

头足类角质颚地标点定量初步研究： 以剑尖枪乌贼为例

王超^① 方舟^{①②*}

① 上海海洋大学海洋科学学院 上海 201306; ② 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 国家远洋渔业工程技术研究中心, 农业农村部大洋渔业开发重点实验室, 农业农村部大洋渔业资源环境科学观测实验站 上海 201306

摘要: 几何形态测量学是头足类角质颚形态分析的重要研究方法, 其中包括地标点法和轮廓线法。虽然地标点类型被划分为三种, 但基于地标点法的角质颚形态研究对于地标点的选取与建立并没有一个统一的标准, 因此探究可以更好地展示角质颚形态变异程度所需要的地标点以及样本数是十分必要的。为探究不同地标点和样本数对角质颚形态分析的影响, 本研究利用 2018 和 2019 年捕捞的剑尖枪乌贼 (*Uroteuthis edulis*) 角质颚样本, 使用 R 语言 LaMBDA 包 LaSEC 函数, 对 300 对角质颚样本分别使用 10、20、28 个地标点和 50、80、100、200、300 对样本组合, 以探讨不同地标点和样本数方案时表示形态变异的平稳度。研究表明, 地标点数量会使质心大小结果产生误差; 为了更好地展示角质颚的形态变异程度, 最终确定研究样本在 50 对以内时, 上颚和下颚采用 26 个地标点; 研究样本为 50 ~ 300 对时采用 27 个地标点。研究分析认为, 基于 LaSEC 的头足类角质颚地标点和样本定量分析可以拟定表示角质颚形态变异的最佳地标点数量, 并通过角质颚形态变异箭头图来明确表示角质颚形态变异的最佳地标点方案, 为后续基于地标点法的头足类角质颚形态研究提供科学依据。

关键词: 头足类; 角质颚; 地标点数量; 定量研究; 地标点采样评估曲线

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2021) 05-756-14

A Preliminary Study on the Quantitative of Beak Landmark of Cephalopod: *Uroteuthis edulis* as A Case

WANG Chao^① FANG Zhou^{①②*}

① College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; ② Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education; National Engineering Research Center for Oceanic Fisheries; Key Laboratory of Oceanic Fisheries Exploration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Scientific Observing and Experimental Station of Oceanic Fishery Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China

Abstract: Geometric morphometrics is an important research method for the analysis of the cephalopod beak

基金项目 国家重点研发计划项目 (No. 2019YFD0901404), 国家自然科学基金项目 (No. NSFC41876141), 上海市科技创新行动计划项目 (No. 19DZ1207502), 农业部海外渔业开发重点实验室开放课题 (No. LOF 2018-02);

* 通讯作者, E-mail: zfang@shou.edu.cn;

第一作者介绍 王超, 男, 硕士研究生; 研究方向: 海洋生物形态学; E-mail: 787428762@qq.com。

收稿日期: 2021-04-02, 修回日期: 2021-07-02 DOI: 10.13859/j.cjz.202105012

morphology, geometric morphometrics contains the landmark and outline method. Although the type of landmark is identified, the study of beaks based on the method of landmarks does not have a criterion for the selection of landmarks, so it is necessary to explore how many landmarks and samples are necessary to indicate the best variation of the beak pattern. Based on samples of 300 pairs of *Uroteuthis edulis* beak caught in 2018 - 2019, traditional morphological measurements of beak are used to explain basic morphological differences. Using the R-language geomorph package “gpagen” and the LaMBDA package “LaSEC” (Landmark Sampling Evaluation Curve) functions, the centroid size of the landmark data of 10, 20, 28 landmarks and 50, 80, 100, 200, 300 pairs of sample combination schemes is calculated, the centroid size is calculated, the landmark sampling evaluation curve is obtained, and the landmarks and sample numbers are explored to best demonstrate the degree of variation of the beak pattern. Finally, the morphological variation point of the whole beak sample is analyzed quantitatively, the point of large variation of the beak pattern is preserved, and the specific punctuation scheme is determined according to the best landmark number scheme. The standard deviation of the 12 morphological parameters of the beak between different samples was found to be large (Table 3), and the size of the beak increased significantly with the increase of the landmark (Fig. 3). Under different schemes, the slope and dispersion degree of the landmark sampling evaluation curve are significantly different, the three landmark schemes reach the optimal fitted value of the number of landmarks are different, 28 landmark scheme sampling curve with the increase of landmark collection subsampling curve slope gradually decreased, the variance gradually decreased (Fig. 4, 5). In order to best show the degree of morphological variation of the beak ($F = 0.99$), 26 landmarks were used in the upper and lower beak when the beak sample was about 50 pairs; The sample was 50 - 300 using 27 landmarks (Fig. 6). In addition, quantitative analysis of the morphological variation of the overall beak study sample (Fig. 7) found that, under the premise of ensuring the integrity of the beak form, 1 - 2 points were deleted on the basis of 28 landmark schemes to arrive at the best landmark scheme, that is, 26 landmarks: the upper beak deleted landmarks 5, 7, the beak deleted landmarks 5, 25; 27 Landmarks: upper and lower beak remove landmark 5. Using LaSEC method to quantitatively analyze the number of landmarks and samples, it is possible to propose a quantitative scheme to maximize the representation of morphological variation and centroid size. In addition, after analyzing the optimal number of landmarks, it is still necessary to combine the morphological variation map of the overall study sample, and according to the different types of landmarks definition, on the basis of ensuring the integrity of the pattern appropriate removal of small pattern variation points. Through a variety of considerations to clarify the beak landmark scheme, for the follow-up based on the landmark method of the head-foot beak morphology research to provide a scientific basis.

Key words: Cephalopods; Beak; Landmark number; Quantitative research; Landmark sampling evaluation curve

头足类即头足纲 (Cephalopoda), 属于软体动物门, 大约有 700 多个物种 (Nesis 2003), 广泛分布于世界各个海域。头足类在海洋生态系统中扮演着重要的角色, 是食物链中重要的一环 (董正之 1988), 同时也是世界海洋渔业

的重要组成部分 (陈新军 2019)。因此, 了解不同头足类的种群结构、探究其生活史规律是合理开发利用该资源的前提。角质颚是头足类的主要摄食器官, 具有形态结构稳定、耐腐蚀且易于保存等特点, 能够有效地记录头足类在

不同生活史阶段的生态信息 (Clarke 1962), 因而被广泛应用于摄食生态 (Hobson et al. 2006, Fang et al. 2016)、种类鉴定 (Fang et al. 2018, 金岳 2018) 和种群划分 (陆化杰等 2012, 方舟 2016) 等研究。

形态研究是生物多样性和分类研究中很重要的一部分, 以往的形态研究通常采用传统的径向测量分析形态变异 (颜云榕等 2015), 该方法可以获取生物体的长度信息, 具有测量速度快且分析简便等优势。传统的径向测量往往会忽略生物体的几何形态信息, 20 世纪 90 年代, 几何形态测量学 (geometric morphometrics) (Rohlf 1990, Bookstein 1991) 的创立有效地解决了传统径向测量的不足, 该方法可以定量的表示生物体的几何形态变化, 因此被广泛应用于各类形态研究中 (Rohlf 1998, Klingenberg 2010, Marcy 2020)。目前几何形态测量学可分为地标点法和外形轮廓法 (白明等 2007)。其中, 地标点法是以选取研究对象外形轮廓中容易识别的点来构建形态 (Rohlf et al. 1993), 之后通过广义普鲁克提斯分析法 (general procrustes analysis, GPA) (Slice 2001) 或广义耐受适应法 (general resistant fit, GRF) (白明等 2007) 等方法消除非形态变异产生的影响, 最后以多元统计分析方法, 如主成分分析、判别分析等, 研究形态变异及影响因素。21 世纪初, 几何形态测量学中的地标点法首次被应用在角质颚形态研究中, Neige 等 (2002) 对乌贼目 (Sepioidea)、枪形目 (Teuthoidea)、八腕目 (Octopoda) 中共 16 个物种的角质颚定义了 10 个地标点, 通过几何形态数据分析构建了系统发育树, 之后 Fang 等 (2017, 2018) 对地标点方案进行了改进, 增加了滑动地标点 (semi-landmarks), 更为完整地表示了角质颚形态, 并有效区分了不同种类。

在几何形态测量分析中, 地标点的选取具有一定的科学性 (陈新军等 2013)。地标点的增加可以有效提升形态学特征分析的精确度, 但过度采集地标点会在形态分析时产生大量冗余数据, 同时也花费更多图像准备工作时间;

地标点过少则无法准确描述物体的形态特征。同时, 还应考虑样本数对形态变异分析产生的影响, 即在不同样本数条件下多少地标点可以充分描述形态的变异 (Cardini et al. 2015)。目前角质颚形态研究存在不同的地标点标定方案, 且选取样本数量也各有不同, 不同地标点方案和样本数量对研究结果的影响并未进行深入分析。因此, 本研究利用 R 语言相关程序加载包 LaMBDA 的地标点采样评估曲线 (landmark sampling evaluation curve, LaSEC) 函数 (Watanabe 2018), 以剑尖枪乌贼 (*Uroteuthis edulis*) 的角质颚为例, 评估不同地标点标定方案以及样本数量对于头足类角质颚形态表示的影响程度, 旨在为基于地标点法研究角质颚形态提供合理地地标点和样本数量方案, 提高分析结果的准确性和统一性。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用剑尖枪乌贼于 2018 和 2019 年在我国近海海域捕捞, 共获取 300 个近海剑尖枪乌贼样本, 剑尖枪乌贼样本在完成基础生物学测定后, 在其头部口球中用镊子取出成对的角质颚, 共 300 对。清洗完成后进行编号并放入盛有 75% 乙醇溶液的玻璃瓶中保存备用。

1.2 方法

1.2.1 角质颚的外形测量 将保存在 75% 乙醇溶液中的角质颚取出, 用数显游标卡尺 (美耐特, 量程 150 mm, 精度 0.01 mm) 测量角质颚的上头盖长 (upper hood length, UHL)、上脊突长 (upper crest length, UCL)、上喙长 (upper rostrum length, URL)、上喙宽 (upper rostrum width, URW)、上侧壁长 (upper lateral wall length, ULWL)、上翼长 (upper wing length, UWL)、下头盖长 (lower hood length, LHL)、下脊突长 (lower crest length, LCL)、下喙长 (lower rostrum length, LRL)、下喙宽 (lower rostrum width, LRW)、下侧壁长 (lower lateral wall length, LLWL) 和下翼长 (lower wing length, LWL) 共 12 个形态参数 (图 1)。

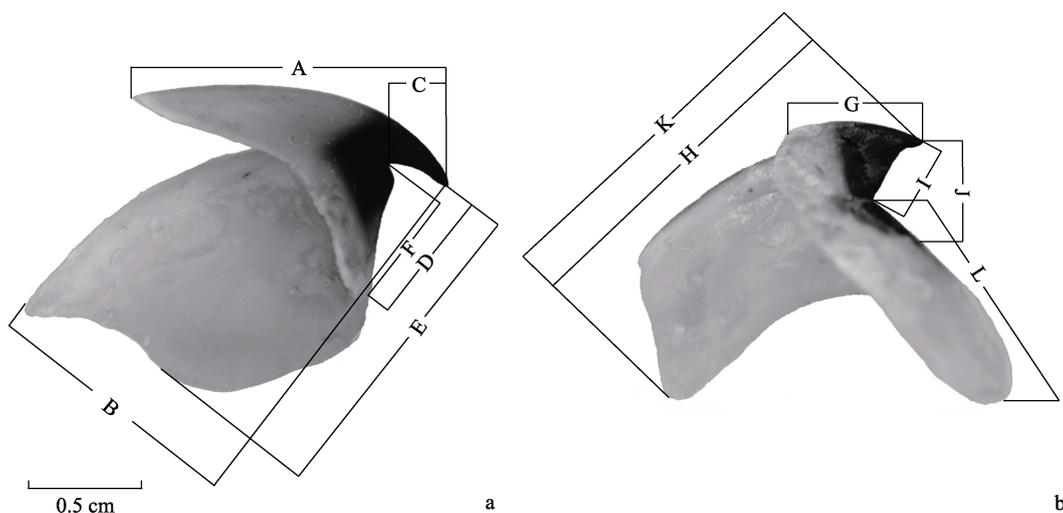


图 1 角质颚形态测量示意图

Fig. 1 Schematic diagram of morphometric measurements of beak

a. 上颚; b. 下颚。a. Upper beak; b. Lower beak.

A. 上头盖长; B. 上脊突长; C. 上喙长; D. 上喙宽; E. 上侧壁长; F. 上翼长; G. 下头盖长; H. 下脊突长; I. 下喙长; J. 下喙宽; K. 下侧壁长; L. 下翼长

A. Upper hood length, UHL; B. Upper crest length, UCL; C. Upper rostrum length, URL; D. Upper rostrum width, URW; E. Upper lateral wall length, ULWL; F. Upper wing length, UWL; G. Lower hood length, LHL; H. Lower crest length, LCL; I. Lower rostrum length, LRL; J. Lower rostrum width, LRW; K. Lower lateral wall length, LLWL; L. Lower wing length, LWL

1.2.2 图像获取 首先放置小型摄影棚，并调节补光灯亮度，放入比例卡尺，并利用三脚架固定 NikonD750 相机，使用的镜头为 Micro 105 mm f/2.8。调试好位置并准备好需要拍摄的角质颚样本后，为了防止角质颚长时间暴露于空气中产生变形，将逐一从盛有酒精的玻璃瓶中取出上、下颚，自然晾干后立即拍摄，获取标准图像用于后续地标点建立。图像采集均保持三脚架及单反相机位置、样本拍摄角度和位置、单反相机对焦位置一致。保存图像时为了保证后续分析的响应效率，将所有图像裁剪至保留 2 cm 比例尺，方便软件的图像数据读取。

1.2.3 角质颚地标点选取与建立 由于对不同物体的地标点选取没有明确的标准，形态变异分析是否可靠未知(萧旭峰等 1998, 冯波等 2011)。因此本研究根据前人已有研究(Neige et al. 2002, 方舟 2016)，对剑尖枪乌贼角质颚建立了 10、20、28 个地标点共 3 种方案(图 2)，将每种方案下所选取的地标点进行类型分类

(表 1, 2)。地标点一般分为三种类型(Bookstein 1991): I 型地标点, 指不同组织间的交点; II 型地标点, 结构中的凹凸点; III 型地标点, 结构中的极值点。使用 R 语言中的 geomorph 包对角质颚图像进行数字化, 即建立地标点(Adams et al. 2013), 每个角质颚样本图像地标点位置和顺序均保持一致, 输出 .tps 格式的地标点文件。为了减少实验误差, 样本方案采取样本数据累加的方式, 10、20 个地标点方案在 28 个地标点方案建立好的数据基础上进行删减。

1.2.4 角质颚质心大小分析 计算所有地标点到物体中心(包含物体所得圆的圆心)距离的平方和, 将该值开方后即得到质心 C 值(centroid size, C)(陈新军等 2017)。该值可以用来表示生物体结构的大小, 同时与形态数据的相关性分析还可以研究生物体结构的异速生长(刘强强 2019)。使用 R 语言 geomorph 包“gpagen”函数(Adams et al. 2013)得出 10、20、28 个地标点和 50、80、100、200、300 对

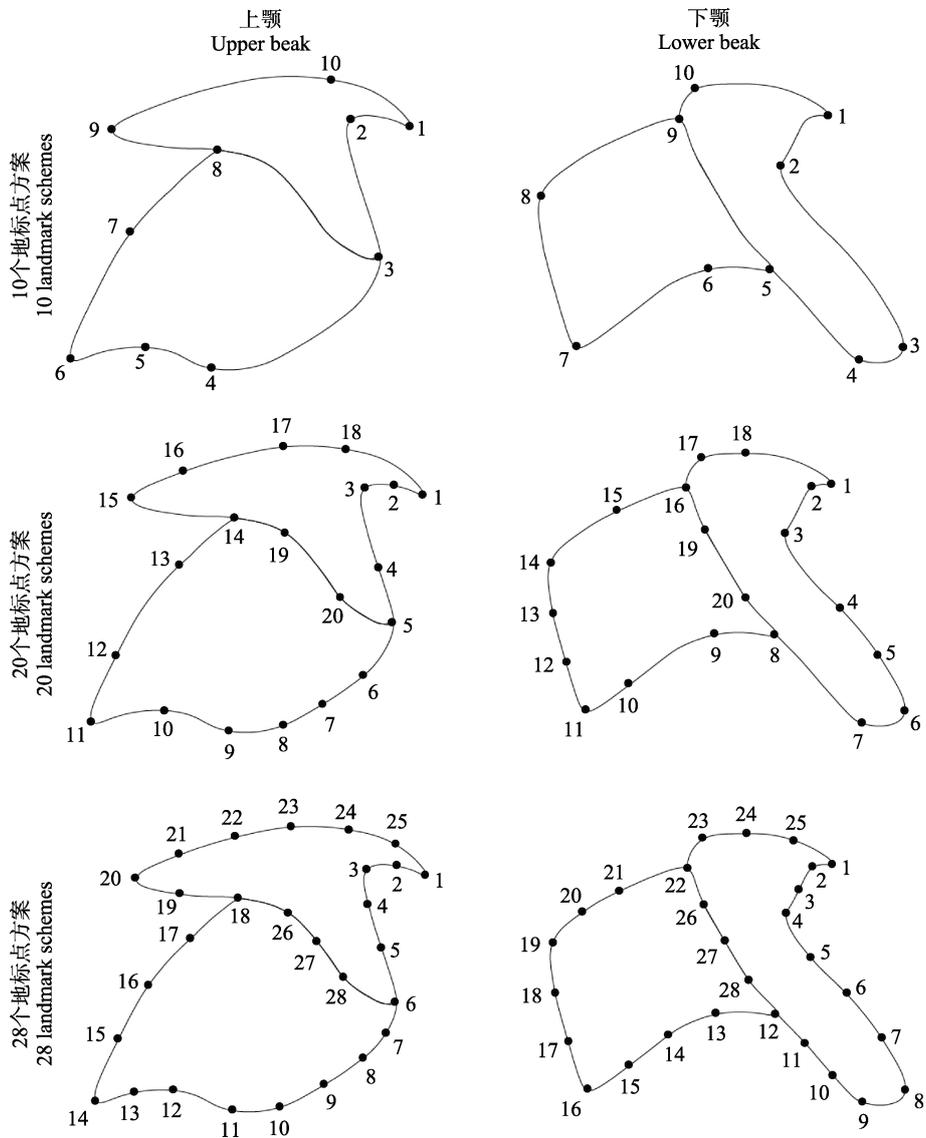


图 2 剑尖枪乌贼上颚和下颚的外形轮廓及不同地标点方案的地标点示意图

Fig. 2 The outline of the squid *Uroteuthis edulis* upper beak and lower beak and the landmark sketch map of different landmark schemes

数字代表地标点标号。

The number represents the landmark mark.

样本组合方案的角质颚质心 *C* 值数据，以比较不同情况下的质心 *C* 值变化规律。

1.2.5 角质颚地标点定量分析 地标点定量分析在 R 语言程序中进行。将地标点数据利用 geomorph (Adams et al. 2013) 包中的 “readland.

tps” 函数读取到 R 语言，“two.d.array” 函数将.tps 格式的地标点数据转换为二维矩阵格式的数据，利用 LaMBDA 包 “LaSEC” 函数进行地标点的定量分析 (Watanabe 2018)。该方法的原理是随机抽取部分地标点与完整的地标点

表 1 上颚不同地标点方案的地标点类型和定义

Table 1 The type and definition of landmarks for different landmark schemes in the upper beak

10 个地标点 10 landmarks	20 个地标点 20 landmarks	28 个地标点 28 landmarks	地标点定义 Landmark definition	地标点类型 Landmark type
1	1	1	喙的顶点 Rostral tip	II
	2	2	前后两点间凹处 Recesses between the two points	II
2	3	3	喙角处 Jaw angle	I
		4	翼部中间点 Wing middle point	III
	4	5	前后两点中间处 Center between the two points	III
3	5	6	翼部与侧壁前部连接点 Dorsal contact wing/lateral wall	I
		7	前后两点中间处 Center between the two points	III
	6	8	以喙角作垂线与侧壁前部交点 Crossover point between the vertical line with jaw angle and lateral wall	II
	7	9	侧壁前部最大弯曲处 Maximum bending position at the front of the lateral wall	III
	8	10	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
4	9	11	侧壁下部最底端 Bottom end of the lower lateral wall	III
5	10	12	侧壁下部最凹处 Most concave part at the lower part of the lateral wall	III
		13	前后两点间凹处 Recesses between the two points	II
6	11	14	侧壁后最底端 Botmost end of lateral wall	III
	12	15	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
7		16	脊突 Crest	II
	13	17	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
8	14	18	翼部与侧壁后部连接点 Wing connection point to the rear of the lateral wall	I
		19	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
9	15	20	头盖最末端 Posterior end of hood	III
	16	21	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
		22	以 18 点作垂线与头盖顶部交点 Vertical line and hood cap intersection at 18 points	II
	17	23	头盖最顶端 Top part of the hood	III
10	18	24	喙的末端 The end of the jaw	I
		25	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
	19	26	侧壁上部凸处 Upper convex of lateral wall	II
		27	侧壁中间与头盖下部交点 Middle point of lateral wall and lower intersection of hood	I
	20	28	侧壁上部凹处 Upper recess of the lateral wall	II

数据集作对比分析, 随机抽取的部分地标点定义为子采样。地标点子采样从 3 个开始, 直到所有地标点全部采集为止, 子采样迭代 1 000 次, 以降低实验偶然性并减少误差。通过执行广义普鲁克提斯对齐, 使用 *vegan* 包中的“*protest*”函数来计算普鲁克提斯平方和 (procrustes sum of squares, PSS) (Mardia et al. 1980, Peres-Neto et al. 2001), 即子采样数据和完整数据之间的“拟合”被测量为拟合值 (fitted value, F), F

值越接近 1, 则代表越能完整表示形状的变化, 接近 0, 则代表无法完整表示形状。本研究采用了 10、20、28 个地标点和 50、80、100、200、300 对样本数组合方案绘制采样曲线。

1.2.6 角质颚形态变异可视化 利用角质颚形态的地标点数据进行变异点的定量分析, 得出角质颚上颚和下颚形态的地标点变异矢量图 (Adams et al. 2013), 以定量的方法可视化所有地标点的形态变异程度。

表 2 下颚不同地标点方案的地标点类型和定义

Table 2 The type and definition of landmarks for different landmark schemes in the lower beak

10 个地标点 10 landmarks	20 个地标点 20 landmarks	28 个地标点 28 landmarks	地标点定义 Landmark definition	地标点类型 Landmark type
1	1	1	喙的顶点 Rostral tip	II
	2	2	前后两点间凹处 Recesses between the two points	II
		3	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
2	3	4	喙角处 Jaw angle	I
		5	翼齿最下端 Lower part of the wing tooth	III
	4	6	翼部前最大弯曲处 Maximum bending position at the front of the wing	III
	5	7	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
3	6	8	肩部最大弯曲处 Maximum bending position at the front of the shoulder	III
4	7	9	翼部最低点 Wing part lowest point	III
		10	以喙顶点作垂线与翼部后部交点 Crossover point between the vertical line with rostral tip and wing rear	II
		11	前后两点间中间处 Center between the two points	III
5	8	12	翼部与侧壁下部连接点 Wing connection point to the bottom of the lateral wall	I
6	9	13	侧壁下部凹处 Lower lateral wall recess	II
		14	前后两点间凹处 Recesses between the two points	II
	10	15	侧壁下部凸处 Lower convex of lateral wall	II
7	11	16	侧壁后最底端 Botmost end of lateral wall	III
	12	17	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
	13	18	侧壁后部凸处 Bulge of the rear of the lateral wall	II
8	14	19	侧壁后最顶端 Top end of lateral wall	III
		20	前后两点间中间处 Center between the two points	III
	15	21	脊突 Crest	II
9	16	22	翼部与侧壁上连接点 Wing connection point to the top of the lateral wall	I
10	17	23	头盖最顶端 Top part of the hood	III
	18	24	喙的末端 The end of the jaw	I
		25	前后两点间凸处 Bulges between the two points	II
	19	26	侧壁上凹处 Upper recess of the lateral wall	II
		27	侧壁中间与头盖下部交点 Middle point of lateral wall and lower intersection of hood	I
	20	28	前后两点间中间处 Center between the two points	III

2 结果与分析

2.1 剑尖枪乌贼角质颚基本形态信息

剑尖枪乌贼角质颚上、下颚如图 1 所示。其基本形态特征如下。上颚：喙部顶点尖锐，喙与翼部的夹角较小；头盖较长，头盖上部有明显的凸起；侧壁下部有明显的凹陷处，后部较为平滑；脊突也较为明显。下颚：喙部顶点也较尖，喙与翼部夹角较大；头盖较短。通过

测量剑尖枪乌贼角质颚 12 个形态参数发现，不同样本间 12 个参数的标准差均较大（表 3），表明不同样本间角质颚质心 C 值存在一定的差异。

2.2 不同地标点及样本数量质心变化规律

每种方案的质心 C 值都存在异常值（图 3），上颚质心 C 值略大于下颚，质心 C 值随着地标点的增加显著增大。在同一样本下随着地标点数量的增加质心 C 值不断增大，可以表明

表 3 剑尖枪乌贼角质颚形态参数值

Table 3 Beak morphological parameters of *Uroteuthis edulis*

形态参数 Morphologic parameters	最大值 Max value	最小值 Min value	平均值 Average value	标准差 Standard deviation
上头盖长 Upper hood length (mm)	19.42	6.61	10.61	2.07
上脊突长 Upper crest length (mm)	24.68	9.31	14.54	2.07
上喙长 Upper rostrum length (mm)	5.34	1.33	3.02	2.07
上喙宽 Upper rostrum width (mm)	4.75	1.22	2.62	2.07
上侧壁长 Upper lateral wall length (mm)	19.93	1.02	10.66	2.07
上翼长 Upper wing length (mm)	9.5	1.34	3.89	2.06
下头盖长 Lower hood length (mm)	7.45	1.43	3.75	2.05
下脊突长 Lower crest length (mm)	15.29	1.76	8.36	2.05
下喙长 Lower rostrum length (mm)	10.33	1.27	2.72	2.05
下喙宽 Lower rostrum width (mm)	9.72	1.02	2.67	2.06
下侧壁长 Lower lateral wall length (mm)	3.18	18.38	10.30	2.05
下翼长 Lower wing length (mm)	2.08	17.61	5.97	2.05

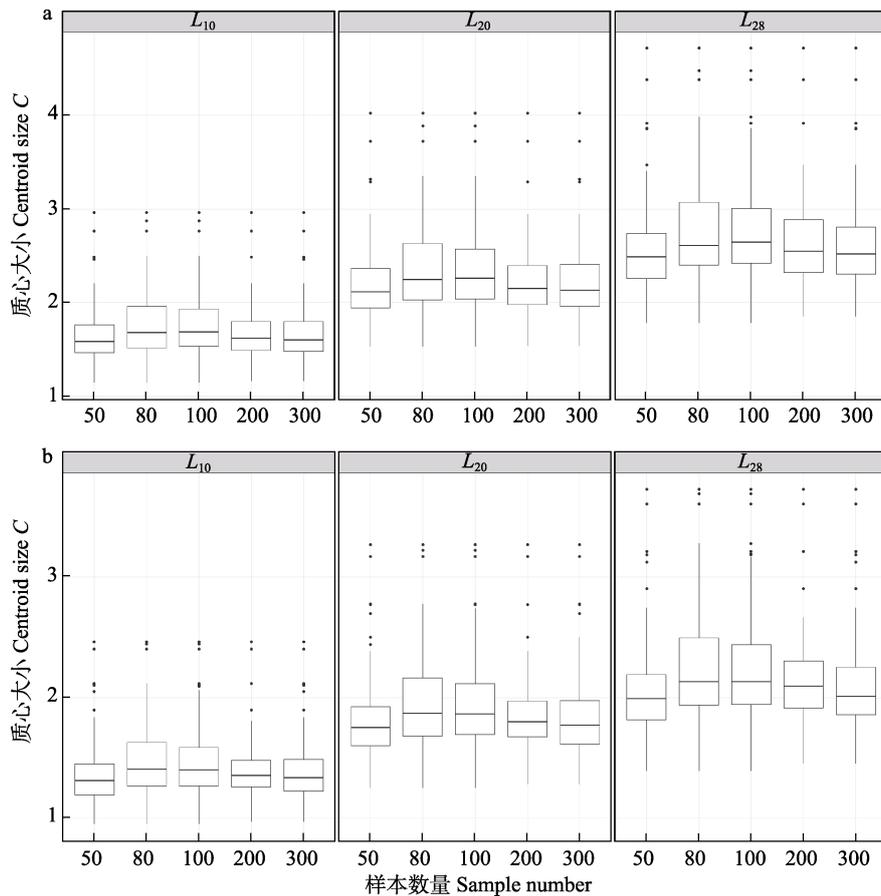


图 3 不同地标点及样本数量质心大小变化箱型图

Fig. 3 Box-plot of centroid size variation of different landmarks and sample number

a. 上颚; b. 下颚。a. Upper beak; b. Lower beak.

L_{10} . 10 个地标点方案; L_{20} . 20 个地标点方案; L_{28} . 28 个地标点方案。

L_{10} . 10 landmark schemes; L_{20} . 20 landmark schemes; L_{28} . 28 landmark schemes.

对于角质颚来说, 10、20 个地标点采集并不能完全反映其形态, 产生了一定误差。28 个地标点得出的质心 C 值结果更为可靠, 对计算角质颚质心 C 值更为适用。上、下颚在不同样本数的质心 C 值的上限存在一定差别, 下限无显著差异; 无论何种地标点方案, 样本为 50、200、300 对时, 其质心 C 值相较于样本为 80、100 对时要小。

2.3 地标点采样评估曲线分析

通过比较剑尖枪乌贼角质颚在 10、20 和 28 个地标点方案下的地标点采样评估曲线, 能够揭示不同地标点方案表示形状变化的平稳程度, 为后续基于地标点法的角质颚形态分析提供参考。本研究主要通过三个方面解释地标点采样评估曲线的平稳度, 即曲线的斜率变化程度、每次迭代的子采样 F 值曲线 (灰色线) 的集中程度、不同标点方案达到优平均 F 值 ($F = 0.90$, $F = 0.95$, $F = 0.99$) 的地标点数变化。

对于上、下颚, 在相同样本数的方案下, 10、20 和 28 个地标点 3 种方案的地标点采样评估曲线斜率变化程度不同。10 和 20 个地标点方案的上、下颚斜率变化较小, 相比之下, 28 个地标点方案随着采样地标点数的增加斜率平稳地减小 (图 4, 5)。上、下颚在总地标点方案为 10 和 20 个时 F 值出现了突变现象, 10 个地标点方案时 F 值突变更为明显, 在图上显示为灰色的 F 值曲线轨迹偏离平均 F 值, 距平均 F 值较远; 28 个地标点方案子采样曲线较接近平均 F 值, F 值突变现象较少。随着地标点方案中地标点的增加, 达到优平均 F 值的地标点数量也在增加。综合考虑, 28 个地标点方案的地标点采样最为充分、曲线最平稳。

利用 LaSEC 得出的优平均 F 值数据绘制了上、下颚 28 个地标点方案在不同样本数量达到优平均 F 值的地标点数折线图 (图 6)。在这里定义较优平均 F 值为 0.90, 次优平均 F 值为 0.95, 最优平均 F 值为 0.99。在平均 F 值达到 0.90 和 0.95 时, 对于较大的样本数据集需要更多的地标点才能较平稳地表示形状 (图 6)。由

于在不同样本数下达到优平均 F 值所需地标点数可能不同, 因此可以根据角质颚样本数量来决定形态研究所需地标点数量。图 6 即确定了在 50、80、100、200、300 对样本的情况下上颚和下颚地标点采样评估曲线达到较优、次优、最优平均 F 值所需地标点数, 在大于 200 对样本时, 上颚和下颚都需要 27 个地标点才能达到最优平均 F 值 ($F = 0.99$)。

通过图 6 可以看出, 为了最好地展示角质颚的形态变异程度 ($F = 0.99$), 后续研究在角质颚样本为 50 对左右时上、下颚采用 26 个地标点; 样本为 50 ~ 300 对采用 27 个地标点。

3 讨论

3.1 不同地标点方案的差异

3.1.1 质心大小 相较于传统形态测量较为单一的呈现结果, 质心 C 值既能定量反映生物体的几何大小, 又能结合形态数据进行相关性分析, 从而得到生物个体的异速生长规律 (刘强强 2019), 这对于深入了解动物的个体进化发育有着重要作用 (Damuth 1998)。通过地标点法得到的质心 C 值更为全面、精确 (欧利国等 2020), 但本研究不同地标点方案下质心 C 值存在显著差异, 这可能是由于 10、20 个地标点方案的地标点采集不充分导致的。

3.1.2 地标点采样评估曲线 前人采用过 10、20 个地标点的方案进行形态分析 (Neige et al. 2002, Fang et al. 2017, 2018), Fang 等 (2017) 增加了地标点的数量进行形态分析, 可以更好地找出分析形态变异的主成分, 优化角质颚形态的分类效果。增加地标点数量对形态的完整性构建有很大的帮助 (Watanabe 2018), 在 28 个地标点方案中, 通过图 7 可以定量分析变异较大的点, 例如上颚地标点 8 和 12 及下颚地标点 10 和 13 (图 2e), 这些变异较大的点是 10 个地标点方案 (图 2c) 所没有的, 并且相比 20 个地标点方案, 28 个地标点方案中涵盖了更多变异较大的点, 例如上颚地标点 4 和 16 及下颚地标点 3 和 20 等 (图 2e), 这些点的增加可以

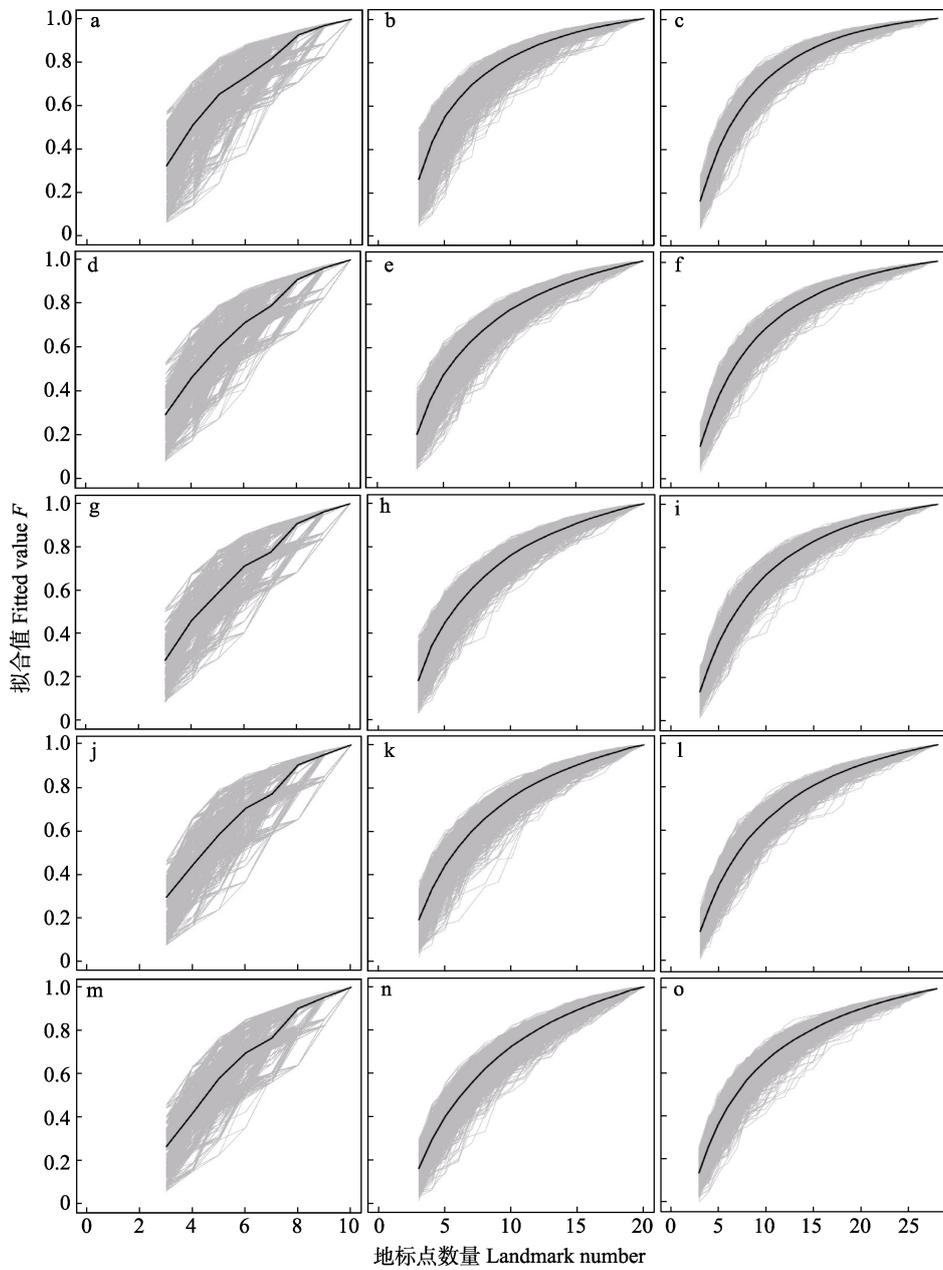


图 4 上颚在不同样本和地标点数方案的地标点采样评估曲线

Fig. 4 The upper beak landmark sampling evaluation curve of landmarks in different sample and landmark schemes

a、b、c. 50 对样本 10、20、28 个地标点方案；d、e、f. 80 对样本 10、20、28 个地标点方案；g、h、i. 100 对样本 10、20、28 个地标点方案；j、k、l. 200 对样本 10、20、28 个地标点方案；m、n、o. 300 对样本 10、20、28 个地标点方案。

a, b, c. 10, 20, 28 landmark schemes of 50 pairs of samples; d, e, f. 10, 20, 28 landmark schemes of 80 pairs of samples; g, h, i. 10, 20, 28 landmark schemes of 100 pairs of samples; j, k, l. 10, 20, 28 landmark schemes of 200 pairs of samples; m, n, o. 10, 20, 28 landmark schemes of 300 pairs of samples.

每条灰色线代表一次子采样的拟合曲线，粗黑线表示所有子采样的平均拟合曲线。

Each gray line represents a fitting curve of a subsample, the black line represents the average fitting curve of all subsamples.

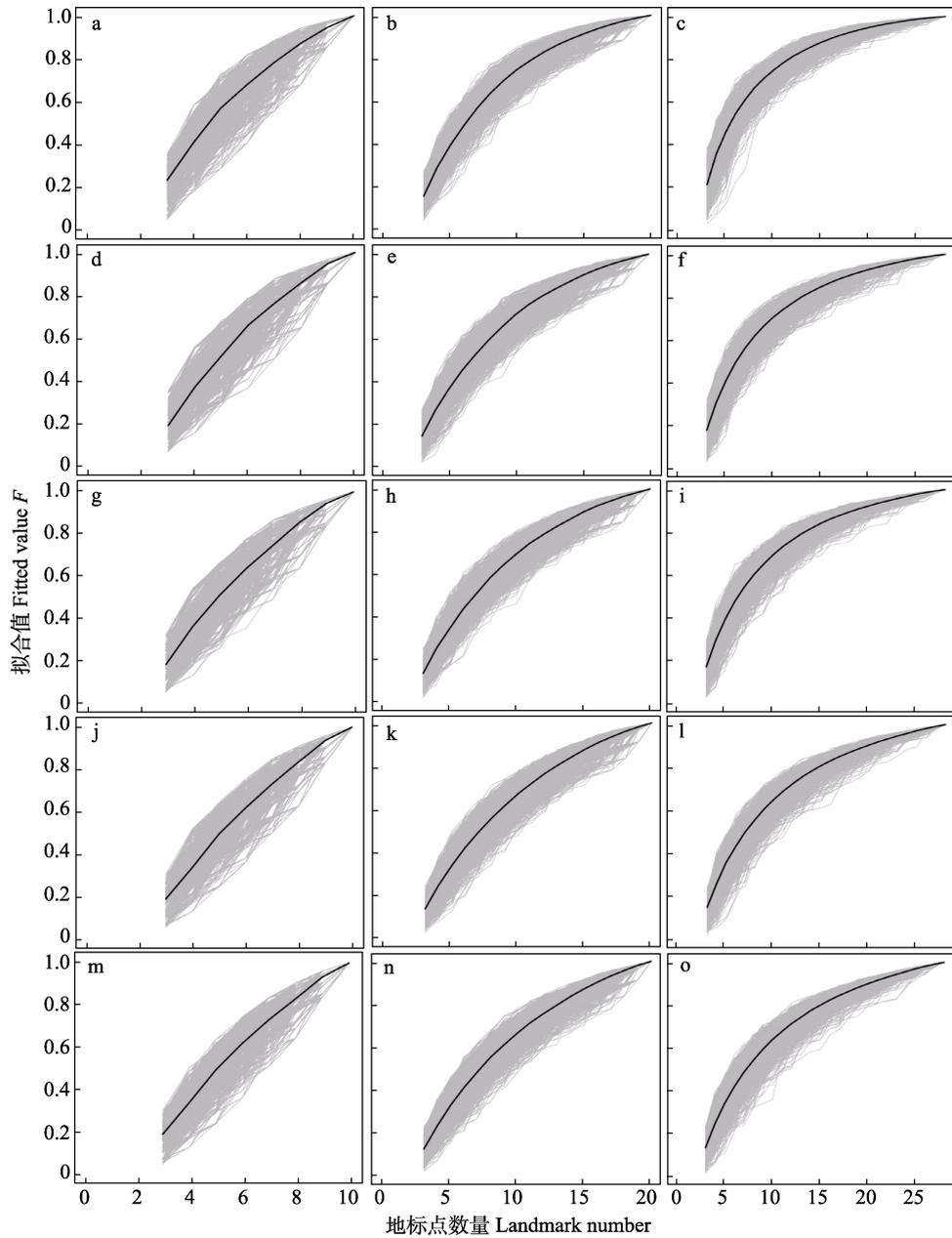


图 5 下颚在不同样本和地标点数方案的地标点采样评估曲线

Fig. 5 The lower beak landmark sampling evaluation curve of landmarks in different sample and landmark schemes

a, b, c. 50 对样本 10、20、28 个地标点方案; d, e, f. 80 对样本 10、20、28 个地标点方案; g, h, i. 100 对样本 10、20、28 个地标点方案; j, k, l. 200 对样本 10、20、28 个地标点方案; m, n, o. 300 对样本 10、20、28 个地标点方案。

a, b, c. 10, 20, 28 landmark schemes of 50 pairs of samples; d, e, f. 10, 20, 28 landmark schemes of 80 pairs of samples; g, h, i. 10, 20, 28 landmark schemes of 100 pairs of samples; j, k, l. 10, 20, 28 landmark schemes of 200 pairs of samples; m, n, o. 10, 20, 28 landmark schemes of 300 pairs of samples.

每条灰色线代表一次子采样的拟合曲线, 粗黑线表示所有子采样的平均拟合曲线。

Each gray line represents a fitting curve of a subsample, the black line represents the average fitting curve of all subsamples.

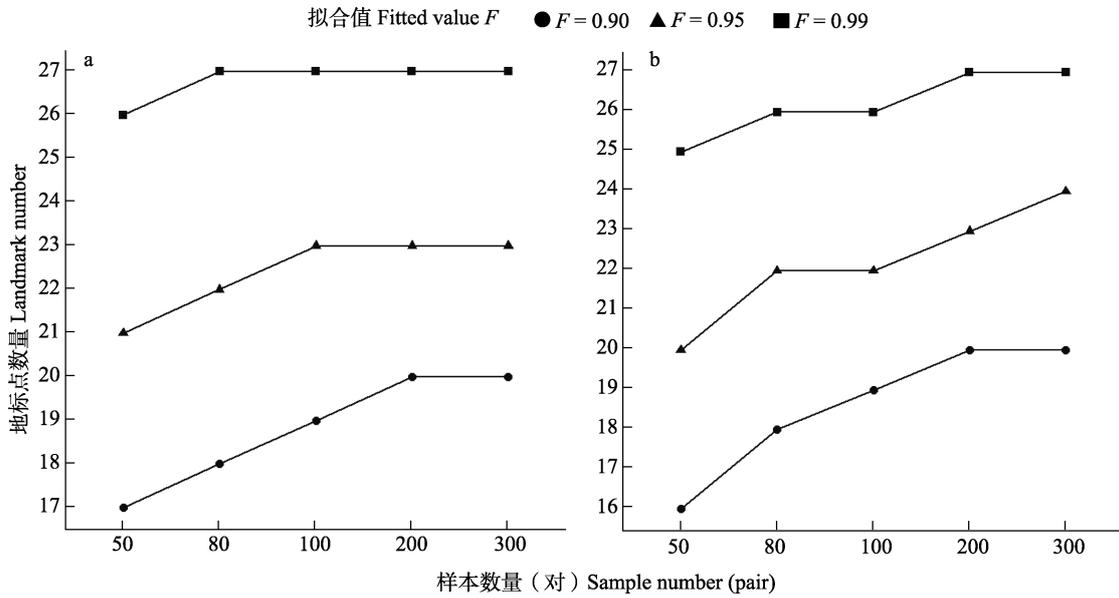


图 6 28 个地标点方案达到优平均拟合值时样本和地标点数的关系

Fig. 6 Relations between sample and landmark number when 28 landmark schemes reach optimal average fitted values

a. 上颚; b. 下颚。 a. Upper beak; b. Lower beak.

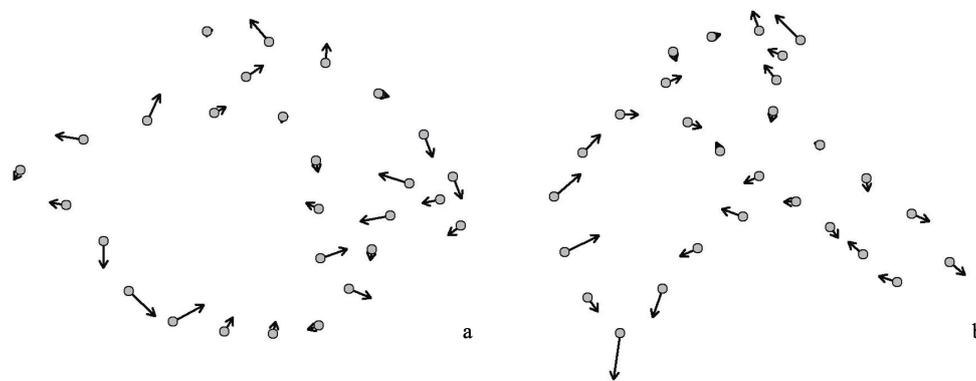


图 7 剑尖枪乌贼角质颚的形态变异可视化箭头图

Fig. 7 Visual arrow map of morphological variation of the beak of *Uroteuthis edulis* squid

a. 上颚; b. 下颚。 a. Upper beak; b. Lower beak.

箭头方向代表形态变异的方向，线段的长短代表形态变异的大小。

The arrow direction represents the direction of morphological variation, the length of the line represents the size of morphological variation.

更完整表示角质颚形态变异。由于同种不同个体间和不同种间的角质颚形态细微结构存在不同 (刘必林等 2009), 10、20 个地标点方案忽略了一些形态变异较大的点, 从而导致不同地

标点方案的地标点采样评估曲线出现差异。

3.2 如何合理选择地标点

三种类型的地标点有不同组织间的交点、凹凸点、极值点 (Bookstein 1991), 结合形态

变异图(图7)和地标点定义(表1, 2)发现, 这些点变异程度较高, 对于表示角质颚形态变化是至关重要的。由于剑尖枪乌贼在不同发育阶段的摄食组成不同(李楠等 2020), 并且不同种之间的食物组成也不同(李云凯等 2014), 因此摄食会对角质颚主要接触食物的部位(喙部)形态产生较大的影响。图7可发现, 上、下颚的喙部变异程度较高(图2e: 地标点1、2、25), 因此喙部的地标点在删减或增加的过程中应保持谨慎。本研究为了更好地可视化角质颚外形, 还标定了一些等分点, 由图7可知一些等分点(图2e: 上颚地标点5、7, 下颚地标点11、28)形态变异程度较低, 因此可适当舍弃。综合分析, 在地标点法分析中选取地标点应结合角质颚形态的变异程度选取具有代表性的点, 才能更好地提高对角质颚形态信息的提取效果。

3.3 地标点方案的确定

质心 C 值随着地标点的增加而增大(图3), 28个左右的地标点表示质心 C 值效果最佳, 因此可选择该地标点数量表示质心 C 值。相较于10、20个地标点方案, 28个地标点方案地标点采集最充分、地标点采样评估曲线最平稳, 因此本研究在该方案下确定最佳地标点方案, 然后将地标点采样评估曲线达到最优平均 F 值($F = 0.99$)时的地标点数作为最好地展示角质颚形态变异程度的数量指标(图4, 5)。

本研究考虑了不同样本数情况下地标点数量对形态分析的影响, 为了最好地展示角质颚的形态变异程度, 需要采用最优平均拟合值($F = 0.99$)的地标点数量方案, 这样研究结果误差小, 同时尽可能地保留角质颚的形态特征数据, 这也表明 Neige 等(2002)对乌贼目、枪形目和八腕目物种的角质颚采用10个地标点的方案不能完全体现角质颚的形态, 有可能导致形态信息的缺失(Watanabe 2018)。另外, 为了确定具体地标点的标定方案, 需要在28个地标点的基础上删减1或2个地标点。为了保留角质颚形态变异大的点, 删除形态变异小

的点, 通过定量分析总体角质颚研究样本的形态变异(图7)发现, 在保证角质颚形态完整性的前提下, 研究样本在50对左右时, 即26个地标点方案, 上颚删掉地标点5、7, 下颚删掉地标点5、25; 研究样本为50~300对时, 即27个地标点方案, 上、下颚删掉地标点5。

参 考 文 献

- Adams D C, Otarola-Castillo E. 2013. Geomorph: an r package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(4): 393–399.
- Bookstein F L. 1991. *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Cardini A, Seetah K, Barker G. 2015. How many specimens do I need? Sampling error in geometric morphometrics: testing the sensitivity of means and variances in simple randomized selection experiments. *Zoomorphology*, 134(2): 149–163.
- Clarke M R. 1962. The identification of cephalopod “beaks” and the relationship between beak size and total body weight. *Bulletin of the British Museum of Natural History, Zoology*, 8: 419–480.
- Damuth J D. 1998. Common Rules for Animals and Plants. *Nature*, 395: 115–116.
- Fang Z, Chen X J, Su H, et al. 2017. Evaluation of stock variation and sexual dimorphism of beak shape of neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, based on geometric morphometrics. *Hydrobiologia*, 784(1): 367–380.
- Fang Z, Fan J T, Chen X J, et al. 2018. Beak identification of four dominant octopus species in the East China Sea based on traditional measurements and geometric morphometrics. *Fisheries Science*, 84(6): 975–985.
- Fang Z, Thompson K, Jin Y, et al. 2016. Preliminary analysis of beak stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) stock variation of neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, in the North Pacific Ocean. *Fisheries Research*, 177: 153–163.
- Hobson K A, Cherel Y. 2006. Isotopic reconstruction of marine food webs using cephalopod beaks: new insight from captive raised *Sepia officinalis*. *Canadian Journal of Zoology*, 84(5): 766–770.
- Klingenberg C P. 2010. Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. *Nature Reviews Genetics*,

- 11(7): 623–635.
- Marcy A E, Guillerme T, Sherratt E, et al. 2020. Australian rodents reveal conserved cranial evolutionary allometry across 10 Million Years of Murid Evolution. *The American naturalist*, 196(6): 755–768.
- Mardia K V, Kent J T, Bibby J M. 1980. *Multivariate Analysis*. London, United Kingdom: Academic Press.
- Neige P, Dommergues, J L. 2002. Disparity of beaks and statoliths of some coleoids: A morphometric approach to depict shape differentiation. *Abhandlungen der Geologischen Bundesanstalt*, 57: 393–399.
- Nesis K N, 2003. Distribution of recent cephalopod and implications for plioleistocene events. *Coleoid Cephalopods Through Time*, 3: 199–224.
- Peres-Neto P R, Jackson D A. 2001. How well do multivariate data sets match? The advantages of a Procrustean superimposition approach over the Mantel test. *Oecologia*, 129(2): 169–178.
- Rohlf F J. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Biology*, 39(1): 40–59.
- Rohlf F J. 1998. On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. *Systematic Biology*, 47(1): 147–158.
- Rohlf F J, Marcus L F. 1993. A revolution morphometrics. *Trends in Ecology & Evolution*, 8(4): 129–132.
- Slice D E. 2001. Landmark coordinates aligned by procrustes analysis do not lie in kendall's shape space. *Systematic Biology*, 50(1): 141–149.
- Watanabe A. 2018. How many landmarks are enough to characterize shape and size variation? *PLoS One*, 13(6): e0198341.
- 白明, 杨星科. 2007. 几何形态测量法在生物形态学研究中的应用. *昆虫知识*, 44(1): 143–147.
- 陈新军. 2019. 世界头足类资源开发现状及我国远洋鱿钓渔业发展对策. *上海海洋大学学报*, 28(3): 321–330.
- 陈新军, 方舟, 陈洋洋, 等. 2017. 几何形态测量学在水生生物中的应用. 北京: 科学出版社, 5–8.
- 陈新军, 方舟, 苏杭, 等. 2013. 几何形态测量学在水生动物中的应用及其进展. *水产学报*, 37(12): 1873–1885.
- 董正之. 1988. *中国动物志: 软体动物门 头足纲*. 北京: 科学出版社, 1–20.
- 方舟. 2016. 基于角质颚的北太平洋柔鱼渔业生态学研究. 上海: 上海海洋大学博士学位论文.
- 冯波, 程罗妹. 2011. 几何形态学方法区分短吻蝠地方种群的研究. *上海海洋大学学报*, 20(5): 677–681.
- 金岳. 2018. 基于硬组织的中国近海枪乌贼渔业生物学研究. 上海: 上海海洋大学博士学位论文.
- 李楠, 方舟, 陈新军. 2020. 剑尖枪乌贼渔业研究进展. *大连海洋大学学报*, 35(4): 637–644.
- 李云凯, 贡艺, 陈新军. 2014. 稳定同位素技术在头足类摄食生态学研究中的应用. *应用生态学报*, 25(5): 1541–1546.
- 刘必林, 陈新军. 2009. 头足类角质颚的研究进展. *水产学报*, 33(1): 157–164.
- 刘强强. 2019. 山溪鲩属物种头骨的几何形态学分析. 河南: 河南科技大学硕士学位论文.
- 陆化杰, 陈新军, 方舟. 2012. 西南大西洋阿根廷滑柔鱼 2 个不同产卵群间角质颚外形生长特性比较. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 42(10): 33–40.
- 欧利国, 刘必林. 2020. 基于地标点法的 4 种鲹科鱼类矢耳石形态分类. *大连海洋大学学报*, 35(1): 114–120.
- 萧旭峰, 吴文哲. 1998. 生物形状的科学—浅谈几何形态测量学之发展与应用. *科学月刊*, 29(1): 624–366.
- 颜云榕, 易木荣, 冯波, 等. 2015. 南海鸕乌贼 3 个地理群体形态差异与判别分析. *广东海洋大学学报*, 35(3): 43–50.