

轮廓形态测量法在生物分类应用中的研究进展*

闻 慧** 王心丽***

(中国农业大学农业与生物技术学院昆虫学系 北京 100193)

摘 要 本文阐述了形态测量学中一类重要的研究方法——轮廓形态测量法的基本概念和发展,总结了轮廓形态测量法在生物分类学研究中的应用,将轮廓形态测量法与另一类重要的形态测量学方法——标点法进行了比较,分析了这两类方法各自的优势和局限性,展望了轮廓形态测量法在昆虫分类学研究中的应用前景。

关键词 形态测量学, 轮廓法, 生物分类

Advances in the application of outline methods in biological taxonomy

WEN Hui** WANG Xin-Li***

(Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract The development of outline methods, an important approach in morphometrics, is described and the applications of outline methods in biological taxonomy summarized. The advantages and limitations of outline methods are analyzed by comparing them to the landmark method, which is an alternative approach in morphometrics. The prospective application of outline methods in insect taxonomy is discussed.

Key words morphometrics, outline methods, biological taxonomy

1 引言

形态分析是生物多样性及其系统分类研究的重要内容。20 世纪早期,随着统计学的发展,人们可以对很复杂的数据进行分析,这为生物形态学研究从描述和定性分析逐渐向量化过渡创造了客观条件(Adams *et al.*, 2004)。20 世纪 60 年代人们用数学的方法来描述形状,产生了形态测量学。形态测量学(morphometrics)是对形态及形态变异的定量描述、分析及解释的科学(Rohlf, 1990a)。形态测量学方法的出现为生物分类及系统发育学研究提供了有力的工具,使我们能够从数量上总结形态数据,用多变量统计方法研究多维关系,这是目前其它传统分类方法所无法达到的(Rohlf and Slice, 1990)。

20 世纪 60 至 70 年代,生物统计学家使用多元统计学工具描述种内和种间的形态变异的方法

被称为传统的形态测量法(Marcus, 1990; Reyment, 1991)或多元变量形态测量法(Blackith and Reyment, 1971)。这类方法是多变量统计分析在形态变量数值化中的应用,如测量线性距离、比率、角度等。20 世纪 90 年代,由于形态结构数值化以及数据分析技术取得了重要突破,形态测量学方法得到了长足发展,能够数值化描述和研究的形态特征远远超过了一般性的形态测量,这种发展被称为形态测量学的革命(Rohlf and Marcus, 1993),这门日臻完善和成熟的学科被称为“几何形态测量学”(geometric morphometrics)。该类方法强调捕捉感兴趣的几何形态结构,通过一定规则测量其结构,将其转换成数字信息,并对这些信息进行统计分析。

几何形态测量学主要包括两种类型的方法,一种是基于地标点数据的几何形态测量法,以下简称“标点法(landmark methods)”;另一种是基于

* 资助项目:2012 中国农业大学基本科研业务费专项基金(2012JD001);中国高校科研基金(2012QT001, 2012YJ005)。

**E-mail: wenhui1999108@126.com

***通讯作者, E-mail: wangxl@cau.edu.cn

收稿日期:2012-01-17, 接受日期:2012-02-20

轮廓数据的几何形态测量法,以下简称“轮廓法(outline methods)”。标点法是在生物结构中选取明显且易辨认的点,即地标点,通过分析这些地标点来反映不同样本中结构的差异。这种方法可以将不同个体形状上地标点的差异转化为相应的数学函数。研究通常所选取的地标点一般是位于组织结构的尖角、延长部分尖端的点或一些可以被看作是点的很小的构造(Bookstein, 1985, 1991)。相对于标点法而言,轮廓法关注的是整个生物体外形轮廓的比较及描述,通常以一定的顺序沿物体的轮廓选取坐标点,并将这些坐标点作为数据资料进行分析(Straney, 1990)。这种方法一般是用数学函数(例如傅立叶函数)逼近的方式将轮廓数值化,然后取其函数中的系数作为代表外形轮廓的特征值,进行统计分析。

本文主要介绍轮廓法的演化发展及其在生物分类中的应用,并通过对几何形态测量学中两类方法——标点法和轮廓法的比较,进一步探讨轮廓法在昆虫分类与系统发育学研究中的应用前景。

2 轮廓法的演化发展

轮廓法是以物体的外形轮廓为研究对象,采用一系列的数学函数逼近轮廓形态,并用相关的参数作为描述外形轮廓的变量进行统计分析的一类方法。作为研究对象的轮廓是利用数学曲线来代表物体物理边界的图像,轮廓包括闭合曲线和开放曲线。在生物学领域中,多数研究涉及的是闭合曲线的轮廓。轮廓的形状信息通常用物体轮廓上的点 $P(x, y)$ 坐标或以更简洁的链码(chain code)表示(White and Prentice, 1988)。

对闭合曲线轮廓的数学描述主要有以下 4 种方法:傅立叶分析法、经验正交函数分析法、中轴骨架法和滑动半标点法。其中傅立叶分析法又可分为:极半径傅立叶分析法、切线角傅立叶分析法和椭圆傅立叶分析法。

2.1 傅立叶分析法(Fourier analysis)

傅立叶是 18—19 世纪法国伟大的数学家,他的主要贡献是在研究热的传播时创立了一套数学理论。他认为任一函数都可以展开成三角函数的无穷级数。傅立叶级数(即三角级数)、傅立叶分析等理论均由此创始。傅立叶变换的基本思想首

先由傅立叶提出,从现代数学的眼光来看,傅立叶变换是一种特殊的积分变换。它能够将满足一定条件的某个函数表示成正弦基函数的线性组合或者积分,属于谐波分析。在不同的研究领域,傅立叶变换具有多种不同的变体形式,如连续傅立叶变换和离散傅立叶变换(Lin and Segel, 1988)。

极半径傅立叶分析法 Bennet 和 McDonald (1975)用极半径函数来描述简单的封闭曲线。这种方法是将轮廓上点坐标转化成极坐标,以原点到物体轮廓上点坐标的距离形成的极半径函数来描述物体的二维形态轮廓,然后对极半径函数进行傅立叶转化,运用生成的傅立叶系数进行统计分析。原点可以是形态结构中的质心点(centroid),或位于形态结构中心位置的一个地标点。1984 年 Rohlf 和 Archie 对蚊科翅形轮廓的量化描述尝试了这种方法的应用(图 1:A, B, C)。

切线角傅立叶分析法 这种方法是 Zahn 和 Roskies (1972)提出的,此法根据物体轮廓点的切线角度的累积变化与弧长比形成的函数来描述二维图像的外形,如(图 1:D)。该函数经过傅立叶转换,便可进行统计分析。这种方法可以描述较为复杂的物体轮廓,如枫树的叶片等,但该方法与上述极半径函数傅立叶分析法一样对噪声异常敏感(Persoon and Fu, 1977)。

椭圆傅立叶分析法 由 Kuhl 和 Giardina (1982)提出的椭圆傅立叶分析法(elliptical Fourier analysis, EFA)是迄今为止在动植物分类及系统发育研究方面运用最为有效和广泛的一类轮廓法。它通过对轮廓上点坐标 (x, y) 一阶差分(即离散函数中连续相邻两项之差)的傅立叶分解作为弧长函数来描述物体轮廓(Rohlf, 1986),然后利用转换生成的傅立叶系数作为形状特征变量进行统计分析。这种方法是建立在用链码(Freeman, 1961)表示物体轮廓的基础上,通过谐波调节和一系列椭圆逼近物体外形轮廓,它能够极大程度与研究物体的轮廓拟合,算法也更简便(Kuhl and Giardina, 1982)(图 2)。椭圆傅立叶分析法可以描述和分析一些复杂的物体轮廓(Ferson *et al.*, 1985)。

2.2 经验正交函数分析法(eigenshape analysis)

为了描述微化石的形状,测量和分析微化石的形状差异,Lohmann (1983)提出了一种新的描述分析物体形状的方法,这种方法通过特征函数或

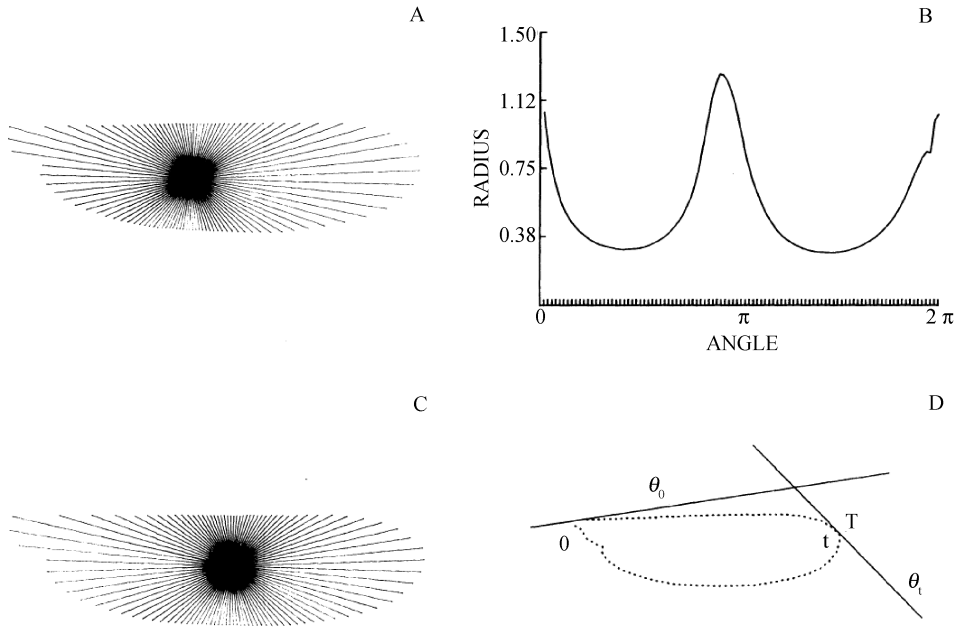


图 1 以蚊科昆虫翅形为例的轮廓傅立叶分析法示意图(仿 Rohlf 和 Archie,1984)

Fig. 1 Illustration of Fourier analysis for outlines based on Culicidae wings (from Rohlf and Archie,1984)

A. 表示以翅形中心的地标点为原点形成的极坐标; B. 根据图 A 数据形成的半径与角度的关系图。横坐标表示角度(将 360°等分为 100 份),纵坐标表示半径的变化;C. 表示以质心(重心)为原点形成的极坐标;D. 表示切线向量角与翅轮廓上弧长的关系, θ_0 是轮廓曲线上切点(O)的切线角, θ_t 是轮廓曲线上切点 T 的切线角, t 是 0 和 T 之间的弧长。

A. polar coordinates relative to landmark which locates at central of the wing; B. the relationship between the radius and angle based on the data from Fig. A. The X-axis represents angles (360° is divided equally into 100 parts), the Y-axis represents the variation of radius; C. polar coordinates relative to the centroid of the wing; D. the relationship between the angle of a tangent vector and the arc length of the wing outline, θ_0 is the angle of a tangent at the point (O) of outline curve, θ_t is the angle of a tangent at point T of the outline curve, t is the arc length from point 0 to point T.

由形状相关矩阵的主成份分析推导出的经验正交函数来描述物体外形轮廓,并直接利用切线斜率作为特征变量进行后续分析。这种方法的英文名称是 eigenshape analysis,由于完全按字面直译不能反映出这种方法的特点,因此,本文根据这种方法的基本原理将其翻译为经验正交函数分析法。

2.3 中轴骨架法(median axis method)

也称中轴变换法(median axis transformation),最早由 Blum(1967)提出。该方法利用骨架表示原始图像,可以在保持图像重要拓扑特征的前提下,减少图像中的冗余信息。骨架变换就是把图像中具有面积或一定体积的区域(即物体)变换成一条或一组曲线。从广义角度来说,骨架变换就是对区域进行中轴变换,或提取区域的中轴线。骨架或中轴线既能压缩图像数据,保留区域

的连通性和拓扑性,描述区域轮廓的几何特征,又能使原始图像完全或部分地从骨架中恢复或重构。因此被广泛应用于生物形状描述、模式识别、视觉检测以及图像压缩编码等领域。用骨架描述图像主要有两种方法:

草地焚烧法(图 3:A) 中轴变换或焚烧草地技术,其原理是:假设在 $c = 0$ 时刻,将图像边界上所有点同时点燃。火焰以相同速度向图像内部蔓延,当相对蔓延的火焰相遇时,火焰熄灭,火焰熄灭处所有点的集合就构成了中轴(即骨架)。如果 x 为中轴上的点, t 为火焰从点燃到在 x 点处熄灭所经历的时间,则 t 与 x 之间的关系,可用函数 $\text{mid}(x)$ 表示,即 $t = \text{mid}(x)$ 。函数 $\text{mid}(x)$ 称为中轴函数,可以用于图像重建。

最大圆盘法(图 3:B) 设 D 为图像 S 中的一

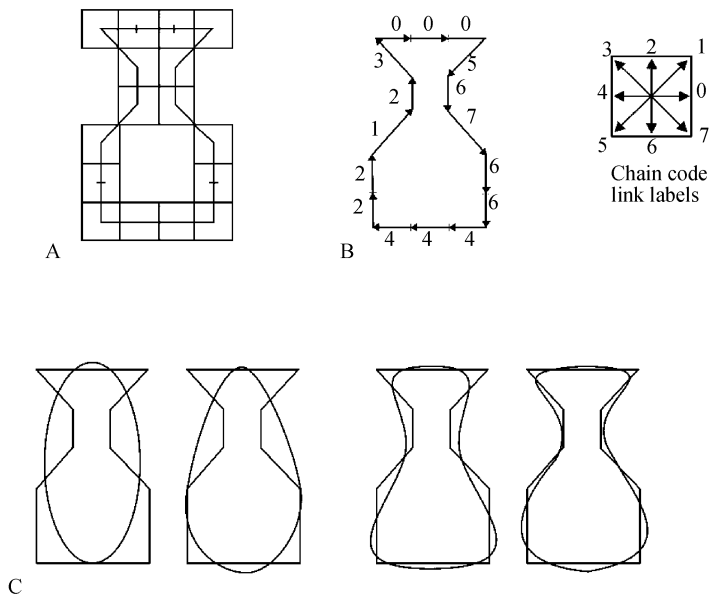


图 2 椭圆傅立叶分析法示意图(仿 Kuhl 和 Giardina,1982)

Fig.2 Illustration of the elliptic Fourier analysis (from Kuhl and Giardina,1982)

A. 表示图形区域分割;B. 表示轮廓图形的链码 (轮廓 V = 0005676644422123) ;

C. 表示不同谐波调节下的链码图形。

A. area-quantized image; B. chain code of outline image (V = 0005676644422123) ;

C. outline images of the chain code from different harmonic.

个内切圆盘,即至少有两点与图像边界相切,如果 D 不是图像 S 内部任何其它圆盘的子集,则称为最大圆盘。此时,骨架可定义为图像内部所有最大圆盘圆心的集合。最大圆盘的半径可用于图像的重建。

用骨架法得到的骨架来描述物体形状,比较直观,但缺陷是该方法对噪声比较敏感,边界小的扰动会引起骨架结构的较大变化。为解决噪声问题,Blum(1973)及 Blum 和 Nagel(1978)又提出了一种改进的中轴变换法,增强了算法的抗噪声能

力。

2.4 滑动半标点法 (sliding semilandmarks)

20 世纪 90 年代早期,几何形态测量方法得到广泛认可,生物学家在不断熟练使用的基础上将轮廓法逐渐应用到众多领域 (Adams *et al.* , 2004)。随着对几何形态测量方法的深入理解,新的轮廓法也在不断涌现。Bookstien(1997)提出了滑动半标点法 (sliding semilandmarks)。其原理是:在研究对象具有少量同源点 (即地标点)的情

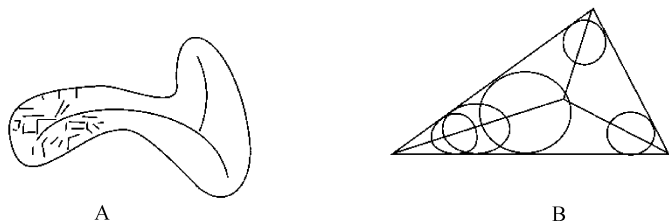


图 3 骨架定义示意图(仿 Blum 和 Nagel,1978)

Fig.3 Illustration of the median axis (from Blum and Nagel,1978)

A. 表示焚烧草地法技术形成的中轴骨架;B. 表示最大圆盘法形成的骨架。

A. the median axis by Grass fire; B. the median axis by Maximal disks.

况下,将物体轮廓数字化为一系列离散点的坐标。当单个离散点沿曲线的切线方向滑动,在满足一定原则(最小扭曲能或最小普氏距离)的条件下,该点与物体轮廓形状上相对的点最吻合时,被定为半标点(图 4)。之后的多元统计分析和形状可视化主要是根据这些地标点和半标点的坐标数据运用标点法中的普氏分析(Procrustes analysis)和薄板样条分析(thin-plate spline)来完成。

这种方法既运用了物体形状的轮廓信息,结合了标点法的分析方法,同时又弥补了其他轮廓法无法进行同源点比较的不足,使得对物体形状的描述更加详细。

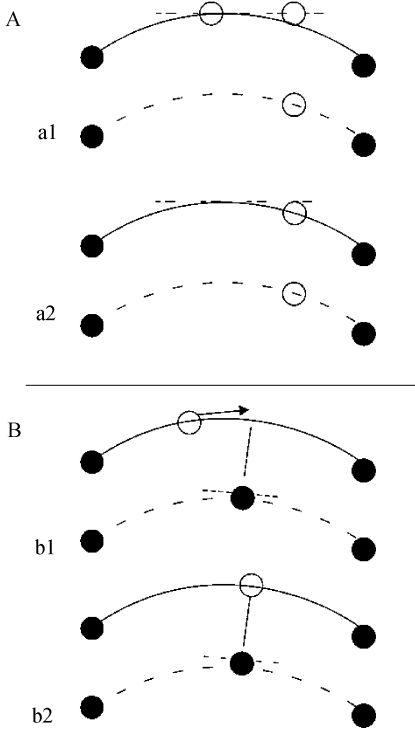


图 4 表示滑动半标点法选取的半标点(仿 Perez 等,2006)

Fig. 4 Illustration semi-landmark chosen based on sliding semilandmark method (from Perez *et al.*, 2006)

- A. 根据最小扭曲能量原则选取轮廓曲线上的半标点;
B. 根据最小普氏距离原则选取轮廓曲线上的半标点。

A. selecting a semi-landmark at the outline curve based on minimum bending energy criterion; B. selecting a semi-landmark at the outline curve based on minimum procrustes distance criterion.

以上的这些方法在生物学的形态轮廓研究中都有过应用,其中经验正交函数分析法与傅立叶分析法在算法上具有相似性(Rohlf,1986),但经验正交函数分析法操作过程比较繁琐,且多用于分析简单的封闭曲线轮廓(Kores *et al.*, 1993)。椭圆傅立叶法、中轴骨架法以及滑动半标点法可以用于较为复杂轮廓的差异比较和分析研究,它们在算法和特征值的选择上有所不同。椭圆傅立叶分析法由于算法简便,而且当选择适当的谐波时,椭圆傅立叶描述子(elliptic Fourier descriptors)能极大地逼近任意一个闭合曲线(Rohlf and Archie, 1984),加之近年来根据该方法开发出的免费分析软件(Iwata and Ukai, 2002)的推广,使得椭圆傅立叶分析法在生物学的研究领域得到越来越广泛的应用。

3 轮廓法在生物系统分类研究中的应用

20 世纪 80 年代起,就已经有一些学者开始在生物学方面应用轮廓法来描述分析植物(White and Prentice, 1988; McLellan, 1993; Furuta *et al.*, 1995; Iwata *et al.*, 1998, 2000; Iwata and Ukai, 2002; Yoshioka *et al.*, 2004)、动物(Daegling and Jungers, 2000; Loy *et al.*, 2000; Monti *et al.*, 2001; Bertin *et al.*, 2002; Dommergues *et al.*, 2003; Christensen, 2004; Kamilari and Sfenthourakis, 2009)以及化石(Lohmann, 1983; James, 1995)等。为研究物种界定(species delimitation)、系统分类与演化以及生物地理分布和多样性提供了客观、直观的科学理论依据。

1984 年美国科学家 Rohlf 和 Archie 利用几种傅立叶分析法来逼近 127 种蚊科昆虫的翅形轮廓,通过比较这几种傅立叶分析法,发现椭圆傅立叶分析法能够很好地逼近这些蚊类的翅形轮廓,而且在结合多元统计分析的基础上,能够较为准确详细地将这 127 种蚊科昆虫的翅形进行量化描述和区分。尽管该研究中的聚类分析结果与传统的蚊科分类不是十分吻合,但是这些翅形之间的差异还是提供了非常有价值的分类信息。

1997 年 Mehlhop 和 Cifelli 利用椭圆傅立叶分析法(EFA)对来自珠蚌科 Unionidae 的两种同域的相似淡水贝类外壳的轮廓进行了测量和分析,

发现当很少同源点可以被用来测量时,椭圆傅立叶分析能够有效的将来自外壳轮廓的形态信息获取并进行分析,为近似种间的鉴定提供了有力的工具。

2005 年 Stransky 运用 EFA 对 *Sebastes mentella* Travin, 1951 和 *S. marinus* (Linnaeus, 1758) 两种北大西洋红鱼 (North Atlantic redfish) 的耳石轮廓进行了量化描述分析,找到了两种鱼之间明显的差异,为北大西洋红鱼的地理变异研究提供了量化数据。

2006 年 Ponton 运用 EFA、FFT(快速傅立叶转化)以及标点法对 4 种热带鱼 *Encrasicholina devisi* (Whitley, 1940), *E. heteroloba* (Rüppell, 1837), *E. cf. punctifer* (Fowler, 1938), *Stolephorus indicus* (van Hasselt, 1823) 的耳石轮廓进行了描述比较分析,说明几何形态学方法在描述及可视化方面具有一定的优势。

2009 年 Taravati 等人运用 EFA 的方法对鞘翅目拟步甲科嗜沙性的两种昆虫 *Erodiontes aelleni* (Kaszab, 1968) 和 *E. pfaundleri* (Schuster, 1935) 的背板进行了量化描述及分析,通过比较找出 *E. pfaundleri* (Schuster, 1935) 的前胸背板与其他种类具有明显的区别,为这一物种的鉴定提供了分类依据。

2010 年 Aranzamendi 等人运用 EFA 的方法对两种不同形态类型的南极贝进行了形态描述和区分,结果发现轮廓法比传统形态测量学能更好地量化描述和分析贝壳外形的差异。

2011 年 Dalayap 等人将轮廓法与标点法结合起来对莫氏兰科的花瓣、萼片及唇瓣进行形态定量描述和分析,为能将花瓣、萼片及唇瓣作为该科植物的分类鉴定依据提供了有力的证据。

轮廓法能够很好地量化描述和再现生物体的二维外形轮廓,并能将其形状特征信息进行差别比较及多元分析,为物种的分类特征量化和系统发育研究提供了科学客观准确的依据。

4 轮廓法与标点法的比较

标点法也是形态测量学中一类重要的方法,它是对地标点二维(或三维)的笛卡尔坐标值进行分析的方法(Adams *et al.*, 2004)。这种方法在生物学中也有广泛的应用,而且也能够对物体的轮廓进行描述和分析。与轮廓法相比,标点法有以

下优势:(1) 数据处理相对容易,计算少数地标点比处理一个完整轮廓的数据工作量要小得多;(2) 标点法不仅可以分析物体的轮廓特征,还可以分析二维结构中更多复杂的形态特征,如昆虫翅脉的分布特点等;(3) 对生物体三维形态研究更具优势。

标点法强调对同源点进行描述和分析,但并非所有的研究对象都能够容易地找到形态结构的同源点,例如,对昆虫的翅进行标点法研究时,很多重要翅脉的分叉点被选做地标点,而这些重要的分叉点在翅比较透明的物种中可以比较容易地找到,而在另一些翅上有很多色斑的物种中,这些分叉点受颜色或翅脉凹凸关系的干扰,无法显示。另外在某些情况下,学者们对形态结构中同源点的理解会有分歧。同源点选择得正确与否直接关系到应用标点法描述特征和分析数据的结果,因此,选择同源点的难度是制约标点法应用的原因之一。

如果在结构中很难找到易于识别的地标点,那么轮廓法将是研究物体轮廓的最好选择(Rohlf, 1990b)。轮廓法是将物体形态边缘上的轨迹当作被描述和分析的对象,这类数据较容易被提取,受颜色或其它因素的干扰较小,不会产生是否为同源点的分歧,从这个意义上讲,轮廓法比标点法更具优势。但轮廓法仅限于分析物体的轮廓,对于更复杂的形态则难于胜任。

因此,标点法和轮廓法有其各自的优势和局限性,选择哪种方法取决于分析什么问题,针对何种样本进行研究。

5 展望

近年来,随着形态测量学方法的不断改进和成熟,加之很多学者开发出大量免费的形态测量学分析软件和相关专业研讨会的召开,使得基于轮廓数据的研究方法在生物研究领域得到了越来越广泛的应用。

在昆虫分类研究中,有些形态结构的轮廓(例如翅的轮廓、虫体上某些骨片的轮廓等)是非常有价值的分类特征,传统的形态描述法只能非常含糊地描述这些特征,无法给出精确地描述,因此这些特征的细微差别也就很难进行比较。昆虫的外骨骼和翅容易测量,不像其它动物的软体组织那样会发生物理形变,所以早期的学者就认识到昆

虫特别适合进行生物测量学研究 (Daly, 1985)。轮廓法,尤其是其中的椭圆傅立叶分析法,能够很好的将物体的轮廓信息转化成数学参数,对物体的形态特征进行量化记录和分析 (Rohlf, 1990a),更加细致全面地评价出生物二维形态上的差异,并能以定量、直观的方式输出结果,因此,轮廓法在昆虫分类学中的应用,将使很多有价值的形态分类鉴别特征得以充分利用。由于这些特征的细微差别能够被描述和定量分析,所以,昆虫不同类群存在的更多形态差异将得以显现,并用以比较和鉴别,这将有助于解决某些相似类群分类的困难局面,使昆虫分类研究中一些经验化的结论得到更加客观的验证。量化描述的形态特征也是昆虫系统发育学和生物地理学研究的重要依据,分析依据的扩增将有力地促进昆虫系统发育学和生物地理学研究的深入开展。

昆虫的自动鉴定是很多学者为之努力的目标,轮廓形态测量法在昆虫分类中的应用,使得昆虫外部形态中一些结构的轮廓特征能够被转换成数学参数,这些数学参数的积累、自动筛选和比较分析将成为计算机自动识别昆虫的重要途径之一。

参考文献 (References)

- Adams D, Rohlf F, Slice D, 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Ital. J. Zool.*, 71:5–16.
- Aranzamendi MC, Martínez JJ, Sahade R, 2010. Shape differentiation and characterization in the two morphotypes of the Antarctic limpet *Nacella concinna* using Elliptic Fourier analysis of shells. *Polar Biol.*, 33(9):1163–1170.
- Bennet JR, McDonald JS, 1975. On the measurement of curvature in a quantized enviroment. *IEEE Trans. Comput.*, 24:803–820.
- Bertin A, David B, Cezilly F, Alibert P, 2002. Quantification of sexual dimorphism in *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda) using outline approaches. *Biol. J. Linn. Soc.*, 77(4):523–533.
- Blackith R, Reyment RA, 1971. Multivariate Morphometrics. New York:Academic Press. 1–412.
- Blum H, 1967. A Transformation for Extracting New Descriptors of Shape. Models for the Perception of Speech and Visual Forms. MIT Press. 362–380.
- Blum H, 1973. Biological shape and visual science (Part I). *J. Theor. Biol.*, 38:205–287.
- Blum J, Nagel RN, 1978. Shape description using weighted symmetric axis features. *Pattern Recognit.*, 10:167–180.
- Bookstein FL, 1985. Morphometrics in Evolutionary Biology: the Geometry of Size and Shape Change, with Examples from Fishes. Philadelphia:Academy of Natural Sciences. 1–227.
- Bookstein FL, 1991. Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. Cambridge: Cambridge University Press. 5–52.
- Bookstein FL, 1997. Landmark methods for forms without landmarks: localizing group differences in outline shape. *Med. Image Anal.*, 1(3):225–243.
- Christensen AM, 2004. Assessing the variation in individual frontal sinus outlines. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 127(3):291–295.
- Daegling DJ, Jungers WL, 2000. Elliptical Fourier analysis of symphyseal shape in great ape mandibles. *J. Hum. Evolut.*, 39(1):107–122.
- Dalayap RM, Torres MAJ, Demayo CG, 2011. Landmark and outline methods in describing petal, sepal and labellum shapes of the flower of mokara orchid varieties. *Int. J. Agricult. Biol.*, 13(5):652–658.
- Daly HV, 1985. Insect morphometrics. *Annu. Rev. Entomol.*, 30:415–438.
- Dommergues E, Dommergues JL, Magniez F, Neige P, Verrecchia EP, 2003. Geometric measurement analysis versus Fourier series analysis for shape characterization using the gastropod shell (*Trivia*) as an example. *Math. Geol.*, 35:887–894.
- Ferson S, Rohlf FJ, Koehn RK, 1985. Measureing shape variation among two-dimensional outlines. *System. Zool.*, 34:59–68.
- Freeman H, 1961. On the encoding of arbitrary geometric configurations. *IEEE Trans. Elect. Comput.*, 10(2):260–268.
- Furuta N, Ninomiya S, Takahashi S, Ohmori H, Ukai Y, 1995. Quantitative evaluation of soybean (*Glycine max* L., Merr.) leaflet shape by principal component scores based on elliptic Fourier descriptor. *Breed. Sci.*, 45:315–320.
- Iwata H, Niikura S, Matsuura S, Takano Y, Ukai Y, 1998. Evaluation of variation of root shape of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) based on image analysis using elliptic Fourier descriptors. *Euphytica*, 102:143–149.
- Iwata H, Niikura S, Matsuura S, Takano Y, Ukai Y, 2000. Diallel analysis of root shape of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) based on elliptic Fourier descriptors. *Breed.*

- Sci.*, 50:73–80.
- Iwata H, Ukai Y, 2002. SHAPE: A computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. *J. Hered.*, 93:384–385.
- James SC, 1995. Elliptic Fourier shape analysis of fossil bivalves: some practical considerations. *Lethaia*, 28(2): 179–186.
- Kamilari M, Sfenthourakis S, 2009. A morphometric approach to the geographic variation of the terrestrial isopod species *Armadillo tuberculatus* (Isopoda: Oniscidea). *J. Zool. System. Evol. Res.*, 47(3):219–226.
- Kores PJ, Molvray M, Darwin SP, 1993. Morphometric variation in three species of *Cyrtostylis* (Orchidaceae). *Systematic Botany*, 18(2): 274–282.
- Kuhl FP, Giardina CR, 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. *Comput. Graph. Image Process.*, 18:236–258.
- Lin CC, Segel LA, 1988. *Mathematics Applied to Deterministic Problems in the Natural Sciences*. New York: Macmillan Inc. 115–147.
- Lohmann GP, 1983. Eigenshape analysis of microfossils: a general morphometric; procedure for describing changes in shape. *Math. Geol.*, 15:569–572.
- Loy A, Busilacchi S, Costa C, Ferlin L, Cataudella S, 2000. Comparing geometric morphometrics and outline fitting methods to monitor fish shape variability of *Diplodus puntazzo* (Teleostea: Sparidae). *Aquacult. Eng.*, 21(4): 271–283.
- Marcus LF, 1990. Traditional morphometrics// Rohlf FJ, Bookstein FL (eds.). *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop special publication of the University of Michigan Museum of Zoology 2*. Ann Arbor, Michigan:77–122.
- McLellan T, 1993. The roles of heterochrony and heteroblasty in the diversification of leaf shapes in *Begonia dregei* (Begoniaceae). *Amer. J. Bot.*, 80:796–804.
- Mehlhop P, Cifelli RL, 1997. A comparison of morphometric techniques to distinguish sympatric mussel species (family Unionidae) with similar shell morphology. *Spec. Publ. Mus. Southwest. Biol.*, 3:248–258.
- Monti L, Baylac M, LalaneCassou B, 2001. Elliptic Fourier analysis of the form of genitalia in two *Spodoptera* species and their hybrids (Lepidoptera:Noctuidae). *Biol. J. Linn. Soc.*, 72(3):391–400.
- Perez SI, Bernal V, Gonzalez PN, 2006. Differences between sliding semi-landmark methods in geometric morphometrics, with an application to human craniofacial and dental variation. *J. Anat.*, 208(6): 769–784.
- Persoon E, Fu KS, 1977. Shape description using Fourier descriptors. *IEEE Trans. Syst.*, 7:170–179.
- Ponton D, 2006. Is geometric morphometrics efficient for comparing otolith shape of different fish species? *J. Morphol.*, 267:750–757.
- Reyment RA, 1991. *Multidimensional Paleobiology*. New York: Pergamon Press. 1–416.
- Rohlf FJ, 1986. The relationships among eigenshape analysis, Fourier analysis, and the analysis of coordinates. *Math. Geol.*, 18:845–854.
- Rohlf FJ, 1990a. Morphometrics. *Annu. Rev. Ecol. System.*, 21:299–316.
- Rohlf FJ, 1990b. Fitting curves to outlines//Rohlf FJ, Bookstein FL (eds.). *Proceedings of the Michigan Morphometrics workshop special publication of the University of Michigan Museum of Zoology 2*. Ann Arbor, Michigan. 165–177.
- Rohlf FJ, Archie J, 1984. A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (Diptera: Culicidae). *System. Zool.*, 33:302–317.
- Rohlf FJ, Marcus L, 1993. A revolution in morphometrics. *Trends Ecol. Evolut.*, 8:129–132.
- Rohlf FJ, Slice D, 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *System. Biol.*, 39:40–59.
- Straney D, 1990. Median axis methods in morphometrics// Rohlf FJ, Bookstein FL (eds.). *Proceedings of the Michigan Morphometrics workshop special publication of the University of Michigan Museum of Zoology 2*. Ann Arbor, Michigan:179–200.
- Stransky C, 2005. Geographic variation of golden redfish (*Sebastes marinus*) and deep-sea redfish (*S. mentella*) in the North Atlantic based on otolith shape analysis. *J. Mar. Sci.*, 62:1691–1698.
- Taravati S, Darvish J, Mirshamsi O, 2009. Geometric morphometric study of two species of the psammophilous genus *Erodiontes* (Coleoptera:Tenebrionidae) from the Lute desert, Central Iran. *Iran. J. Anim. Biosystem.*, 5(2):81–89.
- White RJ, Prentice HC, 1988. *Comparison of Shape Description Methods for Biological Outlines. Classification and Related Methods of Data Analysis. Proceedings of the First Conference of the International Federation of Classification Societies (IFCS)*, Aachen, West Germany. 395–402.

- Yoshioka Y, Iwata H, Ohsawaand R, Ninomiya S, 2004. Analysis of petal shape variation of *primula sieboldii* by elliptic Fourier descriptors and principal component analysis. *Ann. Bot.* , 94:657 – 664.
- Zahn CT, Roskies RZ, 1972. Fourier descriptors for plane closed curves. *IEEE Trans. Comput.* , 21:269 – 281.