

BALIK LARVALARINDA OTOLİT ÇIKARMA VE GÜNLÜK YAŞ: AYU BALIĞI, (*Plecoglossus altivelis* Temminck & Schlegel, 1846) ÖRNEĞİ**İlhan Aydın*, Orhan Ak**

Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü 61250 Yomra, Trabzon

Özet:

Larval otolit çıkarma tekniğini yerleştirmek ve otolitlerdeki günlük yaş halkalarını okumak için, ayu balığı, *Plecoglossus altivelis* larvalarından mikroskop altında sagitta çıkarılmış ve kamera lucida kullanılarak günlük yaş halkaları okunmuştur. Balıklar 2 Kasım 1995 ile 8 Aralık 1995 tarihleri arasında yumurtadan çıkmıştır. Balıkların %35'i 11-15 Kasım 1995 tarihleri arasında yumurtadan çıkmıştır. Günlük büyüme 0.40 ± 0.012 mm / gündür. Otolitlerde en az 12, en fazla 48 gün halkası vardır. Balıkların günlük yaşları ile büyümeleri arasında pozitif doğrusal korelasyon vardır.

Anahtar Kelimeler: Günlük yaş, Balık larvası, Ayu balığı, *Plecoglossus altivelis*

Abstract:**Otolith Extraction in Fish Larvae and Daily Increments: Example of Ayu, (*Plecoglossus altivelis* Temminck & Schlegel, 1846)**

To establish otolith extraction and daily ring reading, sagittal otolith extraction of larval Ayu *Plecoglossus altivelis* was conduct. Daily increments were read under the microscope (x400) with camera lucida. The date of hatching was found between 02.11.1995 and 08.12.1995. 35 % of larvae were hatched between 11.11.1995 and 15.11.1995. Daily growth rate were found 0.40 ± 0.012 mm / day. The numbers of daily increment were 12 and 48 for minimum and maximum respectively. A positive linear regression was observed between daily age and growth rate.

Keywords: Daily age, Fish larvae, Ayu fish, *Plecoglossus altivelis*

* **Correspondence to:** İlhan AYDIN, Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü 61250 Yomra, Trabzon-TÜRKİYE

Tel: (+90 462) 341 10 53-315 **Fax:** (+90 462) 341 10 56

E-mail: ilhan61@gmail.com

Giriş

Otolitler, kemikli balıkların iç kulaklarındaki labirent kanalları denen, biri sağ ve diğeri solda olmak üzere; üç çift yarım daire kanalları ile bu kanalların her birine bağlı, yine üç çift kese içerisinde bulunan kalsiyum karbonattan oluşmuş kristal yapılardır. Balıklarda bulunan 3 çift otolitten en büyüğü olan sagitta yaş tayini çalışmalarında en yoğun olarak kullanılmaktadır (Pannella, 1980). Otolit oluşumu ve büyümesi, somatik büyümeyle ilişkili olup çevresel faktörlere bağlıdır. Balığın büyümesi ve yaşın hesaplanmasında kullanılan otolitler, balıkların biyolojik yaşam döngüsünün açıklanmasında ve bunlara bağlı olarak ticari balık stokları için temel çalışmaların oluşturulması açısından önem taşımaktadırlar (Borelli ve ark., 2001).

Balık otolitlerinden günlük büyümenin belirlenmesiyle ilgili ilk çalışmalara Pannella (1971) tarafından başlanmış olup, larval balık otolitlerinden yapılan günlük yaş okuma analizleri sonucunda; doğal stoklardaki larvaların yaş, büyüme, ölüm oranı, göç hareketleri, bolluk, taksonomideki yeri gibi ilk yaşam evresine ait bazı bilgiler elde edilebildiği çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Campana ve Jones, 1992; Jones, 1992; Folkvord ve Mosegaard, 2002; Mosegaard ve ark., 2002). Balıkların ilk yaşam evreleri hakkında elde edilecek olan bilgilerin, popülasyona katılacak olan yeni birey miktarının tahmin edilmesinde kritik bir basamağı oluşturduğunu bildirmiştir (Leak ve Houde, 1987). Larvaların yaşının belirlenmesiyle geri hesaplama (back calculation) yöntemiyle yumurtadan çıkış zamanı da belirlenebilmektedir (Feet ve ark., 2002). Houde (1989), balık larvalarının gelişiminde besin, sıcaklık, foto periyot ve tuzluluk gibi faktörlerin etkili olduğunu ve bu etkilerin otolitlerde saklandığını bildirmiştir. Larvalarda günlük yaşın tespit edilmesi, biyolojik yaşam döngüsünde meydana gelen olayların aydınlatılması yönünden önem taşımaktadır (Carlander, 1987). Larva otolitlerinde mikro artışlar bir organik matrikste periyodik olarak biriken kalsiyum karbonat kristali tabakalarından oluşmaktadır. Bu kristal tabakalara “artış zonu” ve kesikli kristal şekline “kesikli zon” adı verilir (Campana ve Neilson 1985). Bu iki ardışık zon ışık altında açık (artan) bant ve koyu (kesik) bant olarak görülmektedir. Günlük artış periyodu, her 24 saat veya her gün için iki parçanın birleştiği zaman anlamındadır (Geffen, 1987).

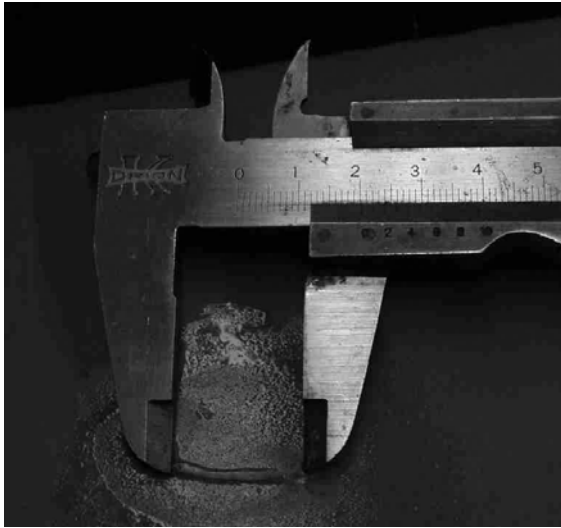
Larva ve genç balık bireylerinde günlük yaşın belirlenmesi ve buna bağlı olarak da popülasyon parametrelerinin tespit edilmesine yönelik çalışmalar ticari değeri yüksek bazı tatlı su ve deniz balıklarında dünyada farklı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Hayashi ve ark., (1988), sardalya balığı yumurtalarını doğadan toplayıp laboratuvar şartlarında açtırmışlar ve sagittal otolitteki halka sayısı ile günlük yaş arasında lineer bir ilişki tespit etmişlerdir. Böylece otolitteki halka sayısı ile günlük yaş arasında bir ilişkinin olduğunu ispatlamışlardır. Brothers (1987), günlük halkaların yıllık evrelerde olduğu gibi otolitin üzerinde simetrik bir biçimde bulunmadığını belirtmiştir. Bazı bölümler hızlı bir büyüme ve geniş gelişme evreleri gösterirken diğerleri yer yer kesintiler gösterebilmektedir. Guitérez ve Nin (1986), otolit gelişimini etkileyen en önemli dış faktörün sıcaklık olduğunu, Jones (1986), sıcaklığın yanında foto periyot değişimleri ve beslenmenin de etkili olduğunu belirtmiştir. Bütün bu faktörler, doğal ortamda bulunan larvadaki halka oluşumu ve otolit büyümesinin kültür koşullarındaki bireylerde farklı oluşmasına neden olacaktır.

Yapılan literatür çalışmasında bu konuda ülkemizde yapılmış sadece dört çalışmaya rastlanmıştır (Metin ve ark., 2001 ve 2006; Akalın ve ark., 2006; Özcan ve ark., 2009). Bu çalışmalardan iki tanesi laboratuvar ortamında gerçekleştirilirken, diğer iki tanesi ise toplanan örneklerin incelenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Metin ve ark., (2001), Çipura Larvalarında Otolitlerin Günlük Gelişimini kontrollü şartlar altında inceledikleri çalışmalarında, larva standart boy değişimi ile sagitta ve lapillus boyları arasında pozitif allometrik ilişki olduğu tespit edilmiştir. Metin ve ark., (2006), kültür koşullarında yetiştirilen sinarit larvalarının günlük otolit gelişimini 24 saat aydınlatma uygulayarak inceledikleri çalışmalarında otolit gelişimini ağzın açıldığı üçüncü günden larval aşamanın bittiği 33. güne kadar ölçmüşlerdir. İlk otolit gelişimini yumurtadan çıkıştan itibaren 11. günde 4,25–4,99 mm total boy aralığında tespit etmişlerdir. Akalın ve ark., (2006), İzmir Körfezi’nde sardalya larvalarının günlük büyümesi üzerine yaptıkları çalışmada, 0.5-1 m derinlikte gerçekleştirdikleri tül ırgırp çekimi sonucunda toplamış oldukları 66 adet larvanın boyları 23.25 ile 32.72 mm ve ağırlıkları ise 0.0041 ile 0.09 g arasında değişim gösterdiğini, otolitlerdeki günlük halka sayısının 35 ile 60 arasında olduğunu ve otolit boyu ile günlük halka

sayısı arasında ilişki ($r= 0.89$) olduğunu rapor etmişlerdir. Özen ve ark., (2008) Çanakkale sığ sularında yapmış oldukları çalışmalarında *Diplodus annularis*, *Diplodus vulgaris*, *Lithognathus mormyrus*, *Pagellus acarne*, *Sarpa salpa*, *Mullus surmuletus* ve *Scorpaena porcus* türlerinin otolitlerinin incelenmesiyle günlük yaş, büyüme ve otolitteki halka sayıları ile mide içeriklerini incelemişlerdir. Bu çalışmayla balık larvalarından otolit çıkarmayı göstermek ve Ayu balığında günlük yaş okuma ve otolit, balık büyümesi arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan ayu balığı (*Plecoglossus altivelis* Temminck & Schlegel, 1846) larvaları su altı akua lamp (100 W) kullanılarak Japonya da bulunan Shimanto koyundan 20.12.1995 tarihinde tül kepçeyle toplanmıştır. Ayu balığı larvalarından otolit çıkarılması ve okunması ve sardalya (*Sardinops melanostiscus*), hamsi (*Engraulis japonicus*) ve çipura balığı (*Sparus sabra*) larvalarından da sagittal otolit çıkarılması Japon Nishinihon Teknoloji Enstitüsü laboratuvarında 7–16 Eylül 2004 tarihleri arasında yapılmıştır.



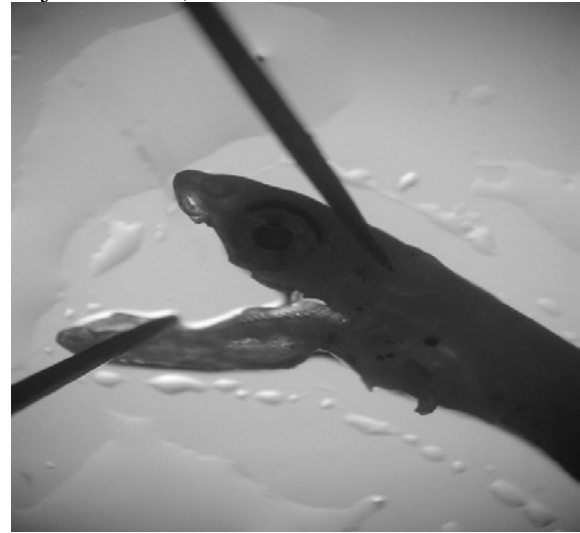
Şekil 1. Ayu balığında (*Plecoglossus altivelis*) kumpas yardımıyla total boyun ölçülmesi

Figure 1. Measurement of total length of larval fish ayu (*Plecoglossus altivelis*) by calipers.

Toplanan örnekler önce %10 formaldehit içerisinde 1 gün bekletildikten sonra %80 etanol içerisinde muhafaza edilmiştir. Örneklerin total boyu 0.01 mm hassasiyetli kumpas ile ölçülmüştür (Şekil 1). Larva sağ yanı lam üzerine gelecek şekilde yatırılarak, mikroskop altında (Nikon SMZ–10 Binoküler mikroskop) iğne yardımıyla alt çene uzaklaştırılmıştır (Şekil 2). Beynin ön tarafında bulunan iki küçük sagittanın yeri tespit edilerek kör iğne yardımıyla çıkarılmıştır (Şekil 3). Otolit çıkarma işlemi %80 etanol içerisinde yapılmıştır.

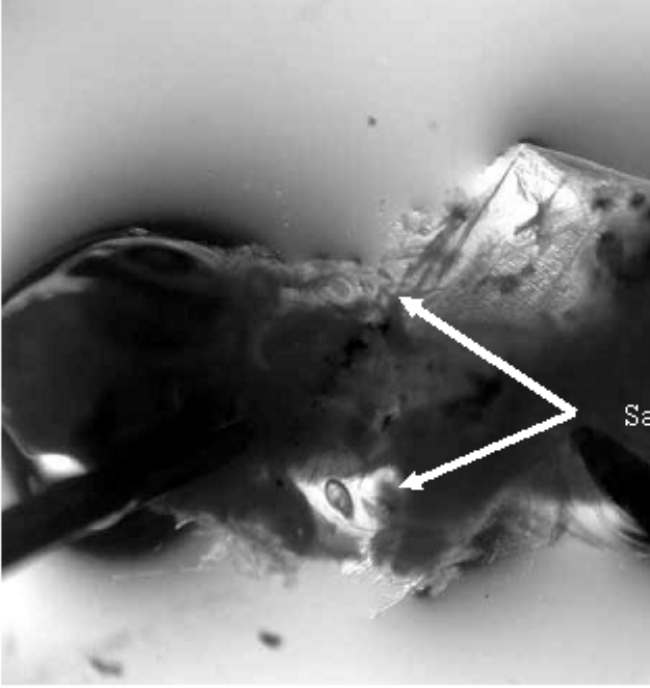
Otolit halkalarının okunması için otolitler resin (Canada balsam distillate by o-xylene ($C_6H_4(CH_2)_2$) içerisinde fikse edilmiştir. Ayu balığı larvalarının otolitleri okunmaya hazır olup herhangi bir zımparalama işlemine tabi tutulmamıştır (Şekil 4).

Resinin tamamen kurumasından sonra otolit halkaları 600 x büyütme mikroskop altında kamera lucida (Nikon Eclipse E 400, plan fluor 60x/0.85.DIC $M_{\infty}/0.11 -0.23$ WD 0.30 microscope with camera Lucida (Nikon Y-IDT)) yardımıyla okunmuştur. Günlük halkaların okunması otolit merkezinin dışına doğru yapılmıştır (Şekil 5). Ayu balığı otolitleri yumurtadan çıkış esnasında 0.015 mm çapa sahiptirler (Tsukamoto ve Kajihara, 1987).



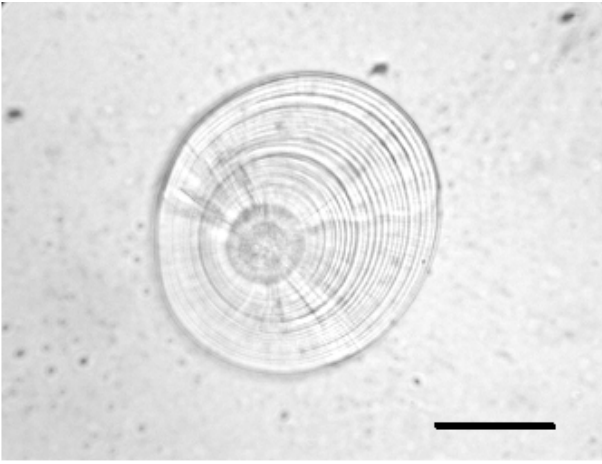
Şekil 2. Mikroskop altında hamsi larvasından (*Engraulis Japonicus*) alt çenenin uzaklaştırılması. Yatay çizgi=1mm

Figure 2. The larva of anchovy (*Engraulis Japonicus*) lower jaw was removed by needles under the microscope.



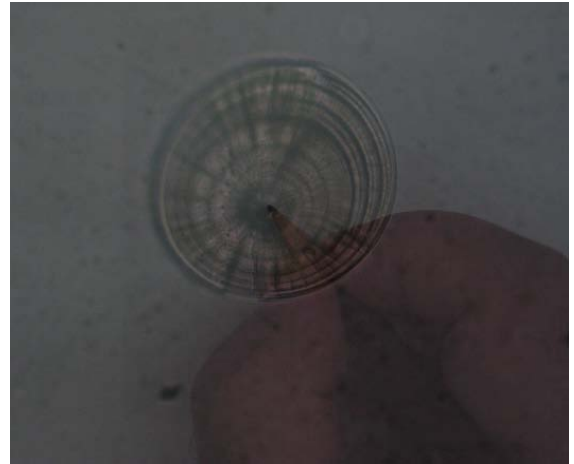
Şekil 3. Mikroskop altında çipura (*Sparus sarba*) larvasının da sagittaların yerleşimi.
Yatay çizgi=1mm

Figure 3. Location of sagittal otoliths of sea bream (*Sparus sarba*) larvae's under the microscope



Şekil 4. Mikroskop altında Ayu balığı larvasına (*Plecoglossus altivelis*) ait sagitta. Yatay çizgi= 50µm

Figure 4. Larval ayu (*Plecoglossus altivelis*) sagitta under the microscope.



Şekil 5. Işık mikroskobu ve kamera lucida yardımıyla ayu balığı (*Plecoglossus altivelis*) larvası otolitinde merkezden dışa doğru halkaların okunması.

Figure 5. The larval ayu (*Plecoglossus altivelis*) otoliths increment counted through a light microscope with a camera lucida

Bulgular ve Tartışma

Her bir balıktan alınan 2 adet sagitta ile toplamda 64 adet otolitın günlük yaş halkaları mikroskop altında sayılmıştır. Yumurtadan Çıkış tarihi= Örnekleme tarihi-halka sayısı formülü kullanılarak yumurtadan çıkış tarihi belirlenmiştir. Ayu balığının yumurtadan çıkış zamanının frekansını Şekil 6 da gösterilmiştir. Ayu balığının Japonyada bulunan Biwa Gölünde GSI ve yumurta safhaları incelenerek üreme dönemi sonbahar ayları olarak rapor edilmiş ve larvaların yumurtadan çıkış boyu 6 mm olduğu rapor edilmiştir (Tsukamoto ve ark., 1990). Buna karşılık üreme mevsiminin ihtiyoplanktonlar incelenerek yapılan bir çalışmada ise, ayu balığı yumurta, larva ve genç bireylerine ekim-aralık aylarında rastlandığı Yamashita ve Aoyama (1984) tarafından rapor edilmiştir. Özen ve ark., (2008) üreme periyodundaki farklılıklar örnekleme bölgelerinin, kullanılan örnekleme metotlarının ve tahmin yöntemlerinin (örneğin GSI, ihtiyoplankton ve günlük yaş tayini) farklılıklarından kaynaklanmış olabileceği gibi, üreme periyotlarının yıllara göre farklılık göstermesinin muhtemel olduğunu rapor etmiştir.

Larvaların günlük büyümeleri, her bir balığın örnekleme zamanındaki boyu ile çıkış zamanındaki boy farkı ile tahmin edilen yaş kullanılarak hesaplanmıştır (Günlük büyüme= Örnekleme zamanındaki balık boyu- çıkış anındaki balık boyu). Ayu balığı larvalarının yumurtadan ilk çıkış anındaki boyu 6 mm dir (Tsukamoto ve Kajihara, 1984). Çalışmada örneklenen larvaların boyu 11.2 ile 23.9 mm, günlük yaşları ise 12 ile 48 gün arasında değişim göstermektedir. Total boy yaş arasında $y = 3.1776x^{0.5158}$ şeklinde bir ilişki mevcut olup $R^2 = 0,7898$ şeklindedir (Şekil 7). Balık larvalarının ortalama günlük büyümeleri ile çıkış tarihleri aranda bir ilişki görülmemiş, günlük büyümeleri 0.30 ile 0.67 mm/gün arasında değişmekte olup ortalama değer 0.41 ± 0.071 mm/gün olarak hesaplanmıştır (Şekil 8). *Diplodus annularis* türünün yapılan yaş tayinleri sonucunda elde edilen günlük büyüme oranları 0.306 ile 0.481 mm / gün arasında değişmekte ve ortalaması $0.400 + 0.002$ mm / gün olarak, *Diplodus vulgaris* türünde 0.239 ile 0.340 mm / gün arasında değişmekte ve ortalaması $0.281 + 0.002$ mm / gün olarak, *Lithognathus mormyrus* türünün ağustos-aralık ayları arasında örneklenen bireylerin günlük büyüme oranları 0.581 ile 0.952 mm / gün (ortalama = $0.733 + 0.089$ mm /

gün) arasında değişim göstermekte olduğu Özen ve ark., (2008) tarafından rapor edilmiştir.

Sagittaların günlük büyümeleri 1.7 ile 6.3 $\mu\text{m/gün}$ arasında değişmekte olup ortalama 3.72 ± 0.959 $\mu\text{m/gün}$ olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan sagitta çapları ile balıkların yaşları arasında ve sagitta çapı ile balık boyu arasında önemli doğrusal pozitif ilişki bulunmuştur ($P < 0.05$) (Şekil 9 ve Şekil 10). Somarakis ve Nikolioudakis (2007), hamsi larvalarının günlük büyüme oranını 0.5 mm / gün olarak bildirmişlerdir. Günlük büyümede yıllar ve bölgeler arasında istatistiksel açıdan bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Otolit büyüklüğü ile balık büyüklüğü arasında gözlemlenen ilişkinin balıkların genetiksel yapısından kaynaklandığını rapor etmişlerdir.

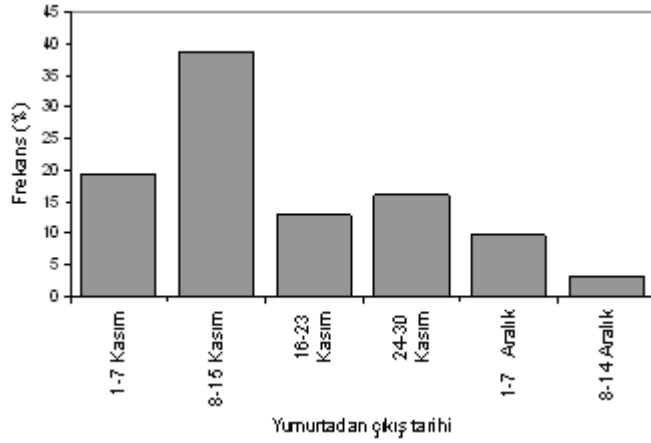
Stoğa yeni birey katılımının en büyük adaylarından olan larva ve genç balık bireylerinin popülasyon dinamikleri hakkında elde edilecek olan bilgiler balıkçılık yönetimi açısından oldukça önemlidir (Cermeño ve ark., 2003). Yapılacak olan yönetime yönelik çalışmalar ve izleme programlarında sadece ergin bireylerin izlenmesi değil aynı zamanda larva ve genç balık bireyleri de izlenmelidir. Bunun için de balık larva ve genç bireylerinde günlük yaşın belirlenmesi önem taşımaktadır.

Sonuç

Genç balıklar stoka yeni birey katılımının en büyük adaylarıdır. Popülasyon dinamikleri hakkında elde edilecek olan bilgiler balıkçılık yönetimi açısından oldukça önemlidir. Bundan dolayı yapılacak olan yönetime yönelik çalışmalar ve izleme programlarına sadece ergin bireyler değil genç bireylerde alınmalıdır. Eş zamanlı olarak yapılacak ergin, genç ve larva izleme çalışmaları, balıkçılık yönetimindeki düzenlemelerde tedbirlerin zamanında alınmasına yardımcı olacaktır.

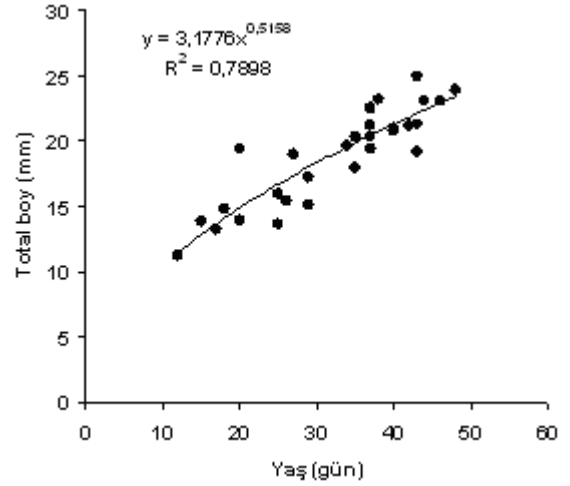
Teşekkür

Nishinohon Teknoloji Enstitüsünde balık larvalarından otolit çıkarma ve günlük yaş halkalarının okunması konusunda bana yol gösteren Sayın Dr. S. Fujita ve Sayın Dr. S. Oka'ya ve çalışma ortamı sağlayan Kochi Üniversitesi Usa Marine Biyoloji Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. İ. KINOSHITA'ya ve teşekkür ederim.



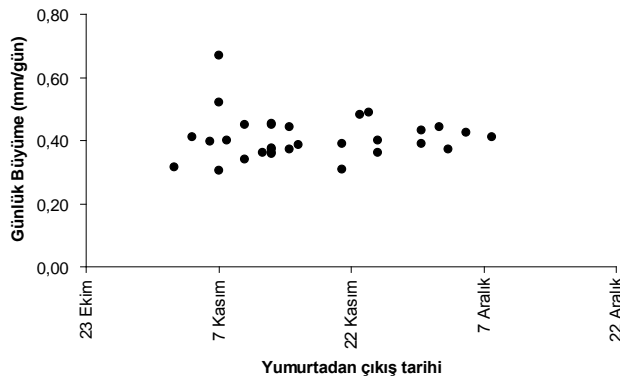
Şekil 6. Ayu balığı larvalarının (*Plecoglossus altivelis*) çıkış tarihlerine göre frekans dağılımı

Figure 6. Frequency distribution of hatch date of larval ayu (*Plecoglossus altivelis*)



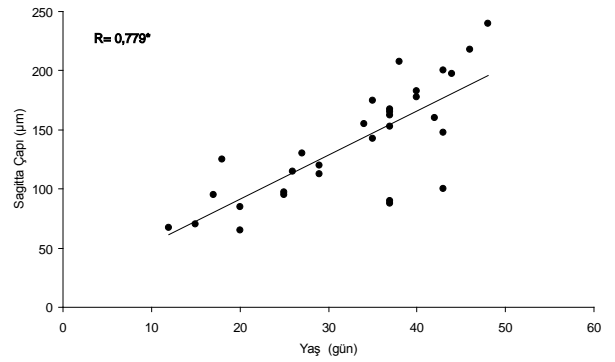
Şekil 7. Ayu balığı larvalarında boy-yaş ilişkisi.

Figure 7. Length- age relationships of ayu larvae (*Plecoglossus altivelis*)



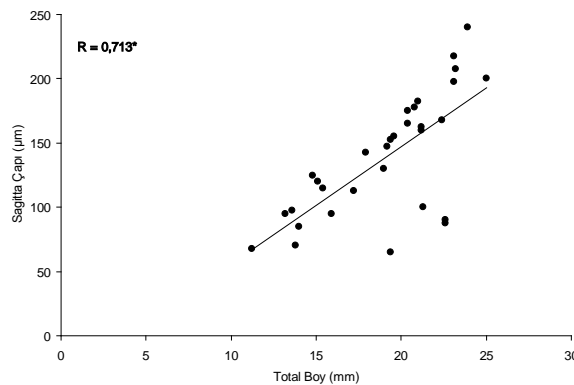
Şekil 8. Ayu balığı larvalarının günlük büyüme ile yumurtadan çıkış tarihi arasındaki ilişki

Figure 8. Relationships between hatch date and body length of ayu larvae (*Plecoglossus altivelis*)



Şekil 9. Sagitta çapı ile balık yaşı arasındaki lineer ilişki

Figure 9. Linear relationships of between sagitta and larvae age



Şekil 10. Sagitta çapı ile total boy arasındaki lineer ilişki

Figure 10. Linear relationships of between sagitta and total length

Kaynaklar

- Borelli, D., Mayer-Gostan, N., De Pontual, H., Boeuf, G., Payan, P., (2001). Biochemical relationships between endolymph and otolith matrix in the trout (*Onchorhynchus mykiss*) and turbot (*Psetta maxima*), *Calcified Tissue International*, **69**: 356-364. doi:[10.1007/s00223-001-2016-8](https://doi.org/10.1007/s00223-001-2016-8)
- Campana, S.E., Jones, C.M., (1992). Analysis of otolith microstructure data. In: Stevenson, D.K., Campana, S.E. (Eds.), *Otolith Microstructure Examination and Analysis*. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci., 117, pp. 73-100.
- Campana, S.E., Neilson, J.D., (1985). Microstructure of fishes otoliths, *Canadian Journal of Aquatic Sciences*, **42**: 1014-1032. doi:[10.1139/f85-127](https://doi.org/10.1139/f85-127)
- Carlander, K. D., (1987). A history of scale age and growth studies of North American freshwater fishes. In *The age and growth of fish*. R. C. Summerfelt and G. E. Hall, eds. Iowa State Univ. Pr., Ames, IA, pp. 3-14.
- Cermeño, P., Uriarte, A., de Murgia, 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.1095-8649.2003.00056.x](https://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00056.x)
- Feet, P., Uglund, K.I., Moksness, E., (2002). Accuracy of age estimates in spring spawning herring (*Clupea harengus* L.) reared under different prey densities, *Fisheries Research*, **56**: 59-67. doi:[10.1016/S0165-7836\(01\)003130-7](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(01)003130-7)
- Folkvord, A., Mosegaard, H., (2002). Some uses of individual age data. A. Age and growth analysis. In: Panfili, J., Troadec, H., de Pontual, H., Wright, P.J. (Eds.), *Manual of Fish Sclerochronology*. IFREMER-IRD, Brest, pp. 146-166. co-edition.
- Garcia, A., Cortes, D., Ramirez, T. (1998). Daily larval growth and RNA and DNA content of the NW Mediterranean anchovy *Engraulis encrasicolus* and their relations to the environment, *Marine Ecology Progress Series*, **166**: 237-245. doi:[10.3354/meps166237](https://doi.org/10.3354/meps166237)
- Geffen, A.J., (1982). Otolith ring deposition in relation to growth rate in herring (*Clupea harengus*) and turbot *Scophthalmus maximus*) larvae, *Marine Biology*, **71**: 317-326. doi:[10.1007/BF00397048](https://doi.org/10.1007/BF00397048)
- Hayashi, A., Yamashita, Y., Kawaguchi, K., and Ishii, T., (1988). Rearing method and Daily otholit ring of Japan Sardina Larvae, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**(6): 997-1000.
- Houde, E.D., (1989). Comparative growth, mortality and energetics of marine fish larvae: temperature and implied latitudinal effects, *Fisheries Bulletin. U.S.*, **87**: 471-495.
- Jones, C.M., (1992). Development and application of the otolith increment technique. In: Stevenson, D.K., Campana, S.E. (Eds.), *Otolith Microstructure Examination and Analysis*. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci., 117, pp. 1-11.
- Leak, J. C. and E. D. Houde (1987) Cohort growth and survival of bay anchovy, *Anchoa mitchilli*, larvae in Biscayne Bay, Florida, *Marine Ecology Progress Series*, **37**: 109-122. doi:[10.3354/meps037109](https://doi.org/10.3354/meps037109)
- Metin G., Saka İ., Firat, K. ve Çoban D., (2006). Daily Microgrowth Increments in Otoliths of Common Dentex (*Dentex dentex* Linneaus, 1758) Larvae Reared in Culture Conditions, *Turkish Journal of Veteriner and Animal Science*, **30**: 435-441.
- Metin, G., Sezer, C., Kınacıgil, T., Ülkyaz, A.(2001). Çipura (*Sparus aurata* L.) larvalarında otolitlerin günlük gelişimi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **18**: 3-4.
- Mosegaard, H., Folkvord, A., Wright, P.J., (2002). Some uses of individual age data. B. Ecological applications. In: Panfili, J., Troadec, H., de Pontual, H., Wright, P.J. (Eds.), *Manual of Fish Sclerochronology*. Ifremer-IRD, Brest, pp. 167-178. co-edition.
- Özen Ö., İşmen, A., Özekinci, U., Ayaz, A., Altınağaç, U., Ayyıldız, H. Ve Cengiz, Ö., (2008). Çanakkale sığ sularında balık biyoçeşitliliği ve ekonomik genç balık bireylerinin popülasyon dinamikleri. TÜBİTAK TBAG Proje 106T123, 125 sayfa.

- Panella, G., (1971). Fish otoliths: Daily growth layers and periodical patterns, *Science*, **173**: 1124-1127.
doi:[10.1126/science.173.4002.1124](https://doi.org/10.1126/science.173.4002.1124)
- Pannella, G. (1980). Growth patterns in fish sagittae. Chapter 15. Skatel Growth of Aquatic Organism: Biological records of Environmental Change (Rhoads, D. C. And Lutz, R. A. Edt) Plenum Presss, New York and London, 515-560.
- Tsuji, S., T. Aoyama (1984). Daily growth increments in otoliths of Japanese Anchovy larvae *Engraulis japonica*. Bulletin of Japanese Society of Fish, *Oceanographi*, **50**(7): 1105–1108.
- Tsukamoto K., Kajihara T., (1984). On the relation between yolk absorbtion and swimming activity in the ayu larvae *Plecoglossus altivelus*, *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, **50**(1): 59-61.
- Tsukamoto K., Kajihara T. (1987). Age Determination of ayu with otolith. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**(11): 1985-1997.
- Yamashita Y., Aoyama T., (1984). Ichthyoplankton in Otsuchi Bay on Northeastern Honshu with Reference to the time-space segregation of their habitats, *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, **50**(2): 189-198.