

## Sexual dimorphism of *Rutilus kutum* Kamenskii, 1901 using geometric morphometric method in part of the southwestern Caspian Sea basin

Atta Mouludi-Saleh<sup>1</sup>, Soheil Eagderi<sup>2\*</sup>,  
Keivan Abbasi<sup>3</sup>

1. Ph.D., Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, P.O. Box 4314, Karaj, Iran
2. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, P.O. Box 4314, Karaj, Iran
3. Assistant Professor, Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bandar Anzali, Iran

(Received: Jul. 21, 2020 - Accepted: Jul. 19, 2021)

## بررسی دوشکلی جنسی ماهی سفید خزر (*Rutilus kutum* Kamenskii, 1901) با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی در بخش جنوب‌غربی حوضه دریای خزر

عطا مولودی صالح<sup>۱</sup>، سهیل ایگدری<sup>۲\*</sup>، کیوان عباسی<sup>۳</sup>

۱. دکتری بوم‌شناسی آبزیان شیلاتی، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲. دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳. استادیار پژوهشی، پژوهشکده آبی پروری آب‌های داخلی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۴/۳۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۲۸)

### Abstract

This study was conducted to study sexual dimorphism of Caspian kutum, *Rutilus kutum* collected from the Rudsar coast and Anzali Wetland, Guilan Province. After collecting, the left lateral face of the fresh specimens were photographed, then 13 Landmark-points were defined and digitized using tpsDig2 software. Generalized procrustes analysis was performed to eliminate non-shape effects, including size, direction and position. Then data was analyzed using principal component analysis (PCA) and discriminant function analysis (DFA) based on P-value obtained from Hotelling's t-test. The results showed a significant difference in the body shape of the male and female ( $P < 0.05$ ). The observed differences confirm the presence of the sexual dimorphism in the study species during reproductive season. The observed morphological can be shown presence of the sexual dimorphism in this species. Based on the findings, the females have deeper body and smaller head, which can related to reproductive performance of each sex.

**Keywords:** Morphology, phenotypic plasticity, generalized procrustes analysis, PCA.

### چکیده

این تحقیق به منظور بررسی دوشکلی جنسی صفات ریختی ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) صید شده از ساحل رودسر و تالاب‌انزلی استان گیلان با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی لندمارک پایه به اجرا درآمد. از سطح جانبی سمت چپ نمونه‌ها بلافاصله پس از صید عکس‌برداری شد و سپس با استفاده از نرم‌افزار tpsDig2 تعداد ۱۳ نقطه لندمارک تعریف و رقمی‌سازی گردید. به منظور حذف اثرات غیر شکل از جمله اندازه، جهت و موقعیت آنالیز پروکراست صورت گرفت. با استفاده از تحلیل‌های مؤلفه‌های اصلی (PCA) و تابع تشخیصی (DFA) براساس ارزش P حاصل از Hotelling's t-test مقایسه شدند. نتایج تفاوت معنی‌داری را بین دو جنس نر و ماده از لحاظ شکل بدن نشان داد ( $P < 0.05$ ) که تفاوت‌های مشاهده‌شده تأییدکننده وجود دو شکلی جنسی در این گونه در فصل تولید مثل است. براساس نتایج جنس ماده دارای عمق بدن بیشتر و اندازه سر کوچک‌تر بود که احتمالاً به عملکرد تولید مثلی هر جنس مرتبط می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آنالیز پروکراست، انعطاف‌پذیری ریختی، ریخت‌سنجی، PCA.

## مقدمه

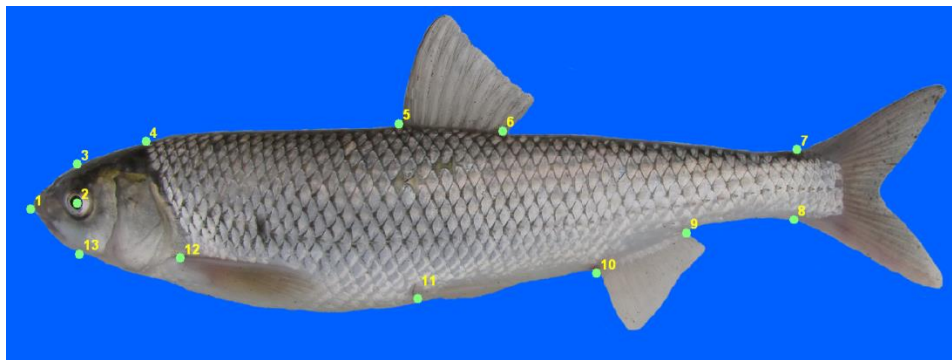
ماهی سفید (*Rutilus kutum* Kamenskii, 1901) از مهمترین ماهی‌های اقتصادی حوضه جنوبی دریای خزر در ایران می‌باشد (Abdolmaleki & Ghaninejad, 2015). صید این ماهی در سواحل گیلان از سال ۱۳۷۵ تا ۱۳۹۴ بین حدود ۱۱۰۰ تا ۳۶۷۰ با میانگین ۲۳۵۳ تن گزارش شده است (Abbasi, 2017; Guilan province fisheries organization, 2017). این ماهی در فصل‌های مهاجرت (مهرماه تا اردیبهشت‌ماه) و تخم‌ریزی تقریباً در تمامی رودخانه‌های گیلان و حوضه تالاب انزلی حضور دارد، ولی بچه‌ماهی‌ها در اغلب اوقات سال در پایین‌دست رودخانه‌ها و تالاب انزلی یافت می‌شوند (Keivany et al., 2016; Abbasi, 2017; Esmaeili et al., 2018; Abbasi et al., 2019).

دوشکلی جنسی یک پدیده رایج در بین جانوران می‌باشد (Herlev et al., 2010). اساساً دو جنس نر و ماده از نظر ساختار تولید مثلی با یکدیگر تفاوت دارند و علاوه بر این، تفاوت‌ها در ریخت خارجی که مستقیماً به تولید مثل ارتباط نداشته باشد نیز دیده می‌شود که تحت عنوان دوشکلی جنسی شناخته می‌شود (Herler et al., 2010). سه مکانیسم برای تمایز و ایجاد دوشکلی جنسی در جانوران بیان شده است که عبارتند از ۱- گزینش جنسی، ۲- دوشکلی آشیانی و ۳- رقابت غذایی (Hedrick & Temeles, 1989). بنابراین تفاوت‌های ریختی بین جنس‌های نر و ماده از جمله مباحث مهم در زیست‌شناسی (David et al., 2003; Hood, 2000) و تکامل درون‌گونه‌ای ماهیان می‌باشد (Teder & Tammaru, 2005). دوشکلی جنسی در صفات ریختی ماهی سفید دریای خزر مورد بررسی قرار نگرفته و در منابع تنها به وجود صفات ثانویه جنسی در فصل تولید مثل شامل وجود دانه‌های مرواریدی در جنس نر اشاره می‌شود، بنابراین این تحقیق به منظور بررسی دوشکلی جنسی صفات ریختی ماهی سفید

دریای خزر در فصل تولید مثل که می‌تواند بیانگر عملکردها آن‌های در تولیدمثل باشد، به اجرا درآمد. به عبارت دیگر این تحقیق با هدف بررسی تفاوت صفات ریختی جنس‌های نر و ماده بالغ در فصل تولید مثل با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی لندمارک پایه به اجرا درآمد، با توجه به این که در مطالعات قبلی که نمونه‌برداری بیشتر آن‌ها در هنگام مهاجرت صورت گرفته است، داده‌های ریختی جنس‌های نر و ماده با هم ادغام و مورد تحلیل قرار گرفته اند که این می‌تواند منبع خطا در این مطالعات باشد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۲۵ قطعه ماهی ماده و ۱۱ قطعه ماهی نر از تالاب انزلی و ۲۵ قطعه ماهی ماده و ۲۱ قطعه ماهی نر از رودخانه رودسر استان گیلان از حوضه جنوبی دریای خزر به وسیله تورپره در طی ماه‌های فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸ صید شدند. نمونه‌های مورد انتخاب نر و ماده تقریباً هم اندازه و با دامنه طولی محدود (طول کل در نرها ۳۴ تا ۵۰ با میانگین ۴۰ سانتی‌متر و ماده‌ها ۳۴ تا ۵۳ با میانگین ۴۳ سانتی‌متر) انتخاب شدند. از سطح جانبی نمونه‌های تازه صید شده توسط دوربین دیجیتال با قدرت تفکیک ۶/۲ مگاپیکسل عکس‌برداری شد. به منظور استخراج داده‌های شکل بدن با استفاده از عکس‌ها در نرم‌افزار tpsDig2 تعداد ۱۳ لندمارک تعریف و رقمی‌سازی شدند (Rohlf, 2010). جهت حذف اثرات غیرشکل شامل اندازه، موقعیت و جهت، از آنالیز پروکراست (Generalized Procrustes Analysis) استفاده شد (Zelditch et al., 2004). به منظور بیان تفاوت‌های ریختی بین جنس‌های نر و ماده از تحلیل‌های چند متغیره تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal component analysis=PCA) و تابع تشخیصی (Discriminant function analysis=DFA) براساس ارزش p حاصل از Hotelling's t-test استفاده شد.



**شکل ۱.** نقاط لندمارک تعریف شده برای استخراج شکل بدن در ماهی سفید *Rutilus kutum*. ۱- قدامی ترین بخش پوزه در قسمت فک بالا، ۲- مرکز چشم، ۳- محل تقاطع امتداد خط عمود بر مرکز چشم با لبه بالایی سر، ۴- انتهای قفای سر، ۵- منشأ قاعده باله پشتی، ۶- انتهای قاعده باله پشتی، ۷- انتهای بالایی ساقه دم در محل اتصال به باله دم، ۸- انتهای پایینی ساقه دم در محل اتصال به باله دم، ۹- انتهای قاعده باله مخرجی، ۱۰- ابتدای قاعده باله مخرجی، ۱۱- ابتدای قاعده باله شکمی، ۱۲- قدامی ترین نقطه قاعده باله سینه‌ای و ۱۳- محل تقاطع امتداد خط عمود بر مرکز چشم در سطح شکمی سر.

توجه به نمودار قاب سیمی براساس شکل اجماع هر کدام از جنس‌ها (شکل ۴)، جنس ماده دارای بدنی عمیق‌تر و سر کوچک‌تر بود.

#### جمعیت رودسر

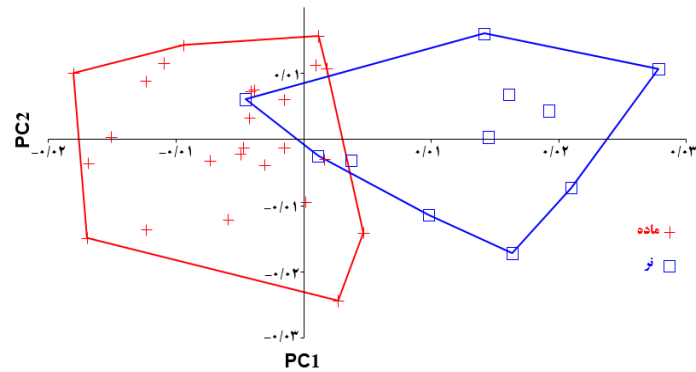
براساس نتایج PCA، تعداد ۲۶ عامل استخراج شد که تعداد شش مؤلفه بالاتر از خط برش جولیف قرار داشتند و در مجموع ۷۵/۵ درصد واریانس را به خود اختصاص دادند. نمودار پراکنش افراد براساس دو مؤلفه اصلی اول در شکل ۵ ارائه شده است که بیانگر هم‌پوشانی کامل آن‌ها است. بررسی تمایز ریختی دو جنس با استفاده از تحلیل تابع تشخیصی Hotelling's t- (DFA) براساس ارزش P آزمون  $t=212/13$ ،  $f=3/52$  و  $P<0/003$  (شکل ۶). همچنین، براساس نتایج فاصله‌های ماهالانویس برابر ۴/۳۷ و پروکراست برابر ۰/۰۱۵۸ محاسبه گردید. نمودار قاب سیمی براساس شکل اجماع هر کدام از جمعیت‌ها در شکل ۷ ارائه شده است، که براساس آن، تفاوت‌های مشاهده شده شامل عمق بدن کمتر، پوزه کشیده‌تر و متمایل به بالا و سر بزرگ‌تر جنس نر می‌باشد.

به‌منظور حذف اثرات احتمالی تفاوت ریختی دو جمعیت مورد مطالعه، هر جمعیت به‌طور مجزا مورد بررسی قرار گرفت. شکل میانگین (اجماع) هر گروه (نر و ماده) در شبکه تغییرشکل انجام و الگوهای تغییر شکل بین گروه‌ها توسط قاب سیمی (Wireframe) در نرم‌افزار MorphoJ ارائه شد. تمامی تحلیل‌های آماری در نرم‌افزارهای PAST و MorphoJ انجام شد (Klingenberg, 2011; Hammer *et al.*, 2001).

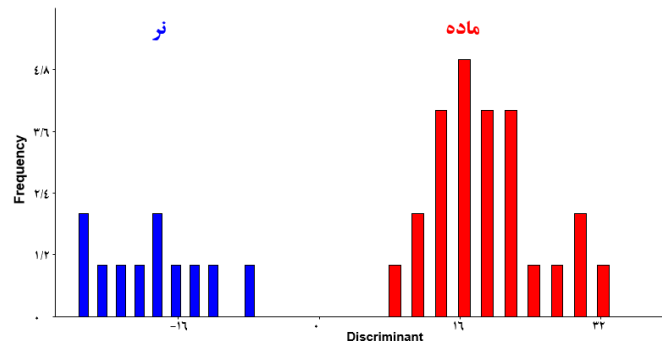
#### نتایج

##### جمعیت تالاب انزلی

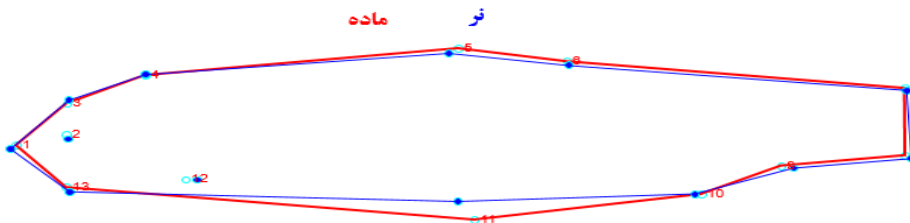
طبق نتایج PCA، شش مؤلفه بالاتر از خط برش جولیف قرار گرفتند (Jolliffe, 2002) که در مجموع ۷۵/۳۶ درصد واریانس را به خود اختصاص می‌دهند. در نمودار پراکنش جمعیت‌ها براساس دو مؤلفه اصلی اول، جنس نر و ماده انزلی دارای هم‌پوشانی بودند (شکل ۲). همچنین تحلیل تابع تشخیصی (DFA) براساس ارزش P آزمون Hotelling's t-test جنس نر و ماده تفاوت معنی‌داری را نشان دادند ( $t=301/3$ ،  $f=3/06$  و  $P<0/04$ ) (شکل ۳). فواصل ماهالانویس و پروکراست به‌عنوان درجه تمایز ریختی بین دو جنس نر و ماده در این جمعیت به‌ترتیب ۶/۱۶ و ۰/۰۱۹۸ محاسبه شدند. با



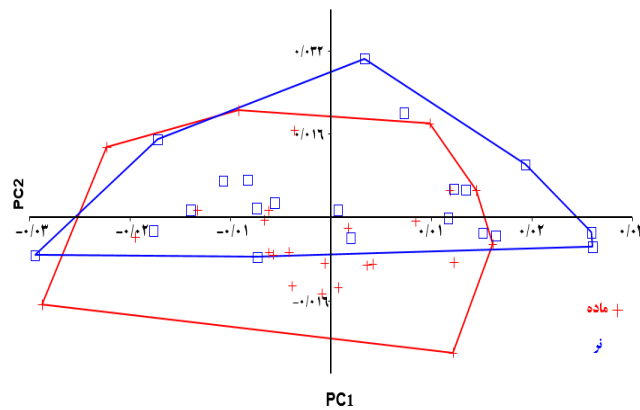
شکل ۲. نمودار تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) جنس‌های نر و ماده ماهی سفید (*Rutilus kutum*) در تالاب انزلی.



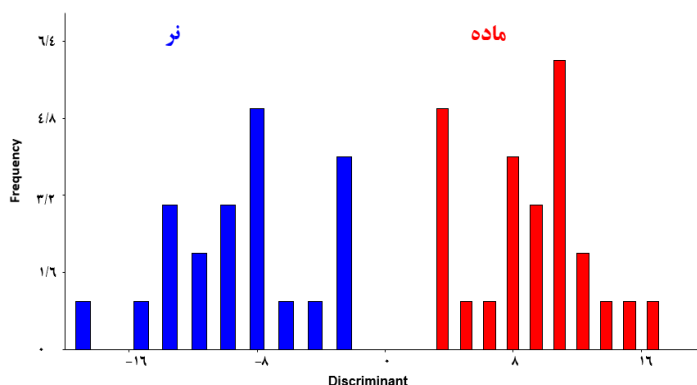
شکل ۳. تحلیل تابع تشخیصی (DFA) جمعیت‌های نر و ماده ماهی سفید (*Rutilus kutum*) در تالاب انزلی.



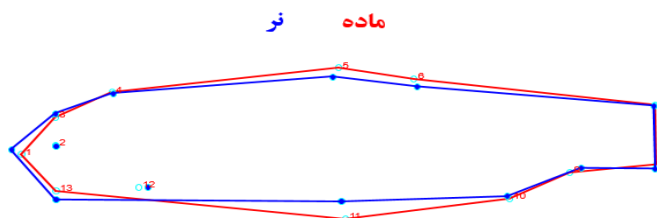
شکل ۴. نمایش قاب سیمی مقایسه شکل میانگین جنس‌های نر و ماده ماهی سفید (*Rutilus kutum*) در تالاب انزلی.



شکل ۵. نمودار تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) جمعیت‌های نر و ماده ماهی سفید (*Rutilus kutum*) در سواحل رودسر.



شکل ۶. تحلیل تابع تشخیصی (DFA) جمعیت‌های نر و ماده ماهی سفید (*Rutilus kutum*) در سواحل رودسر.



شکل ۷. نمایش قاب سیمی مقایسه شکل میانگین جمعیت‌های نر و ماده ماهی سفید (*Rutilus kutum*) در سواحل رودسر.

سنجی هندسی نشان داد که به دلیل تفاوت شکل بدن جنس‌های نر و ماده، در مطالعات ریختی بین جمعیت‌ها مقایسه جنس‌های نر مناسب می‌باشد. همچنین Rahmani *et al.* (2017) نیز وجود دو شکلی جنسی در صفات ریختی گاوماهی کورایی (*Ponticola cyrius*) در رودخانه تجن را نشان دادند.

Vasil'eva (2006) فاکتورهای تغییرات درون و بین‌جمعیتی را یک صفت ناشی از آلومتری سن و دوجنسی بیان داشته است. عامل انتخاب طبیعی بر روی صفات وابسته به تولید مثل و انتخاب جفت می‌تواند سبب بروز تفاوت‌های ریختی در افراد نر و ماده شود که در مطالعات دیگر نیز بیان شده است (Reeve & Fairbairn, 1999; Hood, 2000). براساس نتایج دو شکلی جنس مشاهده شده در صفات ریختی ماهی سفید بالغ در فصل تولید مثل، می‌تواند به دلیل کارکرد آن‌ها در عملکرد تولید در هر دو جنس می‌باشد (Wootton, 1999) داشتن عمق بدنی بیشتر در جنس ماده هر دو جمعیت مورد مطالعه می‌تواند به دلیل حجم بیشتر ناحیه شکمی به واسطه حجم بیشتر

## بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعات زیست‌شناختی، ویژگی‌های ریختی به‌عنوان یک ابزار مناسب در بررسی دوشکلی جنسی، تکامل، بدشکلی، فردزایی، سازگاری با فاکتورهای زیستگاهی (Bookstein, 1991; Eshaghzadeh *et al.*, 2012; Eagderi *et al.*, 2020) و شناسایی و تعریف گونه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Cech & Moyle, 2004). در بررسی دوشکلی جنسی ریختی ماهی سفید در دو جمعیت مورد مطالعه تالاب انزلی و رودسر، نتایج تفاوت معنی‌داری را در شکل بدن دو جنس نشان داد و این تفاوت‌ها مربوط به عمق بدن، موقعیت پوزه و اندازه سر بود. (Eagderi & Kamal (2013) در مطالعه خود با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی دو شکلی جنسی را در جمعیت‌های ماهی گورخری *Aphanius sophiae* چشمه علی دامغان و رودخانه شور اشتهارد بررسی کردند و وجود دوشکلی جنسی در صفات ریختی را گزارش کردند. Eagderi (2017) در مطالعه خود مبنی بر تعیین جنسیت مطلوب برای مقایسه ریخت‌شناختی جمعیت‌های ماهی گورخری *A. dispar* با استفاده از روش ریخت

ماده در خارج فصل تولید مثلی نیز برای درک این‌که تفاوت ریختی مشاهده شده آیا مختص فصل تولید مثل می‌باشد یا نه؟ نیز توصیه می‌گردد. با توجه به اینکه ماهی سفید خزری یک گونه با ارزش اقتصادی محسوب می‌شود، نتایج این تحقیق می‌تواند به درک بهتر زیست‌شناسی این گونه به‌منظور مدیریت پایدار شیلاتی کمک نماید.

### سپاسگزاری

از آقایان مهندس درویشی رییس مرکز و کارشناسان و دانشجویان کارورز آقایان فروزش، پورقربان، رفعتی، رضا عباسی، مهرابی و براری و خانم‌ها کلاچاهی و مصطفوی از مرکز بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر شهید انصاری رشت و آقایان صیادرحیم، نوروزی و صداقت‌کیش از پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی در همکاری نمودند که از یکایک آنها، تشکر و قدردانی می‌گردد.

مواد تناسیلی (تخمدان) باشد. همچنین داشتن سر بزرگ‌تر در جنس نر را می‌توان یک صفت برای موفقیت تولید مثلی جنس نر در کمک به جفت‌گیری و گازگرفتن جنس ماده توسط نر و یا جهت نشان دادن رفتار تولید مثلی عنوان کرد (McDowall & David, 2006). به علاوه تفاوت ریختی بین دو جنس نر و ماده در ریختی سر را شاید بتوان به یک عملکرد تغذیه‌ای هم نسبت داد که البته نیاز به مطالعات بیشتر می‌باشد (Spoljaric & Reimchen, 2008).

با توجه به نتایج، این مطالعه وجود تفاوت ریختی بین دو جنس را در فصل تولید مثل نشان داد، از اینرو در مطالعات قبلی که نمونه‌برداری بیشتر آن‌ها در این فصل صورت گرفته باشد، در داده‌های ریختی که جنس‌های نر و ماده با هم ادغام و مورد تحلیل قرار گرفته اند، باید در استفاده از داده‌های آن‌ها برای سایر مطالعات دقت بیشتری نمود چراکه می‌تواند منبع خطا باشند. به علاوه بررسی تفاوت ریختی دو جنس نر و

### REFERENCES

- Abbasi, K.; Moradi, M.; Mirzajani, A., (2019). Fishes of Anzali Wetland Basin. North green books publication. Lahijan, 144 p. (in Persian).
- Abbasi, K. (2017). Fishes of Guilan. The Encyclopedia of Guilan Culture and Civilization 66: 206. (in Persian).
- Abdolmaleki, S.; Ghaninejad, D. (2015). Bony Fishes of the Caspian Sea (biology, distribution, fishing, stock rehabilitation, Strengths and Weaknesses). Iranian Fisheries Science Research Institute Publications. 409 p. (in Persian)
- Bookstein, F.L. (1991). Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. Cambridge University Press.
- Cech, J. J., Moyle, P. B. 2004. Fishes: an introduction to ichthyology. Pearson/B. Cummings.
- David, J.R.; Gibert, P.; Mignon-Grasteau, S.; Legout, H.; PÉtavy, G.; Beaumont, C. (2003). Genetic variability of sexual size dimorphism in a natural population of *Drosophila melanogaster*: An isofemale-line approach. Journal of Genetics, 82: 79-88
- Eagderi, S. 2017. Determination of suitable sex for morphological comparison in populations of *Aphanius dispar* using geometric morphometrics. Iranian Scientific Fisheries Journal, 25 (5):65-74. (in Persian).
- Eagderi, S.; Kamal, S. (2013). Application of geometric morphometrics approach in phenotypic plasticity investigations of fishes: A case study of killifish *Aphanius sophiae* (Heckel, 1847) body shape comparison in Cheshme-Ali (Damghan) and Shour River (Eshtehard). Journal of Applied Ichthyological Research, 1(2): 47-52. (in Persian).
- Eagderi, S.; Mouludi-Saleh, A.; Ahmadi, S.; Javadzadeh N. (2020). Phenotypic plasticity of the body shape in Prussian

- carp (*Carassius gibelio*), in response to lentic and lotic habitats using geometric morphometric technique. Iranian Scientific Fisheries Journal, 29 (1): 49-58. (in Persian).
- Eshaghzadeh H, Eagderi S, Poorbagher H, Kazemi R. 2012. A comparative study of alive and dead eleutheroembryo of Beluga (*Huso huso*) shape (5DPH) using geometric Beluga (*Huso huso*) shape (5DPH) using geometric. Iranian Scientific Fisheries Journal, 21(2): 1-9. (in Persian).
- Esmaeili, H.R.; Sayyadzadeh, G.; Eagderi, S.; Abbasi, K. (2018). checklist of freshwater fishes of Iran: FishTaxa, 3(3): 1-95.
- Guilan Province Fisheries Organization, (2017). Guilan bony fishes' catch statistics. Fisheries Department publication, office of fisheries statistics, Bandar Anzali, Iran. 150 p. (in Persian)
- Hammer, Ø.; Harper, D. A. T.; Ryan, P. D. (2001). PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica, 4(1): 1-9.
- Hedrick, A.V., Temeles, E.J. (1989). The evolution of sexual dimorphism in animals: hypotheses and tests. Trends in Ecological Evolution, 4: 136-138.
- Herler, J.; Kerschbaumer, M.; Mitteroecker, P.; Post, L.; Christian Sturmbauer, C. (2010). Sexual dimorphism and population divergence in the Lake Tanganyika cichlid fish genus *Tropheus*. Frontiers in Zoology, 7(1): 4.
- Hood, C. (2000). Geometric morphometric approaches to the study of sexual size dimorphism in mammals. Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy; 11(1): 77-90.
- Jolliffe, I.T. (2002). Principal component analysis. Springer, New York. USA. Pp 150-166.
- Keivany Y.; Nasri M.; Abbasi, K.; Abdoli A., (2016). Atlas book of fishes in inland water of Iran. Department of Environment Press, Tehran. 238 p. (in Persian).
- Klingenberg, C.P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. Molecular Ecology Resources; 11: 353-357.
- McDowall, R.; David, B. (2008). Gobiopterus in New Zealand (Teleostei: Gobiidae), with observations on sexual dimorphism. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 42: 325-331.
- Rahmani, H.; Abdollahpour, Z.; Jooladeh, R. A. (2017). Evaluation of sexual dimorphism in *Ponticola cyrius* in Tajan River using geometric-morphometric and traditional morphometric methods. Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 30(1): 68-78 (in Persian).
- Reeve, J.P.; Fairbairn, D.J. (1999). Change in sexual size dimorphism as a correlated response to selection on fecundity. Heredity, 83: 697- 706.
- Rohlf, F.J. 2010. TpsDig2–Thin Plate Spline Digitise. 2.16 ed. New York: State University of New York.
- Spoljaric, M.A.; Reimchen, T.E. (2008). Habitat dependent reduction of sexual dimorphism in geometric body shape of Haida Gwaii threespine stickleback. Biological Journal of the Linnaean Society. B: 505-516.
- Teder, T.; Tammaru, T. (2005). Sexual size dimorphism within species increases with body size in insects. Oikos, 108: 321-33.
- Vasil'eva, E. D. (2006). Variation of the external characters and taxonomic relationships of Azov and Black-Sea populations of *Percarina demidoffii* (Percidae). Journal of Ichthyology, 46(4): 292-300.
- Wootton R. J. 1990. Ecology of Teleost Fishes. Chapman and Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Zelditch, M.; Swiderski, D.; Sheets, D. H.; Fink, W. (2004). Geometric morphometrics for biologists: A primer: Elsevier Academic Press. Waltham, MA.