

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.01293

基于地标点几何形态测量法识别北部湾 4 种白姑鱼矢耳石形态

侯刚^{1,2}, 刘丹丹¹, 冯波^{1,2}, 卢伙胜^{1,2}

1. 广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524088;

2. 广东海洋大学 南海渔业资源监测与评估中心, 广东 湛江 524088

摘要: 利用 2010 年 4 月至 2010 年 10 月采自北部湾海域的 49 尾截尾白姑鱼(*Pennahia anea*)、50 尾大头白姑鱼(*P. macrocephalus*)、49 尾斑鳍白姑鱼(*P. pawak*)和 29 尾白姑鱼(*P. argentata*)矢耳石样本, 运用基于地标点法的几何形态测量学方法研究了 4 种鱼类矢耳石形态识别问题。耳石经图像处理提取地标点坐标值, 进行相对扭曲主成分分析, 通过判别分析来区分 4 种白姑鱼的耳石, 利用薄板样条分析和网格变形将耳石形态变异矢量可视化。结果表明, 在相对扭曲主成分分析中, 第 1、2、3 主成分分别解释了总变异的 46.57%、25.39%和 10.02%, 降维效果较好。其中 型地标点 6、7, 型地标点 5、8, 贡献作用较大, 解释了主要形态变异, 表明白姑鱼属的矢耳石形态差异主要表现在听沟“蝌蚪纹”的颈部、头宽部和尾部。逐步判别分析和交互验证结果显示, 截尾白姑鱼、大头白姑鱼和斑鳍白姑鱼的区分效果明显, 判别成功率在 81.6%~100%, 白姑鱼区分效果不明显, 判别成功率为 58.6%。研究结果表明, 利用石首鱼科特有的“蝌蚪纹”形态进行 4 种白姑鱼矢耳石种类识别, 存在一定的错判风险, 需要在相关耳石形态学与摄食生态学应用中引起注意。本研究以北部湾 4 种白姑鱼属鱼类矢耳石为例, 利用二维图像分析技术, 检验基于地标法的几何形态测量学方法在 4 种白姑鱼耳石形态变异和耳石识别应用上的适宜性, 以及听沟“蝌蚪纹”等主要形态特征在白姑鱼属种类识别的有效性, 以期为进一步开展耳石形态学在石首鱼科种类鉴定与系统进化、摄食生态学和渔业群体识别中的应用提供参考和科学依据。

关键词: 矢耳石; 几何形态测量学; 地标点法; 薄板样条分析; 判别分析; 白姑鱼属

中图分类号: Q179.3; S93

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2013)06-1293-10

真骨鱼类的耳石由于形态结构稳定, 且具有种的特征, 被广泛应用于物种鉴定、近缘种识别和群体区分等方面研究中^[1-10]。在石首鱼科中, 耳石是重要的形态分类辅助材料之一, 中国著名鱼类学家朱元鼎曾根据鳔和耳石等形态特征对石首鱼类进行了较为详细的分类研究^[11], 成庆泰等^[12]和沈世杰^[13]也分别详细论述了耳石形态在石首鱼科分类中的应用。沈世杰将石首鱼科 11 个属的鱼类耳石分为白姑鱼型、叫姑鱼型、黄姑鱼型等 7 个类型, 其

中, 白姑鱼属(*Pennahia*)、黑姑鱼属(*Atrobucca*)、牙鲷属(*Otolithes*)耳石统分为白姑鱼型, 而在种间的分类特征中, 耳石并未作为主要分类特征^[13]。这种情况, 一方面原因是种间本身的外部形态特征已经足够进行种类鉴定; 另一方面可能是耳石作为一种辅助材料, 通过其形态的定性描述(例如听沟“蝌蚪纹”的形态)作为同属的种类区分特征有时候难以有效衡量, 或耳石种间的区别是否有效还未确定。王英俊^[10]在较为系统的研究中国近海 255 种鱼类耳石

收稿日期: 2013-04-25; 修订日期: 2013-07-20.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30771653); 科技部科技支撑项目(SQ2012BAY307301); 农业部南海渔业资源专项调查项目(2010).

作者简介: 侯刚(1982-), 男, 讲师, 在读博士, 主要从事渔业资源学与渔场学等方面的教学与研究工作. E-mail: houga@gdou.edu.cn

通信作者: 卢伙胜, 教授. E-mail: luhs@gdou.edu.cn

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3446.S.20130929.1819.004.html>

网络出版时间: 2013-09-29 18:19

形态学基础上认为,耳石在同科的属种间的分类识别上较为有效(属和种的判别成功率分别为 81.96%和 86.44%);在不同科间的分类上,由于形态重叠严重而效果不好(判别成功率为 44.71%),因此不建议应用。因而,利用耳石形态进行种类鉴别,首先检验其种类区分的有效性,是重要的前期工作基础,具有重要的科学意义。

在耳石形态分析方法中,目前主要有两类:一类是以框架分析法(framework analysis method)为代表的传统形态学分析方法,一类是几何形态测量学(geometric morphometrics)方法,前者主要侧重于耳石线性测量的表征性变量^[3-4],后者通过对耳石二维投影后利用图像数字挖掘技术来进行形态结构数值化和数据分析^[14]。几何形态测量学方法在二维投影(2D)水平上主要有两种方法:一种是轮廓法(outline methods),主要是通过对二维影像进行椭圆傅里叶分析提取外部轮廓线的傅里叶系数(又名椭圆傅里叶标码, Elliptic Fourier descriptors, EFDs),经处理后进行主成分和判别分析等数理统计分析;另一种是地标点法(landmark methods),是基于笛卡儿地标的形状统计方法,通过获取二维影像上的地标点 X、Y 坐标数据,将其进行相对扭曲(Relative Warp)和薄板样条分析,绘制网格变形图,分析耳石形态变异和进行多元统计分析。几何形态测量学方法作为 20 世纪 90 年代生物形态学研究领域中新发展起来的一种形态测量学方法,由于它在形态结构数值化和数据分析上具有重大突破,因而被称为形态测量学的革命,而比传统形态学方法受到更为广泛重视和应用^[14]。

白姑鱼属(*Pennahia*)隶属于鲈形目(Perciformes)石首鱼科(Sciaenidae),是南海重要经济鱼类,产量较高,具有重要经济价值。根据本课题组的南海渔业生产调查统计,白姑鱼属在 2010 年产量为 8.66×10^4 t,居南海总产第 7 位,居石首鱼科总产的 46.63%,是南海石首鱼科的优势类群。白姑鱼属在中国南海分布有 4 种,其中斑鳍白姑鱼(*P. pawak*)、大头白姑鱼(*P. macrocephalus*)产量居多,截尾白姑鱼(*P. anea*)和白姑鱼(*P. argentata*)渔获较少。除了其重要的渔业经济价值外,白姑鱼类营底栖生物食性^[15],在北部湾等海域还是带鱼

(*Trichurus lepturus*)^[16]、珠带鱼(*Trichiurus margarites*)^[17]等高营养级层次肉食动物的重要捕食对象,其在海洋生态系统食物网中对衔接海洋中上层-底层营养通道交换起着重要的承上启下的作用。由于食鱼性动物胃含物多处于消化或半消化状态,而矢耳石个体较大,坚硬而不易消化,因而利用耳石进行物种鉴定在摄食生态学研究得到了广泛的应用^[18]。本研究以北部湾这 4 种白姑鱼属鱼类矢耳石为例,利用二维图像分析技术,检验基于地标法的几何形态测量学方法在 4 种白姑鱼耳石形态变异和耳石识别应用上的适宜性,以及听沟“蝌蚪纹”等主要形态特征在白姑鱼属种类识别的有效性,以期为进一步开展耳石形态学在石首鱼科种类鉴定与系统进化、摄食生态学和渔业群体识别中的应用提供参考和科学依据。

1 材料与方法

1.1 采样

为减少栖息环境不同可能带来的种间性状趋异和潜在干扰,本研究中采用了 4 种白姑鱼的同域性样本。4 种白姑鱼均来自流刺网按站点渔业资源调查取样。调查渔船为琼临高 04018 号,主机实际功率 250 kW,渔船吨位 100 t,长度 31 m。调查网具为三重流刺网,单个网片规格 40 m × 4.8 m,共配备 540 张;大网目目大 40 cm,小网目目大 5.3 cm;浮沉配比 1 : 7。样本按照海洋调查规范(GB12763.3-91)^[19]进行常规生物学测定后,摘取耳石,清洗、拭干后装入 2 mL 离心管。为了减少潜在的体长效应对耳石形态的影响,样本体长经二次抽样集中在 5 cm 变化范围内,基本情况见表 1。

1.2 几何形态测量分析

1.2.1 地标点建立与提取 本研究采用左侧矢耳石为材料,通过体式显微镜与耳石成像分析系统(型号: Nikon ZOOM645S CCD)进行拍摄取得耳石形态的二维影像(图 1),利用测微尺在相同目镜物镜倍数下进行拍摄定标(8~10X)。石首鱼科鱼类矢耳石内侧的听沟因类似“蝌蚪”而被称为“蝌蚪纹”,并被用来作为该科属种类鉴定的重要佐证和分类依据^[11-13]。为检验这种耳石形态特征的

表 1 4 种白姑鱼的样本信息
Tab. 1 Sampling information of four *Pennahia* species

种类 species	采样时间 sampling date	尾数 ind.	体长范围/mm SL range	耳石 otolith	作业类型 fishing type	采样区域 sampling area
截尾白姑鱼 <i>P. anea</i>	2010-10	97	100~121	49	三重刺网 multi-gill net	109°30'~110°00' E 17°30'~17°50' N
大头白姑鱼 <i>P. macrocephalus</i>	2010-10	67	180~226	50	三重刺网 multi-gill net	108°00'~107°50' E 17°30'~17°50' N
斑鳍白姑鱼 <i>P. pawak</i>	2010-04	71	156~190	49	三重刺网 multi-gill net	107°30'~107°50'E 17°30'~17°55'N
白姑鱼 <i>P. argentata</i>	2010-10	35	178~208	29	三重刺网 multi-gill net	108°00'~107°50'E 17°30'~17°50'N

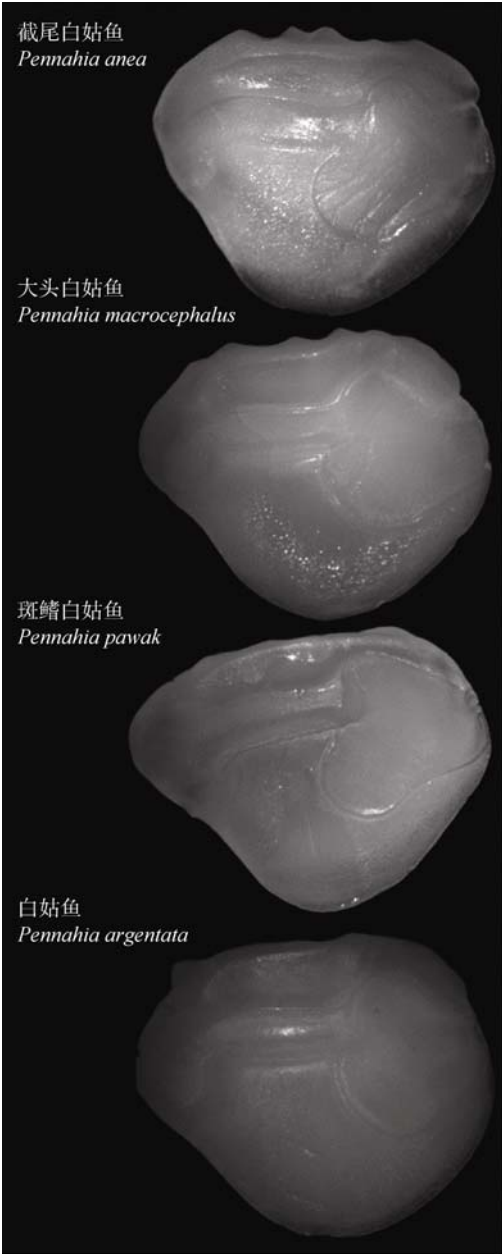


图 1 4 种白姑鱼的左耳石形态
Fig. 1 Left otolith shapes of four *Pennahia* species

有效性和分析种间形态差异, 本研究围绕听沟“蝌蚪纹”为主建立地标点。地标点在生物学应用上分为三大类, 具体介绍参见文献描述^[20-21]。根据操作性同源与信息含量的要求, 本研究选取了 8 个地标点, 其中 6、7 点为型地标点, 为耳石听沟“蝌蚪纹”的颈部交叉点, 可以被精确定位; 5、8 为型地标点, 为听沟“蝌蚪纹”的尾部末端点, 和头部最宽处端点, 可以较好地辨认; 1、2、3、4 为型地标点, 为耳石的极点, 即长轴端点和短轴端点, 可以作为形态参照点(图 2)。利用 tpsdig2 软件在拍摄好的白姑鱼左耳石数码图片上建立这 8 个地标点, 获取 1~11 地标点的 x 、 y 坐标值(2D), 建立坐标点数据文件。

1.2.2 平均形与薄板样条分析 利用 tpsmall 软件进行最小平方和法则(Least-squares criterion) 回归分析, 检验地标点有效性。用 tpsRelw 经普氏叠加得出地标点, 对每个样本的地标点进行平移置

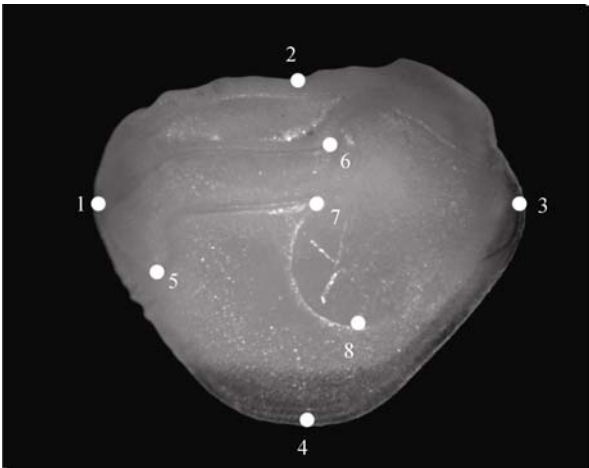


图 2 以截尾白姑鱼为例的 8 个地标点位置
Fig. 2 Locations of eight landmarks sampled by *P. aneus*

中、旋转和缩放, 计算出质心距离, 求出平均形(mean shape), 据此进行局部扭曲(partial warps)和相对扭曲主成分分析(relative warps), 保存软件生成的相对扭曲指数(relative warps scores) 矩阵和分析报告。利用 tpsRegr 进行薄板样条分析, 绘出 4 种白姑鱼耳石的网格变形图, 比较形态差异。以上 tps 软件见于 ROHLF 等人创立的关于几何形态测量学方法与应用专业网站(<http://life.bio.sunysb.edu/morph>)。

1.2.3 判别分析 利用各样本的相对扭曲得分(relative warps scores)通过逐步判别分析法和交互验证法进行判别分析, 判别方法采用 Bayes 方法, 用 SPSS17.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 几何形态分析

最小平方回归分析表明, 切空间距离(distance in tangent space, y 轴)和普式距离(Procrustes distance, x 轴)的回归系数为 0.999 998, 接近 1, 表明所选取的地标点有效的, 可以用于进一步的统计分析。利用 tpsRelw 软件根据地标点数据文件计算的 4 种白姑鱼矢耳石平均形如图 3 所示, 所有地标点重叠后的效果如图 4 所示。据此进行相对扭曲主成分分析, 共提取了 12 个主成分, 其中第 1 主成分贡献了 46.57%, 第 2 主成分贡献了 25.39%, 第 3 个主成分贡献了 10.02%, 前 3 个主成分累积贡献了 81.98%, 表明效果良好。第 1、2 相对扭曲主成分的散点图如图 5 所示。8 个地标点中在相对扭曲时贡献率较大的是 型地标点 6、7, 累积

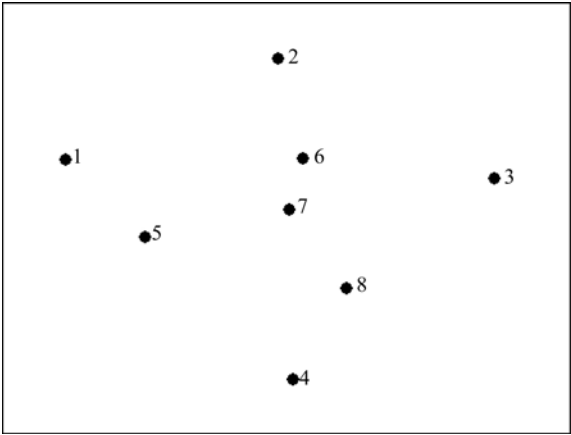


图 3 4 种白姑鱼矢耳石的平均形

Fig. 3 Mean shape of sagitta otolith of four *Pennahia* species

贡献率达 83.01%, 型地标点 5 和 8, 累计贡献率 11.67%(表 2), 型地标点累积贡献率为 4.92%, 表明 型地标点和 型地标点在 4 种白姑鱼矢耳石形态区分中作用较大, 型地标点作用不明显, 即 4 种白姑鱼的形态差异主要表现在听沟的头颈部(地标点 6、7)、头部最宽点(地标点 8)和尾部末端(地标点 5)。

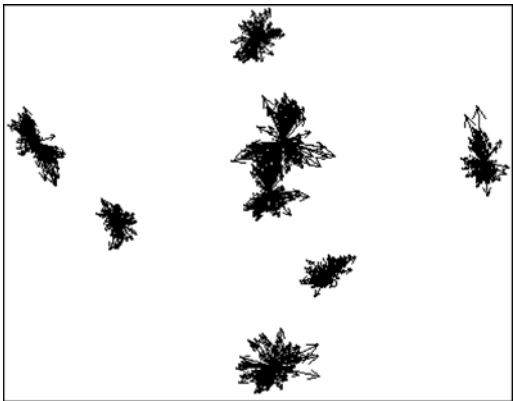


图 4 4 种白姑鱼重叠的地标点矢量化

Fig. 4 The superimposed landmarks vectorization of four *Pennahia* species

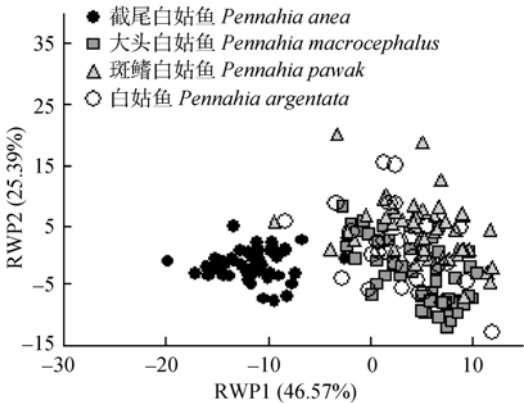


图 5 相对扭曲第 1、第 2 主成分散点图(主成分得分 $\times 10^2$)

Fig. 5 Scatterplots of relative warp scores on the 1st and 2nd (Principal component scores are enlarged 10^2 times)

2.2 矢耳石听沟形态差异可视化

基于以上的分析, 听沟的“蝌蚪纹”形态在 4 种白姑鱼矢耳石识别中起到了主要作用。为将种间的差异可视化, 利用 tpsRegr 软件, 进行平均形后, 通过绝对扭曲、回归分析和置换检验(Permutation test, $n=1\ 000$)进行网格化和差异矢量化。网格图如图 6 所示。与网格平均形相比较, 白姑鱼的“蝌蚪纹”颈部(地标点 6、7)

表 2 不同地标点在相对扭曲分析时的贡献率
Tab. 2 Relative contribution of each landmark on relative warps

地标点 landmark	1	2	3	4	5	6	7	8
贡献率/% contribution rate	1.00	2.40	0.40	1.52	3.47	38.67	44.34	8.20

表 3 相对扭曲得分的前 7 个主成分的特征值与贡献率
Tab. 3 Eigenvalues and contributions of the first seven principal components of relative warps scores

主成分 principal component	特征值 eigen value	贡献率/% contribution rate	累计贡献率/% cumulative contribution rate
1	1.0879	46.57	46.57
2	0.8033	25.39	71.96
3	0.5045	10.02	81.98
4	0.3170	3.96	85.93
5	0.2915	3.34	89.28
6	0.2555	2.57	91.84
7	0.2397	2.26	94.10
总方差 total variance	3.4994		

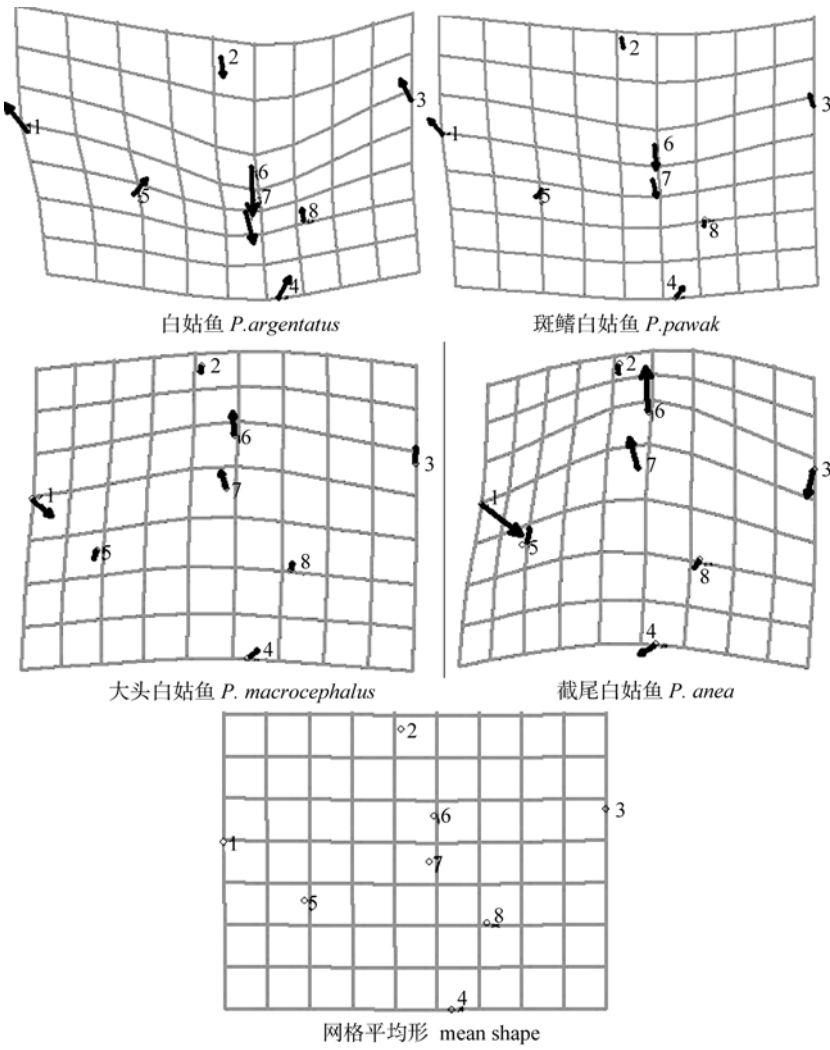


图 6 4 种白姑鱼类网格变形图与变异可视化(变异扩大 3 倍)
Fig. 6 Grid deformation and variation visualization of four *Pennahia* species
(Variation are enlarged 3 times)

向头区下俯, 头区最宽部(地标点 8)向上有所昂扬; 斑鳍白姑鱼则比白姑鱼颈部向头区下俯收敛, 头区最宽部向上昂扬不明显; 大头白姑鱼的“蝌蚪纹”颈部向头区昂扬, 而头区最宽部却向左下部下俯, 截尾白姑鱼则比其表现更为明显(图 6)。

2.3 判别分析

将 12 个相对扭曲得分建立 Bayes 判别函数, 通过逐步判别分析和交互验证法进行判别分析。利用 SPSS 进行逐步法判别时, RW1、2、3、6、8、9、11、12 共计 8 个变量纳入到判别函数(均值相等性检验, one-way ANOVA, $P < 0.05$)。残余区别力分析表明, 筛选后的 8 个变量建立的预测模型效果较好(Wilks' Lambda 检验, $P < 0.001$, 表 4), 可以作为判别分析的依据, 判别方程系数见表 5。

判别分析结果表明, 白姑鱼 29 个矢耳石样本中, 错判入斑鳍白姑鱼 8 条, 错判入大头白姑鱼 4 条, 判别成功率为 58.6%, 判别成功率较低; 斑鳍白姑鱼 49 尾样本中, 错判入白姑鱼 5 条, 判别成功率为 89.8%; 大头白姑鱼 50 尾样本中, 错判入白姑鱼 4 条, 判别成功率为 92.0%; 截尾白姑鱼 49 尾样本中, 没有错判入其他白姑鱼, 判别成功率 100%(表 6)。与逐步判别相比较, 交互验证中截尾白姑鱼和白姑鱼判别结果与其相同, 大头白姑鱼和斑鳍白姑鱼的则略低。逐步判别分析和交互验证分析的判别正确率分别为 88.1%和 85.3%。因此, 利用基于地标法的几何测量学方法在斑鳍白姑鱼、大头白姑鱼和截尾白姑鱼矢耳石判别分析时是有效的, 判别效果较好; 但是在白姑鱼和斑鳍白姑鱼间的区分, 则判别成功率偏低。

表 4 残余区别力分析^{a,b}
Tab. 4 The residual difference force analysis^{a,b}

步骤 step	输入 input	统计量 statistics	Wilks' Lambda						
			F						
			df ₁	df ₂	df ₃	统计量 statistics	df ₁	df ₂	P
1	RW1	0.225	1	3		198.731 ^a	3	173.000	< 0.001
2	RW3	0.118	2	3	173	109.268 ^a	6	344.000	< 0.001
3	RW2	0.062	3	3	173	99.056 ^b	9	416.320	< 0.001
4	RW9	0.048	4	3	173	80.929 ^b	12	450.069	< 0.001
5	RW8	0.039	5	3	173	69.929 ^b	15	466.936	< 0.001
6	RW6	0.034	6	3	173	61.262 ^b	18	475.661	< 0.001
7	RW12	0.030	7	3	173	54.398 ^b	21	480.084	< 0.001
8	RW11	0.028	8	3	173	48.741 ^b	24	482.052	< 0.001

注: a.精确 F; b.近似 F.
Note: a, accurate F; b, approximate F.

表 5 4 种白姑鱼耳石性状的典型判别方程系数
Tab. 5 Fisher's linear discriminant functions coefficients of the sagitta shape variables for four *Pennahia* species

性状 character	方程 1 白姑鱼 Equation 1 for <i>P. argentata</i>	方程 2 斑鳍白姑鱼 Equation 2 for <i>P. pawak</i>	方程 3 大头白姑鱼 Equation 3 for <i>P. macrocephalus</i>	方程 4 截尾白姑鱼 Equation 4 for <i>P. anea</i>
RW1	48.473	59.272	49.807	-138.783
RW2	21.092	57.017	-24.152	-44.856
RW3	3.326	56.521	-85.134	28.382
RW6	-10.972	-39.620	52.977	-7.944
RW8	73.901	36.628	21.705	-102.513
RW9	106.008	67.740	55.332	-186.940
RW11	-51.280	20.710	29.867	-20.837
RW12	-71.247	63.602	-53.313	32.966
(constant)	-3.283	-5.076	-4.818	-10.460

表 6 4 种白姑鱼耳石判别结果^{a, b}
Fig. 6 Discrimination results of four *Pennahia* species^{a, b}

项目 item	判别前种类 predicted species	判别后种类 discriminated species			
		白姑鱼 <i>P. argentata</i>	斑鳍白姑鱼 <i>P. pawak</i>	大头白姑鱼 <i>P. macrocephalus</i>	截尾白姑鱼 <i>P. anea</i>
逐步判别结果 result of GDA	白姑鱼 <i>P. argentata</i>	17(58.6%)	8(27.6%)	4(13.8%)	0
	斑鳍白姑鱼 <i>P. pawak</i>	5(10.2%)	44(89.8%)	0	0
	大头白姑鱼 <i>P. macrocephalus</i>	4(8.0%)	0	46(92.0%)	0
	截尾白姑鱼 <i>P. anea</i>	0	0	0	49(100%)
交互验证结果 result of crossvalidation	白姑鱼 <i>P. argentata</i>	17(58.6%)	8(27.6%)	4(13.8%)	0
	斑鳍白姑鱼 <i>P. pawak</i>	8(16.3%)	40(81.6%)	1(2.0%)	0
	大头白姑鱼 <i>P. macrocephalus</i>	0	4(11.1%)	31(86.1%)	1(2.8%)
	截尾白姑鱼 <i>P. anea</i>	0	0	0	49(100%)

注：括号外数字表示判别后的样本尾数，括号内数字表示判别后的样本比例。a, 对初始分组案例中的 88.1% 样本进行了正确分类；b, 已对交叉验证分组案例中的 85.3% 样本进行了正确分类。

Note: The number outside the braces means discriminated samples, and the inside means the discriminated proportions. a, 88.1% samples of the initial grouping case were correctly classified; b, 85.3% samples of cross validation grouping case were correctly classified.

3 讨论

3.1 矢耳石种类识别效果分析

耳石终生生长，具有代谢上的惰性，一旦沉积，耳石材料很难被重新吸收或者改变，且记录的信息涵盖了鱼类生态学研究的诸多方面，逐渐成为国际上渔业科学和海洋环境科学的研究热点^[22]。国际上成立了许多专门的耳石研究网站，例如 Campana 等成立的耳石研究实验室(<http://www.Marinebiodiversity.ca/otolith/english/home.htm>), 详细介绍了耳石的诸多研究领域与研究方法。在这些研究领域中，因耳石具有种的特征，因而利用耳石形态进行物种鉴定、群体识别和胃含物分析成为耳石形态学的研究热点^[1-10, 18]，并且有诸多学者开展了搜集拍摄各种鱼类耳石的工作，例如叶振江等搜集了中国习见海洋鱼类耳石 223 种^[23]，台湾鱼类资料库官方网站(<http://fishdb.Sinica.edu.tw/chi/fishotolith.php>)近几年也逐渐补充收录了 1 380 张耳石图片，另外专门的耳石形态分析网站(<http://www.cmima.csic.es/aforo/index.jsp>)迄今收集了 4 000 多张耳石形态图片，于 2013 年 1 月开始提供耳石 3D 图片，并提供傅里叶分析、小波分析(wavelet analysis)等形态学分析技术支持。耳石形态学的发展与应用，越来越得到诸多渔业科学工作者的重视。

随着图像处理和形态结构数值化技术的迅速发展与应用，耳石形态分析方法也取得了迅速发展。在北部湾 4 种白姑鱼属鱼类矢耳石识别分析中，出于对石首鱼科特有的耳石内部形态听沟“蝌蚪纹”的识别研究需要，本文采用基于地标法的几何形态测量学方法对其进行了识别分析。结果表明，斑鳍白姑鱼、大头白姑鱼、截尾白姑鱼的矢耳石判别成功率在 89.8%~100%，耳石种类识别效果较好，白姑鱼矢耳石的判别成功率仅为 58.6%，判错入斑鳍白姑鱼达 28.6%，耳石种类识别效果较差。这表明利用地标法来进行白姑鱼属耳石识别分析，在 3 种白姑鱼类上具有适用性，但是在白姑鱼与斑鳍白姑鱼与大头白姑鱼的耳石识别上，则不是太适合。对这种情况进行分析，首先最小平方和法回归系数接近 1，表明选取的地标点是有效的，且前 3 个主成分累计贡献率达 81.98%，数据彼此间相关性较好，基本不存在图像数值处理方面的技术问题；第二，白姑鱼与斑鳍白姑鱼外部形态种类差异非常明显，基本不存在二者物种鉴定错误的问题。从系统进化的角度，柳淑芳等利用基于线粒体 CO1 基因的 DNA 条形码研究了石首鱼科鱼类分类系统问题，其结果认为，白姑鱼(*P. argentata*)与截尾白姑鱼(又称灰鳍彭纳石首鱼，*P. anea*)种间遗传距离为 0.007，无论是形态学特征相似性还是条形码序

列同源性都提示这两种鱼是同物异名^[24]。本研究中,利用矢耳石进行种类区分,白姑鱼与截尾白姑鱼矢耳石识别的互判错误率为 0%,并不支持该两个鱼种为同物异名的说法。Ward^[25]在综述分析了 DNA Barcoding 的 5 000 种鱼类 CO1 基因的基础上,认为 DNA 条形码可以有效区分 98% 的海洋鱼类和 93% 的淡水鱼类,但是值得注意的是,由于理论上不存在一种普遍适用的 DNA 条形码基因在各种生物中都保守,同时又包含足够的序列变异信息来进行物种的辨别,因而采用 CO1 标准界限法进行分类并不适合所有物种^[26]。由于利用 CO1 基因将 4 种白姑鱼一起进行系统分类的研究较少,至于白姑鱼与截尾白姑鱼是否同一物种值得商榷,有待于结合形态学和多基因方法进一步深入研究。另外,白姑鱼矢耳石与斑鳍白姑鱼和大头白姑鱼错判率较高的原因,也有待于从分子生物学角度结合系统进化进一步进行研究。

3.2 听沟“蝌蚪纹”在石首鱼科种类识别中的作用

在石首鱼科种类分类中,耳石的“蝌蚪纹”与鳔的形态结构均为重要的分类依据^[11-12]。朱元鼎等^[11]早在 1963 年就系统地以文字描述了耳石“蝌蚪纹”在石首鱼科种类鉴定的应用。随着图像处理和数值化技术的发展,将“蝌蚪纹”形态结构特征的差异可视化成为可能,其能更形象的表达差异产生的趋向。Monteiro 等^[27]利用半滑地标点法(semilandmarks)网格化的表现了石首鱼科(sciaenidae) 4 个属的细须栉石首鱼(*Ctenosciaena gracilicirrhus*)、短头大口石首鱼(*Larimus breviceps*)、巴西副矛鲷(*Paralichthys brasiliensis*)、巴西叉鳔石首鱼(*Stellifer brasiliensis*)和少耙叉鳔石首鱼(*S. rastrifer*) 5 种鱼类耳石形态发育的变化趋向,并表明听沟“蝌蚪纹”的颈部、腰部和尾部末端是该科重要的鱼种识别特征,且可以用来进行鱼类系统发育研究。本研究中,白姑鱼属“蝌蚪纹”的地标点在种类识别中总贡献率为 95.08%,而代表长度和宽度的型地标点仅贡献了 4.12%,表明听沟“蝌蚪纹”在 4 种白姑鱼矢耳石形态区分中也起着非常重要的作用。从地标点选取角度

来考虑,与“蝌蚪纹”有关的地标点为 4 个(地标点 5~8),占 50%,对本研究中出现该结果可能具有一定支持作用。若考虑增加地标点数量,可能不会降低与“蝌蚪纹”有关的地标点的贡献作用,却因为地标点的无效性或效果不佳造成信息冗余,降低数据彼此间相关性,使得主成分分析结果变差。因而,“蝌蚪纹”状听沟在白姑鱼属矢耳石识别的作用是显而易见的。在本研究中,基于“蝌蚪纹”为主的形态差异,斑鳍白姑鱼、大头白姑鱼、截尾白姑鱼的耳石识别效果良好,但是白姑鱼的耳石识别效果较差。《台湾鱼类志》关于白姑鱼属 4 种鱼类的矢耳石形态仅描述为耳石白姑鱼型^[13],而台湾鱼类资料库中对该矢耳石统一描述为“腹面蝌蚪形印迹之尾区呈 T 字形,末端仅弯曲向耳石外缘”,并未阐述种间的形态差异。但是在本研究中,将形态差异网格化后结果显示,白姑鱼与截尾白姑鱼的尾区末端(地标点 5)与平均形相比,向耳石内侧收敛,大头白姑鱼与斑鳍白姑鱼则变化不明显(图 6),与“末端仅弯曲向耳石外缘”的定性描述不同,尾区末端作为白姑鱼属种间形态区分的特征并不明显(地标点 5 贡献率仅为 3.47%,表 2)。因而,通过耳石形态进行种类区分,以及在胃含物分析中对白姑鱼属鱼类进行定种,存在较大的错判风险。至于耳石统分为白姑鱼型的白姑鱼属、黑姑鱼属、牙鲷属鱼类的耳石种类识别是否有效,也有待于进一步开展研究。

致谢:感谢匿名审稿人对本稿件提出的宝贵意见与建议!琼临渔 04018 船长黄生良在调查与采样中给予大力支持,海渔 1081 班史亚峰、李强、魏法俊、宋一平等同学在海上采样与解剖实验中给予大力支持,在此谨表谢意!

参考文献:

- [1] Campana S E, Casselman J M. Stock discrimination using otolith shape analysis[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1993, 50(5): 1062-1083.
- [2] 张国华,但胜国,苗志国,等. 六种鲤科鱼类耳石形态以及在种类和群体识别中的应用[J]. 水生生物学报, 1999, 23(6): 683-688.

- [3] 郭弘艺, 唐文乔, 魏凯, 等. 中国鲚属鱼类的矢耳石形态特征[J]. 动物学杂志, 2007, 42(1): 39–47.
- [4] 窦硕增, 于鑫, 曹亮. 鱼类矢耳石形态分析及其在群体识别中的应用实例研究[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(3): 702–712.
- [5] Cadrin, S X, Friedland, K D. The utility of image-processing techniques for morphometric analysis and stock identification[J]. Fish Res, 1999, 43:129–139.
- [6] Cadrin S X. Advances in morphometric identification of fishery stocks[J]. Rev Fish Biol Fish, 2000, 10: 91–112.
- [7] 曾祥波, 张国华. 基于傅里叶耳石形态分析法对几种家鱼仔稚鱼的种类判别分析[J]. 中国水产科学, 2012, 19(6): 970–977.
- [8] 侯刚, 冯波, 颜云榕, 等. 北部湾金线鱼、深水金线鱼与日本金线鱼矢耳石形态识别的初步研究[J]. 中国海洋大学学报, 2012, 42(3): 27–35.
- [9] Zhang C, Ye Z, Panhwar S K. et al. Stock discrimination of the Japanese Spanish mackerel (*Scomberomorus niphonius*) based on the otolith shape analysis in the Yellow Sea and Bohai Sea [J]. J Appl Ichthyol, 2013, 29: 368–373.
- [10] 王英俊. 傅里叶分析在鱼类耳石形态学中的应用研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010: 1–251.
- [11] 朱元鼎, 罗云林, 伍汉霖. 中国石首鱼类分类系统的研究和新属新种的叙述[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1963: 1–40.
- [12] 成庆泰, 郑葆珊. 石首鱼科. 中国鱼类系统检索(上册)[M]. 北京: 科学出版社, 1987:317–324.
- [13] 沈世杰. 台湾鱼类志[M]. 台北: 台湾大学动物学系印行, 1993: 374–385.
- [14] Rohlf F J, Marcus L F. A revolution in morphometrics[J]. Trends Ecol Evol, 1993,8(4): 129–132.
- [15] 张波, 唐启升. 渤、黄、东海高营养层次重要生物资源种类的营养级研究[J]. 海洋科学进展, 2004, 22(4): 393–404.
- [16] 颜云榕, 陈骏岚, 侯刚, 等. 北部湾带鱼的摄食习性[J]. 应用生态学报, 2010, 21 (3) : 749–755.
- [17] Yan Y R, Hou G, Chen J L, et al. Feeding ecology of hairtail *Trichiurus margarites* and largehead hairtail *Trichiurus lepturus* in the Beibu Gulf, the South China Sea[J]. Chin J Oceanol Limnol, 2011, 29:174–183.
- [18] 张波, 戴芳群, 金显仕. 黄海重要饵料鱼种矢耳石的形态特征[J]. 中国水产科学, 2008, 15(6): 917–923.
- [19] 国家技术监督局. 海洋调查规范-海洋生物调查[S]. 北京: 中国农业出版社, 1991.
- [20] Bookstein F L. Introduction to methods for landmark data. In: Rohlf F J, Bookstein F L, eds. Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop[M]. Univ Michigan Mus Zool Spec Pub.2, 1990: 215–226.
- [21] 萧旭峰, 吴文哲. 生物形状的科学——浅谈几何形态测量学之发展与应用[J]. 科学月刊, 1998, 29: 624–633.
- [22] 窦硕增. 鱼类的耳石信息分析及生活史重建—理论、方法与应用[J]. 海洋科学集刊, 2007, 48: 93–113.
- [23] 叶振江, 朱柏军, 薛莹. 中国习见海洋鱼类耳石图谱(第 1 辑) [M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2007: 1–223.
- [24] 柳淑芳, 陈亮亮, 戴芳群, 等. 基于线粒体 *COI* 基因的 DNA 条形码在石首鱼科(Sciaenidae)鱼类系统分类中的应用[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(2): 223–232.
- [25] Ward R D, Hanner R, Hebert P D N. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL[J]. J Fish Biol, 2009, 74: 329–356.
- [26] 彭居俐, 王绪桢, 何舜平. DNA 条形码技术的研究进展及其应用[J]. 水生生物学报, 2008, 32(6): 916–919.
- [27] Monteiro L R, Di Benedetto A P M, Guillermo L H, et al. Allometric changes and shape differentiation of sagitta otoliths in sciaenid fishes[J]. Fish Res, 2005, 74: 288–299.

Using landmark-based geometric morphometrics analysis to identify sagittal otolith of four *Pennahia* fish species

HOU Gang^{1,2}, LIU Dandan¹, FENG Bo^{1,2}, LU Huosheng^{1,2}

1. Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Centers of Fisheries Resources Monitoring and Assessment, South China Sea, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China

Abstract: We investigated the identification in sagittal otoliths using landmark-based geometric morphometrics method among four sympatric species of the genus *Pennahia*: truncatetail white croaker *P. anea* ($n=49$), bighead white croaker *P. macrocephalus* ($n=50$), pawak croaker *P. pawak* ($n=49$) and white croaker *P. argentata* ($n=29$). The specimens were collected off Beibu Gulf from April 2010 to October 2010. Landmark coordinate values were extracted after otolith digitized by image processing and processed by relative warp principal component (RW), thin plate spline analysis and grad distortion. The 12 RW were then identified using discrimination analysis to differentiate the otoliths of four *Pennahia* species. The result indicated that, the 1st, 2nd and 3rd RW accounted for 46.57%, 25.39% and 10.02% of the total variation respectively, of which Type landmarks 6 and 7, Type landmarks 5 and 8 had important contributions, and could explain the most variation. The most morphological variation were displayed in neck, head width pole, and tail of tadpole-shaped sulcus. The gradual discrimination analysis and cross validation indicated that *P. anea*, *P. macrocephalus* and *P. pawak* got average exactitude distinguish ratios of 81.6%~100%, while *P. argentata* 58.6%, indicating that it contained a potential risk by using the morphology of tadpole-shaped impression owned by *Sciaenidae* to discriminate the four congeneric *Pennahia* species. It is necessary to notice this problem in the related otolith morphology research and application in feeding ecology.

Key words: sagitta otolith; geometric morphometrics; landmark method; thin plate spline analysis; discriminant function analysis; *Pennahia*

Corresponding author: LU Huosheng. E-mail: luhs@gdou.edu.cn