

鱼类矢耳石形态分析及其在群体识别中的应用实例研究*

窦硕增¹ 于鑫^{1,2} 曹亮¹

(1. 中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院 北京 100049)

摘要 利用表征性耳石形态变量(大小变量和轮廓变量)分析方法研究了渤海近岸与长江口水域四个刀鲚(*Coilia nasus*)群体的识别问题,对比分析了协方差(ANCOVA)校正法和异速生长(allometric growth)校正法在耳石形态分析中去除体长效应的应用效果。研究结果表明,两种体长校正法对四个群体的判别分析结果未产生显著影响,总体识别成功率分别为50.3%和56.5%,群体内个体识别成功率分别为39.5%—90.0%和34.0%—65.1%;长江口水域不同体长组刀鲚个体的耳石形态差异显著,表明其耳石形态特质随鱼类个体生长而变化,协方差校正法和异速生长校正方法的体长组别间的总体识别成功率分别为94.8%和98.8%。整体上,耳石轮廓变量(如矩形趋近率、圆度、分形维数、傅立叶系数等)对刀鲚群体间或体长组别间识别的贡献值高于耳石大小变量(如周长、平均直径、重量、面积等),而二者结合能更有效地识别各地理群体或体长组别个体。

关键词 耳石, 形态变量, 判别分析, 体长校正, 椭圆傅立叶分析, 刀鲚

中图分类号 Q179.3

鱼类耳石有矢耳石(sagittae)、星耳石(asteriscus)和微耳石(lapillus)三种类型。耳石随鱼类的生长而生长,但一旦形成就很少发生再吸收、分解或变形现象,这为其二维形态分析提供了基本前提条件。耳石的形态特征不但与鱼类遗传相关,而且受鱼类生理活动和环境变化等影响较大。不同鱼种的耳石形态特质主要取决于遗传因素,但对于生活于特定水域的同种鱼类群体而言,环境因素的作用对鱼类个体耳石形态特质的形成会起到显著作用。这样,同一地理群体内的个体耳石形态特征由于其相近的生活和环境履历而表现出较高的同质性,而不同地理群体由于生活史和环境史的差异可能会产生各自独特的耳石形态特质。耳石形态的几何分析可以解释这些群体间的耳石形态特质差异,可用于鱼类群体识别研究(Cadrin, 2000; Petursdottir *et al.*, 2006; Farias *et al.*, 2009)。

一般认为,矢耳石的形态分析在群体识别中的应用效果优于星耳石和微耳石(Campana *et al.*, 1993),

相关研究通常以矢耳石作为形态分析的主体(Forsberg *et al.*, 1993; DeVries *et al.*, 2002; Tuset *et al.*, 2003; Tracey *et al.*, 2006; Stransky *et al.*, 2008a, b)。目前所用耳石形态的表征性参数基本上包括耳石大小变量(size variable)和耳石轮廓(shape variable)变量。前者是通过对耳石的几何测量可获得的参数如耳石长(length)、宽(width)、直径(diameter)、半径(radius)、半径比(radius ratio)、长径(major axis)、短径(minor axis)、周长(perimeter)、面积(area)、外切矩形面积(box)、重量(weight)等,后者则是对耳石二维投影的数学概括分析如快速傅立叶转换(fast Fourier transform, FFT)、椭圆傅立叶分析(elliptical Fourier analysis, EFA)后获得的参数即傅立叶系数(Fourier coefficients)。另外有一类参数也可视为第二类参数,是通过把几个耳石大小变量做一系列的数学变换来表征耳石形状的某一方面信息,称为形状指数(shape indices),如形状因子(form-factor, FF)、矩形趋近率(rectangularity, area/box)、椭圆率(ellipticity)、圆度

* 国家自然科学基金项目资助, 40676086号, 40976084号。窦硕增, 博士, 研究员, E-mail: szdou@qdio.ac.cn

收稿日期: 2011-10-08, 收修改稿日期: 2012-01-04

(roundness)、环状度(circularity)、偏心度(eccentricity)、分形维数(fractal dimension, FD)等。如何选择表征性参数应依照具体的研究对象而定。另外,耳石形态随鱼类发育生长的变化特征即体长效应及其校正方法也是一个重点研究问题。

近年来,国内有一些鱼类耳石形态分析方面的研究报道,主要是对不同鱼种耳石形态特征的比较(张国华等,1999;叶振江等,2007;郭弘艺等,2007;张波等,2008;王英俊等,2010),而基于耳石形态分析的群体识别研究并不多(王英俊等,2007;Wang *et al.*, 2011)。本研究以渤海及长江口水域的刀鲚(*Coilia nasus* Schlegel; 隶属鲱形目、鲹科、鲚属)群体为例,利用图像分析技术,研究其矢耳石形态特质的差异性及其在群体识别中的应用,重点探讨耳石形态分析方法中的一些关键技术问题,如耳石形态的表征性参数的选择与数据分析、体长效应校正方法等,以期开展基于矢耳石形态分析的鱼类群体识别研究提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用刀鲚矢耳石取自中国科学院海洋研究所 20 世纪 80 年代初在渤海和长江口水域采集的刀鲚样本。在拖网渔获中随机采集成体刀鲚并调查主要现场生态环境信息,将鱼体样本在冷冻保存后运至实验室内进行生物学测定(体重、体长、性成熟度、摄食强度等),并摘取耳石。矢耳石保存于耳石盒中备分析之用。刀鲚是母河回归性和定居性较强的溯河洄游鱼类,成鱼在江河产卵后洄游至河口区索饵生长。幼鱼则在母河河口水域育幼生长,通常不进行大范围迁移,容易在母河河口区形成个体生活史重叠度低、群体混合相对少的地理群体(窦硕增等,2011a, b)。因此,本研究依据采样地点将所采样本视为辽河口群体、秦皇岛群体、黄河口群体和长江口群体计四个

地理群体(表 1),计测和分析鱼类个体样本的左右矢耳石形态特质。统计分析表明,刀鲚左右耳石的形态特质无显著差异,雌雄个体之间的差异未达到雌雄二型(sexual dimorphism)水平。因此,本研究以各地理群体左耳石为研究载体,数据分析中忽略雌雄差异。

1.2 方法

1.2.1 耳石形态表征性参数的筛选 耳石在测量前均经过超声波清洗和干燥处理后在电子天平上称重,精确至 0.1mg,然后在解剖镜(Nikon SMZ1000, ACT-2)下获取耳石二维图片,备形态学测量分析之用。

本研究选取了以下耳石大小变量:长径、短径、平均直径、最大半径、最小半径、周长、半径比、面积、矩形面积、重量等。直径测量是通过耳石几何中心(centroid)的直径。耳石面积指其二维投影面积,矩形面积指其外切矩形面积(图 1),半径比指其最大半径与最小半径的比值。在 Image Pro-plus 6.0 软件上完成参数测量。

傅立叶分析(Fourier analysis)是耳石形态学分析中描述闭合轮廓的有效方法。其中椭圆傅立叶分析比快速傅立叶转换及其它类似的形状分析方法更有效(Lord *et al.*, 2011)。因此,本研究采用了椭圆傅立叶分析方法获取表征耳石形状的傅立叶系数、矩形趋近率、分形维数(整体描述图形边缘的复杂程度的参数)等轮廓变量。椭圆傅立叶分析在 TpsDig 与 EFAW 软件上完成。TpsDig 软件将耳石的二维投影轮廓边缘以一系列的二维平面坐标表示,EFAW 利用以上产生的平面轮廓坐标变换得到多组谐波值(harmonics),每组谐波值由 4 个系数构成。谐波数量越多,对轮廓的表达也越精确(Kuhl *et al.*, 1982)。参照 Longmore 等(2010)方法,本研究选取了 20 组傅立叶谐波值,每个耳石可测得 80 个傅立叶系数。由于 EFAW 程序的标准化过程将每个耳石的第一组谐波值前三个值转变为固定值(A=1, B=C=0),因此,每个耳石轮廓由 77 个独特的傅立叶系数表征。

表 1 各刀鲚群体样本的体长、体重和矢耳石重量

Tab.1 Fish length, fish weight and otolith weight of tapertail anchovy samples of different stocks

群体	体长范围(mm)*	体重范围(g)*	耳石重量(mg)*	样本数
辽河口群体	245—347 (288.0±27.4)	31—145 (69.0±28.4)	9.2—19.3 (13.1±2.2)	50
秦皇岛群体	232—348 (285.8±34.9)	30—119 (68.2±26.8)	9.0—20.9 (12.4±2.6)	50
黄河口群体	270—348 (325.3±18.8)	69—152 (111.9±23.1)	11.2—20.9 (15.7±2.0)	43
长江口群体	232—323 (266.2±24.1)	12.5—140 (69.1±26.3)	9.6—18.5 (13.5±2.2)	50

注: *括弧内数字代表平均值±S.D



图 1 刀鲚左矢耳石外侧面特征

Fig.1 External surface view of left sagittal otolith of tapertail anchovy

1.2.2 体长效应校正及群体识别的判别分析 由于鱼类个体生长速率会对耳石形态差异产生影响, 在开展基于耳石形态分析的群体识别研究时, 应去除鱼类异速生长(allometric growth)对判别结果造成的偏差(Campana *et al.*, 1993)。本研究中, 为降低体长对分析结果的干扰, 首先对各群体的样本体长进行筛选, 选取体长 230—350mm 的个体, 对所有耳石形态参数作对数 [$\lg(x+1.1)$] 转换, 以提高数据分析的准确性。消除异速生长中的体长效应有多种方法, 其中协方差(ANCOVA)校正在这几年的研究中得到广泛的应用(DeVries *et al.*, 2002; Petursdottir *et al.*, 2006; Burke *et al.*, 2008a; Agüera *et al.*, 2011), 其前提是假定鱼类的生长是线性的。但有的鱼类生长研究亦包含了非线性模型(如 Ricker 指数增长模型), 由此衍生出另一种校正方法即异速生长校正(Leonart *et al.*, 2000)。本研究对这两种方法及其在刀鲚群体识别中的应用做对比分析。

(1) 协方差校正方法 首先对所选取的形态参数进行对数转换, 以提高数据的正态性与方差齐性。保留正态性与方差齐性良好的变量作下一步检验。然后对这些变量通过 one-way ANOVA 检验不同群体之间的差异显著性, 将差异显著的变量用于群体的判别分析(discriminant function analysis, DFA)。在做判别分析前, 对检验变量做相关矩阵分析, 包括体长与各变量之间的相关性以及各变量之间的相关性, 舍弃多元共线性(multicolinearity; $P < 0.05$)严重的变量, 以消除其对判别分析结果的干扰。通过 ANCOVA 检验体长对每一个形态变量在不同群体之

间差异的影响。当体长与形态变量在不同群体之间的斜率不同时(即体长与组别存在明显的交互作用), 此变量无法完成体长校正, 应剔除。将剩余的变量中与体长存在线性相关、不同群体的回归斜率相等且不等于 0 的变量, 利用共同的回归斜率按照体长校正公式校正各有效变量:

$$Y_{ij(adj)} = Y_{ij} - b \times (X_{ij} - \bar{X})$$

式中, $Y_{ij(adj)}$ 表示第 i 组第 j 个值校正后的形态变量值, Y_{ij} 表示第 i 组第 j 个值校正前的形态变量值, b 表示回归斜率, X_{ij} 表示第 i 组第 j 个值的体长值, \bar{X} 表示体长总体平均值。

(2) 异速生长校正方法 该方法的数据转换、正态性和方差齐性检验、one-way ANOVA 及变量相关矩阵分析步骤与协方差校正方法一致, 不同的是按照异速生长校正公式校正各有效变量(Leonart *et al.*, 2000):

$$Y = aX^b \quad (1)$$

$$\lg Y = \lg(a) + b \times \lg(X) + \varepsilon \quad (2)$$

$$Y_i^* = Y_i \times \left(\frac{X_0}{X_i} \right)^b \quad (3)$$

公式(1)表示两个形态变量回归关系的一般形式, 公式(2)表示数据经过对数转换后带误差项的线性关系, 公式(3)表示将任一个观察值(X_i, Y_i)转换成一个理论值(X_0, Y_i^*)。

将所用到的已经对数转化的变量数据按照公式(2)进行回归分析, 求出参数 b , 再按照公式(3)求出每一个变量的转换值。

利用两种校正方法进行变量筛选与校正后, 在 SAS 9.13 上对有效变量进行判别分析, 分析两种方法的群体识别的交叉检验(cross-validation)结果, 比较其群体识别能力。

本研究还利用 MANCOVA 方法对长江口刀鲚群体中三个体长组(L1, 110—160mm; L2, 190—240mm; L3, 270—320mm)个体的矢耳石形态特质进行了对比分析, 以探讨耳石形态随鱼类个体生长变化的显著性。首先检验各形态参数(因变量)的组内正态性, 对正态性差的数据进行对数转换。检验各因变量的方差齐性, 舍弃方差齐性差的变量, 并检验变量之间的相关性。由于耳石重量(otolith weight)与大多数因变量显著相关($P < 0.05$), 因此, 将耳石重量作为协变量(covariate)引入方差分析模型。为验证其耳石形态差异的程度, 本文利用 MANCOVA 检验结果中差异显著的变量对三个体长组个体做判别分析, 比较其交

叉检验的结果。

在对长江口群体的各体长组的矢耳石形态差异的检验时, 根据所获得的样本情况, 本研究采取了非均衡设计, 即三个体长组(L1, 110—160mm; L2, 190—240mm; L3, 270—320mm)分别包含 25、102、36 个矢耳石样本。

本研究中所有统计分析中的差异显著水平均设置为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 两种体长校正方法在地理群体识别中的应用效果比较

对四个群体耳石形态参数经过变量筛选与校正后, 在协方差校正中用于群体判别分析的参数包括耳石重量、矩形趋近率、分形维数和 12 个傅立叶系数值计 15 个变量; 在异速生长校正中最后用于群体判别分析的参数包括耳石重量、矩形趋近率、分形维数和 16 个傅立叶系数值计 19 个变量(表 2)。

两种体长校正方法的判别分析结果均显著($P < 0.05$)。协方差方法校正体长中, 判别函数一能够解释 66.8% 的群体间变异, 可以有效地将群体与其它群体区分开; 判别函数二能够解释 23.2% 群体间变异, 可以有效地将黄河口群体与其它群体区分开(图 2A)。对两个判别函数贡献最大参数均为耳石重量。在整体上, 傅立叶系数的低序谐值的贡献要大于高序谐值。采用异速生长校正体长效应, 判别函数一能够解释 87.7% 的变异, 能够有效地区分黄河口群体和长江口群体; 判别函数二能够解释 7.4% 的变异, 能够较有效地将辽河口群体、秦皇岛群体与黄河口群体、长江口群体区分开, 但对辽河口群体、秦皇岛群体的识别

效果较差(图 2B)。第 29 号傅立叶系数值对判别函数一贡献最大, 第 35 号傅立叶系数值对判别函数二贡献最大。在整体上, 傅立叶系数的低序谐值的贡献要大于高序谐值。

协方差校正的各群体判别成功率为 39.5%—90.0%, 总体判别成功率为 50.3%; 异速生长校正的各群体判别成功率为 34.0%—65.1%, 总体判别成功率为 56.5% (表 2)。前者的判别成功率最低值、最高值分别出现在黄河口群体(39.5%)和长江口群体(90.0%); 后者的判别成功率最低值、最高值分别出现在秦皇岛群体(34.0%)和黄河口群体(65.1%), 长江口群体为 64.0%。两种体长校正方法对长江口群体的判别效果较好, 均能较有效地将长江口群体与渤海三个刀鲚群体区分开。但对渤海内三个群体, 两种体长校正方法的判别效果一般。

2.2 长江口群体各体长组的耳石形态特质差异性及其在组间的识别效果

MANCOVA 检验(Wilk's $\lambda = 0.16$, $P < 0.001$)表明, 不同体长组的刀鲚个体的耳石形态特质的差异性显著。对每一个因变量的 ANCOVA 检验结果表明, 不同体长组之间有显著差异的变量包括耳石平均直径、周长、面积、分形维数、圆度和 19 个傅立叶系数值计 24 个变量。其中协方差校正法使用了 15 个变量, 包括圆度、面积和 13 个傅立叶系数; 异速生长校正法使用了 19 个变量, 包括圆度、面积、周长、分形维数、平均直径和 14 个傅立叶系数(表 3)。

对三个体长组的形态差异性的判别分析结果是显著的($P < 0.05$)。在协方差方法校正体长效应中, 判别函数一能够解释 91% 的变异, 判别函数二能够解释 9% 的变异, 二者可有效地将三个体长组区分开(图

表 2 各刀鲚群体的耳石形态特质交叉检验结果

Tab.2 Cross-validation results of otolith morphometrics among tapertail anchovy stocks

体长校正方法	群体	判别成功率(%)*				n	耳石形态参数 ^a
		辽河口群体	秦皇岛群体	黄河口群体	长江口群体		
协方差校正	辽河口群体	48.0(24)	30.0(15)	20.0(10)	2.0(1)	50	Otolith weight, rectangularity, FD, 25,
	秦皇岛群体	34.0(17)	46.0(23)	20.0(10)	0.0(0)	50.3	27, 29, 35, 43, 45, 60, 62, 63, 66, 70,
	黄河口群体	32.6(14)	20.9(9)	39.5(17)	7.0(3)	43	75
	长江口群体	4.0(2)	2.0(1)	4.0(2)	90.0(45)	50	
异速生长校正	辽河口群体	40.0(20)	32.0(16)	14.0(7)	14.0(7)	50	Otolith weight, rectangularity, FD, 13,
	秦皇岛群体	38.0(19)	34.0(17)	14.0(7)	14.0(7)	56.5	21, 25, 27, 29, 35, 40, 43, 45, 58, 60,
	黄河口群体	18.6(8)	9.3(4)	65.1(28)	7.0(3)	43	62, 63, 66, 70, 75
	长江口群体	16.0(8)	12.0(6)	8.0(4)	64.0(32)	50	

注: *括号内数字表示耳石样本数; ^a数字代表傅立叶谐值序号

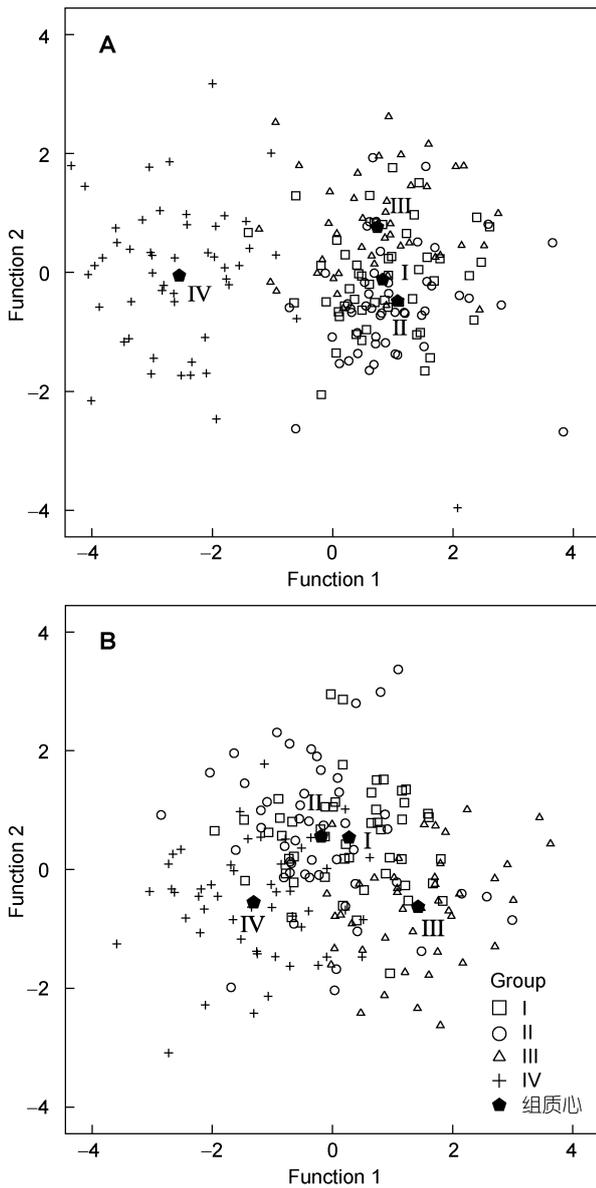


图2 各刀鲚群体耳石形态特质判别分析结果散点图
 Fig.2 Scatter plot of DFA on otolith morphometrics of tapertail anchovy stocks
 A. 协方差校正; B. 异速生长校正。I. 辽东湾群体; II. 秦皇岛群体; III. 黄河口群体; IV. 长江口群体

3A)。对两个判别函数贡献最大的参数分别为傅立叶系数 18 和 59, 总体判别成功率为 94.5%。体长组 L2 的判别成功率最高(95.1%), 其中各有 3 个体和 2 个体分别被误判入体长组 L1 和 L3 中; 体长组 L1 和 L3 的 2 个误判个体均被误判入邻近的 L2 体长组(表 3)。采用异速生长校正法, 判别函数一能够解释 86% 的变异, 判别函数二能够解释 14% 的变异, 二者可有效地将三个体长组区分开(图 3B)。对两个判别函数贡献最大的参数分别为傅立叶系数 21 和 8; 总体判别成功率为 98.8%。体长组 L2 的判别成功率最高(100%), 体长组 L1 和 L3 各有 1 个体被误判入邻近的体长组 L2(表 3)。

3 讨论

3.1 耳石形态参数的选择及数据处理方法

有效筛选表征功能强的耳石形态参数, 对提高鱼类群体识别能力至关重要。如前所述, 目前相关研究中常用的功能性参数大致可划分为耳石大小变量和耳石轮廓变量两类。有些研究单独使用耳石轮廓变量进行群体识别(Tuset *et al*, 2003; Stransky *et al*, 2008b; Farias *et al*, 2009; Longmore *et al*, 2010; Neves *et al*, 2011), 而更多研究采取了结合两种变量来表征耳石形态特质和群体识别(DeVries *et al*, 2002; Tracey *et al*, 2006; Burke *et al*, 2008a, b; Stransky *et al*, 2008a; Agüera *et al*, 2011; Capoccioni *et al*, 2011; Wang *et al*, 2011), 单独使用耳石大小变量进行群体识别的研究很少(表 4)。对比分析文献发现, 结合两种变量来表征耳石形态特质和群体识别的效果一般优于单种参数(Petursdottir *et al*, 2006; Tracey *et al*, 2006; Ferguson *et al*, 2011)。例如, 基于耳石轮廓变量识别冰岛西南沿海大西洋鳕 *Gadus morhua* 群体时, 各群体判别成功率为 21%—60%, 而基于两种变量的判别成功率升高至 51%—80% (Petursdottir *et al*, 2006)。基于耳石形

表 3 长江口不同体长组刀鲚的耳石形态特质交叉检验结果

Tab.3 Cross-validation results of otolith morphometrics of tapertail anchovy among fish length groups in the Yangtze River Estuary

体长校正方法	体长组	判别成功率(%)*				n	耳石形态参数 ^a
		L1	L2	L3	总体		
协方差校正	L1	92.0(23)	8.0(2)	0.0(0)	94.5	25	Roundness, area, 9, 17, 18, 31, 39, 40,
	L2	2.9(3)	95.1(97)	2.0(2)	102	102	46,49, 53, 54, 57, 59, 60
	L3	0.0(0)	5.6(2)	94.4(34)	36	36	
异速生长校正	L1	96.0(24)	4.0(1)	0.0(0)	98.8	25	Roundness, area, perimeter, FD, mean
	L2	0.0(0)	100.0(102)	0.0(0)	102	102	diameter, 5, 8, 9, 11, 13, 17, 18, 21, 29,
	L3	0.0(0)	2.8(1)	97.2(35)	36	36	31, 40, 46, 54, 59

注: *括号内数字表示耳石样本数; ^a数字代表傅立叶谐波值序号

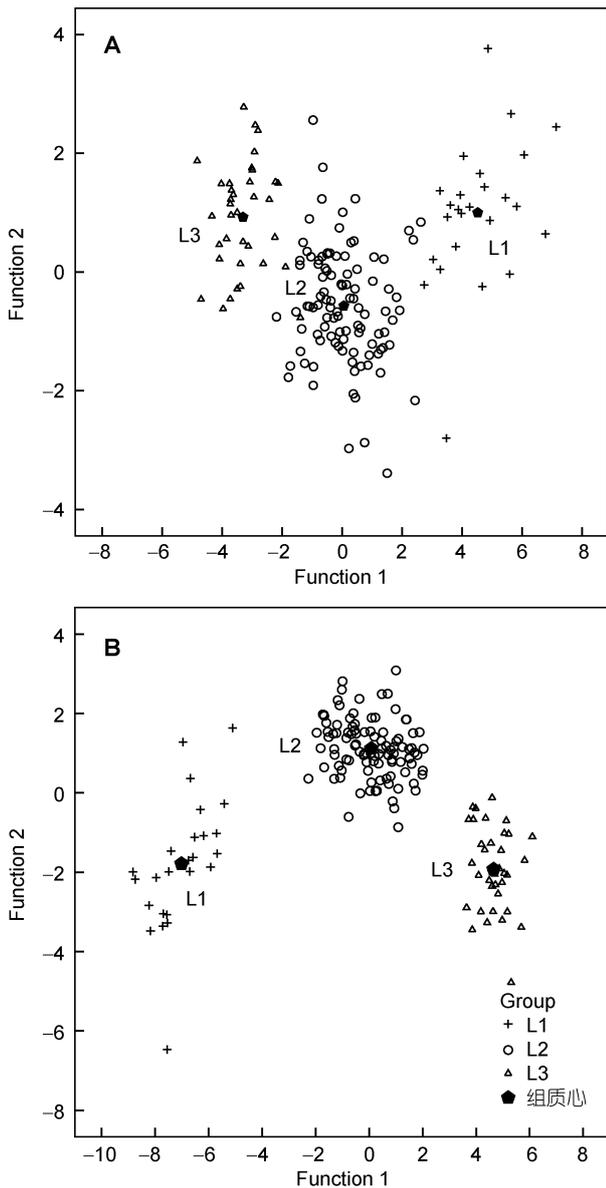


图3 长江口各体长组(L1—L3)刀鲚耳石形态特质的判别结果散点图

Fig.3 Scatter plot of DFA on otolith morphometrics of tapertail anchovy of different fish length (L1—L3) in the Yangtze River Estuary

A. 协方差校正, B. 异速生长校正

状指数或傅立叶系数识别澳大利亚南部水域黄姑鱼 *Argyrosomus japonicus* 群体的判别成功率分别为 48% 和 74%, 而结合二者的判别成功率可提高至 83% (Ferguson *et al.*, 2011)。类似地, 基于耳石大小变量或轮廓变量识别澳大利亚与印度洋海域条纹婢鲷 *Latris lineata* 群体时, 其判别成功率分别为 47% 和 72%, 而结合两者的判别成功率可升高至 75% (Tracey *et al.*, 2006)。本研究采用结合两种变量来表征耳石形态特

质的方法, 经过对各参数数据进行对数转换、统计检验、体长校对等处理, 筛选出耳石重量、矩形趋近率、分形维数和多个傅立叶系数值等有效参数用于刀鲚群体识别, 获得了 50% 以上的总体判定成功率。

耳石表征性形态参数的选取方法是耳石形态分析中的一个关键问题, 对这些参数的处理和筛选方式的合理与否会对群体识别结果造成显著影响。在现有文献中, 一些研究采取了将参数层层筛选的方法, 并伴随着统计假设的取舍, 舍弃掉众多参数中无效或对判别贡献小的参数, 保留有效参数进行群体识别 (DeVries *et al.*, 2002)。此种数据处理方式能够保证代入判别模型中的每一个参数都是真实有效的, 而且都经过了标准化处理, 但其缺点是舍弃掉的大量“无效”参数会造成某些耳石形态信息的遗失, 可能会潜在地降低了判别分析的判定成功率。另一部分研究则采取了主成分分析的思路, 以多参数变量的主成分代入判别分析, 这不仅减少了参数个数(降维), 简化了统计分析过程, 同时也避免了过多地遗漏耳石形态信息的微小差异。由于主成分之间的正交特性, 该方法还能避免变量共线性对结果的干扰 (Agüera *et al.*, 2011)。因此, 主成分分析在参数变量较多情况下更能体现其优势。鉴于本研究所选用的参数变量并不是特别多, 作者采用了第一种参数处理方式来筛选有效变量。也正因为如此, 可能在一定程度上舍弃掉较多的“无效”参数(在两种体长校对方法中均超过原始参数的 80%)而导致某些耳石形态信息的遗失, 这可能是造成本研究中总体判定成功率偏低的一个重要原因。另外, 图像分析技术与椭圆傅立叶分析为描述耳石轮廓提供了一种有效的方法, 利用该方法可以方便又较准确地定量表达鱼类耳石的二维投影轮廓。一般而言, 傅立叶系数的低序谐波值可以更能客观表征耳石的一般形状; 而高序谐波值描述了耳石外周的某些细节, 但不易与群体的实际耳石形态差异相联系, 因此在解释那些统计上显著却微小的形状差异时往往存在一定困难 (DeVries *et al.*, 2002)。在本研究中, 最终保留下来用于群体识别的傅立叶谐波值中高序谐波值占多数。这一问题究竟在多大程度上影响了群体识别的效果, 有待进一步研究。

3.2 耳石形态分析中的体长效应校正及其在群体识别中的应用

鱼类耳石的种间形态差异主要受遗传因素控制, 而同一鱼种的鱼类个体生长差异可能会显著影响其耳石的形态特质 (Lombarte *et al.*, 1993)。因此, 在进行

表 4 近年来基于耳石形态分析的鱼类群体识别的研究结果

Tab.4 Summary of fish stock identification using otolith shape analysis in recent literature

鱼种	群体数	研究水域	耳石形态参数	群体识别成功率	文献
大西洋鲱 <i>Clupea harengus</i>	2	爱尔兰及凯尔特海域	Form-factor, roundness, circularity, rectangularity, ellipticity, EFA	81%—100%	Burke <i>et al</i> , 2008a
	2	爱尔兰海域	Circularity, rectangularity, roundness, form-factor, ellipticity, EFA	86%—87%	Burke <i>et al</i> , 2008b
欧洲鳗鲡 <i>Anguilla anguilla</i>	3	意大利中部及南部海域	Biometric measures, EFA	>81%	Capoccioni <i>et al</i> , 2011
竹刀鱼 <i>Scomberesox saurus saurus</i>	2	爱尔兰西南海域、比斯开湾、西班牙东南海域	Circularity, rectangularity, EFA	89%	Agüera <i>et al</i> , 2011
大西洋鳕 <i>Gadus morhua</i>	5	加拿大东海岸、美国东北海岸、冰岛西海岸海域	Area, perimeter, FFT	17%—77%	Campana <i>et al</i> , 1993
	2	法罗海岸和高原水域	Area, contour length, max internal distance, longest axis perpendicular to max internal distance, distance between centroid and rostrum (AP1), distance between centroid and postum (AP2), angle between AP1 and AP2, FFT	75%—87%	Cardinale <i>et al</i> , 2004
黑线鳕 <i>Melanogrammus aeglefinus</i>	5	北海、苏格兰西部海域	Length, width, perimeter, circularity, rectangularity, axis major, axis minor, max and min diameter, max and min. radius, breadth, FFT	>70%	Galley <i>et al</i> , 2006
	3	冰岛西南沿海海域	Length, width, area, perimeter, circularity, rectangularity, FFT	轮廓变量: 21%—60%, 轮廓变量+大小变量: 51%—80%	Petursdottir <i>et al</i> , 2006
	3	挪威沿岸、东北北冰洋海域	Length, width, perimeter, area, EFA	>89%	Stransky <i>et al</i> , 2008a
无须鳕 <i>Merluccius sp.</i>	2	乔治海岸东西两侧海域	Area, length, width, perimeter, circularity, rectangularity, FFT	26%—97%	Begg <i>et al</i> , 2000
圆吻突吻鳕 <i>Coryphaenoides rupestris</i>	6	秘鲁、智利沿岸; 阿根廷、乌拉圭共同渔业区、圣马蒂斯湾; 西班牙北部近海、地中海西北部海域	Area, perimeter, convex perimeter, max length, max height, max height caudal colliculum, max height collum, collum caudal collicum length, collum ostial colliculum length, EFA	68%—100%	Torres <i>et al</i> , 2000
	4	北大西洋海域	Circularity, rectangularity, roundness, ellipticity	43%	Longmore, 2010

鱼种	群体数	研究水域	耳石形态参数	群体识别成功率	文献
九带鲳 <i>Serranus cabrilla</i>	2	东大西洋中部海域、地中海西部海域	Form-factor, roundness, circularity, rectangularity, ellipticity, eccentricity,	64%—69%	Tuset <i>et al</i> , 2003
竹荚鱼 <i>Trachurus trachurus</i>	3	东北大西洋与地中海海域	EFA	>80%	Stransky <i>et al</i> , 2008b
鲱鳅 <i>Coryphaena hippurus</i>	2	巴西东北部沿海海域	Area, perimeter, rectangularity, circularity, eccentricity, FD, EFA	57%—70%	Duarte-Neto <i>et al</i> , 2008
黄姑鱼 <i>Argyrosomus japonicus</i>	3	澳大利亚南部海域	Circularity, rectangularity, roundness, form-factor, ellipticity, EFA	轮廓指数: 48%, 傅立叶系数: 74%, 轮廓指数+傅立叶系数: 83%	Ferguson <i>et al</i> , 2011
黑等鳍叉尾带鱼 <i>Aphanopus carbo</i>	3	葡萄牙近海、马德拉群岛海域和亚速尔群岛海域	EFA	>87%	Farias <i>et al</i> , 2009
大耳马鲛 <i>Scomberomorus cavalla</i>	2	墨西哥湾东部及大西洋海域	Perimeter, area, FFT	71%—78%	DeVries <i>et al</i> , 2002
鰕虎鱼 <i>Sicyopterus</i> sp.	3—4	新喀里多尼亚、瓦努阿图海域	Circularity, rectangularity, roundness, form-factor, ellipticity, EFA	种内: 100% 种间: 97%	Lord <i>et al</i> , 2011
斑尾复鰕虎鱼 <i>Synechogobius ommaturus</i>	5	黄海沿岸海域	Area, perimeter, length, width, circularity, rectangularity, Fourier harmonics	30%—77%	Wang <i>et al</i> , 2011
黑腹无鳔鲉 <i>Helicolenus dactylopterus</i>	3	葡萄牙海域	EFA	雌性: 70% 雄性: 67%	Neves <i>et al</i> , 2011
狭鳞庸鲷 <i>Hippoglossus stenolepis</i>	2	阿拉斯加湾中部海域	Otolith length-width ratio, otolith weight, FFT	保留耳石重: 71%—74% 忽略耳石重: 64%—65%	Forsberg <i>et al</i> , 1993
条纹婢鲷 <i>Latris lineata</i>	2	澳大利亚与印度洋海域	Perimeter, area, the longest axis, EFA	轮廓变量: 72%, 大小变量: 47% 轮廓变量+大小变量: 75%	Tracey <i>et al</i> , 2006

基于耳石形态参数的群体识别研究时,必须采取合理的数据处理方法减小异速生长造成的判别偏差。其主要方法包括协方差校正(Campana *et al.*, 1993; DeVries *et al.*, 2002; Galley *et al.*, 2006; Petursdottir *et al.*, 2006; Tracey *et al.*, 2006; Burke *et al.*, 2008a; Duarte-Neto *et al.*, 2008; Agüera *et al.*, 2011)和异速生长校正(Lleonart *et al.*, 2000)等。在本研究中,协方差校正和异速生长校正分别获得 50.3% (39.5%—90.0%)和 56.5% (34.0%—65.1%)的总体判别成功率。两种体长校正方法对四个群体的识别总体成功率的影响并不大,但对特定群体的识别成功率产生了一定影响。前者对各群体的识别成功率为长江口群体>辽河口群体>秦皇岛群体>黄河口群体,后者为黄河口群体>长江口群体>辽河口群体>秦皇岛群体。二者的个体识别效果差异主要表现在黄河口群体(协方差校正为最低值 39.5%,异速生长校正为最高值 65.1%),而对长江口群体的个体识别成功率均处在较高水平上(分别为 90%和 64%)。总体上,异速生长法校正与协方差校正对总体判别成功率的影响无明显差异,但前者在各群体的判别成功率波动较小、更稳定。

在相同世代级或相近体长-年龄组的鱼类个体的耳石形态参数选择及群体识别过程中,体长校对无疑能有效降低鱼类个体生长差异对耳石形态分析结果造成的潜在偏差。但对于由不同世代级或体长-年龄组成的混合样本个体(体长差异大),体长校对的这一功能是否有效尚不明确,因为鱼类耳石形态特质通常随其发育阶段或年龄而变化。例如, Campana 等(1993)研究发现年龄是影响大西洋鳕的耳石形态特质及其在群体判别的效果的一个关键因素。在这种情况下,应该利用 MANOVA 或 MANCOVA 等统计方法处理和判断各体长-年龄组的个体耳石形态特质及其差异性。本研究结果表明,长江口水域三个不同体长组刀鲚的耳石形态特质存在显著差异,即随着刀鲚的生长,其耳石形态特质会发生显著变化。这些耳石形态参数既包括平均直径、周长、面积等大小变量,也有傅立叶系数等轮廓变量。同时,基于这些形态参数变量的判别分析可以有效地识别各体长组的个体,协方差和异速生长法体长校正后的体长组总体判定成功率分别达 94.5% (92.0%—95.1%)和 98.8% (97.2%—100%),这既表明刀鲚耳石形态特质随鱼类生长而显著变化,也佐证了利用 MANOVA 和 MANCOVA 等统计方法检验不同体长或年龄组的个体耳石形态特质和差异是合理有效的。也就是说,当鱼类样本体长

差异足够大(如年龄间差异)时,仅通过体长校对未必能有效消除鱼类生长对耳石形态特质分析的实际体长效应的影响。在这种情况下,体长组或年龄组别间的耳石差异分析是必须的。

除个体生长差异外,鱼类的生活史或生存环境的异质性也可以导致同一鱼种的不同群体之间产生个体耳石形态差异(Lombarte *et al.*, 1993; Cardinale *et al.*, 2004)。控制鱼类生长的环境因子会通过作用于耳石沉积而影响耳石形态特质。例如,水温和鱼类的摄食活动或营养条件可通过影响耳石沉积比率和形式而作用于耳石的形态差异(Lombarte *et al.*, 1993; Gagliano *et al.*, 2004)。本研究的结果表明,地理隔离度高的群体如长江口群体的识别效果要高于其它群体,即两种体长校对方法能有效地把长江口群体与三个渤海群体区分开。相反,地理空间较近的群体的识别效果较差,如无论采取哪种体长校正方法,辽河口群体和秦皇岛群体均无法取得理想的个体识别效果。地理隔离度越高,鱼类的生存环境差别越大,环境因素对耳石形态特质作用也就越明显。很显然,长江口刀鲚群体与渤海刀鲚群体经历的物理-化学环境及生物环境可能存在较大差异,这些差异可能会作用于鱼类的个体和耳石生长,最终导致了不同群体的耳石形态特质的显著差异。在这一方面,它与基于耳石核区元素指纹的群体识别有所不同。例如,基于耳石核区元素指纹 LA-ICPMS 分析对辽东湾、渤海湾、黄河口、胶州湾及长江口五个刀鲚群体的判别成功率在 46.2%—92.3% 之间,总体判别成功率达 72.7%。有趣的是,地理隔离度较高的胶州湾群体的判别成功率最低(46.2%),而渤海三个群体的判别成功率较高(辽东湾群体 92.3%、黄河口群体 76.9%、渤海湾群体 58.3%)。同时,各刀鲚群体中被误判的多数个体并不一定都被归类到相邻的地理群体中(窦硕增等, 2011b)。由于耳石核区元素指纹组成虽然在一定程度上受生物、环境因素的影响,但主要与刀鲚个体出生时其出生地(母河)的水化学组成密切相关,所以各地理群体的耳石核区元素指纹的特质性比较稳定,具备较高的群体识别能力。而耳石形态特质的形成要经过较长的生活时期(从出生至被捕杀),并受多重复杂的生理、生态环境因素的交互作用,这可能在很大程度上影响了其稳定性和显著性,从而降低了其群体识别能力。

在鱼类群体识别方法中,除传统的种群生态学分析法如形态学法、标记-重捕法、渔获量分析法、

生活史特征分析法、寄生虫标志法等外, 种群遗传分析和耳石信息分析技术及其应用研究在近年来有长足发展。种群遗传分析技术在解决那些生殖隔离度高、生活史重叠期短鱼类群体识别等问题中是有效可行的。但对于生活史重叠度高、生殖群体遗传差异性未必显著的鱼类, 该技术的群体识别能力和效果会受到较大限制。而耳石信息分析技术的发展为解决这一鱼类生态学问题提供了一种有效的新技术方法, 这包括耳石形态特质分析和耳石元素指纹分析等技术。文献研究结果表明, 尽管各种技术在各自研究中的群体识别效果存在差异, 但只要选取合理的特征参数和数据处理方法, 它们均具备潜在的群体识别能力。而近期的一些相关研究已证明了不同耳石信息分析方法的结合会具备更强的解决鱼类群体识别问题的能力(Longmore *et al*, 2010; Ferguson *et al*, 2011), 值得关注和探索研究。

参 考 文 献

- 王英俊, 叶振江, 刘 群等, 2010. 细条天竺鱼(*Apogonichthys lineatus*)与黑鳃天竺鱼(*Apogonichthys arafurae*)耳石形态识别的初步研究. 海洋与湖沼, 41(2): 281—284
- 王英俊, 叶振江, 杨永恒等, 2007. 耳石形态在黄海蓝点马鲛群体鉴别方面的应用. 中国海洋大学学报, 37(增刊): 155—158
- 叶振江, 孟晓梦, 高天翔等, 2007. 两种花鲈(*Lateolabrax sp.*)耳石形态的地理变异. 海洋与湖沼, 38(4): 356—360
- 张 波, 戴芳群, 金显仕, 2008. 黄海重要饵料鱼种矢耳石的形态特征. 中国水产科学, 15(6): 917—926
- 张国华, 但胜国, 苗志国等, 1999. 六种鲤科鱼类耳石形态以及在种类和群体识别中的应用. 水生生物学报, 23(6): 683—688
- 郭弘艺, 唐文乔, 魏 凯等, 2007. 中国鲚属鱼类的矢耳石形态特征. 动物学杂志, 42(1): 39—47
- 窦硕增, 横内一樹, 于 鑫等, 2011a. 基于 EPMA 的耳石 Sr : Ca 比分析及其在鱼类生活史反演中的应用实例研究. 海洋与湖沼, 42(4): 512—520
- 窦硕增, 天野洋典, 于 鑫等, 2011b. 基于多测点 LA-ICPMS 的耳石核区元素指纹分析技术及其在鱼类群体识别中的实证研究. 海洋与湖沼, 42(6): 771—778
- Agüera A, Brophy D, 2011. Use of saggital otolith shape analysis to discriminate Northeast Atlantic and Western Mediterranean stocks of Atlantic saury, *Scorpaenopsis scorpaenoides* (Walbaum). Fisheries Research, 110: 465—471
- Begg G A, Brown R B, 2000. Stock identification of haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank based on otolith shape analysis. Transactions of the American Fisheries Society, 129: 935—945
- Burke N, Brophy D, King P A, 2008a. Otolith shape analysis: its application for discriminating between stocks of Irish Sea and Celtic Sea herring (*Clupea harengus*) in the Irish Sea. ICES Journal of Marine Science, 65: 1670—1675
- Burke N, Brophy D, King P A, 2008b. Shape analysis of otolith annuli in Atlantic herring (*Clupea harengus*); a new method for tracking fish populations. Fisheries Research 91: 133—143
- Cadrin S X, 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 10: 91—112
- Campana S E, Casselman J M, 1993. Stock discrimination using otolith shape analysis. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 50: 1062—1083
- Capoccioni F, Costa C, Aguzzi J *et al*, 2011. Ontogenetic and environmental effects on otolith shape variability in three Mediterranean European eel (*Anguilla anguilla* L.) local stocks. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 397: 1—7
- Cardinale M, Doering-Arjes P, Kastowsky M *et al*, 2004. Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 61: 158—167
- DeVries D A, Grimes C B, Prager M H, 2002. Using otolith shape analysis to distinguish eastern Gulf of Mexico and Atlantic Ocean stocks of king mackerel. Fisheries Research, 57: 51—62
- Duarte-Neto P, Lessa R, Stosic B *et al*, 2008. The use of sagittal otoliths in discriminating stocks of common dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) off northeastern Brazil using multishape descriptors. ICES Journal of Marine Science, 65: 1144—1152
- Farias I, Vieira A R, Gordo L E *et al*, 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(s2): 47—53
- Ferguson G J, Ward T M, Gillanders B M, 2011. Otolith shape and elemental composition: complementary tools for stock discrimination of mullet (*Argyrosomus japonicus*) in southern Australia. Fisheries Research, 110: 75—83
- Forsberg J E, Neal P R, 1993. Estimating sex of Pacific halibut (*Hippoglossus stenolepis*): using Fourier shape analysis of otoliths. Technical Reports (IPHC), 29: 1—23
- Gagliano M, McCormick M I, 2004. Feeding history influences otolith shape in tropical fish. Marine Ecology Progress Series, 278: 291—296
- Galley E A, Wright P J, Gibb F M, 2006. Combined methods of otolith shape analysis improve identification of spawning areas of Atlantic cod. ICES Journal of Marine Science, 63: 1710—1717
- Kuhl F K, Giardina C R, 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. Computer Graphics and Image Processing, 18: 236—258

- Leonart J, Salat J, Torres G J, 2000. Removing allometric effects of body size in morphological analysis. *Journal of Theoretical Biology*, 205: 85—93
- Lombarte A, Leonart J, 1993. Otolith size changes related with body growth, habitat depth and temperature. *Environmental Biology of Fishes*, 37: 297—306
- Longmore C, Fogarty K, Neat F *et al*, 2010. A comparison of otolith microchemistry and otolith shape analysis for the study of spatial variation in a deep-sea teleost, *Coryphaenoides rupestris*. *Environmental Biology of Fishes*, 89: 591—605
- Lord C, Morat F, Lecomte-Finiger R, 2011. Otolith shape analysis for three *Sicyopterus* (Teleostei: Gobioidae: Sicydiinae) species from New Caledonia and Vanuatu. *Environmental Biology of Fishes*, 93: 209—222
- Neves A, Sequeira V, Farias I *et al*, 2011. Discriminating bluemouth, *Helicolenus dactylopterus* (Pisces: Sebastidae), stocks in Portuguese waters by means of otolith shape analysis. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 91: 1237—1242
- Petursdottir G, Begg G A, Marteinsdottir G, 2006. Discrimination between Icelandic cod (*Gadus morhua* L.) populations from adjacent spawning areas based on otolith growth and shape. *Fisheries Research*, 80: 182—189
- Stransky C, Baumann H, Fevolden S E *et al*, 2008a. Separation of Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod by outer otolith shape analysis. *Fisheries Research*, 90: 26—35
- Stransky C, Murta A G, Schlickeisen J *et al*, 2008b. Otolith shape analysis as a tool for stock separation of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Northeast Atlantic and Mediterranean. *Fisheries Research*, 89: 159—166
- Torres G J, Lombarte A, Morales-Nin B, 2000. Sagittal otolith size and shape variability to identify geographical intraspecific differences in three species of the genus *Merluccius*. *Journal of the Marine Biology Association*, 80: 333—342
- Tracey S R, Lyle J M, Duhamel G, 2006. Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock identification. *Fisheries Research*, 77: 138—147
- Tuset V M, Lozano I J, Gonzalez J A *et al*, 2003. Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 19: 88—93
- Wang Ying-Jun, Ye Zhen-Jiang, Liu Qun *et al*, 2011. Stock discrimination of spottedtail goby (*Synechogobius ommaturus*) in the Yellow Sea by analysis of otolith shape. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 29: 192—198

OTOLITH SHAPE ANALYSIS AND ITS APPLICATION IN FISH STOCK DISCRIMINATION: A CASE STUDY

DOU Shuo-Zeng¹, YU Xin^{1,2}, CAO Liang¹

(1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071; 2. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049)

Abstract This study was to discriminate four tapertail anchovy *Coilia nasus* stocks in the coastal waters of the Bohai Sea and the Yangtze River Estuary of China by means of otolith shape analysis including size variables and shape variables. Removing fish length effects on otolith shape analysis and stock identification by both ANCOVA adjustment and allometric growth adjustment were also critically assessed. Results showed that these two adjustment methods achieved an overall classification success (discriminant function analysis) of 50.3% (39.5%—90.0%) and 56.5% (34.0%—65.1%) for the four geographical stocks, respectively, where no significant difference is observed. Otolith morphometrics differed significantly among the three fish length groups of the tapertail anchovy in the Yangtze River Estuary, suggesting that otolith shapes could change markedly as fish grows. ANCOVA adjustment and allometric growth adjustment on fish length produced an overall classification success of 94.8% and 98.8%, respectively, for the three fish length groups in this region. In general, otolith shape variables (e.g., rectangularity, roundness, fractal dimension and the Fourier coefficients) could contribute more to the success of stock identification than size variables (e.g., perimeter, mean diameter, weight and area), whereas a combination of both kinds of variables could obviously improve the ability of otolith shape analysis to effectively discriminate stocks.

Key words Otolith, Morphometric variables, Discriminant function analysis, Fish length adjustment, Elliptical Fourier analysis, Tapertail anchovy *Coilia nasus*