

基于几何形态测量学的磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯对鲢仔鱼形态影响研究

杨浩 蒲艳 高雷 段辛斌 刘绍平 陈大庆 李云

GEOMETRIC MORPHOMETRIC ANALYSIS OF SILVER CARP LARVAE AFTER EXPOSURE TO TDCIPP

YANG Hao, PU Yan, GAO Lei, DUAN Xin-Bin, LIU Shao-Ping, CHEN Da-Qing, LI Yun

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2023.2022.0162>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

不同水深养殖栉孔扇贝的形态测量学研究和比较

MORPHOMETRIC STUDY AND COMPARISON OF SCALLOPS (*CHLAMYS FARRERI*) CULTURED IN DIFFERENT WATER DEPTH

水生生物学报. 2021, 45(1): 132–139 <https://doi.org/10.7541/2021.2019.215>

阳澄湖原产及“洗澡”中华绒螯蟹背甲的几何形态分析

GEOMETRIC MORPHOMETRIC ANALYSIS ON THE CARAPACE DIFFERENCE BETWEEN “BATHED” AND YANGCHENG LAKE ORIGINATED *ERIOCHEIR SINENSIS*

水生生物学报. 2020, 44(3): 587–594 <https://doi.org/10.7541/2020.072>

几何形态测量法结合Micro CT扫描对两水系花斑裸鲤的形态分析

MORPHOLOGICAL ANALYSIS USED BY GEOMETRIC MORPHOMETRICS COMBINED WITH MICRO CT AMONG *GYMNOCYPRIS ECKLONI* IN TWO DRAINAGE (TELEOSTEI: CYPRINIDAE)

水生生物学报. 2020, 44(4): 853–861 <https://doi.org/10.7541/2020.102>

高原裸裂尻鱼头部轮廓形状及其变异的几何形态测量分析

GEOMETRIC MORPHOMETRICS OF THE CEPHALIC CONTOUR AND ITS MORPHOLOGICAL VARIATIONS AMONG *SCHIZOPYGOPSIS STOLICZKAI* (TELEOSTEI: CYPRINIDAE)

水生生物学报. 2017, 41(1): 182–193 <https://doi.org/10.7541/2017.23>

鲢EST-SSR标记的开发及其与生长性状关联性分析

DEVELOPMENT OF EST-SSR MARKERS AND ANALYSIS OF GROWTH TRAIT IN SILVER CARP

水生生物学报. 2020, 44(3): 494–500 <https://doi.org/10.7541/2020.060>

斑仔、稚鱼形态发育及异速生长模式研究

MORPHOLOGICAL DEVELOPMENT AND ALLOMETRIC GROWTH PATTERN OF *KONOSIRUS PUNCTATUS* AT LARVAE AND JUVENILE STAGES

水生生物学报. 2019, 43(5): 1021–1033 <https://doi.org/10.7541/2019.121>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2023.2022.0162

基于几何形态测量学的磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯对 鲢仔鱼形态影响研究

杨浩^{1,2} 蒲艳^{2,3} 高雷² 段辛斌² 刘绍平² 陈大庆² 李云¹

(1. 西南大学水产学院渔业与水产生物技术实验室, 重庆 400715; 2. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 武汉 430223;
3. 西南大学生命科学学院淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 为了解磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯(TDCIPP)对鲢仔鱼生长抑制性在外部形态上的表现性状, 研究基于几何形态测量学方法对0.05、0.5、5和50 $\mu\text{g/L}$ 共4个浓度组与对照组进行组间形态性状差异比较分析。利用PLYMPLUS系统获取鲢仔鱼样本图像信息并测量体长, 利用万分电子天平称量体重, 使用TPS系列软件提取坐标点数据, 并通过Morpho J软件完成主成分分析、典型变量分析及结果可视化。除0.05 $\mu\text{g/L}$ 浓度组外, 其他浓度组鲢仔鱼的体长、体重均显著低于对照组, 表明TDCIPP对鲢仔鱼的生长发育具有抑制效应。主成分分析和典型变量分析结果显示, 第一主成分(PC1)和第二主成分(PC2)共占总体变量的62.15%(分别为47.64%和14.51%); 第一典型变量(CV1)和第二典型变量(CV2)共占总体变量的79.48%(分别为54.55%和24.93%), 满足用于鲢仔鱼形态分析的要求。网格轮廓分析结果显示, 各浓度组鲢仔鱼平均形态均与对照组间存在显著差异($P < 0.05$), 并且主要表现为头部、躯干纵轴和尾部发育迟缓。

关键词: 几何形态测量学; Morpho J; TDCIPP; 生长抑制; 鲢仔鱼

中图分类号: Q174

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)05-0819-08



鱼类形态学研究方法可分为传统形态测量学和几何形态测量学^[1,2]。传统形态测量学是针对鱼类外部形态的可数可量性状进行研究, 且局限于鱼体外部形态结构的线性测量, 不能全面而准确地描述鱼体形态^[1]。几何形态测量学是通过坐标法捕捉鱼类形态数据, 并结合多变量统计比较和几何网格图形比较, 可以更精确地解释在分类学和生态学上有意义的形态差异^[2]。同时, 几何形态测量学还可以实现形态数据的可视化, 能形象地展示鱼类形态差异^[3]。在鱼类中, 几何形态测量学不仅应用于外部形态研究, 也被应用于耳石、鳞片和鳍条等组织的形态研究^[4]。近年来, 国内关于几何形态测量学的研究产出快速增长, 主要涉及种群划分、种类鉴定和环境对形态的影响等多个方面^[4]。

鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)是一种江湖洄

游性鱼类, 主要分布在长江中游干流及其附属湖泊^[5]。在长江中游, “江-湖”系统不仅为鲢种群提供了洄游通道, 而且是其完成早期生长的重要栖息地^[6]。然而, 长江中游水域的鲢种群早期资源量与历史相比呈现大幅度的下降趋势, 同时渔获物资源量也逐年降低^[5,6]。鱼类早期生活史阶段不仅是种群数量补充的关键时期, 也是对周围环境最敏感的时期^[7]。历史研究表明, 鲢早期生长发育受到重金属^[8]、气体饱和度^[9]和水温^[10]等多种环境因素的影响。然而, 有机磷阻燃剂等新型污染物对鲢早期生长的影响尚未见报道。Zhao等^[11]研究表明, 有机磷阻燃剂的生物富集效应与营养级呈负相关。鲢是一种滤食性鱼类, 处于较低营养级水平^[12]。因此, 对有机磷阻燃剂对鲢早期生长的潜在风险开展研究很有必要。

收稿日期: 2022-04-18; 修订日期: 2022-07-12

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0900903和2018YFD0900902); 中央高校基本科研业务费专项(2362020-2020jd002); 中国水产科学研究院创新团队项目(2020TD09)资助 [Supported by the National Key R & D Program of China (2018YFD0900903 and 2018YFD0900902); the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2362020-2020jd002); the Innovation Team Project of Chinese Academy of Fishery Sciences (2020TD09)]

作者简介: 杨浩(1994—), 男, 博士研究生; 研究方向为渔业资源与环境保护。E-mail: 1127343150@qq.com

通信作者: 李云, 博士, 教授; E-mail: aquatics@swu.edu.cn

磷酸三(1, 3-二氯-2-丙基)酯(TDCIPP)作为一种常见的有机磷阻燃剂被添加到各种产品中,例如衣服、家具、玩具及智能电子产品等^[13]。然而, TDCIPP是以物理的方式被添加到各类产品中,缺少化学结合的稳定性,很容易释放到周围环境中^[14]。依据环境监测数据, TDCIPP在空气、水环境、沉积物和水生生物中被检测到^[15]。由于环境持久性和生物富集性, TDCIPP对水生生物的毒性效应一直都是生态毒理研究的热点^[16]。斑马鱼的暴露实验结果表明, TDCIPP可以下调鱼类生长调控基因的表达水平,从而抑制鱼类的生长^[17]。此外, Zhu等^[18]结合几何形态测量学方法描述了TDCIPP对雌性斑马鱼外部形态的影响。因此,本研究以期通过几何形态测量学方法描述TDCIPP对鲢仔鱼形态的影响,并结合主成分分析和典型变量分析鲢仔鱼形态的变化趋势,也为后续评估自然环境中TDCIPP的生态风险性提供数据基础。

1 材料与方法

1.1 鲢仔鱼暴露过程与样本获取

实验所需的鲢仔鱼样本采集于石首国家级四大家鱼原种场。在同一批次中,随机选择无畸形、游泳能力强的样本,经氧气袋运回实验室。5日龄鲢仔鱼经过2周的驯养后开始暴露实验。驯养和暴露过程中的养殖参照以下条件:在20 L水体中饲养鲢仔鱼600尾;并使用空调控制温度,保持水温(25.5 ± 0.5)℃;使用自控开关控制光照时间,昼夜时间交替为12h:12h;保持溶氧(7.1 ± 0.4) mg/L、pH(7.3 ± 0.3);每天早、晚各投喂丰年虾1次,并在投喂后0.5h清理饵料残渣;每天更换新的养殖或暴露水体。参照Zhu等^[19]报道的方法暴露28d。TDCIPP(日本化学工业株式会社,日本东京)溶于二甲基亚砜(国药集团化学试剂有限公司,中国上海)作为母液(500 mg/L),然后存储于-20℃冰箱。正式暴露实验时将母液按照一定的比例稀释成实验所设置的

浓度。本研究设置4个环境相关浓度(0.05、0.5、5和50 $\mu\text{g/L}$)和1个对照组,并各实验组均包括3个平行组。在暴露后7d、14d和28d时,分别在每个实验组随机选取仔鱼样本30尾(每个平行组10尾),立即用5%甲醛溶液进行固定并保存。

1.2 体长、体重测量与照片拍摄

经5%甲醛固定后的样本使用与计算机相连接的OLYMPUS SZX16型解剖镜对鲢仔鱼左侧进行拍摄。拍摄时,用镊子和解剖针将鱼的形态还原成自然伸展状态,并通过系统自带的插件测量其体长,精确到0.01 mm。所有样本拍摄均使用相同的放大比例,保证不同样本之间具有相同的比例尺,减少因拍摄所产生的差异性。为降低操作时的偶然误差,对每个浓度群体样本的照片拍摄和后续的数字化工作均分2次在不同时间完成。完成照片拍摄的所有样本用滤纸吸干体表水分,再使用万分电子天平测量其体重,精确到0.1 mg。以上所有操作均由同一实验人员完成,尽量减小人为操作所引起的误差。不同实验组的体长、体重差异性分析(单因素方差分析)及作图由Graph-Pad Prism 9.0软件完成。

1.3 坐标点获取

坐标点在生物学应用上分为3种类型^[4]: I型是指不同组织的交点,可以精确定位,如鱼体和鳍条的交点; II型是指结构中的凹陷或突起点,可以明确辨认,如骨骼的末端或其他结构突出点; III型是指形态结构的极值点,是形态研究中常用的点,但取点时具有一定的主观性,如吻端等。坐标点的选取,要求既能反映研究对象的形态变异,又要保证各样本间坐标点的位置具有同源性。根据以上标准,同时参考鱼类形态上常用的解剖位点和已有的几何形态学研究相关报道^[20],本研究从鲢仔鱼侧面轮廓上选取了13个坐标点(图1),其中3—5、7—10属于I型点坐标点,2、6、11—13属于II型点坐标点,1属于III型点坐标点(表1)。图片文件转



图1 鲢仔鱼的13个坐标点位置

Fig. 1 Positions of 13 landmark of silver carp larvae

换成所对应的TPS文件由TpsUtil软件完成, 坐标点的确定和采集使用TpsDig软件完成。TPS系列软件均为免费可使用软件, 最终的数据文件保存为TPS格式, 以便后续的数据分析。

1.4 几何形态测量分析

经过坐标点的定位与选取后, 本文使用Morpho J软件对所得的鲢仔鱼侧面轮廓的几何形态数据作以下分析^[4]。普氏叠印分析: 基于坐标点的数据矩阵, 对坐标点的位置、尺寸和方向等非形状因素通过一系列函数进行平移、旋转和校正, 保证坐标点的相对位置趋于一致, 从而消除非形状因素对数据的影响, 最后将所有样本的坐标点进行叠合(图 2)。

表 1 坐标点类型与定义

Tab. 1 The landmark type and definition

坐标点类型 Landmark type	定义 Definition
I 型坐标点	
3	背鳍起点 Origin of dorsal fin
4	背鳍基部末端 Posterior end of dorsal fin base
5	尾鳍基部上端 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
II 型坐标点	
2	额骨 Frontal bone
6	尾柄末端 Distal tip of caudal peduncle
11	前鳃盖腹侧起点 Origin of the preopercle on the ventral
12	眼前缘 The anterior margin of the eye
13	眼后缘 The posterior margin of the eye
III 型坐标点	
1	吻端 Tip of snout

此后, 将普氏叠印分析后得到的普氏形状坐标数据进行主成分分析和典型变量分析, 分别用于分析每个个体的几何形态变异和不同实验组群体间的差异。同时计算了两两群体间的马氏距离和普氏距离, 并对其结果进行了基于10000次重复的P值检验。马氏距离和普氏距离均可用于定量分析两群体间的变异大小, 其中马氏距离用来检测样本中某个个体与其他个体形态差异, 即组间形态变异的重叠程度; 普氏距离用来检测群体间平均形态的差异程度, 即各群体间的形态差异。本研究的显著性水平为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 不同浓度鲢仔鱼的体长、体重

与对照组相比, 暴露于不同浓度的TDCIPP后鲢仔鱼死亡率和畸形率均无显著差异, 但体长和体重具有显著变化(图 3)。从体长来看, 0.5、5和50 $\mu\text{g/L}$ 浓度组对应的平均体长分别为 (10.10 ± 1.97) 、 (9.99 ± 2.02) 和 (9.71 ± 1.71) mm, 均与对照组 (11.27 ± 2.78) mm存在显著差异, 但0.05 $\mu\text{g/L}$ 浓度组的平均体长 (10.65 ± 2.60) mm与对照组无显著差异。从体重来看, 0.5、5和50 $\mu\text{g/L}$ 浓度组对应的平均体重分别为 (15.8 ± 13.4) 、 (15.3 ± 15.4) 和 (13.2 ± 11.1) mg, 均与对照组 (27.8 ± 26.4) mg存在显著差异, 但0.05 $\mu\text{g/L}$ 浓度组的平均体重 (21.9 ± 22.2) mg与对照组无显著差异。TDCIPP对鲢仔鱼生长发育的影响表现为抑制效应。

2.2 鲢仔鱼形态的主成分分析

不同暴露浓度的鲢仔鱼形态的主要变异规律见表 2。主成分分析的结果显示, 第一主成分(PC1)和第二主成分(PC2)共占总体变量的62.15%(分别为47.64%和14.51%), 并且前6个主成分(PC)共占叶

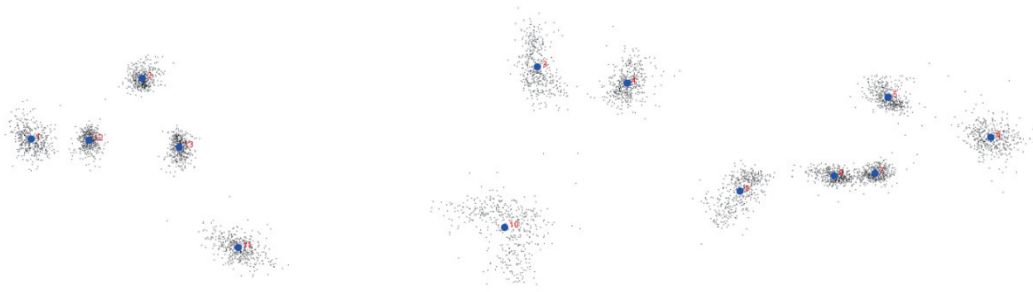


图 2 鲢仔鱼5个实验组坐标点的普氏叠印图

Fig. 2 The Procrustes diagram of five experimental groups of silver carp larvae

实心点表示鲢仔鱼的平均形态

Solid points indicate the average morphology of silver carp larvae

片形态变化的85.13%, 满足用于分析鲢仔鱼形态变异规律的条件。鲢仔鱼形态第一、第二主成分散点图见图4。在PC1轴上, 对照组、0.05、0.5、5和50 $\mu\text{g/L}$ 浓度组的鲢仔鱼形态均值置信椭圆沿着PC1轴正方向依次分布, 但在PC2轴上重叠程度较大, 表明TDCIPP对鲢仔鱼生长抑制性主要体现在PC1轴的性状变化, 且形态差异随着暴露浓度升高而增大。PC1轴网格变形分析的可视化结果见图4A和4B。网格轮廓分析结果显示, TDCIPP对鲢仔鱼形态的抑制性主要体现在头部、躯干纵

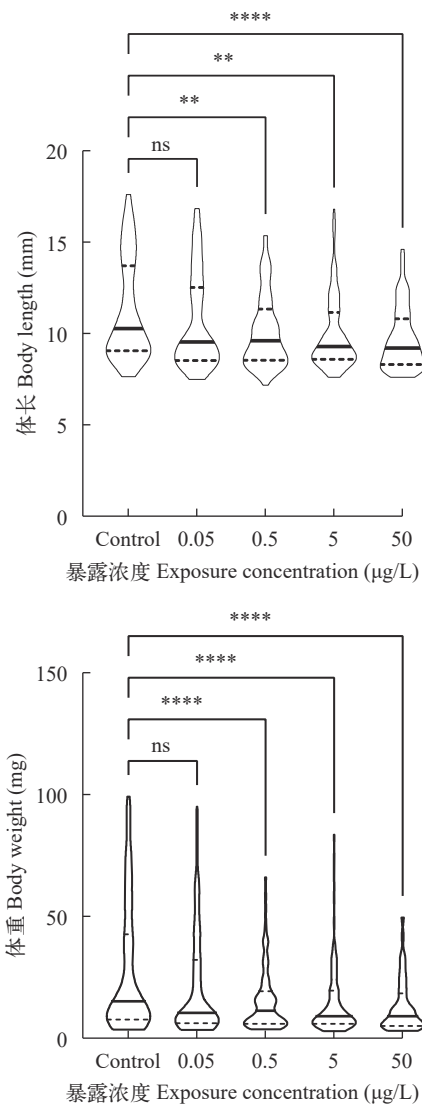


图3 不同实验组鲢仔鱼体长、体重的小提琴图

Fig. 3 Violin plot of body length and body weight of silver carp larvae with different experimental groups

黑色实线代表平均值; 虚线代表四分位数; **表示 $P < 0.01$; ****表示 $P < 0.001$; ns表示 $P > 0.05$

Solid black lines indicate the mean; dotted lines indicate the quartiles; ** indicate $P < 0.01$; **** indicate $P < 0.001$; ns indicate $P > 0.05$

表2 鲢仔鱼形态主成分分析

Tab. 2 Principal component analysis of morphology in silver carp larvae

主成分 Principal component	特征值 Eigenvalue	占总体变异 Variance (%)	累计总体变异 Cumulative variance (%)
PC1	0.00138356	47.64	47.64
PC2	0.00042130	14.51	62.15
PC3	0.00031310	10.78	72.93
PC4	0.00013657	4.70	77.63
PC5	0.00011275	3.88	81.51
PC6	0.00010520	3.62	85.13

轴和尾部。

2.3 鲢仔鱼形态的典型变量分析

不同浓度鲢仔鱼群体之间的差异见表3。鲢仔鱼形态典型变量结果显示, 共提取出4个典型变量, 其中第一典型变量(CV1)和第二典型变量(CV2)共占整体的79.48%(分别为54.55%和24.93%), 满足用于分析各实验组间鲢仔鱼形态差异的条件。鲢仔鱼形态第一、第二典型特征散点图结果见图5。在CV1轴上, 对照组分布于最右侧, 50 $\mu\text{g/L}$ 浓度组分布在最左侧; 在CV2轴上, 0.5 $\mu\text{g/L}$ 浓度组分布在最上方, 50 $\mu\text{g/L}$ 浓度组分布在最下方, 表明不同浓度组鲢仔鱼形态差异不一样。CV1和CV2轴网格轮廓分析见图5A—D。基于网格轮廓图, 在CV1轴上, 鲢仔鱼头部面积和躯干纵轴随着TDCIPP浓度升高而减小; 在CV2轴上, 鲢仔鱼的形态差异主要体现在尾部, 其中低浓度组(0.05和0.5 $\mu\text{g/L}$)表现为尾柄缩短, 高浓度组(5和50 $\mu\text{g/L}$)表现为尾部面积减小。用于分析差异显著性的马氏距离和普氏距离见表4。各浓度组均与对照组距离大小分别为50、0.5、5和0.05 $\mu\text{g/L}$ 浓度组, 且均与对照组之间均存在显著差异($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 坐标点选取

TDCIPP对生物具有多重毒性效应, 其中生长发育毒性是最主要的^[21]。历史研究表明, TDCIPP对水生生物的生长发育毒性表现为生长抑制性^[17, 19]。在本研究中, TDCIPP对鲢仔鱼的生长发育毒性同样是表现为生长抑制性。这种生长抑制性在陆生生物中也有发现^[22]。然而, 这些研究通过体长、体重及生长相关基因表达的变化来证明生长抑制性, 并未考虑到抑制性在外部形态上的表现性状。本研究选择了3种类型共13个常用坐标点来描述TDCIPP对鲢仔鱼外部形态的影响。II型和III型坐标点与I型坐标点的结合使用可以更全面

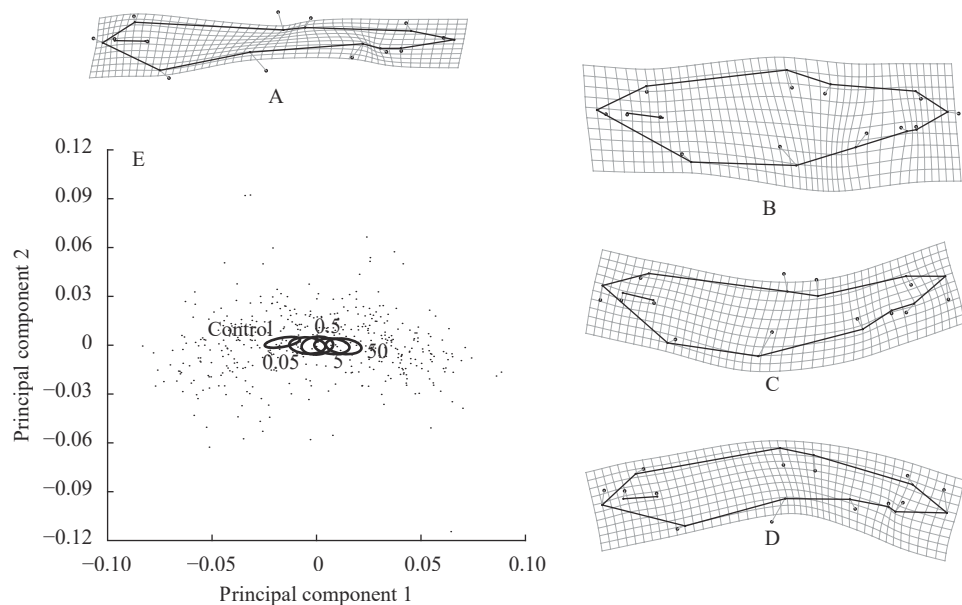


图 4 鲢仔鱼形态第一主成分和第二主成分的散点图及网格轮廓图

Fig. 4 The scatter plots of PC1 and PC2 for morphology and outline variation of silver carp larvae

A和B分别表示PC1轴的值为0.1和-0.1时的鲢仔鱼平均形态; C和D分别表示PC2轴的值为-0.12和0.12时的鲢仔鱼平均形态; E. 圆圈表示不同实验组鲢仔鱼形态均值的95%置信椭圆

Mean shapes of silver carp larvae are shown for scores of 0.1 (A) and -0.1 (B) in PC1. Mean shapes of silver carp larvae are shown for scores of -0.12 (C) and 0.12 (D) in PC2; E. the circle represents 95% confidence ellipses of the mean shapes of silver carp in different experimental groups

表 3 鲢仔鱼形态典型变量分析

Tab. 3 Canonical variate analysis of morphology in silver carp larvae

典型变量 Canonical variate	特征值 Eigenvalue	占总体变异 Variance (%)	累计总体变异 Cumulative variance (%)
CV1	0.40673144	54.55	54.55
CV2	0.18592402	24.93	79.48
CV3	0.08441425	11.32	90.80
CV4	0.06859854	9.20	100.00

而准确地描述TDCIPP对鲢仔鱼生长抑制性在外部形态上的表现性状, 也可更有效地捕捉形态的细微变化^[23]。

3.2 鲢仔鱼形态变异分析

为适应长江流域生态环境的变化, 鲢幼鱼头部、躯干部和尾部的形态特征随着时间推移而发生了适应性变化^[24]。由于遗传信息和发育阶段的不同, 鲢群体间同样会表现出形态特征上的差异性^[25, 26]。然而, 自然水环境中的污染物引起的形态分化并非是水生生物产生适应的结果。斑马鱼作为一种模式生物, 常被用于评价环境污染物的发育毒性及其机制研究。Zhu等^[18]的研究结果表明, TDCIPP暴露后的斑马鱼外部形态特征发生了显著变化。Rhyu等^[27]的研究结果表明, TDCIPP可引起斑马鱼尾鳍的早期发育延迟, 同时还对肌肉和血管

的发育造成影响。在本研究中, TDCIPP同样引起了鲢仔鱼发育的延迟, 且主要体现在头部、躯干纵轴和尾鳍的性状上。这种生长延迟现象出现的原因可能是TDCIPP引起了骨骼、肌肉和生长相关基因的异常表达^[18, 27]。

3.3 鲢仔鱼形态变异的生态效应

鱼类早期的生长发育受周围环境影响较大, 具有较高的可塑性^[28]。当受到环境胁迫时, 鱼类会被迫对环境产生响应, 即使这些响应会对其产生不利影响^[29]。例如, 重金属可以造成鲢仔鱼胚胎、仔鱼的畸形^[8]。鱼类头部分布有辨别和捕获饵料的结构, 其发育延迟会导致生物体的饵料获得能力降低^[30, 31]。尾鳍是鱼类动力来源, 其面积与机体游泳能力呈正相关^[32]。在鱼类早期生活史阶段, 体型越大的仔鱼被捕食的机率越小, 其存活概率越大^[33]。在本研究中, TDCIPP会导致鲢仔鱼头部、躯干纵轴和尾部的发育延迟, 这最终会导致鲢仔鱼的摄食、游泳能力降低, 影响其生长, 甚至会增加被捕食的可能性。长江流域为鲢种群提供了繁殖和早期生长的场所, 但同时也在长江重庆段水环境中检测到TDCIPP浓度为0.33—2.69 ng/L^[34]。因此, 应当注重长江流域中TDCIPP的环境数据监测, 并评估TDCIPP对鲢种群资源量补充的生态风险。

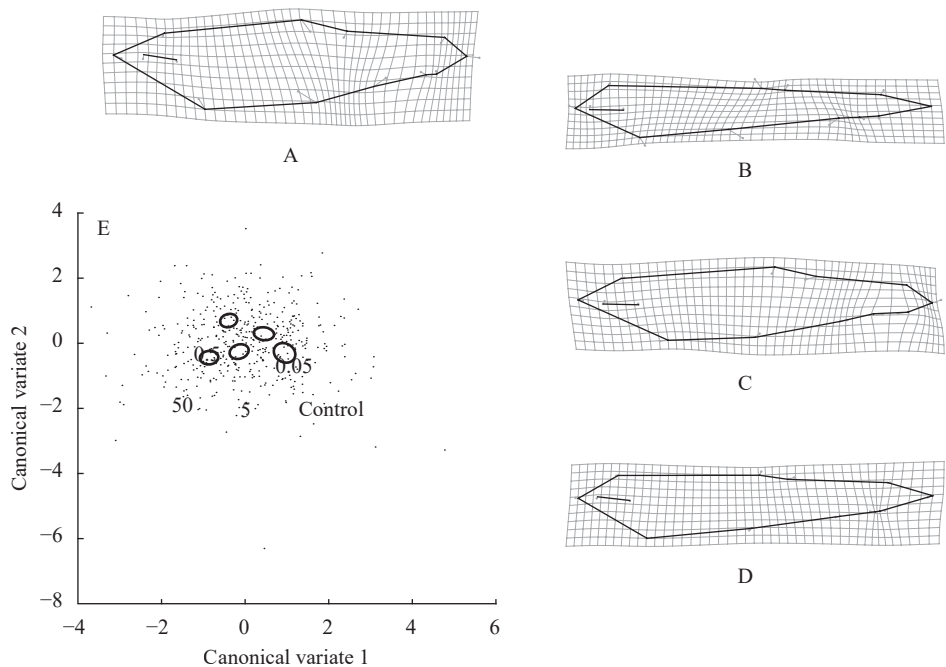


图 5 鲢仔鱼形态第一典型变量和第二典型变量的散点图及网格轮廓图

Fig. 5 The scatter plots of CV1 and CV2 for morphology and outline variation of silver carp larvae

A和B分别表示CV1轴的值为5.0和-4.0时的鲢仔鱼平均形态; C和D分别表示CV2轴的值为-7.0和4.0时的鲢仔鱼平均形态; E. 圆圈表示不同实验组鲢仔鱼形态均值的95%置信椭圆

Mean shapes of silver carp larvae are shown for scores of 5.0 (A) and -4.0 (B) in CV1. Mean shapes of silver carp larvae are shown for scores of -7.0 (C) and 4.0 (D) in CV2; E. the circle represents 95% confidence ellipses of the mean shapes of silver carp in different experimental groups

表 4 不同实验组鲢仔鱼13个坐标点矩阵基于典型变量分析计算的马氏距离和普氏距离

Tab. 4 Mahalanobis and Procrustes distance computed from a canonical variates analysis of a matrix of 13 landmark of silver carp larvae

	对照组 Control	0.05 µg/L	0.5 µg/L	5 µg/L	50 µg/L
马氏距离Mahalanobis distance					
对照组Control		0.0004	<0.0001	<0.0001	<0.0001
0.05 µg/L	1.0538		<0.0001	<0.0001	<0.0001
0.5 µg/L	1.6705	1.1827		<0.0001	<0.0001
5 µg/L	1.3086	1.1278	1.1546		
50 µg/L	1.8497	1.5651	1.3084	1.1161	
普氏距离Procrustes distance					
对照组Control		0.0299	<0.0001	0.0008	<0.0001
0.05 µg/L	0.0138		0.0269	0.4196	0.0006
0.5 µg/L	0.0262	0.0137		0.0990	0.0385
5 µg/L	0.0187	0.0076	0.0107		0.0036
50 µg/L	0.0322	0.0205	0.0132	0.0169	

注: 上三角表示P值, 下三角表示不同群体间的距离; 种群间距离显著性的P值是通过排列试验(10000个重复)计算出来的

Note: Upper triangle are P-values, lower triangle are distances between populations; P-values for the significance of the interpopulation distances were computed using permutation tests (10000 replications)

参考文献:

[1] Song W, Wang Y Z, Zhu D M, et al. Morphological varia-

tions among the genus *Megalobrama* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2013, **43**(3): 21-27. [宋文, 王艺舟, 祝东梅, 等. 鲴属鱼类形态差异分析 [J]. *淡水渔业*, 2013, **43**(3): 21-27.]

[2] Wang H, Tang Y T, Li G G, et al. Geometric morphometrics of the cephalic contour and its morphological variations among *Schizopygopsis stoliczkai* (Teleostei: Cyprinidae) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, **41**(1): 182-193. [王贺崑元, 汤永涛, 李国刚, 等. 高原裸裂尻鱼头部轮廓形状及其变异的几何形态测量分析 [J]. *水生生物学报*, 2017, **41**(1): 182-193.]

[3] Lin Y F, Kuang T X, Hou L, et al. Geometric morphometrics analysis on *Hemiculter leucisculus* and *Pseudohemiculter dispar* in the Pearl River Basin [J]. *Freshwater Fisheries*, 2020, **50**(6): 23-29. [林仪菲, 匡天旭, 侯琅, 等. 珠江流域(少叉鱼)和南方拟(少叉鱼)的几何形态分析 [J]. *淡水渔业*, 2020, **50**(6): 23-29.]

[4] Chen X J, Fang Z, Su H, et al. Review and application of geometric morphometrics in aquatic animals [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, **37**(12): 1873-1885. [陈新军, 方舟, 苏杭, 等. 几何形态测量学在水生动物中的应用及其进展 [J]. *水产学报*, 2013, **37**(12): 1873-1885.]

[5] Meng Q, Gao L, Wang D Q, et al. The early-stage fish resources and effects of ecological regulation on fish reproduction at the Jianli section of the Yangtze River [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, **27**(7): 824-833. [孟秋, 高雷, 汪登强, 等. 长江中游监利江段鱼类早

- 期资源及生态调度对鱼类繁殖的影响 [J]. 中国水产科学, 2020, 27(7): 824-833.]
- [6] Dong C Y, Li J Y, Zhang H, *et al.* Estimation of fish resources in middle reaches of Yangtze River [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2021, 56(1): 73-79. [董春燕, 李君轶, 张辉, 等. 长江中游鱼类资源量的估算 [J]. 动物学杂志, 2021, 56(1): 73-79.]
- [7] Le Bihanic F, Clérandeau C, Cormier B, *et al.* Organic contaminants sorbed to microplastics affect marine medaka fish early life stages development [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020(154): 111059.
- [8] Xu E X. Study of acute toxic effect of Zn, Hg and Cr on *Siniperca chuatsi* and *Hypophthalmichthys molitrix* embryos [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2013: 19-30. [许二学. 锌、汞、铬对鳊、鲢胚胎急性毒性效应研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013: 19-30.]
- [9] Wu F, Du K K, Liu L, *et al.* Effects of gas supersaturation on eggs, larvae and juveniles of *Ctenopharyngodon idella* and *Hypophthalmichthys molitrix* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2020, 50(4): 91-98. [吴凡, 杜开开, 柳凌, 等. 气体过饱和对草鱼和鲢受精卵、仔鱼和幼鱼的影响 [J]. 淡水渔业, 2020, 50(4): 91-98.]
- [10] Tang L J, Zhang X F, Zhang T L, *et al.* Effects of water temperature on early development of silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2011, 33(1): 92-96. [唐丽君, 张筱帆, 张堂林, 等. 水温对鲢早期发育的影响 [J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(1): 92-96.]
- [11] Zhao H, Zhao F, Liu J, *et al.* Trophic transfer of organophosphorus flame retardants in a lake food web [J]. *Environmental Pollution*, 2018(242): 1887-1893.
- [12] Ba J W, Deng H T, Duan X B, *et al.* Trophic level analysis on main fish species in the middle reaches of Yangtze River by $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2015, 50(4): 537-546. [巴家文, 邓华堂, 段辛斌, 等. 应用稳定性同位素($\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$)技术研究长江中游干流主要鱼类的营养级 [J]. 动物学杂志, 2015, 50(4): 537-546.]
- [13] De Boer J, Stapleton H M. Toward fire safety without chemical risk [J]. *Science*, 2019, 364(6437): 231-232.
- [14] Wang C, Chen H, Li H, *et al.* Review of emerging contaminant tris(1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate: environmental occurrence, exposure, and risks to organisms and human health [J]. *Environment International*, 2020(143): 105946.
- [15] Van Der Veen I, De Boer J. Phosphorus flame retardants: properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis [J]. *Chemosphere*, 2012, 88(10): 1119-1153.
- [16] Robinson S A, Young S D, Brinovcar C, *et al.* Ecotoxicity assessment and bioconcentration of a highly brominated organophosphate ester flame retardant in two amphibian species [J]. *Chemosphere*, 2020(260): 127631.
- [17] Zhang Y, Yi X E, Huang K, *et al.* Tris(1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate reduces growth hormone expression via binding to growth hormone releasing hormone receptors and inhibits the growth of crucian carp [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(12): 8108-8118.
- [18] Zhu Y, Lin D, Yang D, *et al.* Environmentally relevant concentrations of the flame retardant tris(1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate change morphology of female zebrafish [J]. *Chemosphere*, 2018(212): 358-364.
- [19] Zhu Y, Su G, Yang D, *et al.* Time-dependent inhibitory effects of Tris(1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate on growth and transcription of genes involved in the GH/IGF axis, but not the HPT axis, in female zebrafish [J]. *Environmental Pollution*, 2017(229): 470-478.
- [20] Zhang X X, Zhu Q Y, Zhao J. Geometric morphometrics analysis of body-form variability in populations of *Tanichthys albonubes* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(9): 1365-1373. [张秀霞, 朱巧莹, 赵俊. 利用几何形态测量学方法分析唐鱼群体的形态变异 [J]. 水产学报, 2017, 41(9): 1365-1373.]
- [21] Li H, Yuan S, Su G, *et al.* Whole-life-stage characterization in the basic biology of *Daphnia magna* and effects of TDCIPP on growth, reproduction, survival, and transcription of genes [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(23): 13967-13975.
- [22] Zhu Y, Zhang J, Liu Y, *et al.* Environmentally relevant concentrations of the flame retardant tris(1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate inhibit the growth and reproduction of earthworms in soil [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2019, 6(5): 277-282.
- [23] Wang C, Fang Z, Chen X J. Beak morphology variation of *Uroteuthis edulis* based on geometric morphometrics [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2021(42): 1-13. [王超, 方舟, 陈新军. 基于几何形态测量法的剑尖枪乌贼角质颌形态变化研究 [J]. 渔业科学进展, 2021(42): 1-13.]
- [24] Yu H X, Tang W Q, Li S F. Morphological changes of silver and bighead carp in the Yangtze River over the past 50 years [J]. *Zoological Research*, 2010, 31(6): 651-656.
- [25] Liang H W, Li Z, Luo X Z, *et al.* Morphological differences and discriminant analysis between Changfeng and Yangtze River silver carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(5): 1059-1064. [梁宏伟, 李忠, 罗相忠, 等. 长丰鲢与长江鲢形态差异与判别分析 [J]. 水生生物学报, 2015, 39(5): 1059-1064.]
- [26] Wu X Y, Liang H W, Luo X Z, *et al.* Effects of morphological traits on body mass of Changfeng silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) at different ages [J]. *South China Fisheries Science*, 2021, 17(3): 62-69. [吴新燕, 梁宏伟, 罗相忠, 等. 不同月龄长丰鲢形态性状对体质量的影响 [J]. 南方水产科学, 2021, 17(3): 62-69.]
- [27] Rhyu D, Lee H, Tanguay R L, *et al.* Tris(1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCIPP) disrupts zebrafish tail fin development [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019(182): 109449.

- [28] Vagner M, Zambonino-Infante J L, Mazurais D. Fish facing global change: are early stages the lifeline [J]? *Marine Environmental Research*, 2019(147): 159-178.
- [29] Weiner J. Allocation, plasticity and allometry in plants [J]. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2004, 6(4): 207-215.
- [30] Wang X A, Ma A J. The progress of studies on the relationship between feeding behavior and chemical or mechanical sense in fish [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2007(6): 104-108. [王新安, 马爱军. 化学感觉和机械感觉与鱼类摄食行为关系的研究进展 [J]. 海洋水产研究, 2007(6): 107-108.]
- [31] Ramler D, Palandačić A, Delmastro G B, *et al.* Morphological divergence of lake and stream *Phoxinus* of Northern Italy and the Danube basin based on geometric morphometric analysis [J]. *Ecology and Evolution*, 2017, 7(2): 572-584.
- [32] Svozil D P, Baumgartner L J, Fulton C J, *et al.* Morphological predictors of swimming speed performance in river and reservoir populations of Australian smelt *Retropinna semoni* [J]. *Journal of Fish Biology*, 2020, 97(6): 1632-1643.
- [33] Islam M D S, Ueno M, Yamashita Y. Growth-dependent survival mechanisms during the early life of a temperate seabass (*Lateolabrax japonicus*): field test of the “growth–mortality” hypothesis [J]. *Fisheries Oceanography*, 2010, 19(3): 230-242.
- [34] He M J, Lu J F, Wei S Q. Organophosphate esters in biota, water, and air from an agricultural area of Chongqing, Western China: concentrations, composition profiles, partition and human exposure [J]. *Environmental Pollution*, 2019(244): 388-397.

GEOMETRIC MORPHOMETRIC ANALYSIS OF SILVER CARP LARVAE AFTER EXPOSURE TO TDCIPP

YANG Hao^{1,2}, PU Yan^{2,3}, GAO Lei², DUAN Xin-Bin², LIU Shao-Ping², CHEN Da-Qing² and LI Yun¹

(1. Fisheries and Aquaculture Biotechnology Laboratory, College of Fisheries, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Wuhan 430223, China; 3. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development (Ministry of Education), School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCIPP), widely used as a kind of organophosphorus flame retardant, has been detected in the Yangtze River water environments. Many toxicological assessments have shown that TDCIPP could change morphology of fish. Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) lives in the Yangtze River for its entire life story, however, the effects of TDCIPP on silver carp is unclear. In order to clarify the main morphological characters of growth inhibition of silver carp larvae caused by TDCIPP, the present study analyzed the morphological traits between four environmentally relevant concentrations (0.05, 0.5, 5 and 50 µg/L) and the control group by geometric morphometric analysis. After the image information of larvae simple was obtained, the body length and body weight were measured. Then, digitization of landmarks was carried out with the TPS series software. Finally, principal component analysis (PCA), canonical variates analysis (CVA) and results visualization were carried out with Morpho J software. The body length and body weight of silver carp larvae decreased significantly under exposure to 0.5, 5 and 50 µg/L of TDCIPP compared with the control group, but no effects were observed in 0.05 µg/L. This indicated that environmentally relevant concentrations of TDCIPP induced growth inhibition in silver carp larvae. The results of PCA and CVA indicated that the first principal component (PC1) and the second principal component (PC2) together accounted for 62.15% of the overall variables (47.36% and 14.51%, respectively). The first canonical variates (CV1) and the second canonical variates (CV2) together accounted for 79.48% (54.55% and 24.93%, respectively), which satisfied the requirement of morphological analysis of silver carp larvae. The results of grid profile analysis indicated that the average morphology of silver carp larvae in different concentrations was significantly different with the control group ($P < 0.05$), which identified by the growth retardation of the head, longitudinal axis of body and tail. As a conclusion, TDCIPP could induce the growth retardation of head, longitudinal axis of body and tail in silver carp larvae. Therefore, attentions should be paid to the environmental concentrations of TDCIPP in the Yangtze River Basin, and the ecological risk of TDCIPP to the replenishment of silver carp population resources should be assessed.

Key words: Geometric morphometric analysis; Morpho J; TDCIPP; Growth inhibition; Silver carp larvae