View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Aquatic Commons

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

عنوان:

بررسی الگوی رشد از طریق تشکیل حلقه‌های رشد در ماهیان استخوانی دریای خزر
فاز ۱ : ماهی کپور

مجری:
فرخ پرافکنده حقیقی

شماره ثبت
۴۹۷۰۰

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی

عنوان پروژه : بررسی الگوی رشد از طریق تشکیل حلقه‌های رشد در ماهیان استخوانی دریای خزر فاز ۱ : ماهی کپور
شماره مصوب پروژه : ۸۹۱۴۳-۱۲-۷۷-۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : فرخ پرافکنده حقیقی
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : فرخ پرافکنده حقیقی
نام و نام خانوادگی همکار(ان) : فرهاد کیمرام ، غلامعلی بندانی، کامران عقیلی، سعید یلقی، سیدمصطفی عقیلی نژاد، حسن فضلی، تورج ولی نسب، شهرام قاسمی، عباس طالب زاده، غلامرضا دریانبرد
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : شهرام عبدالملکی
محل اجرا : استان گلستان
تاریخ شروع : ۸۹/۱۰/۱
مدت اجرا : ۳ سال و ۴ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار : سال ۱۳۹۵
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : بررسی الگوی رشد از طریق تشکیل حلقه‌های رشد در ماهیان استخوانی دریای خزر فاز ۱ : ماهی کپور

کد مصوب : ۸۹۱۴۳-۱۲-۷۷-۲

شماره ثبت (فروست) : ۴۹۷۰۰ تاریخ : ۹۵/۴/۲

با مسئولیت اجرایی جناب آقای فرخ پرافکنده حقیقیدارای مدرک تحصیلی دکتری در رشته بیولوژی دریا می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بیولوژی و ارزیابی ذخایر آبزیان در تاریخ ۹۵/۲/۱۹ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد ■ پژوهشکده □ مرکز □ ایستگاه □

با سمت عضو هیئت علمی در موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور مشغول بوده است.

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۱-۱- علامت گذاری ۲
۱-۲-کاربرد علامت گذاری در مطالعات رشد ۱۲
۲- مواد و روش ها ۱۷
۳-نتایج ۲۱
۱-۳- رابطه طول و وزن ۲۱
۴- بحث ۲۴
۵- جمع‌بندی ۲۶
منابع ۲۷
چکیده انگلیسی ۳۲

چکیده

مطالعه حاضر طی سالهای ۹۲-۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقاتی قره سو انجام شد. تعداد ۲۵۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به روش حمام دادن با اکسی تتراسیکلین (pH=6 ; ۵۰۰ mg/l) علامت گذاری شدند. بچه ماهیان انگشت قد کپور دارای طول چنگالی ۱۲-۱۰ میلی متر و وزن ۴-۲ گرم بودند و روزی دو بار غذادهی شدند. مرحله اول علامت گذاری اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۱، مرحله دوم در آبان ماه همان سال و مرحله سوم علامت زدن هم در تیر ماه سال ۹۲ صورت گرفت. اتولیت ها بعد از استخراج با آب معمولی شست و شو داده شده و در هوای آزمایشگاه خشک شدند. برای مشاهده حلقه های علامت گذاری شده از لوپ های آزمایشگاه های با بزرگنمایی ×۱۰ و ×۴۰ استفاده شد. نتایج نشان داد بعد از شش ماه از اولین علامت گذاری بچه ماهیان کپور، نوار باریکی در لبه انتهایی اتولیت قابل مشاهده است که نشان می داد اکسی تتراسایکیلین جذب شده بتازگی در لبه خارجی اتولیت شکل گرفته است. در علامت گذاری بچه ماهیان کپور با روش حمام دادن OTC هیچگونه مرگ و میری دیده نشد. از نظر زمان تشکیل باند OTC باید گفت که اولین علامت در حاشیه بیرونی اتولیت بعد از ماه ششم دیده می شود. البته از ماه چهارم این علامت در خارجی ترین لبه اتولیت شکل می گیرد ولی بعلت اضافه نشدن منطقه رشد بعدی بسختی می توان آن را تشخیص داد. شکل گیری باند مربوط به علامت گذاری دوم هم مشابه باند اول است و تفاوت زیادی با همدیگر ندارند.

لغات کلیدی: کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، اکسی تتراسیکلین، علامت گذاری، اتولیت، رشد

۱- مقدمه

بهره برداری از ذخایر ماهیان دریای خزر در ایران سابقه طولانی دارد. این ذخایر به سه گروه ماهیان خاویاری، استخوانی و کیلکا تقسیم می شوند. ماهیان استخوانی عمدتا" شامل کپور ماهیان (ماهی سفید، کپور، کلمه و سیاه کولی، شاه کولی و...)، کفال ماهیان، سوف و ... می باشند. ماهی سفید و کفال ماهیان به تنهائی بیش از ۹۰ درصد صید ماهیان استخوانی را تشکیل می دهند (دریانبرد و همکاران،۱۳۸۸).. ماهی سفید (*Rutilus frisii* kutum) گونه غالب صید ماهیان استخوانی را تشکیل داده و هر ساله حدود ۱۰۰۰۰ تن، یعنی بیش از ۵۰ درصد از صید کل ماهیان استخوانی، را بخود اختصاص می دهد (عبدالملکی و غنی نژاد ۱۳۸۶، دریانبرد و همکاران،۱۳۸۸). ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) بعنوان یکی از گونه های با ارزش ماهیان استخوانی در بخشهای جنوب شرقی، جنوب غربی و غرب دریای خزر پراکنش دارد (قلی اف، ۱۹۹۷). این ماهیان اغلب همه چیزخوار بنتیک بوده و بطور انتخابی از نرمتنانی که در بستر زندگی می کنند تغذیه می کند (Lammens & Hoogenboezem, 1991).

با وجود تنوع زیستی منحصر به فرد دریای خزر، بدلیل مشکلات روزافزون زیست محیطی، بتدریج گونه های با ارزش آبزی با کاهش جمعیت روبرو شده و حتی شماری از آنها نیز در معرض انقراض قرار گرفته اند (Kiabi et al., 1999). رودخانه ها و تالاب های منتهی به این دریا، که محل مناسبی برای تخم ریزی ماهیان رود کوچ و نوزادگاه های مطمئن انواع ماهیان محسوب می گردند، اغلب دارای شرایط نامناسبی هستند. ظرفیت محدود تکثیر طبیعی، علاقه روز افزونی در افزایش ذخایر از طریق رها سازی بچه ماهی در دریا بوجود آورده است بخصوص بعد از اثرات مثبت رها سازی بر افزایش ذخایر بوجود آمده است. لذا، بتدریج یکی از اهداف و رویکردهای مهم مدیریت صید و ماهیگیری، بازسازی ذخایر از طریق ماهی‌دار کردن محیط های آبی شده است (Salminen et al., 2007). معمولا در بازسازی ذخایر برای ارزیابی عملکرد تولید و سهولت در دستیابی به اهداف از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که یکی از آنها علامت‌گذاری در ماهیان می باشد.

۱-۱- علامت گذاری

کاربرد علامت گذاری ماهیان در مطالعات ماهی شناسی در جهان دارای سابقه ای بیش از ۱۰۰ سال است. اولین بار در سال ۱۸۹۰ علامت گذاری بر روی ماهیان توسط Peterson بکار گرفته شد و سپس خود او در سال ۱۸۹۶ تئوری تگ گذاری را برای برآورد میزان ذخایر و فراوانی جمعیت ها بنا نهاد (Rien et al., 1994). علامت‌گذاری روشی مناسب برای مطالعه ذخایر است (Blankenship & Leber, 1995) . این روش اجازه برآورد میزان بقاء و رشد ماهیان را می‌دهد. روش‌های متنوعی برای علامت‌گذاری وجود دارد که از ماهیان جوان تا بالغ را پوشش می‌دهد ولی در بکارگیری آن سعی می‌شود روش ارزان تر با توانایی علامت‌زنی تعداد زیاد ماهی انتخاب شود. علامت های خارجی که روی ماهی قرار می گیرند معمولا" برای ماهیان جوان و انگشت قد، بزرگ و دست و پا گیر هستند و به همین خاطر بیشتر در ماهیان با وزن بیش از ۵۰ گرم استفاده می شوند (Svasand et al., 1990) . علامت

هایی از نوع سیم های باریک اصولا" برای مطالعات تشخیص ذخایر بکار می روند ولی دارای هزینه بالایی هستند (Buckley & Blankenship, 1990). علائم ژنتیکی هم از نوع علامت های گران قیمت محسوب می شوند که مسلما" در علامت گذاری تعداد زیاد ماهی یک عامل محدود کننده محسوب می شود (Utter, ۱۹۹۸). علامتگذاری در ماهیان به شکل های مختلف و وسایل متنوعی صورت می گیرد، که معمولا" تگ های مکانیکی(Mechanical Tags) ، تگ های شیمیایی (Chemical Tags) و تگ های الکترونیکی (Electronic Tags) معمول تر هستند. در ذیل به تعدادی از روش های علامتگذاری اشاره می شود :

۱-۱-۱- قطع باله سینه ای

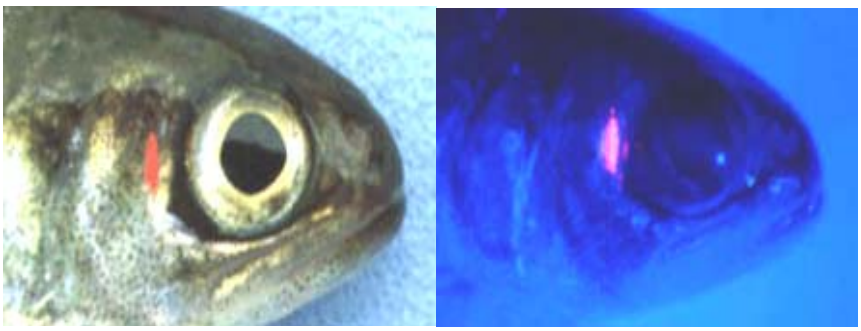
قطع باله سینه ای بدلیل ترمیم بخش قطع شده و یا فرسایش باله ماهی در سنین بالا مشکلاتی را در تشخیص و شناسایی مجدد آنها فراهم می سازد (Milstein, 1957) . همچنین در برخی موارد کندن اولین شعاع باله سینه ای منجر به مرگ و میر قابل توجهی از ماهیان در طی یکسال می شود (Kohlhorst, 1979) .

۱-۱-۲- درآوردن پلاکهای پشتی

درآوردن تعدادی از پلاکهای پشتی در برخی از ماهیان معمول است. برای مثال در ماهی *Acipenser transmontanus* با روش یاد شده اثر و ماندگاری علامت ایجاد شده بیش از ۲ سال بوده است (Rien et al., 1994).

۱-۱-۳- استفاده از مواد رنگی

روش دیگراستفاده از ماده شیمیایی رنگی است که معمولا" بصورت تزریقی در زیر پوست ماهی استفاده می شود. در خصوص مدت زمان ماندگاری علامت در ماهیان گزارشات مختلفی ارائه شده است(Rien et al., 1994) ، بطور مثال علامت استفاده شده در تاسماهی (*Acipenser brevirostrum*) بعد از ۴ ماه و یا در تاسماهی سفید بعد از یکسال به راحتی قابل تشخیص بود (Smith et al., 1990; Bordner et al., 1990) .



شکل ۱-۱. تزریق زیر پوستی مواد شیمیایی در محل سرپوش آبششی

۴-۱-۱- استفاده از مواد رادیو اکتیو

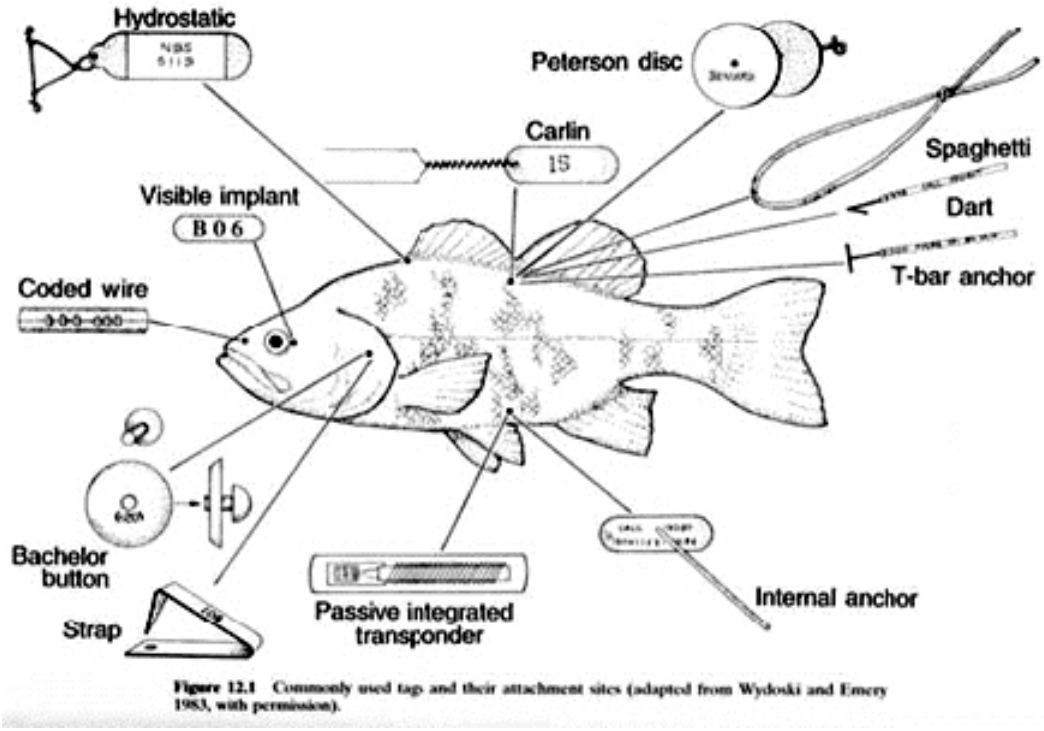
اصولا" این روش بخاطر خطرات استفاده از مواد رادیواکتیو مورد توجه جدی قرار نمی‌گیرد ولی استفاده از کربن رادیواکتیو برای تائید سن‌های تعیین شده، بخصوص در ماهیان طولانی عمر، از زمان آزمایش بمب اتمی اهمیت خود را نشان داد. جرقه این کار بعد از یک آزمایش اتمی در اواخر دهه ۱۹۵۰ زده شد. بطوریکه بعد از این آزمایش یک افزایش ناگهانی در میزان C_{14} اتمسفر دیده شد و خود آن هم توسط مرجان ها، دوکفه ای ها، ماهیان و سایر موجودات زنده ای جذب شد که در حال رشد بودند. لذا، این دوره زمانی را مشابه عمل یک آزمایشگاه در علامت گذاری و نشان دار کردن موجودات زنده با استفاده از مواد شیمیایی در یک مقیاس بزرگ تر می دانند (Kalish, 1993 ; Kalish et al., 1996; Campana, 1999; Campana & Jones, 1998). در حقیقت در اتولیت این ماهیان یک علامت شیمیایی است که مربوط به افزایش میزان C_{14} بر اثر آزمایش‌های بمب اتمی است. بررسی ها نشان داده است که هسته اتولیت تمام ماهیانی که قبل از سال ۱۹۵۸ از تخم درآمده یا متولد شده‌اند، مقداری جزئی از کربن ۱۴ دارند. در حالیکه این میزان در ماهیانی که بعد از سال ۱۹۶۸ از تخم درآمده اند، بسیار بالاست. میزان کربن ۱۴ در ماهیانی که در دوره انتقال و محدوده بین این دو دوره متولد شده اند، مقداری متوسط از این دو مقدار است. در یک نتیجه گیری می توان گفت که تفسیر رخدادهای مربوط به دوره افزایش کربن ۱۴ و میزان آن در هسته اتولیت های نمونه ها چندان پیچیده نخواهد بود. در واقع، بکارگیری این روش در گونه های کوتاه عمر (با طول عمر کمتر از ۵ سال) خیلی مفید نخواهد بود ; (Campana & Jones, 1998 . Kalish, 1993) در این روش از زوال تدریجی مواد رادیواکتیو استفاده می شود. یعنی با توجه به مشخص بودن نیمه عمر این مواد، با ردیابی آنها در اتولیت ها می توان به زمان سپری شده دست یافت. از مشکلات عمده این روش، تراکم پائین این عناصر است که سبب می شود اندازه گیری آنها توأم با مشکلاتی باشد. بکارگیری این روش در گونه های طولانی عمر بسیار مناسب و مفید خواهد بود.

۵-۱-۱- قطع سبیلک

قطع سبیلک یکی از روشهای معمول علامتگذاری در تاسماهیان پرورشی محسوب می شود. اکثر محققین گزارش می کنند که سبیلک قطع شده مجدداً رشد نمی کند. در یک تجربه شش ماهه در تاسماهی سفید مشخص شد که سبیلک های قطع شده رشد نمی کنند. همچنین در مطالعه ای دیگر بر روی فیلماهی معلوم گردید که سبیلک قطع شده ترمیم نمی شود و قطع آن بر روی بازماندگی و یا رفتار تغذیه ای هیچ تاثیری نمی گذارد .

۶-۱-۱- وصل علائم خارجی

تگ های خارجی در بخشهای مختلف بدن ماهی قرار می گیرند و دارای انواع متنوعی مثل spaghetti tag , T-Anchor Carlin Dart tag, Archer و PIT هستند.



شکل۱-۲. تگ های معمول مورد استفاده در ماهیان همراه با محل های اتصال آنها

هر کدام از تگ ها دارای محاسن و معایبی هستند که طبیعتا" بسته به اهداف مطالعات انتخاب می شوند. بطور مثال تگهای Spaghetti در طول زمان از بدن ماهی جدا می شوند و برای مطالعات دراز مدت مطلوب نیستند .(Chadwick, 1959)ماهیانی که با تگ Carlin علامتگذاری می شوند، مدتی نگهداری می شوند تا محل زخم بهبود یابد. مشکل بعدی در خصوص تگCarlin ، ناخوانا شدن شماره‌ها به مرور زمان است . (Smith et al., 1990)

شکل۱-۳. تگ های سیمی کد دار بعنوان تگ خارجی

این مشکل در تگهای Spaghetti نیز دیده می‌شود وعلاوه بر ایجاد زخم بر روی بدن، خواندن تگ در طول زمان با مشکل مواجه خواهد شد .(Rien et al., 1994) تگ‌های PIT نیز در به صورت گسترده استفاده می‌شود ولی بدلیل قیمت بسیار بالا، اندازه بزرگ، نیاز به تجهیزات الکترونیکی پیشرفته و ... کاربرد محدودی دارد (Smith et al., 1990) .

۷-۱-۱- تگهای سیمی دارای کد (Coded Wire Tags)

یکی از متداولترین روشهای علامت گذاری استفاده از تگهای سیمی کددار مغناطیسی (CWT) می باشد که در قسمتهای مختلف بدن ماهی در زیر پوست قرار می گیرند. مطالعات زیادی در خصوص کاربرد تگ های CWT روی آزاد ماهیان مهاجر صورت گرفته است (Johnson, 1990) . این میکرو تگ ها اطلاعات را بصورت کد در خود دارند و برای مطالعات مربوط به بازماندگی و بازگشت شیلاتی ماهیان رهاسازی شده، بسیار مناسب هستند .(Bordner et al., 1990)

۸-۱-۱- تگهای الکترونیکی

این نوع تگ ها بیشتر برای ردیابی و مطالعه مسیرهای مهاجرتی و بررسی رفتاری ماهیان بصورت انفرادی کاربرد دارند. هزینه بالای آنها باعث شده تا تنها در کشورهای پیشرفته از آنها استفاده شود. اولین تجربه در بکارگیری این نوع از تگ های ردیابی (استفاده از امواج اکوستیک) در سال ۱۹۵۶ برای بررسی مهاجرت ماهی آزاد در رودخانه کلمبیا استفاده شده است (Trefethen 1956; Trefethen et al., 1957) . در سال ۱۹۶۸ از امواج رادیویی استفاده شد (Lonsdale and Baxter 1968) و امروزه بیش از ۳۰ شرکت بین المللی مشغول ساخت و تولید وسایل و تجهیزات مربوط به ردیاب های الکترونیکی هستند. انواع مختلفی از تگ ها و ردیاب های الکترونیکی هستند که بخشی از آنها بشرح ذیل می باشد :

Radio and acoustic transmitters
Acoustic transmitters
Sensors tags
Data storage tags
Pop-up satellite tags
PIT-tags

شکل ۱-۴. انواع مختلفی از تگ های الکترونیکی به عنوان تگ خارجی

۹-۱-۱- علامت های شیمیایی

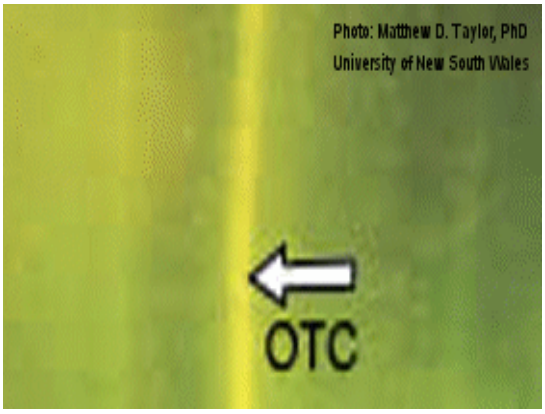
ساختمان های سخت ماهیان را می توان با استفاده از مواد شیمیایی علامت گذاری کرد. علائم شیمیایی در واقع یکسری مواد شیمیایی هستند که با کلسیم موجود در ماتریکس اتولیت یا هر ساختمان استخوانی دیگر ترکیب شده و به صورت علائمی مشخص، خود را نشان می دهند. از آنجاییکه امکان تغییر در میزان رشد ماهیان علامت‌گذاری شده وجود دارد، گفته می شود که رشد محاسبه شده برای این ماهیان نمی‌تواند نشان دهنده میزان رشد واقعی آنها باشد (Jones & Jonsson, 1971).

علامت گذاری اتولیت‌ها با استفاده از تغییر حرارت، روشی عمومی محسوب می شود ولی گاهی نیاز به این است که یک ماهی وحشی خیلی سریع علامت گذاری شود. در سال ۱۹۶۳، Novotny و Trefethen استفاده از ایزوتوپ های پایدار را پیشنهاد کردند. از آن زمان، تحقیقات متعددی در مورد علامت گذاری آزاد ماهیان با مواد شیمیایی بخصوص مواد دارای خاصیت فلورسنتی صورت گرفته است که با درجات متفاوتی از موفقیت همراه بوده است. در واقع، استفاده گسترده از این روش با توجه به ارزیابی هزینه آن و همچنین مجوز نهادها و سازمان های مربوطه خواهد بود که اجازه کاربرد این مواد را در مواد غذایی صادر می کنند. در اولین تجربه برای نشان دار کردن ساختمان های سخت بدن، از استات سرب[1] استفاده می شد که به علت داشتن خاصیت سمی، تمایل زیادی برای تدوام آن وجود نداشت. امروزه برای اینکار از ترکیبات تتراسایکلین[2] بصورت خیلی وسیع استفاده می شود.

قرار گرفتن این ماده در فهرست داروهای آنتی بیوتیک و حالت ثبات و پایدار آن در شکل جامدش، از امتیازات ویژه آن محسوب می شود. اکسی تتراسایکلین، کلروتتراسایکلین و دی متیل کلرو تتراسایکلین از مواد آنتی بیوتیک محسوب می شوند که با نور ماوراء بنفش مطالعه می شوند. اکسی تتراسایکلین روی شعاع باله ها و

[1]. Lead acetate
[2] .Tetracycline

استخوان های سر خوب اثر کرده و علائم واضحی را ایجاد می کند.ترکیباتی مثل فلئورسین و کلسین[۳] نیز دارای علائم فلورسانس هستند.



شکل ۱-۵. علامت گذاری اتولیت گونه ای از آزاد ماهی با استفاده از اکسی تتراسایکلین

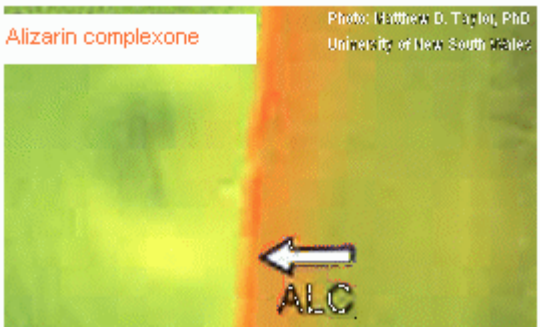
منبع: North Pacific Anadremous Fish Commission, 2006

استازولامید[۴] از مواد شیمیایی دیگری است که برای علامت گذاری استفاده می شود، ولی به دلیل افزایش میزان مرگ و میر استفاده وسیعی ندارد (Morales-Nin, 1992). تتراسایکلین به صورت نمک محلول استفاده می شود و باید توجه داشت که بعد از تهیه، به سرعت استفاده شود. این محلول در صورتیکه در یخچال نگهداری شود می تواند طی یک دوره بیست و چهار ساعته مصرف شود (Agger et al., 1974). تتراسایکلین توسط موجودات زنده به آسانی جذب می شود و در ساختمان های استخوانی که خوب آهکی شده اند ذخیره می شود. تتراسایکلین با کلسیم و منیزیم ترکیب شده و زیر نور ماوراء بنفش و میکروسکوپ فلورسانس به شکل حلقه های زرد در زمینه سبز دیده می شوند. تتراسایکلین توسط نور از بین می رود و به همین علت بایستی ساختمان های حاوی آن را در تاریکی نگه داری کرد. اکسی تتراسایکلین در ماهیان بزرگ حداقل ۵ سال دوام می آورد. تتراسایکلین در ماهیان استخوانی به صورت حلقه های زرد شفاف در نور ماوراء بنفش دیده می شود و به سهولت قابل تشخیص است. معمولاً میزان اضافی این ماده در طول یک ماه از بدن ماهی دفع می‌شود. در الاسموبرانش ها که بیشتر دارای ساختمان غضروفی هستند، رد یابی تتراسایکلین عملی نیست (Agger et al., 1974). برای بدست آوردن میزان مطلوب و مورد نیاز تتراسایکلین، معمولا" آزمایشهای مختلفی با استفاده از تانک های نگهداری ماهی صورت می گیرد. معمولاً تتراسایکلین بصورت اکسی تتراسایکلین یا تتراسایکلین هیدروکلراید با غذای ماهی مخلوط می شود یا با تزریق داخلی ۲۵-۳۰mg/kg در روز استفاده می شود. اصولا" مصرف و کاربرد این مواد در ماهیان بزرگ به شکل تزریقی است ولی در ماهیان جوان می توان به کمک غذا هم استفاده کرد. در ماهیان خیلی جوان و لاروها، آنها را در محلول غوطه ور کرده و حمام می دهند. لاروها و

[3]. Calcein
[4]. Acetazolamide

ماهیان جوان در ۵۰۰mg تتراسایکلین محلول در آب بهمراه ۳/۵درصد بافر Nacl با pH=6-6/2 به مدت ۱۲۰ دقیقه غوطه ور شده یا حمام داده می شوند. بکارگیری این روش نیازمند بازگیری و صید مجدد ماهیانی است که علامت گذاری شده اند. از تجربه های ارزشمند استفـاده از این روش می توان به علامتگذاری ماهـی Cod در دریای شمـال (Jones & Bedford, 1968) و سفره ماهی (Holden & Vince, 1973) اشاره کرد.

درعلامت گذاری های شیمیایی از موادی مثل کلسین و استرانتیوم و آلیزارین هم استفاده می شود. آلیزارین برای اولین بار توسط ژاپنی ها جهت علامت گذاری نوعی آزاد ماهی[5] استفاده شد. برای این کار، تخم ها را ۲۴ ساعت در محلول آلیزارین (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) به همراه هیدرواکسید پتاسیم نرمال قرار می دهند. علائم فلئورسنتی تشکیل شده با میکروسکوپ مجهز به نور ماوراء بنفش مطالعه می شوند (شکل شماره ۳).



شکل ۱-۶. علامت گذاری اتولیت گونه ای از آزاد ماهی با استفاده از آلیزارین

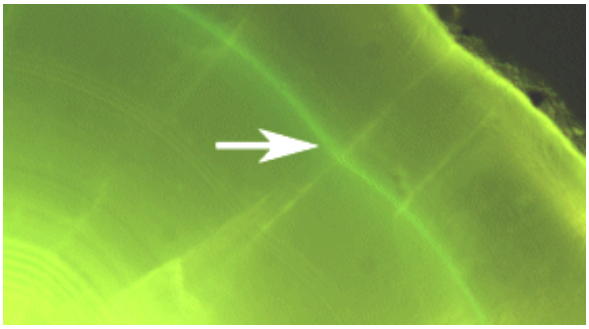
منبع: North Pacific Anadremous Fish Commission, 2006

کلسین[6] هم از جمله مواد شیمیایی است که برای علامت گذاری ماهی استفاده می شود. هنگامیکه ماهی تحت تاثیر این ماده شیمیایی قرار می گیرد، این ماده در ساختمان های آهکی مثل اتولیت ها، شعاع باله ها و مهره ها جای می گیرد. از ویژگی های مهم این ماده، ثبات آن است که با افزایش سن از میزان آن کم نمی شود. کلسین با استفاده از میکروسکوپ مجهز به نور ماوراء بنفش، خاصیت فلورسنتی خود را آشکار می‌سازد (شکل شماره ۱-۴).

آزادماهیان را در هر مرحله از حیات آنها، می توان به راحتی و با موفقیت با کلراید استرونتیوم[7] علامت گذاری کرد. برای مطالعه علائم مربوط به استرونتیوم نمی توان از میکروسکوپ های معمولی‌استفاده کرد (شکل شماره۱-۵). این علائم با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مجهز به ردیاب Back Scatter قابل مطالعه خواهند بود. گاهی برای علامت گذاری اتولیت از محلول آستولامید[8] ۱۲۵ppm بمدت ۱۸ ساعت استفاده می‌شود که در

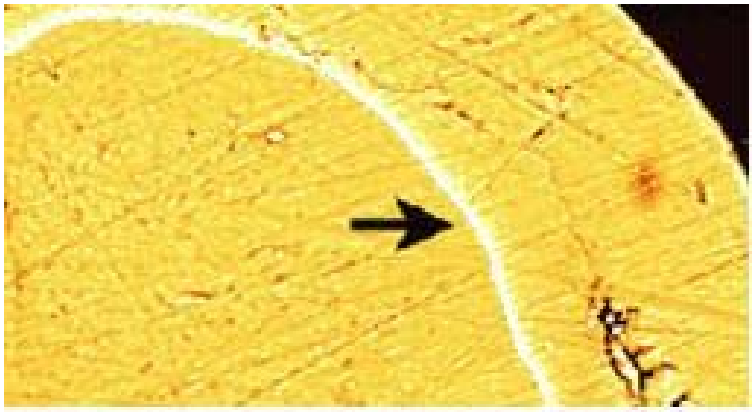
5. Chum Salmon
6. Calcein
7. Strontium
8. Acetazolamide

حقیقت استفاده از این ترکیب موجب توقف رشد بصورت قابل ملاحظه‌ای می شود و می توان آن را بررسی و پیگیری کرد.



شکل ۱-۷. علامت گذاری اتولیت گونه ای از آزاد ماهی با استفاده از کلسین

منبع:North Pacific Anadremous Fish Commission, 2006

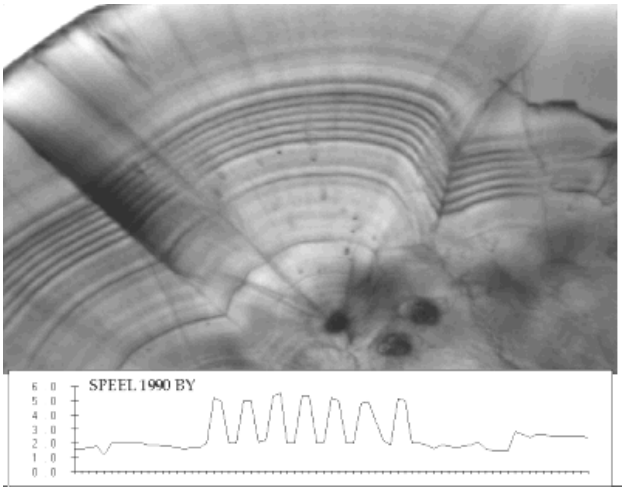


شکل ۱-۸. علامت گذاری اتولیت گونه ای از آزاد ماهی با استفاده از استرونتیوم

منبع: North Pacific Anadremous Fish Commission, 2006

علامت گذاری دمایی[9] هم از روش های دیگر علامت گذاری محسوب می شود. نوسانات درجه حرارت محیط و کاهش دما موجب تشکیل حلقه های مشخصی روی اتولیت می‌شود که براحتی قابل شناسایی هستند (شکل شماره ۱-۶).

[9]. Thermal Marking



شکل ۱-۹. علامت گذاری حرارتی در اتولیت ماهی Sockeye Salmon. **این علامت شامل یک باند ۷ حلقه ای است که شامل دو روز با درجه حرارت بالا که با دو روز با درجه حرارت پائین دنبال می شود.**

منبع:North Pacific Anadremous Fish Commission, 2006

از انواع علامت گذاری اتولیت ها می توان به استفاده از تغییرات دوره ای سطح آب طی مرحله انکوباسیون هم اشاره کرد که در اصطلاح «Dry Marking» نامیده می شود.

زدن علامت شیمیایی به ماهی و صید مجدد آن بعد از مدت زمان مشخص از بهترین روش های کاربردی برای تائید و تصدیق، سن تعیین شده بشمار می رود. اساس این کار، ترکیب مواد شیمیایی مثل اکسی تتراسایکلین، آلیزارین، کلسین و غیره با کلسیم است. برای نشان دار کردن ماهیان با مواد شیمیایی می توان از غوطه وری، تزریق یا حتی از تغذیه استفاده کرد. نتیجه این کار ایجاد یک علامت دائمی و قابل رویت است که به کمک نور فلئورسنت دیده می‌شود و حلقه های رشدی که بعد از این علامت تشکیل می‌شوند، نشان دهنده دوران رهاسازی در محیط طبیعی بعد از نشان دار کردن است.

از نظر سابقه کاربرد روش علامت گذاری در کشور ما باید به علامت گذاری بچه ماهیان خاویاری و ردیابی آنها تا مصب رودخانه با روشهای قطع باله سینه ای و قطع سبیلک برای تعیین مسیر حرکت بچه ماهیان و مطالعه وضعیت تغذیه (فدائی و همکاران، ۱۳۸۱)، 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 پلاک گذاری ماهی سفید (*Rutilus frisii* kutum) با استفاده از تگ های T-bar Anchor، Dart Tag، Floy FTF-69 و Flag Tag در جهت دستیابی به ضریب بازگشت شیلاتی ماهی سفید (شاهی فر، ۱۳۷۳) و نیز فاز اول علامت گذاری بچه ماهیان خاویاری با روش CWT در جهت برآورد ضریب بازگشت شیلاتی ماهیان خاویاری (فدائی و همکاران،۱۳۸۴) اشاره کرد.

۲-۱- کاربرد علامت گذاری در مطالعات رشد

ماهی در طول زمان رشد می کند که به صورت افزایش طول یا وزن دیده می شود و میزان رشد در ارتباط با یکسری عوامل محیطی و پتانسیل ژنتیکی آن موجود خواهد بود. برآورد رشد با استفاده از روش های مختلف امکان پذیر است. دسترسی به مواد غذایی و فراوانی آن، طول دوره های نوری یا باصطلاح «مدت روشنایی در مقایسه با مدت تاریکی»، درجه حرارت آب، میزان اکسیژن محلول در آب و... از جمله عوامل مهم و تاثیر گذار در رشد آبزیان محسوب می شوند(Jones & Jonsson, 1971). ولی ازبین آنها، اهمیت درجه حرارت آب و طول دوره روشنایی بیشتر است. طول دوره روشنایی می تواند از طلوع آفتاب تا غروب آفتاب تعریف شود و معمولاً آبزیان تمایل بیشتری را برای تغذیه در این دوره دارند. در مورد اثر درجه حرارت آب نیز مشخص است که سوخت وساز[10] بدن همراه با افزایش درجه حرارت آب افزایش می یابد. اصولا" هریک از آبزیان از نظر تغذیه و متابولیسم دارای یک درجه حرارت مطلوب و مناسب[11] هستند. در درجه حرارت پایین تر از آن، از شدت تغذیه کاسته شده و متابولیسم هم بسرعت کاهش می یابد و در درجه حرارت های بالاتر از میزان معمول هم تغذیه قطع می شود. تغییر در میزان رشد طی فصول مختلف هم دیده می شود. بخصوص در مناطق معتدله که اختلاف درجه حرارت آب بین فصول گرم و سرد سال مشهودتر است. لذا در این نواحی طی تابستان ماهی سریع تر رشد می کند ولی در پائیز از سرعت رشد کاسته شده و در زمستان خیلی بطئی یا متوقف می شود. لذا، می‌توان گفت که عرض های جغرافیایی در میزان رشد و بطور کلی درالگو و طرح رشد موجودات زنده تاثیر گذارند. گونه هایی که در مناطق قطبی و سردسیر زندگی می کنند نسبت به گونه های ساکن در مناطق حاره و گرمسیر، طرح منظم تری را نشان می دهند. همچنین در مقایسه با گونه های مهاجر، گونه های ساکن در یک منطقه مشخص، طرح واضح تری از رشد را نشان می دهند. این تغییرات دوره ای در رشد سالانه، اساس کار تعیین سن در آبزیان را تشکیل می دهد. بطور طبیعی، آگاهی از استراتژی زندگی ماهی، در تفسیر خصوصیات و ویژگی های رشد و حتی در رسیدن به سن آن کمک شایانی می کند (Morales-Nin, 1992). برهمین اساس، در مناطقی از کره زمین که درجه حرارت بین تابستان و زمستان اختلاف دارد، تشکیل خطوط و حلقه ها را روی ساختمان های سخت بدن شاهد هستیم که در حقیقت اساس آن تغییر درجه حرارت آب و میزان فراوانی مواد غذایی قابل دسترس برای ماهی است.

۱-۲-۱- اتولیت

اتولیت ها سنگ ریزه های سفید رنگی هستند که در گوش داخلی قرار دارند و «سنگ گوش» نیز نامیده می شوند. Oto به معنی گوش و Lithos به معنی سنگ است. گاهی اتولیت ها را «Statoconium» یا «Otoconium» هم

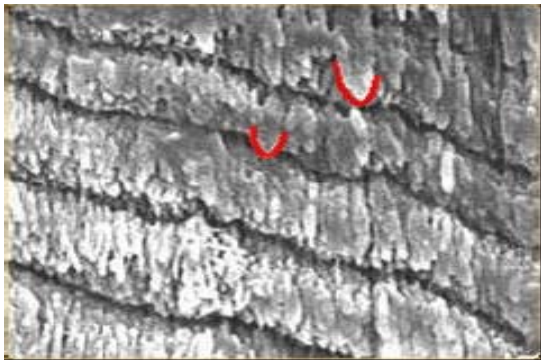
[10] . Metabolism
[11] . Optimum Temperature

می نامند. اتولیت ها به کاسه سر متصل نیستند و بصورت شناور در بخش تحتانی مغز و داخل کانال های شفاف و نرم گوش داخلی قرار گرفته اند. اتولیت ها در سر تمام ماهیان استخوانی یافت می شوند.

معمولا" کوسه ها، سفره ماهیان و لامپری ها فاقد اتولیت هستند. اتولیت در ماهیان غضروفی از نظر اندازه، کوچک و مثل دانه های ماسه است و رشد چندانی نکرده است. اتولیت ها دارای ساختمان سه بعدی هستند ولی این به معنی رشد یکسان و هماهنگ در هر سه بعد نیست. طرح کلی اتولیت بشکل پوسته هایی است که بصورت متحدالمرکز قرار گرفته اند. هر پوسته یا منطقه با توجه به میزان ماده آلی موجود در آن، به شکل های متفاوتی از نواحی روشن و تیره دیده می شود. ناحیه مربوط به دوره رشد سریع، پهن تر بوده و تزئینات روی آن بخوبی مشخص است ولی در دوره رشد کند، میکروکریستال ها بصورت فشرده و با فاصله اندک قرار می گیرند. در تعیین سن از روی اتولیت هم این نواحی روشن و تیره تشخیص داده می شوند. رشد اتولیت ها در ارتباط با متابولیسم داخلی کلسیم و تولید اسید آمینه است و اولین علائم رشد معمولا" بعد از جذب کیسه زرده روی آنها ظاهر می شوند. نواحی رشد در اتولیتها از میکروکریستال های سوزنی شکل تشکیل شده است که توسط مواد آلی احاطه شده اند (Morales-Nin, 1992).

اتولیت ها اولین ساختمان های آهکی هستند که در مراحل جنینی یا لاروی ماهیان استخوانی ظاهر می شوند و در تمام طول حیات ماهی بدون تغییر می مانند ولی ساختمان های دیگر مثل فلس ها ممکن است در شرایط نامساعد محیطی بازجذب شوند. به همین علت برای مطالعه گذشته ماهی، بخصوص مراحل اولیه حیات آنها، اتولیت ها ترجیح داده می شوند و باصطلاح به «جعبه سیاه هواپیما» تشبیه می شوند که حاوی تمام اطلاعات گذشته ماهی هستند.

بخش مرکزی اتولیت را «مرکز» یا «هسته اتولیت» می خوانند. اتولیت ها در ماهیان عملکردی مشابه گوش داخلی را در انسان دارند. آنها علاوه از حس شنوایی در حس مربوط به تعادل نیز نقش بازی می کنند. جنس اتولیت ها از کربنات کلسیم بوده و همانند فلس ماهیان دارای تزئینات دایره ای هستند که معرف سن ماهی است. اتولیت ماهیان استخوانی اجسام کریستالی هستند که در ابتدا از بلورهای کربنات کلسیم به شکل آراگونیت، فیبروز و کلاژن شبه پروتئین تشکیل می شوند (Degens et al., 1969).



شکل ۱-۱۰.ساختمان کریستالی اتولیت که ساختمان های کریستالی بشکل آراگونیت با رنگ قرمز مشخص شده است. منبع : OTO - OTOLITH TRAINING ONLINE, 2007

ماده آلی تشکیل دهنده اتولیت که شکل پروتئینی دارد Otoline نامیده می شود و میزان آن ۱۰-۰/۲ درصد است. اتولین با وزن مولکولی حدود ۱۵۰ هزار دالتون دارای مقدار زیادی اسیدهای Glutamic و Aspartic است. همچنین در ساختمان اتولین، Cystine و Hydroxy Proline و مقدار کمی اسیدهای آمینه اصلی و آروماتیک وجود دارد (Degens et al., 1969; Sollner et al., 2003). برخی از اتولیت های غیر عادی از کلسیت معمولی درست شده اند که در این حالت فاقد علائم و خطوط واضح اند (Morales-Nin, 1992). تجزیه و مطالعه ترکیب شیمیایی اتولیت ها و سایر ساختمان های آهکی آبزیان، امروزه روشی امید بخش برای تشخیص جمعیت هاست. در این روش، شناسایی و اندازه گیری عناصر کمیابی مانند St, O, F, Zn از اهمیت بیشتری برخوردار است. برای اینکار از تکنیک هایی مانند آنالیز x-ray، جذب اتمی و غیره استفاده می شود (Morales-Nin, 1992).

هر ماهی دارای سه جفت اتولیت است که عبارت اند از: ساجیتا که بزرگ ترین جفت اتولیت است و دو جفت دیگر را آستاریسکوس و لاپلی تشکیل می دهند[۱۲]. لاپلی کوچک ترین جفت، کمترین تغییرات ریختی را دارد و اغلب در مطالعه رشد روزانه مورد استفاده قرار می گیرد. آستاریسکوس و ساجیتا دارای بیشترین تغییرات شکلی هستند (Platt & Popper, 1981). معمولا" ساجیتا تخم مرغی شکل، دراز و از پهلو صاف است. در اتولیت ها، ناحیه قدامی را «استیوم»[۱۳] می‌نامند که دارای شکل تخم مرغی و بزرگتر است. ولی ناحیه خلفی آنها که «کودا»[۱۴] نامیده می شود، کمی درازتر و به شکل دم است (Gauldie, 1988 ; Nolf, 1985). اتولیت ها جزو استخوان ها نیستند بلکه از سنگ‌ها محسوب می شوند و به همین دلیل بسیار مقاوم تر از استخوان ها هستند. رشد اتولیت فرآیندی یک طرفه محسوب می شود، یعنی مواد و مصالح جدید اتولیت به سطح خارجی و بیرونی آن اضافه می

---

[۱۲]- اسامی مختلفی برای سه جفت اتولیت ماهیان در منابع دیده می شود که متداول ترین آنها بشرح ذیل می باشد:
اتولیت های Sagitta یا Saccular otolith که در حالت جمع Sagittae نامیده می شوند.
اتولیت های Asteriscus یا Lagenar otolith که در حالت جمع Asteriscii یا Asteriscuses نامیده می شوند.
اتولیت های Lapillus یا Utricular otolith که در حالت جمع Lapilli نامیده می شوند.

13. Ostium
14 Cauda

شود و طی زمان این مواد نمی توانند از آن خارج شوند. یعنی هنگامیکه ماهیان در شرایط نامساعد محیطی قرار گیرند، برای مثال کمبود مواد غذایی در محیط بوجود آید، مواد مورد نیاز بدن از ساختمان هایی مثل استخوان ها هم می توانند بازجذب شوند ولی معمولاً اتولیت ها دست نخورده باقی می مانند. همچنین اتولیت‌ها از اولین روزهای حیات ماهی شکل می گیرند و تمام وقایع زندگی را در خود حفظ می کنند و به همین علت آنها را به جعبه سیاه هواپیما تشبیه می کنند که تمام اتفاقات دوران حیات ماهی را بهمراه دارند(Secor & Dean, 1989). این روند یک طرفه رشد بیانگر این موضوع است که چرا اتولیت ها می توانند ساختمان های ظریف حلقه های روزانه را تشکیل و در خود جای دهند در حالیکه استخوان ها قادر به انجام آن نیستند. اتولیت ها از مهمترین ابزارهای بیولوژیست های شیلاتی برای مطالعه زندگی ماهی و جمعیت آنها می‌باشند و اغلب در مطالعات ماهی شناسی، ارزیابی ذخائر و شناسایی جمعیت‌های ماهیان کاربرد دارد. اتولیت ها برای مشخص کردن خصوصیات فیلوژنیک در ماهیان هم کاربرد دارند (Sasaki, 1989) اگر چه در این موضوع هنوز جواب روشنی ارائه نشده است (Schwarzhans, 1993). تا کنون مطالعات نسبتاً کاملی پیرامون ساختمان‌های میکروسکوپی اتولیت بیش از ۵۰ خانواده و ۱۳۵ گونه از انواع ماهیان و اسکوئیدها صورت گرفته است (Secor & Dean, 1989).

۲-۲-۱- شکل واندازه اتولیت

معمولاً هر سه جفت اتولیت از نظر محل قرارگیری، اندازه، شکل و ساختمان درماهیان با یکدیگر متفاوتند. اندازه اتولیت در گونه‌هایی که ساختمان بدن آنها گرد است، مثل روغن ماهی کمی بزرگ تر است و در برش ها هم حلقه ها را راحتر می توان مطالعه کرد. ماهیان پهن دارای اتولیت نازک تری هستند و ممکن است بتوان بدون نیاز به تهیه برش، بخصوص در ماهیان جوان، حلقه های رشد را مطالعه کرد. ضخامت اتولیت ها در ماهیان مسن تر بیشتر است و ممکن است مستقیماً حلقه های رشد را نشان ندهند. اتولیت ساجیتا معمولاً شکل سوزنی دارد ولی آستاریسکوس گرد یا ستاره ای شکل است. بر اساس مطالعات اخیر مشخص شده است که شکل اتولیت ها توسط ژنی به نام Starmaker کنترل می شود (Sollner et al., 2003). در اکثر ماهیان استخوانی اندازه ساجیتا بزرگتر از سایر اتولیت هاست و به همین دلیل، اکثر کارهای مطالعاتی در مورد این اتولیت صورت می گیرد. اختلاف های درون گونه ای و بین گونه ای در شکل ساجیتا به دلیل عوامل متعددی است که بر میزان رشد تاثیر دارند. ولی تاثیر دو فاکتور بسیار پر رنگ تراست، یکی از آنها فشاری است که برای عمل ساجیتا درجهت رفع نیازهای شنوایی لازم است (Gauldie, 1988 ; Popper & Coombs, 1982 ; Platt & Popper, 1981) یا بعبارتی شرایط نگهداری آنها در داخل محفظه ای است که در جمجمه قرار دارد (Gaemers, 1984 ; Smith, 1992 ; Arellano et al., 1995)و دیگری اثرات مختلف عوامل محیطی مثل درجه حرارت، عمق محیط زیست، میزان مواد غذایی و مواد معدنی قابل دسترسی است که در میزان رشد تاثیر می گذارد (Lombarte & Lleonart, 1993; Wilson, 1985; Lombarte, 1992; Arellano et al., 1995; Aguirre & Lombarte, 1999).

اتولیت ها در ایجاد تعادل دارای عملکرد مهمی هستند، لذا این موضوع قابل انتظار است که آبزیانی که شنا گران ماهری هستند، بحالت شناور در آب می مانند و سرعت شنای کمی دارند یا در کف دریا می خزند، دارای اشکال متفاوتی از اتولیتا باشند. برای مثال اتولیت در ماهیان استخوانی پلاژیک مثل تون ماهیان[۱۵]، گیش ماهیان[۱۶] و بادبان ماهیان[۱۷] که شناگران سریعی هستند، کوچک است. در حالیکه اتولیت درماهیانی که آهسته حرکت می‌کنند یا کف زی هستند، مثل ماهیان متعلق به خانواده های شوریده ماهیان[۱۸]، هامور ماهیان[۱۹] Megalopsidae, Gadidae و Centrarechidae، بزرگ تر است. اتولیت ها دارای شکل مشخصی هستند که تابع ویژگی های گونه ماهی خواهند بود. برخی مواقع، استثناهایی هم وجود دارند که با آنچه قابل انتظاراست متفاوت است. اختلاف شکل اتولیت ها علاوه بر اینکه در افراد متعلق به گونه های مختلف وجود دارد، درسنین مختلف نیز بخصوص درمراحل اولیه حیات دیده می شود (Mosegaard et al, 1988 ; Secor & Dean, 1989). شکل مشخص اتولیت ها در هر گونه این اجازه را به بیولوژیست ها می دهد که بتوانند از روی اتولیت هایی که از دستگاه گوارشی پرندگان یا فک ها خارج می کنند، نوع ماهی خورده شده را مشخص کنند. حتی از اندازه اتولیت ها هم می توان در تشخیص اندازه ماهی خورده شده نیز کمک گرفت. شکل و اندازه اتولیت ها می توانند با محل جغرافیایی (Taubert & Coble, 1977)، عمق اقیانوس ها (Wilson, 1985) و کیفیت فیزیکی و شیمیایی محیط (Campana & Neilson, 1985) در ارتباط باشند.امروزه در بحث مهم تفکیک ذخائر نیز از شکل اتولیت ها و اختلاف بین میزان رشد آنها، استفاده می کنند که از کاربرد های جدید این شاخه از علم ماهی شناسی است (Campana & Casselman, 1993).

15. Scombridae
16. Carangidae
17. Istiophoridae
18. Scaenidae
19. Serranidae

۲- مواد و روش ها

این مطالعه طی سال ۹۲-۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقاتی قره سو در استان گلستان انجام شده است. طبق برنامه ریزی های صورت گرفته در اردیبهشت ماه سال ۹۰ ابتدا تعداد ۲۵۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از استخر های ایستگاه قره سو صید گردید و بعد از بیومتری کامل، با اکسی تتراسیکلین علامت گذاری شدند. برای زیست سنجی بچه ماهیان، طول چنگالی با دقت ۱ میلی متر و وزن با دقت ۰/۱ گرم اندازه گیری شد. اکسی تتراسایکلین هیپوکلراید مصرفی به شکل پودر (۹۸٪) و با نام تجاری Serva در بسته بندی های پلاستیکی خریداری شد (شکل۲-۱).

شکل ۲-۱. پودر اکسی تتراسایکلین هیپوکلراید (۹۸٪) با نام تجاری Serva

بر اساس دستورالعمل (Bedford and Jones, 1968) بچه ماهیان در محلول ۵۰۰ میلی گرم اکسی تتراسایکلین در لیتر با pH بین ۷-۶ به مدت ۶ ساعت حمام داده شدند. برای این کار ابتدا اکسی تتراسایکلین در آب حل شد (شکل ۲-۲) و محلول بدست آمده در تانک ها تخلیه شده و سپس بچه ماهیان به آن رها شدند(شکل ۲-۲).

ب الف

شکل ۲-۲. توزین پودر اکسی تتراسایکلین هیپوکلراید (الف) و حل کردن آن در آب (ب)

تانک های فایبر گلاس ۷۰۰ لیتری و مجهز به سیستم هوادهی بودند (شکل ۲-۳).

شکل ۲-۳. حمام دادن بچه ماهیان با محلول اکسی تتراسایکلین هیپوکلراید

درجه حرارت آب در داخل تانک ها حدود ۲۵ درجه سانتی گراد و شوری ۱ در هزار تنظیم شد. سه روز بچه ماهیان علامت گذاری شده با آب خلیج که دارای شوری ۱۳ درهزار بود، سازگار شدند (شکل ۲-۴).

شکل ۲-۴. استقرار بچه ماهیان در وان های فایبر گلاس حاوی محلول اکسی تتراسایکلین هیپوکلراید

سپس آنها به داخل قفس هایی که در خلیج گرگان استقرار یافته بود منتقل شدند. قفس ها در ابعاد ۱×۱×۱/۵ متر درست شده بودند و توری اطراف آن دارای چشمه ۱۶ میلی متر بود. عمق در این منطقه ۱/۳۰ تا ۱/۶۰ متر بود. لازم به یادآوری است که قفس ها داخل پن هایی که برای مولد سازی ماهی کپور استفاده می شد مستقر شده بودند(شکل ۲-۵).

الف ب

شکل ۲-۵. انتقال ماهیان (الف) علامت گذاری شده به پن های احداث شده در خلیج گرگان (ب)

بعد از چند روز، متاسفانه بعلت گرمای زیاد آب، تمام ماهیان تلف شدند. در تلاشی مشابه در دی ماه همان سال ۳۰۰ عدد بچه ماهی مجدداً بعد از علامت گذاری بداخل قفس ها منتقل شدند که در این نوبت بعلت برودت شدید آب و هوایی و گل آلودگی آب ماهیان تلف شدند. با توجه به مشکلات نگه داری بچه ماهیان در خلیج گرگان و بالا رفتن هزینه ها، تصمیم گرفته شد که بچه ماهیان در داخل تانک ها نگهداری شوند. لذا، ۲۵۰ عدد بچه ماهی با وزنی حدود ۴ – ۲ گرم در اردیبهشت ماه ۹۱ علامت گذاری شد و در تانک ها استقرار یافتند. بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی دارای طول چنگالی ۱۲-۱۰ میلی متر و وزن ۴-۲ گرم بودند و روزی دو بار غذادهی با استفاده از غذای BioDiet انجام گرفت. مرحله دوم علامت زدن این ماهیان در آبان ماه سال ۹۱ بعد از بیومتری کامل بچه ماهیان صورت گرفت. مرحله سوم علامت زدن هم در تیر ماه سال ۹۲ صورت گرفت.

برای مطالعه و ردیابی علامت ها بر روی ساختمان های سخت بدن ماهیان، ساختمان هایی مثل اتولیت های ساجیتا، لاپلی و آستاریسکوس به همراه فلس ها، سرپوش آبششی و مهره ها استخراج و بررسی شدند (شکل۲-۶). اتولیت های ساجیتا بعلت کوچک بودن ماهیان در دو حالت کامل وبرش داده شده، مطالعه شدند.

شکل ۲-۶. استخراج اتولیت ها از سر بچه ماهیان

اتولیت ها بعد از استخراج با آب معمولی شست و شو داده شده و در هوای آزمایشگاه خشک شدند. برای اندازه گیری فاصله بین حلقه های رشد و همچنین حلقه های علامت گذاری شده از لوپ های آزمایشگاه های مرکز تحقیقات شیلات استان گلستان و اداره شیلات عمان و با بزرگنمایی ×۱۰ و ×۴۰ استفاده شد. اطلاعات جمع آوری شده پس از ثبت در نرم افزار Excell مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت که برای این کار از نرم افزار SPSS استفاده شد.

۳-نتایج

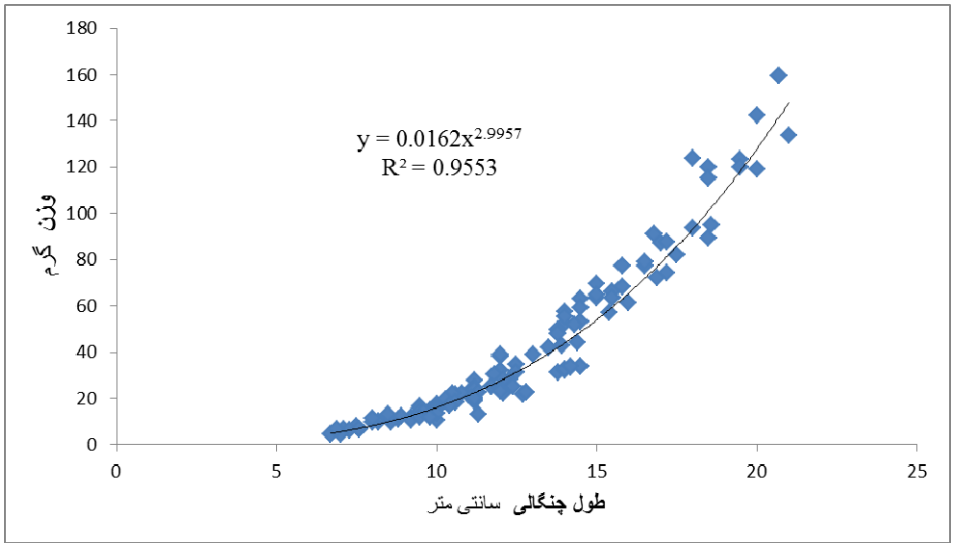
بچه ماهیان کپور علامت گذاری شده در ابتدای کار (۹۱/۲/۱۶) دارای میانگین طول چنگالی ۲/۶ ± ۱۱/۵ سانتی متر بودند. بزرگترین ماهی ۱۴/۵ سانتی متر و کوچکترین ماهی ۶/۹ سانتی متر طول داشت. از نظر وزنی هم بچه ماهیان دارای میانگین وزن ۱۰± ۲۱/۸ گرم بودند. بیشترین وزن ثبت شده ۳۳/۸ گرم و کمترین وزن ۶/۵ گرم بود (جدول ۳-۱).

جدول ۳-۱. میانگین طول چنگالی، طول کل و وزن بچه ماهیان کپور در اولین (۱۳۹۱/۲/۱۶)، دومین (۱۳۹۱/۸/۸) و سومین (۱۳۹۲/۴/۱۱) مرحله علامت گذاری

	طول چنگالی (سانتی متر)			طول کل (سانتی متر)			وزن (گرم)		
تاریخ	۱۳۹۱/۲/۱۶	۱۳۹۱/۸/۸	۱۳۹۲/۴/۱۱	۱۳۹۱/۲/۱۶	۱۳۹۱/۸/۸	۱۳۹۲/۴/۱۱	۱۳۹۱/۲/۱۶	۱۳۹۱/۸/۸	۱۳۹۲/۴/۱۱
میانگین	۱۱/۵	۱۴/۹	۱۶/۹	۱۳	۱۶/۹	۱۹/۶	۲۱/۸	۶۳/۵	۹۱/۳
حداکثر	۱۴/۵	۱۸/۵	۲۱/۰	۱۶/۲	۲۱/۰	۲۳/۵	۳۳/۸	۹۳/۵	۱۵۹/۴
حداقل	۶/۹	۱۲/۰	۱۱/۰	۸/۵	۱۴/۰	۱۴/۵	۶/۵	۳۲/۲	۳۴/۴
انحراف معیار	۲/۶	۱/۷	۲/۷	۲/۹	۱/۸	۲/۹	۱۰	۱۲/۳	۳۴/۹

۳-۱- رابطه طول و وزن

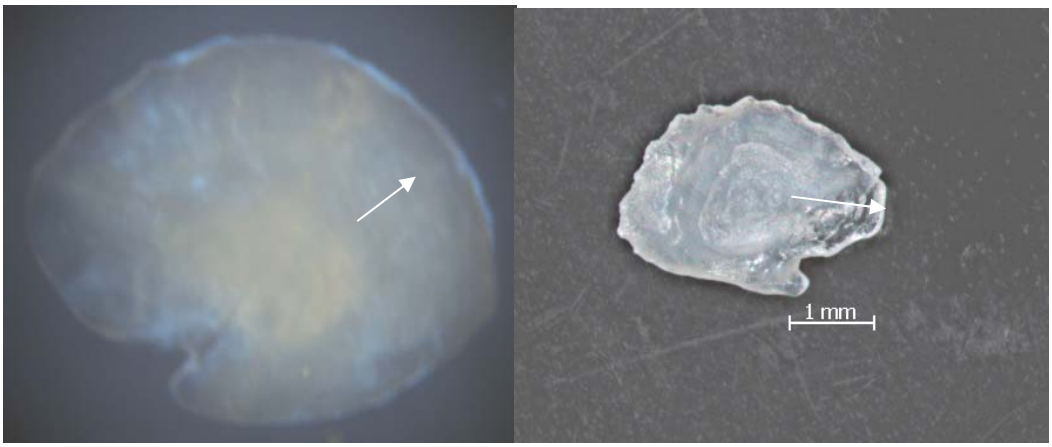
نتایج مطالعه نشان می دهد که بین طول و وزن رابطه $Y= 0.0162\ Fl^{2.9957}$ برقرار است و میزان همبستگی ۹۶ درصد است که نشان دهنده رشد ایزومتریک در این ماهی است ($p>0.05$) (شکل ۳-۱).



شکل ۳-۱ رابطه بین طول و وزن بچه ماهیان کپور علامت گذاری شده با OTC

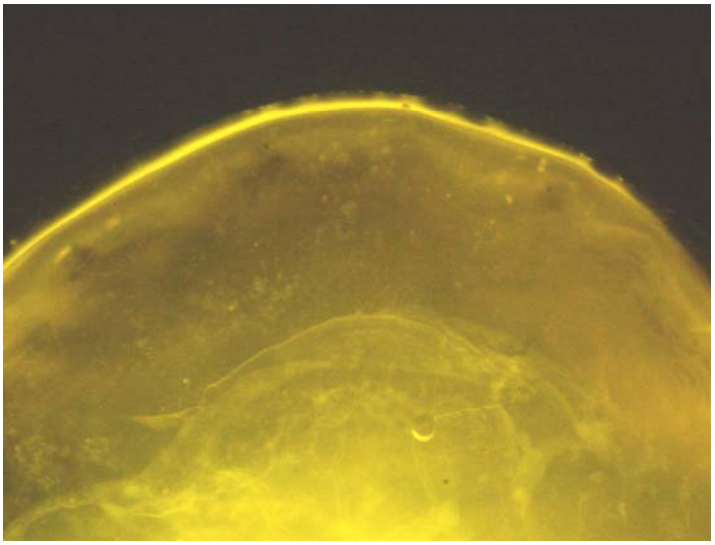
۱-۱-۳- اتولیت ها

بعد از شش ماه از اولین علامت گذاری بچه ماهیان کپور، تعدادی از اتولیت آنها استخراج شد. در مطالعه اتولیت آنها زیر میکروسکوپ با زمینه تاریک یک نوار باریکی در لبه انتهایی اتولیت قابل مشاهده بود که نشان می داد اکسی تتراسایکیلین جذب شده به تازگی در لبه خارجی اتولیت شکل گرفته است (شکل ۳-۲).



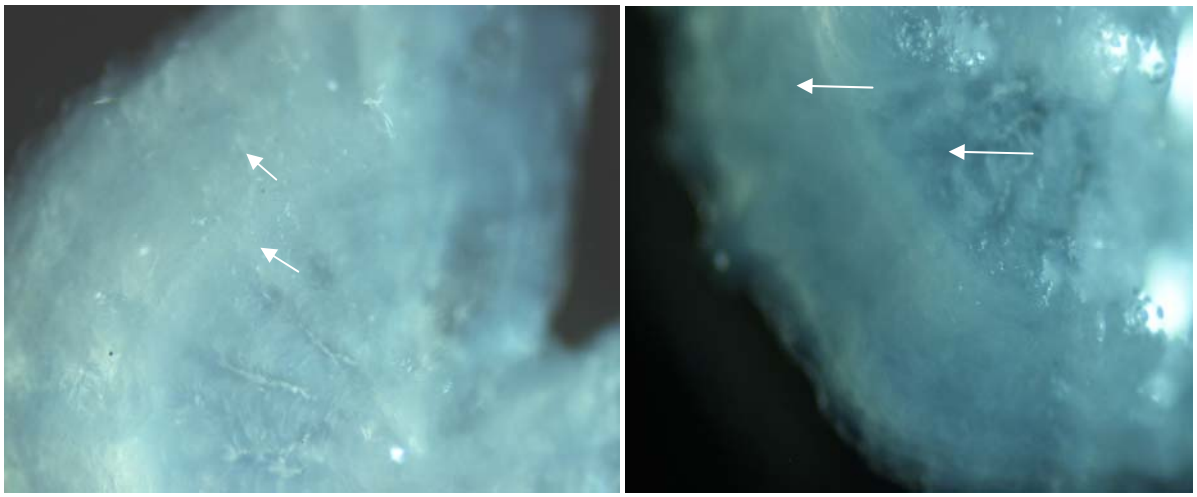
شکل۳-۲. حلقه های شکل گرفته توسط اکسی تتراسایکیلین در لبه خارجی اتولیت های ماهی کپور بعد از شش ماه.

تعدادی از اتولیت ها با میکروسکوپ مجهز به نور ماورائ بنفش نیز مطالعه شدند که در این حالت باند اکسی تتراسایکیلین در حاشیه خارجی آنها به رنگ روشن دیده می شدند (شکل ۳-۳).



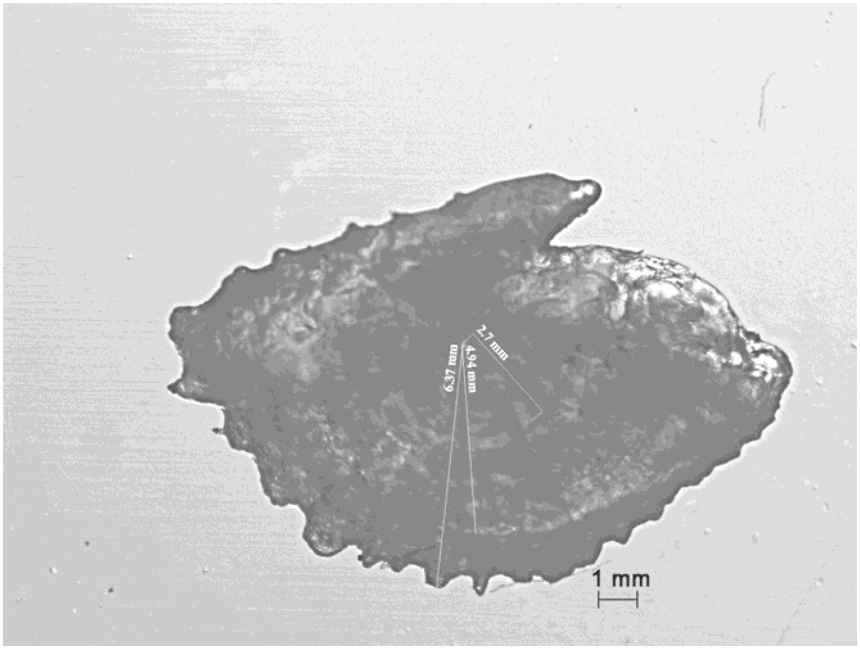
شکل ۳-۳. حلقه های شکل گرفته توسط اکسی تتراسایکیلین در لبه خارجی اتولیت های ماهی کپور بعد از شش ماه در مطالعه با میکروسکوپ مجهز به UV .

بررسی اتولیت هایی که دو بار با فاصله شش ماهه علامت گذاری شده بودند نشان داد که هر دو حلقه مربوط به OTC بر روی اتولیت قابل رئویت است (شکل ۳-۴).



شکل ۳-۴. باند های شکل گرفته توسط اکسی تتراسایکیلین روی اتولیت های ماهی کپور با فاصله شش ماه

با استفاده از میکروسکوپ Motic فاصله های بین حلقه های تشکیل شده تا مرکز اتولیت نیز اندازه گیری شد (شکل ۳-۵).



شکل ۳-۵. اندازه گیری فاصله باندهای تشکیل شده تا مرکز اتولیت در ماهیان کپور

۴- بحث

علامت گذاری با استفاده از OTC در اکثر گونه های دریازی نتایج مثبت و موفقیت آمیزی داشته است (Taylor et al., 2005). Cormen و همکارانش در سال ۲۰۰۳ در مطالعه بر روی گونه *Engraulis encrasicoluso* گزارش کردند که حمام دادن با OTC در غلظت ۴۰۰ mg/l و به مدت ۲۴ ساعت در تشکیل و شکل گیری باندهای قابل مشاهده روی اتولیت ها بسیار مناسب است.

شرایط مناسب فیزیکوشیمیایی آب و غلظت متناسب و مناسب OTC در کیفیت علائم تشکیل شده موثر است. در مورد اثرات شوری روی شکل گیری باندهای OTC نیز اکثر گزارشات نشان می دهد 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 علامت گذاری با OTC می توان از روش تزریق مستقیم ماهیان هم استفاده کرد که بیشتر در مورد ماهیان بزرگتر استفاده می شود. از عوامل محدود کننده در این روش تعداد بالای ماهیان است که با این روش تعداد زیادی از ماهیان را نمی توان در مدت کوتاهی علامت گذاری کرد (Babaluk and Craig, 1990 ; Bumguardner, 1991 ; Morphy and Taylor, 1991 ; Ross et al., 1995). از چالش های بزرگ استفاده و بکارگیری این روش، احتمال تاثیر علامت گذاری بر روی رشد ماهیان است. گزارشات قبلی محققین نشان می دهد که این اثر قابل توجه نبوده و قابل چشم پوشی است (Szedlmayer and Beyer, 2001). احتمال دارد در ماهیان مسن تر در نتیجه کاهش توسعه و رشد مناطق رشد در اتولیت ها، تشخیص باندهای OTC نیز همراه با مشکلاتی باشد. برای همین استفاده از این روش در ماهیان دو ساله و پایین تر از آن توصیه می شود(Szedlmayer and Beyer, 2001). همچنین در مقایسه حلقه های اول و دوم OTC، اولین حلقه از وضوح بیشتری برخوردار است.

در علامت گذاری بچه ماهیان کپور با روش حمام دادن OTC هیچگونه مرگ و میری دیده نشد. نتایج مطالعات گذشته نشان می دهد که مهمترین عامل مرگ و میر در این شرایط، نوسانات pH می باشد (Stewart and Long, 2011). در بررسی حاضر میزان تغییرات pH آب بسیار جزئی بوده و تقریبا در حد ۷-۶ قرار داشت. از نظر زمان تشکیل باند OTC باید گفت که اولین علامت در حاشیه بیرونی اتولیت اوائل ماه ششم دیده می شود. البته از ماه چهارم این علامت در خارجی ترین لبه اتولیت شکل می گیرد ولی بعلت اضافه نشدن منطقه رشد بعد از آن بسختی می توان آن را تشخیص داد. شکل گیری باند مربوط به علامت گذاری دوم هم مشابه باند اول است و تفاوت زیادی با همدیگر ندارند. در مقایسه زمان شکل گیری باندهای OTC روی ساختمان های سخت بدن در مطالعات گذشته مشخص شده است که تشکیل این حلقه ها روی اتولیت ها زودتر از شکل گیری آنها بر روی خارها و شعاع باله ها است (Sakaris and Irwin, 2008). معمولا در شرایطی که زنده نگه داشتن ماهی مهم است از ردیابی علائم OTC در ساختمان های شعاع یا خار باله ها استفاده می شود. در مجموع از بین ساختمان های سخت بدن اتولیت ها بیشتر ترجیح داده می شوند که از اطمینان بالا به نتایج در آنها ناشی می شود (Blom et al., 1994).زمان ماندگاری علائم روی خارها و شعاع باله ها نسبت به اتولیت ها کمتر است ولی در استفاده از این

ساختمان ها ماهی کشته نمی شود. علامت گذاری مهره ها به سختی در این روش پاسخگو است (Rojas–Beltran et al., 1995). تشکیل باندها و حلقه های مربوط به OTC بر روی مهره ها تنها در حالت استفاده از روش تغذیه ای گزارش شده است (Pedersen and Carlsen, 1991 ; Nordeide et al., 1992)، هر چند نتایج بسته به گونه هامتفاوت است. موضوع حائز اهمیت بدست آوردن میزان OTC موثر در ساختمان های سخت بدن لازم است که معمولا بسته به میزان شوری و درجه حرارت آب می تواند متغیر باشد. لازم به یادآوری است که از بین روش های مختلف علامت گذاری مثل تزریق، همراه غذا و حمام دادن، برای بچه ماهیان ترجیحا از حمام استفاده می شود (Blom et al., 1994).

علامت گذاری بچه ماهیان معمولا همراه با استرس است که به حداقل رساندن آن ضروری است. در همین رابطه برای کاهش آن سعی می شود طول دوره این پروسه به حداقل ممکن برسد (Tzeng and Yu, 1989). کاهش زیاد زمان حمام دادن بچه ماهیان نیز ممکن است مانع از شکل گیری حلقه های OTC شود (Tsukamoto, 1985)ولی دوره های بیش از ۲۴ ساعت توصیه نشده است (Tanaka et al., 1981).

۵- جمع بندی

ما در آزمایشات خود از دوره ۶ ساعته استفاده کردیم که نتایج بدست آمده مناسب بود و برای بچه ماهیان گونه کپور قابل توصیه است. باندهای OTC به روشنایی و نور حساس هستند و قرار گرفتن زیاد ساختمان هایی مثل شعاع و خار باله ها باعث کاهش وضوح و تشخیص آنها می شود(Tanaka et al., 1981). موارد محدودی از علامت گذاری با استفاده از روش تغذیه ای نیز گزارش شده است که در اغلب موارد نتایج بدست آمده انتظارات را براورده نکرده است (Pederson and Carlsen, 1991).

منابع

- وثوقی، غلامحسین و بهزاد مستجیر. ۱۳۷۱. ماهیان آب شیرین. دانشگاه تهران.
- قلی اف، ذ. م. ۱۹۹۷. کپورماهیان و سوف ماهیان حوزه جنوبی و میانی دریای خزر (ساختار جمعیت‌ها، اکولوژی، پراکنش وتدابیری جهت بازسازی ذخایر). در ترجمه یونس عادلی،۱۳۷۷. مرکز تحقیقات‌شیلاتی استان گیلان. ۴۴ ص .
- عبدالملکی ، ش.و غنی نژاد،د. ۱۳۸۶.ارزیابی ذخایر ماهی سفید در سواحل ایرانی دریای خزردر سال ۸۳-۱۳۸۲.مجله علمی شیلات ایران.شماره ۱.صفحات ۱۱۴ -۱۰۳.
- دریانبرد، غ.، ش، عبدالملکی، د، کر و غ، بندانی. ۱۳۸۸. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی درسواحل ایرانی دریای خزر (۸۶-۱۳۸۴). مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۵۸ ص.
- Agger, P.; O. Bagge; O. Hansen; E. Hoffman; M.J. Holden; G.L. Kesteven; H. Knudsen; D.F.S. Raitt; A. Saville; T. Williams. 1974. Manual of Fisheries Science Part 2 - Methods of Resource Investigation and their Application. FAO Fisheries Technical Papers.
- Aguirre, H., and A. Lombarte. 1999. Ecomorphological Comparisons of Sagittae in Mulus barbatus and M. surmuletus. Journal of Fish Biology 55: 105-114.
- Anras, B. , M. L., Cove`s, D., Dutto, G., Laffargue, P., and Lagarde`re, F. 2003. Tagging juvenile seabass and sole with telemetry transmitters: medium-term effects on growth. ICES Journal of Marine Science., 60: 1328–1334.
- Arellano, R.V., O. Hamerlynck, M. Vinex, J. Mees, K. Hostens, and W. Gijselinck. 1995. Changes in the Ratio of the Sulcus Acusticus Area to the Sagitta Area of Pomatoschistus minutus and P. lozanoi (Pisces, Gobiidae). Marine Biology 122: 355-360.
- Babaluk, J. A., and J. F. Craig. 1990. Tetracycline marking studies with pike, Esox lucius L. Aquaculture and Fisheries Management 21:307–315.
- Beckman, D. W. and Schulz, R. G., 1996. A simple method for marking fish otoliths with alizarin compounds. Transactions of the American Fisheries Society 125, 146–149.
- Blankenship, H. L. and Leber, K. M., 1995. A responsible approach to marine stock enhancement. American Fisheries Society Symposium 15, 167–175.
- 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.Blom, G., Nørdeide, J. T., Sva˚ sand, T. & 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.
- Bordner, C.E., Doroshov, S.I., Hinton, D.E., Pipkin, R.E., Fridley, R.B. and Haw, F., 1990, Evaluation of marking techniques for juvenile and adult white sturgeons reared in captivity in Parker, N.C., Giorgi, A.E., Heindinger, R.C., Jester, D.B., Prince, E.D., and Winans, G.A., eds. Fish-Marking Techniques, Symposium 7: American Fisheries Society, Bethesda, MD, p. 293-303.
- Broadhurst, M. K. & Kennelly, S. J., 1994. Reducing the by-catch of juvenile fish (mulloway *Argyrosomus hololepidotus*) using square-mesh panels in codends in the Hawkesbury River prawn-trawl fishery, Australia. Fisheries Research 19, 321–331.
- Brooks, R. C., Heidinger, R. C. & Kohler, C. C., 1994. Mass-marking otoliths of larval and juvenile walleyes by immersion in oxytetracycline, calcein, or calcein blue. North American Journal of Fisheries Management 14, 143–150.
- Brown, M. L., Powell, J. L. & Lucchesi, D. O., 2002. In-transit oxytetracycline marking, nonlethal mark detection, and tissue residue depletion in yellow perch. North American Journal of Fisheries Management 22, 236–242.
- Buckley, R. M. & Blankenship, H. L., 1990. Internal extrinsic identification systems: Overview of implanted wire tags, otolith marks and parasites. American Fisheries Society Symposium 7, 183–202.
- Bumguardner, 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.
- Campana, S. E., and J. M. Casselman. 1993. Stock discrimination using otolith shape analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 50: 1062–1083.Campana, S. E., C. M. Jones. 1998. Radiocarbon from Nuclear Testing Applied to Age Validation of Black Drum *Pogonia chromis*. Fish Bull. 96:185-192.
- Campana, S. E.1999. Chemistry and Composition of Fish Otoliths: Pathways, Mechanisms and Applications. Marine Ecology Progress Series. 188:263-297.
- Campana, S.E., and J.D. Neilson. 1985. Microstructure of Fish Otoliths. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 42:1014-1032.
- Campana, S.E., and J.M. Casselman. 1993. Stock Discrimination Using Otolith Shape Analysis. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 50: 1062-1083. Degens et al., 1969.
- Carlsen, W. S., 1991. Saying what you know in the biology laboratory. Teaching Education, 3(2), 17-29.Cermeno, P., Uriarte, A., de, M. A. M. & Morales-Nin, B., 2003. Validation of daily increment formation in otoliths of juvenile and adult European anchovy. Journal of Fish Biology 62, 679–691. doi: 10.1046/j. 0022-1112.2003.00056.x
- Chadwick, H. K . 1959. California sturgeon tagging studies. California Fish and Game 45:297-301.
- 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.
- Fielder, D. S. & Bardsley, W. J., 1999. A preliminary study on the effects of salinity on growth and survival of mulloway Argyrosomus japonicus larvae and juveniles. Journal of the World Aquaculture Society 30, 380–387.
- Frenkel, V., Kindschi, G. & Zohar, Y., 2002. Noninvasive, mass marking of fish by immersion in calcein: evaluation of fish size and ultrasound exposure on mark endurance. Aquaculture 214, 169–183.
- Gaemers, P.A.M. 1984. Taxonomic Position of the Cichlidae (Pisces, Perciformes) as Demonstrated by the Morphology of their Otoliths. Netherlands Journal of Zoology 34(4):566-595. Gauldie, 1988
- Gauldie, R.W. 1988. Function, form and Time-Keeping Properties of Fish Otoliths. Comparative Biochemistry and Physiology 91A (2):395-402. Holden & Vince, 1973
- Gray, C. A. & McDonall, V. C., 1993. Distribution and growth of juvenile mulloway, Argyrosomus hololepidotus (Pisces, Sciaenidae), in the Hawkesbury River, South-Eastern Australia. Australian Journal of Marine and Freshwater Research 44, 401–409.
- Henry, G. W. & Lyle, J. M., 2003. The National Recreational and Indigenous Fishing Survey. Canberra: Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry.
- Hettler, W. F., 1984. Marking otoliths by immersion of marine fish in tetracycline. Transactions of the American Fisheries Society 113, 370–373.
- Hining, K. J., West, J. L., Kulp, M. A. & Neubauer, A. D., 2000. Validation of scales and otoliths for estimating age of rainbow trout from southern Appalachian streams. North American Journal of Fisheries Management 20, 978–985.
- Iglesias, J. & Rodriguez-Ojea, G., 1997. The use of alizarin complexone for immersion marking of the otoliths of embryos and larvae of the turbot, Scophthalmus maximus (L.): Dosage and treatment time. Fisheries Management and Ecology 4, 405–417.
- Isermann, D. A., Bettoli, P. W. & Sammons, S. M., 1999. Efficiency of identifying stocked crappies in a Tennessee reservoir through oxytetracycline marking. North American Journal of Fisheries Management 19, 1122–1123.
- 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.
- Johnson, K. J. 1990. Regional overview of coded wire tagging of anadromous salmon and steelhead in Northwest America. American Fisheries Society Symposium 7: 782-816.
- 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.
- 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.
- Kailola, P. J., Williams, M. J., Stewart, P. C., Reichelt, R. E., McNee, A. & Grieve, C., 1992. Australian Fisheries Resources. Canberra: Fisheries Research and Development Corporation.

- Kalish, J. M., J. M. Johnston, J. S. Gunn, and N. P. Clear. 1996. Use of the Bomb Radiocarbon Chrnometer to Determine Age of Southern Bluefin Tuna (Thunnus maccoyii). Mar. Ecol. Prog. Ser. 143(1-3):1-8.
- Kalish, J. M.1993. Pre-and Post-bomb Radiocarbon in Fish Otoliths. Earth Planet. Sci. Lett. 114:549-554.
- Kalish, J. M., J. M. Johnston, J. S. Gunn, and N. P. Clear. 1996. Use of the Bomb Radiocarbon Chrnometer to Determine Age of Southern Bluefin Tuna (Thunnus maccoyii). Mar. Ecol. Prog. Ser. 143(1-3):1-8.
- Kiabi, B., Abdoli, A., and Naderi, M. 1999. Status of the fish fauna in the south Caspian Basin of Iran. Zoology in the Middle East, 18, pp. 57-65.
- Knights, B. C., and Lasee, B. A. 1996. Effects of implanted transmitters on adult bluegills at two temperatures. Transactions of the American Fisheries Society, 125: 440–449.
- Kohlhorst, D. W, 1979. Effect of first pectoral fin ray removal on survival and estimated harvest rate of white sturgeon in the sacramento-San Joaquin Estuary. Calif. Fish Game, 65 (3) :173-177.
- Lagarde, F. K., Thibaudeau, K. and Begout Anras, M. L., 2000. Feasibility of otolith marking in large juvenile turbot, Scophthalmus maximus, using alizarin red solutions. ICES Journal of Marine Science 57, 1175–1181.
- Lammens, E.H.R.R. and W. Hoogenboezem, 1991. Diets and feeding behaviour, p. 353–376. In I. J. Winfield and J. S. Nelson [eds.], Cyprinid fishes: Systematics, biology and exploitation. Chapman and Hall.
- Lombarte, A., and J. Lleonart. 1993. Otolith Size Changes related with Body Growth, Habitat Depth and Body temperature. Environmental Biology of Fishes 37: 297-306.
- Lombarte, A. 1992. Changes in Otolith Area: Sensory Area Ratio with Body Size and Depth. Environmental Biology of Fishes 33:405-410.
- Lonsdale, E.M. and G.T. Baxter. 1968. Design and field tests ofa radio-wave transmitter for fish tagging. Progressive Fish-Culturist 30: 47-52.
- Lunestad, B. T. and Goksøyr, J., 1990. Reduction in the antibacterial effect of tetracycline in sea water by complex formation with magnesium and calcium. Diseases of Aquatic Organisms 9, 67–72. The Fisheries Society of the British Isles, Journal of Fish Biology 2005, 66, 1149–1162
- McFarlane, G. A. and Beamish, R. J., 1987. Selection of dosages of oxytetracycline for age validation studies. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 44, 905–909.
- Cohen, S., and C. Milstein. 1957. Structure of antibody molecules. Nature. 214:449.
- Moore, A., Russell, I. C., and Potter, E. C. E. 1990. The effects of intraperitoneally implanted ummy acoustic transmitters on the behaviour and physiology of juvenile Atlantic salmon, Salmo salar L. Journal of Fish Biology, 37: 713–721.
- Morales-Nin, B. 1992. Determination of Growth in Bony Fishes from Otolith Microstructure. FAO Fisheries Technical Paper. No. 322. Rome, FAO. 51p.
- Mossegaard, H., H. Svedang, and K. Taberman. 1988. Uncoupling of Somatic and Otolith Growth Rate in Arctic Char (Salvelinus alpinus) as an Effect of Differences in Temperature Response. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 45:1514-1524.
- 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.
- Nolf, D. 1985. Otolithi Piscium. Handbook of Paleoichthyology, Vol. 10. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. 145 pp.
- Nørdeide, J. T., Holm, J. C., Ottera , H., Blom, G. and Borge, A., 1992. The use of oxytetracycline as a marker for juvenile cod (Gadus morhua L.). Journal of Fish Biology 41, 21–30.
- Paragamian, V. L., Bowles, E. C. and Hoelscher, B., 1992. Use of daily growth increments on otoliths to assess stockings of hatchery-reared kokanees. Transactions of the American Fisheries Society 121, 785–791.
- Pedersen, T. and Carlsen, B., 1991. Marking cod (*Gadus morhua* L.) juveniles with oxytetracycline incorporated into the feed. Fisheries Research 12, 57–64.
- Platt, C., and A.N. Popper. 1981. Fine Structure and Function of the Ear. Springer-Verlag, New York. 1-36.
- Popper, A.N. 1983. Organization of the Inner Ear and Auditory Processing. in R.G. Fish Neurobiology, Vol. 1, Brain stem and sense organs. The University of Michigan Press. Pages 126-178.
- Popper, A.N., and S. Coombs. 1982. The Morphology and the Evolution of the Ear in Actinopterygian Fishes. American Zoologist 22:311-328.
- Popper, A.N., S. Coombs. 1980. Auditory Mechanisms in Teleost Fishes. American Scientist 68:429-440.
- Potts, W. T. W. and Parry, G., 1964. Osmotic and Ionic Regulation in Animals. Oxford: Pergamon Press.
- Reichert, M. J. M., Dean, J. M., Feller, R. J. and Grego, J. M., 2000. Somatic growth and otolith growth in juveniles of a small subtropical flatfish, the fringed flounder, Etropus crossotus. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 254, 169–188.

- Reinert, T. R., Wallin, J., Griffin, M. C., Conroy, M. J. and Van, D. A. M. J., 1998. Longterm retention and detection of oxytetracycline marks applied to hatchery-reared larval striped bass, Morone saxatilis. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 55, 539–543.
- Rien TA, Beamesderfer RC. 1994. Accuracy and precision of white sturgeon age estimates from pectoral fin rays. Transactions of the American Fisheries Society 123:255-265.
- Rogers, J. S., Hare, J. A. and Lindquist, D. G., 2001. Otolith record of age, growth, and ontogeny in larval and pelagic juvenile Stephanolepis hispidus (Pisces:Monacanthidae). Marine Biology (Berlin) 138, 945–953.
- 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.
- Rojas–Beltran et al., 1995
- 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 catfi sh. 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.
- Sanchez-Lamadrid, A., 2001. The use of alizarin complexone for immersion marking of otoliths of larvae of gilthead sea bream, Sparus aurata L. Fisheries Management and Ecology 8, 279–281.
- Sasaki, K. 1989. Sciaenid Phylogeny and Zoogeography. Memoirs of the Faculty of Fisheries. Hokkaido University, Vol. 36, No. 1-2, 137 pp.
- Schwarzhans, W. 1993. A Comparative Morphological Treatise of Recent and Fossil Otoliths of the Family Sciaenidae (Perciformes). Piscium catalogus: Part Otolithi Piscium. Vol. I. Munchen. 245 pp. Secor & Dean, 1989
- Secor, D.H., and J.M. Dean. 1989. Somatic Growth Effects on the Otolith, Fish Size Relationship in Young Pond-Reared Striped bass, Morone saxatilis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 46:113-121. Smith, 1992
- Sollner,C., M. Burghamer. E. Busch-Nentwitch. J. Berger. H. Schwrz. C.Riekel. and T. Nicolson. 2003. Control of Crystal Size in Lattice Formation by Starmaker in Otolith biomineralization. Science. 302: 282-286. Sollner et al., 2003
- 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.
- Sva, S., and, T., Jorstad, K. E. and Kristiansen, T. S., 1990. Enhancement studies of coastal cod in western Norway. Part I. Recruitment of wild and reared cod to a local spawing stock. Journal du Conseil International Pour L'Exploration de la Mer 47, 5–12.
- 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 photopriod and feeding on daily growth patterns in otoliths of juvenile Tilipia nilotica. Fish. Bull. 79, 459-466.
- Taubert, B.D. and D.W. Coble. 1977. Daily Rings in Otoliths`of three Species of Lepomis and Tilapia mossambica. J. Fish. Res. Board Can. 34: 332-340.Wilson, 1985
- 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 japonicas. Journal of Fish Biology (2005) 66, 1149–1162
- Taylor, A., 2005. The Fisheries Society of the British Isles, Journal of Fish Biology 2005, 66, 1149–1162.
- Trefethen, P.S. 1956. Sonic equipment for tracking individual fish. U.S. Fish and Wildlife Service, Spec. Sci. Rep. Fish., 179: 11 p.
- Trefethen, P. S., J. W. Dudley and M. R. Smith. 1957. Ultra-sonic tracer follows tagged fish. Electronics 30(4):156-160. April.
- Tsukamoto, K., 1985. Mass-marking of ayu eggs and larvae by tetracycline-tagging of otoliths. Nippon Suisan Gakkaishi 51, 903–911.
- Tsukamoto, K., 1988. Otolith tagging of ayu embryo with fluorescent substances. Nippon Suisan Gakkaishi 54, 1289–1295.
- Tsukamoto, K., Kuwada, H., Hirokawa, J., Oya, M., Sekiya, S., Fujimoto, H. and Imaizumi, K., 1989. Size-dependant mortality of red sea bream, Pagrus major, juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan. Journal of Fish Biology 35 (Suppl. A), 59–69.

- 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.
- Utter, F., 1998. Genetic problems of hatchery-reared progeny released into the wild, and how to deal with them. Bulletin of Marine Science 62, 623–640.
- Walt, B. and Faragher, R. A., 2003. Otolith marking of rainbow trout fry by immersion in low concentrations of alizarin complexone. North American Journal of Fisheries Management 23, 141–148.
- Wilson, R.R., Jr. 1985. Depth Related Changes in Sagitta Morphology in Six Macrourid Fishes of the Pacific and Atlantic Oceans. Copeia 1985(4):1011-1017. Lombarte, 1992
- Yamashita, Y., Nagahora, S., Yamada, H. and Kitagawa, D., 1994. Effects of release size on survival and growth of Japanese flounder Paralichthys olivaceus in coastal waters off Iwate Prefecture, Northeastern Japan. Marine Ecology Progress Series 105, 269–276.

Abstract
The ichthyology studies at fish tagging was referred to more than 100 years ago. Tagging is utilized for the estimation of stock amount, population frequency and project or calculating of survival and growth value. There are many various methods for fish tagging are used for juvenile to adult fish. The current study was carried out at Ghare-su research station during 2011-2013. 250 of carp fingerlings (Cyprinus carpio) were tagged by bath with tetracycline manner (pH=6, 500mg/l).
The fork length and weight of fish were 10-12 mm and 2-4 g, respectively.
Also, fish were fed twice a day. The second and third tagging stages were performed at November 2012 and July 2014, respectively. After otolith was extracted, it was washed water and dry at lab room air. The tagged rings or loops (annuali) were observed by lab loupe with 10X and 40 X magnifications. The results showed that a narrow band was formed after the first tagging of carp fingerlings, as it was seen at the end of otolith edge.
It was demonstrated that tetracycline was absorbed and the tagged ring or loop (annuli) was newly formed at external or out of othlith edge. There was not observed any fish death, when carp fingerlings were tagged by OTC bath manner. It said that the first OTC band will be seen, the first sign of the formed OTC band was observed at external margin of otoilith after 6th month , of course , from 4th month, this sign was formed at the most external of otoilth edge but with added the following region, it can be hardly distinguished. The formed band in relative to second tagging was similar to the first band but there was no discrepancy or difference with together.

Keywords: *Cyprinus carpio* ،Oxytetracycline ،Tagging ،Otolith, Growth

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute – Inland Waters Aquatics Resources Research Center

---

Project Title : Study forming of growth rings in the Caspian bony fishes (Step 1: Common carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)
Approved Number:2-77-12-89143
Author: Farokh Parafkandeh Haghighi
Project Researcher : Farokh Parafkandeh Haghighi
Collaborator(s) *:* Keymaram, F, Bandani, Gh., Aghili, K., Yelghi, S., Aghilinejad, M., Fazli, H., Valinasab, T., Ghasemi, Sh., Talebzadeh, A., Daryanabard, Gh. R
Advisor(s): -
Supervisor: Sh.Abdolmaleki
Location of execution : Golestan province
Date of Beginning : 2011
Period of execution : 3 Years & 4 Months
Publisher : Iranian Fisheries Science Research Institute
Date of publishing : 2016

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute

Project Title :

Study forming of growth rings in the Caspian bony fishes (Step 1: Common carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

Project Researcher :

Farokh Parafkandeh Haghighi

Register NO.

49700