

文章编号: 1000-0615(2017)09-1365-09

DOI: 10.11964/jfc.20160810506

## 利用几何形态测量学方法分析唐鱼群体的形态变异

张秀霞<sup>1</sup>, 朱巧莹<sup>1,2</sup>, 赵俊<sup>1\*</sup>

(1. 华南师范大学生命科学学院,

广州市亚热带生物多样性与环境生物监测重点实验室, 广东省水产安全健康养殖重点实验室,  
广东省水产优质环保养殖工程技术研究中心, 广东广州 510631;

2. 中山大学生命科学学院, 水生经济动物研究所,  
水产品安全教育部重点实验室, 广东广州 510275)

**摘要:** 唐鱼是华南地区小型 亚科鱼类的典型代表, 国家Ⅱ级保护水生野生动物。本研究利用基于地标点的几何形态测量学方法分析了唐鱼8个野生种群和2个养殖群体的形态变异, 旨在从形态学的角度了解唐鱼不同种群间的分化程度, 为唐鱼保护策略的制定提供科学依据。新鲜标本冰冻麻醉后随即置于95%酒精中固定, 用Nikon D-800单反相机拍照获得固定标本的标准图像。利用tps系列软件提取地标点坐标值, 进行相对扭曲主成分分析、网格变形分析和判别分析来解释唐鱼的形态变异。相对扭曲主成分分析结果显示, 第1、2、3主成分分别解释了总变异的48.20%、23.12%和14.83%, 降维效果较好。其中, Ⅱ型地标点12、13、14和15贡献较大, 四者合计贡献率达71.28%, 反映出唐鱼群体的形态变异主要表现在眼径大小和头部形态。逐步判别分析和交互验证分析的总体判别正确率分别为97.6%和92.0%, 能有效识别唐鱼群体。研究结果还揭示了唐鱼野生种群和养殖群体之间存在显著的形态差异。基于上述结果以及唐鱼呈点状分布的事实, 建议将唐鱼的7个野生种群(越南种群除外)各自作为单独的保护单元进行重点保护, 同时建议禁止在野外放流养殖群体。

**关键词:** 唐鱼; 形态变异; 几何形态测量学; 相对扭曲主成分分析; 网格变形分析; 保护策略

**中图分类号:** S 965

**文献标志码:** A

唐鱼(*Tanichthys albonubes*)隶属于鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鲴亚科(Danioninae), 俗称白云山鱼, 白云金丝等, 是典型的亚热带小型溪流鱼类, 由中国学者林书颜<sup>[1]</sup>于1932年依据广州白云山的标本定名。1935年, 唐鱼作为观赏鱼被带入美国<sup>[2]</sup>, 由于其个体娇小活泼, 色彩靓丽, 易饲养, 很快就在观赏鱼市场上流行开来, 并传播至世界各地。野生唐鱼通常生活在水质清澈、无污染的山涧溪流上游区域, 对生活环境要求很高, 因此它也是

一种理想的水质监测指标生物<sup>[3]</sup>。然而, 其分布范围狭窄且呈点状分布, 种群规模极小, 加之多年来人类活动对其栖息地的破坏, 使得野生种群数量锐减, 甚至一度被认为野外绝迹, 因此, 唐鱼于1989年被列为国家Ⅱ级保护水生野生动物, 随后被收录于中国濒危动物红皮书(鱼类)<sup>[4]</sup>。

自2004年以来, 在我国华南地区相继发现了多个唐鱼野生种群<sup>[5-8]</sup>, 其濒危状态和等级也于最近被重新评估, 由野外灭绝降为极危<sup>[9]</sup>。近

收稿日期: 2016-08-09 修回日期: 2016-11-08

资助项目: 国家自然科学基金(31372178); 公益性行业(农业)科研专项(201303048); 国家科技基础条件平台工作重点项目(2005DKA21402); 华南师范大学研究生创新计划项目(2015lkxm26)

通信作者: 赵俊, E-mail: zhaojun@senu.edu.cn

年来发现的唐鱼各个野生种群之间是否存在形态和遗传分化、是否具有种群结构、其种群结构呈现何种特征、野生种群与养殖群体之间的形态和遗传分化程度如何, 这些是极具研究价值的重要科学问题。

Luo等<sup>[10]</sup>通过*ctyb*基因分析了唐鱼6个野生种群和3个养殖群体的遗传多样性和种群结构, 结果显示所有种群的遗传多样性均偏低, 各野生种群之间的遗传分化极为显著。刘汉生等<sup>[11]</sup>应用框架结构法对唐鱼5个野生种群和1个养殖群体的12个可量性状进行主成分分析, 发现野生种群与养殖群体在整体形态上有明显差异。上述研究对唐鱼保护策略的制定具有重要的参考价值, 但说服力仍显不足。刘汉生等<sup>[11]</sup>的研究只是基于部分野生种群, 采用的是传统形态度量学方法, 侧重于分析野生种群与养殖群体之间的差异, 其结论具有明显的局限性。

传统的形态度量学通常被定义为对不同形态特征自身的变化及形态特征之间共变现象的研究<sup>[12]</sup>, 也被称为多变量分析。虽然传统形态测量法结合了多变量统计和形态性状的数值化, 但仍然存在不足。例如, 在线性测量值中, 大小和形状两个因素无法分开进行分析。在20世纪80年代末和90年代初, Bookstein<sup>[12-13]</sup>和Rohlf等<sup>[14-15]</sup>创立了几何形态测量学这一新方法, 该方法摒弃了数据不同源性、不可重复性以及大小和形

状无法分开讨论的缺点, 已被广泛应用于生物形态学、形态进化学及系统分类学等领域的研究<sup>[16-18]</sup>。本研究利用基于几何形态测量学的地标点法, 对唐鱼8个野生种群和2个养殖群体的形态学特征进行比较分析, 探讨不同唐鱼群体间的形态变异程度, 以期为唐鱼保护策略和保护措施的制定提供必要的科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

8个野生唐鱼种群分别采集于从化石门森林公园(SM)、陆河(LH)、清远(QY)、深圳(SZ)、东兴(DX)、桂平(GP)、海南(HN)(国内样品采集得到各管辖省区相关行政主管部门的许可)和越南(VN); 2个养殖群体分别购于中国广州芳村花鸟鱼虫市场(FC)和新加坡观赏鱼市场(SIN)。成体样品共288尾。为减少体长差异对形态特征的影响, 经二次抽样后, 样本体长集中在2.40~2.90 cm(表1)。

### 1.2 标本固定与图像获取

野外采集或市场购买的唐鱼样品经冰冻麻醉后, 用95%的酒精进行形态固定, 确保标本形态处于自然伸展状态, 各鳍充分展开。将固定好的标本左侧朝上、前端朝左放置于翻拍台上, 用Nikon D800单反相机逐尾进行拍照获取标准图像, 用于后续的地标点形态学分析。在图

表 1 10个唐鱼群体的样本信息

Tab. 1 Sample information of ten *T. albonubes* populations

种群 group	尾数/尾 number	尾数/尾 number	采样点 sampling position	体长/cm body length	水系 drainage systems	采样时间 sampling date
中国广东 Guangdong Province, China	从化石门森林公园 SM	30	23°38'N, 113°46'E	2.56±0.14	北江 Beijiang	2015-09
	陆河 LH	30	23°19'N, 115°40'E	2.64±0.09	螺河 Luo river	2015-07
	清远 QY	30	23°46'N, 113°9'E	2.66±0.12	北江 Beijiang	2015-10
	深圳 SZ	30	22°29'N, 114°30'E	2.58±0.11	东江 Dongjiang	2015-10
中国广西 Guangxi Province, China	东兴 DX	30	21°40'N, 108°5'E	2.71±0.08	北仑河 Beilun river	2015-03
	桂平 GP	30	23°23'N, 110°5'E	2.73±0.13	西江 Xijiang	2013-12
中国海南 Hainan Province, China	海南 <sup>a</sup> HN	18		2.53±0.12		2012-12
	越南 <sup>a</sup> VN	30		2.63±0.07		2015-02
Vietnam 养殖群体 hatchery population	中国广州芳村花鸟鱼虫市场 FC	30		2.67±0.09		2015-10
	新加坡观赏鱼市场 SIN	30		2.69±0.11		2014-05

注: a. 基于样品提供者的意愿和保护目的, 海南和越南样品未公布具体采样点

Notes: a. we didn't publish the specific sampling position of the Hainan and Vietnam, because of the sample provider's willingness and protection purpose

像采集过程中, 标本的摆放位置、拍摄方位以及聚焦部位均保持一致, 镜头和标本的拍摄面保持完全垂直<sup>[17]</sup>。

### 1.3 几何形态测量分析

**地标点的选取与建立** 地标点在生物学应用上分为3种类型: I型是指不同组织间的交点, 能被精确定位, 如鱼体与鱼鳍的交点; II型是指形态测量弯曲的局部极值, 如骨骼的突起点和末端或其他结构突出点, 是可以明确辨认的点; III型是指形态结构上的极值点, 如吻端、最长点、最宽点, 这些点在测量中常见, 但取点具有主观性, 不一定可靠<sup>[16, 19-20]</sup>。根据地标点同源性和信息含量的要求, 本研究选取了18个地标点, 其中3~5、7~11为I型地标点, 2、12~18为II型地标点, 1和6为III型地标点(图1, 表2)<sup>[21-22]</sup>。用tpsUtil软件<sup>[23]</sup>创建TPS文件, 然后用tpsDig2软件<sup>[23]</sup>建立18个地标点(图1), 所有样本的地标点数目和相对顺序保持一致, 获取每个地标点的x、y坐标值(2D)。为了减少误差, 每个样本重复3次, 取平均值。建立坐标点数据文件。

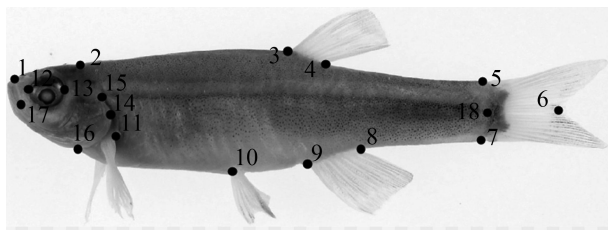


图1 唐鱼的18个地标点位置

Fig. 1 Positions of 18 landmarks of *T. albonubes*

**平均形与网格变形分析** 利用tpsSmall软件<sup>[23]</sup>进行最小平方和法则回归分析, 即切空间距离(distance in tangent space, y轴)与普氏距离(procrustes distance, x轴)的回归分析, 检验所有地标点的有效性。利用tpsRelw软件<sup>[23]</sup>, 经普氏叠加(也称普氏广义最小二乘法)得出笛卡尔坐标, 对每个样本的地标点进行缩放、旋转和重叠, 去除大小、方位等非形状因素, 以使相应地标点之间距离的总平方和最小<sup>[24]</sup>, 得出质心距离, 评估所有样本每个地标点的平均坐标, 并进行局部扭曲(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。为将唐鱼群体间的形态差异可视化, 利用tpsRegr软件<sup>[23]</sup>, 进行平

表2 地标点类型与定义

Tab. 2 The landmark types and definition

地标点类型 landmark types	定义 definition
<b>I型地标点</b>	
3	背鳍起点 origin of dorsal fin
4	背鳍基部末端 posterior end of dorsal fin base
5	尾鳍基部下端 upper insertion of caudal fin base
7	尾鳍基部下端 lower insertion of caudal fin base
8	臀鳍基部末端 posterior end of anal fin base
9	臀鳍起点 origin of anal fin
10	腹鳍起点 origin of pelvic fin
11	胸鳍起点 origin of pectoral fin
<b>II型地标点</b>	
2	枕骨后末端 distal tip of occiput
12	眼前缘 the anterior margin of the eye
13	眼后缘 the posterior margin of the eye
14	鳃盖后缘 the posterior margin of the operculum
15	鳃盖上缘 the upper end of operculum
16	前鳃盖骨腹侧起点 origin of the preopercle on the ventral
17	下颌末端 distal tip of mandible
18	尾柄末端 distal tip of caudal peduncle
<b>III型地标点</b>	
1	吻端 tip of snout
6	尾鳍最凹点 the pits of caudal fin

均形分析后, 通过绝对扭曲、回归分析和置换检验(permutation test, n=1000)进行网格化和差异矢量化, 绘出10个唐鱼群体的网格变形图, 实现形变可视化。

**判别分析** 利用各样本的相对扭曲主成分得分(relative warps scores)通过逐步判别法和交互验证法分别进行判别分析, 判别方法采用Bayes法, 用SPSS 18.0进行统计分析。

## 2 结果

### 2.1 几何形态分析

用tpsSmall软件<sup>[23]</sup>进行的最小平方和法回归分析表明, 切空间距离与普氏距离的回归系数为0.9997, 接近1, 表明本研究所选取的所有地标点都是有效的, 可以用于进一步的地标点形

态学分析。

利用tpsRelw软件<sup>[23]</sup>在叠印过程中计算出所有样本的平均形(图2)和所有地标点矢量化的重叠效果(图3)。相对扭曲主成分分析共提取了32个主成分,其中前3个主成分的特征值分别为2.88、1.38和0.89,对总体变异的贡献率分别为48.20%、23.12%和14.83%,累积贡献率为86.15%(表3),表明降维效果较好。根据第一、第二主成分得分做的散点图(图4)可知,10个唐



图2 唐鱼10个群体的平均形

Fig. 2 Mean shape of ten *T. albonubes* populations

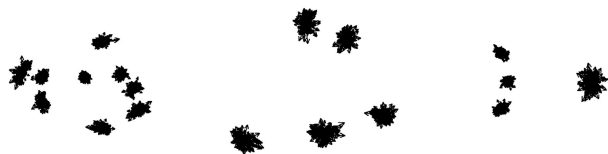


图3 唐鱼10个群体所有地标点矢量化的重叠效果

Fig. 3 The all superimposed landmarks vectorization of ten *T. albonubes* populations

表3 前7个相对扭曲主成分的特征值与贡献率

Tab. 3 Eigenvalues and contributions of the first seven relative warps

主成分 principal component	特征值 eigenvalue	贡献率/% contribution rate	累积贡献率/% cumulative contribution rate
1	2.88	48.20	48.20
2	1.38	23.12	71.31
3	0.89	14.83	86.15
4	0.37	6.25	92.40
5	0.11	1.56	93.96
6	0.07	0.46	94.42
7	0.05	0.32	94.74
总方差 total variance	5.75		

鱼群体分成了4组: FC和SIN; VN和DX; SM、QY和GP; SZ、LH和HN。18个地标点在相对扭曲主成分分析时的贡献率结果显示, I型、II型和III型地标点的累积贡献率分别为14.45%、82.72%和2.83%。表明I型和II型地标点在10个唐鱼群体的形态区分中作用较大, III型地标点作用不明显(表4)。

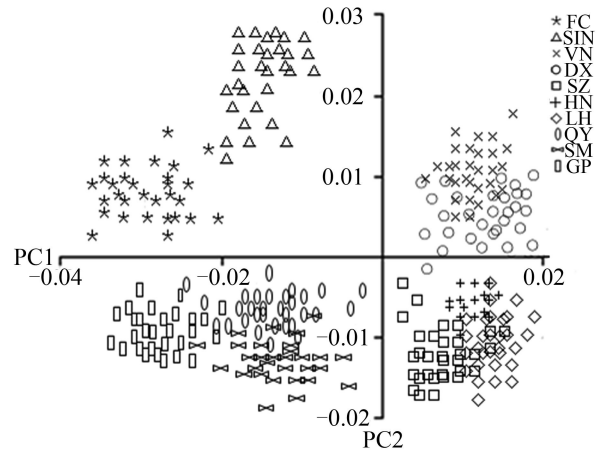


图4 相对扭曲第1、第2主成分散点图  
(主成分得分×10<sup>3</sup>)

Fig. 4 Scatter diagram of relative warp scores on the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> (principal component scores are enlarged 10<sup>3</sup> times)

### 2.2 网格变形分析

通过tpsRegr软件<sup>[23]</sup>进行网格变形分析,结果显示,相对于网格平均形而言,10个唐鱼群体的形态差异主要表现在地标点1、3、4、8、9、11、12、13、14、16(头部、背鳍、臀鳍、腹鳍和胸鳍)。SM、QY、GP、SZ和LH唐鱼种群的背鳍向头区下俯;臀鳍基前端向头区略昂,后端则向尾区略昂;腹鳍起点向头区略昂,而胸鳍起点向尾区略昂;前鳃盖骨腹侧起点向头区昂起。HN、FC、SIN、DX和VN唐鱼群体的形变情况则相反(图5)。

### 2.3 判别分析

将32个相对扭曲主成分得分(relative warp

表4 各个地标点的相对扭曲贡献率  
Tab. 4 Relative warp contribution of each landmark

地标点 landmark	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
贡献率 contribution rate	2.82	1.20	0.34	0.49	1.77	0.01	2.08	0.28	0.28	0.15	9.06	10.72	4.25	32.89	23.42	1.35	2.02	6.87



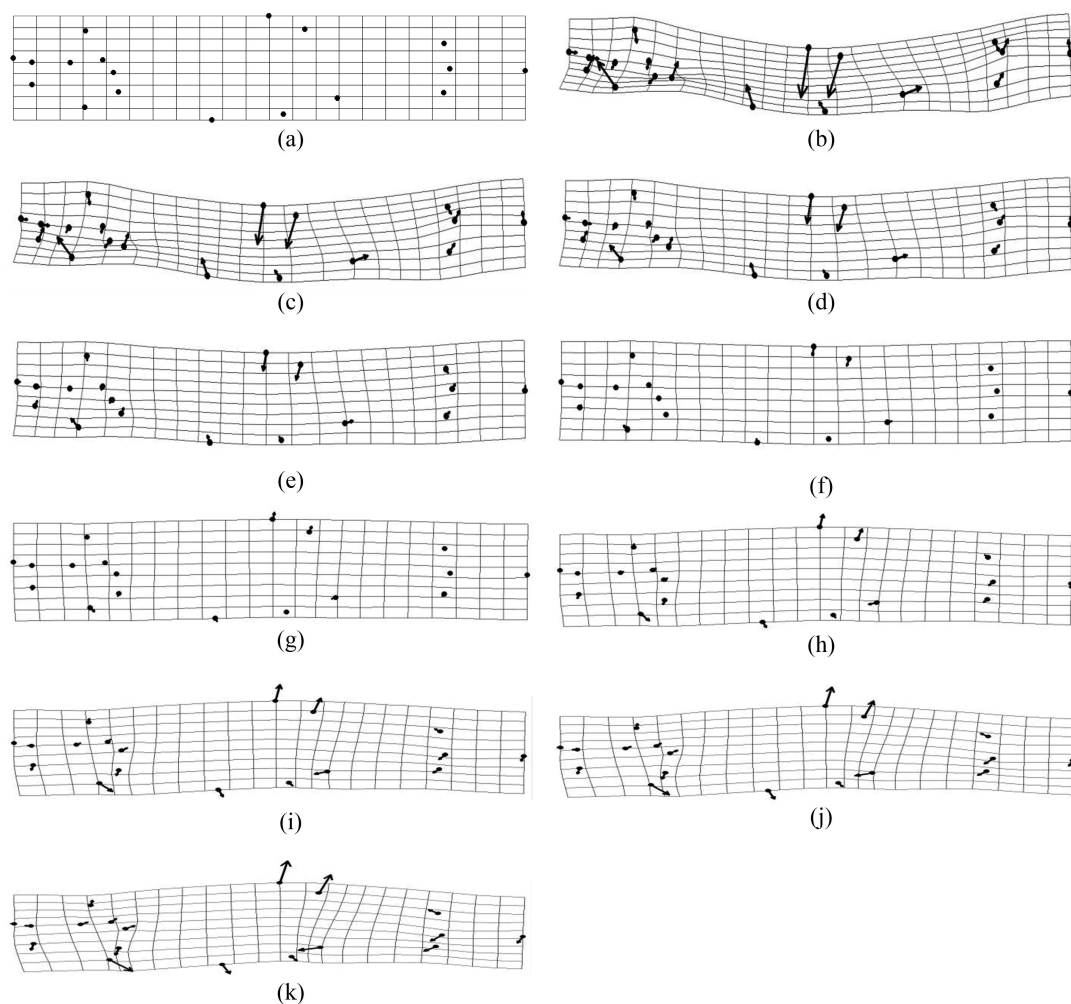


图 5 10个唐鱼群体的网格变形图与变异可视化(变异扩大10倍)

(a)平均形; (b)石门从化森林公园; (c)清远; (d)桂平; (e)深圳; (f)陆河; (g)海南; (h)中国广州芳村花鸟虫鱼市场; (i)新加坡观赏鱼市场; (j)东兴; (k)越南

Fig. 5 Grid deformation and variation visualization of ten *T. albonubes* populations (variation are enlarged 10 times)

(a) mean; (b) SM; (c) QY; (d) GP; (e) SZ; (f) LH; (g) HN; (h) FC; (i) SIN; (j) DX; (k) VN

scores, RW)建立Bayes判别函数,用逐步判别法和交互验证法分别进行判别分析。利用SPSS进行逐步判别时, RW1~17、19、20、22~25、29共有24个相对扭曲变量被纳入到判别函数中(均值相等性检验,  $P < 0.05$ )。Wilks' Lambda检验表明, 筛除后的24个相对扭曲变量建立的预测模型效果较好( $P < 0.01$ ), 可以作为判别分析的依据。

逐步判别分析结果显示, SM、DX、HN、LH、SZ和SIN的各30尾唐鱼样品中, 判别成功率达到100%, 没有判错入其他群体; FC的30尾唐鱼样品中, 1尾判入QY种群中, 判别成功率为96.7%; GP种群中, 1尾判入HN, 2尾判入SIN, 判别成功率为90%; QY种群中, 1尾判入SM, 1尾判入SZ, 判别成功率为93.3%; VN种群中,

1尾判入SZ, 判别成功率为96.7%(表5)。交互验证分析中, SM、DX、FC、VN群体的结果与逐步判别分析结果相同; GP、HN、QY、LH、SZ、SIN群体的结果则略低于逐步判别分析结果。逐步判别分析和交互验证分析的总体判别正确率分别为97.6%和92.0%。因此, 利用基于地标点法的几何测量学方法在不同唐鱼群体进行判别分析时是有效的, 且判别效果较好。

### 3 讨论

#### 3.1 地标点的选取

基于地标点的几何形态测量法, 其应用效果很大程度上取决于地标点的选取。为使形态

表 5 10个种群的判别结果

Tab. 5 Discrimination results of ten *T. albonubes* populations

项目 item	判别前种类 predicted species	判别后种类 discriminated species									
		SM	DX	FC	GP	HN	LH	QY	SZ	SIN	VN
逐步判别结果 <sup>a</sup> result of GDA	SM	30(100%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	DX	0	30(100%)	0	0	0	0	0	0	0	0
	FC	0	0	29(96.7%)	0	0	0	1(3.3%)	0	0	0
	GP	0	0	0	27(90%)	1(3.3%)	0	0	0	2(6.7%)	0
	HN	0	0	0	0	18(100%)	0	0	0	0	0
	LH	0	0	0	0	0	30(100%)	0	0	0	0
	QY	1(3.3%)	0	0	0	0	0	28(93.3%)	1(3.3%)	0	0
	SZ	0	0	0	0	0	0	0	30(100%)	0	0
	SIN	0	0	0	0	0	0	0	0	30(100%)	0
	VN	0	0	0	0	0	0	0	1(3.3%)	0	29(96.7%)
交互验证结果 <sup>b</sup> result of cross validation	SM	30(100%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	DX	0	30(100%)	0	0	0	0	0	0	0	0
	FC	0	0	29(96.7%)	0	0	0	1(3.3%)	0	0	0
	GP	1(3.3%)	0	0	22(73.3%)	3(10%)	0	0	0	4(13.3%)	0
	HN	0	0	0	2(11.1%)	15(83.3%)	1(5.6%)	0	0	0	0
	LH	0	0	0	0	0	26(86.7%)	3(10%)	1(3.3%)	0	0
	QY	1(3.3%)	0	0	1(3.3%)	0	0	27(90%)	1(3.3%)	0	0
	SZ	0	0	0	0	0	0	1(3.3%)	29(96.7%)	0	0
	SIN	0	0	0	2(6.7%)	0	0	0	0	28(93.3%)	0
	VN	0	0	0	0	0	0	0	1(3.3%)	0	29(96.7%)

注：括号外的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. 已对初始分组案例中的97.6%样本进行了正确分类；b. 已对交叉验证分组案例中的92.0%样本进行了正确分类

Notes: The number outside the braces means discriminated samples and the inside means the discriminated proportions; a. 97.60% samples of the initial grouping case were correctly classified; b. 92.0% samples of cross validation grouping case were correctly classified

分析达到最佳效果，既要尽可能包含形态分析必要的信息，又要避免因无效地标点过多而造成信息冗余。本研究选取的I型地标点和II型地标点在相对扭曲分析中累计贡献率分别为14.45%和82.72%，表明了I型和II型地标点在区分不同唐鱼群体中作用显著。II型地标点12和13分别为眼前缘和眼后缘，14为鳃盖后缘，15为鳃盖上缘，四者贡献率合计为71.28%，表明眼径大小和头部形态是不同唐鱼群体间最重要的区分特征，这4个点在地标点选取时不可忽略。

### 3.2 不同唐鱼群体间的形态差异分析

头部变异对唐鱼群体形态变异的影响 通

过逐步判别法和交互验证法分别进行的判别分析结果显示，10个唐鱼群体的判别成功率为73.3%~100%，识别效果较好，可以有效区分。形态差异可视化分析表明，SM、QY、GP、SZ和LH唐鱼群体的眼较小，头较短(SM>QY>GP>SZ>LH)；HN、FC、SIN、DX和VN唐鱼群体的眼较大，头较长(VN>DX>SIN>FC>HN)。这说明不同唐鱼群体的形态差异主要表现在眼径的大小和头部的形态。因为形态特征和生态习性是相互影响的，鱼类的体形变化可反映出生态和行为的差异<sup>[25-26]</sup>。一方面，形态特征在一定程度上决定了部分生态习性，例如觅食和运动行为<sup>[27-28]</sup>；另一方面，生态因子能够

引起表型变化,栖息环境的不同会导致鱼类体形上的变化。因此,头部的形态差异可能与食性和摄食行为有关<sup>[29-30]</sup>。而唐鱼的栖息环境为山涧小溪,8个野生种群的生境相互独立,每个生境的食物组成可能存在差异,这可能是导致唐鱼头部变异的因素之一。

**唐鱼野生种群形态变异的主成分分析** 本研究的主成分分析中,第一、第二主成分散点图显示,SM、QY和GP唐鱼野生种群分布于同一区域;广东沿海的SZ、LH种群与HN种群聚于另一区域;同时,与越南接壤的DX种群和VN种群同聚于一区。显示地理上相距较近的种群具有较为相似的外部形态。暗示除了环境因素之外,唐鱼不同野生种群的形态差异与地理分布之间也可能存在着某种相关性。Luo等<sup>[10]</sup>基于多个DNA片段序列,对广东和广西的6个唐鱼野生种群进行了遗传多样性分析,发现由于地理隔离,不同种群间均已发生了较大的遗传分化。这与研究的结果存在某种契合之处。但就唐鱼的形态变异而言,环境因素和地理隔离哪一个起主导作用,还有待进一步研究。

**唐鱼野生种群与养殖群体的形态差异** 第一、第二主成分散点图显示,FC和SIN两个唐鱼养殖群体在同一区域,并没有与野生种群聚在一起。这表明,8个唐鱼野生种群与养殖群体之间的形态差异明显。这与刘汉生等<sup>[11]</sup>的研究结果一致,但与Luo等<sup>[10]</sup>基于分子层面的结果并不完全吻合。造成养殖群体与野生种群形态差异的主要原因,可能是因为唐鱼作为观赏鱼品种,人们在引种繁殖时存在一定的定向选择行为,多代累积之后,使得养殖群体的形态特征发生了较大改变。也可能是由于养殖群体的生存环境特别是食物来源与野生种群存在较大差异所致。

### 3.3 对唐鱼保护策略的建议

为了更好地保护唐鱼这一极危物种的生物多样性,基于各野生种群形态差异显著,种群识别度高,结合单个种群的个体数量较少以及呈点状分布的事实,建议将唐鱼的7个野生种群(越南种群除外)各自作为独立的保护单元进行重点保护;基于野生种群与养殖群体之间的形态差异十分显著,建议禁止将唐鱼养殖群体野外放流,以避免在野生种群中混入养殖个体,造

成基因污染。

感谢香港嘉道理农场暨植物园的陈辈乐先生提供海南岛样本、广州大学的易祖盛老师提供广东陆河样本、珠江水产研究所的李捷老师提供广西桂平样本。感谢广东海洋大学侯刚老师在软件使用上的指导,感谢实验室张少平、罗锦桢、谢迪和高天扬协助野外样品的采集。

### 参考文献:

- [1] Lin S Y. New cyprinid fishes from White Cloud Mountain, Canton[J]. Lingnan Science Journal, 1932, 11(3): 379-383.
- [2] Eastman O R. *Tanichthys albonubes* Lin, the new wonder fish[J]. The Aquarium, 1938, 7(5): 73-75.
- [3] 凯恩斯. 水污染的生物监测[M]. 曹凤中, 于亚平, 译. 北京: 中国环境科学出版社, 1989. Cairns J E. Biological Monitoring in Water Pollution[M]. Cao F Z, Yu Y P, trans. Beijing: China Environmental Press, 1989 (in Chinese).
- [4] 乐佩琦, 陈宜瑜. 中国濒危动物红皮书[M]. 北京: 科学出版社, 1998. Yue P Q, Chen Y Y. China red data book of endangered animals[M]. Beijing: Science Press Edition, 1998(in Chinese).
- [5] 易祖盛, 陈湘舜, 巫锦雄, 等. 野生唐鱼在广东的再发现[J]. 动物学研究, 2004, 25(6): 551-555. Yi Z S, Chen X L, Wu J X, et al. Rediscovering the wild population of white cloud mountain minnows (*Tanichthys albonubes* Lin) on Guangdong province[J]. Zoological Research, 2004, 25(6): 551-555(in Chinese).
- [6] Chan B P L, Chen X L. Discovery of *Tanichthys albonubes* Lin 1932 (Cyprinidae) on Hainan Island, and notes on its ecology[J]. Zoological Research, 2009, 30(2): 209-214.
- [7] 赵俊, 易祖盛, 周叶先, 等. 广州市水生动植物本底资源[M]. 北京: 科学出版社, 2010. Zhao J, Yi Z S, Zhou Y X, et al. Aquatic animals and plants resources in Guangzhou[M]. Beijing: Science Press Edition, 2010(in Chinese).
- [8] 李捷, 李新辉. 广西鱼类一新纪录: 唐鱼(鲤形目: 鲤科)[J]. 动物学杂志, 2011, 46(3): 136-140. Li J, Li X H. A new record of fish *Tanichthys albonubes*

- (Cypriniformes: Cyprinidae) in Guangxi, China[J]. Chinese Journal of Zoology, 2011, 46(3): 136-140(in Chinese).
- [9] 曹亮, 张鄂, 臧春鑫, 等. 通过红色名录评估研究中国内陆鱼类受威胁现状及其成因[J]. 生物多样性, 2016, 24(5): 598-609.
- Cao L, Zhang E, Zang C X, *et al.* Evaluating the status of China's continental fish and analyzing their causes of endangerment through the red list assessment[J]. Biodiversity Science, 2016, 24(5): 598-609(in Chinese).
- [10] Luo J Z, Lin H D, Yang F, *et al.* Population genetic structure in wild and hatchery populations of white cloud mountain minnow (*Tanichthys albonubes*): recommendations for conservation[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2015, 62: 142-150.
- [11] 刘汉生, 易祖盛, 梁建宏, 等. 唐鱼野生种群和养殖群体的形态差异分析[J]. 暨南大学学报(自然科学版), 2008, 29(3): 295-299.
- Liu H S, Yi Z S, Liang J H, *et al.* Morphological variations between the wild population and hatchery stock of *Tanichthys albonubes*[J]. Journal of Jinan university(Natural Science), 2008, 29(3): 295-299(in Chinese).
- [12] Bookstein F L. Size and shape spaces for landmark data in two dimensions[J]. Statistical Science, 1986, 1(2): 181-222.
- [13] Bookstein F L. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1991.
- [14] Rohlf F J. Relationships among eigenshape analysis, fourier analysis, and analysis of coordinates[J]. Mathematical Geology, 1986, 18(8): 845-854.
- [15] Rohlf F J, Slice D. Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks[J]. Systematic Biology, 1990, 39(1): 40-59.
- [16] Rohlf F J, Bookstein F L. Proceedings of the michigan morphometrics workshop[M]. New York: University of Michigan Museum of Zoology, 1990.
- [17] 白明, 杨星科. 几何形态测量法在生物形态学研究中的应用[J]. 昆虫知识, 2007, 44(1): 143-147.
- Bai M, Yang X K. Application of geometric morphometrics in biological researches[J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2007, 44(1): 143-147(in Chinese).
- [18] 闫宝荣, 花保祯. 几何形态测量学及其在昆虫分类学和系统发育中的应用[J]. 昆虫分类学报, 2010, 32(4): 314-320.
- Yan R B, Hua B Z. Geometric morphometrics and its application in the systematics and phylogenetics of insects[J]. Entomotaxonomia, 2010, 32(4): 314-320(in Chinese).
- [19] 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(1): 624-366.
- Xiao X F, Wu W Z. Science of biological shape-introduction to the development and application of geometric morphometric[J]. Science Magazine, 1998, 29(1): 624-366(in Chinese).
- [20] 冯波, 程罗妹. 几何形态学方法区分短吻蝠地方种群的研究[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(5): 677-681.
- Feng B, Cheng L M. Identifying *Leiognathus brevisrostris* stocks by geometric morphometrics[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2011, 20(5): 677-681(in Chinese).
- [21] McGlde J M, Boulding E G. The truss: a geometric and statistical approach to the analysis of form in fishes[M]. Dartmouth, Nova Scotia: Bedford Institute of Oceanography, 1986.
- [22] Zelditch M L, Swiderski D L, Sheets H D, *et al.* Geometric morphometrics for biologists: a primer[M]. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2004.
- [23] Rohlf F J. Morphometrics at SUNY Stony Brook [EB/OL]. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>, 2001-01-17.
- [24] Goodall C. Procrustes methods in the statistical analysis of shape[J]. Journal of the Royal Statistical Society Series B, 1991, 53(2): 285-339.
- [25] Webb P W. Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates[J]. American Zoologist, 1984, 24(1): 107-120.
- [26] Sara M, Favaloro E, Mazzola A. Comparative morphometrics of sharpnout seabream (*Diplodus puntazzo* Cetti, 1777), reared in different conditions[J]. Aquacultural Engineering, 1999, 19(3): 195-209.
- [27] Webb P W. Effects of median-fin amputation on fast-start performance of rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. Journal of Experimental Biology, 1977, 68: 123-135.
- [28] Wainwright P C. Morphology and ecology: functional basis of feeding constraints in *Caribbean labrid*



- fishes[J]. Ecology, 1988, 69(3): 635-645.
- [29] Albertson R C, Kocher T D. Assessing morphological differences in an adaptive trait: a landmark & hyphen; based morphometric approach[J]. Journal of Experimental Zoology, 2001, 289(6): 385-403.
- [30] Clark F L S. The environment and the genotype in polymorphism[J]. Zoological Journal of the Linnean Society, 1976, 58(3): 255-262.

## Geometric morphometric analysis of body-form variability in populations of *Tanichthys albonubes*

ZHANG Xiuxia<sup>1</sup>, ZHU Qiaoying<sup>1,2</sup>, ZHAO Jun<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Subtropical Biodiversity and Biomonitoring, Key Laboratory for Healthy and Safe Aquaculture of Guangdong Province, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center for Environmentally-friendly Aquaculture, School of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;

2. Institute of Aquatic Economic Animals, MOE Key Laboratory of Aquatic Product Safety, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** *Tanichthys albonubes*, which was listed as Class II protected animal in China's State Key Protected Aquatic Animal List, is a typical representative of the small Danioninae fishes in South China. Aimed at understanding morphological differentiation between populations as well as providing scientific basis for developing conservation strategies of *T. albonubes*, we investigated the body-form variation using landmark-based geometric morphometric method among 8 wild populations and 2 hatchery populations of *T. lbonubes*. Frozen anesthetized fresh specimens were then fixed in 95% ethanol, a Nikon D-800 SLR camera was utilized to take standard images of the fixed specimens afterwards. Landmark coordinate values were extracted after samples digitized by image processing and processed by relative warp principal component(RW), grid deformation and discriminant analysis in TPS series software. The 24 RW were then identified using discrimination analysis to differentiate the ten *T. lbonubes* populations. The result indicated that, the 1 st, 2 nd and 3 rd RW accounted for 48.20%, 23.12% and 14.83% of the total variation respectively, of which type landmarks 12, 13, 14 and 15 had important contributions, and could explain the most variations. The most morphological variations were displayed in eye diameter and head shape. Furthermore, it uncovered obvious morphological variation among wild populations and hatchery populations. Therefore, we suggest that it should be forbidden to release the hatchery populations in filed. Given the results in this study and the punctate distribution of *T. albonubes*, we also proposal that the 7 wild populations (except Vietnam) should be regard as 7 management units(MU), respectively.

**Key words:** *Tanichthys albonubes*; morphological variation; geometric morphometrics; relative warp principal component; grid deformation analysis; protection strategy

**Corresponding author:** ZHAO Jun. E-mail: zhaojun@senu.edu.cn

**Funding projects:** National Nature Science Foundation of China (31372178); National Special Research Fund for Nonprofit Sector (Agriculture) (201303048); Key Project of National Science and Technology Basic Conditions Platform Work (2005DKA21402); Innovation Project of Graduate School of South China Normal University (2015lkxm26)