

تعیین زمان تشکیل حلقه‌های رشد در ماهی کپور *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 با استفاده از علامت‌گذاری با اکسی تتراسایکلین

فرخ پرافکنده حقیقی^۱، غلامعلی بندانی^۲، غلامرضا دریانبرد^۱، کامران عقیلی^۲، حسن فضلی^۱، شهرام قاسمی^۳ و فرهاد کیمرام^۳

۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی - سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

چکیده

مطالعه حاضر طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقاتی قره‌سو انجام شد. تعداد ۲۵۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با طول چنگالی ۱۲-۱۰ میلی‌متر و وزن کل ۴-۲ گرم به روش حمام دادن با اکسی تتراسایکلین (pH=6; ۵۰۰ mg/l) علامت‌گذاری شده و روزی دو بار غذا دهی شدند. در این تحقیق علامت‌گذاری در سه مرحله و به ترتیب در اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۰، آبان‌ماه ۱۳۹۱ و تیرماه ۱۳۹۲ انجام شد. در علامت‌گذاری بچه ماهیان کپور با روش حمام دادن OTC هیچگونه مرگ و میری دیده نشد. اتولیت‌ها بعد از استخراج با آب معمولی شسته شده و در هوای آزمایشگاه خشک شدند. برای مشاهده حلقه‌های علامت‌گذاری شده از لوپ‌های آزمایشگاهی با بزرگنمایی ۱۰× و ۴۰× استفاده شد. نتایج نشان داد بعد از شش ماه از اولین علامت‌گذاری بچه ماهیان کپور، نوار باریکی در لبه انتهایی اتولیت قابل مشاهده است که نشان دهنده جذب اکسی تتراسایکلین در لبه خارجی اتولیت می‌باشد. از نظر زمان تشکیل باند OTC باید گفت که اولین علامت در حاشیه بیرونی اتولیت بعد از ماه ششم دیده می‌شود. البته از ماه چهارم این علامت در خارجی‌ترین لبه اتولیت شکل می‌گیرد ولی بعلاوه اضافه نشدن منطقه رشد بعدی بسختی می‌توان آن را تشخیص داد. شکل‌گیری باند مربوط به علامت‌گذاری دوم هم مشابه باند اول است و تفاوتی با هم ندارند.

کلمات کلیدی: کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، اکسی تتراسایکلین، علامت‌گذاری، اتولیت، رشد

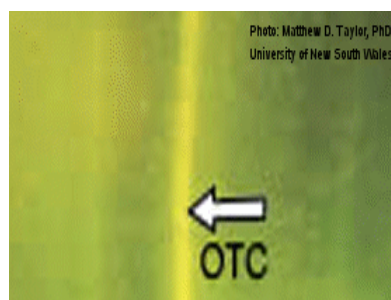
مقدمه

کاهش تکثیر طبیعی، علاقه روزافزونی در افزایش ذخایر از طریق رهاسازی بچه ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی در دریا را بخصوص بعد از مشاهده اثرات مثبت رهاسازی بر افزایش ذخایر بوجود آورده است. لذا، بتدریج یکی از اهداف و رویکردهای مهم مدیریت صید و ماهیگیری، بازسازی ذخایر از طریق ماهی‌دار کردن محیط‌های آبی شده است (Salminen *et al.*, 2007). در بازسازی ذخایر برای ارزیابی عملکرد تولید و تعیین ضریب بازگشت شیلاتی از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که یکی از آنها علامت‌گذاری در ماهیان می‌باشد.

اولین بار در سال ۱۸۹۰ علامت‌گذاری بر روی ماهیان توسط Peterson بکار گرفته شد. روش‌های متنوعی برای علامت‌گذاری وجود دارد که از ماهیان جوان تا بالغ را پوشش می‌دهد ولی در بکارگیری آنها سعی می‌شود روش ارزان‌تر با توانایی علامت‌زنی تعداد زیاد ماهی انتخاب شود. علامت‌گذاری در ماهیان به شکل‌های مختلف صورت می‌گیرد، که استفاده از تگ‌های مکانیکی (Mechanical Tags)، تگ‌های شیمیایی (Chemical Tags) و تگ‌های الکترونیکی (Electronic Tags) معمول‌تر هستند.

قطع باله سینه‌ای یا سیبلیک، در آوردن پلاک‌های پشتی، استفاده از مواد رنگی، استفاده از مواد رادیواکتیو، اتصال تگ‌های خارجی، تگ‌های (CWT (Coded Wire Tags)، تگ‌های الکترونیکی، علامت‌های شیمیایی و علامت‌گذاری اتولیت‌ها با استفاده از تغییر حرارت از معمول‌ترین روش‌های علامت‌گذاری محسوب می‌شوند.

در اولین تجربه برای نشان‌دار کردن ساختمان‌های سخت بدن با مواد شیمیایی، از استات سرب (Lead acetate) استفاده شد که به علت سمی بودن آن، تمایل زیادی برای استفاده از آن وجود نداشت. امروزه برای اینکار از ترکیبات تتراسایکلین (Tetracycline) استفاده می‌شود. اکسی تتراسایکلین، کلروتتراسایکلین و دی متیل کلرو تتراسایکلین از آنتی‌بیوتیک‌ها محسوب می‌شوند که پس از جذب در اندام‌های سخت بدن با نور ماوراء بنفش قابل مشاهده و مطالعه می‌باشند (شکل ۱). همچنین ترکیباتی مانند فلئورسین و کلسین (Calcein) نیز دارای علائم فلورسانس هستند.



شکل ۱. علامت‌گذاری اتولیت گونه‌ای از آزاد ماهی با استفاده از اکسی تتراسایکلین

تتراسایکلین با کلسیم و منیزیم ترکیب شده و زیر نور ماوراء بنفش و میکروسکوپ فلورسانس به شکل حلقه‌های زرد در زمینه سبز دیده می‌شوند. تتراسایکلین توسط نور از بین می‌رود و به همین علت اندام‌های حاوی آن را باید در تاریکی نگهداری کرد. اکسی تتراسایکلین در ماهیان بزرگ حداقل ۵ سال دوام می‌آورد. تتراسایکلین در ماهیان استخوانی به صورت حلقه‌های زرد شفاف در نور ماوراء بنفش دیده می‌شود و به سهولت قابل تشخیص است. میزان اضافی این ماده معمولاً در طول یک ماه از بدن ماهی دفع می‌شود. برای بدست آوردن میزان مطلوب و موردنیاز تتراسایکلین برای علامت‌گذاری، آزمایش‌هایی با دوزهای مختلف این ماده و با استفاده از تانک‌های نگهداری ماهی انجام می‌شود.

از نظر سابقه کاربرد روش علامت‌گذاری در کشور ایران باید به علامت‌گذاری بچه ماهیان خاویاری و ردیابی آنها تا مصب رودخانه با روش‌های قطع باله سینه‌ای و قطع سبیلک برای تعیین مسیر حرکت بچه ماهیان و مطالعه وضعیت تغذیه و مدت ماندگاری بچه ماهیان در رودخانه (فدائی و همکاران، ۱۳۸۲)، میزان بازماندگی در رودخانه و عوامل موثر در کاهش بازماندگی بچه ماهیان (فدائی و همکاران، ۱۳۸۱) و نیز پلاک‌گذاری ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) با استفاده از تگ‌های Dart, T-bar Anchor و همکاران، ۱۳۸۱) و نیز پلاک‌گذاری ماهی سفید (شاهی‌فر، ۱۳۷۳) و نیز علامت‌گذاری بچه ماهیان خاویاری با روش CWT در جهت برآورد ضریب بازگشت شیلاتی ماهیان خاویاری (فدائی و همکاران، ۱۳۸۴) اشاره کرد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقاتی قره‌سو در استان گلستان انجام شد. در اردیبهشت ماه ۱۳۹۰ ابتدا ۲۵۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از استخرهای ایستگاه قره‌سو صید گردید و بعد از زیست‌سنجی، با اکسی تتراسایکلین علامت‌گذاری شدند. برای زیست‌سنجی بچه ماهیان، طول چنگالی با دقت ۱ میلی‌متر و وزن کل با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری شد. اکسی تتراسایکلین هیپوکلراید مصرفی به شکل پودر (با خلوص ۰/۹۸) و با نام تجاری Serva در بسته‌بندی‌های پلاستیکی خریداری شد. براساس دستورالعمل (Jones and Bedford, 1968) بچه ماهیان در محلول ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اکسی تتراسایکلین با pH حدود ۶-۷ به مدت ۶ ساعت حمام داده شدند. برای این کار ابتدا اکسی تتراسایکلین در آب حل شده و محلول بدست آمده به تانک‌ها اضافه شد و سپس بچه ماهیان به آن رها شدند (شکل ۲).



ب

الف

شکل ۲. حل کردن پودر اکسی تتراسایکلین هیپوکلراید در آب (الف) و حمام دادن بچه ماهیان با آن (ب)

برای مطالعه و ردیابی علامت‌ها بر روی ساختمان‌های سخت بدن ماهیان، ساختمان‌هایی مثل اتولیت‌های ساجیتا، لاپلی و آستاریسکوس به همراه فلس‌ها، سرپوش آبششی و مهره‌ها استخراج و بررسی شدند (شکل ۳). اتولیت‌های ساجیتا بعلت کوچک بودن ماهیان در دو حالت کامل و برش داده شده، مطالعه شدند.



شکل ۳. استخراج اتولیت‌ها از سر بچه ماهیان با استفاده از لوپ آزمایشگاهی

اتولیت‌ها بعد از استخراج با آب معمولی شست و شو شده و در هوای آزمایشگاه خشک شدند. برای اندازه‌گیری فاصله بین حلقه‌های رشد و همچنین حلقه‌های علامت‌گذاری شده از لوپ‌های آزمایشگاه‌های مرکز تحقیقات شیلات استان گلستان و اداره شیلات کشور عمان و با بزرگنمایی $10\times$ و $40\times$ استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای Excel و SPSS استفاده شد.

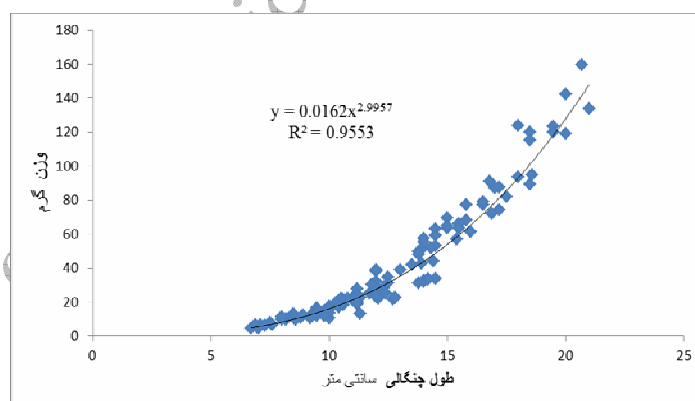
نتایج و بحث

بچه ماهیان کپور علامت‌گذاری شده در اولین مرحله (۹۱/۲/۱۶) دارای میانگین (\pm انحراف معیار) طول چنگالی $11/5 \pm 2/6$ سانتی‌متر و وزن کل $10 \pm 21/8$ گرم بودند. بیشترین و کمترین طول چنگالی بچه ماهیان در این مرحله به ترتیب $14/5$ و $6/9$ سانتی‌متر بود. همچنین بیشترین و کمترین وزن ثبت شده در این مرحله به ترتیب $33/8$ و $6/5$ گرم بود (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین طول چنگالی، طول کل و وزن بچه ماهیان کپور در مراحل مختلف علامت‌گذاری

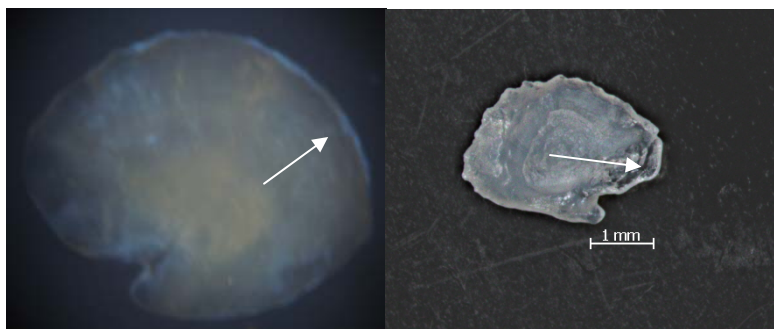
تاریخ	طول چنگالی (سانتی متر)			طول کل (سانتی متر)			وزن کل (گرم)	
	مرحله اول	مرحله دوم	مرحله سوم	مرحله اول	مرحله دوم	مرحله سوم	مرحله اول	مرحله دوم
۱۳۹۱/۲/۱۶	۱۳۹۱/۸/۸	۱۳۹۲/۴/۱۱	۱۳۹۲/۴/۱۱	۱۳۹۱/۲/۱۶	۱۳۹۱/۸/۸	۱۳۹۲/۴/۱۱	۹۱/۳	۶۳/۵
۱۱/۵	۱۴/۹	۱۶/۹	۱۳	۱۶/۹	۲۱/۰	۲۳/۵	۱۵۹/۴	۹۳/۵
۶/۹	۱۲/۰	۱۱/۰	۸/۵	۱۴/۰	۱۴/۰	۱۴/۵	۳۴/۴	۳۲/۲
۲/۶	۱/۷	۲/۷	۲/۹	۱/۸	۲/۹	۲/۹	۳۴/۹	۱۲/۳

بین طول چنگالی و وزن کل بچه ماهیان کپور با همبستگی ۹۶ درصد رابطه $Y = 0.0162 FL^{2.9957}$ برقرار است که با توجه به مقدار b (حدود ۳) رشد آنها ایزومتریک تعیین شد ($p > 0.05$) (شکل ۴).



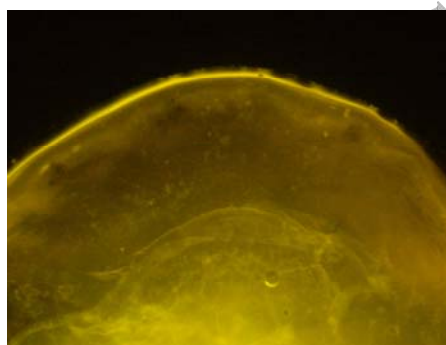
شکل ۴. رابطه بین طول چنگالی و وزن کل بچه ماهیان کپور علامت‌گذاری شده با اکسی تتراسایکلین

پس از گذشت شش ماه از اولین مرحله علامت‌گذاری بچه ماهیان کپور، تعدادی از اتولیت آنها استخراج و مورد بررسی قرار گرفت. در زیر میکروسکوپ با زمینه تاریک یک نوار باریک در لبه انتهایی اتولیت قابل مشاهده بود که نشان داد اکسی تتراسایکلین جذب شده به تازگی در لبه خارجی اتولیت شکل گرفته است (شکل ۵).



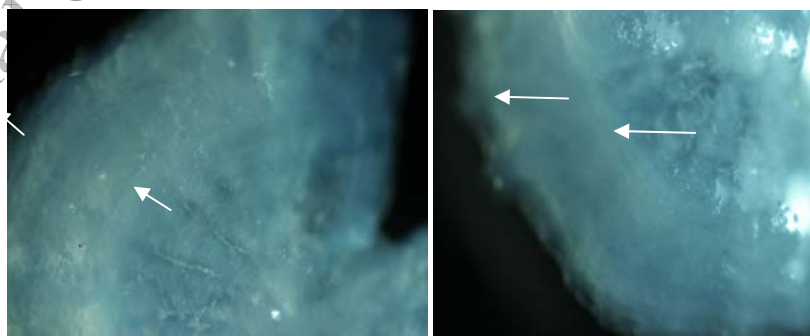
شکل ۵. حلقه‌های شکل گرفته توسط اکسی تتراسایکلین در لبه خارجی اتولیت ماهی کپور بعد از شش ماه

تعدادی از اتولیت‌ها با میکروسکوپ مجهز به نور ماوراء بنفش نیز مورد بررسی قرار گرفتند و با این روش نیز حلقه اکسی تتراسایکلین در حاشیه خارجی اتولیت‌ها به رنگ روشن دیده شد (شکل ۶).



شکل ۶. حلقه شکل گرفته توسط اکسی تتراسایکلین در لبه خارجی اتولیت ماهی کپور در مطالعه با میکروسکوپ مجهز به UV

در بررسی اتولیت‌هایی که دو بار و با فاصله شش ماهه با اکسی تتراسایکلین علامت‌گذاری شدند، دو حلقه مربوط به جذب این ماده بر روی اتولیت‌ها قابل مشاهده بود (شکل ۷).



شکل ۷. حلقه‌های شکل گرفته توسط اکسی تتراسایکلین روی اتولیت‌های ماهی کپور با فاصله شش ماه

علامت‌گذاری با استفاده از اکسی تتراسایکلین در بیشتر گونه‌های دریازی نتایج مثبت و موفقیت‌آمیزی به همراه داشته است (Taylor et al., 2005). Cormen و همکارانش در سال ۲۰۰۹ در مطالعه بر روی گونه *Engraulis encrasicolus* گزارش کردند که حمام دادن با OTC در غلظت ۴۰۰ mg/l و به مدت ۲۴ ساعت در تشکیل و شکل‌گیری باندهای قابل مشاهده روی اتولیت‌ها بسیار مناسب است.

شرایط مناسب فیزیکوشیمیایی آب و غلظت مناسب OTC در کیفیت علائم تشکیل شده موثر است. در مورد اثرات شوری روی شکل‌گیری باندهای OTC نیز بیشتر گزارش‌ها نشان می‌دهد که شوری کمتر از ۱۵ در هزار با OTC در غلظت ۵۰۰ mg/l دارای کارایی بسیار مناسبی است (Butcher et al., 2003; Jenkins et al., 2002). در علامت‌گذاری با OTC می‌توان از روش تزریق مستقیم به ماهیان هم استفاده کرد که بیشتر در مورد ماهیان بزرگتر استفاده می‌شود. از عوامل محدودکننده در این روش تعداد ماهیان است که با این روش نمی‌توان تعداد زیادی از ماهیان را در مدت کوتاهی علامت‌گذاری کرد (Babaluk and Craig, 1990; Bumguardner, 1991; Morphy and Taylor, 1991; Ross et al., 1995). استفاده و بکارگیری این روش، احتمال تاثیر نامطلوب علامت‌گذاری بر رشد ماهیان است ولی گزارش‌های محققین نشان می‌دهد که این اثر قابل توجه نبوده و قابل چشم‌پوشی است (Szedlmayer and Beyer, 2011). احتمال دارد در ماهیان مسن‌تر در نتیجه کاهش توسعه مناطق رشد در اتولیت‌ها، تشخیص باندهای OTC نیز با مشکل همراه باشد. به همین دلیل استفاده از این روش در ماهیان دو ساله و پایین‌تر از آن توصیه می‌شود (Szedlmayer and Beyer, 2011). همچنین در مقایسه حلقه‌های اول و دوم OTC، اولین حلقه از وضوح بیشتری برخوردار است.

در علامت‌گذاری بچه ماهیان کپور با روش حمام دادن OTC هیچگونه مرگ و میری دیده نشد. نتایج مطالعات گذشته نشان می‌دهد که مهمترین عامل مرگ و میر در این شرایط، نوسانات pH می‌باشد (Stewart and Long, 2011). در این تحقیق میزان تغییرات pH آب بسیار جزئی بوده و تقریباً در حد ۶-۷ قرار داشت. از نظر زمان تشکیل باند OTC باید گفت که اولین علامت در حاشیه بیرونی اتولیت در ابتدای ماه ششم دیده می‌شود. البته از ماه چهارم این علامت در خارجی‌ترین لبه اتولیت شکل می‌گیرد ولی بعلاوه اضافه نشدن منطقه رشد بعد از آن، بسختی می‌توان آن را تشخیص داد. شکل‌گیری باند مربوط به علامت‌گذاری دوم هم مشابه باند اول است و تفاوت زیادی با هم ندارند. برای مقایسه زمان شکل‌گیری باندهای OTC روی ساختمان‌های سخت بدن تحقیقی انجام شد و نتایج نشان داد که زمان لازم برای تشکیل این حلقه‌ها روی اتولیت‌ها کمتر از زمان شکل‌گیری آنها بر روی خارها و شعاع باله‌ها می‌باشد (Sakarlis and Irwin, 2008). معمولاً در شرایطی که زنده نگه داشتن ماهیان مهم باشد از ردیابی علائم OTC در ساختمان‌های شعاع یا خار باله‌ها استفاده می‌شود ولی حلقه‌های OTC به روشنایی و نور حساس هستند و قرار

گرفتن زیاد این اندام‌ها در نور موجب کاهش وضوح و تشخیص آنها می‌شود (Tanaka *et al.*, 1981). زمان ماندگاری علائم روی خارها و شعاع باله‌ها نسبت به اتولیت‌ها کمتر است ولی در استفاده از این ساختمان‌ها ماهی کشته نمی‌شود. در مجموع در بین ساختمان‌های سخت بدن اتولیت‌ها بدلیل اطمینان بیشتر به نتایج حاصله، ترجیح داده می‌شوند (Blom *et al.*, 1994). علامت‌گذاری مهره‌ها با اکسی تتراسایکلین به سختی جواب می‌دهد (Rojas-Beltran *et al.*, 1995) و تشکیل باندها و حلقه‌های مربوط به OTC بر روی مهره‌ها تنها در حالت استفاده از روش تغذیه‌ای گزارش شده است ولی در اغلب موارد نتایج بدست آمده انتظارات را برآورده نکرده است (Pedersen and Carlsen, 1991; Nordeide *et al.*, 1992). موضوع حائز اهمیت بدست آوردن میزان OTC موثر در ساختمان‌های سخت بدن است که معمولاً بسته به میزان شوری و درجه حرارت آب می‌تواند متغیر باشد. لازم به یادآوری است که از بین روش‌های مختلف علامت‌گذاری مانند تزریق، تغذیه همراه با غذا و حمام دادن، استفاده از حمام برای بچه ماهیان ترجیح داده می‌شود (Blom *et al.*, 1994). علامت‌گذاری بچه ماهیان معمولاً همراه با استرس است که به حداقل رساندن آن ضروری است. در همین رابطه برای کاهش آن سعی می‌شود طول دوره این روش به حداقل زمان ممکن برسد (Tzeng and Yu, 1989). کاهش زیاد زمان حمام دادن بچه ماهیان نیز ممکن است مانع از شکل‌گیری حلقه‌های OTC شود (Tsukamoto, 1985) ولی دوره‌های بیش از ۲۴ ساعت توصیه نشده است (Tanaka *et al.*, 1981). در این تحقیق از محلول ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اکسی تتراسایکلین با pH حدود ۶ تا ۷ در دوره‌های ۶ ساعته استفاده شد که نتایج بدست آمده مناسب بود و برای بچه ماهیان گونه کپور قابل توصیه است.

تشکر و قدردانی

از مدیریت محترم مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی و همکاری صمیمانه کارشناسان محترم ایستگاه تحقیقاتی قره سو در اجرای پروژه و سایر همکاری‌هایی که در انجام این تحقیق همکاری داشتند سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

شاهی فر، ر.، ۱۳۷۳. پلاک‌گذاری ماهی سفید (*Rutilus frisii Kutum*) در دریای مازندران. مرکز تحقیقات شیلات استان گیلان. ۵۰ صفحه.

فدائی، ب.؛ پورکاظمی، م.؛ بهمنی، م.؛ پرنده‌آور، ح.؛ نوعی، م. جوشیده، ه. و ایمانپور، ج.، ۱۳۸۱. بررسی رهاکرد بچه ماهیان خاویاری از ابتدای رهاکرد تا ورود به دریا. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۲۳۶ صفحه.

فدائی، ب.؛ پورکاظمی، م. و نظامی، ش.؛ ۱۳۸۲. مدت زمان طی شده جهت رسیدن اکثریت بچه ماهیان خاویاری به مصب سفیدرود. مجله علمی شیلات ایران. ویژه نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری. ۸ صفحه.

فدائی، ب.؛ جوشیده، ه.؛ توکلی، م. و بهروز خوشقلب، م. ۱۳۸۴. گزارش رهاکرد بچه ماهیان خاویاری از مراکز تکثیر و پرورش شهید بهشتی و شادروان دکتر یوسفپور در سال (۱۳۸۴). انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری. صفحات ۳-۱.

Babaluk, J. A., and J. F. Craig. 1990. Tetracycline marking studies with pike, *Esox lucius* L. *Aquaculture and Fisheries Management* 21:307–315.

Blom, G., Nordeide, J. T., Svas, T., and Borge, A. 1994. Application of two fluorescent chemicals, alizarin complexone and alizarin red S, to mark otoliths of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25: 229–243.

Bumgardner, B. W., 1991. Marking subadult red drums with oxytetracycline. *Transactions of the American Fisheries Society* 120, 537–540.

Butcher, A., Mayer, D., Willet, D., Johnston, M. & Smallwood, D., 2003. Scale pattern analysis is preferable to OTC marking of otoliths for differentiating between stocked and wild dusky flathead, *Platycephalus fuscus*, and sand whiting, *Sillago ciliata*. *Fisheries Management and Ecology* 10, 163–172.

Cormen, T., Leiserson, C., Rivest, R., Stein, C., 2009. *Introduction To Algorithms*, third ed. The MIT Press, Cambridge. Degens, E.T., W.G. Deuser, and R.L. Haedrich. 1969. Molecular Structure and Composition of Fish Otoliths. *Marine Biology* 2:105-113.

Jenkins, W. E., Denson, M. R., Bridgham, C. B., Collins, M. R. & Smith, T. I. J., 2002. Retention of oxytetracycline-induced marks on sagittae of red drum. *North American Journal of Fisheries Management* 22, 590–594.

Jones, B. W. and B. C. Bedford., 1968. Tetracycline Labelling as an Aid to Interpretation of Otolith Structures in Age Determination - a progress report. ICES CM 1968/GEN: 11:3 p. Lombarte & Lleonart, 1993.

Murphy, M. D. and Taylor, R. G., 1991. Direct validation of ages determined for adult red drums from otolith sections. *Transactions of the American Fisheries Society* 120, 267–269.

Pedersen, T. and Carlsen, B., 1991. Marking cod (*Gadus morhua* L.) juveniles with oxytetracycline incorporated into the feed. *Fisheries Research* 12, 57–64.

- Rojas-Beltran, R., Gillet, C. and Champigneulle, A., 1995. Immersion mass-marking of otoliths and bone tissue of embryos, yolk-sac fry and fingerlings of Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L). *Nordic Journal of Freshwater Research* 71, 411–418.
- Ross, J. L., Stevens, T. M. and Vaughan, D. S., 1995. Age, growth, mortality and reproductive biology of red drums in North Carolina Waters. *Transactions of the American Fisheries Society* 124, 37–54.
- Sakaris, P. C., and E. R. Irwin. 2008. Validation of daily ring deposition in the otoliths of age-0 channel catfish. *North American Journal of Fisheries Management* 28:212–218.
- Salminen, M; Alapassi, T. & Ikonen, E. 2007. The importance of stocking age in the enhancement of River Kymijoki salmon (*Salmo salar*). *Journal of applied ichthyology* 23:46-52.
- Stewart, D. R., and J. M. Long. 2011. The efficacy of mass-marking channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings using oxytetracycline. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science* 91:31-36.
- Szedlmayer, S. T. and S. G. Beyer, 2011. Validation of annual periodicity in otoliths of red snapper, *Lutjanus campechanus*. *Environ Biol Fish* (2011), 91:219–230 .Department of Fisheries and Allied Aquacultures, Auburn University,
- Tanaka, K., Mugiya, Y. and Yamada J. 1981. Effects of photoperiod and feeding on daily growth patterns in otoliths of juvenile *Tilapia nilotica*. *Fish. Bull.* 79, 459-466.
- Taylor, M. D., D. S. Fielder and I. M. Suthers, 2005. Batch marking of otoliths and fin spines to assess the stock enhancement of *Argyrosomus japonicus*. *Journal of Fish Biology* (2005) 66, 1149–1162
- Tsukamoto, K., 1985. Mass-marking of ayu eggs and larvae by tetracycline-tagging of otoliths. *Nippon Suisan Gakkaishi* 51, 903–911.
- Tzeng WN, SY Yu. 1989. Validation of daily growth increments in otoliths of milkfish larvae by oxytetracycline labeling. *Trans. Am. Fish. Soc.* 118: 168-174.