

*Päivi Eskelinen (toim.)*

Vesihome kalanviljelyn vaivana  
Onko taudin torjuntaan menetelmiä?

Vastaava toimittaja: Raimo Parmanne

Kansi: Vesihomeen rihmasto. Kuva: Anna Alaranta

ISBN 951-776-408-1

ISSN 0787-8478

Edita Prima Oy

Helsinki 2003

# Sisällys

VESIHOME JA VESIHOMETARTUNTA .....	1
Päivi Eskelinen ja Pia Vennerström	
TAUDINAIHEUTUSKYKYINEN VESIHOMEKLOONI ( <i>SAPROLEGNIA SP.</i> ) SUOMESSA JA RUOTSISSA .....	7
Päivi Pylkkö	
MALAKIITTIVIHREÄN VAIHTOEHDOT HAUDONNASSA .....	13
Päivi Eskelinen, Päivi Pylkkö ja Erja Kontinen	
MALAKIITTIVIHREÄN VAIHTOEHDOT KALOJEN VESIHOMEEN TORJUNTAKYLVETYKSISSÄ .....	35
Yrjö Lankinen ja Anu Halttunen	
VESIHOMEEN TORJUNTA RAVUN MÄDIN HAUDONNASSA .....	49
Anna Alaranta, Jaakko Haverinen ja Päivi Eskelinen	

## Vesihome ja vesihometartunta

Päivi Eskelinen<sup>1</sup> ja Pia Vennerström<sup>2</sup>

1) Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Laukaan kalantutkimus ja vesiviljely, Vilpulantie 415, 41360 Valkola

2) Eläinlääkintä- ja elintarviketutkimuslaitos, Patologian tutkimusyksikkö, PL 45, 00581 Helsinki

## 1. Vesihomeet ovat yleisiä makean veden sieniä

Vesihome on yleinen nimitys vedessä eläville sienille. Kalojen vesihometartunnoissa on tavattu useita eri lajeja, mutta Suomessa kyseessä on yleisimmin ollut *Saprolegnia* –lajiin kuuluvat sienet. Ne ovat makean veden sieniä, joita esiintyy kaikkialla maailmassa. Myös murtovedessä on todettu vesihometartuntoja, joskin harvemmin. Sienirihmat kasvavat vedessä johonkin alustaan kiinnittyneenä pumpulimaisena kasvustona. Useimmat vedessä esiintyvät sienilajit ovat harmittomia kaloille ja muille vesieläimille.

*Saprolegnia*-sienen elinkierto on monimutkainen, ja siihen kuuluu useita vaiheita, joissa sieni voi lisääntyä. Sieni lisääntyy sekä suvullisesti että suvuttomasti. Suvuton lisääntyminen on yleisempää (Noga 1993). Siinä sienirihma voi tuottaa siimallisia itiöitä, primäärisiä parveiluitiöitä (zoosporeja), jotka asettuvat sienirihman lähelle ja muodostavat lepoitiön. Tämä lepoitiö voi kasvattaa uutta sienirihmaa tai muodostaa sekundäärisiä parveiluitiöitä, jotka voivat kulkeutua vedessä kauaskin, koska ne pysyvät liikkumaan siimojen avulla paljon pidemmän ajan kuin primääriset parveiluitiöt. Sekundäärisiä parveiluitiöitä pidetään pääasiallisena homesienen leviämistapana. Ne voivat elää vapaina useita päiviä tai asettua lepoitiöksi, joka alkaa kasvattaa sienirihmaa, kun olosuhteet tulevat sopiviksi.

Vesihomeen lisääntyminen suvuttomasti itiöimällä mahdollistaa perimältään täysin samanlaisten kloonien muodostumisen. Itiöimisen vuoksi vesihomesienet ovat tehokkaita leviämään paikasta toiseen, ja jos itiöstä vielä muodostuu lepoitiö, se selviytyy pitkiä aikoja hyvinkin keuhkoissa oloissa.

## 2. Mikä vesihometartunta on?

Vesihometartunta on kalojen tautitila, jonka vedessä esiintyvät homesienet aiheuttavat. Ulkoisesti kaloissa näkyvä homekasvusto koostuu suuresta määrästä sienirihmoja eli hyyfejä, jotka näkyvät vaaleana pumpulimaisena kasvustona kalan pinnalla. Home näkyy parhaiten, kun kala on vedessä. Vedestä nostetussa kalassa kasvusto vaikuttaa lähinnä limaiselta kohoumalta.

Kaloja sairastuttavat monet vesihomesienet, jotka kuuluvat *Saprolegnia*-, *Achlya*-, *Aphanomyces*-, *Leptolegnia*-, *Leptomitus*- ja *Pythiopsis*-sukuihin. Vesihome kalassa voi olla yhden lajin kasvusto tai useamman lajin sekakasvusto. Tavallisimmat vesihomeen aiheuttajat kuuluvat meillä *Saprolegnia parasitica-diclina* –kompleksiin, ja juuri näitä lajeja vesihomeeseen kuolleista kaloista onkin viime vuosina eristetty. Tässä lajikompleksissa on useita geneettisesti erilaisia muotoja. Osa niistä on erikoistunut esiintymään vain tietynlaisissa paikoissa tai tietyillä kaloilla.

Vesihomeen katsotaan olevan yleisimmin toissijainen taudinaiheuttaja. Jotta vesihome voisi aiheuttaa taudin, kalan vastustuskyvyn pitää olla heikentynyt (Pickering ja Christie 1980). Vastustuskyky saattaa heikentyä jonkun muun taudin, ihovaurion tai ulkoisen häiriötekijän seurauksena. Joissain tapauksissa on epäilty, että vesihome olisi ensisijainen taudinaiheuttaja. Vesihometartuntaa on viime vuosina todettu ilman selvää altistavaa tekijää sekä luonnonkaloissa että viljelyssä Suomen lisäksi ainakin Norjassa, Espanjassa, USA:ssa, Englannissa ja Japanissa (Poppe ja Hegge 2000, Johnsen ja Ugedal 2001). Vesihometartuntoja on esiintynyt lohella, siialla, kirjolohella, taimenilla ja nieriällä.

Vesihometta esiintyy kaikkina vuodenaikoina, mutta kalanviljelylaitosten tautihuiput osuvat yleensä kevääseen ja syksyyn, kun veden lämpötila muuttuu. Myös smolttituumien, sukukypsymisen aiheuttamat fysiologiset muutokset kalassa sekä lisääntymisen altistavat kaloja vesihometartunnalle. Pickering ja Christie (1980) havaitsivat, että sukukypsät taimenkoiraat sairastuvat naaraista helpommin vesihometartuntaan. Kalan

puolustusvasteessa vuodenvaihteen mukaan tapahtuvat muutokset on kytketty vakaviin sienitartuntoihin esimerkiksi Tyynenmeren alueella.

Koska vedessä on aina veden luontaiseen eliöstöön kuuluvien vesihomesientien itiöitä, kala ei voi välttyä niiltä, ja niitä esiintyy normaalistikin kalan pinnalla. Kalan ihon li-massa on monenlaisia puolustusjärjestelmän soluja ja aineita, jotka eliminoivat vierai-ta tunkeutujia. Kun kalan vastustuskyky jostain syystä on heikentynyt, kalan ihon pin-nalla olevat itiöt tunkeutuvat kalan ihoon ja alkavat kasvattaa ohuita sienirihmoja ihol-le ja ihon sisälle. Itiön kasvu rihmaksi ja tunkeutuminen kalan ihoon edellyttää toden-näköisesti muutoksia ihossa. Kaloihin muodostuvat sienikasvustot kylvävät tehokkaas-ti itiöitä veteen. Vesihometartunnan saanut kala kuolee lopulta homeen vaurioittamas-ta ihosta vuotavien ruumiinnesteiden menetyksen seurauksena.

Suomessa vesihometartuntaan sairastuneiden kalojen muutokset muistuttavat UDN (ulcerative dermal necrosis) -oireyhtymässä kuvattuja muutoksia, mutta eivät kuiten-kaan täytä tälle taudille asetettuja kriteerejä.

Vesihome tarttuu helposti myös kuolleisiin mätimuniin, joista sienirihmat leviävät elävään mätiin. Mätiin tarttuvat vesihometartunnat ovat samoja lajeja kuin kalojen vesihome-tartuntaa aiheuttavat sienet.

### 3. Vesihometartuntojen levinneisyys ja torjunta

Vesihometartuntoja ja niistä johtuvia kalojen kuolemia on raportoitu eri puolilla maa-ilmaa. Meillä vesihometartuntoja alkoi esiintyä 1990-luvun puolivälissä, ja erityisesti niitä raportoitiin vuosituhaten vaihteessa (Leinonen 1999, Vennerström *et al.* 1999, Pyllkkö ja Vennerström 2000, Pyllkkö *et al.* 2001.). Viime aikoina vesihometartuntoja on ollut vähemmän. Tautitapauksia on esiintynyt sekä viljelylaitoksilla että laitoksilta istutetuissa järviolhissa ja taimenissa, jonkin verran myös onkilammikoiden kirjolo-hissa. Luonnonkaloista on satunnaisia hometartuntahavaintoja.

Toistaiseksi ainoa tapa hoitaa hometartuntoja kalanviljelylaitoksilla ovat kylvetykset. Kylvetysten tarkoituksena on pitää veden vesihomeitiöiden määrä mahdollisimman pienenä, tämä on tarpeellista varsinkin riskiaikoina keväällä ja syksyllä. Malakiittivih-reäkylvetysten poistuminen hometartuntojen hoitomenetelmien valikoimasta on huo-mattavasti hankaloittanut vesihometaudin torjuntaa. Malakiitti on ollut tehokas ja käyttökustannuksiltaan edullinen aine homeen ennaltaehkäisyyn ja torjuntaan erityi-esti mädin haudonnassa. Kun kalojen hometartunta yleistyi, malakiittia käytettiin menestyksellä myös kalojen homesientien kurissa pitämiseen. Homeeseen jo sairastu-neita kaloja ei yleensä kuitenkaan kyetä kylvetyksillä pelastamaan, ja niiden nopea poistaminen altaista on erittäin tärkeää, koska homekasvustot ovat pahimpia homeen kylväjiä ja levittäjiä. Kalojen vesihomeen hoitoon on esitetty useita aineita, joista osa jo on vesiviljelykäytössä muihin tarkoituksiin, tai ne ovat tyypiltään sellaisia, että ne eivät vaadi erityistä hyväksymismenettelyä.

Vesihomeen torjunnassa kylvetykset ovat kuitenkin vain taudin oireiden hoitoa ja tau-din leviämisen mahdollista ennaltaehkäisyä. Vaikka vesihometartunnan hoitoon voi-taisiinkin löytää tehokkaita kylvetyskemikaaleja, itse taudin syiden sekä leviämisen ja ennaltaehkäisytapojen löytäminen vasta voisi auttaa pääsemään taudista eroon ja luo-maan viljelyyn sellaisia uudenlaisia toimintatapoja, joiden avulla vesihometartuntaa voidaan hallita. On myös mahdollista, että kyseessä on arvoituksellinen, syklistesti esiintyvä oireyhtymä, joka häviää ja ilmaantuu joskus vuosien perästä uudelleen.

## Kirjallisuus

- Leinonen, T. (toim.) 1999. Hoitotoimien ja allashydrauliikan vaikutuksista vesihomeen esiintymiseen Laukaan ja Kainuun kalanviljelylaitoksissa. Kala- ja riistaraportteja nro 144. 19 s.
- Johnsen, B.O. & Ugedal, O. 2001. Soppinfeksjoner (*Saprolegnia* spp.) på laksefisk i Norge – statusrapport. NINA Oppdragsmelding 716: 1-34.
- Noga, E.J. 1993. Water mold infections of freshwater fish: recent advances. Annual Rev. of Fish Diseases 291-304.
- Poppe, T.T. & Hegge, O. 2000. Sopp, en alvorlig trussel mot hunderørreten. Jakt & Fiske 8/2000: 120-126.
- Pickering, A.D. & Christie, P. 1980. Sexual differences in the incidence and severity of ectoparasitic infestation of the brown trout, *Salmo trutta* L. J. Fish Biol. 16: 669-683.
- Pylkkö, P. & Vennerström, P. (toim.) 2000. Vesihomeitiöiden lukumäärät ja vesihometartunnat Laukaan, Kainuun ja Taivalkosken kalanviljelylaitoksissa. Kala- ja riistaraportteja nro 194. 50 s.
- Pylkkö, P., Eskelinen, P., Rahkonen R. & Vennerström, P. 2001. Vesihomeessa kalat pukeutuvat turkkiin. Suomen Kalastuslehti 1/2001: 8-9.
- Vennerström, P., Pylkkö, P., Säkki, S. & Leinonen, T. 1999. High mortality among brood fish in Finland due to infection by *Saprolegnia* sp. "Diseases of fish and shellfish", 9<sup>th</sup> International Conference of European Association of Fish Pathologists, 19-24<sup>th</sup> September 1999, Rhodes, Greece. Abstract book, p. 226. Poster.

# Taudinaiheutuskykyinen vesihomeklooni (*Saprolegnia* sp.) Suomessa ja Ruotsissa

Päivi Pylkkö

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Laukaan kalantutkimus ja vesiviljely, Vilppu-  
lantie 415, 41360 Valkola

nykyinen osoite: Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus, Turkistutkimus, Turkis-  
tie 8, 69100 Kannus



# 1. Vesihomesienten lajinmääritys

Muutaman viime vuoden aikana on Suomen ja Skandinavian alueella lisääntynyt vesihomesien (*Saprolegnia* sp.) sairastuttamien ja vesihometartuntaan kuolleiden kalojen määrä. Vesihomeen vaivaamia kaloja löytyy sekä luonnosta että viljelyoloista. Laitosviljelyssä olevista kaloista erityisen herkkiä vesihometartunnalle näyttävät olevan siika ja järvilohi. Kuolleisuus, jossa ainoa määritetty taudinaiheuttaja kuuluu *Saprolegnia* sp. -sieniin, saattaa edetä parvessa nopeasti, ja jopa 90 % parven kaloista voi kuolla vesihometartuntaan.

Vesihomekasvusto näkyy pääsääntöisesti kalan pinnalla vaaleana ja pumpulimaisena peitteenä. Sienen peittämän alueen laajuus vaihtelee. Vesihomesienen rihmasto on kyetty eristämään myös kalan sisäelimestä (Khoo 2000, Hussein *et al.* 2001, Grandes *et al.* 2001).

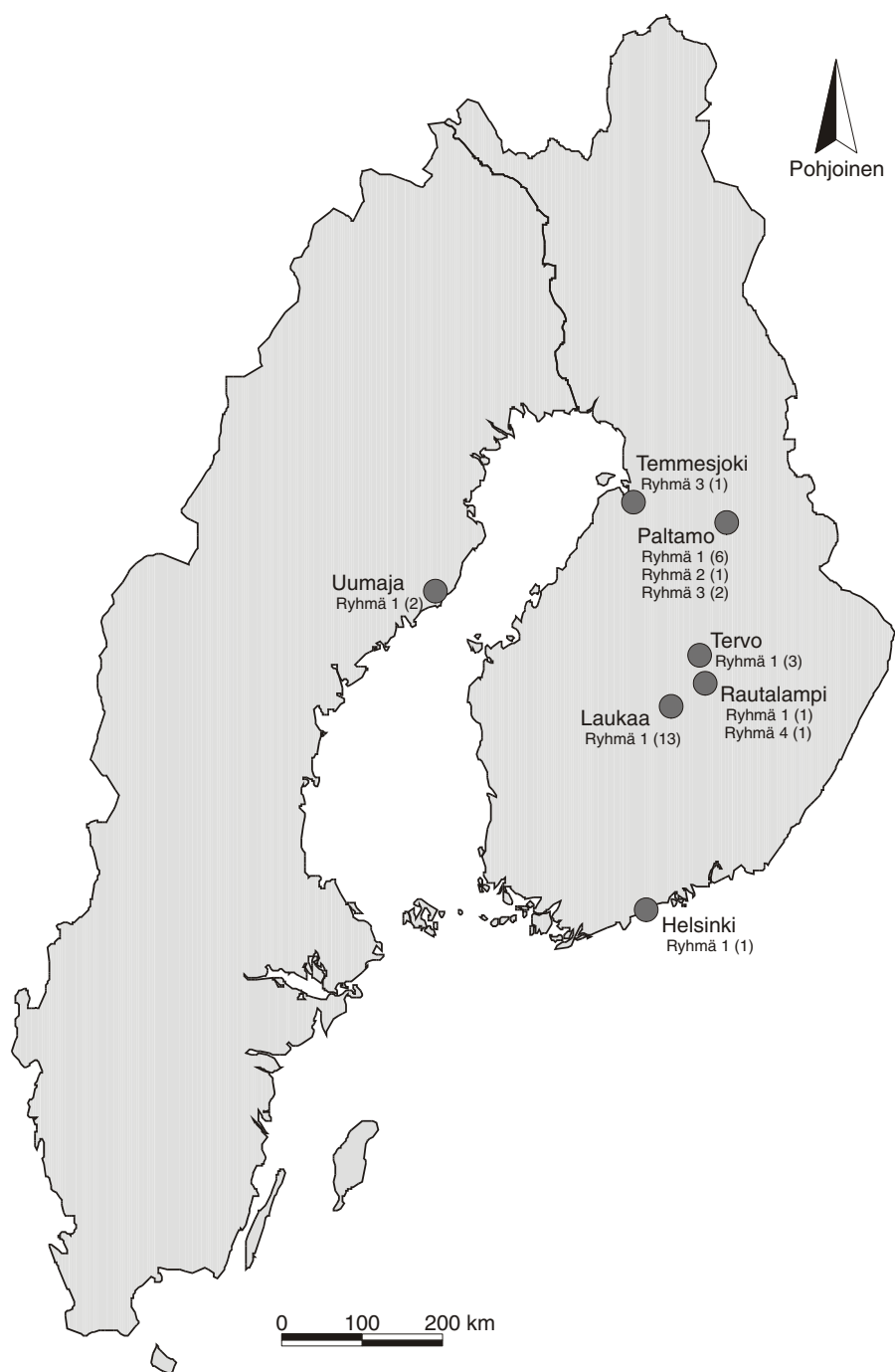
Vesihomesienilajien tunnistus on aiemmin perustunut sienten suvullisen lisääntymisen rakenteellisten ominaisuuksien tunnistamiseen (Willoughby 1978, Neish ja Hughes 1980). Lisäksi lajitunnistuksessa on käytetty sienten lepoitiöiden tuotantotapoja. Laboratoriossa sieni lisääntyy harvoin suvullisesti, minkä vuoksi lajitunnistukseen käytetään nykyisin perimän tyypittämiseen kehitettyjä molekyylibiologisia menetelmiä mm. geenimonistusta. Geenimonistuksen (RAPD-PCR, random amplification of polymorphic DNA polymerase chain reaction) avulla on kyetty menestyksellä erottamaan *Saprolegnia* sp. -vesihomesienien alalajeja (Lee ja Taylor 1990, Diéguez-Urbeondo *et al.* 1996, Bangyeekhun *et al.* 2001).

Tässä raportissa kuvatus tutkimuksen tarkoituksena oli soveltaa molekyylibiologisia menetelmiä Suomessa eristettyjen *Saprolegnia* sp. -kantojen vertailuun. Perimän rakenteen selvittämisen avulla tutkittiin, millaisia vesihometaudin aiheuttajat ovat ja miten vesihomesienet ovat Suomessa levinneet.

## 2. Suomen vesihometartunnoissa sieni on perimältään usein sama

Vesihometartunnan saaneista lohikaloista (järvitaimen, siika, kirjolohi, puronieriä, järvilohi ja lohi), jokiravusta ja kalankasvatusaltaiden vedestä eristettyjen 31 sienikannan perimä analysoitiin RAPD-PCR menetelmällä Upsalan yliopiston evoluutiobiologian osastolla vuonna 2001. Viljeltyjen kalojen vesihomenäytteet oli eristetty Laukaasta, Paltamosta, Rautalammilta ja Tervosta ja luonnonkalan näyte Helsingin seudulta. Jokiravun vesihome-eristys oli peräisin Temmesjoelta. Vesinäytteet olivat Laukaasta ja Paltamosta. Näiden kantojen itiötuotantomuotoja käytettiin apuna sienilajin varmentamiseksi. Vertailussa oli mukana myös kaksi ruotsalaista vesihomekantaa. Tyypityksen apuna käytettiin perimältään tunnettuja *Saprolegnia diclina* -vesihomesienien ns. pankkikantoja (Sdi 2003h ja Sdi ATCC #42062).

Perimältään yhtenäinen (95,9 %:n samankaltaisuus) ryhmä *Saprolegnia* sp. -tartuntoja aiheuttaneista kannoista muodostui 26:sta eristetyistä 31 kannasta (Bangyeekhun *et al.* 2003). Tästä käytettiin nimeä ryhmä 1. Se on maantieteellisesti laajalle levinnyt (kuva 1). Ryhmä 1 muodosti kasvullisen rihmaston lepoitiövaiheen jälkeen. Laaja levinneisyys viittaa sienikannan tehokkaaseen taudinaiheutuskykyyn. Eristetyistä kannoista löydettiin myös kolme muuta perimältään epäyhtenäistä ryhmää (ryhmät 2, 3, ja 4), joita kutakin edusti yhdestä kolmeen eristystä. Ryhmät 3 ja 4 tuottivat itiöitä ilman lepoitiövaihetta, kun taas ryhmä 2 käyttäytyi ryhmän 1 kaltaisesti. Lepoitiötuotanto yhdistyy selvästi sienen perimään. Sienilajin kykyä tuottaa peräkkäin useita sukupolvia sekundäärisiä parveiluitiöitä on usein pidetty tehokkaan taudinaiheutuskyvyn merkinä, tai tätä ominaisuutta voidaan käyttää patogeenisten vesihomesienikantojen tunnistamiseen. Suomalaista vesihomesienikannoista laajimmalle levinneellä ei tätä ominaisuutta ollut. Taudinaiheutuskyvyn ominaisuuksien tunteminen vaatii siten lisäselvityksiä meillä voimakkaasti tautia aiheuttavilla *Saprolegnia* sp. -kannoilla.



**Kuva 1. Genotyyppitettyjen vesihomesientien alkuperä ja eri esiintymispaikoilta eristetyt kannat ryhmiteltynä neljään ryhmään. Suluissa esiintymispaikan eristysten lukumäärä kussakin ryhmässä.**

## Kirjallisuus

- Bangyeekhun, E., Quiniou, S.M.A., Bly, J.E. & Cerenius L. 2001. Characterisation of *Saprolegnia* sp. isolates from channel catfish. *Dis. Aquat. Org.* 45: 53-59.
- Bangyeekhun, E., Pylkkö, P., Vennerström, P., Kuronen, H. & Cerenius, L. 2003. Prevalence of a single fish-pathogenic *Saprolegnia* sp. clone in Finland and Sweden. *Dis. Aquat. Org.* 53(1): 47-53.
- Diéguez-Uribeondo, J., Cerenius, L. & Söderhäll, K. 1996. Physiological characterisation of *Saprolegnia parasitica* isolates from brown trout. *Aquaculture* 140: 247-257.
- Grandes, J.M.F., Díez, M.F. & Gancedo, J.M.A. 2001. Experimental pathogenicity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), of two distinct morphotypes of long-spined *Saprolegnia* isolates obtained from wild brown trout, *Salmo trutta* L., and river water. *J. Fish Dis.* 24: 351-359.
- Hussein, M., Hatai, K. & Nomura, T. 2001. Saprolegniosis in salmonids and their eggs in Japan. *J. Wildl. Dis.* 37: 204-207.
- Khoo, L. 2000. Fungal diseases in fish. *Semin. Avian Exot. Pet.* 9: 102-111.
- Lee, S.B. & Taylor, J.W. 1990. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Snisky, J.J. & White, T.J. (ed.): *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego CA, USA, p. 282-287.
- Neish, G.A. & Hughes, G.C. 1980. Fungal diseases of fish. Snieszko S.F. & Axelrod H.R (ed.) *Diseases of Fish. Book 6*. T.F.H. Publication, Neptune, NJ, 159 p.
- Willoughby, L.G. 1978. Saprolegnias of salmonid fish in Windermere: a critical analysis. *J. Fish Dis.* 1: 51-67.

## Malakiittivihreän vaihtoehdot haudonnassa

Päivi Eskelinen<sup>1</sup>, Päivi Pylkkö<sup>2</sup> ja Erja Kontinen<sup>3</sup>

1) Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Laukaan kalantutkimus ja vesiviljely, Vilpulantie 415, 41360 Valkola

2) Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Laukaan kalantutkimus ja vesiviljely, Vilpulantie 415, 41360 Valkola, nykyinen osoite: Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus, Turkistutkimus, Turkistie 8, 69100 Kannus

3) Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Kainuun kalantutkimus ja vesiviljely, Manamansalontie 90, 88300 Paltamo

# 1. Johdanto

## 1.1. Kuolleet mätimunat homehtuvat

Kuolleet mätimunat ovat vesihomesientien itiöille sopiva kasvualusta (Kitancharoen ja Hatai 1996, Smith *et al.* 1985). Parveiluitiöitä pidetään vesihomesientien pääasiallisena leviämistapana. Ne voivat elää vapaina useita päiviä tai asettua lepoitiöksi, ja alkaa kasvattaa sienirihmaa sopivissa olosuhteissa. Kitanchroenin ja Hatain (1996) tartutuskokeissa homesienirihmaa ei kasvanut ollenkaan elävissä mätimunissa, kuolleista sen sijaan huomattava osa infektoitui. Smith *et al.* (1985) havaitsivat, että homesienen zoosporit infektoivat vain kuolleita kirjolohen mätimunia, erityisesti alavirtaan homekasvustosta. Sienirihma sen sijaan kasvoi myös elävien munien päällä. Sienirihman on havaittu vahingoittavan munan kuoren hienorakennetta ja heikentävän sitä (Gajdušek ja Rubcov 1985), jotkut sienirihmat pystyvät jopa tunkeutumaan karpin mätimunan kuoren läpi. Elävän mätimunan pinnalla kasvava homesienirihmasto estää hapen kulkeutumista munan kuoren läpi ja johtaa sitä kautta munien kuolemiseen.

Kylvettämällä haudottavaa mätiä homeenestokemikaaleilla voidaan estää sekä parveiluitiöiden kiinnittyminen että sienirihman kasvu kiinnittyneistä itiöistä. Willoughbyn ja Robertsin (1992) mukaan jatkuva malakiittivihreäkylvetys tehoi parveiluitiöihin ja sekundäärisiin kystiin, kun taas kylvetys kerran päivässä tehoi pieniin sienirihmoihin ja vedessä oleviin parveiluitiöihin ja lepomuotoihin. Haudontatuloksen kannalta olisi parasta tuhota veden itiöt ennen niiden kiinnittymistä. Kuolleiden munien poistolla voidaan myös vähentää tehokkaasti itiöiden kiinnittymiseen sopivia alustoja ja sienirihman kasvulle sopivaa ravintoa ja sitä kautta uusien itiöiden muodostumista ja vapautumista veteen.

## 1.2. Vaihtoehtoja malakiitille

Homeenestoaineet voivat olla toimintamekanismiltaan systeemisiä, protektanttisia tai parantavia. Systeemiset osallistuvat eliöiden metaboliaan ja tekevät niistä vastustuskykyisiä. Protektanttiset homeenestoaineet estävät infektointikykyisten homesienimuotojen lisääntymisen tai tuhoavat niitä vedestä tai kalan tai mädin pinnalta. Parantavat aineet rajoittavat jo kasvavan sienirihman kasvua tai poistavat sen kalan tai mädin pinnalta. Mädin hometorjuntaan käytettävät kemikaalit ovat etupäässä protektanttisia ja vähäisemmässä määrin parantavia.

Koska malakiittivihreän terveyshaitat ovat olleet esillä jo pitkään, on varsinkin lohenviljelymaissa yritetty etsiä vaihtoehtoja, jotka eivät olisi terveydelle haitallisia, mutta olisivat tehokkaita homeentorjujina. Malakiittivihreän käyttö on nykyisin kiellettyä. Sen korvaajaksi on tutkittu satoja aineita. Hometorjuntakemikaalin olisi oltava paitsi tehokas homeitiöiden ja sienirihman tuhoamisessa, myös myrkytön kaloille ja turvallinen ihmisille, veteen liukeneva ja edullinen käyttää. Se pitää voida rekisteröidä lääkkeeksi, joten pitää osoittaa, että elintarvikkeeksi päätyvissä, aineella käsitellyissä kaloissa ei ole haitallisten aineiden jäämiä. Tätä tarkoitusta varten vaikuttavan aineen täytyy olla luokiteltu sellaiseksi, että siitä ei jää jäämiä, tai sille pitää valmistajan määrittää jäämien enimmäismäärä –arvo (JEM, engl. MRL). JEM-arvon määrittäminen on valmistajalle varsin kallista puuhaa.

Uusia hometorjuntakemikaaleja etsittäessä on tutkittu sekä niiden tehoa homesienen parveiluitiöihin ja kystiin että niiden tehoa ja käyttökelpoisuutta haudontakokeissa. Vain harvat aineet ovat olleet kummaltakin kannalta tyydyttäviä. Lupaavimmiksi ovat osoittautuneet vetyperoksidi, formaldehydi, suola, bronopoli ja glutaraldehydi (taulukko 1).

**Taulukko 1. Kemikaaleja, joilla on mädin vesihometta estäviä vaikutuksia.**

<b>aine</b>	<b>kalalaji</b>	<b>viite</b>
amorolfine	kirjolohi	Marking <i>et al.</i> 1994
formaldehydi	kirjolohi kirjolohi kirjolohi kirjolohi kuningaslohi	Marking <i>et al.</i> 1994 Howe <i>et al.</i> 1995 Schreier <i>et al.</i> 1996 Barnes <i>et al.</i> 2000 Waterstrat & Marking 1995
glutaraldehydi	kirjolohi	Marking <i>et al.</i> 1994
neilikkaöljy (eugenol)	kirjolohi	Bouchard <i>et al.</i> 2001
Pyceze (bronopoli)	kirjolohi lohi ja kirjolohi	Pottinger & Day 1999 Grant <i>et al.</i> 2002
suola (NaCl)	kirjolohi kirjolohi kirjolohi kuningaslohi	Marking <i>et al.</i> 1994 Schreier <i>et al.</i> 1996 Kitancharoen <i>et al.</i> 1997 Waterstrat & Marking 1995
suola (NaCl + CaCl <sub>2</sub> ) merivesi	kuningaslohi kytträlohi pilkkupiikkimonna	Edgell <i>et al.</i> 1993 Taylor & Bailey 1979 Phelps & Walser 1993
vetyperoksidi	kirjolohi kirjolohi kirjolohi kirjolohi kirjolohi kuningaslohi hauki, valkosilmäkuha, kelta- ahven, valkoimukarppi, järvi- sampi, lapasampi, karppi, pilkku- piikkimonna pilkkupiikkimonna	Marking <i>et al.</i> 1994 Schreier <i>et al.</i> 1996 Barnes <i>et al.</i> 1998 Gaikowski <i>et al.</i> 1998 Arndt <i>et al.</i> 2001 Waterstrat & Marking 1995 Rach <i>et al.</i> 1998 Howe <i>et al.</i> 1999

Vesihomeen torjumiseksi on tutkittu myös tuloveden sterilointikäsittelyä esimerkiksi otsonilla ja UV-valolla (Francis-Floyd 2000, Sako ja Sorimachi 1985, Forneris *et al.* 2003). Menetelmän tarkoituksena on poistaa haudontalaitteisiin tulevasta vedestä homeitiöt ja kystat.

Tässä työssä selvitettiin malakiittivihreää korvaaviksi mädin haudonnan hoitokemikaaleiksi tarkoitettujen vetyperoksidin ja bronopolia vaikuttavana aineena sisältävän Pycezen käyttökelpoisuutta malakiittivihreään verrattuna sekä koehaudonnassa että oikeassa hautomomittakaavassa. Kokeessa tutkittiin myös näiden kemikaalien tehoa homeen leviämisen estämisessä.

Pyceze sisältää bronopolia (= 2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol) 500 mg/ml. Se on hyväksytty lohikalojen mädin hoitoon. Pyceze on tällä hetkellä lääkelaitoksen erityisluvan vaativa reseptivalmiste.

## 2. Aineisto ja menetelmät

### 2.1. Asettikokeet

Asettikokeissa selvitettiin eri Pyceze-pitoisuuksilla tehtyjen kylvetysten vaikutusta haudontatulokseen sekä verrattiin aiemman vallitsevan käytännön mukaisilla ennalta-ehkäisevillä malakiittivihreäkylvetyksillä saatua haudontatulosta Pycezellä ja vetyperoksidilla saatuun tulokseen lohen ja taimenen haudonnassa.

#### 2.1.1. Pitoisuuskokeet

Pitoisuuskokeet tehtiin kirjolohen mädillä. Jokaista kylvetyspitoisuutta varten oli haudontakaukalo, jossa oli lokeroasetteja eri emojen mätien erillään pitämistä varten. Kaukalot olivat rinnakkain hautomossa, ja haudonnassa käytettiin käsittelemätöntä järvivettä.

Kuuden kirjolohiemon mäti hedelmöitettiin pareittain kuudella koiraalla. Joka naaraan hedelmöitettyä mätiä jaettiin kaikkiin kylvetyspitoisuuksiin viisi n. 110 mätimunaa erää. Erät sijoitettiin satunnaisesti haudontakaukalossa olevien asettien numeroituihin lokeroihin. Pyceze-kylvetyksien pitoisuudet olivat 20, 50, 100 ja 150 mg/l bronopolia sekä kylvettämätön vertailu. Kylvetykset aloitettiin kahden viikon haudonnan jälkeen, kun mätierissä oli näkyvissä homeisia mätimunia. Mädit kylvetettiin kolme kertaa viikossa. Silmäpistevaiheessa ja poikasten kuoriutumisen jälkeen laskettiin elävien ja kuolleitten määrät.

Haudontatulokset laskettiin elävien osuutena kaikista mätimunista kylvetyspitoisuuksittain ja emoittain. Eri kylvetyspitoisuuksien haudontatuloksen eroja tutkittiin varianssi-analyysillä.

#### 2.1.2. Ainekokeet

Aiemmalla rutiinimenetelmällä, malakiittivihreäkylvetyksillä, saatua haudontatulosta verrattiin Pyceze- ja vetyperoksidikylvetyksillä saatuun tulokseen lohen ja taimenen mädin haudonnassa. Kokeet tehtiin asettihaudonnassa, jossa myös eri emojen mädit pidettiin erillään yksilöiden välisen vaihtelun selville saamiseksi.

Taimenkokeessa hedelmöitettiin 11 järvitaimennaaraan (Rautalammin reitin kanta) mätiä yhtä monella koiraalla. Lohikokeessa käytettiin Nevan kannan kymmenen erillisen lohivaimen mätiä.

Kummankin lajin parien hedelmöitetty mäti jaettiin kolmeen kylvetyksäsittelyryhmään, viisi rinnakkaista erää joka parin mätiä kaikkiin kylvetyksiryhmiin. Haudontakaukalo muodosti kylvetyksäsittelyryhmän. Yhteen mätierään laitettiin n. 110 mätimunaa. Jako tehtiin punnitsemalla. Erät sijoitettiin satunnaisesti haudontakaukalossa oleville numeroiduille lokeroaseteille. Kaukalon vesitilavuus oli 150 l ja tulovirtaama 7,5 – 8,0 l/min.

Kylvetykset aloitettiin noin kaksi viikkoa hedelmöityksestä, kun kuolleissa mädeissä oli näkyvää homea. Pycezeä käytettiin kylvetyksessä bronopolipitoisuutena 100 mg/l, malakiittivihreää 4 mg/l ja vetyperoksidia 500 mg/l aktiivista ainetta. Kylvetykset tehtiin kolmesti viikossa. Kylvetyksen alussa tulovesihana suljettiin, kylvetyksainelaimennos levitettiin tasaisesti kaukaloon ja annettiin vaikuttaa puoli tuntia. Sen jälkeen tulovesihana avattiin, jolloin kylvetyksaine huuhtoutui pois kaukalosta noin kahdenkymmenen minuutin kuluessa.

Silmäpistevaiheessa laskettiin kaikkien lokeroiden kuolleitten ja elävien mätimunien määrät. Kuoriutumisen jälkeen laskettiin kuoriutumattomat ja kuoriutumisvaiheessa kuolleet. Haudontatulokset laskettiin silmäpistevaiheen elävien munien osuutena kaikista lokeron mätimunista ja kuoriutuneiden poikasten osuutena lokeron mätimunista sekä kylvetysaineittain että mätierittäin eri kylvetysaineilla. Eri kylvetysaineiden haudontatulosta verrattiin varianssianalyysillä.

## 2.2. Homeen leviämisen estyminen

Tutkimuksessa mukana olevien eri kylvetyskemikaalien, malakiittivihreän, Pycezen ja vetyperoksidin, kykyä estää homeen leviämistä kuolleista mätimunista viereisiin eläviin muniin tutkittiin lohen ja järvitaimenen mädin asettihaudonnoissa. Mittaukset tehtiin ainekokeiden yhteydessä. Haudontajärjestely, koekalat, kylvetykset ja muut mittaukset on kuvattu kohdassa 2.1.2.

Jokainen haudontalokero kuvattiin erikseen digitaalikameralla, lohen mädit kaksi ja järvitaimenen mädit kolme kertaa ennen silmäpistevaihetta. Digitaalikuvista laskettiin tietokoneen näytöltä kuolleen näköisten munien määrä ja homeen infektoimien kuolleitten munien määrä. Kuolleitten lukumäärä ei tällä menetelmällä ole täsmälleen sama kuin varsinaisessa kuolleitten munien laskennassa, koska vasta silmäpistevaiheessa tehtävän mädin puhdistuksen yhteydessä valkoiseksi muuttuvat kuolleet eivät tässä laskennassa näy kuolleilta. Järvitaimenen mädit kuvattiin, kun haudonnan lämpösumma oli 93, 192 ja 276 °C, lohen kuvauksissa lämpösummat olivat 86 ja 250 °C. Viimeisessä kuvauksessa mädit olivat saavuttaneet silmäpistevaiheen.

Kuvista saadusta aineistosta laskettiin homeisten kuolleitten munien osuus kaikista lokeron mätimunista ja homeisten mätimunien osuus kuolleista mätimunista eri kylvetysaineilla. Eri kylvetysaineiden tehoa homeen leviämisen estämisessä tutkittiin varianssianalyysillä. Homehtumisen estymistä kokeen kylvetysaineilla tarkasteltiin myös eri emojen jälkeläisten välillä.

## 2.3. Haudonta tuotantomittakaavassa

Tavanomaisessa mädintuotannossa kirjolohen, lohen ja taimenten mädit haudotaan joko saaveissa tai aseilla haudontakaukaloissa. Saavihaudonta on yleisesti käytössä oleva menetelmä suurille tuotantomäärille. Malakiittia korvaavien hometorjuntakemikaalien tuotantomittakaavan saavihaudontakoe tehtiin kirjolohen mädillä keväällä 2001 RKTL:n Kainuun yksikössä.

Mädin saavihaudontakokeessa verrattiin Pycezen, peretikkahappoa ja vetyperoksidia sisältävän valmisteen (P3 Oxonia Aktiv, Henkel-Ecolab) ja vetyperoksidin homeentorjuntatehoa malakiittiin. Vertailuna oli myös kylvettämätön kontrollisaavi. P3 Oxonia Aktiv sisältää valmistajan ilmoituksen mukaan 15-30 % vetyperoksidia ja enintään 5 % peretikkahappoa. Pycezellä, vetyperoksidilla ja P3 Oxonia Aktivilla kylvetettiin kahta saavia kullakin, vertailuryhmissä oli yksi saavi. Kylvetysaineet eri mätisaaveille arvottiin.

Kirjolohen mäti lypsettiin RKTL:n Tervon yksikön jalo-kannan (KL-JAL98) emoista 9.5.2001 ja hedelmöitettiin Tervossa. Eri hedelmöityserät yhdistettiin. Yhdistetty mäti jaettiin paisutuksen jälkeen desinfiotuna kahdeksaan erään (7\*12 l ja 1\*11 l), jotka kuljetettiin styrox-mädinkuljetuslaatikoissa Kainuun laitokselle. Välittömästi kuljetuksen jälkeen mätierät laitettiin haudontasaaveihin.

Haudontasaavien tilavuus oli 30 l. Vesi saaveihin johdettiin tulovesikaukalosta letkulla saavin alareunasta läpiviennillä, josta vesi kulki pohjaa kiertävän rei'itetyn letkun kautta tasaisesti koko saaviin. Mäti oli loivasti kartiomaisen sihdin päällä. Sihdin kes-



kellä oli putki, joka ulottui veden pinnan yläpuolelle. Vesi poistui saavin yläreunasta. Kylvetysainelaimennosta sisältävä astia oli tulovesikaukalon päällä, ja sieltä johti pienempi letku tulovesiletkuun. Kylvetysaine sekoitettiin 22 litraan vettä ja laimennos valui omalla paineellaan saaveihin tulevaan veteen. Saavien tulovirtaama oli 10 l/min. Sitä ei kylvetyksen ajaksi katkaistu. Kylvetyksessä saaveista poistuvan veden virtaama oli 8 l/min ja haudontasaavin viipymä 3,75 s. Kylvetysainelaimennosastian tyhjenemiseen kului 37 minuuttia.

Kylvetysaineiden tavoitepitoisuudet saatiin aiempien kokeiden ja sietotestien perusteella ja ne olivat

Pyceze:	0,2 ml/l, jolloin bronopolia 100 mg/l
P3 Oxonia Aktiv:	vetyperoksidin suhteen enintään 40 mg/l
Vetyperoksidi:	vetyperoksidia 500 mg/l
Malakiittivihreä:	laitoksen tavanomainen käytäntö, 4 mg/l.

Kylvetysaineen haluttu pitoisuus haudontasaavissa säilyi n. 33 minuutin ajan.

Kylvetykset aloitettiin toisena päivänä hedelmöityksen jälkeen, ja niitä tehtiin kolme viikossa. Kylvetysten yhteydessä seurattiin mädin homehtuneisuuden kehittymistä. Lisäksi kolme kertaa haudonnan aikana (97, 145 ja 207 päiväastetta) arvioitiin silmämääräisesti homeisten mätimunien määrä. Silmäpistevaiheen mäti saavutti 2.6.2001 (186 päiväastetta). Silmäpistevaiheessa kaikki saavit valokuvattiin, huuhdeltiin kiintoaineesta ja kuolleet mätimunat poistettiin tavalliseen tapaan. Kuoriutumisen ja kuolleitten poistamisen välisenä aikana mätejä ei enää kylvetetty.

Kuolleisuus laskettiin 300 ml:n otoksesta kaikista saaveista mittaamalla kuolleitten ja elävien munien tilavuus ja laskemalla kuolleitten %-osuus koko mätimäärästä. Koe lopetettiin 2 vrk kuoriutumisen alkamisen jälkeen.

## 2.4. Vetyperoksidin käyttö Pycezen lisänä

Haudontakokeissa havaittiin, että vetyperoksidilla kylvetetyt asetit olivat puhtaampia kuin muilla aineilla kylvetetyt. Mahdollisuutta käyttää vetyperoksidikylvetystä Pycezellä kylvetettävän haudontakaukalon puhdistamiseen selvitettiin kokeessa, jossa meritaimenen (Ingarskilajoen kanta) mätiä oli haudottavana kahdessa Ewos-kaukalossa (vesitilavuus 94 l), kahdella asetilla kummassakin kaukalossa haudontakaudella 2001-2002. Joka asetilla oli litra mätiä. Vesitys ja mädin hoito tehtiin laitoksen tuotantorutiinin mukaan.

Pyceze-asetteja kylvetettiin kolmesti viikossa, yhdistelmäsittelyssä olevia asetteja kaksi kertaa viikossa Pycezellä ja kerran viikossa vetyperoksidilla. Pycezen pitoisuus kylvetyksessä oli 50 mg/l bronopolia ja vetyperoksidin 500 mg/l aktiivista ainetta.

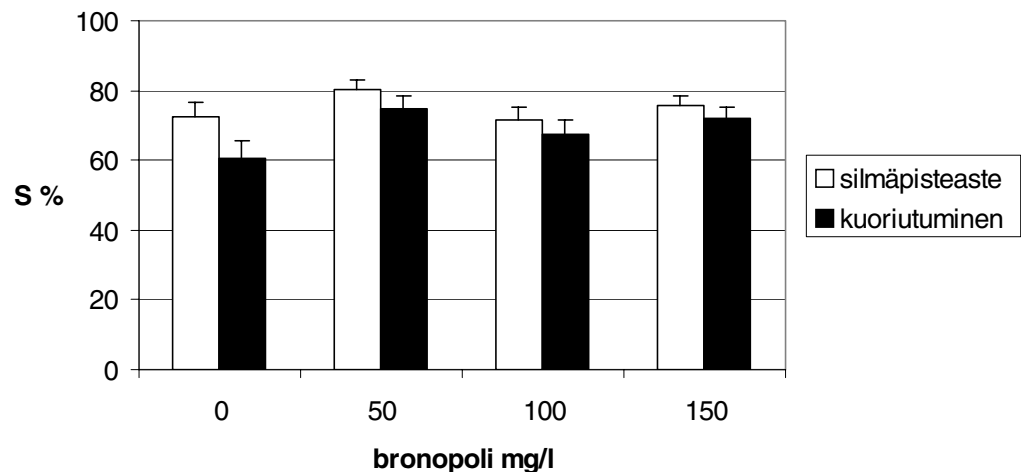
Kylvetys tehtiin siten, että veden tulo kaukaloon katkaistiin kylvetyksen ajaksi ja kylvetysaine jaettiin laimennoksena varovasti mätimunien päälle. Puolen tunnin kuluttua vesitys kytkettiin, ja kylvetysaineen annettiin huuhtoutua pois.

Haudontatulos mitattiin laskemalla kummankin kaukalon mädistä elävät ja kuolleet silmäpistevaiheessa sekä kuoriutumisen alettua. Asettien homepaakut laskettiin, ja kiintoaineen kerääntymistä dokumentoitiin kuvaamalla haudonta-asetit kahteen kertaan haudonnan aikana.

### 3. Tulokset

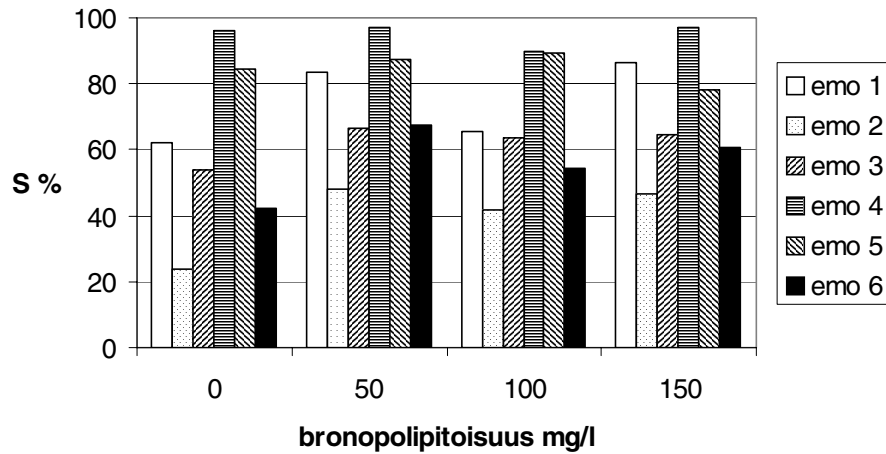
#### 3.1. Pitoisuuskokeet

Kuoriutumistulos (kuva 1) oli yhtä hyvä kaikilla bronopolipitoisuuksilla ja myös kaukalossa, jota ei ollut kylvetetty ( $F_{3,115}=1,840$ ,  $p=0,144$ ). Kaukalo, jota kylvetettiin laimeimmalla Pyceze-liuoksella (bronopolia 20 mg/l), kärsi vesitysongelmista eikä ole mukana tulosten käsittelyssä.



**Kuva 1. Silmäpistevaiheessa elossa olevat ja kuoriutuneet (%) kaikista haudontaan laitetuista mätimunista eri bronopolipitoisuuksilla kylvetetyissä haudontakaukaloissa.**

Kaikilla Pyceze-pitoisuuksilla kylvetetyissä kaukaloissa eri emojen mätien kuoriutumistulokset poikkesivat erittäin merkittävästi toisistaan (kuva 2). Homeenestokylvykset paransivat haudontatulosta ainoastaan sellaisissa mätierissä, jotka olivat elinkelpoisuudeltaan heikkoja. Niissä oli alusta alkaen runsaasti kuolleita, jotka haudonnan aikana homehtuivat, mutta kylvykset estivät hometta leviämästä koko mätierään, jolloin osa mädistä pysyi hengissä ja kuoriutui.

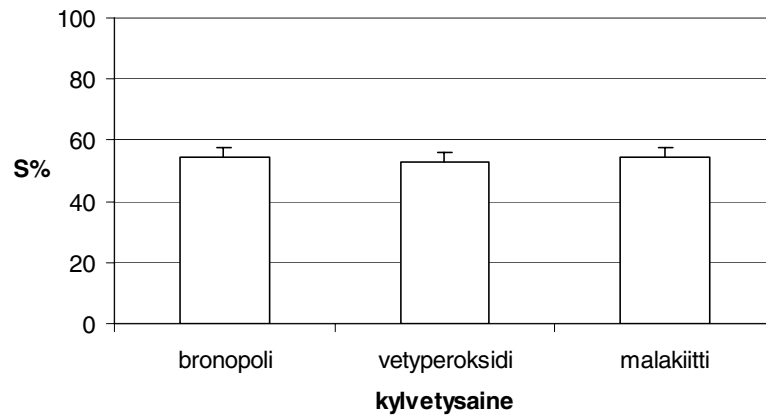


**Kuva 2. Eri emojen mädin kuoriutumistulos kun mätiä oli haudonnan aikana kylvetetty Pyceze-liuoksilla, joiden bronopolipitoisuus oli 0-150 mg/l.**

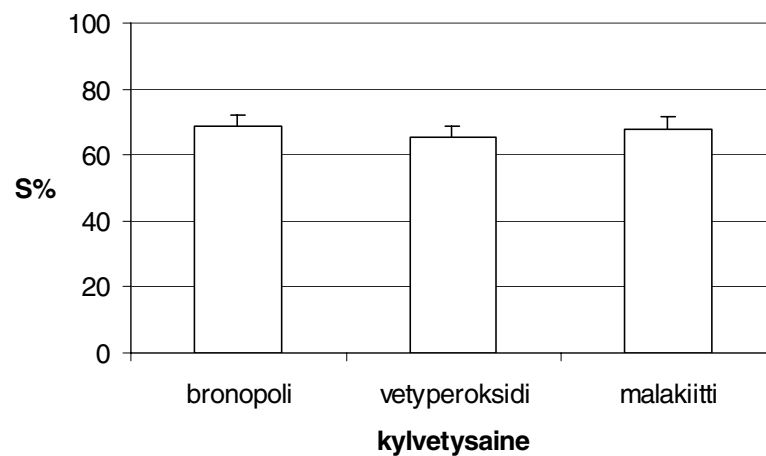
### 3.2. Asettihaudonnassa Pyceze on malakiitin veroinen

Asettihaudontakokeissa Pycezellä kylvetettyjen taimenen ja lohen mätien kuoriutumistulos oli yhtä hyvä kuin malakiittivihreällä kylvetettyjen (kuva 3). Vetyperoksidilla kuoriutumistulos oli vähän huonompi, mutta tilastollisesti merkitsevää eroa eri hoitomenetelmien välillä ei asettihaudonnan tuloksessa ollut (lohi  $F_{2,147}=0,169$ ,  $p=0,845$ , taimen  $F_{2,163}=0,233$ ,  $p=0,792$ ).

## Taimen



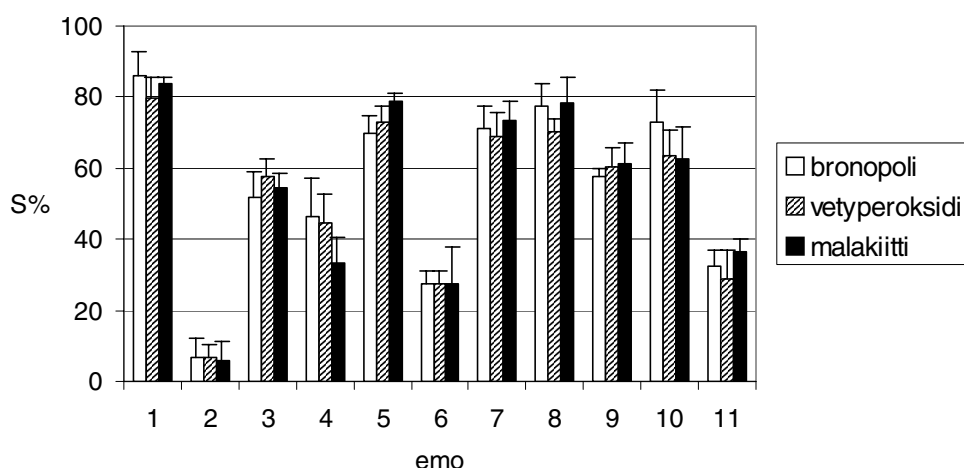
## Lohi



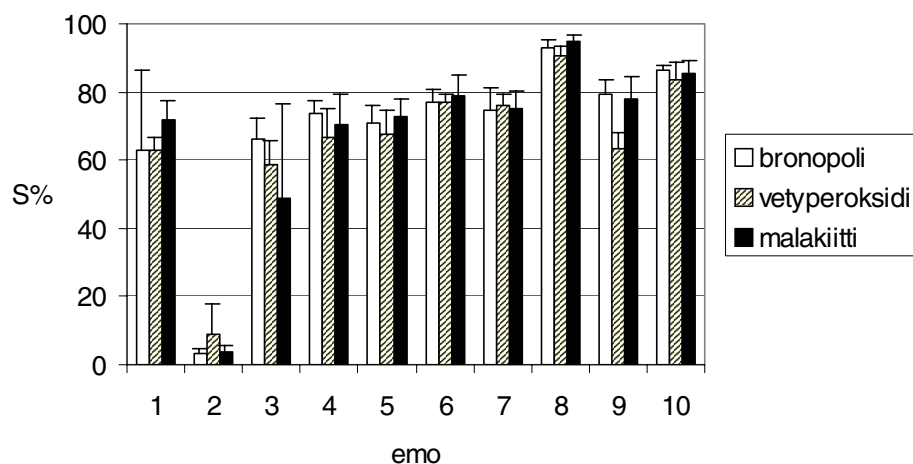
**Kuva 3. Taimenen ja lohen mädin haudontatulos (kuoriutumis-%) Pycezellä (bronopoli), vetyperoksidilla ja malakiittivihreällä käsitellyissä ryhmissä.**

Kuten eri Pyceze-pitoisuuksilla, myös eri kylvetysaineilla kuoriutumistulos eri emojen välillä vaihteli suuresti (kuva 4). Homeenestoaineesta riippumatta joidenkin mätierien kuoriutumistulos oli hyvin huono, toisten erittäin hyvä.

## Taimen



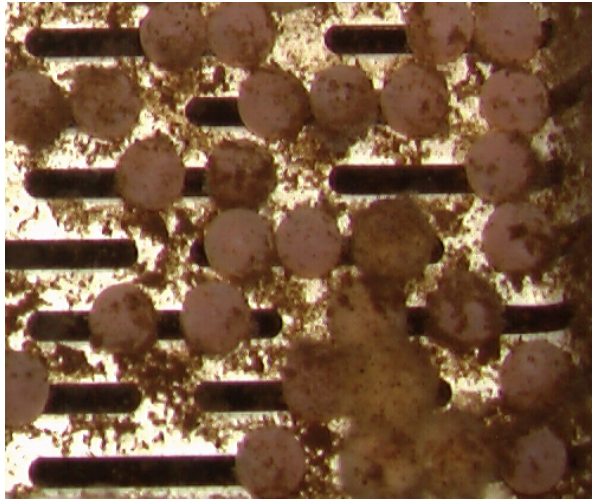
## Lohi



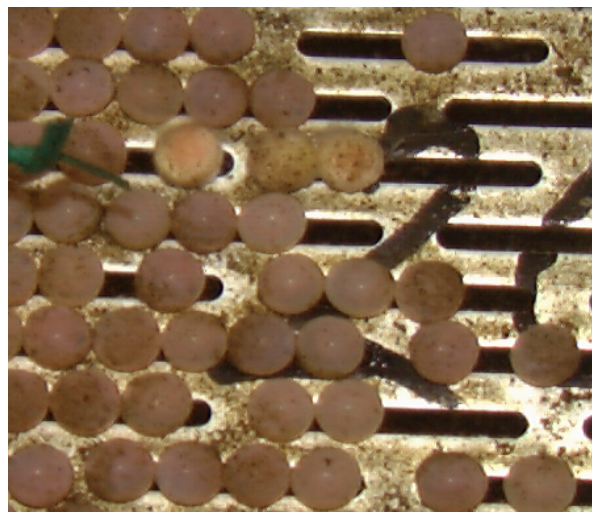
**Kuva 4. Eri lohi- ja taimenemojen mädin haudontatulos (kuoriutumis-%) Pycezellä (bronopoli), vetyperoksidilla ja malakiittivihreällä käsitellyissä ryhmissä.**

Veden mukana tuleva kiintoaine ja muut epäpuhtaudet laskeutuvat haudottavan mädin ja haudontalaitteiden pinnoille. Eri kemikaaleilla kylvetetyt asetit olivat kokeen lopussa hyvin erinäköisiä (kuva 5). Pycezellä käsitellyillä aseiteilla oli paljon kiintoainetta ja epäpuhtauksia sekä asetin pohjalla että elävien ja kuolleitten mätimunien päällä. Malakiittivihreällä kylvetyissä aseiteissa oli epäpuhtauksia ja kiintoainetta vähemmän kuin Pyceze-aseteilla. Vetyperoksidilla kylvetettyjen asetien mätimunat olivat lähes puhtaita, koska vetyperoksidikäsittely näytti puhdistavan mädin pinnalta epäpuhtauksia. Tämä johtuu vetyperoksidin kemiallisista ominaisuuksista, se on voimakas hapetin.

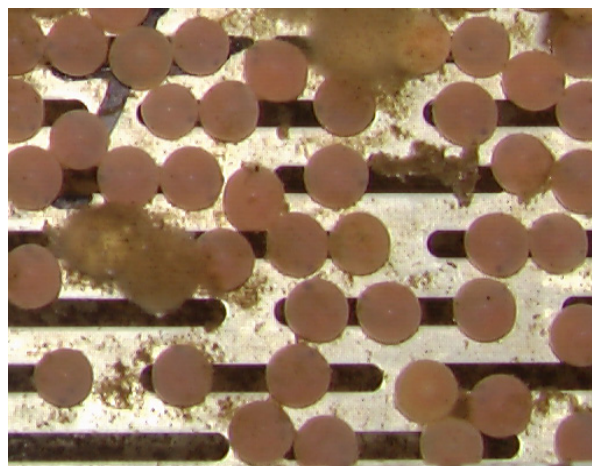
**Pyceze**



**Malakiitti**



**Vety-  
peroksidi**

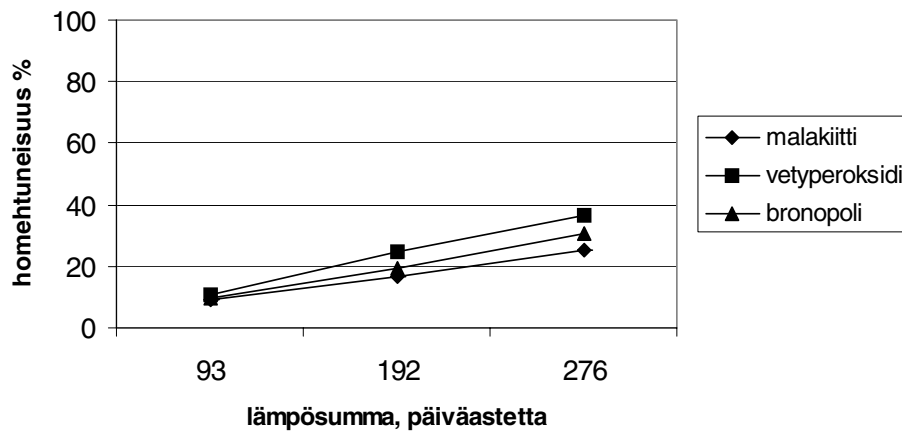


**Kuva 5. Pycezellä, vetyperoksidilla ja malakiitilla kylvetettyjä lohien mätieriä haudontakaukaloiden aseteilla.**

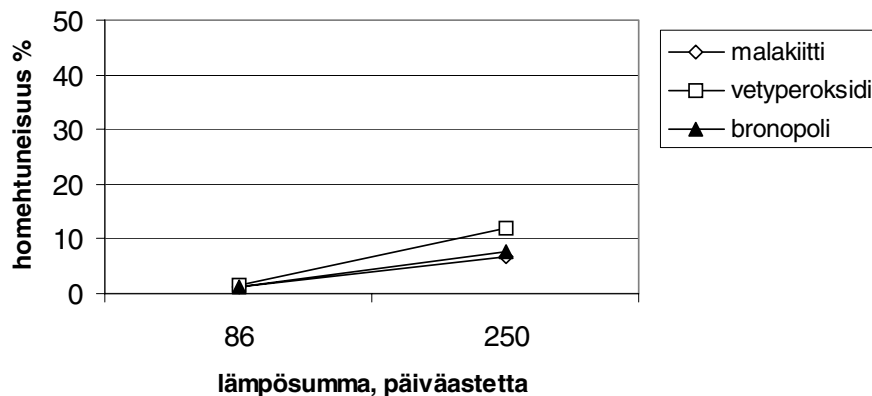
### 3.2. Homeen leviämisen ehkäisy

Järvitaimenen mätiä alettiin kylvettää 93 päiväastetta (12 vrk) ja lohen mätiä kaksi viikkoa (86 päiväastetta) hedelmöityksen jälkeen. Kuolleissa mätimunissa oli tässä vaiheessa nähtävissä homeetta. Samalla tehtiin ensimmäiset homeisuusmittaukset haudantalokeroista. Kaikissa taimenkaukaloissa kymmenesosa munista oli homeessa, lohikaukaloissa 1,1 – 1,6 % (kuva 6). Silmäpistevaiheessa taimenen mädistä homeisia oli 25,3 – 36,4 % ja lohen mädistä 6,7 – 12,1 %. Vähiten homeisia mätimunia oli kummallakin lajilla malakiittivihreällä kylvetetyissä ja eniten vetyperoksidilla kylvetetyissä ryhmissä.

#### Järvitaimen



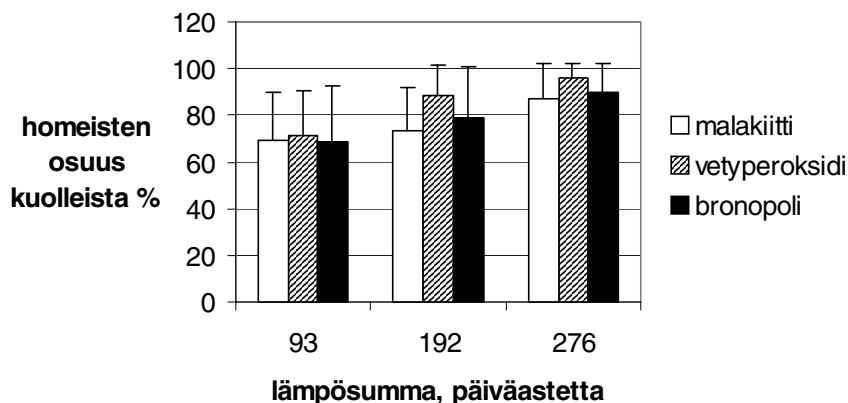
#### Lohi



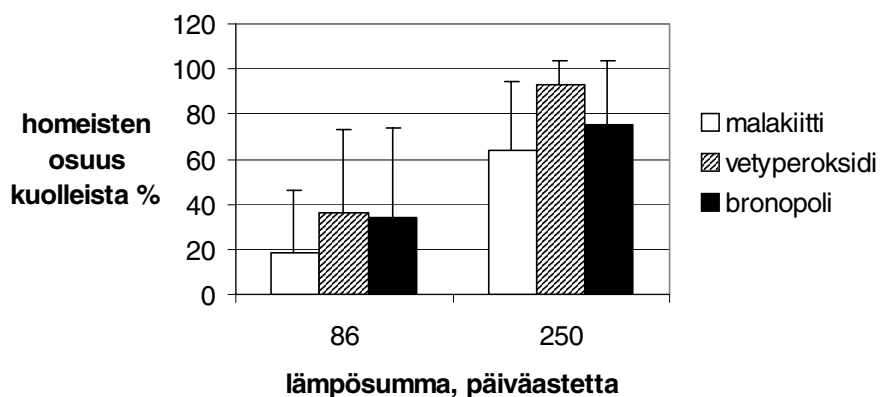
**Kuva 6. Järvitaimenen ja lohen mädin homehtuneisuuden kehitys mitattuna homeisten mätimunien osuutena kaikista haudottavana olevista munista eri homeenestokemikaaleilla kylvetetyissä ryhmissä.**

Kylvetysten alkaessa homeisten mätimunien osuus kuolleen näköisistä munista oli taimenella noin 70 % ja lohella 20 – 30 %. Haudonnan edetessä homeisten osuus kuolleista luonnollisesti kasvoi. Malakiittivihreä- ja bronopolikylvetykset (kuva 7) estivät homeiden kasvua kuolleiden munien pinnalla paremmin kuin vetyperoksidikylvetykset.

#### Järvitaimen



#### Lohi



**Kuva 7. Homeisten kuolleitten mätimunien osuus kaikista kuolleen näköisistä munista haudonnan aikana eri kylvetysaineilla.**

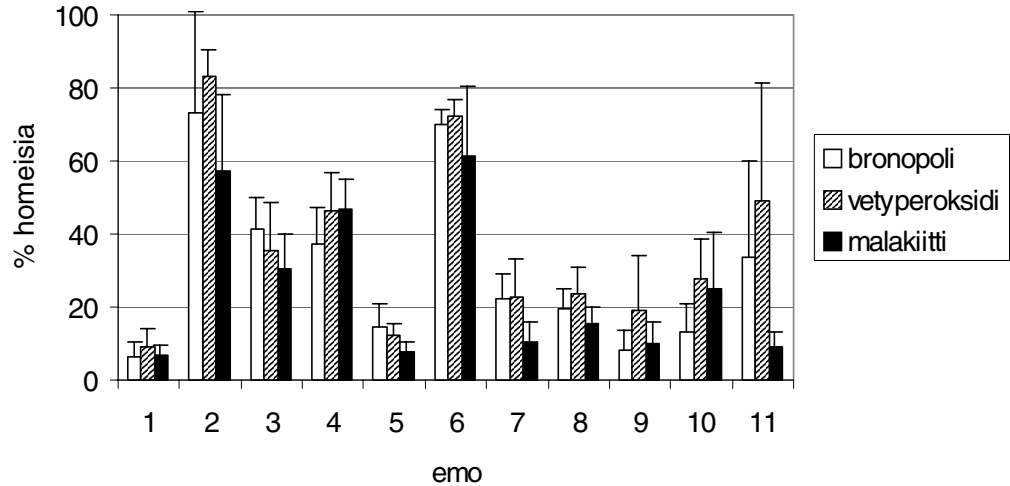
Asettihaudonnassa, jossa mätimunia ei ole monta kerrosta päällekkäin, haudontatulokset eivät välttämättä heikkene, vaikka kuolleet munat homehtuisivatkin. Haudontatulokset vetyperoksidilla kylvetyillä mädeillä olivat samaa tasoa kuin muillakin kylvetysaineilla, vaikka vetyperoksidi esti homeiden leviämistä heikommin. Saavihaudonnassa ja aseteilla, joissa on paljon mätiä, tilanne on toisenlainen (ks. kohta 3.3.).

Koska käytännössä vain kuolleet mätimunat homehtuvat, samojen emojen mädeissä oli sekä runsaasti kuolleita että runsaasti homehtuneita. Muutamaa poikkeusta lukuun ottamatta oli kaikkien emojen mädeissä malakiittivihreällä kylvetyissä ryhmissä vähemmän homeisia munia kuin muilla kylvetysaineilla (kuva 8). Vetyperoksidin muita

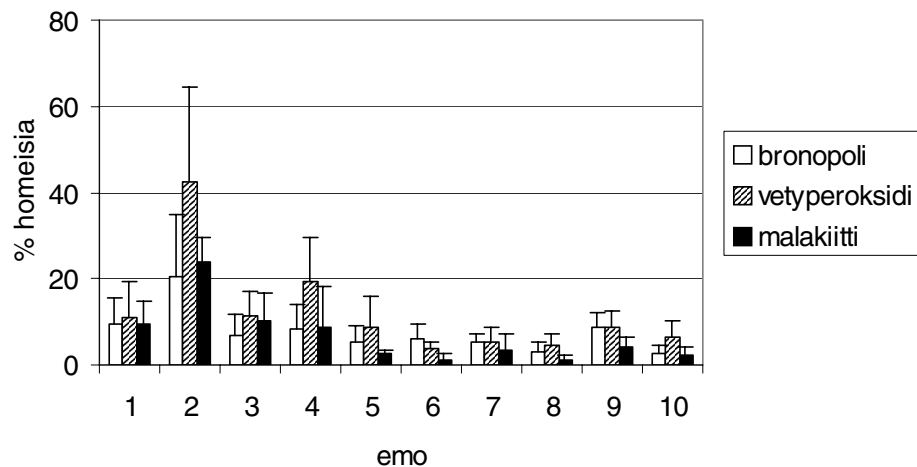


kylvetysaineita heikompi teho homeutumisen estäjänä näkyi myös, kun tarkasteltiin eri emojen mätejä erikseen.

#### Järvitaimen



#### Lohi



**Kuva 8. Eri emojen homeisten mätimunien osuus (%) kaikista haudottavina olevista mätimunistä Pycezellä (bronopoli), vetyperoksidilla ja malakiittivihreällä kylvetetyissä kaukaloissa.**

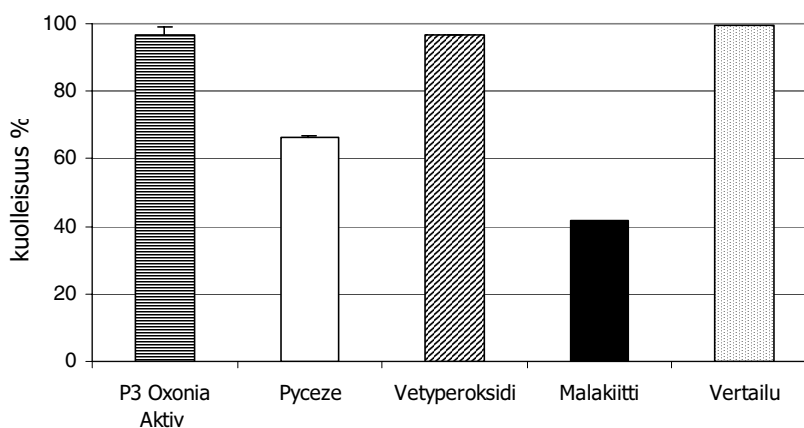
### 3.3. Saavihaudonnassa malakiitin korvaaminen on vaikeaa

Saavihaudontakokeeseen otettua kirjolohen mätiä jouduttiin käsittelemään ja kuljetta-  
maan enemmän kuin yleensä. Tästä syystä koeryhmissä oli tavallista enemmän kuol-  
leita mätimunia jo kun mätierät laitettiin haudontasaaveihin. Kuolleita ei poistettu.

Lämpötila oli haudonnan alkaessa 7,2 °C ja päättyessä 13,1 °C .

Lähes kaikki vetyperoksidilla ja P3 Oxonia Aktivilla kylvetettyjen haudontasaavien mäti kuoli ennen silmäpistevaihetta (kuva 9). Myös kontrollisaavissa, jota ei kylvetetty mitenkään, kaikki mäti kuoli. Malakiittivihreällä kylvetetyn mätierän kuolleisuus oli 41,7 %. Pycezellä kylvetetyissä saaveissa kuolleisuus (66,5 %) oli suurempi kuin malakiittivihreällä, mutta kuitenkin selvästi pienempi kuin vetyperoksidilla ja P3 Oxonia Aktivilla.

Pycezellä, vetyperoksidilla ja P3 Oxonia Aktivilla kylvetettyjen mätsaavien haudontatuloksen hajonta rinnakkaisten saavien välillä oli hyvin pieni.



**Kuva 9. Kuolleisuus silmäpistevaiheessa eri kylvetysaineilla saavihaudonnassa.**

Ensimmäiset homeiset mätimunat havaittiin vertailuryhmässä 8 vrk (66 päiväastetta) haudonnan aloituksesta. Ensimmäisessä homeisuustarkastuksessa (97 päiväastetta) P3 Oxonia Aktiv- ja vetyperoksidiryhmissä oli hometta (taulukko 2). Toisessa homeittu- neisuustarkastuksessa (145 päiväastetta) vain malakiittiryhmä oli homeeton. Kolman- nassa tarkastuksessa (207 päiväastetta) myös malakiittiryhmässä oli muutamia homei- sia mätimunia.

Vetyperoksidilla käsiteltyjen saavien mädissä oli jo kahden viikon haudonnan jälkeen paakkuuntuneita homeisia mätimunia. Lopussa koko saavin mäti oli samaa home- paakkuu. Vetyperoksidikylvetys nosti paakkuuntuneet homeiset mätimunat pintaan kellumaan joka kylvetyskerralla. Kellumaan nousseet homepaakut ajautuivat myös helposti poistoletkuihin. Vertailusaavissa ei ollut homeisten munien paakkuuntumista.

## Taulukko 2. Homehtuneisuuden kehittyminen haudonnan aikana eri kylvetysryhmissä.

Merkkien selitys:

-	ei hometta	(p)	homeiset mätimunat hieman paakkuina
(+)	yksittäisissä mätimunissa hometta	p	paakkuuntuneita
+	hometta	pp	runsaasti paakkuuntuneita
++	runsaasti hometta		

Kylvetysaine	Haudonnan päiväasteet			
	66	97	145	207
P3 Oxonia Aktiv	-	(+)	++	++p
Pyceze	-	-	(+)	+(p)
vetyperoksidi	-	++p	++pp	++pp
malakiittivihreä	-	-	-	(+)
vertailu	(+)	++	++	++

Silmäpistevaiheessa tapahtuvaa kuolleiden laskentaa varten mädit piti puhdistaa. Koska osa mätieristä oli hyvin likaisia, kaikki mätierät huuhdeltiin useaan kertaan. Mätierien likaantumisessa samoissa haudontaolosuhteissa havaittiin eri aineilla eroja:

**P3 OXONIA AKTIV:** Pohjasihdin putken ympärillä oli kehä hyvälaatuista mätiä. Muu osa mädistä oli homeisena paakkuna, mutta mäti irtautui kuitenkin helposti huuhtelussa. Vesi oli pahan hajuista ja likaista, mutta siinä ei ollut kiintoainepartikkeleita.

**PYCEZE:** Vain yksittäisiä muutaman mätijyvän hometakertumia. Vesi oli likaista, mustaa ja sisälsi erittäin paljon kiintoainetta.

**VETYPEROKSIDI:** Koko mätierä lähes yhtenä paakkuna, joka ei irronnut edes huuhtelussa. Pumpulista homekerrosta yksittäisten mätimunien ympärillä. Vesi oli lähes puhdasta.

**MALAKIITTIVIHREÄ:** Mäti lähes irrallista. Vesi mustaa ja hyvin likaista.

**KYLVEÄMÄTÖN:** Mäti irrallista. Hometta laattoina. Vesi oli likaista ja siinä oli kiintoainetta. Pinnalla kellui runsaasti rasvaa ja jonkun verran kirkkaanpunaista ”hiletä”.

### 3.4. Pyceze ja vetyperoksidi yhdessä?

Kun meritaimenen mäti haudonnan aikana kylvetettiin kolmesti viikossa Pycezellä, oli kuoriutumistulos vähän heikompi kuin kaksi kertaa viikossa Pycezellä ja lisäksi kerran viikossa vetyperoksidilla kylvetetyssä kaukalossa (taulukko 3). Ero ei ole tilastollisesti merkitsevä.

**Taulukko 3. Kuoriutumisvaiheessa mitattu kuolleisuus (%) Pycezellä ja Pyceze-vetyperoksidi yhdistelmällä kylvetetyissä kaukaloissa.**

<b>kylvetysaine</b>	<b>kuolleisuus %</b>
Pyceze	7,1
Pyceze + vetyperoksidi	6,1

Pycezen lisäksi myös vetyperoksidikylvetyksiä saaneiden mätien pinnalla oli kiintoainetta ja muita epäpuhtauksia selvästi vähemmän kuin vain Pycezellä kylvetettyjen mätien pinnalla.

### 3.5. Uusien homehtumisen torjunta-aineiden käyttö voi lisätä tuotannon kustannuksia

Malakiittivihreän suosio on hyvän ja kaikissa olosuhteissa samanlaisen homeenestotehon lisäksi perustunut myös sen halpaan hintaan, vaikka se käytössä onkin ollut varsin hankala tiedossa olleiden terveystekijöiden, värjäävyyden ja pölyämisen vuoksi. Malakiittivihreän korvaajat, sekä vetyperoksidi että Pyceze, ovat kalliimpia. Yhden neljä asetia sisältävän haudontakaukalon kylvettäminen läpivirtausmenetelmällä suosituspitoisuuksilla ja –ajoilla maksaa vetyperoksidia käytettäessä (500 mg/l, 15 minuutin kylvetys) noin kaksi kertaa ja Pycezeä käytettäessä (0,1 ml/l, 30 minuutin kylvetys) noin 20 kertaa malakiittivihreäkylvetyksen (3 mg/l, 30 minuutin kylvetys) verran.

Malakiittivihreää käytettäessä on periaatteessa pitänyt järjestää kylvetys- ja huuhteluvesien johtaminen muualle kuin vesistöön, mutta vain harvassa hautomossa näin on menetelty, mikä on vielä pienentänyt kustannuksia. Vetyperoksidi hajoaa vesistössä hapeksi ja vedeksi, joten se voidaan johtaa suoraan vesistöön poistoveden mukana. Pycezen kalleuden vuoksi hautomoihin olisi rakennettava veden kierrätysmahdollisuus ainakin homeenestokylvetysten yhteydessä käytettäväksi.

Malakiittivihreää voidaan korvata myös lisäämällä kuolleitten mätimunien nypkimistä pois. Nypkiminen on kallista käsityötä ja sopii vain asettihaudontaan ja jossain määrin suppiloihin. Haudonnan alkuvaiheessa nypkimisestä voi olla mädille haittaa, jos sitä tehdään taitamattomasti tai mätä on aseilla paljon.

Hometorjunnan pettäminen tavallisesti lisää mädin kuolleisuutta. Suorat tappiot voivat olla merkittäviä, jos malakiittivihreän tilalla käytettävät hoitokemikaalit eivät ole yhtä tehokkaita kuin malakiittivihreä. Jos ne lisäksi ovat kalliita ja vielä työläitäkin, vaikutukset tuotantokustannuksiin ovat helposti liian suuret.

Malakiittivihreän korvaaminen muilla hoitokemikaaleilla vähentää myrkyllisten kemikaalien päästöjä hautomoitten poistovesiin. Karsinogeenisen hoitokemikaalin poistuminen on periaatteessa hyvä sekä kalanviljelyn työntekijöiden terveyden että kalatuotteiden terveellisyyden, turvallisuuden ja julkisuuskuvan kannalta, edellyttäen, että aine voidaan korvata muilla hoitokemikaaleilla tai muilla vaihtoehtoisilla menetelmillä.

## 4. Tulosten tarkastelu

Pottingerin ja Dayn (1999) mukaan Pycezellä kylvetettyjen mätierien homehtuneisuus oli merkittävästi pienempi kuin kylvettämättömien. Tutkimuksessa ei mitattu haudontatulosta. Koska Pyceze on varsin uusi kalanviljelykemikaali, siitä ei ole toistaiseksi julkaistu vertailuja malakiittivihreään tai muihin hometorjuntakemikaaleihin.

Pycezen valmistaja suosittelee kylvetyspitoisuudeksi 50 mg/l bronopolia. Pottingerin ja Dayn (1999) kokeessa suuremmat bronopolipitoisuudet estivät homehtumista paremmin. Meidän kokeissamme asettihaudonnassa haudontatulokset ei poikennut kylvetämättömissä kaukaloissa eri Pyceze-pitoisuuksilla kylvetettyjen kaukaloiden haudontatuloksesta. Osasyynä samanlaiseen tulokseen on pienehkö haudontatiheys, jolloin eri kylvetysainepitoisuuksien mahdolliset tehoerot eivät tulleet esille. Valmistajan edustajan mukaan (Grant *et al.* 2002) sopiva Pyceze-pitoisuus mädin kylvetyksiin tulee sovitaa paikallisiin olosuhteisiin ja haudontajärjestelmään.

Vetyperoksidi on monissa tutkimuksissa todettu hyväksi homeenestäjäksi haudonnassa (Marking *et al.* 1994, Rach *et al.* 1998, Schreier *et al.* 1996). Useimmilla lajeilla pitoisuudet 500 - 1000 mg/l ovat olleet tehokkaimpia. Tässä työssä vetyperoksidi ei ollut malakiitin eikä myöskään bronopolin veroinen homeenestäjä.

Saavihaudontakokeessa tuli erittäin selvästi esille, että malakiittivihreää ei voi kaikenlaisissa haudontajärjestelyissä korvata yhdellä kylvetyskemikaalilla ja yhdellä kylvetystavalla. Tavallista vaikeammassa haudontatilanteessa, kun mädissä oli alunperinkin paljon kuolleisuutta, Pyceze-kylvetyksillä haudontatulokset oli kuitenkin kohtuullinen, vaikkakin huonompi kuin malakiittivihreällä. Käytännön syistä on tulokset laskettu yhdestä otoksesta joka saavista, mutta koska rinnakkaisten saavien tulokset ovat hyvin samanlaisia, otosta voidaan pitää riittävänä. Asettihaudonnassa, jossa mätiä on suhteellisen vähän, vetyperoksidi toimi kuitenkin paremmin kuin saavihaudonnassa, johon se tämän kokeen perusteella oli sopimaton.

Pycezellä kylvetetyt asetit ja saavit ovat haudonnan loppuvaiheessa huomattavan liukaisia, ikään kuin Pyceze ”saostaisi” veden kiintoainetta. Tällä ilmiöllä saattaa olla haudontatulosta huonontava vaikutus lohen ja taimenen mädin haudonnassa, joka kestää pitkään. Pyceze-kylvetysten yleistyessä olisi selvitettävä, lisääkö lämpötilan nousu kiintoaineen kerääntymistä. Vetyperoksidikylvetykset hajottavat mätimunien pinnalle laskeutuvaa kiintoainetta. Vetyperoksidikylvetyksillä on siten haudontalaitteita ja haudottavaa mätiä puhdistava vaikutus. Kun Pyceze-kylvetysten lisänä käytettiin vetyperoksidikylvetyksiä, haudonta-asetit olivat puhtaampia kuin pelkällä Pycezellä kylvetettäessä. Vetyperoksidi nostaa homepaakkuja pintaan, mistä ne on helppo kerätä pois, mutta ilman huolellista kylvetysten valvontaa pintaan nousevat paakut voivat myös tukkia poistoletkut.

Malakiittivihreän korvaaminen muilla kylvetysaineilla tulee joka tapauksessa lisäämään haudonnan kustannuksia kalliimpien kylvetyskemikaalien, heikomman homeentorjuntatehon, investointitarpeiden, lisääntyneen työn ja haudontatappioiden kautta.

## 5. Suositukset

1. Haudottavaksi otettavan mädin laadun parantamiseksi kannattaa tehdä kaikki mahdollinen. Kun kuolleisuus haudonnan aikana on pientä, myös homehtuminen on vähäistä ja tarvitaan vähemmän homeenestokylvetyksiä.
2. Pyceze on parempi homeenestossa kuin vetyperoksidi.
3. Vetyperoksidikylvetyksillä voidaan puhdistaa haudontalaitteita kiintoaineesta.
4. Malakiittivihreän korvaamiseksi on menettelytapoja kehitettävä hautomokohtaisesti. Homehtumisesta johtuvaa kuolleisuutta voidaan hallita myös kehittämällä haudontajärjestelyitä ja –menetelmiä, esimerkiksi pienentämällä mätitiheyksiä haudontalaitteissa.

## Kirjallisuus

- Arndt, R.E., Wagner, E.J. & Routledge, M.D. 2001. Reducing or withholding hydrogen peroxide treatment during a critical stage of rainbow trout development: effects on eyed eggs, hatch, deformities and fungal control. *North American Journal of Aquaculture* 63: 161-166.
- Barnes, M.E., Ewing, D.E., Cordes, R.J. & Young, G.L. 1998. Observations on hydrogen peroxide control of *Saprolegnia* spp. during rainbow trout egg incubation. *Progr. Fish-Culturist* 60: 67-70.
- Barnes, M.E., Wintersteen, K., Saylor, W.A. & Cordes, R.J. 2000. Use of formalin during incubation of rainbow trout eyed eggs. *North American Journal of Aquaculture* 62: 54-59.
- Bouchard, L., Patel, J. & Lahey, L. 2001. The effect of clove oil on fungal infections of salmonid eggs. *Bull. Aquacult. Assoc. Can.* 2001 no.4, p. 110-112.
- Edgell, P., Lawseth, D., McLean, W.E. & Britton, E.W. 1993. The use of salt solutions to control fungus (*Saprolegnia*) infestations on salmon eggs. *Progr. Fish-Culturist* 55: 48-52.
- Forneris, G., Bellardi, S., Palmegiano, G.B., Saroglia, M., Sicuro, B., Gasco, L. & Zoccarato, I. 2003. The use of ozone in trout hatchery to reduce saprolegniasis incidence. *Aquaculture* 221: 157-166.
- Francis-Floyd, R. 2000. Disease history of cultured sturgeon in Florida 1990-1999. *Proceedings of the Florida sturgeon culture risk assessment workshop.* p. 33-38.
- Gaikowski, M.P., Rach, J.J., Olson, J.J., Ramsay, R.T. & Wolgamood, M. 1998. Toxicity of hydrogen peroxide treatments to rainbow trout eggs. *J. Aquat. Anim. Health* 10: 241-251.
- Gajdušek, J. & Rubcov, V. 1985. Microstructure of moulted carp eggs infested with *Saprolegnia*. *Folia Zool.* 34: 349-355.
- Grant, A., Marshall, J. & Hunter, R. 2002. Pyceze, efficacy and use. In: Rahkonen, R. ja Koski, P.: *Post malachite green: Alternative strategies for fungal infections and white spot disease.* *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 22: 152-157.
- Howe, G.E., Marking, L.L., Bills, T.D. & Schreier, T.M. 1995. Efficacy and toxicity of formalin solutions containing paraformaldehyde for fish and egg treatments. *Progr. Fish-Culturist* 57: 147-152.
- Howe, G.E., Gingerich, W.H., Dawson, V.K. & Olson, J.J. 1999. Efficacy of hydrogen peroxide for treating saprolegniasis in channel catfish. *J. Aquat. Anim. Health* 11: 222-230.
- Kitancharoen, N. & Hatai, K. 1996. Experimental infection of *Saprolegnia* spp. in rainbow trout eggs. *Fish Pathol.* 31: 49-50.
- Kitancharoen, N., Ono, A., Yamamoto, A. & Hatai, K. 1997. The fungistatic effect of NaCl on rainbow trout egg saprolegniasis. *Fish Pathology* 32: 159-162.
- Marking, L.L., Rach, J.J. & Schreier, T.M. 1994. Evaluation of antifungal agents for fish culture. *Progr. Fish-Culturist* 56: 225-231.
- Phelps, R.P. & Walser, C.A. 1993. Effect of sea salt on the hatching of channel catfish eggs. *J. Aquat. Anim. Health* 5: 205-207.
- Pottinger, T.G. & Day, J.G. 1999. A *Saprolegnia parasitica* challenge system for rainbow trout: assessment of Pyceze as an anti-fungal agent for both fish and ova. *Dis. Aquat. Org.* 36: 120-141.

- Rach, J.J., Gaikowski, M.P., Howe, G.E. & Schreier, T.M. 1998. Evaluation of the toxicity and efficacy of hydrogen peroxide treatments on eggs of warm- and coolwater fishes. *Aquaculture* 165: 11-25.
- Sako, H. & Sorimachi, M. 1985. Susceptibility of fish pathogenic viruses, bacteria and fungus to ultraviolet irradiation and the disinfectant effect of U.V.-ozone water sterilizer on the pathogens in water. *Bill. Natl. Res. Inst, Aquacult. Japan* 1985 no. 8: 51-58.
- Schreier, T.M., Rach, J.J. & Howe, G.E. 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. *Aquaculture* 140: 323-331.
- Smith, S.N., Armstrong, R.A., Springate, J. & Barker, G. 1985. Infection and colonization of trout eggs by Saprolegniaceae. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 5: 719-723.
- Taylor, S.G. & Bailey, J.E. 1979. Saprolegnia: control of fungus on incubating eggs of pink salmon by treatment with seawater. *Progr. Fish-Culturist* 41: 181-183.
- Waterstrat, P.R. & Marking, L.L. 1995. Clinical evaluation of formalin, hydrogen peroxide and sodium chloride for the treatment of *Saprolegnia parasitica* on fall chinook salmon eggs. *Progr. Fish-Culturist* 57: 287-291.
- Willoughby, L.G. & Roberts, R.J. 1992. Towards strategic use of fungicides against *Saprolegnia parasitica* in salmonid fish hatcheries. *J. Fish Dis.* 15: 1-13.

## Malakiittivihreän vaihtoehdot kalojen vesihomeen torjuntakylvetyksissä

Yrjö Lankinen ja Anu Halttunen

Savon Taimen Oy, Äijäniementie 7, 77700 Rautalampi



## 1. Johdanto

Vesihome on 1990-luvun puolivälistä lähtien aiheuttanut vakavia ongelmia taimenen, lohien ja siian viljelyssä (Leinonen *et al.* 1998, Leinonen 1999, Pyökkö ja Vennerström 2000). Vesihomeen aiheuttamia sairastumisia on tavattu kaksikesäisillä ja sitä vanhemmilla kaloilla. Sen torjuntaan on perinteisesti käytetty malakiittivihreäkylvetyksiä. Niiden avulla onkin voitu pitää kurissa kalojen hometartuntoja. Malakiittivihreän poistuminen käytöstä on siten aiheuttanut suuria ongelmia viljelytuotannolle, koska muita yhtä hyviä kylvetyskemikaaleja homeen torjuntaan ei ole ollut. Tutkimuksissa eri puolilla maailmaa on ollut useita hometorjuntaan mahdollisesti sopivia kemikaaleja. Näistä vain bronopolihdiste Pyceze on hyväksytty kalanviljelyssä käytettäväksi hometorjuntakemikaaliksi.

Suomessa suuri osa istukkaista ja emokaloista tuotetaan maa-altaissa. Maa-altaat ovat suuria ja yleensä kattamattomia, niissä on pitkä veden viipymä ja pohjalla ja vedessä orgaanista ainesta, koska pohjamateriaali on vaikeasti puhdistettavaa. Kalojen terveys-tilanteeseen vaikuttavien ympäristötekijöiden hallinta maa-altaissa on siten paljon hankalampaa kuin keinoaltaissa. Maa-altaissa käytettävän kylvetysaineen tulee kemiallisesti olla sellainen, että se tehoaa, vaikka vedessä olisi orgaanista ainetta. Maa-altaissa myrkyllisen ja tehokkaan pitoisuuden eron pitää olla selvä. Erityisesti kylvetysaineen tulee olla taloudellinen käyttää.

Savon Taimen Oy:n Tyyrinvirran laitoksella tehtiin vuonna 2000 vesihomeprojektin osana kylvetyskokeita malakiittivihreää korvaavan kylvetyskemikaalin löytämiseksi ison kalan tuotannossa. Kokeisiin käytettiin tavanomaisessa tuotannossa kasvatettuja, homeinfektioon sairastuneita kaloja. Näiden kokeiden tarkoituksena oli testata sekä malakiitin tilalle suositellun bronopolihdisteen (Pyceze) että muiden mahdollisten hometorjuntakemikaalien käyttökelpoisuutta tuotantomittakaavaan helposti sovellettavissa olevilla koejärjestelyillä.

## 2. Aineisto ja menetelmät

Kokeet järjestettiin Savon Taimen Oy:n Tyyrinvirran laitoksella olevassa hallissa, jota käytetään pääasiassa emokalojen lypsyissä talviaikana. Hallissa on erillisvesitys, joten lypsykauden ulkopuolella sitä voidaan käyttää myös koetoimintaan.

Kokeet järjestettiin kahdessa osassa. Pilottikokeessa (kylvetyskoe 1) haettiin kullekin testattavalle aineelle laitoksen veden laatuun sopivat pitoisuudet. Varsinaisessa kokeessa (kylvetyskoe 2) testattiin kylvetyskemikaalien tehoa hometartunnan rajoittamisessa.

Koekaloina käytettiin 4-kesäisiä Rautalammin reitin järvitaimenia, joiden keskipaino oli 1,25 kg. Kalat oli kasvatettu laitoksella normaalituotannossa. Niitä oli ruokittu kasvatuskaudella Aqualife 23-, Royal Plus-, Vital- ja Emovital-rehuilla.

Koekaloille pyrittiin saamaan samanasteinen hometartunta mukaillulla kohabitaatiomenetelmällä, jossa koekalojen joukkoon otettiin myös homeisia kaloja. Homeinfektion oletettiin leviävän homeisista kaloista kaikkiin muihinkin saman ryhmän kaloihin.

Tuotantoaltaassa oli todettu vesihomeisia kaloja 7.9.2000. Kaloja kylvetettiin malakiittivihreällä 8.9.2000 alkaen. Kylvetyskokeen 1 kalat olivat saaneet 3 ja kylvetyskokeen 2 kalat 8 hoitokertaa ennen kokeeseen siirtoa.

Pilottikoetta varten lievästi homehtuneet taimenet siirrettiin tuotantoaltaasta kolmeen altaaseen 18.9.2000 (n. 34 kpl/allas, n. 5,8 kg/m<sup>3</sup>). Näkyvän homehtumisen vahvistuttua kalat jaettiin koealtoiin 25.9.2000 siten, että viljelytiheydeksi muodostui laitoksella normaalisti käytetty 4-vuotiaan taimenen viljelytiheys. Altaan tilavuus oli 5,8 m<sup>3</sup>

ja virtaama 0,3 l/s. Viipymä vastasi kokeessa taimenten kasvatuksessa käytettyjen altaiden viipymää eli 5-5,5 h. Koe lopetettiin 2.10.2000.

Varsinaisessa kokeessa (kylvetyskoe 2; 6.10.-20.10.2000) kalat siirrettiin suoraan tuotantoaltaasta koealtaisiin. Tuotantoaltaassa oli näkyvissä jonkin verran homeisia kaloja. Infektiopaine oli altaassa kasvanut, ja tämän katsottiin yhdessä siirtokäsittelyn aiheuttamien iholiman vaurioiden ja stressin kanssa olevan riittävä altistus vesihomeen tartuttamiseksi kaloihin. Kasvatustiheys varsinaisen kylvetyskokeen alussa oli 6,7 kg/m<sup>3</sup>, viipymä 5-5,5 h ja virtaama 0,3 l/s.

Kokeissa käytetyt kylvetysaineet ja niiden pitoisuudet ovat taulukossa 1. Vetyperoksidi on pidetty yhtenä lupaavimmista malakiittivihreää korvaavista aineista (Fitzpatrick *et al.* 1995). Natriumperkarbonaatti on yhdiste, joka hajoaa luonnossa vetyperoksidiksi, soodaksi ja vedeksi. PerAqua on etikkahapon, peretikkahapon ja vetyperoksidin tasapainoliuos, jota käytetään yleisesti desinfiointiaineena. Etikkahappoa ja peretikkahappoa sisältävillä yhdisteillä on mainittu olevan tehoa mm. sienten ja homeiden itiöitä vastaan. Natriumperkarbonaattia ja PerAqua on tutkittu erityisesti Tanskassa kalojen loisten torjunnassa (Slierendrecht, suullinen tiedonanto).

**Taulukko 1. Kokeessa käytetyt kylvetysaineet ja pitoisuudet.**

Aine	KYLLETYSKOE 1		KYLLETYSKOE 2	
	altaita	pitoisuus	altaita	pitoisuus
Kontrolli	1	-	1	-
Malakiittivihreä	2	0,6 g/m <sup>3</sup>	1	0,6 g/m <sup>3</sup>
Natriumperkarbonaatti	2	100 g/m <sup>3</sup>	1	150 g/m <sup>3</sup>
PerAqua	2	10 ml/m <sup>3</sup>	2	10 ml/m <sup>3</sup>
Vetyperoksidi (37%)	2	1. krt. 167 ml/m <sup>3</sup> 2. krt. 240 ml/m <sup>3</sup> 3. krt. 330 ml/m <sup>3</sup>	2	330 ml/m <sup>3</sup>
Pyceze	-	-	2	40 ml/m <sup>3</sup>

Veden lämpötilaa seurattiin päivittäisin mittauksin. Lämpötilatiedot koejaksojen aikana on kuvattu kuolleisuuksia koskevissa kuvissa.

Kalojen kylvetykset tapahtuivat normaalirutiinia noudattaen huuhtelukylpynä kolme kertaa viikossa (kylvetyskoe 1: 27.9., 29.9. ja 1.10.; kylvetyskoe 2: 6.10., 9.10., 11.10., 13.10. ja 16.10.). Kylvetyskokeessa 1 vetyperoksidin pitoisuutta nostettiin kolmella peräkkäisellä kylvetyskerralla (167, 240, 330 ml/m<sup>3</sup>), jotta löydettäisiin oikea pitoisuustaso, jossa kalat selviäisivät hengissä, mutta aineella olisi mahdollisesti myös hyvä hoitoteho laitoksen vedessä. Tavoitteena oli 100-125 ppm aktiivista ainetta.

Kuolleet kalat poistettiin altaista kerran vuorokaudessa. Niiden sukupuoli määritettiin avaamalla vatsaontelo. PerAqualla kylvetyistä kaloista tutkittiin EELAssa histologisesti kidusnäytteet mahdollisen akuutin kidusärsytyksen tai kidusvaurioiden selvittämiseksi.

## 3. Tulokset

### 3.1. Kylvetyskoe 1

Pilottikokeen allaskohtaiset kumulatiiviset kuolleisuudet ovat taulukossa 2 ja kuvassa 1. Rinnakkaisten altaiden tuloksissa on hajontaa. Kuolleisuus kehittyi kaikissa ryhmis-

sä samalla tavalla: kaloja alkoi kuolla päivän kuluttua siirrosta varsinaisiin koealtaisiin, ja kuolleisuus lisääntyi nopeasti.

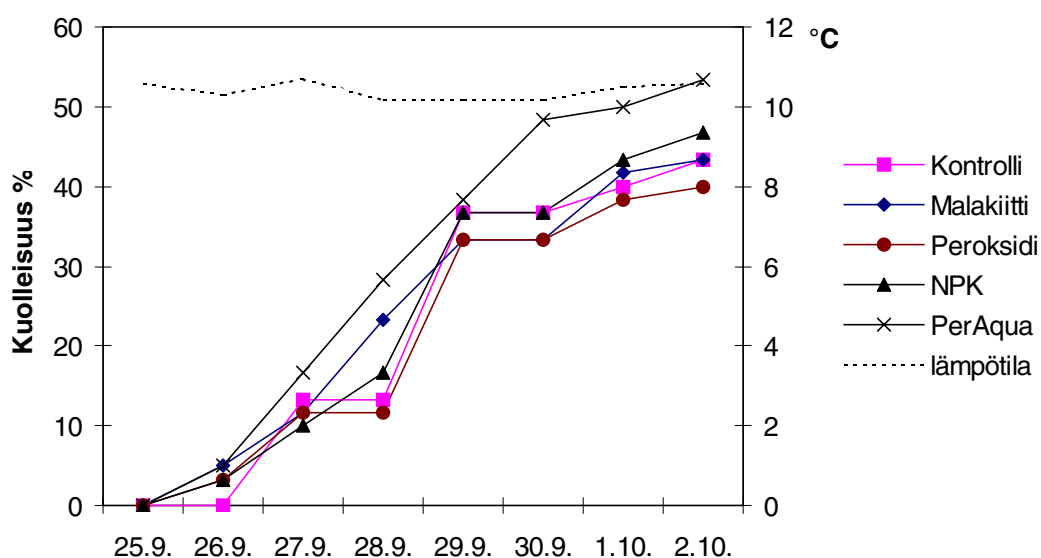
Koe päätettiin keskeyttää 1.10., koska jo 40-50 % kaikkien ryhmien kaloista oli kuollut ja näytti siltä, että loputkin kalat tulevat menehtymään homeeseen muutamassa päivässä.

**Taulukko 2. Kumulatiivinen kuolleisuus pilottikokeessa eri altaissa.**

Aine	Allas nro	Kaloja kpl	Kuolleita kaloja kpl	Kuolleisuus %	Ryhmän kuolleisuuden keskiarvo (%)
Kontrolli	1	30	13	43,3	43,3
Malakiittivihreä	6	30	16	53,3	
Malakiittivihreä	9	30	10	33,3	43,3
Natriumperkarbonaatti	5	30	11	36,7	
Natriumperkarbonaatti	7	30	17	56,7	46,7
PerAqua	2	30	21	70,0	
PerAqua	3	30	11	36,7	53,3
Vetyperoksidi	4	30	15	50,0	
Vetyperoksidi	8	30	9	30,0	40,0

Kokeen perusteella päätettiin varsinaiseen kylvetyskokeeseen otettavat aineet ja pitoisuudet. Kaikissa ryhmissä minimikuolleisuus oli samalla tasolla, jolloin mikään aine ei erottunut toisiaan parempana, mutta toisaalta maksimikuolleisuuden perusteella ei voinut sulkeakaan mitään ainetta pois jatkokokeesta.

Käytössä olleiden altaiden lukumäärä rajoitti testattavien aineiden toistojen lukumäärää. Natriumperkarbonaatin pitoisuutta päätettiin lisätä kolmanneksella, jotta aktiivisen vetyperoksidin määrää saataisiin lisätyksi. Peroksidin määrää ei kuitenkaan mitattu.



**Kuva 1. Kylvetyskokeen 1 kumulatiivinen kuolleisuus (%) eri kylvetysaineilla käsitellyissä altaissa ja veden lämpötila. NPK = natriumperkarbonaatti, peroksidi = vetyperoksidi.**

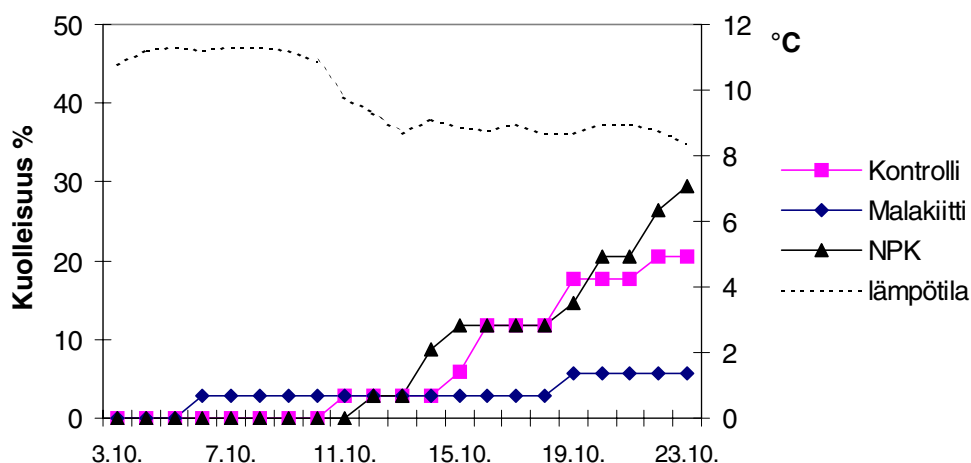
### 3.2. Kylvetyskoe 2

Kokeen tulokset on koottu taulukkoon 3 ja kuviin 2-5. Kontrolliryhmän kuolleisuus oli n. 20 % ja malakiittivihreäryhmän n. 6 %. Tässä kokeessa vain malakiitilla voitiin home pitää kurissa ja kuolleisuudet pieninä.

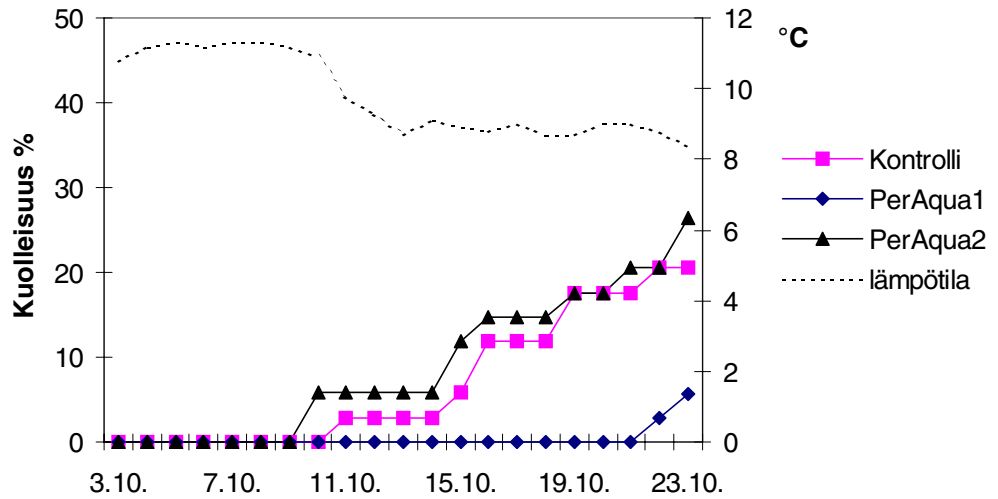
Toiseksi parhaina erottuvat Pycezellä ja PerAqualla kylvetetyt ryhmät, joissa kuolleisuudet olivat 13-16 %:n välillä. Vetyperoksidilla käsitellyissä altaissa kuolleisuus oli n. 23 % ja natriumperkarbonaattia saaneessa altaassa suurin, n. 30 %. PerAqualla käsitellyssä ryhmässä toisen altaan kuolleisuus oli samaa tasoa kuin malakiittiryhmässä.

**Taulukko 3. Kuolleisuus (kpl ja %) varsinaisessa kylvetyskokeessa, ja homeisten kalojen lukumäärä kokeen lopussa.**

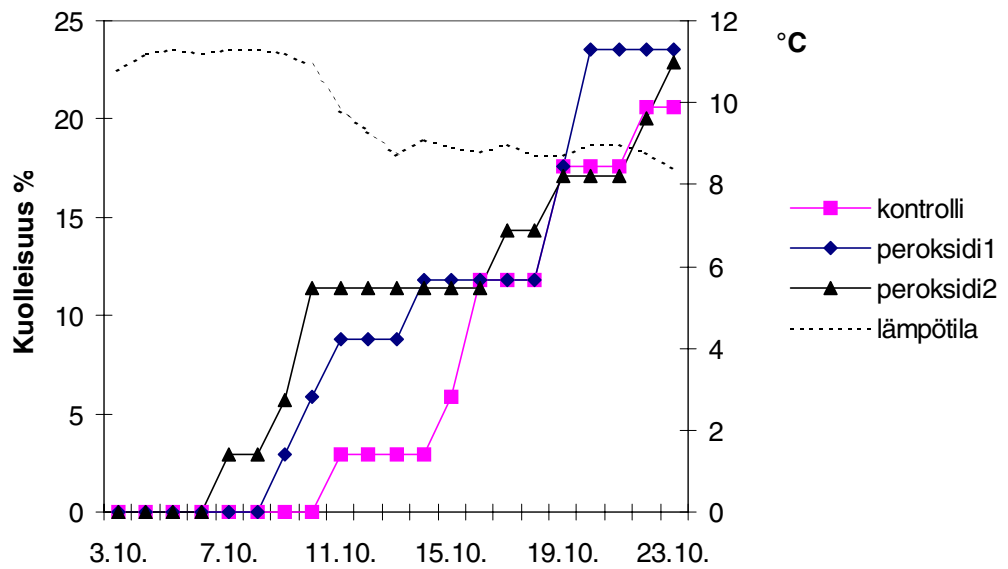
Aine	Allas nro	Kaloja kpl	Kuolleita kpl	Kuolleisuus %	Keskiarvo %	Homeisia jäljellä
Kontrolli	6	34	7	20,6	20,6	3
Malakiittivihreä	9	35	2	5,7	5,7	2
Natriumperkarbonaatti	3	34	9	26,5	26,5	3
PerAqua	4	35	2	5,7		8
PerAqua	2	34	9	26,5	15,9	4
Pyceze	7	35	4	11,4		5
Pyceze	8	31	5	16,1	13,6	6
Vetyperoksidi	1	34	8	23,5		3
Vetyperoksidi	5	35	8	22,9	23,2	2



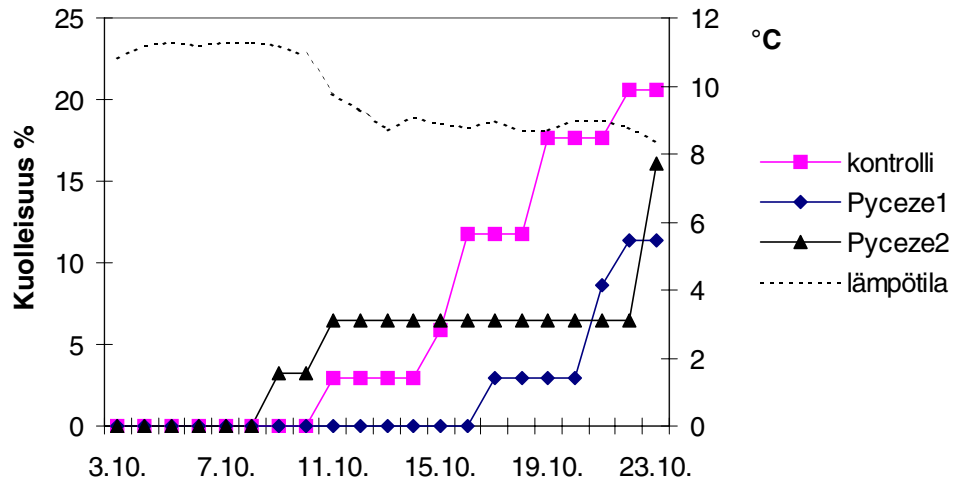
**Kuva 2. Kumulatiivinen kuolleisuus (%) malakiitti-, natriumperkarbonaatti- (NPK) ja kontrolliryhmissä ja veden lämpötilä.**



Kuva 3. Kumulatiivinen kuolleisuus (%) PerAqua- ja kontrolliryhmissä ja veden lämpötila.

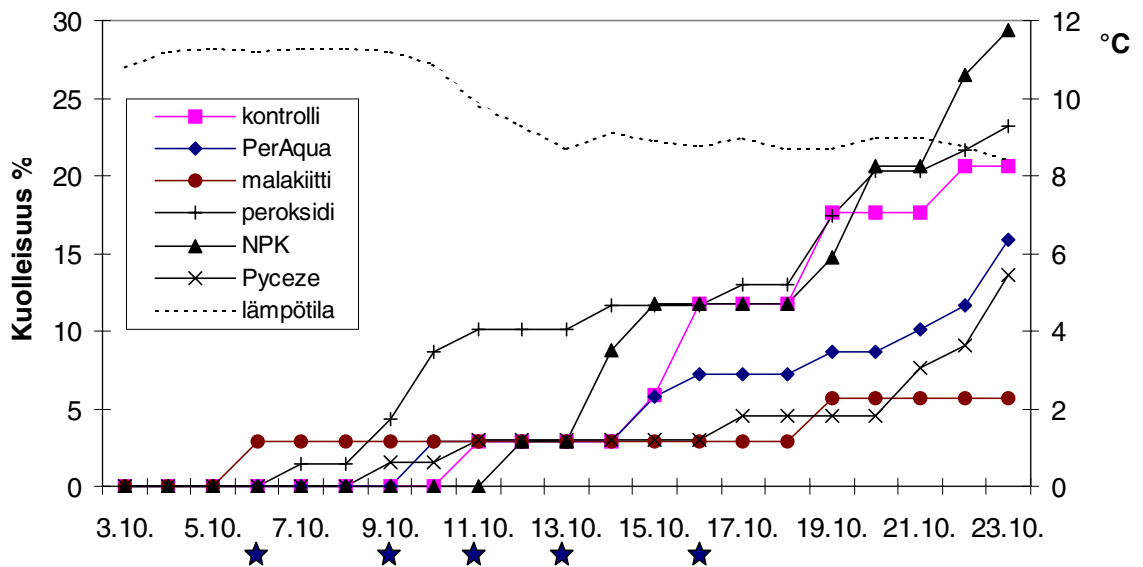


Kuva 4. Kumulatiivinen kuolleisuus (%) vetyperoksidi- ja kontrolliryhmissä ja veden lämpötila.



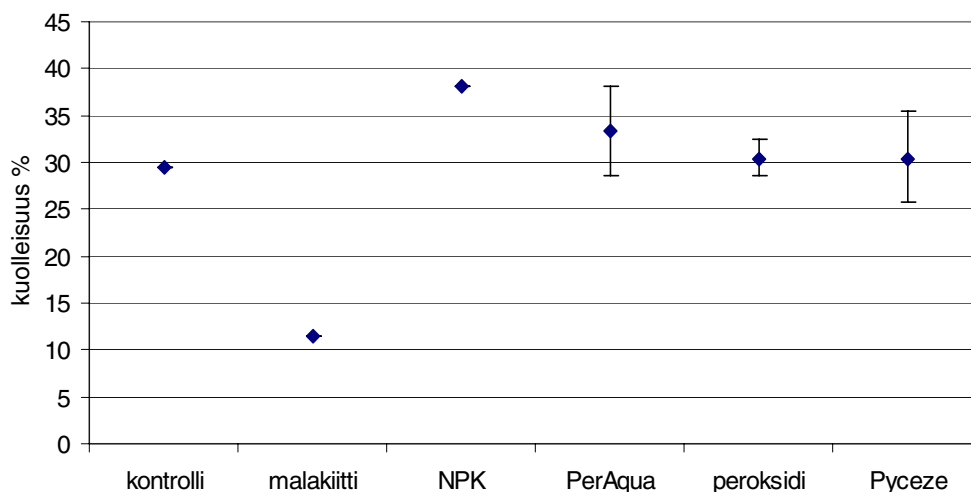
**Kuva 5. Kumulatiivinen kuolleisuus (%) Pyceze- ja kontrolliryhmissä sekä veden lämpötila.**

Keskimääräiset kumulatiiviset kuolleisuudet eri kylvetsaineilla on esitetty kuvassa 6.



**Kuva 6. Yhteenveto eri kylvetsaineiden kumulatiivisista keskimääräisistä kuolleisuuksista (%). Kylvetyspäivät on merkitty tähdellä.**

Mikäli tarkastelussa otetaan huomioon myös koetta lopetettaessa altaissa havaitut homeiset kalat ja oletetaan, että myös ne kuolevat, muuttuu tilanne jonkin verran eri aineiden välillä (kuva 7). Testattavina olleiden kylvetsaineiden estimoiduissa kuolleisuuksissa ei tällöin ollut suuria eroja kontrolliryhmän kuolleisuuteen verrattuna. Testattavilla aineilla ei ollut toisiinsa verrattuna eroja hoitotehossa.



**Kuva 7. Kylvetyskokeen 2 estimoitu kokonaiskuolleisuus (%), kun kokeen aikana havaitut homeiset yksilöt lisättiin kokeen aikana kuolleiden määriin. Kuvassa on esitetty testattavien aineiden minimi, keskiarvo ja maksimikuolleisuudet.**

Kuolleista kaloista sukukypsiä koiraita oli n. 53 %, sukukypsiä naaraita 34 % ja mar-toja vain 4 % (taulukko 4). Yleensä marrot eivät homehdu, ellei infektiopaine ole erityisen suuri. Kaikista kuolleista ei sukupuolta saatu tietokatkoksen takia määritettyä.

**Taulukko 4. Kokonaiskuolleisuus ja kuolleiden kalojen sukupuolijakauma (%) eri altaissa.**

Aine	Kokonaiskuolleisuus		Kuolleiden kalojen sukupuolijakauma (%)			
	kpl	%	Naaras	Koiras	Marto	Ei määritetty
Kontrolli	7	20,6	0	100	0	0
Malakiittivihreä	2	5,7	100	0	0	0
Natriumperkarbonaatti	10	29,4	30	40	0	30
Vetyperoksidi (37%)	8	23,5	50	50	0	0
Vetyperoksidi (37%)	8	22,9	25	50	25	0
PerAqua	2	5,7	0	100	0	0
PerAqua	9	26,5	56	22	0	22
Pyceze	4	11,4	25	75	0	0
Pyceze	5	16,1	40	60	0	0
<b>Kuolleet yhteensä</b>	<b>55</b>	<b>17,9</b>	<b>35</b>	<b>53</b>	<b>4</b>	<b>9</b>

Kylvetyksissä käytetyllä PerAqua-pitoisuudella ei havaittu olevan vaikutusta kidusten rakenteeseen.

## 4. Tulosten tarkastelu

### 4.1. Kylvetyskoe 1

Kokeessa yritettiin jäljitellä olosuhteita, jotka esiintyvät maa-allastuotannossa (tuotantotiheys, pitkähkö viipymä, kylvetystapa). Tavoitteena oli löytää ne kylvetysainepitoisuudet, joilla kaloja voitaisiin turvallisesti kylvettä.

Homeinfektio ehti koekaloissa kuitenkin päästä viikonlopun aikana liian voimakkaaksi ennen hoitokylvetysten aloittamista, josta syystä kuolleisuudet kohosivat kaikissa altaissa. Koe päätettiin keskeyttää kolmen hoitokerran jälkeen, koska tavoitteet pitoisuuksien löytymisen suhteen saavutettiin ja toisaalta nähtiin, että uusi koe pitää aloittaa mahdollisimman nopeasti. Käytettyjen pitoisuuksien ei tulkittu aiheuttaneen ongelmia kaloille.

Koe kuitenkin osoitti, että kun vesihome pääsee ”liian pitkälle”, siihen ei tehoa malakiittikaan. Hajonta altaiden välillä oli suurta kaikilla aineilla. Todennäköisesti kumulatiiviset kuolleisuudet olisivat olleet kaikissa ryhmissä vielä suuremmat, mikäli koetta olisi jatkettu.

### 4.2. Kylvetyskoe 2

Malakiittivihreällä kylvetetyistä altaista kaloja kuoli selvästi vähemmän kuin muista. Kontrolliryhmän kuolleisuus oli huomattavan suuri, noin 21 %.

Vetyperoksidilla kylvetetyissä altaissa kuolleisuus kohosi aikaisemmin kuin muissa ryhmissä ja kuolleita havaittiin aina kylvetyksen jälkeisenä päivänä. Todennäköisesti pitoisuus (aktiivista ainetta 122 ml/m<sup>3</sup>) oli liian suuri, ja tästä syystä kokonaiskuolleisuus nousi korkeaksi molemmissa altaissa. Rinnakkaisaltaiden välillä ei ollut merkittävää hajontaa.

Myös natriumperkarbonaattiryhmässä kuolleisuus oli huomattava. Käytetyn natriumperkarbonaattivalmisteen vetyperoksidipitoisuus on n. 27 % (Hjelme 2001). Aktiivisen vetyperoksidin määrä koekaloissa oli siis n. 1/3 vetyperoksidikylvetykseen verrattuna, joten sen ei pitäisi olla kaloille myrkyllinen. Natriumperkarbonaatti ei tehonnut homeeseen.

Pycezellä oli kohtuullinen teho homeetta vastaan. Ero PerAquaan ei ollut kuitenkaan suuri (kuva 6). Molemmissa kokeissa toisessa PerAqualla kylvetetyssä rinnakkaisaltaassa kuolleisuus oli pienempi kuin toisessa. Tähän hajontaan voi olla syynä se, että koekalojen infektioaste ei ollut tasainen kaikissa ryhmissä ja altaissa, tai se, että PerAqua tehoaa jossain määrin vesihomeitiöihin. Infektioasteen tasaisuuteen voi puolestaan vaikuttaa käytetty infektointimenetelmä tai kalojen mahdollinen sukukypsyys. Kokeen loppuvaiheessa laitoksessa alkoivat emotainten lypsyt, joten koekaloissakin oli jo kutuvalmiita yksilöitä.

Satunnaisotannasta johtuen koekalojen sukupuolijakaumaa ei tiedetä, mutta on todennäköistä, että suurin osa koekaloista oli sukukypsiä, ja erittäin todennäköisesti kaikki koiraat olivat sukukypsiä. Kokeen kannalta olisi ollut hyvä, että homeinfektio olisi kaikissa ryhmissä ja altaissa ollut yhtä voimakas, mutta toisaalta tuotantolosuhteissakaan infektio ei ole koskaan tasainen. Homeen torjunta on käytännössä aloitettava silloin, kun ensimmäiset merkit homeesta havaitaan ja ajankohta ja lämpötila on homeen kannalta optimaalinen (n. 4-12 °C). Altistusmenetelmän ja koejärjestelyjen kehittäminen varmistaisi tuloksia tältä osin.



Koesarja tehtiin hyvissä olosuhteissa keinoaltaissa, joissa orgaanisen aineen määrä ei haitannut kylvetyksiä. Jos voimakkaasti hapettavilla aineilla lähdetään kylvettämään maa-altaita, joissa orgaanisen aineen määrä on huomattavasti suurempi, edellä mainitut ainemäärät voivat osoittautua riittämättömiksi, sillä vain osa annostellusta aineesta kuluu tällöin ”kalojen hoitoon”. Kokeista maa-altaita tapahtuviin todellisiin hoitokylvetyksiin on vielä matkaa.

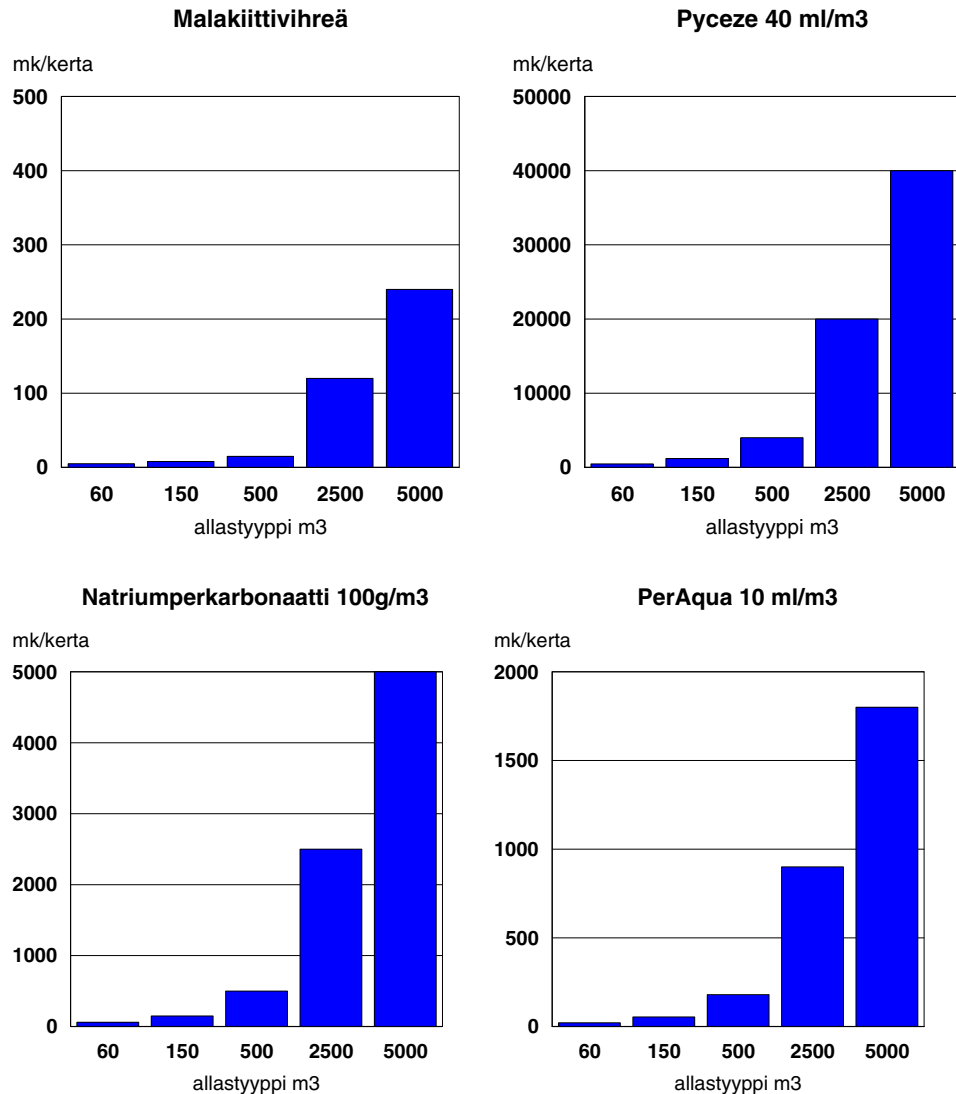
## 5. Kylvetykskustannukset eri aineilla

Kalojen erilaiset hoitotoimet ja niihin tarvittavat aineet muodostavat osan viljelykustannuksista. Nykyisessä kustannus- ja markkinahintatilanteessa hoitokemikaalien tulee olla tehokkaita ja halpoja. Taulukossa 5 ja kuvassa 8 on havainnollistettu eri aineiden tehokkaiden pitoisuuksien mahdollisia kertakylvetykskustannuksia. Tarvittavien kylvetykskertojen määrä vaihtelee ongelman laajuudesta ja laitoksesta riippuen. Niiden määrä voi kohota useisiin kymmeneen, jos homeinfektio on voimakas. Homeinfektion riskiä lisäävät mm. kalojen ikä, smolttiuminen, sukukypsyminen, veden laatu ja lämpötila sekä homekanta.

**Taulukko 5. Vesihomeen kylvetyksissä käytettyjen aineiden pitoisuudet ja yksikköhinnat vuoden 2000 hintatasossa.**

Aine	Pitoisuus/m <sup>3</sup>	Hinta-arvio
Malakiittivihreä	0,3 g	152,00 mk/kg
Natriumperkarbonaatti	100 g	10,00 mk/kg
PerAqua	10 ml	36,00 mk/l
Pyceze	40 ml	270,00 mk/l
Vetyperoksidi (50%)	200 ml	5,00 mk/l
Formaliini	100 ml	6,50 mk/l

Kylvetykskustannukset tässä työssä tarkastelluilla kemikaaleilla vaihtelevat erittäin paljon. Seuraavissa kertakylvetyksien hintalaskelmissa on käytetty vuoden 2001 hintoja, joilla Pycezen käyttö tulee maksamaan yli 150 kertaa malakiittivihreän käyttökustannuksen (kuva 8). Vuonna 2002 toteutunut Pycezen hinnan nousu noin kaksinkertaiseksi nostaa kylvetykskustannuksen yli 300-kertaiseksi malakiittiin verrattuna. Hinta tekee aineesta taloudellisesti mahdottoman käyttää elävän kalan hoitokylvetyksissä. Myös natriumperkarbonaatin kertakylvetykskustannukset muodostuvat liian suuriksi taloudellista käyttöä ajatellen. Vetyperoksidikylvytys maksaa 500 m<sup>3</sup>:n altaassa n. 750 mk/kerta.



**Kuva 8. Kertakylvetyskustannus erikokoisissa maalammikoissa.**

Kylvetyskustannusten nousu malakiitille vaihtoehtoisilla kemikaaleilla on merkittävän suuri. Suurten kustannusten ja huonomman hoitotehon vaikutukset ovat erittäin merkittäviä sekä viljelyelinkeinojen tuotantorakenteeseen että kalavesien hoitoon tarkoitettujen kalojen istutuksiin.

## Kirjallisuus

Fitzpatrick, M.S., Schreck, C.B. & Chitwood, R.B. 1995. Evaluation of three candidate fungicides for treatment of adult spring chinook salmon. *The Progressive Fish-Culturist* 57:153-155.

Hjelme, U. 2001. HCI-Nordic. Kirjallinen tiedonanto.

Leinonen, T. 1999. Hoitotoimien ja allashydrauliikan vaikutuksista vesihomeen esiintymiseen Laukaan ja Kainuun kalanviljelylaitoksissa. Toimittanut Leinonen, T. Kalaja riistaraportteja nro 144. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. 19 s.

Leinonen, T., Korhonen, P. & Säkki, S. 1998. Altaiden kattamisen ja vedenlaadun vaikutus vesihomeen esiintymiseen ja kalojen kuolleisuuteen. Kalatutkimuksia – Fiskundersökningar 142. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. 26 s.

Pylkkö, P. & Vennerström, P. 2000. Vesihomeitiöiden lukumäärät ja vesihometartunnat Laukaan, Kainuun ja Taivalkosken kalanviljelylaitoksissa. Kala- ja riistaraportteja 194. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. 50 s.

## Vesihomeen torjunta ravun mädin haudonnassa

Anna Alaranta<sup>1</sup>, Jaakko Haverinen<sup>1</sup> ja Päivi Eskelinen<sup>2</sup>

1) Kuopion yliopisto, Soveltavan biotekniikan instituutti, PL 1627, 70211 Kuopio

2) Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Laukaan kalantutkimus ja vesiviljely, Vilpulantie 415, 41360 Valkola

# 1. Johdanto

Vesihomesienen ohuita vaaleita sienirihmoja esiintyy ravuissa yleensä kuoren vauriokohdissa. Ravunviljelyssä vesihome voi tuhota myös munia ja pikkupoikasja. Se infektoi ensisijaisesti kuolleita munia, ja ellei niitä poisteta, home leviää myös eläviin muniin. Voimakas tartunta voi levitessään tappaa emoravunkin.

Ravun tuotantokierron tehostamiseksi voidaan käyttää aikaistettua haudontaa, jossa veden lämpötilaa on nostettu luonnonmukaisesta lämpötilasta. Aikaistetulla haudonnalla voidaan munien kehitystä lyhentää 9 kuukaudesta jopa 4 kuukauteen, mikä mahdollistaa ravun tuotannon ympäri vuoden (Cukerzis *et al.* 1979). Munat voidaan haudota joko emon pyrston alla tai erillään emoista irrotettuina erillisellä alustalla. Tavallisesti aikaistetussa haudonnassa munat haudotaan erillään tätä varten kehitetyssä haudontalaitteessa. Haudontalaitteeseen munat jatkuvasti liikkeessä. Koska vedessä on aina vesihomeitiöitä, kuolleet munat haudontalaitteessa voivat homehtua. Homeinfektioita voidaan estää poistamalla haudonnasta huonot mätierät, jossain määrin tehostetulla hygienialla ja kylvettämällä munia homeentorjuntaan sopivilla kemikaaleilla (Järvenpää *et al.* 1996).

Ravun, kuten kalojenkin, mädin haudonnan vesihometorjuntaan on perinteisesti käytetty malakiittivihreää. Kun malakiittia ei enää ole käytettävissä, on löydettävä muita kylvetysaineita ravun munille.

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää Pycezen, Eugenolin ja P3-Oxonia Aktivin tehoa vesihomeen torjunnassa haudottaessa täpläravun (*Pacifastacus leniusculus*) munia ja verrata torjuntatehoa malakiittivihreällä saatavaan haudontatulokseen.

## 2. Aineisto ja menetelmät

### 2.1. Tutkitut uudet kylvetysaineet

**Pyceze** on bronopolia (2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol) vaikuttavana aineena sisältävä yhdiste, joka on hyväksytty malakiittivihreää korvaavaksi aineeksi kalojen mädin haudonnassa. Pyceze on todettu sopivaksi lohikalojen mädin hometorjuntaan (Pottinger ja Day 1999). Pycezestä oli tehty esikoe (Alaranta ja Haverinen 2001), jossa todettiin kirjolohen mädille käytettyjen kylvetyspitoisuuksien olevan sopivia myös ravun (*Astacus astacus*) mädille. Pyceze tehoi vesihomeeseen, mutta malakiittivihreän käyttöön verrattuna ravun munat kuolivat herkemmin bakteeri-infektioihin. Pycezeä käytettiin pitoisuuksina 100-200 mg/l bronopolia.

**Eugenolin** eli neilikkaöljyn (4-allyl-2-methoxyphenol) on todettu ehkäisevän ja tuhoavan vesihomesieniä. Se on lohikaloille myrkyllistä mutta mahdollista käytettäväksi särkikaloilla (Hussein *et al.* 2000). Eugenol liukenee huonosti veteen, liuottimena käytettiin 10 %:sta dimetyylisulfoksidia (DMSO). Neilikkaöljyn liuottimena voi käyttää myös alkoholia ja sitä on käytetty myös kalojen nukuttamiseen.

**P3-Oxonia Aktiv** on peretikkahappoa sisältävä vetyperoksidivalmiste, jota käytetään kalanviljelyssä pintojen ja välineiden desinfiointiaineena. Sitä on kokeiltu kirjolohen mädin hometorjuntaan (Eskelinen *et al.* 2003) ja vastaavaa toista valmistetta kalojen vesihometartunnan hoitoon (Lankinen ja Halttunen 2003). Vetyperoksidin soveltavuudesta kalojen mädin homeen estoon on lukuisia tutkimuksia.

## 2.2. Kylvetyskokeet

Kylvetyskokeeseen otettiin 18 täpläräpunaaraan mäti. Jokaisella emoravuista oli runsaasti hyvälaatuista, silmämääräisesti tervettä mätiä, joka irrotettiin emoista pinseteilä, yhdistettiin ja jaettiin 55 kuppiin haudontalaitteessa siten, että jokaiseen kuppiin tuli 50 munaa. Kylvetyskokeet aloitettiin 20.4.2001 ja lopetettiin 28.5.2001, kun mädistä kuoriutuneet ravunpoikaset olivat kehittyneet toisen asteen poikasiksi.

Haudontakupit jaettiin kylvetysryhmiin arpomalla. Kupit sijoitettiin numerojärjestyksessä haudontalaitteen tuloveden puoleiseen päähän. Haudontavetenä käytettiin syvänteestä johdettua vähähumuksisista järvivettä. Veden lämpötila oli kokeen alussa noin 6 °C. Lämpötila nostettiin kokeen alettua niin, että se oli 10 vuorokauden kuluessa noin 14 °C, jossa se pidettiin kokeen loppuun eli poikasten kuoriutumiseen saakka.

Kylvetyskokeessa oli 11 koeryhmää. Pycezeä, Eugenolia ja P3 Oxonia Aktivia käytettiin kolmena eri pitoisuutena, malakiittivihreää yhtenä pitoisuutena ja kontrollina oli kylvettämätön ryhmä. Jokaisessa ryhmässä oli viisi rinnakkaista haudontakuppia. Pitoisuudet ja kylvetysajat on esitetty taulukossa 1. Kaikkien koeryhmien mätierät huuhdottiin kylvetyksen jälkeen puolen minuutin ajan puhtaalla vedellä.

**Taulukko 1. Kylvetysaineet, pitoisuudet ja kylvetysten kesto.**

Kylvetysaine	Kesto	Pitoisuus 1	Pitoisuus 2	Pitoisuus 3
Pyceze	30 min	100 mg/l	150 mg/l	200 mg/l
Eugenol	10 min	500 µg/l	2000 µg/l	3000 µg/l
P3 Oxonia Aktiv	30 min	20 mg/l	75 mg/l	150 mg/l
Malakiitti	20 s	5 ppm		
Kontrolli	30 min			

Kylvetykset suoritettiin nostamalla haudontakupit haudontalaitteesta erilliseen haudontaveden lämpöistä kylvetysliuosta sisältävään astiaan. Kuppeja heiluteltiin koko kylvetyksen ajan. Käsittelyn jälkeen munat huuhdeltiin haudonnassa käytetyllä vedellä. Koska haudontalaitteessa oli meneillään myös malakiitilla tehtävä rutiinikylvetys, koeryhmien kupit nostettiin rutiinikylvetyksen ajaksi muovilaatikkoon, johon niille oli tehty pidikkeet. Laatikon läpi ohjattiin virtaamaan haudontalaitteen tulovettä. Kylvetykset suoritettiin kokeen alussa kaksi kertaa viikossa. Kahden viikon kuluttua kokeen aloituksesta munat kylvetettiin kerran viikossa. Kylvetyksiä jatkettiin, kunnes munat olivat kuoriutuneet.

Munat tarkastettiin kylvetyksien yhteydessä ja homehtuneet munat laskettiin ja otettiin talteen. Homehtuneet munat säilöttiin eppendorf-putkiin 75 %:seen alkoholiin. Mikroskoipimalla varmistettiin, että munien pinnalla kasvoi vesihometta. Näiden tulosten perusteella määritettiin homehtumisprosentti. Kokeen lopetuksessa myös kuolleet munat laskettiin. Kuolleiksi muniksi määritettiin munat, jotka olivat muuttuneet vaaleiksi, mutta eivät olleet homerihmaston peitossa. Kuoriutumisprosentti laskettiin elävistä toisen asteen poikasista (100 x (kuoriutuneet 2. asteen poikaset/kaikki kokeeseen otetut munat)). Koska haudontakupissa oli munia monesta emosta, poikasten kehittyminen yhden kupin sisällä tapahtui eri aikaan, joten oli mahdotonta laskea kuoriutumisprosentti 1. asteen poikasista. Lisäksi laskettiin kuolleitten poikasten määrä, kuoriutumattomien munien määrä kokeen lopussa ja munien hävikki kokeen aikana. Hävikillä tarkoitetaan kokeen aikana haudontaveteen hajonneita munia.

Kylvetysaineiden eri pitoisuuksien, malakiittivihreäkäsittelyn ja kontrolliryhmän haudontatulosten eroja testattiin kuoriutumistuloksen, kuoriutumattomien munien osuuden, munien ja poikasten kuolleisuuden, homehtuneiden munien ja hävikin arcsinmuunnettujen prosenttiarvojen varianssianalyysillä. Kylvetysaineita verrattiin toisiinsa käyttämällä kaikkien pitoisuuksien tuloksia. Varianssianalyysin tulosta tarkasteltiin parittaisella Bonferroni-testillä.

### 3. Tulokset

#### 3.1. Eri kylvetysaineiden pitoisuudet

Pyceze-kylvetyksissä eri pitoisuuksien, malakiitilla kylvettyjen ja kontrolliryhmän välillä ei ollut tilastollista eroa kuoriutumisprosentissa, kuolleiden munien tai poikasten määrässä, homehtumisprosentissa, kuoriutumattomien munien määrässä tai muni- en hävikissä (taulukko 2).

**Taulukko 2. Haudontatulokset Pycezellä kylvetyissä ryhmissä, suluissa keskihajonta.**

Pyceze-pitoisuus mg/l	100	150	200
Kuoriutuminen %	82,0 (3,16)	78,0 (5,48)	81,0 (6,22)
Kuolleet munat %	3,2 (1,79)	5,6 (2,61)	3,5 (3,00)
Kuolleet poikaset %	2,8 (4,38)	1,6 (1,67)	1,5 (3,00)
Homehtuneet munat %	1,2 (1,10)	1,6 (0,89)	1,5 (1,94)
Kuoriutumattomat munat %	7,6 (2,61)	7,6 (3,25)	8,0 (2,83)
Hävikki %	3,2 (4,15)	5,6 (1,79)	4,5 (5,26)

Eugenolin eri pitoisuuksilla kylvetyistä munista ei kuoriutunut yhtään poikasta. Kaikissa pitoisuuksissa yli 80 % munista kuoli ja hyvin suuri osa hajosi haudontaveteen (taulukko 3). Malakiittikylvetyksiin ja kontrolliin verrattuna erot kuoriutumistuloksessa, kuolleitten munien määrässä ja hävikissä ovat luonnollisesti merkitseviä.

**Taulukko 3. Haudontatulokset Eugenolilla kylvetyissä ryhmissä, suluissa keskihajonta.**

Eugenol-pitoisuus µg/l	500	2000	3000
Kuoriutuminen %	0	0	0
Kuolleet munat %	34,0 (9,70)	28,0 (17,38)	26,8 (5,93)
Kuolleet poikaset %	-	-	-
Homehtuneet munat %	1,6 (0,89)	1,2 (1,79)	2,0 (3,46)
Kuoriutumattomat munat %	10,0 (3,16)	12,0 (5,10)	13,6 (6,84)
Hävikki %	54,4 (9,94)	58,8 (19,98)	57,6 (11,08)

P3 Oxonia Aktivilla kylvetyksissä eri pitoisuuksien, malakiittivihreällä kylvetettyjen ja kontrolliryhmien välillä ei ollut tilastollista eroa kuoriutumisprosentissa, kuolleiden munien tai poikasten määrässä, homehtumisprosentissa, kuoriutumattomien munien määrässä tai munien hävikissä (taulukko 4).

**Taulukko 4. Haudontatulokset P3 Oxonia aktivilla kylvetetyissä ryhmissä, suluissa keskiarvoja.**

P3 Oxonia Aktiv-pitoisuus mg/l	20	75	150
Kuoriutuminen %	80,4 (5,37)	78,0 (3,16)	79,4 (4,77)
Kuolleet munat %	3,6 (4,10)	3,6 (2,16)	2,4 (1,67)
Kuolleet poikaset %	2,0 (4,47)	4,8 (1,10)	4,4 (4,56)
Homehtuneet munat %	0,8 (1,79)	1,2 (1,10)	1,6 (0,89)
Kuoriutumattomat munat %	8,4 (4,43)	8,0 (3,74)	8,0 (4,00)
Hävikki %	4,8 (1,79)	4,4 (3,58)	4,0 (3,16)

### 3.2. Kylvetyksineiden välinen vertailu

Kylvetyksineiden eri pitoisuudet käsiteltiin yhdessä, koska pitoisuuksien välillä ei ollut eroa millään kylvetyksineellä. Taulukossa 5 on koottuna eri kylvetyksineiden ja vertailun haudontatulokset. Homehtuneiden munien määrä vertailuryhmässä oli suurempi kuin kylvetyksineissä, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Erot kuoriutumisprosentissa Pyceze-, P3 Oxonia Aktiv-, malakiitti- ja vertailuryhmien välillä eivät olleet tilastollisesti merkitseviä.

**Taulukko 5. Haudontatulokset tutkituilla kylvetyksineillä kaikkien pitoisuuksien keskiarvona ja malakiittivihreä- ja kontrolliryhmissä.**

	Vertailu	Malakiitti	Pyceze	Eugenol	P3 Oxonia Aktiv
Kuoriutuneet %	79,6	81,6	80,3	0	79,3
Kuolleet munat %	0,4	2,8	4,1	29,6	3,2
Kuolleet poikaset %	5,6	4,0	2,0	-	3,7
Homehtuneet %	2,0	0,8	1,4	1,6	1,2
Kuoriutumattomat %	7,6	7,2	7,7	11,9	8,1
Hävikki %	4,8	3,6	4,4	56,9	4,4



## 4. Tulosten tarkastelu

Pyceze-kylvetysainetta käytettiin kokeessa kolmena eri pitoisuutena, jotka kaikki olivat kalojen haudonnassa saatujen kokemusten perusteella (Pottinger ja Day 1999, Eskelinen *et al.* 2003) periaatteessa soveltuvia haudonnan aikaiseen hometorjuntaan. Näiden kolmen pitoisuuden välillä ei ollut merkitseviä eroja missään haudontatulokseen vaikuttavassa tekijässä: kuoriutumistuloksessa, kuolleitten munien ja poikasten määrissä, homehtuneiden ja kuoriutumattomien munien määrässä tai munien hävikissä. P3 Oxonia Aktiv-kylvetyksissä ei myöskään syntynyt eroja pitoisuuksien välille. Toksisia tai kokonaan vaikuttamattomia pitoisuuksia ei kokeessa ollut tarkoitukseen etsiä, ja saadun tuloksen perusteella kaikki näiden kylvetysaineiden tutkitut pitoisuudet ovat sopivia ravun mädin käsittelyyn.

Vertailuryhmän haudontatulos ei eronnut tilastollisesti merkitsevästi malakiittivihreällä, Pycezellä ja P3 Oxonia Aktivilla kylvettyjen ryhmien tuloksesta. Koska kokeeseen valittiin normaalin ravunviljelykäytännön mukaan laadultaan sellaista mätää, josta on edellytykset saada hyvälaatuisia poikasia ja koeaika oli varsin lyhyt, 39 vrk, homehtuminen haudontakupeissa oli vähäistä. Silmämääräisesti hyvälaatuisien munien kuoriutumistulos on havaittu hyväksi (Grönberg 1997). Kokeessa ei saatu varmuutta Pycezen ja P3 Oxonia Aktivin hometorjuntatehosta malakiittin verrattuna, koska Eugenolia lukuun ottamatta kaikkien koeryhmien haudontatulos oli hyvä eikä tilastollisia eroja aineiden välillä ollut.

Eugenol liuotettuna dimetyylisulfoksidiin osoittautui sopimattomaksi ravun munien hometorjuntaan, koska yhtään poikasta ei kuoriutunut. Syynä voi olla paitsi Eugenolin myrkyllisyys ravun munille, myös liuottimena käytetyn DMSO:n ominaisuus tuottaa voimakkaasti lämpöä veden kanssa reagoidessa. Muihin liuottimiin liuotetun neilikkaöljyn soveltuvuus ravun munien hometorjuntaan kannattaisi selvittää.

## 5. Kirjallisuus

- Alaranta, A. & Haverinen, J. 2001. Pycezestä malakiitin korvaava kylvetysaine vesihometorjuntaan ravun (*Astacus astacus*) munien haudonnassa haudontalaitteella? Projektityö, Kuopion yliopisto, Soveltavan biotekniikan instituutti.
- Cukerzis, J.M., Shestokas, J. & Terentyev, A.L. 1979. Method for artificial breeding of crayfish juveniles. *Freshwater Crayfish* 4: 452-458.
- Eskelinen, P., Pykkö, P. & Kontinen, E. 2003. Malakiitin vaihtoehdot haudonnassa. Tämä nide.
- Grönberg, M. 1997. Bakteerien ja sienten torjunta täpläravun keinohaudonnassa. Pro gradu-tutkielma. Helsingin yliopisto, Hydrobiologian osasto. 63 s.
- Hussein, M.M.A., Wada, S., Hatai, K. & Yamamoto, A. 2000. Antimycotic activity of Eugenol against selected water molds. *J. Aquat. Anim. Health* 12: 224-229.
- Järvenpää, T., Tulonen, J., Erkamo, E., Savolainen, R. & Setälä, J. 1996. Ravunviljely – menetelmät ja kannattavuus. RKTL, Helsinki. 111 s.
- Lankinen, Y. & Halttunen, A. 2003. Malakiitin vaihtoehdot kalojen vesihomeen torjuntakylvetyksissä. Tämä nide.
- Pottinger, T.G. & Day, J.G. 1999. A *Saprolegnia parasitica* challenge system for rainbow trout: assessment of Pyceze as an anti-fungal agent for both fish and ova. *Dis. Aquat. Org.* 36: 129-141.

Päivi Eskelinen (toim.)

**Vesihome kalanviljelyn vaivana Onko taudin torjuntaan menetelmiä?**

Tutkimusraportti

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos

Viljeltyjen lohikalujen vesihometartunnan ennaltaehkäisy ja hoito, 313131

Vesihometartuntoja ovat meillä tavallisimmin aiheuttaneet *Saprolegnia* –suvun sienet. Kalojen vesihometartunnan haitat kalanviljelylle ovat viime vuosina olleet suuria. Mädin haudonnassa vesihome kasvaa kuolleitten mätimunien pinnalla ja levittäytyy ilman torjuntaa helposti myös elävään mätiin. Vesihometta on varsinkin haudonnassa perinteisesti torjuttu malakiittivihreäkylvetyksillä. Malakiittivihreän käyttö kalanviljelyssä kuitenkin kiellettiin vuonna 2001 sen karsinogeenisten vaikutusten takia, mistä syystä korvaavia hoitomenetelmiä ja –kemikaaleja on pyritty löytämään.

Tämän raportin artikkelit tarkastelevat vesihometartuntaa monelta kannalta. Raportissa kuvataan, millainen tautitila vesihometartunta nykytietämyksen valossa on. Vesihomesientien genotyyppityksen avulla on löydetty Suomessa yleinen hyvin taudinaiheutuskykyinen vesihomeklooni. Malakiittivihreää korvaavaksi hometorjuntakemikaaliksi haudonnassa on hyväksytty bronopolihdiste Pyceze. Sen ja eräiden muiden kemikaalien tehoa sekä kalojen että ravun mädin homehtumisen estäjänä selvitettiin haudontakokein. Raportissa on myös selvitetty kylvetyksineiden käyttökelpoisuutta kalojen vesihometartunnan hoidossa sekä hometartunnan hoitotehon että hoidosta aiheutuvien kustannusten kannalta.

Vesihome, *Saprolegnia* sp., Pyceze, malakiittivihreä, vetyperoksidi, haudonta, kylvetykset

Kalatutkimuksia – Fiskundersökningar 188

951-776-408-1

0787-8478

56 s.

Suomi

13 €

Julkinen

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos

Asiakaspalvelu ja myynti

Pukinmäenaukio 4, PL 6

00720 Helsinki

Puh. 0205 751 399 Faksi 0205 751 201

julkaisumyynti@rktl.fi

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos

PL 6

00721 Helsinki

Puh. 0205 7511 Fax 0205 751201

---

*Utgivare*

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet

*Utgivningsdatum*November 2003

---

*Författare*Päivi Eskelinen (red.)

---

*Publikationens namn*Vattenmögel som problem i fiskodling. Finns metoder för bekämpning?

---

*Typ av publikation*

Rapport

*Uppdragsgivare*

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet

*Datum för uppdragsgivandet*

---

*Projektnamn och -nummer*Förebyggande åtgärder för och vård av svampangrepp på odlade laxfiskar, 313131

---

*Referat*

Hos oss är svampar som hör till släktet *Saprolegnia* den vanligaste orsaken till vattensvampangrepp. Svampangreppen har under de senaste åren förosakat stora skador för fiskodlingarna. Svampen växer också på döda romkorn under den tid rommen inkuberas och sprider sig utan bekämpning lätt också till levande romkorn. Vattensvampen har traditionellt bekämpats med bad i malakitgrönt, speciellt under rommens inkubationstid. På grund av dess karcinogena effekt förbjöds malakitgrönt år 2001, varför man har försökt finna ersättande metoder och kemikalier.

Artiklarna i den här rapporten behandlar svampangrepp ur många olika synvinklar. I rapporten beskriver man med den kunskap man har nu hurdan sjukdomstillstånd vattensvampen orsakar. Med hjälp av en bestämning av vattensvampens genotyp har man hittat en allmän sjukdomsalstrande vattensvampklon i Finland. Bronopolföreningen Pyceze har godkänts som en ersättande kemikalie för malakitgrönt i bekämpningen. Dess effekt, samt några andra kemikaliers effekt, som sjukdomsförhindrare på fisk- och kräftrom undersöktes med försök. I rapporten har man också utrett ändamålsenligheten av de ämnen man använder i bad vid behandlingen av svampangrepp på fisk, både med tanke på effekten av behandlingen och med tanke på kostnaderna.

---

*Nyckelord*Vattensvamp, *Saprolegnia* sp., Pyceze, malakitgrönt, väteperoxid, badning, inkubering

---

*Seriens namn och nummer*

Kalatutkimuksia – Fiskundersökningar 188

*ISBN*

951-776-408-1

*ISSN*0787-8478

---

*Sidoantal*

56 s.

*Språk*

Finska

*Pris*

13 €

*Sekretessgrad*Offentlig

---

*Försäljning*

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet  
Kundbetjäning och försäljning  
Bocksbackaplanen 4, PB 6  
00721 Helsingfors  
Tel. 0205 751 399 Fax 0205 751 201  
julkaisumyynti@rktl.fi

*Förlag*

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet  
PB 6  
00721 Helsingfors  
Tel. 0205 7511 Fax 0205 751201

---

---

*Published by*

Finnish Game and Fisheries Research Institute

*Date of Publication*November 2003

---

*Author(s)*Päivi Eskelinen (ed.)

---

*Title of Publication***Saprolegniosis in aquaculture**

---

*Type of Publication*

Research report

*Commissioned by*

Finnish Game and Fisheries Research Institute

*Date of Research Contract*

---

*Title and Number of Project*Prevention and control of saprolegniosis in cultured salmonids, 313131

---

*Abstract*

Mycotic infections of farmed fish caused by *Saprolegnia* sp. aquatic fungi had represented significant economic and welfare problem during last years. In hatcheries dead eggs are also susceptible to fungal infections and without fungicide treatment, also live eggs may be infected. Malachite green has long been employed as an effective fungicide, but the carcinogenicity of malachite green has led to restrictions on its use in 2001. Therefore there has been large efforts to find a new therapeutant and better culture methods.

The articles in this publication approach saprolegniosis on many sides. The characteristics of saprolegniosis is considered. In genetical characterisation a prevalence of a single highly pathogenic *Saprolegnia* sp. clone in Finland was found. Pyceze, a compound containg bronopol is accepted to alternative treatment to malachite green for salmonid eggs. The antimycotical activity of Pyceze and several other chemicals in incubation of salmonid and crayfish eggs are compared to malachite green. The efficiency of therapeutic chemicals against fish saprolegniosis and the cost estimates of treatments are described.

*Key words*Aquatic fungi, *Saprolegnia* sp., Pyceze, malachite green, hydrogen peroxide, incubation, bath

---

*Series (key title and no.)*

Kalatutkimuksia – Fiskundersökningar 188

*ISBN*

951-776-408-1

*ISSN*0787-8478

---

*Pages*

56 p.

*Language*

Finnish

*Price*

€ 13

*Confidentiality*Public

---

*Distributed by*

Oy Edita Ab  
Book-shop  
Annankatu 44  
FIN-00100 Helsinki, Finland  
Phone +358 0 566 0566 Fax +358 0 566 0570

*Publisher*

Finnish Game and Fisheries Research Institute  
P.O.Box 6  
FIN-00721 Helsinki, Finland  
Phone +358 205 7511 Fax +358 205 7511

---

## Kiitokset

Parhaimmat kiitokset Marja Pasternackille, Satu Viljamaa-Dirksille ja Paula Henttoselle tämän niteen käsikirjoitusten kommentoinnista, Riitta Savolaiselle ja Risto Kantteleelle avusta rapu- ja saavihaudontakokeiden suunnittelussa sekä Maija Pelliselle, Jukka Bombergille ja Ari Leinoselle osallistumisesta haudontakokeiden hoitoon.

# KALATUTKIMUKSIA – FISKUNDERSÖKNINGAR

## Aiemmin ilmestyneitä julkaisuja

**187.** TOIVONEN, A.-L., MIKKOLA, J., SALMI, P., SALMI, J.

Vapaa-ajankalastuksen monet merkitykset. (Det mångfacetterade fritidsfisket) (Multiple dimensions of recreational fisheries). 30 s. Helsinki 2003.

**186.** ERKINARO, J., MÄKI-PETÄYS, A., JUNTUNEN, K., ROMAkkANIEMI, A., JOKIKOKKO, E., IKONEN, E., HUHMARNIEMI, A.

Itämeren lohikantojen elvytysohjelma SAP vuosina 1997 – 2002. (Vitaliseringsprogrammet för laxstammarna i Östersjön SAP åren 1997-2002) (The Baltic Salmon Action Plan in Finland, 1997-2002). 31 s. Helsinki 20003.

**185.** KREIVI, P., SIIRA, A., IKONEN, E., SUURONEN, P., HELLE, E., RIIKONEN, R., LEHTONEN, E.

Hylkeen aiheuttamat saalistappiot ja pyydysvahingot lohiryssäkalastuksessa vuonna 2001. (Fångstförluster och redskapsskador förorsakade av säl i fisket med laxryssjor år 2001) (Seal-induced damage to salmon trap net fishery in the year 2001). 20 s. Helsinki 2002.

**184.** SIIRA, A., IKONEN, E., SUURONEN, P., RIIKONEN, R., LEHTONEN, E.

Lohen eloonjäänti rysästä vapauttamisen jälkeen. (Laxarnas överlevnad sedan de släppts ur ryssjan) (Survival of trap net-caught and live-released salmon in the Gulf of Bothnia in Baltic Sea). 24 s. Helsinki 2002.

**183.**

Vesialueiden omistus ja alueellinen hallinnointi. Muje, K., Tonder, M. (toim.). (Vattenägande och regional förvaltning) (Ownership of water and regional management). 119 s. Helsinki 2002.

**182.**

Meritaimenen tila ja kalastus Pohjanlahden alueella. Kallio-Nyberg, I., Jutila, E. & Saura, A. (toim.). (Havsöringens tillstånd och havsöringsfisket i Bottniska viken) (The status and fishing of sea trout in the Gulf of Bothnia area). 69 s. Helsinki 2002.

**181.** ESKELINEN, P., PIIRONEN, J., PRIMMER, C.

Selviävätkö kaikki lohiperheet yhtä hyvin alkukasvatuksen aikana? (Klarar sig alla laxfamiljer lika bra i början av uppfödningen?) (Do all salmon families manage equally during the early culture stages?). 32 s. Helsinki 2002.

**180.** HUHMARNIEMI, A., ARONSUU, K.

Kalajoen vaellussiika – lisääntymisongelmia ja istukkaiden liikapyyntiä. (Vandringssiken i Kalajoki – reproduktionsproblem och en alltför intensivt fångst av utplanterad fisk) (Whitefish of the River Kalajoki – Problems with natural production and with overfishing of stocked fish). 32 s. Helsinki 2001.

**179.** NIVA T.

Perämeren ja sen jokien lohi-istutusten tuloksellisuus vuosina 1959-1999. (Utbytet av laxutsättningarna i Bottenviken och dess älvar åren 1959-1999) (Results of salmon smolt releases in the Bothnian Bay from 1959-1999). 67 s. Helsinki 2001.

**178.** PENNANEN, J. T.

Toutaimen istutukset ja niiden tulokset. (Utsättningar av asp och deras resultat) (Releases of asp and their results). 55 s. Helsinki 2001.

**177.** Paikallinen tieto, asiantuntijuus ja vuorovaikutus kalavesien hallinnassa. Salmi, P. (toim.)

(Lokal kunskap, sakkunskap och samverkan vid administration av fiskevatten) (Local knowledge, expert knowledge and communication in fisheries governance). 115 s. Helsinki 2001.

**176.** NIEMELÄ, E., ERKINARO, J., KYLMÄÄHO, M., JULKUNEN, M., MOEN, K.

Näätämojoen lohen poikastiheys ja kasvu. (Yngeltäthet och tillväxt hos laxen i Näätämojoki) (The density and growth of juvenile salmon in the River Näätämojoki). 27.s. Helsinki 2001.

**175.** SAURA, A.

Taimenkantojen tila Suomenlahden pohjoisrannikon joissa. (Öringsbeståndens tillstånd i åar och älvar längs Finska vikens norra kust) (Sea trout stocks in the rivers flowing from the northern coast into the Gulf of Finland). 48 s. Helsinki 2001.

**174.** KOIVURINTA, M., VÄHÄNÄKKI, P., SAURA, A.

Meritaimen ja sen kalastus itäisellä Suomenlahdella 1990-luvulla. (Havsöring och havsöringsfiske i östra Finska viken på 1990-talet) (Stocking results of sea trout in the eastern Gulf of Finland). 24 s. Helsinki 2001.

**173. KALLIO-NYBERG, I., KOLJONEN, M.-L., JUTILA, E.**

Taimenatlas. (Öringsatlas) (Atlas of brown trout stocks). 57 s. Helsinki 2001.

**172. LÖNNSTRÖM, L.-G., RAHKONEN, R., GRÖNDAHL, A., PASTERNAK, M., LUNDÉN, T., KOSKELA, J., BYLUND, G.**

Siian rokotus paistetutia ja vibrioosia vastaan. (Vaccinering av sik mot furunkulos och vibrios) (Vaccination against vibriosis and furunculosis in whitefish, *Coregonus lavaretus* (L.)). 15 s. Helsinki 2001

**171. KOSKELA, J., RAHKONEN, R., FORSMAN, L., NORRDAHL, O., LÖNNSTRÖM, L.-G.**

Siika ruokakalanviljelyssä – kahden siikakannan ja kantaristeytymän vertailu. (Sik i matfiskodling – en jämförelse mellan två sikstammar och deras hybrider) (Whitefish in aquaculture: comparison of two stocks and their hybrids). 24 s. Helsinki 2001.

**170. PARMANNE, R.**

Silakan poikasten runsaus Suomen rannikolla vuosina 1974-1996. (Tätheten av strömmingsyngel vid Finlands kuster åren 1974-1996) (Abundance of Baltic herring larvae off the coast of Finland in 1974 – 1996). 44 s. Helsinki 2001.

**169. MIKKOLA, J., LAAMANEN, M., JUTILA, E.**

Kymijoen vaelluskalat ja kalastus 1990-luvulla. (Kymmene älvs vandringsfiskar och fisket under 1990-talet) (Migratory fish of the Kymijoki river and their fishing in the 1990s). 44 s. Helsinki 2000.

**168. LAPPAINEN, A.**

Sisävesikalastus muuttuvassa yhteiskunnassa. (Insjöfisket i ett föränderligt samhälle) (Inland Fishing in a Changing Society). 38 s. Helsinki 2000.

**167. KOLARI, I., AUVINEN, H., HIRVONEN, E.**

Kalastus Puruvedellä vuosina 1979-1995. (Fisket i Puruvesi åren 1979-1995) (Fishing in Lake Puruvesi in 1979-1995). 25 s. Helsinki 2000.

**166. MÄKI-PETÄYS, A., HUUSKO, A., KREIVI, P.**

Järvilohen poikasten elinympäristövaatimukset kesällä ja syksyllä. (Insjöläxnglens krav på sin livsmiljö under sommar och höst) (Summer and autumn habitat requirements and the habitat use of young landlocked salmon (*Salmo salar m. lacustris*)). 15 s. Helsinki 2000.

**165. KEINÄNEN, M., TOLONEN, T., IKONEN, E., PARMANNE, R., TIGERSTEDT, C., RYTI LAHTI, J., SOIVIO, A., VUORINEN P.J.**

Itämeren lohen lisääntymishäiriö – M74. (Östersjöläxens reproduktionsstörning – M74) (Reproduction disorder of Baltic salmon – M74). 38 s. Helsinki 2000.

**164. KOIVURINTA, M., SYDÄNOJA, A., MARJOMÄKI, T., HELMINEN, H., VALKEAJÄRVI, P.**

Taimenen ja järvilohen ravinto ja kasvu Puulassa, Päijänteessä, Konnevedessä ja Säkylän Pyhäjärvässä vuosina 1995-1996. (Öringens och insjöläxens föda och tillväxt i Puula, Päijänne, Konnevesi och Säkylän Pyhäjärvi åren 1995-1996) (Diet and growth of brown trout and landlocked salmon in lakes Puula, Päijänne, Konnevesi (central Finland) and Pyhäjärvi (SW Finland) from 1995-1996). 32 s. Helsinki 2000.

**163. KOLARI, I., HIRVONEN, E., FRIMAN, T.**

Nieräätutusten tuloksellisuus Puruvedessä. (Utbytet av rödingsutsättningarna i Puruvesi) (The stocking results of Arctic charr in Lake Puruvesi). 42 s. Helsinki 1999.

**162. Ahvenen ravinto Puruvedessä. Vuorimies, O. (toim.).** (Abborrens föda i Puruvesi) (The food of perch in Lake Puruvesi). 44s.

Helsinki 1999.

**161. VALKEAJÄRVI, P.**

Päijänteen säännöstelyn vaikutus siikakantaan. (Inverkan av Päijännes reglering på sikbeståndet) (Effect of water level regulation on the whitefish stock in Lake Päijänne). 34 s. Helsinki 1999.

**160. SIIRA, A., HUUSKO, A., KORHONEN, P.**

Taimenistutusten vaikutus vaikutus Kitkajärvien muikkukantaan ja kalansaaliiseen. (Inverkan av öringutsättningarna på beståndet av siklöja och på fiskfångsterna i Kitkajärvi-sjöarna) (Affects of stocking of Brown Trout on Vendace population and total catch of fish in Lake Kitkajärvi). 27 s. Helsinki 1999.

**159. PARMANNE, R.**

Silakan kudun ajoittuminen ja kutuparviin koostumus rysäkalastuksen perusteella. (Strömmingens lektider och de lekande stimmens sammansättning enligt ryssjefångster) (The spawning time and composition of spawning shoals according to trapnet fishing of Baltic herring). 41 s. Helsinki 1999.

**158.** MUTENIA, A., SALONEN, E., KOTAJÄRVI, M.

Lokan ja Porttipahdan vaellussiika – tekojärvien paikallinen arvokala. (Älvsiken i Lokka och Porttipahta - vattenmagasinens lokala värdefisk) (Whitefish: a Local Fish of Value in the Lokka and Porttipahta Reservoirs) 29. s. Helsinki 1999.

**157.** SAURA, A.

Taimenen säilyttäminen Gumbölenjoessa. (Åtgärder för att bevara öringen i Gumböleån) (Maintenance of the trout in the Gumbölenjoki River in Espoo). 19. s. Helsinki 1999.

**156.** NYKÄNEN, M., HUUSKO, A.

Harjuksen elinympäristövaatimukset virtavesissä - kirjallisuusselvitys. (Harrens miljökrav i rinnande vatten - litteraturundersökning) (Habitat requirements and habitat use of riverine European grayling (*Thymallus thymallus* (L.)) — a review). 23 s. Helsinki 1999.

**155.** Saimaan järvilohen elinolosuhteiden parantaminen. Makkonen, J. (toim.). (Hur kan förhållandena för insjöloxen i Saimen förbättras?) (Improving the living conditions for Saimaa landlocked salmon). 97 s. Helsinki 1999.

**154.** JUTILA, E., JOKIKOKKO, E., SALO, P.

Viehekalastuksen kehitys Simojoella - kalastus Simossa ja Ranualla 1994 -1997

(Utvecklingen av spöfisket i Simojoki - fisket i Simo och Ranua åren 1994 - 97) (Development of rod fishing in the Simojoki River: fishing in the municipalities of Simo and Ranua, 1994-1997). Helsinki 1999.

**153.** HEIKINHEIMO, O.

Siian kalastuksen säätely sisävesissä.

(Reglering av sikfisket i insjöområdet) (Management of the whitefish (*Coregonus lavaretus* (L.)) fishery in inland waters). 26 s. Helsinki 1999.