

基于矢耳石形态分析的凤鲚(*Coilia mystus*) 群体识别研究*

于鑫^{1,2} 曹亮¹ 南鸥^{1,2} 赵博^{1,2} 窦硕增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. 中国科学院大学 北京 100049)

提要 以长江口、胶州湾、渤海湾和辽东湾4个地理群体的凤鲚(*Coilia mystus*)矢耳石样本为研究对象,采用形状指数和椭圆傅里叶系数分析相结合的方法研究了该4个凤鲚群体的矢耳石形态特征及差异性。方差分析结果表明,大部分形态变量存在显著的群体差异,引入协变量(耳石长)之后除形状因子外这种差异依然显著。基于协方差校正的判别分析只保留了耳石重量及9个傅里叶系数用于群体识别,而非参数检验的判别分析则保留了耳石重量、分形维数、环状度、矩形趋近率、圆度和19个傅里叶系数用于群体识别。相应地,基于非参检验的凤鲚群体的总体识别成功率(68.2%)明显高于协方差校正的判别分析结果(46.2%),表明前者比后者更能提高耳石形态分析的群体识别能力。

关键词 矢耳石;形态分析;群体识别;协方差校正与非参数检验;凤鲚

中图分类号 Q179.3

鱼类的矢耳石(sagittal otolith)中记录了大量其生活史和环境履历信息。因此,耳石信息分析被广泛应用于鱼类生活史的重新构建研究。例如,结合种群生态学分析,利用耳石显微结构分析和微化学分析可以解决鱼类年龄生长、繁殖-性成熟、种群鉴定和出生溯源等鱼类生态学问题(窦硕增,2007)。近年来,耳石形态分析及其应用研究亦受到关注,作者已对相关研究做过综合分析(窦硕增等,2012)。国内相关研究包括耳石形态分析(张国华等,1999;张波等,2008;王英俊等,2010)及其在鱼类群体识别(王英俊等,2007;叶振江等,2007b)和分类中的应用研究(郭弘艺等,2010;叶振江等,2007a)。

在耳石形态分析中,表征性形态参数的筛选及合理的数据分析方法是提高其在群体识别中应用能力的两个重要环节,但目前还没有解决这两个问题的标准或规范方法。因此,通过开展实证研究,探索耳石形态参数筛选及数据分析方法是十分必要的。作

者曾以我国刀鲚地理群体的识别为实证研究,对比研究了协方差校正法和异速生长校正方法在解决耳石形态参数筛选和数据分析问题中的应用效果(窦硕增等,2012)。本文则以我国凤鲚(*Coilia mystus*)群体识别为例,对比研究参数检验(协方差校正分析)和非参数检验方法在解决相关问题中的应用,以供国内同行商榷。

凤鲚隶属鲱形目、鲹科、鲚属,是一种分布于我国近海的河口性鱼类,主要栖息于河口及其邻近水域,具有较高的经济价值。关于凤鲚耳石信息方面的研究包括形态分析(郭弘艺等,2010;姜涛等,2011)、显微结构(He *et al.*, 2008)及微化学分析(窦硕增等,2011; Yang *et al.*, 2006)等。耳石形态学研究主要集中于与同属的种间比较研究(郭弘艺等,2010;姜涛等,2011)。在群体识别方面,Cheng(2010)采用基于鱼体表型(长度)特征的特拉斯网络(Truss network)分析方法开展了长江口、闽江口及珠江口凤鲚群体识别研究。本文

* 国家自然科学基金国际(地区)合作研究项目,31061160187号;国家自然科学基金创新研究群体项目,41121064号。于鑫, E-mail: yx850122@126.com

通讯作者: 窦硕增, 博士, 研究员, E-mail: szdou@qdio.ac.cn

收稿日期: 2012-07-08, 收修改稿日期: 2012-10-12

研究辽东湾、渤海湾、胶州湾和长江口 4 个风鲚地理群体的耳石形态特征、差异性及其在群体识别中的应用, 探索基于耳石形态分析的群体识别的技术方法。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用风鲚矢耳石均取自中国科学院海洋研究所于 20 世纪 80 年代初在渤海、胶州湾和长江口水域采集的样本。在拖网渔获物中随机采集风鲚样本, 冷冻保存后进行室内生物学测定(体长、体重、性腺成熟度、摄食强度等)。摘取其矢耳石, 清洗表面后保存于耳石盒中。风鲚样本包括辽东湾群体[$n=33$, 体长范围 120—203mm, 平均体长(184±21)mm, 下同]、渤海湾群体[$n=48$, 170—234mm, (201±16)mm]、胶州湾群体[$n=24$, 124—150mm, (141±8)mm]和长江口群体[$n=50$, 134—203mm, (165±22)mm]。

1.2 方法

1.2.1 耳石形态参数的选取 本研究所选用的风鲚矢耳石在形态学测量前均经过超声波清洗和干燥处理, 之后在电子天平上测定重量(精度 0.1mg)。在解剖镜(Nikon SMZ1000, ACT-2)下拍摄耳石的二维轮廓图形(图 1)。测量的耳石形态变量包括: 长径、短径、平均直径、周长、面积、耳石长、耳石宽、分形维数(fractal dimension)。直径测量的是通过耳石几何中心(centroid)的直径长, 面积指耳石的二维投影面积, 分形维数描述图形边缘的复杂程度。上述参数测量均在 Image Pro-plus 6.0 软件上完成。

利用以上耳石大小变量(size variable)计算得到 6 个形状指

数(shape indices; 表 1)。形状因子(form-factor)估测图形表面的不规则程度, 当其取值为 1 时, 表明图形是圆形; 小于 1 时, 图形不规则。圆度(roundness)和环状度(circularity)计测图形与圆或环的近似度。矩形趋近率(rectangularity)描述图形在长与宽方向上的变异, 当其取值为 1 时, 表明图形为矩形。椭圆率(ellipticity)描述图形在轴方向上是否是成比例变化(Tuset *et al.*, 2003)。纵横比(aspect ratio)描述图形在纵轴与横轴方向上的长度比。



图 1 风鲚矢耳石外侧面
Fig.1 External surface view of sagittal otolith of *C. mystus*

表 1 耳石形状指数计算公式
Tab.1 Formulae of the otolith shape indices

| 形状指数 | 计算公式 |
|-----------------------|--------------------|
| 形状因子(form-factor) | $(4\pi A)/P^2$ |
| 环状度(circularity) | P/A^2 |
| 矩形趋近率(rectangularity) | $A/(OL \times OW)$ |
| 圆度(roundness) | $(4A)/(\pi OL^2)$ |
| 椭圆率(ellipticity) | $(OL-OW)/(OL+OW)$ |
| 纵横比(aspect-ratio) | OL/OW |

注: P 表示耳石周长, A 表示耳石面积, OL 表示耳石长, OW 表示耳石宽

傅里叶分析(Fourier analysis)是定量描述闭合轮廓的有效方法。椭圆傅里叶函数(Elliptical Fourier function)能够有效描述图形轮廓, 定量获取轮廓边缘的有效信息。这种方法不需要在图形轮廓边缘等角度间隔取点。因此, 它比极线傅里叶函数(Polar Fourier function)更适于描述轮廓边缘复杂的图形。当图形边缘有凹陷或缠绕时, 极线傅里叶函数所采用的从图形中心引向图形边缘的半径就会与图形边缘产生两个或两个以上的交点。由于极线傅里叶函数只选用第一个点, 这样会使部分耳石边缘信息丢失。而椭圆傅里叶函数通过在图形边缘选取一系列坐标点来计算傅里叶系数, 从而避免了这类问题。一般要比采用极线傅里叶函数的快速傅里叶转换(Fast Fourier transform)以及其它类似的形状分析方法更有效(Lord *et al.*, 2011)。因此, 本研究采用椭圆傅里叶分析法获取描述耳石二维轮廓的傅里叶系数。其分析过程通过 TpsDig 与 EFAW 软件完成, 见窦硕增等(2012)。

1.2.2 统计分析 本研究采用多元方差分析检验矢耳石形态的群体内差异性。考虑到个体生长差异可能对检验结果产生干扰, 为达到无偏分析的目的, 在样本选择时根据各群体的实际情况减小了所用样本的体长范围, 并在数据分析过程中引入了协变量(耳石长)以降低或消除个体生长差异性对耳石形态变量的影响。作为协变量, 耳石长比使用鱼体长具有优势, 因为耳石长不会受样品间保存、缩水和变形的影响(Campana *et al.*, 1993)。

以单因素方差分析检验各个形状指数在群体间的差异性, 用多重比较(Tukey test)验证差异来源, 并对比加入协变量(耳石长)之后分析结果。在以上统计分析过程中, 对于不满足正态性(Kolmogorov-Smirnov test)及方差齐性(Leneve's test)要求的变量进行数据转换(log, tan 或 square), 仍无法满足统计假设的变量

予以舍弃。

合理选择形态变量是解决基于耳石形态特征研究鱼类群体识别问题的关键技术之一。本文采取了两种方法来解决这一问题。

方法一，参照了窦硕增等(2012)的协方差校正变量筛选过程。去除群体间差异不显著的变量、协方差交互作用显著的变量以及与协变量耳石长非线性相关关系的变量，得到用于判别分析的变量集合。利用共同的回归斜率按照耳石长校正公式校正各变量：

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

式中， $Y_{ij(adj)}$ 表示第*i*组第*j*个值校正后的值， Y_{ij} 表示第*i*组第*j*个值的原始值， b 表示共同的回归斜率， X_{ij} 表示第*i*组第*j*个耳石长值， \bar{X} 表示耳石长总体平均值。

方法二，基于非参数检验，变量选择过程得到简化。非参数检验对于数据分布不做任何要求，这使得更多的形态变量得到保留，降低了一些有效数据信息因不满足统计分析中的正态性及方差齐性要求而被过多地去除的风险。利用 NPAR1WAY 过程检验各形态变量在群体间的差异性，保留差异显著的变量，用于群体识别分析。

利用 SAS 中的 PROC DISCRIM 过程进行群体判别分析。对于方法一，由于检验结果显示群体间的协方差矩阵(covariance matrices)不满足齐性要求，故分析中采用了二次判别函数，并执行交叉检验(cross-validation)来评估判别函数的有效性，执行 PROC CANDISC 分析其典则判别函数。对于方法二，群体判别 PROC DISCRIM 过程执行非参数方法，执行 PROC CANDISC 分析其典则判别函数。统计分析主要在 SAS 9.13 软件上完成。差异显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 群体内耳石形态的个体差异性

2.1.1 左右矢耳石间的形态差异性 除长江口群体雄性个体的左右耳石间存在显著的形态差异(Wilk's $\lambda=0.663$, $P < 0.05$)外，其它三个群体及长江口群体雌性个体的左右矢耳石间均不存在显著的形态差异。

2.1.2 雌雄个体间矢耳石的形态差异性 除长江口群体的左耳石形态存在显著的雌雄个体差异外(Wilk's $\lambda=0.684$, $P < 0.05$)，其余三个群体及长江口群体的右耳石形态均无显著的雌雄个体差异。基于此，下文中的耳石形态分析均采用雌性个体的右矢耳石开展研究。

2.2 群体间耳石形态的差异性

2.2.1 形态参数的群体间差异性 耳石形态变量的群体间差异性分析结果表明，形状因子在各群体间差异显著($P < 0.05$)，但校正生长差异后其差异不显著($P > 0.05$)，这表明各凤鲚群体间耳石表面不规则程度无明显差异。矩形趋近率在各群体间的差异不显著($P = 0.05$)，校正生长差异后各群体间产生了显著差异($P < 0.05$)，这表明实际上各群体耳石矩形趋近率存在显著差异。分形维数、环状度、圆度、椭圆率和纵横比在校正生长差异前后均存在群体间显著差异($P < 0.05$, 表 2)。值得注意的是，矩形趋近率在未引入协变量时的群体间差异不显著，但多重比较结果显示辽东湾群体与长江口群体之间存在显著差异；引入协变量之后，矩形趋近率在群体间检出了显著差异，多重比较结果与之前一致。相反，形状因子在未

表 2 凤鲚耳石形态变量群体间差异比较

Tab.2 Differences of the morphological variables of otoliths among *C. mystus* stocks

| 变量 | 未引入协变量 | | | | | 引入协变量 | | | | | | |
|-------|--------|-------|------------|----|----|-------|------|------------|----|----|---|----|
| | R^2 | P | 多重比较 Tukey | | | R^2 | P | 多重比较 Tukey | | | | |
| 耳石重 | 0.18 | <0.05 | a | b | bc | ac | 0.44 | <0.05 | a | b | c | ac |
| 分形维数 | 0.2 | <0.05 | a | b | b | a | 0.75 | <0.05 | a | b | b | c |
| 环状度 | 0.22 | <0.05 | a | b | b | a | 0.9 | <0.05 | a | b | c | d |
| 矩形趋近率 | 0.05 | 0.05 | ab | ab | a | b | 0.06 | <0.05 | ab | ab | a | b |
| 形状因子 | 0.06 | 0.03 | a | a | a | a | 0.06 | 0.06 | a | a | a | a |
| 圆度 | 0.1 | <0.05 | a | b | b | b | 0.17 | <0.05 | a | b | b | b |
| 椭圆率 | 0.12 | <0.05 | a | b | b | b | 0.23 | <0.05 | a | b | b | b |
| 纵横比 | 0.13 | <0.05 | a | b | b | b | 0.23 | <0.05 | a | b | b | b |

注：、及 分别表示胶州湾群体、渤海湾群体、辽东湾群体和长江口群体，多重比较结果中含有相同字母表示两者之间无显著差异

引入协变量时的群体间差异显著,但多重比较未能检出差异来源;引入协变量之后,形状因子在群体间未检出显著差异,多重比较结果显示各群体间均无显著差异。这表明,引入协变量消除各群体生长差异后的总体检验结果与多重比较结果一致性更好。另外,引入协变量后各检验的 R^2 值均有显著提高,这表明协变量的引入对于提高统计分析的有效性有积极作用。

2.2.2 群体识别 用于群体识别的判别分析变量,在协方差校正方法中包括矢耳石重量和 9 个傅里叶系数,计 10 个变量(表 3)。交叉验证结果表明,胶州湾群体的识别成功率最低,长江口群体与辽东湾群体的识别成功率最高(61.5%),渤海湾群体的识别成功率较低(26.3%),总体判别成功率为 46.2%。典则判别函数一能够解释 50%的群体间变异,可以将 4 个群体识别开;典则判别函数二能够解释 38.1%的群体间变异,无法将胶州湾群体和渤海湾群体区分开(图 2a)。第 11 号傅里叶谐波值对典则判别函数一的贡献最大,第 4 号谐波值对典则判别函数二贡献最大。最终用于判别分析的傅里叶系数均属低序谐波值(傅里叶系数 1—40)。非参数检验方法中使用了耳石重量、分形维数、环状度、矩形趋近率、圆度和 19 个傅里叶系数(表 3)。交叉验证结果表明,辽东湾群体的识别成功率最低(53.9%),胶州湾群体的识别成功率最高(88.9%),渤海湾与长江口群体识别成功率分别为 68.4%和 61.5%,总体识别成功率为 68.2%。典则判别函数一能够解释 60.9%的群体间差异,可以有效地将渤海湾群体、辽东湾群体与胶州湾群体、长江口群体区分开;典则判别函数二能够解释 30%的群体间差异,可以将胶州湾群体与其它三个群体区分开(图 2b)。第 4 号

傅里叶系数对典则判别函数一的贡献最大,环状度对典则判别函数二的贡献最大。最后用于判别分析的 19 个傅里叶系数中,13 个(68%)为低序谐波值,6 个(32%)为高序谐波值,低序谐波值的贡献要高于高序谐波值。

3 讨论

3.1 基于耳石形态特征的风鲚群体识别

在本研究中,基于协方差校正的耳石形态分析在风鲚群体识别中的总体判别成功率较低(46.2%),但非参数检验明显提高了其总体判别成功率(68.2%)。总体上,基于两种统计检验的矢耳石形态分析能够较有效地识别辽东湾群体(分别为 61.5%和 53.9%)和长江口群体(均为 61.5%),但胶州湾群体与渤海湾群体在两种分析方法中的识别效果差异较大。在协方差校正的判别分析中,胶州湾群体所有的个体均被误判入其它群体;在非参数检验的判别分析中,其识别成功率达到 88.9%。而渤海湾群体在两种检验方法中的识别成功率分别为 26.3%和 68.4%。非参数检验不苛刻数据的正态分布性和方差齐次性等条件,能够最大限度地利用原始数据,保留更多的耳石形态信息用于群体识别。在本研究中,基于协方差校正的方法只保留了耳石重量及 9 个傅里叶系数用于群体识别,而非参数检验则保留了更多有效的耳石形态学参数(耳石重量、分形维数、环状度、矩形趋近率、圆度和 19 个傅里叶系数)用于群体识别,这在较大程度上提高了耳石形态分析的群体识别能力。

以非参数检验的判别分析结果为例,对风鲚各地理群体中被误判个体的分布情况的分析表明,在 12 个被误判的辽东湾个体中有 9 个(75%)被误判入地理位置相近的渤海湾群体,而在 6 个被误判的渤海湾

表 3 风鲚群体耳石形态变量典则判别分析交叉检验结果

Tab.3 Cross-validation results of canonical discrimination analysis on the morphological variables of otoliths among *C. mystus* stocks

| 群体 | 判别成功率(%) | | | | | n | 耳石形态参数 |
|------------|----------|----------|----------|---------|----------|------|---|
| | 辽东湾群体 | 渤海湾群体 | 胶州湾群体 | 长江口群体 | 总体 | | |
| 协方差 | 辽东湾群体 | 61.5(16) | 15.4(4) | 0(0) | 23.1(6) | 46.2 | Otolith weight, 4, 8, 11, 16, |
| 校正法 | 渤海湾群体 | 47.4(9) | 26.3(5) | 0(0) | 26.3(5) | 19 | 23, 24, 28, 30, 33 |
| | 胶州湾群体 | 56.5(5) | 11.1(1) | 0(0) | 33.3(3) | 9 | |
| | 长江口群体 | 19.2(5) | 19.2(5) | 0(0) | 61.5(16) | 26 | |
| 非参数 检验法 | 辽东湾群体 | 53.9(14) | 34.6(9) | 0(0) | 11.5(3) | 68.2 | Otolith weight, Fractal dimension, |
| | 渤海湾群体 | 21.1(4) | 68.4(13) | 0(0) | 10.5(2) | 19 | Circularity, Rectangularity, Roundness, |
| | 胶州湾群体 | 0(0) | 11.1(1) | 88.9(8) | 0(0) | 9 | 4, 7, 8, 10, 11, 16, 17, 22, 23, |
| | 长江口群体 | 7.7(2) | 23.1(6) | 7.7(2) | 61.5(16) | 26 | 24, 33, 34, 36, 50, 52, 58, 67, 69, 77 |

注:“判别成功率”括号内数字表示判别个体数;“耳石形态参数”数字表示傅里叶谐波序号

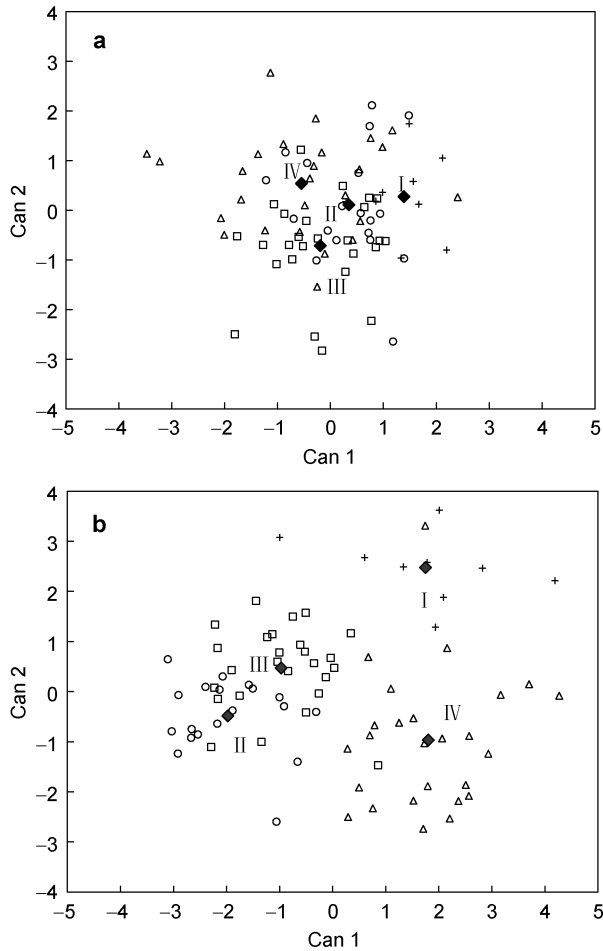


图 2 凤鲚群体耳石形态典则判别分析结果散点图

Fig.2 Scatter plot of canonical discrimination analysis on otolith morphometrics of *C. mystus* stocks

- a. 协方差校正, b. 非参数检验。+ . 胶州湾群体;
 . 渤海湾群体; . 辽东湾群体;
 . 长江口群体; . 各组质心

个体中有 4 个(67%)被误判入辽东湾群体。唯一一个被误判的胶州湾个体也是被误判入地理位置相近的渤海湾群体。这说明在一定水域(如渤海)内,地理相邻的凤鲚群体(如辽东湾和渤海湾群体)可能存在一定程度的个体交流和混合,或者是由于它们经历相近的环境史而导致耳石形态特征的群体间差异降低,从而加大了相邻群体间的个体误判率。尽管长江口群体与其它三个群体的地理隔离较远,但均有个体被误判入辽东湾(20%)、渤海湾(60%)和胶州湾(20%)群体。这说明尽管凤鲚群体间的个体交流和混合可能是影响耳石形态分析的群体识别能力的一个潜在原因,但耳石形态的群体间差异程度才是决定其群体识别效果的关键因素。

3.2 耳石形态分析及其应用

耳石形态特征的形成受多重环境-生物因素影响,居于主导地位的是鱼类的遗传信息。分类地位相距越远,其种间遗传信息差异越大,理论上其耳石形态差异程度也越高,这决定了耳石形态在鱼类分类中具有较高的应用潜力(叶振江等, 2007a, b)。除遗传因素外,耳石形态特征还受环境因素影响(Begg *et al.*, 2000; Simoneau *et al.*, 2000)。例如,不同温度和饵料条件下大西洋鳕 *Gadus morhua* 的耳石形态特征表现出生长制约型差异(Cardinale *et al.*, 2004)。这样,对于同一鱼种而言,特定地理群体内的个体耳石形态特征由于其相近的生活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的耳石形态特质。这些群体间的耳石形态特质差异即可作为鱼类群体识别的标记。

除遗传信息和环境因素外,鱼类个体的生理特征如性别、年龄、生长和世代级等也可以影响其耳石发育及其形态特征的形成。例如,狭鳞庸鲽 *Hippoglossus stenolepis* 的雌雄个体的矢耳石大小与形状均存在差异(Forsberg *et al.*, 1993)。鱼类的摄食活动也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)。各发育阶段或年龄组的鱼类个体由于其自身生理条件及其生活履历的差异,其个体耳石的形态特质也可能存在差异。因此,在筛选鱼类耳石的形态变量作为群体识别标识时应尽量考虑多因素的影响,特别是统计分析汇总数据(pooled data)时,更要保证在汇总因子无差异的前提下进行。基于这些原因,在开展耳石形态的无偏比较分析并将其应用于群体识别时,应特别注意以下问题:

首先,逐个检验各重要因素(如性别、耳石位置、年龄和个体大小等)对耳石形态变异性的影响水平。本研究分别检验了 4 个凤鲚群体的左右矢耳石形态的差异性以及雌雄个体间的矢耳石形态差异性。除长江口群体雄性个体以外,其它群体的个体左右矢耳石形态均未检出显著差异,而且只有长江口群体的个体左耳石表现出显著的雌雄间差异。这一结果表明,长江口群体的雄性个体左耳石形态变异较大,因此本研究只使用了右耳石的形态参数做相关统计分析。另外,不同世代鱼类个体的耳石形态特征可能受生物环境因素影响而存在差异,耳石形态变量的年龄间差异分析也是必要的。因此,如果存在显著的年龄间差异,应尽量对各年龄组个体的耳石形态特征开

展对比分析。本文由于样品中年龄数据缺失, 未做样本年龄的影响。但在筛选样本时遵循尽量缩小各群体间的个体大小(或年龄)差异的原则, 并采用了一个协变量耳石长来降低或消除个体大小或生长差异对于耳石形态分析的影响。另外, 当某一因素对耳石形态影响不显著时, 在样品量充足的条件下可以去除该因素, 但在样品量不足的情况下, 应尝试开展汇总数据分析。鉴于胶州湾样本量较小, 本研究将雌雄个体的右耳石形态数据进行汇总数据分析, 在基于非参数检验的判别分析中取得了较好的群体识别效果。

其次, 合理筛选用于群体识别的有效耳石形态变量。在基于耳石形态分析鱼类群体识别研究中, 对筛选耳石形态变量大致有三种参数分析方式: 选用尽可能多的变量以期全面概括耳石的形态信息(Lord *et al.*, 2011); 纯粹运用统计方法(如向前选择、向后剔除以及逐步判别)来筛选和剔除变量(Škeljo *et al.*, 2012; Tracey *et al.*, 2006); 结合具有生物学意义的理论分析进行筛选或剔除变量(Longmore *et al.*, 2010)。第一种方法能够概括更多的形态信息, 但无法避免众多变量中的重复和无效变量问题。第二种方法可能使得过多的形态变量被剔除, 使得最终结果难以解释且缺乏足够的可信性。第三种方法则可以相对合理地减小以上两个问题对耳石形态分析的影响。在群体水平上的耳石形态特征分析中, 宜尽量多地采用具有生物学意义的表征性形态变量如矩形趋近率、圆度、分形维数、傅里叶系数等轮廓变量和周长、平均直径、重量、面积等大小变量, 而且结合两种类型的变量来表征耳石形态特质和进行群体识别的效果一般优于单类型变量(窦硕增等, 2012)。

最后, 鉴于上述形态变量筛选的复杂性和局限性, 开展相关研究时应寻找多种简单可行的数据分析方法进行对比研究。例如, 为达到在不降低统计功效的前提下简化分析过程的目的, 应用统计学中的变量降维过程——主成分分析(PCA)也可取得良好的分析效果。主成分降低了遗漏重要变量的风险, 同时能因有效降低变量数量而简化了统计分析过程(Rohlf *et al.*, 1984)。例如, Agüera 等(2011)在对大西洋秋刀鱼的耳石形态分析及群体识别研究中分别对形状指数和傅里叶系数应用了主成分分析, 基于形状指数和傅里叶系数的群体识别效果高达 89%, 表明其具有较高的应用能力。本文尝试用非参数检验方法探讨解决这一问题的新途径。非参数检验不苛刻数据的正态分布性和方差齐次性等条件, 大大简化了形态变量

的筛选工作, 能够保留更多的耳石形态参数并最大限度地地原始数据信息应用于群体判别分析中。结果表明, 相对于协方差校正, 基于非参数检验的凤鲚群体间的总体识别成功率明显提高。但是, 本文中的非参数检验仅在样品筛选时缩短了体长选取范围, 未能最大限度的消除生长因素的影响, 这可能会降低总体群体识别效果。对于非参数检验是否能够比参数检验更有效地提高耳石形态分析对其它鱼类的群体识别能力这一问题, 尚有待于更多实证研究的检验。

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, 杨永桓等, 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, 朱柏军, 薛 莹, 2007a. 中国习见海洋鱼类耳石图谱. 青岛: 中国海洋大学出版社, 1—231
- 叶振江, 孟晓梦, 高天翔等, 2007b. 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
- 姜 涛, 杨 健, 刘洪波等, 2011. 刀鲚、凤鲚和湖鲚矢耳石的形态学比较研究. 海洋科学, 35(3): 23—31
- 郭弘艺, 魏 凯, 唐文乔等, 2010. 基于矢耳石形态特征的中国鲚属鱼类种类识别. 动物分类学报, 35(1): 127—134
- 窦硕增, 2007. 鱼类的耳石信息分析及生活史重建——理论、方法与应用. 海洋科学集刊, 48: 94—114
- 窦硕增, 于 鑫, 曹 亮, 2012. 鱼类矢耳石形态分析及其在群体识别中的应用实例研究. 海洋与湖沼, 43(4): 702—712
- 窦硕增, 横内一樹, 于 鑫等, 2011. 基于 EPMA 的耳石 Sr:Ca 比分析及其在鱼类生活履历反演中的应用实例研究. 海洋与湖沼, 42(4): 512—520
- Škeljo F, Ferri J, 2012. The use of otolith shape and morphometry for identification and size-estimation of five wrasse species in predator-prey studies. Journal of Applied Ichthyology, 28: 524—530
- Agüera A, Brophy D, 2011. Use of saggital otolith shape analysis to discriminate Northeast Atlantic and Western Mediterranean stocks of Atlantic saury, *Scomberesox saurus saurus* (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. Transaction of the American Fisheries Society, 129: 935—945
- Campana S E, Casselman J M, 1993. Stock discrimination using

- otolith shape analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 1062—1083
- 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
- Cheng Q Q, 2010. Morphological variation of *Coilia mystus* (Clupeiformes; Engraulidae) in three Chinese estuaries. *Journal of Life Sciences*, 4(6): 29—34
- Forsberg J E, Neal P R, 1993. Estimating sex of Pacific halibut (*Hippoglossus stenolepis*): using Fourier shape analysis of otoliths. *Technical Reports (IPHC)*, 110: 75—83
- Gagliano M, McCormick M I, 2004. Feeding history influences otolith shape in tropical fish. *Marine Ecology Progress Series*, 278: 291—296
- He W P, Li Z J, Liu J S *et al*, 2008. Validation of a method of estimating age, modeling growth, and describing the age composition of *Coilia mystus* from the Yangtze Estuary, China. *ICES Journal of Marine Science*, 65: 1655—1661
- Lombarte A, Lleonart 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
- Rohlf F J, Archie J W, 1984. A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (*Ritiera eulicidae*). *Systematic Zoology*, 33: 302—317
- Simoneau M, Casselman J M, Fortin R, 2000. Determining the effect of negative allometry (length/height relationship) on variation in otolith shape in lake trout (*Salvelinus namaycush*), using Fourier-series analysis. *Canadian Journal of Zoology*, 78: 1597—1603
- 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 á lez 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
- Yang J, Arai T, Liu H B *et al*, 2006. Environmental signature in the otolith elemental fingerprint of the tapertail anchovy, *Coilia mystus*, from the Changjiang estuary, China. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 459—462

STOCK IDENTIFICATION OF *COILIA MYSTUS* USING OTOLITH SHAPE ANALYSIS

YU Xin^{1,2}, CAO Liang¹, NAN Ou^{1,2}, ZHAO Bo^{1,2}, DOU Shuo-Zeng¹

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

Abstract In this study, the morphology of the sagittal otoliths of *Coilia mystus* from four stocks along the Chinese coastal waters (Liaodong Bay, Bohai Bay, Jiaozhou Bay and Changjiang River Estuary) were investigated using otolith shape analysis. Shape indices and Fourier coefficients were used as morphological variables and were statistically analyzed by both ANOVA and ANCOVA (otolith length as a covariate) to examine their differences among stocks. The results revealed that most of the morphometric variables of the otoliths examined in the study differed significantly among the four stocks in both statistical analyses. ANCOVA adjustment and nonparametric test were thereafter run to identify the effective variables for stock identification using discriminant function analysis. ANCOVA adjustment identified only otolith weight and 9 Fourier coefficients, whereas nonparametric test could keep more variables (otolith weight, roundness, fractal dimension, circularity, rectangularity and 19 Fourier coefficients) as the effective morphological variables of otoliths for identifying stocks. Accordingly, classification success (68.2%) of stock identification based on nonparametric test was higher than that (46.2%) based on ANCOVA adjustment, suggesting that the former statistical analysis could show stronger ability of otolith shape analysis to identify the stocks than the latter one.

Key words sagittal otolith; morphology analysis; stock identification; ANCOVA adjustment and nonparametric test; *Coilia mystus*