

*Riitta Rahkonen, Marja Pasternack,
Tarja Pohjanvirta, Päivi Pylkkö ja Jere Lindén*

**Kokeita Apoject 1-Fural
paisetautirokotteella 1993–1995**



RIISTA- JA KALATALOUDEN TUTKIMUSLAITOS

KALATUTKIMUKSIA – FISKUNDERSÖKNINGAR

No 111

1996

Kokeita Apoject 1-Fural
paisetautirokotteella 1993—1995

Riitta Rahkonen, Marja Pastemack, Tarja Pohjanvirta,
Päivi Pylkkö ja Jere Lindén

Helsinki 1996

Vastaava toimittaja: Lauri Urho

Kansi: Rokote pistetään yksilöllisesti nukutetun kalan vatsaonteloon. (Kuva: Ari Kauttu.)

Sisäsivujen kuvat: Ari Kauttu

Kirjoittajat ovat vastuussa kirjoituksensa sisällöstä, eikä se välttämättä edusta Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen virallista kantaa.

ISBN 951-776-038-8

ISSN 0787-8478

Oy Edita Ab

Helsinki 1996

Apoject 1-Fural öljypohjaisen, injektoitavan paisetautirokotteen tehoa, sivureaktioita ja vaikutusta mädintuotantoon tutkittiin meritaimenella, merilohella ja kirjolohella vuosina 1993-1995. Tehoa tutkittiin sekä altistuskokein että verikokein määrittämällä agglutinoivat vasta-aineet ja valkosolukuva. Tulosten perusteella öljypohjaisia rokotteita voi suositella käytettäväksi sekä istutuspoikas-, ruokakala- että emokalaviljelyssä. Apoject 1-Fural rokote näytti tämän tutkimuksen valossa suojaavan paisetaudilta hyvin ja haitallisia sivureaktioita todettiin vain vähän. Lihakseen rokottamista ei voida suositella, koska pistokohtaan muodostui useissa tapauksissa selvä verestävä tulehdusreaktio. Apoject 1-Fural paisetautirokotteen todettiin käynnistävän vasta-aineiden tuotannon sekä meritaimenella, merilohella että kirjolohella. Syksyllä rokotetuilla taimenilla veren vasta-aineiden määrä nousi vasta seuraavana keväänä, kun vesi alkoi lämmetä. Nousu oli kuitenkin nopeata ja vasta-ainetaso oli erittäin korkealla vielä vuosi rokotuksen jälkeen, jolloin annettiin uusintarokotus. Keväällä rokotetuilla merilohilla vasta-aineiden määrä nousi jo muutaman viikon kuluttua rokotuksesta ja nousi kesän loppua kohti. Kevätrokotukseen verrattuna syysrokotuksen etuna on se, että suoja on todennäköisesti kehittynyt jo ennen mahdollisten "tautihiikkien" esiintymistä. Tällä hetkellä ei ole tietoa siitä miten paljon vasta-aineita tulisi olla kalalla, jotta se olisi vastustuskykyinen paisetautia vastaan. Tässä kokeessa kirjolohella saatujen tulosten perusteella keväällä annetun rokotuksen jälkeen vasta-ainetaso pysyi suhteellisen korkeana kahden kesän ajan, mikä kirjolohen viljelykiertoa ajatellen on yleensä riittävä aika. Emokalaviljelyssä uusintarokotus on todennäköisesti tarpeen. Tässä tutkimuksessa vuoden välein taimenen ruumiinonteloon annettu rokotus piti vasta-ainetason korkealla, eivätkä rokotukset vaikuttaneet mädin määrään eivätkä laatuun. Kirjolohella saatujen tulosten valossa uusintarokotus saattaisi olla tarpeen kahden vuoden välein. Vatsaonteloon rokotetuilla kaloilla havaitut sivureaktiot olivat yleensä lieviä tai kohtalaisia. Jonkun verran kiinnikkeitä oli muodostunut suoliston ja vatsaontelon seinämän välillä. Lisäksi suolia ympäröivässä rasvassa esiintyi mustaa melaniinipigmenttiä, joka kuitenkin poistui perattaessa. Vain pienellä osalla (<10 %) esiintyi sellaisia muutoksia, jotka olisivat näkyneet teuraskalassa.

Paisetauti, *Aeromonas salmonicida*, rokotus, sivureaktiot, agglutinoivat vasta-aineet, valkosolut, mädintuotanto

Utgivare

Vilt- och fiskeriforskningsinstitut

Utgivningsdatum

September 1996

Författare

Riitta Rahkonen, Marja Pasternack, Tarja Pohjanvirta, Päivi Pylkkö, Jere Lindén

Publikationens namn

Försök med Apoject 1-Fural furunkulosvaccin 1993-1995

Typ av publikation

Rapport

Uppdragsgivare

Datum för uppdragsgivandet

Projektname och -nummer

Strategier för bekämpande av furunkulos (313150)

Referat

Under åren 1993-1995 undersöktes det effekterna, bieffekterna och inverkningarna på romproduktionen av det oljebaserade furunkulosvaccinet Apoject 1-Fural. Vaccinet som skall injiceras i fisken testades på havsöring, lax och regnbåge. Effekten undersöktes både genom experiment där fisken utsattes för medlet och genom bestämningar av agglutinerande antikroppar och leukocyttbildningen via blodprover. Resultaten anger att oljebaserade vacciner kan rekommenderas för användning både vid odling av utplanteringsyngel, matfisk och moderfisk. Apoject 1-Fural-vaccinet verkar att ha en god skyddseffekt mot furunkulos och medföra få skadliga bieffekter. Injicering i muskler kan inte rekommenderas eftersom det i flera fall uppstod tydliga blödande inflammationsreaktioner vid injektionsstället. Vaccinet konstaterades sätta igång produktionen av antikroppar hos alla de tre undersökta fiskarterna. Hos öringar som vaccinerades på hösten ökade antalet antikroppar först på våren, då vattnet blev varmare. Ökningen var dock snabb och antikropps-nivån var mycket hög ännu ett år efter vaccinationen då fiskarna vaccinerades på nytt. Hos laxar som vaccinerades på våren ökade antalet antikroppar redan några veckor efter vaccinationen och steg ända fram till slutet av sommaren. Det är troligen fördelaktigare att utföra vaccinering på hösten än på våren eftersom man då åstadkommer ett skydd redan innan eventuella sjukdomstoppar uppstått. För tillfället vet man inte vilken antikropps-nivå som ger motståndskraft mot furunkulos. Resultaten för regnbåge i dessa försök visar att en vaccinering på våren ger en relativt hög antikropps-nivå under de två påföljande somrarna vilket i allmänhet borde vara tillräckligt med tanke på odlingstiden. Vid odling av moderfisk blir det sannolikt nödvändigt att förnya vaccinationen. I denna undersökning gavs öringarna en gång i året en injektion i kroppshålan. Detta höll antikropps-nivån hög och påverkade varken kvaliteten eller kvantiteten hos rommen. Resultaten för regnbåge tyder på att det kunde vara nödvändigt att förnya vaccinationen med två års mellanrum. Bieffekterna hos fiskar som fick vaccinationen i kroppshålan var i allmänhet milda eller måttliga. Sammanväxningar i tarmkanalen och bukhålans väggar observerades i någon mån. I det fett som omringar tarmarna förekom svart melanin-pigment vilket dock försvann vid rensning. Bara en liten del (<10%) uppvisade förändringar som skulle ha syns i slaktade fiskar.

Nyckelord

Furunkulos, *Aeromonas salmonicida*, vaccination, bieffekter, agglutinerande antikroppar, leukocyter, romproduktion

Seriens namn och nummer

Kalatutkimuksia - Fiskundersökningar 111

ISBN

951-776-038-8

ISSN

0787-8478

Sidoantal

23 s.

Språk

finska

Pris

50 mk

Sekretessgrad

Offentlig

Försäljning

Edita-bokhandel

Annegatan 44

00100 Helsingfors

Tel. (90) 566 0566 Fax (90) 566 0570

Förlag

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet

PB 202

00151 Helsinki

Tel. (90) 228 811 Fax (90) 631 513

DOCUMENTATION PAGE

Published by
Finnish Game and Fisheries Research Institute

Date of Publication
September 1996

Author(s)
Riitta Rahkonen, Marja Pasternack, Tarja Pohjanvirta, Päivi Pylkkö, Jere Lindén

Title of Publication
Experiments with Apoject 1-Fural Furunculosis Vaccine, 1993 - 1995

Type of Publication
Report

Commissioned by

Date of Research Contract

Title and Number of Project
Strategies on the prevention of furunculosis

Abstract

The efficiency, side effects and effects on egg production of an oil-based Apoject 1-Fural, injectable furunculosis vaccine, was studied on sea trout, salmon and rainbow trout from 1993 - 1995. The efficiency was assessed by exposure experiments and by measuring the agglutinating antibodies and leucocyte level in the blood. The results indicate that oil-based vaccines are suitable in stocking fish, food fish, and brood fish culture. The protective effect of Apoject 1-Fural against furunculosis was good with few adverse side effects. Injection into the muscle is not recommended, however, due to frequent haemorrhagic inflammation at the injection site. Apoject 1-Fural induced antibody production in all studied fish species. The antibody concentration in brown trout which were injected in the autumn increased only the following spring after the water temperature had increased. The increase was very rapid, however, and the antibody level remained very high until the next injection one year later. In salmon which were injected in spring, the antibody concentration increased just after a few weeks and kept rising towards the end of summer. The benefit of injection in the autumn is that protection against disease has already developed before any disease outbreaks. At the moment, the sufficient antibody concentration needed for full protection against furunculosis is not known. Based on the experiments with rainbow trout, the antibodies were maintained at a relatively high level for two summers after the spring injection, an adequate time in terms of fish culture turnover. In brood fish culture a need for re-injection is probable. The antibody level in brown trout remained high when injected into the peritoneal cavity once a year and the injections did not affect the egg quality or quantity. A re-injection might be necessary for rainbow trout every two years. Side effects in fish which were injected into the peritoneum were minor or mostly moderate. Some adhesions were seen between the gut and wall of the peritoneal cavity. Melanin pigment was also visible in the fat tissue around the gut but it disappeared after gutting the fish. Only a small proportion of fish (< 10 %) exhibited changes which would have been evident in the food fish.

Key words

Furunculosis, *Aeromonas salmonicida*, vaccination, side effects, agglutinating antibodies, leucocytes, egg production

Series (key title and no.)

Kalatutkimuksia - Fiskundersökningar 111

ISBN

951-776-038-8

ISSN

0787-8478

Pages

23 p.

Language

Finnish

Price

50 FIM

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 202

FIN-00151 Helsinki, Finland

Phone +358 0 228 811 Fax +358 0 631 513

Sisällys

1. JOHDANTO	1
2. AINEISTO JA MENETELMÄT	3
2.1. ROKOTUS APOJECT 1-FURAL ROKOTTEELLA.....	3
2.1.1. <i>Meritaimen</i>	3
2.1.2. <i>Lohi</i>	4
2.1.3. <i>Kirjolohi</i>	4
2.2. VERINÄYTTEET	4
2.3. SIVUREAKTIOT	5
2.4. ALTISTUSKOKEET	5
2.5. MERITAIMENEN MÄDIN HEDELMÖITTYVYYS JA ELINKYKY	7
3. TULOKSET JA TARKASTELU	8
3.1. MERITAIMEN	8
3.1.1. <i>Vasta-aineet nousivat syksyllä rokotetuilla kaloilla seuraavana keväänä</i>	8
3.1.2. <i>Valkosolukuvaan vaikutti rokotus ja lämpötila</i>	9
3.1.3. <i>Voimakkaita sivureaktioita meritaimenella lihaksessa paljon, ruumiinontelossa vähän</i>	10
3.2. MERILOHI	11
3.2.1. <i>Kevätrokotuksen jälkeen vasta-aineet nousivat nopeasti</i>	11
3.2.2. <i>Valkosolukuvassa näkyvä lämpötilan merkitys</i>	12
3.2.3. <i>Sivureaktiot vähäisiä</i>	12
3.3. KIRJLOHI	13
3.3.1. <i>Agglutinoivat vasta-aineet korkealla vielä 16 kuukautta rokotuksen jälkeen</i>	13
3.3.2. <i>Rokotuksen vaikutus valkosolukuvaan jäi epäselväksi</i>	14
3.3.3. <i>Peratussa kalassa näkyviä sivureaktioita esiintyi vain vähän</i>	15
3.4. ALTISTUSKOKEET	15
3.4.1. <i>Injektiolla tehdyssä bakteeriantistuksessa hyvä tulos</i>	15
3.4.2. <i>Laukaan altistuskokeen seurantajakso liian lyhyt</i>	16
3.5. KAKSI RUUMIINONTELOON ANNETTUA ROKOTUSTA EI VAIKUTTANUT MERITAIMENEN MÄDIN MÄÄRÄÄN, HEDELMÖITTYVYYTEEN EIKÄ KUOLLEISUUTEEN	17
4. JOHTOPÄÄTÖKSET	19
KIITOKSET	21
KIRJALLISUUS	21
LIITE 1.....	22
LIITE 2.....	23
KALATUTKIMUKSIA – FISKUNDERSÖKNINGAR	25

1. JOHDANTO

Paisetauti eli furunkuloosi on hyvin yleinen viljeltyjen lohikalojen sairaus ympäri maailmaa. Taudin aiheuttaa *Aeromonas salmonicida* bakteeri. Tautia voidaan hoitaa lääkitsemällä sekä parantamalla kalojen viljelyolosuhteita, mutta lääkinnässä ollaan joutumassa yhä suurempiin vaikeuksiin niin Suomessa kuin muuallakin taudin esiintymisalueella. Paisetautibakteeri näyttää kehittävän nopeasti lääkkeille vastustuskykyisiä kantoja. Lisäksi kalatuotteiden elintarvikelaatu on nousemassa yhä tärkeämpään asemaan. Lääkkeiden mahdollisimman vähäinen käyttö kasvatusaikana kohottaa sekä kalan laatua että alan imagoa.

Joidenkin kalatautiin, esim. vibriosisin ennaltaehkäisy on onnistunut kohtuullisen helposti rokottamalla. Tehokkaan rokotteen kehittäminen paisetautia vastaan on sen sijaan osoittautunut hankalaksi. Tätä kuvaa mm. se, että ensimmäiset yritykset rokotteen kehittämiseksi on tehty jo 1940-luvulla. 1980-luvulta lähtien tutkimus kalan puolustusemekanismien selvittämiseksi on ollut intensiivistä (kts. Rahkonen ym. 1995). Tämä on myös edesauttanut rokotteen kehittämistyötä, ja tuloksia alkaa näkyä.

Rokotuksen tarkoituksena on käynnistää spesifiset puolustusreaktiot eli saada aikaan puolustusolujen aktivoituminen ja vasta-aineiden tuotanto tiettyä bakteeria tai muuta mikroorganismia vastaan. Rokotteen sisältämä antigeeni saa aikaan tietyn tyyppisten valkosolujen, B-lymfosyyttien, erilaistumisen vasta-aineita muodostaviksi soluiksi. Erilaistuneet lymfosyytit alkavat myös jakautua, jolloin niiden määrä lisääntyy. Jotta syntyvä suoja olisi pitkäkestoinen ja rokottamisesta olisi käytännön hyötyä, vasta-aineiden pitäisi pysyä veressä mahdollisimman kauan. Lisäksi rokotteen pitää "virittää" ns. immunologinen muisti, jolloin myöhemmin puolustusreaktiot ko. bakteeria vastaan käynnistyvät aiempaa nopeammin ja tehokkaammin. Edellytyksenä immuunivasteen syntymiselle tiettyä bakteeria vastaan on se, että käytetyssä rokotteen osassa on sellaisia bakteerin osia, antigeeneja, jotka saavat suojaavat reaktiot aikaan (kts. Rahkonen ym. 1995).

1990-luvun alussa markkinoille tulleita öljypohjaisia rokotteen on käytetty runsaasti Norjassa vuodesta 1993 lähtien, ja käytännössä kaikki merilaitoksille viedyt lohismoltit oli rokotettu paisetautia vastaan. Samalla myös yleiseen hygieniaan laitoksilla on panostettu mm. eläinlääkäreiden avustuksella. Mikrobilääkkeitä käytettiin vuonna 1992 vielä 28 000 kg puhdasta lääkeainetta kalantuotannon ollessa 140 000 tn. Vuonna 1993 lääkkeitä käytettiin enää noin 5 000 kg, ja samalla tuotantomäärä oli noussut 170 000 tniin (Thorarinsson 1994). Pohjanvirran (1995) mukaan lääkkeitä käytettiin Norjan kalankasvatuksessa enää 1 000 kg vuonna 1994. Rokotusten ansiosta myös kuolleisuus merikasvatuksen aikana on pysynyt alhaisena (0,5–2 %) (kts. Rahkonen ym. 1995).

Vuosina 1993–1995 toteutettiin Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen (RKTL), Eläinlääkintä- ja elintarvikelaitoksen (EELA) Kuopion aluelaboratorion ja Helsingin yliopiston yhteistyönä tutkimus "Paisetaudin torjunta", joka koostui kenttäkokeista öljypohjaisella Apoject 1-Fural injektiorokotteella ja kirjallisuusselvityksestä (Rahkonen ym. 1995).

Kenttäkokeet suoritettiin RKTL:n Laukaan keskuskalanviljelylaitoksella (myöhemmin Laukaan kalantutkimus ja vesiviljely) ja kalojen rodunjalostuslaitoksella Tervossa (myöhemmin Tervon kalantutkimus ja vesiviljely). Tutkittavia kalalajeja olivat 1-vuotias lohi, lohien emokalat, 3-kesäinen meritaimen (seurantajakso 2 vuotta) ja 1-vuotias kirjolohi (seurantajakso 1½ vuotta).

Rokotuskokeiden tarkoituksena oli tutkia:

- Rokotteen tehoa paisetautiin altistuskokein sekä tutkimalla vasta-ainemuodostusta ja veren valkosolukuvaa syksyllä ja keväällä rokotetuissa kaloissa
- Rokotteen aiheuttamia sivureaktioita poikasilla ja emokaloilla. Norjassa saadut kokemukset ovat osoittaneet, että rokotus saattaa aiheuttaa tulehdusreaktiosta johtuvia kiinnikkeitä vatsaonteloon sekä mustan väriaineen kerääntymistä pistokohtaan.
- Kahden ruumiinonteloon tehdyn rokotuksen vaikutusta meritaimenen mädin määrään ja laatuun.



Nuketettuja nieriöitä rokotetaan Sarmijärven kalanviljelylaitoksella.

2. AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1. Rokotus Apoject 1-Fural rokotteella

Kokeissa käytettiin norjalaista (Apothekerns Laboratorium) Apoject 1-Fural paisetautirokotetta. Rokotteessa on antigeenina hajotettuja bakteerisoluja (whole cell lysate) ja adjuvanttina eli kantaja-aineena "bioöljy". Rokoteannos oli 0,2 ml ja neulakoko 23 G. Kalat nukutettiin MS-222-nukutusaineella, ja rokotus tapahtui automaattiruiskulla. Ruumiinonteloon rokotettaessa annos pistettiin vatsaevien etupuolelle, keskilinjasta oikealle ja lihakseen rokotettaessa selkäevän etuosan oikealle puolelle.



Ruumiinonteloon rokotettaessa annos pistetään vatsaevien etupuolelle keskilinjasta oikealle.

2.1.1. Meritaimen

Laukaan keskuskalanviljelylaitoksen 3-kesäisiä meritaimenia (*Lestijoen kanta*) rokotettiin Apoject 1-Fural paisetautirokotteella 18.10.1993 veden lämpötilan ollessa 5°C. Koe-ryhmään kuului 700 kalaa, joista 350 jätettiin rokottamatta, 175 rokotettiin ruumiinonteloon ja 175 lihakseen. Osa kaloista mitattiin ja punnittiin (liite 1, taulukko 1).

Rokotuksen jälkeen rokottamattomat kalat siirrettiin yhteen ja rokotetut toiseen 75 m²:n maa-uoma-altaaseen. Ruumiinonteloon rokotetuilta kaloilta poistettiin rasvaevä.

Ennen rokotusta sekä 3 ja 7 kk rokotuksen jälkeen (tammi- ja toukokuu 1994) kaloista otettiin verinäytteet, joista tutkittiin valkosolukuva ja agglutinoivien vasta-aineiden määrä. Näytteenottoa varten kaikista ryhmistä siirrettiin 15–20 kalaa vähintään viikkoa aikaisemmin koehallin altaisiin. Samoista kaloista tutkittiin lisäksi sivureaktiot.

Syksyllä 1993 lihakseen ja ruumiinonteloon rokotetut kalat rokotettiin uudestaan lokakuussa 1994 pelkästään ruumiinonteloon. Veden lämpötila oli rokotushetkellä 7,6°C. Ennen uusintarokotusta samoin kuin 7 ja 12 kk uusintarokotuksen jälkeen (touko- ja lokakuu 1995) otettiin sekä kontroleista että ruumiinonteloon rokotetuista verinäyte vasta-ainetason määrittämistä varten. Kaikkien näytekalojen pituus ja painotiedot on esitetty liitteessä 1 (taulukko 2).

2.1.2. Lohi

Emot

10.11.1993 rokotettiin ruumiinonteloon 18 kpl 9-vuotiaita lohioita, jotka merkittiin poistamalla rasvaevä. Loput 17 kpl jätettiin rokottamatta. Lohien keskipaino oli 4,9 kg. Syksyllä 1994 emojen mätimäärä mitattiin, ja kaikista kaloista tutkittiin sivureaktiot lypsyt jälkeen.

1-vuotiaat

19.5.1994 rokotettiin 1 000 1-vuotiaasta lohta (Nevan kanta), joilta samalla poistettiin rasvaevä. Loput altaan kaloista, noin 1 500 yksilöä, jätettiin rokottamatta. Veden lämpötila oli rokotushetkellä 7°C. Parvesta punnittiin ja mitattiin 40 kalaa. Poikasten keskipaino oli noin 27 g ja keskipituus noin 14 cm. Kaloja hoidettiin normaalisti. Ennen rokotusta kaloista otettiin verinäyte vasta-ainetason ja valkosolujen kokonaismäärän mittaamista varten.

2.1.3. Kirjolohti

2.6.1994 (10 °C) rokotettiin 1 165 1-vuotiaasta kirjolohta ruumiinonteloon kalojen rodunjälöstuslaitoksella. Neljän koepunnitusryhmän keskipituus oli 19 cm ja keskipaino 86 g (koepunnittu 63 kalaa). Yksi punnitusryhmä oli selvästi keskiarvoa kookkaampaa kalaa, keskipituus 20,4 cm ja keskipaino 110 g (n=509, koepunnittu 23 kpl). Tämän ryhmän odotettiin olevan syksyllä 1994 teuraskoossa. Yksi punnitusryhmä oli taas pienikokoista kalaa, keskipituus 17 cm ja keskipaino 54 g (n=289, koepunnittu 15 kpl), jonka odotettiin kasvavan teuraskokoon vasta syksyllä 1995.

Kirjolohien vasta-ainetaso ja valkosolukuva tutkittiin ennen rokotusta sekä 3, 11 ja 16 kk rokotuksen jälkeen. Näytekalojen pituus ja paino on esitetty liitteessä 1 (taulukko 3). Sivureaktiot tutkittiin teuraskokoisilta kaloilta syksyllä 1994 (85 kpl) ja 1995 (118 kpl).

2.2. Verinäytteet

Kustakin rokotetusta kalaryhmästä otettiin verinäytteet valkosolukuvan ja vasta-ainetason määrittämiseksi välittömästi ennen rokotusta sekä tietyn ajan kuluttua rokotuksesta. Alla olevassa taulukossa on esitetty näytteenottoajankohdat kalalajeittain.

Meritaimen	Merilohi	Kirjolohti
18.10.93*	19.05.94*	02.06.94*
05.01.94	23.06.94	24.08.94
19.05.94	09.94	18.05.95
03.10.94		25.10.95
11.05.95		
16.10.95		

* Rokotusajankohta (meritaimenten uusintarokotus 10.10.94)

Verinäyte otettiin nukutetun kalan pyrstösuonesta heparinoituun ruiskuun. Valkosolujen kokonaismäärän laskemista varten koko verta laimennettiin Shaw'n liuokseen 1:50 (v/v). Lisäksi verestä tehtiin siveilyvalmisteet. Loput verestä sentrifugoitiin plasman erottamiseksi (3 min, 10 000 rpm). Plasmanäytteet säilöttiin välittömästi nestemäiseen tyypeen.

Valkosolujen kokonaismäärän laskennassa käytettiin Neubauerin kammiota. Veren eri valkosolutyypin (lymfosyytit, neutrofiilit, trombosyytit) suhteelliset osuudet laskettiin siveilyvalmisteista, jotka oli värjätty May-Grünwald-Giemsä-värjäysmenetelmällä. Kustakin näytteestä laskettiin 100 solua.

Rokotuksen aikaansaamaa *A. salmonicida* -vasta-aineiden määrän nousua seurattiin mittaamalla veriplasmasta ns. agglutinoivien vasta-aineiden määrä. Käytetty menetelmä perustuu siihen, että veressä olevat bakteerivasta-aineet tarttuvat ko. bakteerien pintaan, jolloin ne sakkautuvat (agglutinoituvat). Plasmanäytteet laimennettiin (puskuroitu fysiologinen suolaliuos) mikrotiitterilevyllä ns. jatkuvalla kaksinkertaisella laimennuksella siten, että ensimmäinen laimennos oli 1:2 ja viimeinen 1:4096. Mikäli vasta-ainetaso oli hyvin korkea tehtiin jatkolaimennokset tarpeen mukaan. Kunkin näytelaimennoksen päälle pipetoitiin vastaava tilavuus tapettuja *A. salmonicida* -bakteereja (1% suspensio, bakteerit värjätty neotetrazoliumkloridilla). Näytelevyt pidettiin yön yli 4 °C:ssa. Näytteen sisältämä vasta-ainemäärä on ilmoitettu tiitterilukuna, joka on sen laimennoksen käänteisluku, jossa vielä on silmin havaittavaa agglutinaatiota. Keskiarvojen ja hajontojen laskemiseksi tilastollista käsittelyä varten on em. tiitteriluvuista otettu 2^{\log} -arvot.

2.3. Sivureaktiot

Sivureaktioiden tutkimista varten kalat avattiin ja muutokset tutkittiin silmämääräisesti. Vuosina 1994 ja 1995 tutkimuksen tekivät eri henkilöt, jotka eivät keskenään päässeet vertaamaan luokitusta. Sivureaktioiden määrittämisessä käytettiin seuraavaa asteikkoa:

Vatsaontelon sivureaktiot:

- 0 Ei muutoksia
- 0,5-1 Vähän heikkoja kiinnikkeitä ja/tai pigmenttiä
- 1,5-2 Kohtalaiset kiinnikkeet ja pigmenttiä. Kuluttaja huomaa muutokset pyöreässä kalassa, poistuvat perattaessa.
- 2,5-3 Voimakkaat kiinnikkeet ja runsaasti pigmenttiä. Kuluttaja huomaa muutoksia fileissä perkauksen jälkeen.

Lihaksen sivureaktiot:

- 0 Ei muutoksia
- 0,5-1 Verestystä lihaksessa pistokohdassa
- 1,5-2 Selvä verestys lihaksessa
- 2,5-3 Voimakas tulehdusreaktio lihaksessa ("kuoppa")

2.4. Altistuskokeet

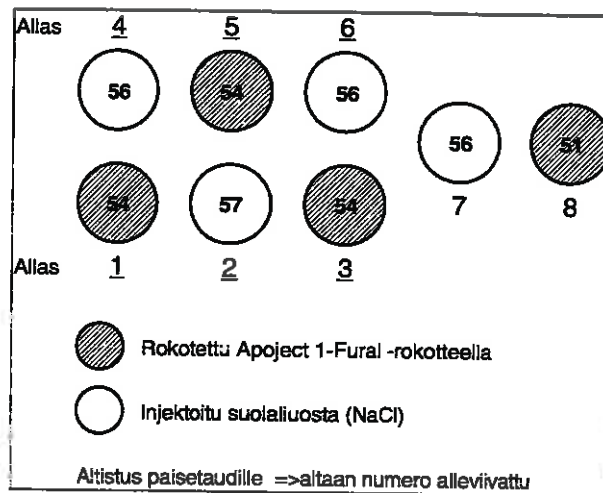
Altistuskoe Laukaassa

19.5.1994, jolloin 1-v lohet rokotettiin, injektioitiin lisäksi 240 1-v. lohta käyttämällä rokotteen sijasta steriiliä 0,9% suolaliuosta (0.2 ml). Suolaliuosta saaneet lohet sekä 240 paisetautirokotteella injektioitua lohta siirrettiin karanteeniosastoon kahdeksaan altaaseen, 60 kpl kuhunkin. Kummastakin koeryhmästä mitattiin ja punnittiin 40 kalaa (liite 1, taulukko 4). Veden lämpötila oli tällöin noin 7°C.

Immunitetin annettiin kehittyä viisi viikkoa ennen paisetautialtistusta. Tänä aikana kaloja ruokittiin normaalisti ja kirjattiin kuolleet. Altaasta 3 ja 5 kuoli yksi kala ja altaasta 8 kuoli

yhdeksän kalaa. Näistä ei todettu spesifistä bakteerikasvua, mutta ko. kaloissa oli suhteellisen voimakas vesihometartunta. Ennen altistusta 23.6. otettiin sekä rokotetuista että kontrollikaloista (=NaCl:lla injektoidut) verinäyte vasta-ainetason määrittämiseksi (15 kalaa/ryhmä). Samoista kaloista tutkittiin myös sivureaktiot. Tutkittujen kalojen pituus ja paino on esitetty liitteessä 1 (taulukko 5).

Seuraavassa kuvassa on esitetty altaitten numerointi. Koekalojen määrät altistustilanteessa on merkitty altaisiin.



Altistus paisetaudille tehtiin ns. co-habitaatio-menetelmällä. Kolmeen Apojectilla rokotettuun ja kolmeen suolaliuoksella injektoituun altaaseen laitettiin kuusi 1-v lohia (paino 7,7 g-31,6 g), joihin oli injektoitu sairaasta siirästä eristettyjä *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* -bakteereja (n. 1 000 bakteeria/kala). Tunnistamisen vuoksi näiltä kaloilta leikattiin myös rasvaevä. Yksi allas kummastakin ryhmästä (= altaat 7 ja 8) jätettiin kontrolliksi, eli niihin ei laitettu altistettuja kaloja. 23.6. lähtien koekaloja ei ruokittu. Veden lämpötila koehallin tulovedessä oli altistushetkellä 14,5°C.

Kuolleet kalat kerättiin päivittäin, kirjattiin oireet ja tehtiin bakteeriviljely munuaisesta TSA-maljalle. Maljat lähetettiin 1—3 päivän kuluessa Kuopion EELA:an. Myös lämpötila mitattiin päivittäin noin puolen päivän aikaan. Veden lämpötila nousi altistushetken 14,1°C:sta lopetuspäivän 8.7. 16,3°C:een.

Altistuskoe Kuopiossa

Rokotteen tehoa tutkittiin 1-v lohilla altistuskokein Eläinlääkintä- ja elintarvikelaitoksen Kuopion aluelaboratoriossa loppukesällä 1994. 60 kpl rokotettuja (rokotus 19.5., kts. kohta 2.3.) ja rokottamattomia lohia kuljetettiin 25.8. happivesipussissa Laukaasta Kuopioon ja jaettiin neljään altaaseen siten, että puolet kunkin altaan kaloista oli rokotettuja ja puolet rokottamattomia. Veden lämpötila oli kokeen aikana 15°C. Kalat altistettiin 26.8. injektoidulla 0,2 ml *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* -bakteerisuspensiota vatsaonteloon. Bakteerien määrä suspensiossa oli 1×10^4 /ml. Kaloja tarkkailtiin päivittäin, ja kuolleista kaloista tehtiin bakteeriviljely munuaisesta kuolinsyyntä varmistamiseksi. Kuolleisuutta seurattiin kunnes kaloja ei ollut kuollut viikkoon. Koe lopetettiin 7.9.1994.

Rokotettujen ja kontrollien kuolleisuutta vertaamalla saadaan suhteellinen henkinjäämisluku (relative percentage of survival, RPS):

$$RPS = (\text{rokotettujen kuolleisuus \%} / \text{kontrollien kuolleisuus \%}) * 100.$$

RPS:n tulisi olla vähintään 65%, jotta rokote suojaisi edes kohtuullisesti taudilta.

2.5. Meritaimenen mädin hedelmöittyvyys ja elinkyky

Mädin hedelmöittyvyyttä ja elinkykyä tutkittiin rokottamattomien ja kahteen kertaan vatsaonteloon rokotettujen 5-kesäisten meritaimenten mädillä. Veden lämpötila oli lypsypäivänä 8,3°C. Kaloista mitattiin pituus ja paino ennen lypsyä.

Lypsyn yhteydessä 16.10.1995 viiden rokotetun naaraan mäti hedelmöitettiin kolmen rokotetun koiraan mädillä. Vastaavalla tavalla hedelmöitettiin rokottamattomien kalojen mäti. Rokotetuista ja kontroleista muodostettiin viisi ryhmää kustakin. Mäti turvotettiin seuraavaan aamuun, jolloin mädin tilavuus mitattiin ryhmittäin, eli viiden naaraan mäti/ryhmä.

Hedelmöittyminen tarkistettiin heti asetille siirron jälkeen hedelmöittämisen jälkeisenä aamuna klo 10.30—11.00. Näyte otettiin fiksointiliuokseen, joka sisälsi 5 osaa formaliinia, 4 osaa jäätikkää, 85 osaa vettä, 6 osaa glyserolia. Soluasteen tarkastus tehtiin stereomikroskoopilla. Jakautuminen oli jo useissa tapauksissa edennyt yli nelisoluasteen. Mäti jaettiin koeryhmiin siten, että kunkin viiden naaraan mätierä jaettiin kolmeen lokeroon kuhunkin 300 ml turvonnutta mätiä (2 500—3 000 kpl). Kuolleet mätijyvät nypittiin pois ja laskettiin. Seuraavan kerran kaikki mätijyvät laskettiin silmäpisteasteella 18.—21.12.1995. Kuolleita munia ei poistettu laskukertojen välissä. Mätiä hoidettiin normaalisti.

3. TULOKSET JA TARKASTELU

Rokottaminen ei aiheuttanut ylimääräistä kuolleisuutta. Kummallakaan laitoksella ei todettu paisetautia kesällä 1994 eikä kesällä 1995, joten rokotteen tehoa ei nähty kenttäolosuhteissa.

3.1. Meritaimen

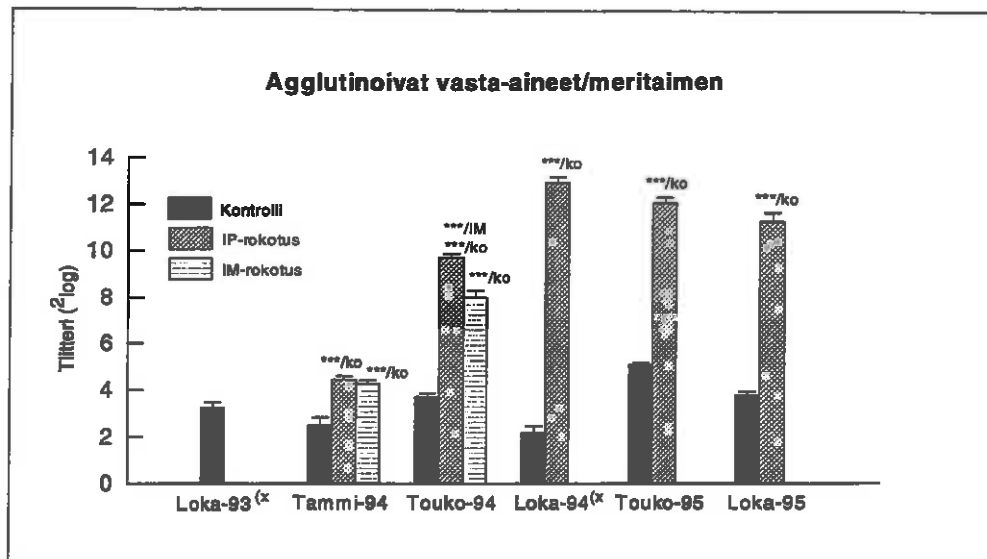
3.1.1. Vasta-aineet nousivat syksyllä rokotetuilla kaloilla seuraavana keväänä

Laukaan laitoksessa syksyllä 1993 rokotettujen meritaimenten vasta-aineiden määrän nousua seurattiin määrittämällä veriplasmasta agglutinoivat vasta-aineet ennen rokotusta sekä 3, 7 ja 12 kk rokotuksen jälkeen. Uusintarokotuksen jälkeen taimenten vasta-ainetaso mitattiin 7 ja 12 kk:n kuluttua rokotuksesta.

Tammikuussa, 3 kk ensimmäisen rokotuksen jälkeen, kummankin rokotusryhmän vasta-ainetaso oli vielä matala vaikkakin merkitsevästi korkeampi ($P < 0.001$) rokottamattomiin kaloihin verrattuna (kuva 1). Rokotushetkellä veden lämpötila oli 5°C ja laski tämän jälkeen melko nopeasti talvilämpötilaan. Alhaisessa lämpötilassa vasta-aineiden muodostus on hidasta, ja tästä syystä tammikuussa mitatut vasta-ainemäärät olivat vielä alhaiset. Toukokuuhun mennessä sekä lihakseen että vatsaonteloon rokotettujen taimenten vasta-ainemäärät olivat huomattavasti tammikuista korkeammat.

Kahdesta käytetystä rokotustavasta injektio vatsaonteloon osoittautui tehokkaammaksi, sillä näin rokotettujen taimenten vasta-ainetaso oli merkitsevästi korkeampi ($P < 0.001$) kuin lihakseen rokotetuilla taimenilla. Vuoden kuluttua rokotuksesta, ennen uusintarokotusta, tutkittiin pelkästään vatsaonteloon rokotetut taimenet. Vasta-ainemuodostus oli kesän aikana ollut hyvin voimakasta, sillä lokakuun alussa taimenten vasta-aineiden määrä oli merkitsevästi ($P < 0.001$) korkeampi toukokuuhun verrattuna. Rokottamattomien kalojen vasta-ainetasossa ei havaittu muutoksia.

Lokakuussa 1994 tehdyn uusintarokotuksen jälkeen mitatut korkeat vasta-ainepitoisuudet toukokuussa 1995 ja lokakuussa 1995 viittavat siihen, että uusintarokotus tehosti ensimmäisen rokotuksen aikaansaamaa suojaa (kuva 1). Vasta-ainetaso oli korkeampi toukokuussa 1995 (kaksi rokotusta) verrattuna toukokuuhun 1994 (yksi rokotus). Vasta-ainetuotanto todennäköisesti käynnistyi nopeammin ja tehokkaammin jo kerran rokotetuilla taimenilla verrattuna taimeniin, jotka saivat rokotetta ensimmäisen kerran.



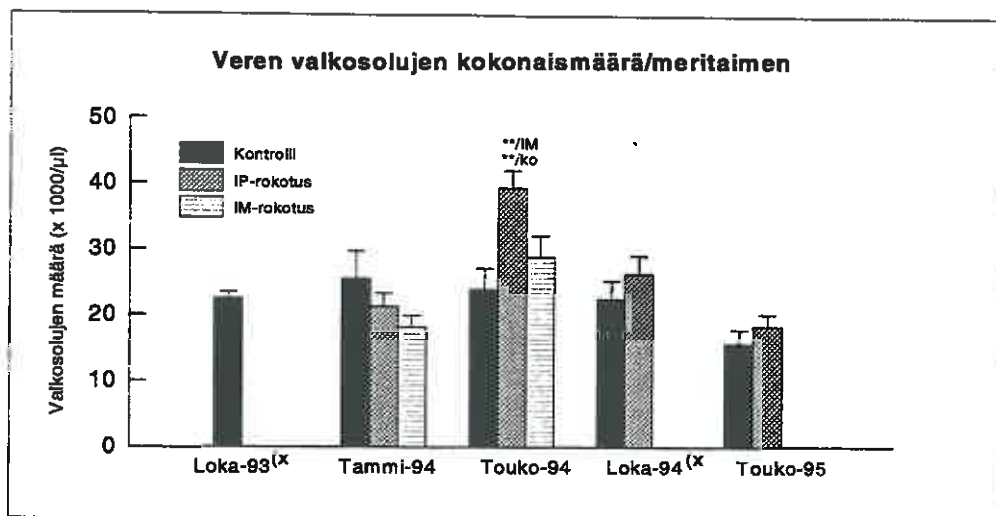
Kuva 1. Lihakseen (IM) ja vatsaonteloon (IP) rokotettujen sekä rokotamattomien taimenten plasman agglutinoivat *A. salmonicida*-vasta-aineet ennen rokotusta, 3, 7 ja 12 kk ensimmäisen rokotuksen jälkeen sekä 7 ja 12 kk uusintarokotuksen jälkeen (x + S.E.) Ryhmien väliset tilastollisesti merkitsevät erot on merkitty tähdillä (***, $P < 0.001$, t -testi). (x=rokotusajankohta)

3.1.2. Valkosolukuvaan vaikutti rokotus ja lämpötila

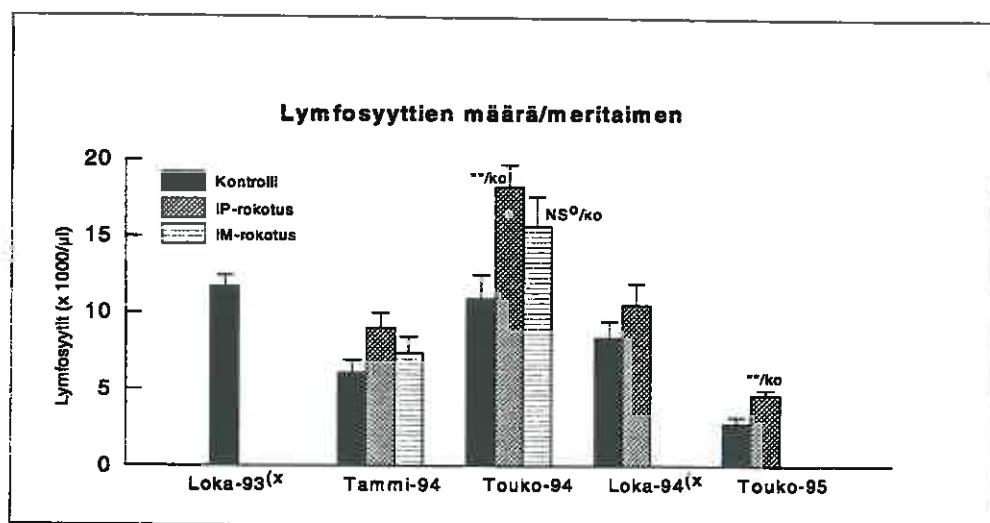
Veren valkosolujen kokonaismäärä oli tammikuussa tutkituilla taimenilla lähes samalla tasolla kuin rokotushetkellä ja oli rokotamattomilla kaloilla hieman korkeampi kuin rokotetuilla (kuva 2). Sen sijaan lymfosyyttien määrä oli sekä ruumiinonteloon että lihakseen rokotetuilla taimenilla kontrolliryhmää suurempi (kuva 3). Vaikka havaittu ero ei ollut merkitsevä, se kohonneen vasta-ainetaso ohella osoittaa rokotevasteen alkaneen kehittyä jo kylmän veden aikana.

Toukokuussa havaitut muutokset veren valkosolukuvaan (valkosolujen kokonaismäärän ja lymfosyyttien määrän nousu) johtuivat rokotamattomilla kaloilla todennäköisesti pelkästään veden lämpiämisestä. Rokotetuilla taimenilla selvästi kontrolliryhmää suurempi lymfosyyttien määrä oli osoitus rokotteen aikaansaamasta vasteesta. Samoin kuin vasta-ainemäärä, myös lymfosyyttien määrä oli ruumiinonteloon rokotetuilla taimenilla suurempi kuin lihakseen rokotetuilla taimenilla.

Vuoden kuluttua rokotuksesta ruumiinonteloon rokotettujen taimenten valkosolumäärät olivat palautuneet lähelle rokotamattomien tasoa, eivätkä havaitut erot olleet merkitseviä. Seuraavan kerran taimenet tutkittiin toukokuussa 1995, 7 kk uusintarokotuksen jälkeen. Tällöin rokotettujen kalojen lymfosyyttien määrä oli jälleen merkitsevästi korkeampi kuin rokotamattomilla. Alhaisesta veden lämpötilasta (4°C) johtuen toukokuussa 1995 mitatut valkosolutasot olivat matalammat kuin toukokuussa 1994, jolloin veden lämpötila oli 7°C.



Kuva 2. Lihakseen (IM) ja vatsaonteloon (IP) rokotettujen sekä rokotamattomien taimenten veren valkosolujen kokonaismäärä ennen rokotusta, 3, 7 ja 12 kk ensimmäisen rokotuksen jälkeen sekä 7 kk uusintarokotuksen jälkeen (x + S.E.) Ryhmien väliset tilastollisesti merkitsevät erot on merkitty tähdillä (**, P < 0.01, t-testi). (x = rokotusajankohta).



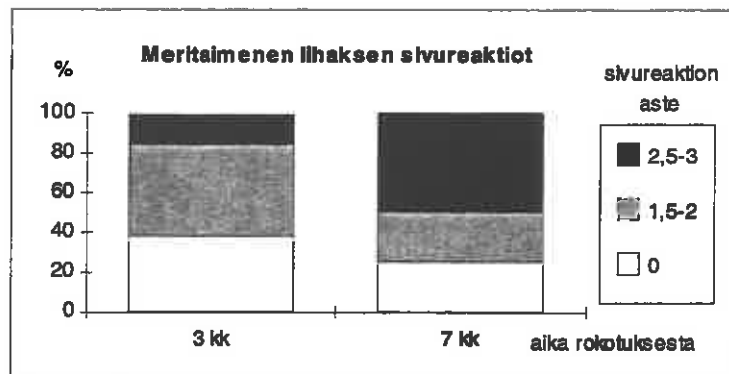
Kuva 3. Lihakseen (IM) ja vatsaonteloon (IP) rokotettujen sekä rokotamattomien taimenten veren lymfosyytien määrä ennen rokotusta, 3, 7 ja 12 kk ensimmäisen rokotuksen jälkeen sekä 7 kk uusintarokotuksen jälkeen (x + S.E.). Ryhmien väliset tilastollisesti merkitsevät erot on merkitty tähdillä (**, P < 0.01, NS°, P < 0.1, t-testi). (x = rokotusajankohta)

3.1.3. Voimakkaita sivureaktioita meritaimenella lihaksessa paljon, ruumiinontelossa vähän

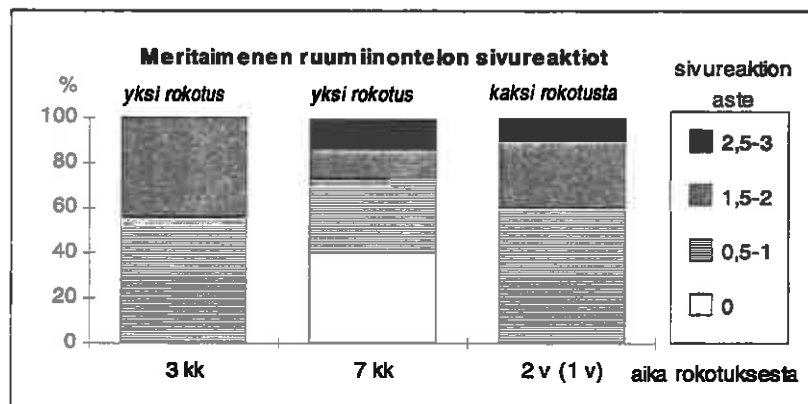
Lihäs: Tammikuussa 1994, noin kolme kuukautta lihaksen rokotuksen jälkeen, 40%:lla tutkituista taimenista ei näkynyt reaktiota lainkaan, mutta lopuilla 60%:lla oli selvä veretys tai voimakas tulehdusreaktio pistokohdassa. Toukokuussa 1994 tutkituista kaloista 25%:lla ei näkynyt mitään reaktiota, kohtalaiset reaktiot todettiin 25%:lla ja voimakkaat muutokset puolella näytekaloista (kuva 4).

Ruumiinontelo: Kaikilla ruumiinonteloon rokotetuilla taimenilla todettiin joko lieviä tai kohtalaisia muutoksia vatsaontelossa kolme kuukautta rokotuksen jälkeen (kuva 5). Ke-väällä 1994, 7 kuukautta rokotuksen jälkeen 40%:lla ei näkynyt reaktiota lainkaan, 46%:lla oli lieviä tai kohtalaisia muutoksia ja 13%:lla voimakkaita muutoksia. Kalat roko-

tettiin uudestaan syksyllä 1994, ja tutkittiin vuoden kuluttua uusintarokotuksesta. Tutkitut kalat oli lypsetty kuukautta aikaisemmin. 90%:lla oli lieviä tai kohtalaisia muutoksia ja 10%:lla voimakkaita muutoksia. Uusintarokotus ei siten lisännyt voimakkaiden reaktioiden määrää, mutta nousua tapahtui lievien ja kohtalaisten reaktioiden osalta. Sivureaktioiden määrittäjän vaihtuminen 1995 saattaa myös vaikuttaa tuloksiin, koska menetelmä perustuu silmämääräiseen arvioon. Vertailun vuoksi tutkittiin syksyllä 1995 myös 29 rokottamaton-ta taimenta kontrollialtaasta, eikä mitään muutoksia näissä todettu.



Kuva 4. Sivureaktiot lihakseen 18.10.1993 rokotetuilla meritaimenilla 3 (n=13) ja 7 (n=16) kuukautta rokotuksen jälkeen.

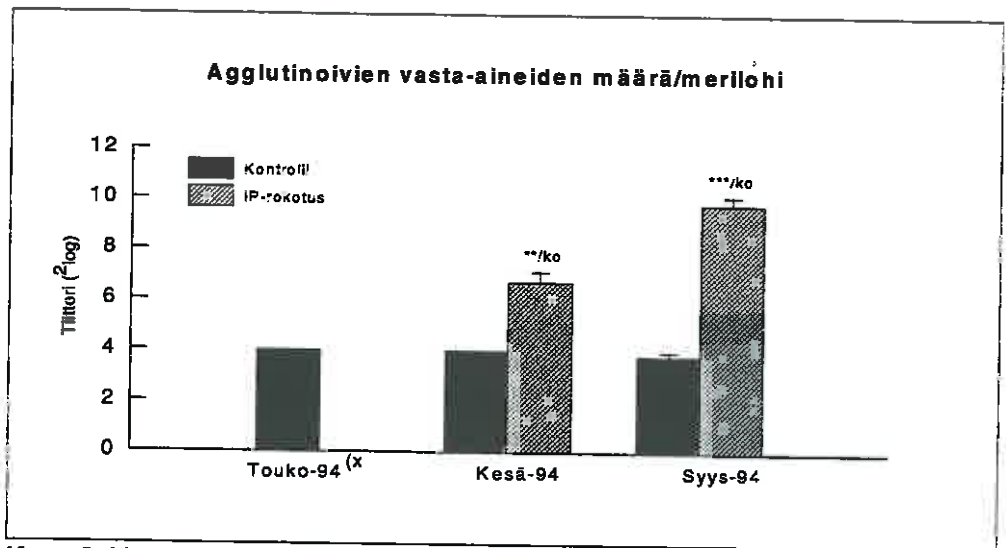


Kuva 5. Sivureaktiot ruumiinonteloon 18.10.1993 rokotetuilla meritaimenilla 3 (n=15) ja 7 (n=18) kuukautta 1. rokotuksen jälkeen ja vuosi 2. rokotuksen jälkeen (n=30).

3.2. Merilohi

3.2.1. Kevätrokotuksen jälkeen vasta-aineet nousivat nopeasti

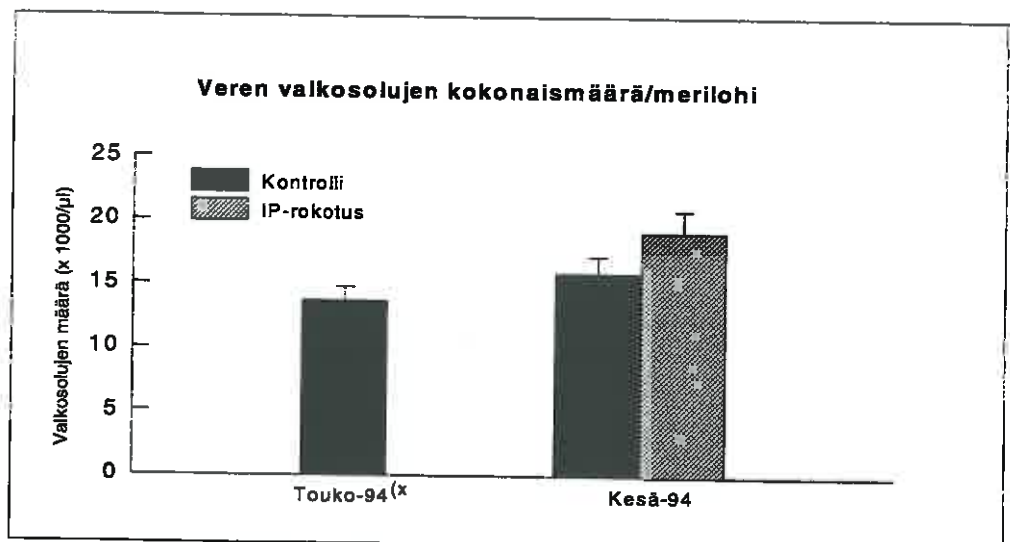
Toukokuussa 1994 rokotetuilla 1-vuotiailla lohilla vasta-ainemuodostus käynnistyi huomattavasti nopeammin kuin talvea vastaan rokotetuilla taimenilla. Jo viisi viikkoa rokotuksen jälkeen vasta-aineiden määrä rokotetuilla kaloilla oli merkittävästi rokottamattomia korkeampi. Tämä johtui todennäköisesti korkeammasta rokotuslämpötilasta verrattuna syksyrokotukseen, sekä veden nopeasta lämpenemisestä kesän edistyessä. Edelleen elokuun lopussa mitatut korkeat vasta-ainemäärät osoittivat lohien puolustusjärjestelmän vastan- neen hyvin annettuun rokotteeseen (kuva 6). Kolme kuukautta rokotuksen jälkeen lohien keskimääräinen vasta-ainetiiteri oli kuitenkin huomattavasti matalampi kuin syksyllä roko- tetuilla taimenilla vuosi rokotuksen jälkeen (vrt. kuva 1).



Kuva 6. Vatsaonteloon (IP) rokotettujen sekä rokotamattomien 1-vuotiaiden merilohien (Nevan kanta) agglutinoivat *A. salmonicida*-vasta-aineet ennen rokotusta sekä n. 1 ja 4 kk rokotuksen jälkeen (x + S.E.). Ryhmien väliset tilastollisesti merkitsevät erot on merkitty tähdiillä (**, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$, *t*-testi). (x = rokotusajankohta)

3.2.2. Valkosolukuvassa näkyy lämpötilan merkitys

Samoin kuin taimenilla myös rokotetuilla 1-vuotiailla nevanlohilla veren valkosolujen kokonaismäärä oli rokotuksen jälkeen suurempi kuin rokotamattomilla lohilla (kuva 7). Ero ei ollut kuitenkaan tilastollisesti merkitsevä, mikä saattoi johtua siitä, että lohet tutkittiin muista rokotusryhmistä poiketen jo 5 viikon kuluttua rokotuksesta. Veden lämpötilan noususta ($\sim 7^{\circ}\text{C} \rightarrow 14,4^{\circ}\text{C}$) johtuen valkosolujen määrä myös rokotamattomilla kaloilla oli ke- sakuussa toukokuusta korkeampi. Syyskuussa lohista tutkittiin ainoastaan vasta-aineet.



Kuva 7. Ruumiinonteloon (IP) 19.5.94 rokotettujen sekä rokotamattomien 1-vuotiaiden merilohien (Nevan kanta) veren valkosolujen kokonaismäärä ennen rokotusta sekä noin kuukausi rokotuksen jälkeen (x + S.E.). (x = rokotusajankohta.)

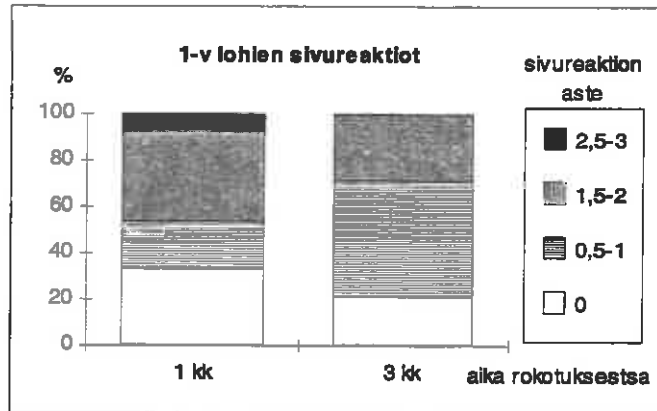
3.2.3. Sivureaktiot vähäisiä

Emot

Sivureaktioita ei todettu. Emot olivat pääosin vanhoja ja huonokuntoisia, ja mätimäärä vaihteli huomattavasti sekä rokotettujen että rokotamattomien kesken.

1-vuotiaat

Ensimmäiset näytteet tutkittiin kesäkuun lopussa 1994, kuukausi rokotuksen jälkeen. Noin 30 %:lla tutkituista kaloista ei todettu mitään reaktiota. 60 %:lla todettiin heikkoja tai kohtalaisia ja 7 %:lla voimakkaita muutoksia vatsaontelossa. Elokuun lopun tutkimuksissa 21 %:lla tutkituista kaloista ei todettu muutoksia, ja 79 %:lla todettiin heikot tai kohtalaiset muutokset. Voimakkaita muutoksia ei todettu lainkaan (kuva 8).

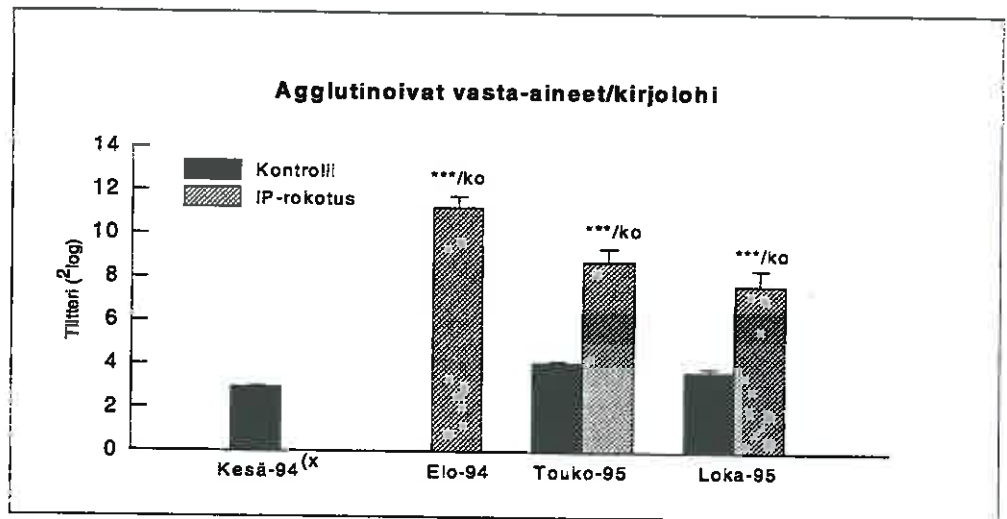


Kuva 8. Sivureaktiot ruumiinonteloon 19.5.1994 rokotetuilla 1-v merilohilla 1 (n=15) ja 3 (n=24) kuukautta rokotuksen jälkeen.

3.3. Kirjolohi

3.3.1. Agglutinoivat vasta-aineet korkealla vielä 16 kuukautta rokotuksen jälkeen

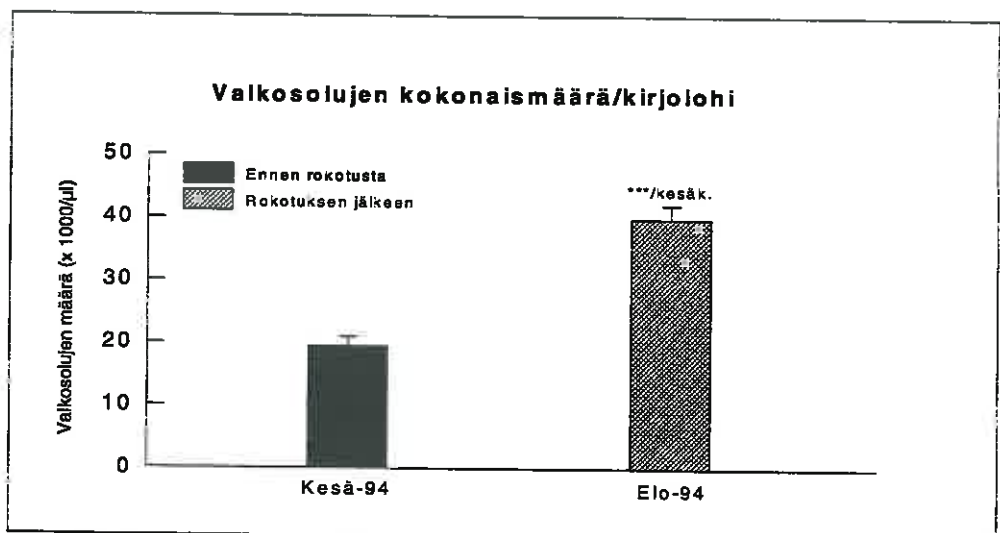
Rokotteen aikaansaamaa vastetta 1-vuotiaissa kirjolohissa tutkittiin noin 3, 11 ja 16 kk rokotuksen jälkeen. Elokuun lopussa, noin 3 kk rokotuksen jälkeen, vasta-aineiden määrä oli rokotetuilla kirjlohilla merkitsevästi rokottamattomia korkeampi ja samaa suuruusluokkaa kuin taimenilla syksyrokotusta seuraavana keväänä (kuva 9). Toukokuussa 1995, vajaa vuosi rokotuksen jälkeen, kirjlohien vasta-ainetaso oli kuitenkin laskenut merkitsevästi ja laski edelleen jonkun verran syksyyn mennessä. Vasta-ainetaso oli kuitenkin merkitsevästi korkeampi kuin rokottamattomilla taimenilla. Tällä hetkellä ei ole tietoa siitä, miten paistautivasta-aineiden määrä korreloi sairastuvuuteen. Kuitenkin kirjlohilla havaittu vasta-ainetason lasku antaa aiheita olettaa, että keväällä tehdyn rokotuksen antama suoja ei enää ole riittävä rokotusta seuraavan toisen kesän jälkeen. Toisaalta mikäli keväällä annettu rokotus antaa suojan kahden kesän ajaksi, se on yleensä riittävä ruokakalakasvatuksessa. Uusintarokotus olisi siten mahdollisesti tarpeellinen vain emokalojen viljelyssä.



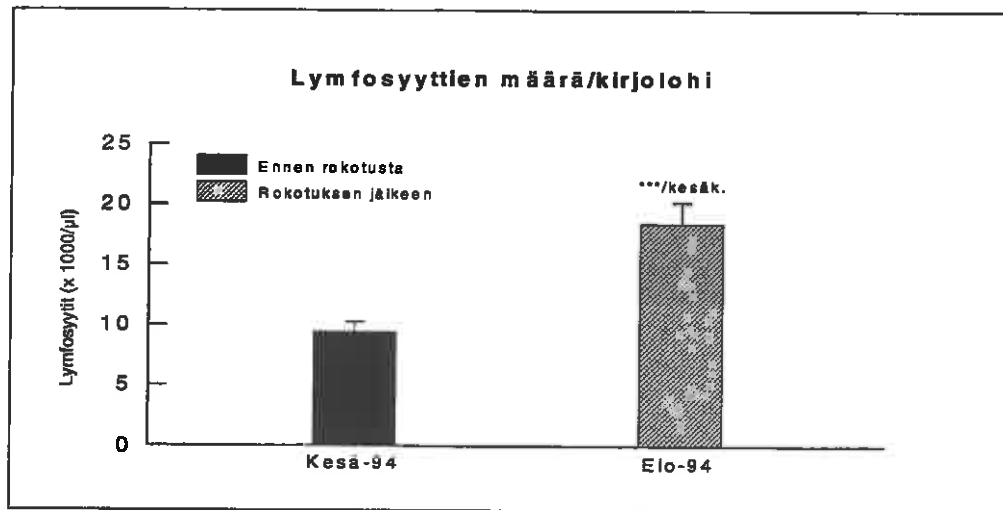
Kuva 9. Vatsaonteloon (IP) 2.6.1994 rokotettujen sekä rokotamattomien 1-v. kirjolohien plasman agglutinoivat vasta-aineet ennen rokotusta sekä 3, 11 ja 16 kk rokotuksen jälkeen (x + S.E.). Ryhmien väliset tilastollisesti merkitsevät erot on merkitty tähdillä (***, P < 0.001, t-testi). (x = rokotus-ajankohta).

3.3.2. Rokotuksen vaikutus valkosolukuvaan jäi epäselväksi

Elokuussa, kolme kuukautta rokotuksen jälkeen, näytteet otettiin ainoastaan rokotetuista kaloista. Tällöin veren valkosolujen kokonaismäärä oli kaksinkertainen verrattuna solujen määrään ennen rokotusta (kuva 10). Solujen määrän nousu johtui pääasiassa lymfosyyttien määrän kaksinkertaistumisesta kesän aikana (kuva 11). Määrä oli samaa suuruusluokkaa kuin ruumiinonteloon rokotetulla taimenilla rokotusta seuraavana keväänä. Vaikka elokuun näytteet rokotamattomista kaloista puuttuvat, on todennäköistä, että havaittu nousu valkosolutasossa on osaksi rokotuksen aikaan saama vaste ja osaksi veden lämpötilan noususta (kesäkuu/11°C, elokuu/16.5°C) aiheutuva muutos.



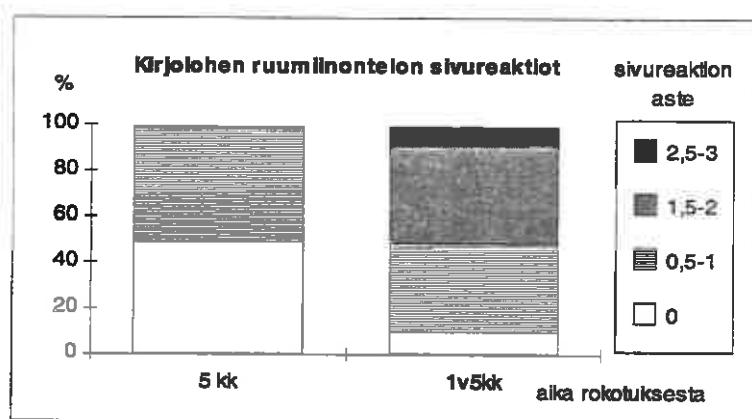
Kuva 10. Ruumiinonteloon (IP) 2.6.94 rokotettujen 1-v. kirjolohien veren valkosolujen kokonaismäärä ennen rokotusta sekä n. 3 kk rokotuksen jälkeen (x + S.E., ***, P < 0.001, t-testi).



Kuva 11. Ruumiinonteloon (IP) 2.6.1994 rokotettujen 1-v. kirjolohien veren lymfosyytien määrä ennen rokotusta sekä n. 3 kk rokotuksen jälkeen ($\bar{x} + S.E.$, ***, $P < 0.001$, t -testi).

3.3.3. Peratussa kalassa näkyviä sivureaktioita esiintyi vain vähän

Syksyllä 1994 tutkittiin 85 kalaa, joista 49%:lla ei todettu lainkaan sivureaktioita ja 49%:lla vain lieviä rokotuksen aiheuttamia muutoksia vatsaontelossa. Ainoastaan yhdellä kalalla todettiin kohtalaisia muutoksia (kuva 12). Vuoden 1995 syksyllä olivat teuraskoossa ne kalat, jotka rokotettaessa kuuluivat pienimpään kokoluokkaan (keskipaino 54 g). Lokakuussa 1995 tutkittiin 118 kalaa, ja sivureaktioita havaittiin selvästi enemmän kuin vuotta aikaisemmin. Fileissä jälkiä näkyi vain 8%:lla kaloista. Syinä sivureaktioiden lisääntymiseen 1995 näytteissä voivat olla esim. kalojen pienempi koko rokotettaessa ja/tai kuten aikaisemmin mainittiin sivureaktioita tutkineen henkilön vaihtuminen vuonna 1995.



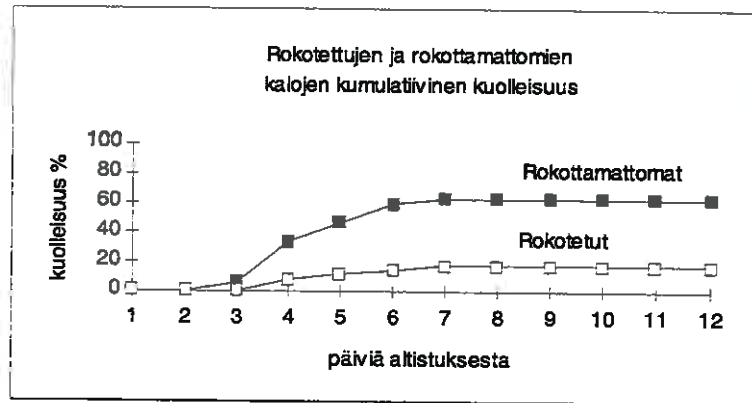
Kuva 12. 1-vuotiaina 2.6.1994 ruumiinonteloon rokotettujen kirjolohien sivureaktiot 5 kk ($n=85$) ja 1v 5kk ($n=118$) rokotuksen jälkeen.

3.4. Altistuskokeet

3.4.1. Injektiolla tehdyssä bakteerialtistuksessa hyvä tulos

Paisetautibakteerilla piikittämällä altistettuja rokotettuja ja rokotamattomia 1-v lohia seurattiin Kuopion EELA:ssa kaksi viikkoa, 27.8—7.9.1994. Koe lopetettiin 7.9., jolloin kaloja ei ollut kuollut kuuteen päivään. Kokeen aikana rokotetuista kuoli 17,7% (9/51) ja rokotamattomista kontrolleista 63% (34/54) (kuva 14). RPS (relative percentage of survi-

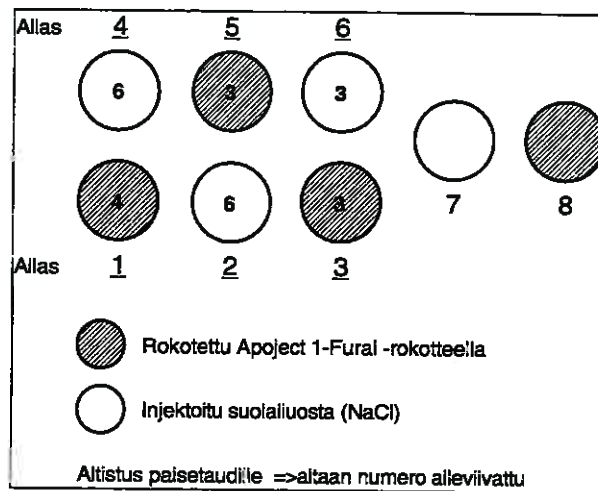
val) oli siten 72%, mitä voidaan pitää hyvänä tuloksena. On muistettava, että suoraan ruumiinonteloon annettu bakteeriannos on kalalle hyvin rankka altistustapa eikä se vastaa ns. luonnollista altistusta, jossa bakteeri joutuu ohittamaan myös mm. kalan iholiman suo-
jamekanismit.



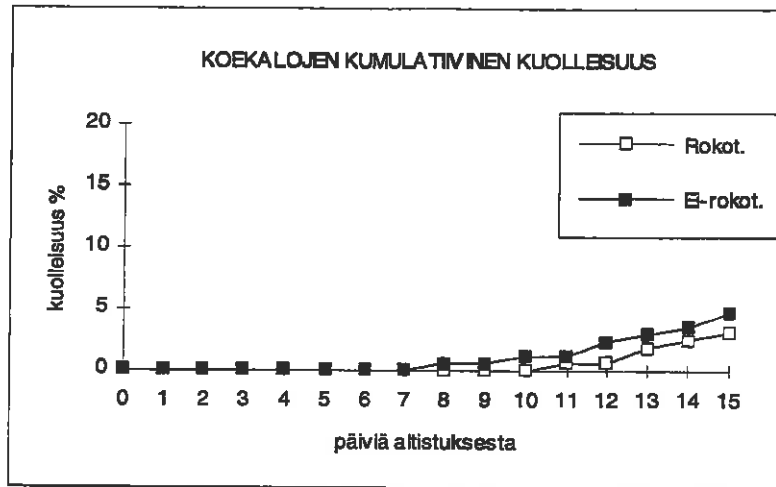
Kuva 14. Paisetautirokotteella rokotettujen ja rokottamattomien 1-v lohien yhteenlaskettu kumulatiivinen kuolleisuus Kuopion koejakson aikana 27.8.—7.9.1994.

3.4.2. Laukaan altistuskokeen seurantajakso liian lyhyt

Injektoimalla tartutettuja "altistajakaloja" laitettiin 6 yksilöä altaisiin 1—6. Ensimmäiset altistetut kuolivat 4 vrk injektion jälkeen. Huipussaan kuolleisuus oli 5. päivänä, 6. päivänä injektion jälkeen kuoli yksi kala ja 12. päivänä vielä yksi. Altistajakalojen kokonaiskuolleisuus oli vain 69,4%, ja kuolleisuus jakaantui altaittain seuraavasti:



Ensimmäinen varsinainen koekala kuoli kahdeksan päivän kuluttua altistuksen aloittamisesta. Rokotetuista kaloista kuoli 2 viikon seurantajakson aikana 5 kalaa (3,1%) ja suolaliuokkeen saaneista 8 kalaa (4,7%) (kuva 13). Kontrollikalaja (altistamattomat) ei kuollut yhtään. Kaikki kuolleet kalat sairastivat paisetautia. Ulkoisia oireita kuten vertymiä oli vähän. Kidukset ja maksa olivat hyvin vaaleita, ja sisäelimissä esiintyi jonkin verran piste-
mäisiä vertymiä.



Kuva 13. Paisetautirokotteella rokotettujen kalojen (Rokot.) ja suolaruiskeen (Ei-rokot.) saaneiden kalojen yhteenlaskettu kumulatiivinen kuolleisuus Laukaan kahden viikon koejakson aikana.

Kokeen lopuksi kontrollikaloja lukuunottamatta kaikki kalat tapettiin ja tehtiin viljelmä munuaisesta. Paisetautibakteerin suhteen positiivisia kaloja todettiin seuraavasti:

Rokotetut: Allas 1: 0/54 Allas 3: 7/51 Allas 5: 2/52
 Kontrollit: Allas 2: 10/53 Allas 4: 5/54 Allas 6: 2/53

Kun nämä sairaat kalat lisätään kuolleisiin, Apoject-rokotteella rokotetuissa altaissa oli sairastuneisuus/kuolleisuus 8,6% ja suolaruiskeen saaneissa 14,8%.

Lopettamisen yhteydessä suurella osalla Apoject-rokotteella rokotetuista kaloista oli voimakkaita kiinnikkeitä ruumiinontelossa. 58,6%:lla suolisto oli pigmentoitunut, (mustan harmaa) ja suoli oli kutakuinkin koko pituudeltaan kiinni ruumiinontelon seinämässä. Vastaavaa ilmiötä ei tullut esille muissa 1-v näytteissä. Syytä näiden koekalojen runsaisiin sivureaktioihin ei tiedetä, mutta yksi mahdollisuus on altistuksen aiheuttama lisä-ärsytys.

Yhteenvetona kokeesta voidaan sanoa, että kalojen seurantajakso co-habitaatio- altistuksessa tulisi olla huomattavasti pidempi kuin kaksi viikkoa. Kokeen lopussa suoritettua viljelyssä tuli esille vielä huomattava määrä sairaita kaloja, jotka olisivat todennäköisesti kuolleet muutaman päivän sisällä. Seurantajakso tulisi olla ainakin neljä viikkoa. Co-habitaatiossa on hyvänä puolena se, että altistus taudille tapahtuu luonnollisesti sairaiden kalojen välityksellä. Tauti ei ole niin raju kuin piikittämällä altistettaessa. Huonona puoleena on kokeen mitoitus niin, että kaikki altaat ja kaikki kalat saisivat samansuuruisen bakteeriannoksen. Esim. tässä kokeessa kävi niin, että altistajakalat eivät kuolleet kaikki, jolloin koe-altaissa oli eri määrä sairaita tartuttajia. Altistajille annettavan bakteeriannoksen tulisi olla niin iso, että kaikki kuolevat.

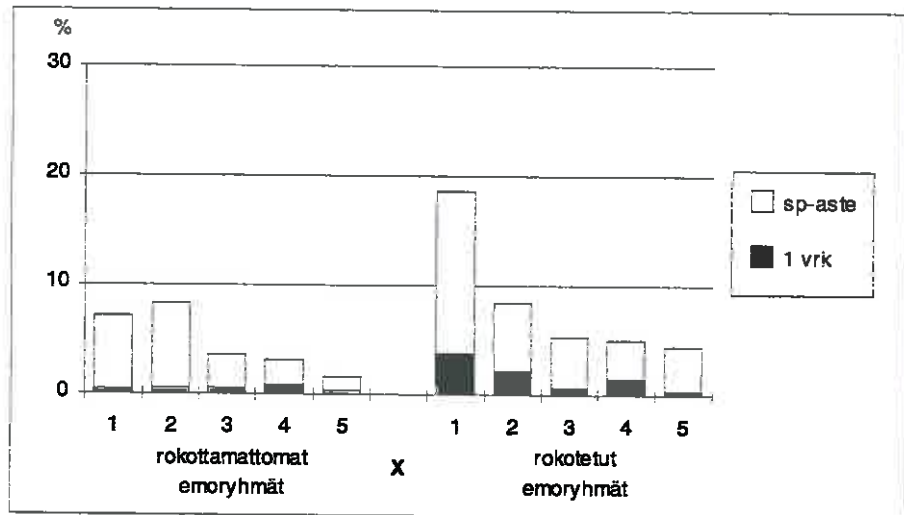
3.5. Kaksi ruumiinonteloon annettua rokotusta ei vaikuttanut meritaimenen mädin määrään, hedelmöittävyyteen eikä kuolleisuuteen

Mätiryhmistä tutkittiin tilavuus, paino, hedelmöittävyys sekä kuolleisuus 1 vrk hedelmöityksen jälkeen ja silmäpisteasteella. Mätiryhmät koostuivat viiden emon mädistä ja ryhmiä oli viisi rokotetuissa ja rokottamattomissa. Mätiryhmien tilavuus ja paino mitattiin turvotuksen jälkeen hedelmöitystä seuraavana aamuna. Mätiryhmien tilavuuksissa ja painoissa ei ollut merkitseviä eroja rokotettujen ja rokottamattomien välillä (t-testi).

Taimenten mädin hedelmöittävyys tarkastettiin seuraavana aamuna heti aseteille siirron jälkeen. Rokotetuilla ja rokottamattomilla oli 15 asetta molemmilla (3/emoryhmä, 2 500—3 000 munaa/asetti) ja kultakin asetilta tutkittiin mikroskoopilla noin 30 munaa. Hedelmöi-

tyvyydessä (vähintään nelisolaste) ei ollut eroja rokotettujen ja rokottamattomien välillä (t-testi).

Kuolleisuus mätiryhmittäin vuorokausi hedelmöityksen jälkeen ja silmäpisteasteella sekä mädin kokonaiskuolleisuus on esitetty kuvassa 15. Kaikenkaikkiaan kuolleisuus oli vähäistä, mutta yhdessä mätiryhmässä rokotetuissa oli muita korkeampi kuolleisuus sekä hedelmöityksen jälkeen että sp-vaiheeseen mennessä ja näinollen myös kokonaiskuolleisuus oli korkeampi (=18%). Eron on todennäköisesti saattanut aiheuttaa yhden emon muita huonolaatuisempi mäti. Erot kuolleisuudessa (1-vrk, sp-aste, kok. kuolleisuus) eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä rokotettujen ja rokottamattomien ryhmien välillä (Mann-Whitneyn U-testi).



Kuva 15. Mädin kokonaiskuolleisuus (%) viidessä rokotetussa ja rokottamattomassa emoryhmässä jaoteltuna 1 vrk hedelmöityksen jälkeen sekä silmäpistevaiheeseen mennessä. Yksi emoryhmä koostuu viidestä emosta. Kukin emoryhmä oli jaettu kolmelle asetille.

4. JOHTOPÄÄTÖKSET

Saatujen kokemusten perusteella öljypohjaisia rokotteita voi suositella käytettäväksi sekä istutuspoikas-, ruokakala- että emokalaviljelyssä. Apoject 1-Fural rokote näytti tämän tutkimuksen valossa suojaavan paisetaudilta hyvin ja haitallisia sivureaktioita todettiin vain vähän. Lihakseen rokottamista ei voida suositella, koska pistokohtaan muodostui useissa tapauksissa selvä verestävä tulehdusreaktio. Pistotekniikalla on todennäköisesti suuri vaikutus vaurioiden syntyyn.

1-vuotiailla merilohilla tehdyssä altistuskokeessa rokotettuja kuoli 17,7% ja rokottamattomia 63%. Tulosta voidaan pitää hyvänä, koska suoraan ruumiinonteloon annettu bakteeriansa on kalalle hyvin rankka altistustapa, eikä se vastaa ns. luonnollista altistusta, jossa bakteeri joutuu ohittamaan myös mm. kalan iholiman suojaimekanismit.

Rokotus käynnisti vasta-aineiden tuotannon sekä meritaimenella, merilohella että kirjolohella. Vasta-aineiden muodostumisnopeus oli riippuvainen veden lämpötilasta siten, että syksyllä rokotetuilla taimenilla veren vasta-aineiden määrä nousi vasta seuraavana keväänä, kun vesi alkoi lämmetä. Nousu oli kuitenkin nopeata ja vasta-ainetaso oli erittäin korkealla vielä vuosi rokotuksen jälkeen. Keväällä rokotetuilla merilohilla vasta-aineiden määrä nousi muutaman viikon kuluttua rokotuksesta. Taso oli tällöin vielä melko matala, mutta nousi kesän loppua kohti.

Syysrokotuksen etuna kevätrokotukseen verrattuna on mm. se, että suoja on todennäköisesti kehittynyt jo ennen mahdollisten "tautioppiikkien" esiintymistä.

Rokotuksen antaman suojan kestoa on vaikea arvioida, koska tällä hetkellä ei ole tietoa siitä miten paljon vasta-aineita kalalla tulisi olla, jotta se olisi vastustuskykyinen paisetautia vastaan eikä soluvälitteistä vastetta voida mitata helposti. Tässä kokeessa kirjolohella saatujen tulosten perusteella keväällä annetun rokotuksen jälkeen vasta-ainetaso pysyi suhteellisen korkeana kahden kesän ajan, mikä kirjolohen viljelykiertoa ajatellen on yleensä riittävä aika.

Emokalaviljelyssä uusintarokotus on todennäköisesti tarpeen. Tässä tutkimuksessa vuoden välein taimenen ruumiinonteloon annettu rokotus piti vasta-ainetason korkealla, eivätkä rokotukset vaikuttaneet mädin määrään eivätkä laatuun. Rokotettujen ja rokottamattomien emoryhmien välillä ei todettu merkitseviä eroja mädin määrässä eikä kuolleisuudessa, joka tutkittiin yksi vuorokausi hedelmöityksen jälkeen sekä silmäpisteasteella. Toisaalta vuoden välein tapahtuva uusintarokotus voi olla tarpeeton. Kirjolohella saatujen tulosten valossa kahden vuoden välein tapahtuva uusintarokotus saattaa olla riittävä, mutta asian varmistaminen vaatii joko kokeellista näyttöä tai "käytännön" vahvistusta.

Vatsaonteloon rokotetuilla kaloilla havaitut sivureaktiot olivat yleensä lieviä tai kohtalaisia. Jonkun verran kiinnikkeitä oli muodostunut suoliston ja vatsaontelon seinämän välillä. Lisäksi suolia ympäröivässä rasvassa esiintyi mustaa melaniinipigmenttiä, joka kuitenkin poistui perattaessa. Vain pienellä osalla (<10%) esiintyi sellaisia muutoksia, jotka olisivat näkyneet teuraskalassa.

Kuluttajat tuskin kiinnittävät huomiota vatsakalvon lieviin tai vatsaontelon elinten kohtalaisiin kiinnikkeisiin, ja ne poistuvat lisäksi perattaessa. Lihakseen ulottuvien tai selvästi vatsakalvon ulkonäköä muuttavien sivureaktioiden vuoksi on kuitenkin mahdollista, että osa kaloista joutuu laatuluokitukseen perustuen prosessikalaksi. Tämänkaltaisia sivureaktioita esiintyi kuitenkin hyvin vähän.

Tärkeätä on kuitenkin muistaa, että pistotekniikalla on todennäköisesti keskeinen merkitys vaurioiden syntyyn - harjoitus tekee mestarin tässäkin lajissa.

Tärkeätä olisi jatkossa tutkia öljypohjaisten rokotteiden tehoa käytännön viljelyssä. Vastakentältä saadut kokemukset kertovat "totuuden" rokotteiden tehosta. Merialueella kannat-

taa ensisijaisesti testata uusia öljypohjaisia vibrioosi-paisetauti yhdistelmärokotteita, jotka on todettu vielä tehokkaammiksi kuin pelkkä paisetautirokote (Pohjanvirta 1995).

Varsinkin kirjolohilla tulisi testata pistorokotuksen minimikoko ja lämpötilarajat, samoin kuin rokotuksen vaikutus kalojen kasvuun. Lisätutkimuksia tarvitaan myös oikean rokotusajankohdan löytämiseksi suhteessa viljelykiertoon.

Tehokas rokotus paisetautia ja vibrioosia vastaan tulee toivottavasti lähitulevaisuudessa olemaan rutiinia varsinkin merialueen ruokakalakasvatuksessa. Antibioottien käyttöä ja jäämiä tullaan seuraamaan aikaisempaa huomattavasti tarkemmin. Mikäli voidaan osoittaa antibioottien käytön selvästi vähenevän kalankasvatuksessa, on sillä varmasti positiivinen vaikutus myös kuluttajien asenteisiin.

Kiitokset

Tekijät haluavat kiittää lämpimästi Laukaan ja Tervon kalantutkimuksen ja vesiviljelyn henkilökuntaa hyvin sujuneesta yhteistyöstä, sekä Lauri Urhoa, Päivi Eskelistä sekä Tuula Lundénia arvokkaista kommentteista käsikirjoitukseen. Lena Söderholm-Tanalle kiitokset avustamisesta näytteenotossa.

Kirjallisuus

Pohjanvirta, T. 1995. Uusista kalarokotteista. Esitelmä Kalaterveyspäivänä 16.2.1995. Kuopio. EELA, Helsinki. Moniste s. 15-16.

Rahkonen, R. Kilpelä, S.-S. ja Pasternack, M. 1995. Lohikalojen paisetauti ja sen torjunta. Kirjallisuuskatsaus. Kalatutkimuksia-Fiskundersökningar 94. 47 s.

Thorarinsson, R. 1994. Biojec-dokumentasjon av tre smoltgenerasjoner. Norsk Fiskeoppdrett 3/94, s. 42-43.

Liite 1.

Taulukko 1. Rokotettujen ja rokottamattomien meritaimenten pituus ja paino (x, S.D.) 18.10.1993.

	Mitattujen lkm	Pituus cm (S.D.)	Paino g (S.D.)
Rokottamattomat kalat	21	32 (2,2)	365 (88,8)
Ruumiinonteloon rokotetut	30	32 (2,8)	396 (96,5)
Lihakseen rokotetut	30	32 (2,5)	381 (84,8)

Taulukko 2. Näytteeksi otettujen (veri, sivureaktiot) rokotettujen ja rokottamattomien meritaimenten pituus- ja painotiedot (x, S.D.).

Pvm	Ei rokotusta		Rokotus lihakseen			Rokotus ruumiinonteloon			
	kpl	cm (S.D.)	g (S.D.)	kpl	cm (S.D.)	g (S.D.)	kpl	cm (S.D.)	g (S.D.)
05.01.94	11		292 (83,2)	13		307 (90,7)	18		322(48,4)
19.05.94	12	34 (1,9)	408 (73,5)	13	34 (1,9)	401 (76,3)	13	34 (1,8)	396(64,2)
10.10.94							30	40 (3,1)	780 (205)
11.05.95	12	42 (2,5)	829 (168)				15	40 (3,6)	787 (213)
16.10.95	15	47 (3,7)	1330 (337)				15	46 (4,5)	1279 (387)

Taulukko 3. Rokotettujen ja rokottamattomien kirjolohien pituus ja paino (x, S.D.) eri näytteenottoajankohtina.

	24.08.94			18.05.95		25.10.95		
	kpl	cm (S.D.)	g (S.D.)	kpl	g (S.D.)	kpl	cm(S.D.)	g(S.D.)
Ei rokot.				11	814(109)	15	53 (3,6)	2173(440)
Rokotetut	11	34 (1,6)	633(111)	11	1038(187)	15	55 (4,6)	2707(636)

Taulukko 4. Kokeelliseen paisetautialtistukseen siirrettyjen 1-v rokotettujen ja kontrollilohien (NaCl-injektoidut) pituus ja paino (x, S.D.) siirtohetkellä 19.5.1994.

	Mitattujen lkm	Pituus cm (S.D)	Paino g (S.D)
Apoject-rokotetut	40	14 (0,7)	29 (7,3)
NaCl-injektoidut	40	14 (0,9)	28 (5,5)

Taulukko 5. Rokotettujen ja kontrollikalajien (=NaCl-injektoidut) pituus ja paino (x, S.D.) ennen paisetautialtistusta 23.6.1994.

	Mitattujen lkm	Pituus cm (S.D)	Paino g (S.D)
Apoject-rokotetut	15	16 (0,7)	38 (5,7)
NaCl-injektoidut	15	16 (0,9)	41 (7,8)

Liite 2.

Tietoja altistuskokeen vesityksestä sekä poistoveden desinfiointista

Jokaisen altaan virtaukseksi mitattiin 0,1 l/s. Altaiden pinta-ala oli 1,63 m² ja veden korkeus 0,17-0,22 m. Veden määrä altaissa oli siten 277-359 litraa, keskimäärin 310 l. Systemin ylivirtaus oli 0,2 l/s, joten poistoveden määrä oli 1 l/s.

Altaista lähtevä poistovesi desinfioidiin syöttämällä annospumpun avulla natriumhypokloriittia (P₃-Hypo) 17 l/vrk, jolloin aktiivista klooria tuli poistoveteen 20 ppm (g/m³). Poistovesi virtasi keräilykaivoon, jonka vedestä osa tyhjentyi 55 minuutin välein desinfiointikaivoon. Desinfiointikaivosta poistui noin 1/3 vedestä 55 minuutin välein. Poistovesien viipymäksi kaivoissa tuli siten enimmillään noin neljä tuntia ja vähimmillään noin tunti, keskimäärin kuitenkin 2-3 tuntia.

Kaivoista mitattiin aktiivisen kloorin määrää (=hapetuskykyä) Aquamerck® 14670 määritysmenetelmällä. Desinfiointikaivosta lähtevässä vedessä aktiivista klooria oli vielä noin 5 g/m³. Desinfiointitehon varmistamiseksi desinfiointikaivon vedestä tehtiin bakteeriviljelmiä maljoille muutamia kertoja, samoin koealtaan vedestä.

KALATUTKIMUKSIA – FISKUNDERSÖKNINGAR

Aiemmin ilmestyneitä julkaisuja

75. NYLANDER, E. ja PRUUKI, V.:

Tornionjoen vesistön kalastustilastot vuosilta 1991 ja 1992.

(Fiskestatistik för Torne älvs vattensystem, åren 1991–1992.) (The Fishery Statistics of the Tornionjoki River Basin in 1991 and 1992). 26 s. + 10 liites. Helsinki 1994.

76. AALTO, J. ja RAHKONEN, R.:

Gyrodactylus salaris -loisen esiintyminen, haitallisuus ja torjunta.

(Förekomst, skadlighet och bekämpning av parasiten (*Gyrodactylus salaris*.) (The Distribution, Adverse Effects and Prevention of the Parasite (*Gyrodactylus salaris*)). 50 s. + 2 liitettä. Helsinki 1994.

77. VEHANEN, T.:

Järvitaimenistutusten tuloksellisuus Pohjois-Suomessa.

(Resultat av utplantering av insjööring i norra Finland.) (Importance of Environment and Stocking Density for the Efficiency of Brown Trout Stocking in Northern Finland.) 50 s. + 2 liitettä. Helsinki 1994.

78. TAMMI, J. ja KUIKKA, S.:

Hauen ravinnonkäytön ajallinen ja alueellinen vaihtelu kutuaikana.

(Gäddans näringsanvändning -temporära och spatiella variationer under lektiden) (The Spatial and Temporal Variation in the Food and Food Consumption of Northern Pike (*Esox lucius* L.) during the Spawning Period). 43 s. Helsinki 1994.

79. KEMPPAINEN, S.:

Kiiminkijoen vapakalastuksen kehitys vuosina 1989–1992.

(Utvecklandet av spöfisket i Kimminge älv åren 1989–1992.) (The Development of Rod Fishing in the River Kiiminkijoki from 1989–1992). 39 s. + 7 liitettä. Helsinki 1994.

80. MÄKI-PETÄYS, A., MUOTKA, T., TIKKANEN, P., HUUSKO, A., KREIVI, P. ja KUUSELA, K.:

Kokoluokkien väliset erot taimenen poikasten mikrohabitaattien käytössä.

(Forellungens utnyttjande av mikrohabitat: skillnader mellan olika storleksklasser.) (Size-Class Differences in Microhabitat Use by Juvenile Brown Trout.) 38 s. + 6 liitettä. Helsinki 1994.

81. HUUSKO, A., VEHANEN, T. ja KORHONEN, P.:

Järvitaimenistutusten tuloksellisuus Kuusamon alueella vuosina 1972–1988 Carlin- merkkipalautuksiin perustuen.

(Resultaten av utplanteringar med insjööring i Kuusamo med hjälp av Carlin-märkningarna åren 1972–1988.) (Results of Stocking with Carlin-Tagged Brown Trout (*Salmo trutta* L.) in the Kuusamo Area in 1972–1988.) 41 s. Helsinki 1994.

82. SALMI, P., JUVONEN, L., LAAMANEN, K., PIIPPONEN, M. ja PITKÄNEN, M.:

Kenen ehdoilla kalavaroja hyödynnetään? Onkamojärven kalastuskiistan taustoja.

(På vars villkor utnyttjas fiskresurserna? Bakgrundsfaktorer angående fiskekonflikten kring sjön Onkamojärvi.) (On whose terms will the fish resources be harvested? Some background of the Lake Onkamo fishery conflict.) 33 s. Helsinki 1994.

83. SALMI, J., SALMI, P. ja SETÄLÄ, J.:

Ammattikalastajien kalan markkinointi. Ongelmat ja kehittämisedellytykset Pohjois-Satakunnan rannikolla.

(Yrkesfiskarnas marknadsföring av fisk. Problem och utvecklingsförutsättningar längs kusten i norra Satakunda.) (The marketing of fish products by professional fishermen. Problems and advancement in the Bothnian Sea.) 96 s. Helsinki 1994.

84. MIKKOLA, J. ja SAURA, A.:

Viemäristä lohijoksi –Vantaanjoen vaelluskalatutkimuksia vuosilta 1987–1993.

(Från kloak till laxälv –Vandringsfiskundersökningar i Vanda åren 1987–1993) (From sewer to salmon river – studies on migratory fish in the River Vantaanjoki from 1987–1993). 103 s. Helsinki 1994.

85. Valtion kalanviljelyn XVIII neuvottelupäivät.

(Statens XVIII fiskodlingskonferens) (State fish culture conference, No. XVIII). Yrjö Lankinen ja Juhani Pirhonen (toim.). 102 s. Helsinki 1994.

86. LAAMANEN, M., AHVONEN, A. ja JUTILA, E.:

Metsätalouden toimenpiteiden vaikutus Isojoen vesistön kalastukseen ja vesistön tilaan – tiedustelututkimus.

(Effekter av skogsbruksåtgärder på fisket och på vattendragets tillstånd i Isojoki-Lappfjärds å — Gallupundersökning) (Effects of forestry on fish and fishing in the river Isojoki watercourse — questionnaire survey). 49 s. + liite. Helsinki 1994.

87. JUTILA, E., KARTTUNEN, V. ja NIEMITALO, V.:

Parempi kivi koskessa kuin kymmenen rannalla — Erialaisten kunnostusmenetelmien vaikutus taiminen poikasmääriin Iijoen sivujokien koskissa.

(Bättre en sten i forsen än tio på stranden — Olika restaureringsmetoders inverkan på öringsyngel i forsarna i Ijo älvs biflöden) (Better one stone in the rapid than ten on the bank — Influence of various restoring methods on the parr densities of brown trout in the rapids of the tributaries flowing into the Iijoki River). 29 s. + liite. 29 s. Helsinki 1994.

88. MAKKONEN, J., TOIVONEN, J., PIIRONEN, J., PURSIAINEN, M. JA MÄKINEN, K.:

Järvilohen (*Salmo salar* m. *sebago* Girard) säilyttäminen ja kalastus Vuoksen vesistössä Carlin-merkkintöjen perusteella.

(Bevarande och fiske av insjölox (*Salmo salar* m. *sebago* Girard) i Vuoksens insjösystem, undersökning med hjälp av Carlin-märkning) (Maintenance and fishing of landlocked salmon (*Salmo salar* m. *sebago* Girard) on the basis of Carlin-tagging in the Vuoksi watercourse) 65 s. + liitt. Helsinki 1995.

89. NYLANDER, E. JA ROMA KANIEMI, A.:

Tornionjoen meritaimen ja sen kalastus

(Havsöringen i Torne älv och havsöringsfisket) (Sea trout and fishing in the Tornionjoki River) 63 s. + liitt. Helsinki 1995.

90. URHO, L., KAUKORANTA, M., KOLJONEN, M.-L., LEHTONEN, H., LEINONEN, K., PASANEN, P., RAHKONEN, R. JA TOLONEN, J.:

Uusien kalalajien ja -kantojen tuonnin mahdollisuudet

import av nya fiskarter och -bestånd) (Possibilities for importing new fish species and stocks) 74 s. He (Möjligheter till s. 1995).

91. VEHANEN, T.:

Rakennettujen jokien kalataloudelliset edellytykset.

I. Kalakannat ja kalastus. II. Kehittämistiedustelut (Fiskeriekonomiska förutsättningar i utbyggda älvar. I. Fiskbestånd och fiske. II. Utvecklingsgallupar) (Fish stocks and fisheries in large regulated rivers in northern Finland. I. The current state and fish stocks and fisheries. II: Development enquiries) 39 s. + liitt. + 28 s. + liitt. Helsinki 1995.

92. SALMI, P., HUUSKO, A.:

Muikun talvinuotto ja muikkukannat Kuusamossa

(Vinternotfångst av siklöja (*Coregonus albula* L.) och siklöjebestånden i Kuusamo) (Winter seine fishing of the vendace (*Coregonus albula* L.) in the Kuusamo area, northern Finland with implications on stock dynamics) 42 s. + liite. Helsinki 1995.

93. URHO, L.:

Kalatait kalajien terveysriskinä.

(Fisklus som hälsorisk för fisken). Fish lice as a health risk for fish). 19 s. Helsinki 1995.

94. RAHKONEN, R. KILPELÄ S.-S., PASTERNAK, M.:

Lohikalajien paisetauti ja sen torjunta. Kirjallisuuskatsaus

(Furunkulos hos laxfiskar och bekämpning av den. Litteraturoversikt). (Furunculosis of salmonids and its prevention. A review of the literature). 47 s. Helsinki 1995.

95. KEMPPAINEN, S., NIEMITALO, V., LEHTINEN, E., PASANEN, P.:

Lohen ja meritaimen istutustutkimukset Kiiminkijoen

(Utplanteringsforskning gällande lax och havsöring i Kimuming älv). (Stocking research on salmon and sea trout in the River Kimumingjoki). 36 s. + 10 liitt. Helsinki 1995.

96. Kalakantojen monimuotoisuuden hoito. Valtion kalanviljelyn XIX neuvottelupäivät.

Toim. Petri Heinimaa ja Keijo Juntunen. (Statens XIX fiskodlingskonferens) (State fish culture conference, No. XIX). 40 s. Helsinki 1995.

97. KREIVI, P., MUOTKA, T., TIKKANEN P., HUUSKO, A., MÄKI-PETÄYS, A., KUUSELA, K.:

Taiminen poikasten ravinnonkäyttö Kuusamon Kuusinkijoen

(Öringsyngelns födottnyttjande i Kuusinkijoki i Kuusamo) (Diet composition and prey preferences of juvenile brown trout in the river Kuusinkijoki). 32 s. + 3 liitt. Helsinki 1995.

98. TURUNEN, J.-P.:

Ympäristöpoliittisten ristiriitojen sovittelumenettely. Esimerkkitaipauksena lohenkalastuksen järjestäminen.

(Medling i miljöpolitiska konflikter med laxfisket som exempel) (Environmental dispute resolution procedure for conflicts. A case study: the management of salmon fishing) 46 s. Helsinki 1995.

99. MUTENIA, A., JANTUNEN, P., SALMINEN, A.:

Avoperärysäpyynnin soveltuvuus siian kalastukseen Lokan ja Porttipahdan tekojärvillä.

(Ryssjor med öppen botten som fångstredskap i de konstgjorda sjöarna Lokka och Porttipahta) Fishing of whitefish with open-end trap nets in the reservoirs of Lokka and Porttipahta Reservoirs). s. 1-12 + liitt.

SALMINEN, A., MUTENIA, A.:

Ammatti- ja luontaiselinkeinokalastuksen kannattavuus Lokan tekojärvellä vuosina 1989-1991.

(Yrkes- och naturnäringens lönsamhet i Lokka konstgjorda sjö åren 1989-91) (Profitability of commercial and traditional fisheries in the Lokka reservoir from 1989-1991) s. 19 -34. Helsinki 1995.

100. Luonnontilan muutokset Konnevedessä - 25 vuotta vesiluonnon tutkimusta.

(Förändringar i sjön Konnevesis naturtillstånd - 25 års studier av insjönaturen) (Changes in the Natural State of Lake Konnevesi: Aquatic Research over Twenty-Five Years). Toim. Pentti Valkeajärvi. 167 s. Helsinki 1995.

101. Neutraloinnin vaikutukset happamoituneen metsäjärven ekosysteemiin. Iso Valkjärven kalkituskokeen tuloksia vuosilta 1990-1993

(Effekterna av neutralisering på ekosystemet i en försurad sjö Resultat av kalkningsförsöken i sjön Iso Valkjärvi under åren 1990-1993) Martti Rask ja Marko Järvinen (toim.). 84 s. Helsinki 1995.

102. KIRJAVAINEN, E.:

Haudontalämpötilan vaikutus ravun poikastuottoon ja poikasten laatuun

(Kläckningstemperaturens inverkan på kräftans yngelproduktion och yngelkvalitet) (The Effects of Incubation Temperature on the Fry Production of Crayfish and the Quality of Fry). 27 s. Helsinki 1995.

103. TAMMI, J.:

Rehevöitymisen vaikutukset kaloihin, kalakantoihin ja kalastukseen –kirjallisuuskatsaus

(Eutrofierings effekter på fisk, fiskbestånd och fiske – litteratöversikt) (The Effects of Eutrophication on Fishes, Fish Stocks and Fisheries – A Literature Review). 66 s. Helsinki 1996.

104. SAURA, A., MIKKOLA, J.:

Henkiin herätetty lohijoki — Kymijoen vaelluskalatutkimuksia vuosilta 1992—1994

(En laxälv som återuppstätt — Vandringsfiskundersökningar i Kymmene älv å 1992—1994) (Revived salmon river — Studies on migratory fish in the River Kymijoki from 1992—1994). 100 s. Helsinki 1996.

105. RAITANIEMI, J., HEIKINHEIMO, O., MIKKOLA, J.:

Vaellussiika — Uudenmaan rannikon tuottoisa istutuskala

(Vandringssiken — resultatik utplantering längs den nyländska kusten) (Whitefish (*Coregonus lavaretus* (L.)) — Successful Stocking on the Coast of the Province of Uusimaa). 28 s. Helsinki 1996.

106. KORHONEN, P., KOSKINIEMI, J., TOLONEN, K.:

Taimenen ja kotiutetun puronierjän tila Ylä-Kemijoen vuosina 1993 — 1994

(Öringens och den införda bäckrödingens situation i Kemi älvs övre lopp åren 1993 — 1994) (The State of Brown and Stocked Brook Trout Populations in the Upper Part of the Kemijoki River between 1993 and 1994). 42 s. + 8 liitt. Helsinki 1996.

107. LAPPALAINEN, A., PÖNNI, J.:

Suomenlahti kalastajan silmin — Tutkimus Suomenlahden likaantumista ja vapaa-ajankalastuksesta

(Finska viken ur fiskarens synpunkt — En undersökning av föroreningen av Finska viken och fritidsfisket) (The Gulf of Finland in the Fisherman's eyes — Pollution and Recreational Fishery in the Gulf on Finland). Helsinki 1996.

108. MAKKONEN, J., PIIRONEN, J., PURSIAINEN, M., TOIVONEN, J., KOLARI, I.:

Pyyntitavat heikentävät järvitaimenen istutustulosta — Vuoksen vesistöalueelle vuosina 1979 — 1992 tehtyjen Carlin-merkintöjen tulokset

(Utplanteringsresultatet för insjööring försämrats av fångstmetoderna — Resultat av Carlin-märkning i Vuoksi insjösystem åren 1979 — 1992) (Fishing methods decrease the impact of stocking brown trout — Results of Carlin tagging experiments in the Vuoksi watercourse from 1979 — 1992). 105 s. + liite. Helsinki 1996.

109. PYLKKÖ, P., POHJANVIRTA, T., PURSIAINEN, M.:

Nierjän (*Salvelinus alpinus*) silmäsamentumat

(Grumling av ögat hos röding (*Salvelinus alpinus*)) (Cataract of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*)). Helsinki 1996.

110. Istutuspoikasten elinkaari — mätimunasta saaliiksi. Valtion kalanviljelyn XX neuvottelupäivät.

(Utplanterade yngels livcykel — från rovkorn till fångst. Statens fiskodlings XX diskussionsdagar.) (Fish stocking — lifecycle from eggs to catch.) Jarmo Makkonen ja Markku Pursiainen (toim.). 103 s. + 4 liitt. Helsinki 1996.