. *Fisheries Research*. 90. 26-35.
26. **Therrien, C.W., 1992.** Discrete random signals and statistical signal processing. Prentice Hall, 1992.
 27. **Torres, G.J.; Lombarte, A. and Morales-Nin, B., 2000.** Sagittal otolith size and shape variability to identify geographical intraspecific differences in three species of the *Merluccius* genus. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 80, 333-342.
 28. **Tracey, S.R.; Lyle, J.M. and Duhamel, G., 2006.** Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock identification. *Fisheries Research* 77:138-47.
 29. **Turan, C., 2000.** Otolith shape and meristic analysis of herring (*Clupea harengus*) in the North-East Atlantic. *Archive of Fishery and Marine Research*. 48: 213-225.
 30. **Tuset, V.M.; Lombarte, A.; Gonzalez, J.A.; Pertusa, J.F. and Lorente, M.J., 2003.** Comparative morphology of the sagittal otolith in *Serranus* spp. *Journal of Fish Biology* 63:1491-504.
 31. **Valinassab, T.; Adjeer, M. and Momeni, M., 2010.** Biomass estimation of demersal fishes in the Persian Gulf and Oman Sea by swept area method. Final report (in Persian). Iranian Fisheries Research Organization Press, 370 pp.
 32. **Yefanov, V.N. and Khorevin, L.D., 1979.** Distinguishing populations of pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, by the size of their otoliths. *Journal of Ichthyology* 19, 142-145.
 - of St. Lawrence using digitised otolith morphometrics and discriminant function analysis. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*. 1647, 1-22.
 19. **Neilson, J.D.; Geen, G.H. and Chan, B., 1985.** Variability in dimensions of salmonid otolith nuclei: implications for stock identification and microstructure interpretation. *Fisheries Bulletin*. 83(1):81-89.
 20. **Nolf, D., 1985.** Otolith piscium. In 'Handbook of Paleoichthyology. New York, NY: Gustav Fisher Verlag, 145 pp.
 21. **Parker, M.; Kirby, A. and Morris, V., 2008.** Imaging of pea starch in seeds. *Food Biophysics*, 3, 66-76.
 22. **Sadighzadeh, Z.; Tuset, V.M.; Valinassab, T.; Dadpour, M.R. and Lombarte, A., 2012.** Comparison of different otolith shape descriptors and morphometrics for the identification of closely related species of *Lutjanus* spp. from the Persian Gulf. *Marine Biology Research*. 8: 802-814.
 23. **Smith, M.K., 1992.** Regional differences in otolith morphology of the deep slope red snapper (*Eteus carbunculus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49:795-804.
 24. **Stransky, C. and MacLellan, S.E., 2005.** Species separation and zoogeography of redfish and rockfish (*Sebastes* genus) by otolith shape analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62:2265-76.
 25. **Stransky, C.; Baumann, H.; Fevolden, S. E.; Harbitz, A.; Høie, H.; Nedreaas, K.H.; Salberg, A.B. and Skarstein, T., 2008.**



Application of image chain code in otolith shape analysis in two closely related species of family Lutjanidae

- **Zahra Sadighzadeh***: Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box:14155-6116 Tehran, Iran
- **Tooraj Valinassab**: Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box:14155-6116 Tehran, Iran
- **Gholamhossein Vosoghi**: Islamic Azad University, Science and Research Branch, P.O.Box: 14515-775 Tehran, Iran
- **Mohammad Reza Fatemi**: Islamic Azad University, Science and Research Branch, P.O.Box:14515-775 Tehran, Iran
- **Abbasali Motallebi**: Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box:14155-6116 Tehran, Iran

Received: April 2012

Accepted: September 2012

Key words: Otolith, Image analysis, Elliptic Fourier descriptor, Lutjanidae, Chain code

Abstract

Otolith contour from two species of family Lutjanidae, *Lutjanus malabaricus* and *Lutjanus johnii* from Persian Gulf and Oman Sea were investigated for species separation. For that, 20 samples from each species in the first stage and 39 and 41 samples for *L.malabaricus* and *L. johnii* in the second stage were used, respectively. The image of extracted otoliths were taken, digitized and then analyzed using Shape Programm and Elliptic Fourier Analysis. For each sample, chain code, harmonic and elliptic Fourier coefficients were generated and medium otolith contour reconstructed by combination of these harmonics. The results showed that the number of samples is very important in species separation and with low number of otoliths it is not possible to separate species using this method. Therefore with choosing appropriate number of samples, it is possible to reconstruct the otolith contour for each species and detect the differences between two closely related species based on otolith morphology. This investigation is an effort to explain some benefits of elliptic Fourier harmonics in otolith morphology.

