



Elinkeino-, liikenne- ja
ympäristökeskus



EUROOPAN MERI- JA KALATALOUSRAHASTO
SUOMEN TOIMINTAOHJELMA
2014-2020



Uudet keinot vesihomeen torjumiseksi kalanviljelylaitoksilla (VEKKI)

Loppuraportti

Antti Nousiainen, Matti Janhunen, Eila Seppänen, Heikki Koskinen, Harri Vehviläinen, Päivi Pylkkö, Antti Kause

Päiväys 21.04.2023
Euroopan meri- ja kalatalousrahasto
Hankenumero 97749



Tiivistelmä

Vesihometauti on tällä hetkellä yksi haastavimmista kalataudeista vesiviljelyssä. Aiemmin vesihome esiintyi sekundaarisena tai opportunistisena, eli tuli kaloihin hiertymän, bakteerin tms. aiheuttamaan vauriokohtaan, ei levinnyt juuri vauriota laajemmalle ja parani pois. Nykyään, ainakin joillakin laitoksilla, tauti kykenee hyvinkin nopeasti leviämään pinnaltaan ehjiin kaloihin ja tappamaan ne. Vesihometaudin yleistyminen ja ärhäköityminen on aikaansaanut sen, että osa kalanviljelijöistä on luopunut tiettyjen taudille herkkien kalalajien-, kantojen tai ikäluokkien tuottamisesta suurten tuotantotappioiden ja -kustannusten vuoksi. Viljelyn ja istutusten varassa olevien uhanalaisten kalalajien, kuten Saimaan järvilohen, emokalastojen ylläpidossa ja istukkaiden tuotannossa vesihomeongelmat ovat kriittisellä tasolla.

Tässä hankkeessa vesihomeongelman ratkaisuna testattiin lohikalajien spesifistä rokottamista, kehitettiin steriilikalatekniikkaa ja lisäksi arvioitiin genomisen valinnan hyödyntämismahdollisuutta vesihomeresistenssin parantamiseksi. Hankkeessa testatulla kaupallisella monitehorokotteella on saatu aiemmin lupaavia tuloksia vesihomeen torjumisessa, vaikka kyseessä ei ole spesifisesti vesihometta vastaan kehitetty valmiste. Hankkeessa tehtyjen kokeiden perusteella monitehorokotteen ei havaittu parantavan järvilohen tai kirjolohen kykyä vastustaa vesihometta. Yhteenvetona rokotuskokeiluista voidaan todeta, ettei testattu monitehorokote toimi järvilohella vesihometartuntaa hillitsevästi ainakaan silloin, jos ensimmäinen rokoteannos annetaan 1-vuotiaille kaloille, eikä sitä tehosteta ennen toista ikävuotta, jolloin useimmat kalat saavuttavat taudille herkän smolttivaiheen. Jatkokokeissa monitehorokotetta tulisi testata kalojen eri ikävaiheissa rokotteen sekä tehosterokotteen antaman vasteen tutkimiseksi.

Steriilikalatekniikkaa kehittävässä osatyössä järvitaimenelle löydettiin 100 % triploidia-asteen antava käsittely, ja nämä tulokset ovat suoraan elinkeinon hyödynnettävissä esimerkiksi istukas- ja ruokakalatuotannossa. Taimenella erityisesti täysnaaras pohjaisen triploiditaimenryhmän kasvupotentiaalista saatiin lupaavia tuloksia ensimmäisenä kesänä, jolloin 2N- ja 3N-vertailuryhmiä kasvatettiin erillään. Triploiditaimenen selviytyvyyttä, kasvua ja terveysominaisuuksia on syytä tarkastella myös myöhempien elinkierron vaiheiden osalta ja vaihtelevissa ympäristöolosuhteissa. Myöhemmässä jatkokasvatusvaiheessa, jossa vertailuryhmiä pidettiin yhdessä, havaittiin triploidien kalojen suoriutuvan osin verrokkeja heikommin. Käytännössä triploidien kalojen tuotanto pidetään kuitenkin aina erillään lisääntyvistä kaloista, joten jatkoselvityksiäkin tulee tehdä erityisesti tällaisissa asetelmissä. Triploiditaimenen selviytyvyyttä, kasvua ja terveysominaisuuksia on syytä tarkastella myös myöhempien elinkierron vaiheiden osalta ja vaihtelevissa ympäristöolosuhteissa.

Genomista valintatyökalua kirjolohen vesihomekuolleisuuden vähentämiseksi ei saatu hankkeessa tehtyä, koska kirjolohella vesihomekuolleisuus oli vähäistä, eikä siinä pystytty tunnistamaan ominaisuuteen vaikuttavia geenimerkkejä. Sen sijaan ominaisuuksia, jotka liittyvät kiinteästi vesihomeen ilmenemiseen (erityisesti kalojen sukukypsyysikä) voidaan parantaa hankkeessa testatulla genomisella valinnalla. Kehitetyt laskennalliset menetelmät ja kerätyt aineistot käytetään jo aktiivisesti JALO-valintaohjelman jalostustyössä.

Jatkotutkimuksissa tarve on selvittää vesihometaudin taustatekijöitä mm. ympäristötekijöiden vaikutuksia ja yhteyksiä vesihomeen ilmentymiseen kalanviljelylaitosolosuhteissa. Lisäksi elintärkeää on jatkaa torjuntakeinojen testaamista ja kehittämistä vesihometautiin.

Sisällysluettelo

Tiivistelmä	1
1. Johdanto	3
2. Hankkeen tavoitteet	4
3. Tulokset ja niiden tarkastelu	5
3.1. Rokotuskoe.....	5
3.1.1. Järvilohi.....	5
3.1.2. Kirjolohi	7
3.2. Steriilikalatekniikka.....	8
3.2.1. Täysnaarasmenetelmän testaaminen järvilohella ja järvitaimenella.....	8
3.2.2. Triploiditekniikan optimointi järvilohelle ja -taimenelle	10
3.2.3. 2N- ja 3N-taimenryhmien jatkokasvatus	12
3.3. Vesihomeresistenssin geneettinen vaihtelu kirjolohella.....	17
4. Yhteenveto	21
5. Hankkeen toteutus	22
5.1. Liittyminen muihin hankkeisiin	22
5.2. Tiedottaminen ja julkaisut	23
6. Lähdeluettelo	24

1. Johdanto

Vesihomeet ovat yleisesti sisävesissä esiintyvien leväsienten (oomykeetit) ryhmä, joista pieni osa on kaloille haitallisia patogeenejä. Niiden aiheuttamat infektiot ovat Euroopan kalanviljelylaitoksilla esiintyvistä taudeista merkittävimpiä (van West & Beakes 2014). Myös suomalaisilla kalanviljelylaitoksilla vesihome on merkittävä tuotannollinen ongelma (Janhunen ym. 2019).

Vesihomeesta kärsivillä kalanviljelylaitoksilla kalatiheyksiä on jouduttu laskemaan ja joidenkin ikäryhmien kasvattaminen sekä kalojen eteenpäin toimittaminen on estynyt osittain tai kokonaan, mikä on aiheuttanut merkittäviä taloudellisia tappioita. Vesihomeinfektiot ovat myös merkittävä ekologinen, kalastomme monimuotoisuutta koskettava ongelma: ne uhkaavat viljelyllä ylläpidettyjä uhanalaisia lohikalakantoja, kuten järvilohen emokalastoja, jotka ovat vesihomeelle erityisen herkkiä (Janhunen ym. 2019). Vaikka ongelma voi ilmetä viljeltävillä lohikaloilla ympäri vuoden ja kaikissa elinkierron vaiheissa, voimakkaita taudinpurkauksia havaitaan erityisesti sukukypsymisen ja vaellusvalmiuden (smolttivaiheen) kehittymisen yhteydessä. Vesihome mielletään useimmiten ns. sekundääriseksi taudinaiheuttajaksi, joka iskee kalan ihon tai sitä suojaavan limapinnan vaurioitumisen seurauksena. Jotkut havainnot viittaavat siihen, että tiettyjä ensisijaisia taudinaiheuttajia, esim. bakteereja torjumalla, olisi mahdollista vaikuttaa myös vesihometaudin esiintymiseen.

Vesihomeinfektion seuraukset voivat olla vakavia, sillä vaurioituneen kalan ihokudoksessa kasvava vesihomerihmasto voi levitä edelleen kalan lihaksiin ja häiritä lopulta sisäelinten toimintaa (Bruno ym. 2010). Kalan pinnalla olevat vauriot häiritsevät sen suolatasapainon säätelyä, ja vesihomeen leviäminen kiduksiin haittaa kalan hapen saantia (Van den Berg ym. 2013). Vesihomeinfektion eteneminen johtaa tavallisesti kalan kuolemaan. Samalla kun vaaleaa vesihomekasvustoa havaitaan kalojen pinnalla, tautipaine lisääntyy kala-altaassa räjähdysmäisesti rihmaston muodostuksen käynnistämän itiötuotannon myötä (Thoen ym. 2010).

Vesihometaudin viimeaikainen yleistyminen on aikaansaanut sen, että osa kalanviljelijöistä on luopunut tiettyjen kalalajien, -kantojen tai ikäluokkien tuottamisesta suurten kalatappioiden ja tuotantokustannusten vuoksi. Esimerkiksi pyyntikokoisten (>50 cm) ja emokaloiksi kasvatettavien taimenten tuotanto on vähentynyt merkittävästi vesihomeen takia. Taudin ennaltaehkäisy ja hoito esimerkiksi perinteisesti käytetyin formaliinikylvetyksin on osoittautunut useimmiten tulokseltaan heikoksi. Koska formaliini voidaan lisäksi kieltää aiemmin tehokkaana pidetyn malakiittivihreän tavoin ympäristölle ja ihmisen terveydelle haitallisena kemikaalina, vesihomeen torjumiseksi tarvitaan kipeästi vaihtoehtoisia viljeltävien kalastojen hallintamenetelmiä.

2. Hankkeen tavoitteet

Hankkeessa testattiin kahta vesiviljelytekniistä keinoa, joilla lohikalojen vesihomeongelmaan voitaisiin mahdollisesti vaikuttaa. Nämä olivat kalojen spesifinen rokottaminen ja steriilikalatekniikka. Lisäksi vesihomekuolevuuden perinnöllistä vaihtelua selvitettiin kirjolohella. Hankkeen tulosaineisto kerättiin Luonnonvarakeskuksen Saimaan (Enonkosken) ja Kainuun (Paltamon) kalantutkimuslaitoksilla.

Rokotuskokeessa erityisesti *Flavobacterium psychrophilum* -taudinaiheuttajabakteeria vastaan suunnitellun kaupallisen monitehorokotteen vaikutuksia testattiin kahdella viljellyllä lohikalalajilla, uhanalaisella Vuoksen vesistön järviolohella ja kansallisen valintajalostusohjelman kirjolohella, niiden eri ikävaiheissa. Kyseisen rokotteen toimivuudesta on saatu aiemmin lupaavia tuloksia myös vesihomeen taltuttamisessa, mikä kannusti tarkempaan kokeelliseen tutkimukseen (Janhunen ym. 2019). Kokeella haettiin vastausta kysymykseen, vähentääkö tai ehkäiseekö rokotteen käyttäminen vesihometta poikas- ja emokalavaiheissa.

Hankkeen toisena osatyönä optimoitiin steriilikalamenetelmä (indusoitu triploidia) viljellylle järvitaimenelle ja järviolohelle hydrostaattisen paineen avulla. Steriilikalamenetelmä on käytössä vesiviljelyssä maailmanlaajuisesti ja tietyt maat (mm. Iso-Britannia, Espanja) edellyttävät steriilien taimenten käyttöä istutuksissa. Steriilikalatuotanto sopii sekä suurikokoiseksi ruokakalaksi että kalastettaviksi istukkaiksi kasvatettavien lohikalojen viljelymenetelmäksi, koska kalojen sukukypsymättömyydellä voidaan ehkäistä paitsi vesihomeen aiheuttamia tappioita myöskin parantaa kalamateriaalin tasalaatuisuutta. Sukukypsymättömien viljelyparvia voidaan saada aikaan täysnaarasparven ja siihen indusoidun triploidian (kolminkertaistettu kromosomisto, 3N) avulla. Koiraspuoliset lohikalat kehittävät sen sijaan triploideinakin ulkoiset sukupuoliomaisuudet, vaikkei niiden maiti hedelmöityskykyistä olekaan. Tavoitteena oli löytää molemmille lajeille mahdollisimman hyvä triploidia- ja täysnaarassaanto sekä kalamateriaalin laadun (elävyyden) tuottavat käsittelyt, joita voidaan soveltaa tuotantomittakaavassa sekä valtion (Luken) omistamilla että yksityisillä kalanviljelylaitoksilla. Triploidien taimenten varhaista menestymistä verrattiin perinteisellä tavalla tuotettuihin kontrolliryhmiin myös erilaisissa ympäristöissä järjestetyissä jatkokasvatuskokeissa.

Vastustuskykyisten kalojen viljelyn mahdollistamiseksi hankkeessa kehitettiin valintamenetelmää vastustuskyvyn parantamiseksi vesihometta vastaan. Tavoitteena oli ns. genomisen valinta, jossa lukuisilla DNA-markkereilla pystytään ennustamaan emokalojen perinnöllinen potentiaali vesihometaudin vastustuskyvylle. Tämä on erityisen hyödyllistä tapauksissa, joissa emokalasto halutaan pitää tautivapaana, vaikka kaupallisissa ympäristöissä on tauteja. Menetelmä on rutiinikäytössä mm. lohen valintaohjelmissa teuras- ja tautiominaisuuksien parantamisessa. Genomisessa valinnassa hyödynnetään koko genomien kattavaa tietoa ominaisuuden periytymisestä, eikä se nojaudu pelkästään muutamaankin laajavaikutteiseen geeniin.

3. Tulokset ja niiden tarkastelu

3.1. Rokotuskoe

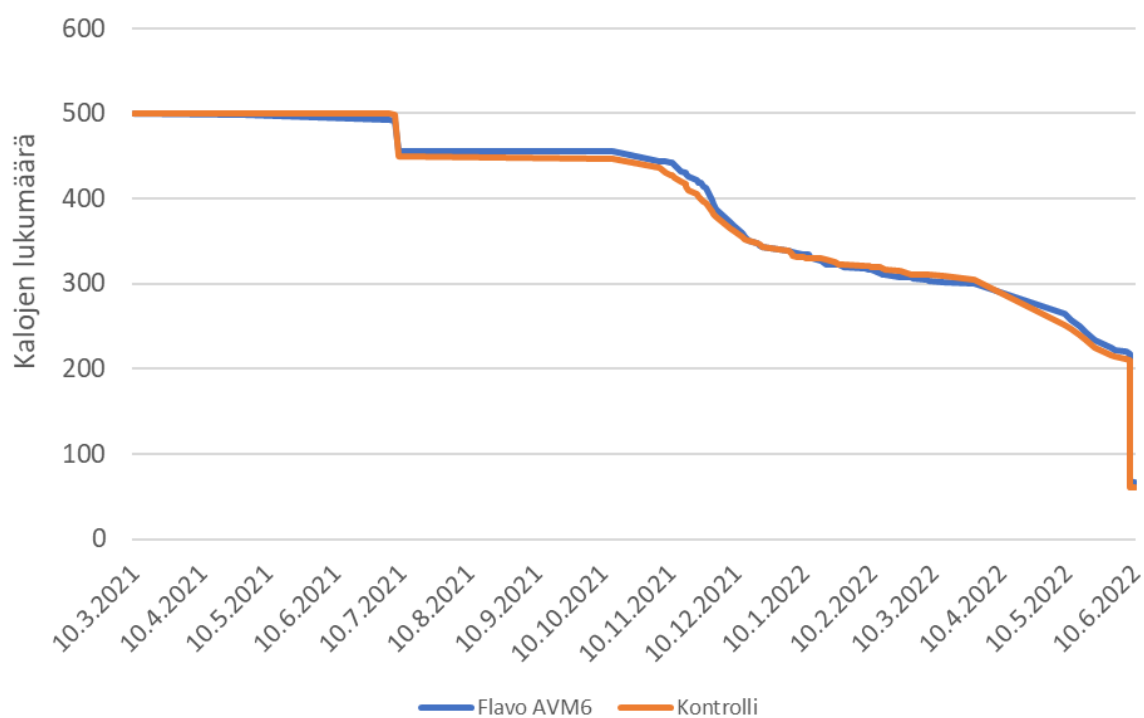
3.1.1. Järvilohi

Ensimmäisen koevuosiluokan (2018) käsittelyryhmät perustettiin 1-vuotiaalle järvilohille 11.4.2019 siten, että yhden ryhmän kalat rokotettiin PHARMAQ Autogen Flavo AVM6 - monitehorokotteella, toisen ryhmän kalat rokotettiin fysiologisella suolaliuoksella (B. BRAUN 0.9 % NaCl 500 ml; ns. rokotuskontrolli) ja kolmannen ryhmän kalat jätettiin rokottomatta (ns. aito kontrolli). Molemmissa rokotusryhmissä rokoteannos kalaa kohden oli 0,1 ml. Jokainen ryhmä sijoitettiin kolmeen 100 kalan toistoaltaaseen (2,1 m²), jolloin koekalojen kokonaismäärä oli alussa 900 (yhdeksään altaaseen jaettuna). Koeryhmien perustamisen yhteydessä kaikkien kalojen rasvaevät leikattiin. Kalojen keskipaino oli kokeen alussa 14,4 g. Kaloille järjestettiin tavanomainen hoito ja niitä ruokittiin kuivarehulla (automaattiruokinta).

Koekalojen siirto jatkokasvatukseen tehtiin kahden vuoden iässä 28.4.2020. Tuossa vaiheessa koekalojen yhteismäärä oli 828 ja keskipaino 158 g. Yhdestä rokotekontrollialtaasta oli aiemmin 6.6.2019 mennessä kuollut 40 kalaa (%) todennäköisen putkitukoksen vuoksi. Muissa altaissa kuolleisuus oli ollut toistaiseksi vähäistä (0–9 %) ja liittyi lisäksi yhden altaan kohdalla kuuden kalan hyppimiseen altaasta pois. Koeryhmät pidettiin edelleen erillään kolmessa 28 m²:n toistoaltaassa per ryhmä. Jatkokasvatukseen siirron jälkeen eri koeryhmissä ilmeni huomattavaa altaittain vaihtelevaa vesihomekuolleisuutta – taudinkuvalle tyypilliseen tapaan. Taudinpurkausta yritettiin hillitä kuhunkin altaaseen annetulla formaliinikylvetyksellä 29.5.–22.6.2020. Kesäkuun loppuun mennessä kaksivuotiaiden lohien vesihomekuolleisuus oli monitehorokotteella käsitellyissä parvissa keskimäärin 51,3 % (vaihteluväli kolmessa toistoaltaassa 49,0–51,0 %), kontrollirokoteryhmällä 36,4 % (4,2–96,7 %) ja rokottamattomalla kontrolliryhmällä 31,8 % (18,4–58,6 %). Heinä-syyskuun välisenä aikana vesihomeeseen kuolleita kaloja ei havaittu, mutta lokakuusta alkaen yhdestä monitehorokoteryhmän altaasta poistettiin vielä 16 ja yhdestä rokottamattoman kontrolliryhmän altaasta 24 homeeseen kuollutta järvilohia.

Kolmevuotiaat koekalat merkittiin yksilöllisesti PIT-mikrosiruilla 3.–10.3.2021 ja samalla rokotusryhmien kaloille annettiin toinen 0,1 ml annos (tehoste) joko monitehoista rokotetta tai suolaliuosta. Tuolloin yhteiskeskipainoltaan 726 g olevien koekalojen yhteismäärä oli 299. Kalojen kuolleisuus jatkokasvatukseen siirron (28.4.2020) ja merkintähetken välillä oli monitehorokoteryhmän kolmessa parvessa keskimäärin 74,5 % (66,0–88,7 %) ja vastaavasti kontrollirokoteryhmässä 55,6 % (25,0–100 %) ja rokottamattomassa kontrolliryhmässä 59,7 % (44,3–81,8 %). Yksilömerkintä mahdollisti koeryhmien yhdistämisen yhteen 28 m² altaaseen. Koko yhdistetty parvi siirrettiin vielä kertaalleen toiseen 63 m² kasvatusaltaaseen kuukauden kuluttua merkinnästä (8.4.2021). Kuolleiden kirjanpitoon merkittiin 14.4. yksi vesihomeeseen kuollut kala. Viikosta 19 alkaen (12.5.2021) koekalojen parvessa puhkesi kuitenkin erittäin aggressiivinen vesihomeinfektio, johon kaikki koekalat olivat kuolleet 21.5. mennessä.

Toisen koevuosiluokan (2020) rokotuskäsittely tehtiin aiemman tapaan yksivuotiaille järvilohille (keskipaino 13 g) 10.3.2021. Tällä kertaa rokotusryhmä oli 500 kalan vahvuinen ja se yhdistettiin 500 rokottamattoman kontrollikalan kanssa yhdeksi tuhannen kalan parveksi 2,1 m²:n altaaseen. Ryhmätunnisteena käytettiin rasvaeväleikkausta, joka oli tehty kontrolliryhmän kaloille jo ennen koekalojen otantaa. Myöhemmin koeparvi siirrettiin kokonaisuudessaan toiseen poikaskasvatushallin altaaseen (31.3.2021), siitä edelleen emokalahallin 28 m²:n altaaseen (14.10.2021) ja vielä kaksivuotiaana 65 m²:n ulkoaltaaseen (13.4.2022). Vesihomeeseen kuolleiden kalojen kirjausta ja poistoa jatkettiin kesäkuun 2022 alkuun asti, jolloin enemmistö molempien ryhmien kaksivuotiaista kaloista ehti menehtyä homeinfektioon (Kuva 1). Tuohon mennessä rokotusryhmän kuolleisuus oli 86,6 % ja kontrolliryhmän kuolleisuus vastaavasti 88,0 %. Kuolleisuuskuvaajasta käy ilmi, että vesihomeen aiheuttama kalapoistuma on taudille ominaiseen tapaan jaksottaista, eikä siinä esiinny eroa vertailuryhmien välillä.



Kuva 1. Vesihomeesta johtuva kalapoistuma Flavo AVM6 -monitehorokotteen saaneilla ja rokottamattoman kontrolliryhmän järvilohilla (vuosiluokka 2020). Kalojen rokotus ja testiparvi perustettiin 10.3.2021 ja kalojen kuolleisuutta seurattiin 10.6.2022 asti.

Yhteenvetona rokotuskokeiluista voidaan todeta, ettei testattu monitehorokote toimi järvilohella vesihometartuntaa hillitsevästi ainakaan silloin, jos ensimmäinen rokoteannos annetaan 1-vuotiaille kaloille, eikä sitä tehosteta ennen toista ikävuotta, jolloin useimmat kalat saavuttavat taudille herkän smolttivaiheen. Vanhemmalla vuosiluokalla käsittelyryhmien rinnakkaisissa altaissa esiintyi huomattavaa vaihtelua vesihomeeseen kuolleissa kaksivuotiaissa kaloissa, mikä kuvastaa hyvin tiedettyä taudin arvaamattomuutta. Jälkimmäinen rokote annettiin kaloille vasta 24 kk ensimmäisen rokoteannoksen antamisen

jälkeen, jolloin mahdollinen tehostevaikutus on voinut heiketä olemattomaksi. Mikäli vastaavia rokotuskokeiluita vielä järvilohella jatkettaisiin, voisi varhennetun (esim. 1+-iässä annettavan) uusinta-annoksen vaikutusta testata, ja lisäksi rokote- ja kontrolliryhmät tulisi pitää erillään koko seurantajakson ajan.

3.1.2. Kirjolohti

Monitehorokotteen vaikutusta vesihomeeseen sairastuvuuteen testattiin myös kirjolohen valintajalostusohjelmassa Enonkosken laitokselle vuonna 2018 perustetulla vuosiluokalla. Ensimmäinen rokoteannos (0,1 ml) annettiin vuoden iässä (11.4.2019) 50 ohjelmaperheen 10 kalalle (keskipaino 70 g). Rokotekalat oli PIT-sirutettu hieman tätä aiemmin (27.2.–10.3.2019) valintaohjelman yksilömerkintöjen ohessa (keskipaino merkinnöissä $56,5 \pm 14,2$ g, $n = 500$ koekalaa). Rokotetut kalat laitettiin samaan jatkokasvatusaltaaseen yhdessä 5005 valintaohjelman emokalakandidaatin kanssa.

Valintaohjelman ja rokotusryhmän kirjolohet lajiteltiin kaksivuotiaana 20.–30.4.2020. Varsinaisten ohjelmakalojen joukosta poistettiin tuolloin selkärankavikaiset ja sukukypsät koiraat. Jatkoon menneiden kalojen määrät olivat tuolloin rokotusryhmässä 255 ja vastaavasti ohjelmakaloissa 2528 kalaa. Kalojen määrä oli siten puolittunut alkuperäisestä merkintämäärästä, mutta kuolleisuus ei kuitenkaan tässä vaiheessa liittynyt vesihomeeseen. Osa jatkosta poistuneista kaloista oli tunnistamattomia PIT-merkin tippumisesta tai mykistymisestä johtuen. Rokotetut ja terveet kirjolohet kerättiin lajittelun yhteydessä erilliseen altaaseen odottamaan tehosterokotuksia, jotka toteutettiin 13.5.2020 ($n = 253$ kalaa). Toisen rokotuksen saaneet kalat jaettiin viitenä 50–51 kalan ryhmänä erillisiin altaisiin yhdessä valintaohjelman emokandidaattien kanssa. Kevätlajittelua seuranneella kasvukaudella kalojen kuolleisuus oli vähäinen, ja syyskuun 2020 loppuun mennessä poistuma oli vain 26 kalaa (0,9 %).

Valintaohjelman syysmittaukset tehtiin kolmikesäisille kirjolohille 28.9.–14.10.2020. Tuolloin ohjelmaemokandidaateille tehtiin yksilölliset pituus- ja painomittaukset ja määritettiin sukupuoli ja -kypsyminen ultraäänilaitteella. Sukukypsät ohjelmakoiraat ($n = 1027$, keskipaino 3112 g) ja naaraat ($n = 963$, keskipaino 2946 g) jatkoivat valintaohjelmassa ja sijoitettiin ulkoallasalueelle lajittelun jälkeen. Parven seassa olleet rokotuskalat ($n = 206$) jatkoivat valintaohjelman muiden emojen joukossa. Vuosiluokan kaikki selkärankavikaiset ($n = 437$ kpl, 13 %) ja merkittömät yksilöt ($n = 133$) otettiin erilleen ja poistettiin vahvuudesta. Rokotetuista kaloista 31 poistettiin jatkosta, ja vastaavasti valintaohjelmasta poistettujen emokandidaattien määrä oli 1107, sisältäen myös terveet marrot (787 kpl). Kaikkiaan martokalojen osuus kaikista mitatuista kaloista oli 27 % ($n = 889$).

Emovalinta (27.–30.4.2021) ja sitä seuraavat valintaohjelman perhehedelmöitykset (4.–5.5.2021) suoritettiin kolmevuotiaalle kirjolohille. Emokalojen lajittelussa iso osa rokotusryhmän koiraspuoleisista kaloista poistettiin virheellisestä ryhmätunnuksesta johtuen parvesta aktiivisesti, eikä niiden mahdollista sairastuvuutta vesihomeeseen voitu siten selvittää. Jatkoseurantaan jätettiin lopulta vain 19 koirasta. Vesihome iski ainoastaan sukukypsiin koiraisiin toukokuun 2021 puolivälissä. Tuolloin kuolleita kirjattiin varsinaisten valintaohjelmassa käytetyistä koiraista 148 (69 %) ja rokotusryhmän koiraista 12 (63 %). Vaikka rokotettujen koiraiden määrä kutistui lopulta pieneksi ennen vesihomeen ilmaantumista, ei rokotuksen voida katsoa hillinneen kalojen sairastumista tautiin suhteessa rokottamattomiin.

Erilliset koehaudontaryhmät muodostettiin 16 rokotuskäsittelyn saaneelle ja 16 rokotamattomalle (kontrolliryhmän) emokalaparille 4.-5.5.2021. Yhteensä koeperheitä muodostettiin siten 32 kpl, ja ne sijoitettiin hedelmöityksen jälkeen erilleen satunnaisessa järjestyksessä haudontakaukalon kahdella asettimella oleviin lokeroihin. Jokaiseen lokeroon mitattu mätimäärä oli turvonneena noin 1 dl. Perheiden haudonnan onnistumista seurattiin säännöllisesti poistamalla ja laskemalla kuolleet alkioit (mätimunat) ja kuoriutuneet poikaset. Perheiden selviytyvydet määritettiin poistettujen ja lokeroihin jäljelle jääneiden elävien jälkeläisten perusteella eri ajankohdille. Niistä on esitetty 5.7., jolloin 100 % kaikkien perheiden elävistä alkiosta oli kuoriutunut, sekä sitä seurannut pienpoikasvaihe 31.8.2021 saakka.

Haudontaerien selviytyvyys oli keskimäärin hyvin alhainen, ja siinä oli suurta perheidenvälistä vaihtelua molemmissa vertailuryhmissä. Merkittävin osa kuolleisuudesta ajoittui kesäkuun puolivälin tienoille, noin kuukausi hedelmöityksestä. Peräti puolella perheistä selviytyvyys oli 0 % heinäkuun alkuun mennessä. Rokotekäsittelyistä ja kontrollivanhemmista tuotettujen perheryhmien välillä ei havaittu selviytyvyseroja mädinhaudonnan ja sitä seuranneen pienpoikasvaiheen aikana. Rokotuskäsittelyn ei toisin sanoen katsota vaikuttaneen kirjolohiemojen sukutuotteiden (lähinnä mädin) laatuun, mikä olisi ilmennyt hedelmöitymis-/haudontatuloksessa tai poikasten varhaisessa elinkyvyssä. Rokotetuista vanhemmista tehtyjen hedelmöityserien keskimääräinen eloonjäänti oli kuoriutumishetkellä $8,2 \pm 13,1$ (keskihajonta) % ja rokotamattomien kontrollivanhempien perheissä puolestaan $8,2 \pm 15,4$ %. Vastaavat luvut vajaan kahden kuukauden ikäisillä poikasilla olivat $7,4 \pm 12,4$ % ja $7,6 \pm 14,6$ %. Tuolloin vain neljällä perheellä selviytyvyys oli 30 % tai enemmän (maksimi 42 %) ja vastaavasti 25 perheellä vähemmän kuin 10 %.

3.2. Steriilikalatekniikka

3.2.1. Täysnaarasmenetelmän testaaminen järvilohella ja järvitaimenella

Täydellisen steriiliyden (sukukypsymättömyyden) varmistamiseksi indusoituun triploidiaan tulee yhdistää täysnaarastekniikka (Piferrer 2001). Täysnaarasparvia tuottaessa aidosta naaraasta saatavan mädin hedelmöitykseen käytetään maitia nk. käännettyistä koiraista (*eng. neomales*), jotka ovat saaneet lyhyen aikaa mietoa hormonirehua (esim. 17α -metyyli-testosteroni) alkuruokintavaiheessa. Hormonikäsittelyn ansiosta myös genotyypiltään naaraspuoleiset kalat tuottavat sukukypsyydessä hedelmöityskykyistä maitia, jolla hedelmöitettäessä kaikki syntyvät jälkeläiset ovat naaraita (Gomelsky 2003). Sukupuoleltaan käännettyjen koiraiden (XX-koiraat) hyödyntäminen vaatii niiden kasvattamisen sukukypsyyksiin, jonka jälkeen niitä voidaan käyttää hedelmöityksissä täysnaarasmädin tuottamiseen.

Ensimmäinen käsittelyryhmä ja kontrolli perustettiin vastakuoriutuneille järvilohille 16.5.2019. Molemmat ryhmät sijoitettiin omiin $2,1 \text{ m}^2$ altaisiinsa poikashalliin. Starttiruokinnassa koeryhmän (1500 kpl) kaloille annettiin lyhytkestoinen hormonirehukuuri kalojen sukupuolen kääntämiseksi. Hormonivalmisteena käytettiin erillisluvalla hankittua 17α -metyyli-testosteronia (MT), jota sekoitettiin starttirehuun pitoisuudella 1 mg/kg. Hormonirehukuurin kesto oli 800 päiväastetta, jonka jälkeen ruokintaa jatkettiin normaalilla kuivarehulla. Kontrolliryhmän kalat saivat normaalia kuivarehua hankkeen keston ajan. Molemmille ryhmille järjestettiin

tavanomainen hoito ja jatkokasvatus. Järvitaimenella koeryhmä ja kontrolli perustettiin kuten järvilohella 16.5.2019, mutta koeryhmässä MT pitoisuus oli 6 mg/kg ja kuurin kesto 1200 päiväastetta.

XX-koiraiden kasvattaminen sukukypsyyksiin vie aikaa ja resursseja. Tästä johtuen osatyössä tavoitteena oli määrittää koeryhmien kalojen sukupuolet mahdollisimman pian lyhytkestoisen hormonirehukuurin päätyttyä, jotta ennakkotieto ryhmien sukupuolijakaumasta olisi käytettävissä jatkokasvatuksessa. Sukupuolet määritettiin kahdella menetelmällä, joista geneettinen sukupuolen määrittäminen kudosnäytteistä hankittiin ostopalveluna ja histologisten leikkeiden valmistus samoin ostopalveluna, mutta tulosten analysointi tehtiin omana työnä.

Covid19-pandemian takia ensimmäisten käsittelyryhmien sukupuolen määrittäminen ei pystytty tekemään eikä uusia koeryhmiä perustamaan vuonna 2020. Koska hankkeessa tavoitteena oli täysnaaras pohjaisen steriilikalatekniikan kehittäminen, Enonkoskella kasvatuksessa olleita vuosiluokan 2017 kääntökoirastaimenia ($n = 500$ kpl, keskipaino 1800 g) päätettiin hyödyntää hankkeessa. Kudosnäytteet otettiin yksilöistä, jotka olivat ulkomuodoltaan sukukypsiä koiraita, mutta eivät valuneet maitia. Kudosnäytteistä määritettiin geneettiset sukupuolet ostopalveluna (koiraat $n=40$, naaraat $n=54$) ja kymmentä käännettyä koirasta käytettiin triploiditaimenryhmien perustamisessa Enonkoskella syksyllä 2020.

Toinen käsittelyryhmä (500 kpl) ja kontrolli perustettiin järvitaimenella 6.4.2021 ja järvilohella vastaavat ryhmät 30.4.2021. Ryhmien perustamisessa käytettiin samoja protokollia kuin vuonna 2019. Ensimmäisen kasvukauden jälkeen tammikuussa 2022 molemmilla kalalajeilla ryhmistä otettiin kudosnäytteet sekä sukupuolen geneettisiä määrittämiä ja histologiaa varten. Järvitaimenella kontrolliryhmässä (keskipaino $11,2 \pm 4,4$ g, $n = 10$) koiraita oli 40 % ja naaraita 60 %. Käsittelyryhmässä (keskipaino $14,7 \pm 6,4$ g, $n = 44$) koiraita oli 36 % ja naaraita 64 %. Järvilohella kontrolliryhmässä (keskipaino $10,6 \pm 2,6$ g, $n = 10$) koiraita oli 30 % ja naaraita 70 %. Käsittelyryhmässä (keskipaino $19,9 \pm 3,7$ g, $n = 43$) koiraita oli 37 % ja naaraita 63 %.

Kolmannet käsittelyryhmät (500 kpl) ja kontrollit perustettiin järvilohella ja järvitaimenella 6.5.2022. Ryhmien perustamisessa käytettiin samoja protokollia kuin vuonna 2019 ja 2021. Kesän jälkeen elokuussa 2022 molemmista ryhmistä otettiin kudosnäytteet sekä sukupuolen geneettisiä määrittämiä ja histologiaa varten. Järvilohella kontrolliryhmässä (keskipaino $5,9 \pm 1,9$ g, $n = 5$) koiraita oli 60 % ja naaraita 40 %. Käsittelyryhmässä (keskipaino $8,6 \pm 1,7$ g, $n = 20$) koiraita oli 55 % ja naaraita 45 %. Järvitaimenella kontrolliryhmässä (keskipaino $6,1 \pm 1,4$ g, $n = 5$) koiraita oli 80 % ja naaraita 20 %. Käsittelyryhmässä (keskipaino $3,7 \pm 0,76$ g, $n = 20$) koiraita oli 60 % ja naaraita 40 %.

Tämä osatyö hankkeessa toteutui yhden käsittelyn testaamisena molemmilla kalalajeilla vuosina 2019, 2021 ja 2022. Laajempia koeasetelmia ja menetelmän optimointia ei pystytty toteuttamaan Covid19-pandemiasta johtuen, jonka takia vuoden 2019 ja 2020 koeryhmien kanssa työskentely estyi. Koeryhmien sukupuolten määrittämisissä luotettavia tuloksia saatiin kudosnäytteiden geneettisistä analyyseistä sekä kontroleissa että käsittelyryhmissä. Histologisten näytteiden osalta tulokset olivat kontrolliryhmissä selkeät, mutta käsittelyryhmissä tulokset olivat hyvin vaihtelevat ja näytteiden tulkitseminen oli haasteellista. Saadut tulokset toimivat pohjana laajemmille jatkokokeille, joissa täysnaarastekniikkaa optimoidaan eri pitoisuuksien, keston ja ajoituksen osalta kummallakin kalalajilla.

3.2.2. Triploiditekniiikan optimointi järvilohelle ja -taimenelle

Heinäveden reitin kantaa olevan järvitaimenen ja Vuoksen vesistön (Saimaan) järvilohen triploidiatekniiikan optimointikokeet suoritettiin kahdessa vaiheessa Enonkoskelle hankitun painelaitteiston (RAM REMAN Ltd.) avulla. Kaikki koehedelmöitykset tehtiin hedelmöitysluosta apuna käyttäen ja koeryhmien selviytyvyyttä seurattiin haudonnan ajan laskien kuolleena poistettujen ja elävien lukumäärät poikaset kuoriutumiseen saakka. Triploidia-analyysit hankittiin ostopalveluna silmäpisteasteelle kehittyneistä alkioista. Yhteenveto triploidikäsitteilyjen tuloksista hankkeessa on koottu taulukkoon 1.

Ensimmäisenä vuonna (2019) 100 %:n triploidiasaannon tuottavaa käsittelyä haarukoitiin kolmea eri painearvoa käyttäen (8500, 9000 ja 9500 psi) pitämällä hedelmöityksen ja paineistuksen aloittamisen välisen odotusajan minuuttiasteet (30 min x 10 °C = 300) sekä paineistuksen kesto (5 min) vakiona. Triploidiatestauksen ensimmäinen vaihe suoritettiin järvilohella 16.10. ja järvitaimenella 21.10.2019. Järvilohella 22 naaraasta (vuosiluokka 2016) lypsetty mäti yhdistettiin ja hedelmöitettiin viiden koiraan (vuosiluokka 2017) yhdistetyllä maidilla. Taimenella kolmesta koiraasta (vuosiluokka 2017) yhdistettyä maitia käytettiin hedelmöittämään 50 naaraan (vuosiluokka 2016) yhdistetty mätiannos. Hedelmöitysten jälkeen molempien lajien kuhunkin painekäsittelyyn otettiin kolme n. 0,3 dl rinnakkaista mätiryhmää (toistoa), jotka paineistettiin samaan aikaan erillisissä harsoverkkopusseissa. Taimenella 0,3 dl:n mätierässä laskettiin olevan 176 mätimunaa. Varsinaisia painekäsittelyjä ei toistettu. Käsittelyn jälkeen rinnakkaiset mätierät laitettiin hautoutumaan asettimille erillisiin lokeroihin. Kontrollina toimivat paineistamattomat mätierät myös kolmena rinnakkaisryhmänä haudottuna (diploidi, 2N). Jokaisesta silmäpisteasteelle kehittyneestä haudontaerästä otostettiin 10 alkioita (mätimunaa) triploidia-analyysiin (yht. 120 alkioita per laji).

Toisella testikierroksella käytettiin molemmille lajeilla ainoastaan aiemmin 100 %:n triploidiasaannon antanutta painearvoa (9500 psi). Tuolloin paineistukset tehtiin rinnakkaisryhmille erikseen (aidot toistot). Varmentava testaus suoritettiin vuonna 2020 ainoastaan järvitaimenelle (20.10.), koska järvilohen laitosmätiä ei ollut tuolloin saatavilla. Taimenen täysnaarasryhmien tuottamiseksi käytettiin vuosiluokan 2017 kymmenestä käännetystä koiraasta lypsettyä maitiseosta ja sekasukupuolisten koeryhmien tuottamiseksi saman vuosiluokan kymmenestä aidosta koiraasta lypsettyä maitiseosta (400–500 µl maitia per koiras yhdistettynä). Molempia maitiseoksia käytettiin hedelmöittämään kymmenestä naaraasta (vuosiluokka 2017) yhdistettyä mätiannosta, johon otettiin alun perin n. 1 dl mätiä naarasta kohden. Hedelmöitetyissä koe-erissä yhdistettyä mätiä oli 0,75 dl. Sekä normaalikoiraiden että kääntökoiraiden maidilla hedelmöitetyistä mätieristä muodostettiin edelleen painekäsitellyt triploidiaryhmät sekä kontrolliryhmät (2N), jolloin koeryhmien yhteismäärä oli 12 (kolme rinnakkaista ryhmää neljässä käsittelyssä). Käsitellyt ja kontrollierät laitettiin haudontaan aiemman tapaan rinnakkaiset toistot erillään.

Järvilohen toinen, tarkentava koevaihe tehtiin 19.10.2021. Tuolloin 15 koiraalta (vuosiluokka 2019) yhdistettyä maitiseosta (200 µl per koiras) käytettiin hedelmöittämään 34 naaraan (vuosiluokka 2018) yhdistettyä mätiä (30 ml per naaras). Kuhunkin hedelmöityserään yhdistettyä mätiä otettiin 0,5 dl annokset, jotka hedelmöitettiin vuorollaan 400 µl maitiseoksella. Paineikäsitellyt tehtiin rinnakkaisille ryhmille erikseen, ja mätiryhmät (käsitellyt + kontrollit) vietiin hautoutumaan niiden kahden tunnin turvotuksen jälkeen.

Toisen testausvaiheen triploidia-analyysit tehtiin molemmilla lajeilla jokaisen painekäsittelyn rinnakkaisryhmän 30 ototetulle alkiolle ja vastaavasti kontrolliryhmien 15 alkiolle (yht. $n = 135$ per laji). Järvitaimenella 100 %:n triploidiasaannon tuottava käsittely saatiin aikaiseksi molemmilla koekerroilla 9500 psi:n painetta käyttäen, ja alkioiden selviytyvyyden havaittiin olevan tuolloin korkealla, kontrolliin vertautuvalla tasolla. Kyseinen käsittely poikkeaa hieman Prestonin ym. (2013) taimenelle optimoimasta käsittelystä, missä paineena käytettiin 10 000 psi:tä. Merkillepantavaa on, että varmentavalla testauskerralla myös kontrollista löytyi yksi triploidialkio. Tämä voi johtua joko näytteenotossa sattuneesta virheestä (todennäköisempi selitys) tai spontaanista luontaisesti aiheutuneesta triploidiaista.

Järvilohelta täydellisen triploidiasaannon tuottava paineistus jäi löytymättä. Vaikka kolmea painetta testaava kierros tuottikin täydellisen triploidiotoksen paineella 9500 psi, ei samalla paineella tehty varmennus tuottanut kuin 88 %:n triploidia-osuuden näytealkioille. Kyseisen triploidiakäsittelyn aikaansaama hienoinen elävyyden lasku kontrolliin verrattuna ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Järvilohen osalta triploidiakäsittelyn säädöt vaativat kuitenkin jatkoselvitystä.

Taulukko 1. Järvitaimenen ja -lohen eri käsittelyryhmien triploidiasaannot ja alkioiden selviytyvydet (keskiarvot \pm niiden keskivirheet) haudonnan aikana. Eri kirjaimilla merkityt selviytyvyysarvot eroavat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan (lajit ja niiden kaksi koetta erikseen analysoituna).

Laji	Koe [*]	Ryhmä	Paine (psi) ^{**}	°C-asteminuutit ^{**}	Triploidia-aste (%)	Selviytyvyys ^{***} (%)
Järvitaimen	1	Kontrolli			0.0 \pm 0.0	93.0 \pm 2.8 ^a
		Trip A	8500	300	63.3 \pm 12.0	89.6 \pm 1.3 ^a
		Trip B	9000	300	93.3 \pm 6.7	78.6 \pm 2.7 ^a
		Trip C	9500	300	100.0 \pm 0.0	89.0 \pm 1.7 ^a
	2	Kontrolli			2.2 \pm 0.3	93.3 \pm 0.2 ^a
		Trip C	9500	300	100.0 \pm 0.0	88.7 \pm 2.4 ^a
Järvilohi	1	Kontrolli			0.0 \pm 0.0	83.7 \pm 3.1 ^a
		Trip A	8500	300	46.7 \pm 6.7	18.7 \pm 6.0 ^b
		Trip B	9000	300	86.7 \pm 3.3	45.5 \pm 0.8 ^b
		Trip C	9500	300	100.0 \pm 0.0	68.7 \pm 4.1 ^a
	2	Kontrolli			0.0 \pm 0.0	79.2 \pm 7.2 ^a
		Trip C	9500	300	87.5 \pm 2.5	69.1 \pm 3.8 ^a

* Koevaiheessa 1 painekäsittelyjä ei toistettu (rinnakkaiset mätierät paineistettu yhtä aikaa), kokeissa 2 painekäsittely toistettu kolmesti

** Veden lämpötila aina 10 °C; aika hedelmöityksestä paineistukseen 30 min

*** Keskiarvojen erot testattu yleisellä lineaarisella mallilla käsittelyiden erisuuret varianssit huomioiden (muuntamattomat arvot)

3.2.3. 2N- ja 3N-taimenryhmien jatkokasvatus

Triploiditaimenen selviytyvyyttä elossa tiettyyn ajankohtaan, kasvua, evien kuntoa ja käyttäytymistä suhteessa diploiditaimeneen vertailtiin Luken Kainuun kalantutkimuslaitoksella, Paltamossa, jonne Enonkosken laitoksella tuotetut mätierät siirrettiin 2.2.2021. Erillisryhmiä oli neljä, käsittäen sekä 2N- että 3N-taimenten sekasukupuoliset (♂♀) ja täysnaaraspuoliset (♀♀) koe-erät. Ryhmät pidettiin erillään ensimmäisen kesän ajan syyskuussa 2021 toteutettuun yksilömerkintään asti, jolloin ne voitiin yhdistää samoihin kasvatusaltauksiin (nk. *common garden* -asetelma). Aineiston tilastolliset vertailut tehtiin yksilöaineistoon pohjautuvia yleisiä (kasvuominaisuudet) tai yleistettyjä (selviytyvyys) lineaarisia sekamalleja käyttäen. Niissä vertailuryhmä käsiteltiin kiinteänä ja kasvatusallas satunnaisena tekijänä. Lisäksi kasvuominaisuuksien malleissa jäännösvaihtelu estimoitiin erikseen eri ryhmille yhteisen vaihtelun sijaan, mikäli tämä paransi mallin sovitusta.

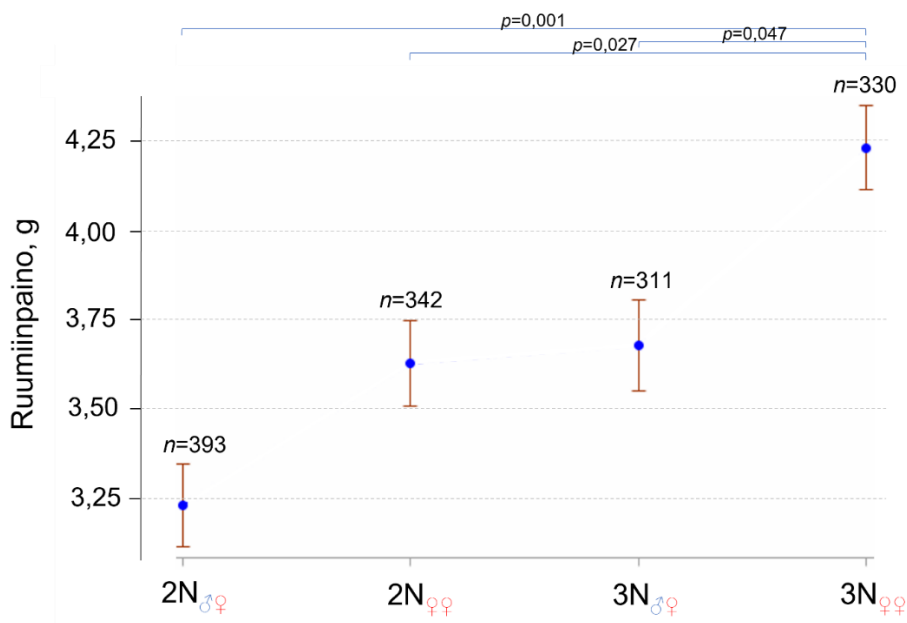
Silmäpisteasteelle kehittyneet alkio (mätimunat) sijoitettiin kolmessa ryhmäkohtaisessa 0,4 m² toistoaltaassa kelluviin neljään verkkopohjaiseen haudontalieriöön (yht. n. 50 mätimunaa per lieriö ja n. 200 mätimunaa per allas, yht. 12 allasta). Alkioiden kuoriutuminen alkoi 4.3. ja päättyi 29.3. Kuolleet mätimunat ja poikaset laskettiin ja poistettiin altaista säännöllisesti. Poikasten lukumäärät laskettiin altaittain ja tasattiin ryhmittäin 12.5. Tähän mennessä kuolleisuus oli säilynyt varsin maltillisena, ja eri altaista poistettujen mätimunien/ruskuaispussi-poikasten lukumäärät vaihtelivat välillä 3–21 (keskiarvo 7,5 kpl per allas, $n = 9$ allasta). Poikasten ruokinta aloitettiin kaupallisella kuivarehulla (Veronesi VITA 0,2 / 0,5 mm) 16.5. Hallin valaistus säädettiin mukailemaan luonnollista valorytmiä. Taulukossa 2 on esitetty ryhmäkohtaiset kuolleisuudet ensimmäisen kasvatuskesän ajalta. 3N-ryhmillä kuolleisuudet olivat keskimäärin jonkin verran 2N-ryhmiä korkeammat.

Taulukko 2. 2N- ja 3N-taimenryhmien poikasten keskimääräiset selviytyvyudet (\pm keskihajonnat) ensimmäisenä kesänä 12.5.–31.8.2021 ($n = 3$ toistoallasta per ryhmä). Molemmat ploidiairyhmät olivat edustettuina sekä sekasukupuolisina (♂♀) että täysnaarasparvina (♀♀).

Ryhmä	Selviytyvyys-%
2N♂♀	67,8 (12,2)
2N♀♀	69,8 (14,0)
3N♂♀	58,0 (10,6)
3N♀♀	62,2 (6,6)

Jatkokasvatusta varten eri vertailuryhmistä merkittiin 13.–14.9.2021 yksilöivillä PIT-mikrosiruilla (*Passive Integrated Transponders; Texas Instruments Inc.*) yht. 1056 kesänvanhaa taimenta (ikä 5,5 kk; 243–297 merkittyä kalaa per vertailuryhmä). Kaikki kalat, mukaan lukien pienet merkitsemättömät (<65 mm pitkät), huumattiin käsittelyä varten bentsokaiinilla ja niistä mitattiin yksilöllinen ruumiin kokonaispituus ja -paino. Merkityt taimenryhmät jaettiin kolmeen 3,2 m² yhteiskasvatusaltauksiin, joissa niitä pidettiin seuraavan vuoden kesäkuuhun asti (344–357 kalaa per allas). Merkintähetkellä kesänvanhojen taimenten kasvussa havaittiin

mielenkiintoisia poikkeavuuksia ryhmien välillä (pituus: $F_{3, 8.56} = 12,44$, $p = 0,002$; paino: $F_{3, 8.63} = 12,38$, $p = 0,002$). Ruumiinpituuden keskiarvojen suhteen molemmat 3N-ryhmät olivat tilastollisesti merkitsevästi kookkaampia kuin sekasukupuolinen 2N-ryhmä. Lisäksi 3N_{♀♀}-ryhmä oli keskipituudeltaan merkitsevästi isompi kuin vastaava 2N-ryhmä. Kalojen painokeskiarvo oli 3N_{♀♀}-ryhmällä merkitsevästi suurempi kuin muilla ryhmillä (Kuva 2).



Kuva 2. Kesävanhojen taimenryhmien mallikorjatut ruumiinpainon keskiarvot ja niiden keskivirheet. Ryhmät kasvatettiin mittaushetkeen (13.-14.9.) asti erillään (kolme parvea per ryhmä). Tilastollisesti merkitsevät erot ryhmien keskiarvoissa on osoitettu kuvaajan yläpuolella.

Myös ruumiinkoon vaihtelussa havaittiin eroja kesävanhojen ryhmien välillä, ja 3N_{♀♀}:llä se oli selvästi kolmea muuta ryhmää pienempi niin ruumiinpituuden kuin -painon suhteen (Taulukko 3). Seuraavaksi pienin vaihtelu oli 2N_{♀♀}:llä. Täysnaarasparvet näyttäisivät kasvaneen siten jossain määrin sekasukupuolisia parvia tasaisemmin ploidia-asteesta riippumatta, mutta triploideilla kaloilla ero oli selvempi (painossa 9,6 %-yksikköä). Kaiken kaikkiaan täysnaaras pohjainen triploidiryhmä kasvoi erilliskasvatuksessa paitsi keskimäärin parhaiten, sillä oli myös pienin kasvun vaihtelu suhteessa kolmeen muuhun ryhmään.

Taulukko 3. Ruumiinpituuden ja -painon vaihtelukertoimet* (%) kesävanhojen (1k, ikä 5,5 kk) ja yksivuotiaiden (1v, ikä 14,5 kk) taimenten vertailuryhmissä.

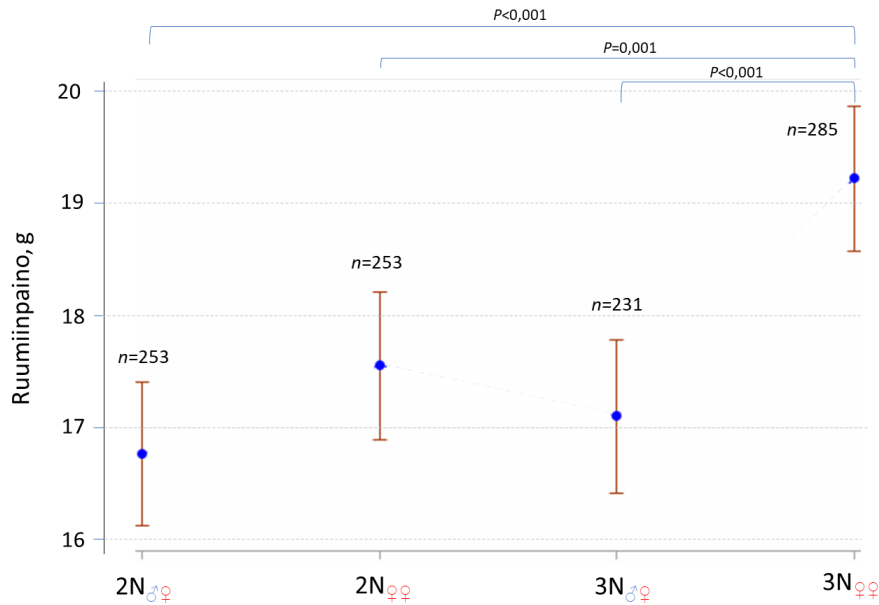
Ikäluokka	Ominaisuus	2N _{♂♀}	2N _{♀♀}	3N _{♂♀}	3N _{♀♀}
1k	Ruumiinpituus	11,0	10,5	10,9	9,1
	Ruumiinpaino	36,2	34,2	37,6	28,0
1v	Ruumiinpituus	8,7	9,5	10,0	9,1
	Ruumiinpaino	28,9	29,7	33,8	27,1

* Vaihtelukerroin = $100 \times \text{keskihajonta} \div \text{keskiarvo}$

Kesällä 2022 vuoden ikäisten taimenryhmien selviytyvyyttä ja kasvua testattiin erilaisissa ympäristöissä 2,5 kk ajan. Tuolloin PIT-merkityt kalat jaettiin neljään 3,2 m² sisäaltaaseen ja kahdeksaan ulkona olevaan nk. virtausuoma-suvantoaltaaseen (ryhmien yhteiskasvatus). Sisäaltaissa kaloja kasvatettiin standardiolosuhteissa kuivarehuruokinnalla. Ulkoaltaissa kaloja ei ruokittu lainkaan, vaan ne elivät pohjalla elävien ja veden mukana ajautuvien selkärangattomien varassa. Siten ulkoaltaissa voitiin arvioida eri ryhmien suoriutumista ns. simuloitujen istutuksen jälkeen. Vaikka triploiditaimenen istutuksia tulisi todennäköisestikään todellisuudessa tekemään vähintään 2-vuotiailla järvi-istukkailla, ei niinkään pienillä jokipoikasvaiheen kaloilla, tuottaa tässä hankkeessa tehty tarkastelu mielenkiintoista perusbiologista tietoa erilaisten kasvuolosuhteiden ja ploidiatason vaikutuksista kalojen tärkeisiin suorituskykyyn ja käyttäytymiseen liittyviin ominaisuuksiin.

Ulkoaltaissa kalat saivat liikkua vapaasti puolikkaan altaan ulkokehällä olevan matalan sora-/kivipohjaisen virtausuoman (leveys 1,5 m, syvyys ~20 cm) ja syvemmän (~80 cm), pohjapinta-alaltaan 35 m² olevan suvantoalueen välillä. Jokaisessa altaassa uoman ja suvanto-osan erotti PIT-merkkejä lukevilla kehäantenneilla varustetut avokourut (jokaisessa altaassa parilliset antennit kahdessa kourussa), joiden läpi kalojen oli uitava puolta vaihtaessaan. Näin kalojen liikkeistä altaan eri puolten välillä kertyi jatkuvasti tietoa antenneihin yhdistettyyn tallennusyksikköön. Ulkoaltaiden päälle viritettiin suojaverkot, jotka oletettavasti estivät kalojen joutumisen lintujen saaliiksi. Sisäaltaissa kalojen lukumäärä oli 147–149. Ulkoaltaissa kalat oli jaettu kahteen kasvatustiheyteen, joista neljässä korkeamman tiheyden altaassa yksilömäärä oli 60 ja neljässä alemman tiheyden altaassa puolestaan 32. Tämän käsittelyn tarkoituksena oli edelleen arvioida, vaikuttaako lisääntynyt ravintokilpailu korkeamman kalatiheyden ympäristössä heikentävästi jonkin ryhmän suoriutumiseen ja aktiivisuuteen. Eri vertailuryhmien kalat jaettiin kuhunkin kasvatuskäsittelyyn ja koealtaaseen suunnilleen tasapäisesti. Kaloista otettiin yksilölliset ruumiinpituus- ja -painotiedot kokeen aloituksessa (14.–15.6.) sekä eloonjääneistä myös kokeen lopetuksessa (29.–30.8.). Alku- ja loppumittausten perusteella kullekin kalalle voitiin laskea päiväkohtainen kasvukerroin (% per päivä). Lisäksi kokeen loppumittauksissa otoksesta kaloja määritettiin parillisten evien (vatsa- ja rintaevät) kunto käyttäen viisiportaista luokittelua: 0 = ehjä tai vain vähän kärjistään rispaantunut evä, 1 = 25 %:n kuluma, 2 = 50 %:n kuluma, 3 = 75 %:n kuluma ja 4 = 100 %:n kuluma (eli evä oli syöpynyt kokonaan pois).

Kokeen aloitusajankohtana PIT-merkittyjen kalojen ruumiinpaino oli keskimäärin 4,3-kertainen merkintähetken keskipainoon suhteutettuna (ryhmäkohtainen vaihteluväli 4,2–4,4-kertainen). Siltikin 1-vuotiaiden taimenryhmien välillä oli säilynyt tilastollisesti merkitsevät kokoerot (pituus: $F_{3, 556} = 12,79$, $p < 0,001$; paino: $F_{3, 554} = 12,31$, $p < 0,001$), 3N_{♀♀}-ryhmän kalojen ollessa edelleen keskimäärin kolmea muuta ryhmää kookkaampia (Kuva 3). Sekasukupuolisella 3N-ryhmällä oli suurin kokovaihtelu ja tässä suhteessa ryhmien väliset erot näkyivät selvimmin 3N_{♀♀}:ään verrattuna (Taulukko 4).



Kuva 3. 1-vuotiaiden taimenryhmien mallikorjatut ruumiinpainon keskiarvot ja niiden keskivirheet. Kalat oli PIT-merkitty 9 kk aiemmin ja pidetty sen jälkeen kolmessa yhteiskasvatusaltaassa. Tilastollisesti merkitsevät erot ryhmien keskiarvoissa on osoitettu kuvaajan yläpuolella.

Taulukossa 4 on esitetty taimenryhmien keskimääräiset selviytyvydet ja kasvunopeudet eri kasvatusympäristöissä. Taimenten keskimääräinen selviytyvyyden todennäköisyys oli sisäallaskasvatuksessa 90,2 %, korkeamman kalatiheyden ulkokasvatuksessa 84,9 % ja alemman kalatiheyden ulkokasvatuksessa 82,0 %. Suhteellisen lyhyestä (2,5 kk) kokeen kestosta huolimatta ympäristöstä, kuten myös ploidia-asteesta johtuvia selviytyvyseroja, ehti syntyä. Kaksiluokkainen ploidiaryhmien vertailu, jossa sekasukupuoliset ja täysnaarasryhmät oli yhdistetty kummankin ploidia-asteen sisällä, osoitti triploidikalojen selviytyvyyden olevan tilastollisesti merkitsevästi alempi kuin diploidikalojen sekä sisäallaskasvatuksessa (keskiarvojen ero 14,7 %-yksikköä) että alemman kalatiheyden ulkoaltaissa. Kun vertailu tehtiin neljän erillisen ryhmän kesken (2N, 2N♀♀, 3N ja 3N♀♀), merkitsevät erot ilmenivät ainoastaan sisäallaskasvatuksessa. Siinä molempien diploidiryhmien eloonjäämisen todennäköisyydet olivat kahta triploidiryhmää korkeammat, kun taas ploidiaryhmien sisällä sekasukupuoliset ja täysnaarasryhmät eivät eronneet toisistaan. Myös alemman kalatiheyden ulkoaltaissa diploidi- ja triploidiryhmien väliset selviytyvyserot olivat kohtalaisen isot, enimmillään 18,7 %-yksikköä, mutta pienten ryhmäkohtaisten kalamäärien vuoksi tilastollinen vertailu ei tukenut merkitsevien erojen syntymistä.

Myös kasvunopeuden suhteen eri ploidia-asteiden väliset erot olivat tilastollisesti merkitseviä ympäristöstä riippumatta: diploidikalojen kasvunopeus oli keskimäärin triploideja parempi niin sisäaltaissa kuin kahden eri tiheyden ulkoaltaissa (Taulukko 4). Keskiarvovertailut neljän ryhmän kesken puolestaan osoittivat, että sisäaltaissa sekasukupuolinen 3N-ryhmä kasvoi merkitsevästi kolmea muuta ryhmää heikommin (Taulukko 4). Molemmilla ploidiatasoilla täysnaarasryhmän kasvu oli sekasukupuolista ryhmää merkitsevästi parempi. Ulkoaltaissa havaittiin kalatiheyden selkeä kilpailuvaikutus kalojen kasvuun: suuremman kalamäärän altaissa kasvunopeudet olivat selvästi matalampia kuin alemman tiheyden altaissa. Suuremman kalamäärän ulkoaltaissa täysnaarasryhmän kalat kasvoivat

molempia triploidiryhmiä nopeammin, ja lisäksi sekasukupuolisen 2N-ryhmän kalat kasvoivat merkitsevästi vastaavaa 3N-ryhmää nopeammin. Alemman kalatiheyden ulkoaltaissa ainoa tilastollisesti merkitsevä parittainen ero havaittiin sekasukupuolisten 2N- ja 3N-ryhmien välillä, diploidikalojen kasvaessa triploideja paremmin.

Taulukko 4. Selviytyvyyden (todennäköisyys, %) ja kasvunopeuden (ruumiinpainon kasvukerroin, % per päivä) tilastolliset keskiarvot (\pm niiden keskivirheet) kokeessa, jossa 1-vuotiaiden taimenten vertailuryhmiä pidettiin sisäaltaissa (kuivarehuruokinnalla) ja puoliluonnollisissa ulkoaltaissa (luonnonravinnolla) 2,5 kk:n ajan. Ulkoaltaissa käytettiin kahta kalamäärää (60 ja 32 kalaa per allas) kilpailuvaikutuksen selvittämiseksi. Neljän ryhmän keskinäisissä vertailuissa eri kirjaimilla merkityt arvot eroavat kasvuympäristön sisällä tilastollisesti merkitsevästi toisistaan.*

Kasvuympäristö	Ominaisuus	2N	3N	F-arvo	p-arvo
sisäaltaat	selviytyvyys	97,7 (0,9)	83,0 (2,2)	27,00	<0,001
	kasvunopeus	1,44 (0,12)	1,14 (0,12)	56,51	<0,001
ulkoaltaat korkeampi kalatiheys	selviytyvyys	87,2 (3,5)	82,7 (4,1)	0,95	0,330
	kasvunopeus	0,71 (0,06)	0,41 (0,06)	21,13	<0,001
ulkoaltaat alempi kalatiheys	selviytyvyys	89,1 (3,9)	75,0 (5,4)	4,09	0,045
	kasvunopeus	1,23 (0,13)	0,89 (0,13)	10,42	0,002
		2N_{♂♀}	2N_{♀♀}	3N_{♂♀}	3N_{♀♀}
sisäaltaat	selviytyvyys	97,3 (1,3) ^a	98,0 (1,2) ^a	78,9 (3,4) ^b	86,7 (2,7) ^b
	kasvunopeus	1,31 (0,13) ^a	1,56 (0,13) ^b	1,03 (0,13) ^c	1,23 (0,13) ^a
ulkoaltaat korkeampi kalatiheys	selviytyvyys	85,6 (4,9) ^a	88,7 (4,4) ^a	81,8 (5,5) ^a	83,5 (5,1) ^a
	kasvunopeus	0,65 (0,07) ^{ac}	0,76 (0,07) ^a	0,34 (0,08) ^b	0,48 (0,07) ^{bc}
ulkoaltaat alempi kalatiheys	selviytyvyys	90,6 (5,2) ^a	87,5 (5,8) ^a	78,1 (7,3) ^a	71,9 (7,9) ^a
	kasvunopeus	1,25 (0,13) ^a	1,22 (0,16) ^{ab}	0,83 (0,15) ^b	0,96 (0,13) ^{ab}

*Ominaisuus analysoitu binäärisenä 0/1-muuttujana

Viisiportaisella luokittelulla arvioitua parillisten evien kuntoa havaittiin vain sisäaltaissa pidetyillä kaloilla, missä kulumisen ilmeni voimakkaammin rintaevissä (Taulukko 5). Kaikilla ulkoaltaissa olleilla kaloilla jokainen evä tulkittiin virheetömäksi tai vain vähän kärjistään rispaantuneeksi (<25 %, luokka 0). Mikäli ploidiairyhmiä vertailtiin sekasukupuoliset ja täysnaarasryhmät yhdistettyinä, diploidikaloiden evien kunto oli oikeaa vatsaevää lukuun ottamatta keskimäärin merkitsevästi paremmalla tasolla kuin triploidikaloiden. Diploidikaloiden todennäköisyys (nk. vedonlyöntisuhde, *odds ratio*) saada alempi eväkulumaluokitus oli triploidikaloihin nähden 2,0–4,0-kertainen. Neljän erillisryhmän vertailu osoitti, että 2N_{♀♀}:llä molempien rintaevien kulumisen taso oli molempia triploidiryhmiä merkitsevästi matalampi, kun taas 2N_{♂♀}-ryhmällä samansuuntainen ero triploidiryhmiin oli havaittavissa vain oikeassa rintaevässä.

Taulukko 5. Sisäaltaissa kasvatetuilta 1-vuotiailta taimenilta määritettyjen eväkulumien* keskiarvot (\pm niiden keskivirheet). Eri kirjaimilla merkityt arvot eroavat kasvu ympäristön sisällä tilastollisesti merkitsevästi toisistaan.

Evä**	2N _{♂♀}	2N _{♀♀}	3N _{♂♀}	3N _{♀♀}
	n = 147	n = 145	n = 112	n = 137
VRE	0,23 (0,04) ^{ab}	0,17 (0,04) ^a	0,37 (0,06) ^b	0,45 (0,07) ^b
ORE	0,22 (0,04) ^a	0,25 (0,05) ^a	0,65 (0,08) ^b	0,56 (0,06) ^b
VVE	0,17 (0,04) ^a	0,17 (0,05) ^a	0,31 (0,08) ^a	0,36 (0,07) ^a
OVE	0,01 (0,01) ^a	0,03 (0,02) ^a	0,06 (0,04) ^a	0,09 (0,04) ^a

* Kuluman aste luokiteltu seuraavasti: 0 = <25 %, 1 = 25 %, 2 = 50 %, 3 = 75 %, 4 = 100 %

** VRE = vasen rintaevä; ORE = oikea rintaevä, VVE = vasen vatsaevä, OVE = oikea vatsaevä;

Selviytyvyys-, kasvu- ja evätarkastelujen pohjalta voidaan tehdä johtopäätös, että yhteiskasvatuksessa (kilpailutilanteessa) triploiditaimen pärjää joitakin diploidiryhmiä heikommin. Kalojen kasvun suhteen ploidiaryhmien väliset erot ilmenevät selkeämmin sekasukupuolisen kuin täysnaarastriploidiryhmän kautta. Aiemman kirjallisuuden pohjalta tiedetään, että yhteiskasvatuksessa triploidien lohikalojen suorituskyky (selviytyvyys, kasvu ja terveysominaisuudet) on tavallisesti heikompi diploideihin verrokkeihin nähden, vaikka erilliskasvatuksessa eroja ei välttämättä esiinny (Piferrer ym. 2009; Taylor ym. 2014). Tässä hankkeessa saadut tulokset tukevat tätä käsitystä. Ensimmäisen kesän erilliskasvatuksessa lupaavia tuloksia saatiin erityisesti täysnaaras pohjaisen triploiditaimenryhmän kasvupotentiaalista, joten ploidiaryhmiä vertailevia jatkoselvityksiä on syytä tehdä jatkossa myös pidemmälle viedyissä erilliskasvatuskokeissa.

3.3. Vesihomeresistenssin geneettinen vaihtelu kirjolohella

Valintajalostus on ollut yksi tärkeä tekijä, joka on mahdollistanut kalankasvatuksen kasvun maailmanlaajuisesti. Valintajalostuksella on saatu parannettua kasvatettujen kalojen tuotanto-, laatu- ja hyvinvointiominaisuuksia parantaen kalankasvatuksen kestävyyttä. Genominen valinta on eläinjalostuksen uusi valintamenetelmä, joka sopii varsinkin kalojen taudin vastustuskyvyn parantamiseen valintajalostuksella. Genomisessa arvostelussa estimoidaan yksilöiden DNA-profiiliin yhteys parannettavaan ominaisuuteen (kuten vastustuskyky), jonka jälkeen valittavien emokalojen DNA-profiilista voidaan ennustaa miten hyvin ne periyttävät vastustuskykyä. Genominen arvostelu on jo rutiinikäytössä mm. terrestrisillä kotieläimillä.

Tässä osatyössä tavoitteena oli selvittää mahdollisuutta parantaa kirjolohen vastustuskykyä vesihomeelle valintajalostuksen ja varsinkin genomisen valinnan avulla.

Genomista analyysia varten tutkimuksessa genotyyppattiin 869 kirjolohta JALO-valintaohjelmasta, mutta vesihomekuolleisuus oli hyvin vähäistä ja esiintyi vasta sukukypsyyden jälkeen. Siksi vesihomeaineisto yhdistettiin valintaohjelmassa kerättyihin muihin vesihomeen ilmenemiseen kiinteästi liittyviin ominaisuuksiin, jotka saatiin mitattua kaikista kaloista. Tämän raportin muissa osissa on käsitelty sukukypsymisen yhteyttä vesihomeeseen.

JALO-valintaohjelmassa tehtiin keväällä 2018 Enonkoskella yhteensä 200 kirjolohiperhettä. VEKKI-hankkeeseen sisällytetyistä 869 JALO-kalasta otettiin kudoksenäyte keväällä 2020 (ikä 2), ja näytteestä analysoitiin 57 501 DNA merkkiä (Axiom™ Trout Genotyping Array).

Vesihomeen ilmenemistä seurattiin jatkuvasti. Sukukypsät kalat lypsettiin keväällä 2021 ja lypsettyjen kalojen sairastumista vesihomeeseen seurattiin syksyyn 2022 asti. Koiraista vesihomeeseen kuoli 150 kalaa ja elossa selvisi 27 kalaa, ja näiden yksilömerkit luettiin.

JALO-valintaohjelmassa kaikki yksilömerkityt kalat, ml. VEKKI-hankkeessa käytetyt kalat, mitattiin keväällä 2020 (ikä 2) sekä syksyllä 2020 (ikä 3). Aineistosta poimittiin ominaisuudet, joiden avulla voidaan potentiaalisesti vaikuttaa vesihomeen ilmenemiseen: koiraiden ja naaraiden sukukypsyysikä (1=aikaisin sukukypsyvä; 0 = myöhään sukukypsyvä), kuolleisuus ikään 2 (1= kuoli; 0 = säilyi elossa) sekä kuolleisuus iästä 2 ikään 3 (1= kuoli; 0 = säilyi elossa). Osasta kaloja otettiin myös kudospätkä keväällä 2020 ja tehtiin DNA analyysit. Koko JALO-aineisto kattaa 23 904 kalaa, joista 4 979 kalalla on tieto tutkituista ominaisuuksista (Taulukko 6).

Yhdistämällä aineistot pystyttiin analysoimaan, kuinka hyvin vesihomeeseen liittyviä ominaisuuksia voidaan parantaa sukupuuhun perustuvalla ja/tai genomisella valinnalla. Sukupuu ja genominen aineisto analysoitiin eläinjalostajien laskennallisilla menetelmillä. Kuolleisuus ikään 2 voidaan analysoida vain sukupuun avulla, koska kudospätkät kerättiin elossa olevista kaloista iässä 2.

Taulukko 6. Aineistossa analysoidujen ominaisuuksien keskiarvot ja analysoidujen kalojen lukumäärä.

Ominaisuus	Keskiarvo (osuus)	Kalojen lukumäärä
Kuolleisuus 1->2	0.29	4979
Kuolleisuus 2->3	0.05	3056
Koiraan sukukypsyys	0.19	1406
Naaraan sukukypsyys	0.58	1775
Vesihomekuolleisuus	0.85	177

3.3.1. Sukupuuanalyysi

Tässä aineistossa oli käytössä normaali isä-äiti-jälkeläinen sukupuu ja kirjolohen kasvukausien aikana ennen sukukypsymistä kirjolohi ei ollut herkkä saamaan vesihometta. Vesihome aiheutti kuolemaa vasta sukukypsymisen jälkeen. Vesihomeesta johtuva kuolleisuus tai elossasäilyvyys oli tiedossa vain 177 kalalta. Aineisto mahdollisti geneettisen analyysin, mutta aineisto on hyvin pieni ja vaatimaton. Sukupuuanalyysissä vesihomekuolleisuudessa havaittiin minimaalisesti perinnöllistä vaihtelua (1 % vaihtelusta selittyy sukupuulla) (Taulukko 2).

Kirjolohen kuolleisuudessa ensimmäisestä vuodesta toiseen vuoteen oli paljon perinnöllistä vaihtelua, 32 % vaihtelusta selittyi sukupuulla. Toisesta vuodesta kolmanteen vuoteen esiintyneessä kuolleisuudessa oli vain vähän perinnöllistä vaihtelua (5.1% vaihtelusta selittyi sukupuulla). Koska vesihometta ei havaittu tänä aikana, kuolleisuus on johtunut jostain muista tekijöistä. Koiraiden ja naaraiden sukukypsyysikä (aikainen vs myöhäinen) oli voimakkaasti periytyvää. Noin 45-53 % vaihtelusta selittyy sukupuulla, ja tämä vaihtelu on käytettävissä muuttamaan sukukypsyysikää valinnalla (Taulukko 7).

Taulukko 7. Ominaisuuksien perinnöllinen potentiaali, joka kertoo kuinka paljon ominaisuutta voidaan muuttaa valintaohjelmalla. Taulukossa on % osuus ominaisuuden vaihtelusta, joka selittyy perinnöllisillä tekijöillä, analysoituna joko käyttäen sukupuuta tai genomisia DNA merkkejä.

Ominaisuus	Vaihtelusta selittyy perinnöllisillä tekijöillä, %
Sukupuuanalyysi	
Kuolleisuus 1->2	32 *
Kuolleisuus 2->3	5.1*
Koiraan sukukypsyys	53*
Naaraan sukukypsyys	45*
Vesihomekuolleisuus	1.2 ^{ns}
Genominen DNA analyysi	
Kuolleisuus 2->3	4.3*
Koiraan sukukypsyys	40*
Naaraan sukukypsyys	48*
Vesihomekuolleisuus	5.1 ^{ns}

* - Tilastollisesti merkitsevä geneettinen vaihtelu

ns - Ei ole tilastollisesti merkitsevä geneettinen vaihtelu

3.3.2. Genominen analyysi

Tässä aineistossa oli käytössä 1495 yksilöä, jotka olivat myös genotyyppattu. Sukupuuanalyysissä havaitut trendit toistuivat myös genomisessa analyysissä. Koiraiden ja naaraiden sukukypsyysissä havaittiin paljon geneettistä vaihtelua (40 % ja 48 % vaihtelusta selittyi DNA merkeillä), ja kuolleisuudessa ajasta 2 aikaan 3 vähemmän geneettistä vaihtelua (4 % vaihtelusta selittyy DNA merkeillä) (Taulukko 7).

Vesihomekuolleisuudesta DNA merkeillä selittyi 5 %, mutta arvo ei ole tilastollisesti merkitsevä. Ei ole mahdollista erottaa, johtuuko matala arvo pienestä aineistosta vai siitä että perinnöllistä vaihtelua ei yksinkertaisesti ole. Siialla on tehty iso, 1300 kalan koe, jossa vesihomekuolleisuus oli 69 % (ArctAqua EU-hanke). Siikatutkimuksessa DNA merkit selittivät 25 % vesihomekuolleisuudesta ja emokalojen kyky periyttää hyvää eloonjäämistä pystyttiin ennustamaan luotettavasti DNA merkkien avulla.

Koiraiden ja naaraiden sukukypsyysissä havaittiin yksittäisiä genomialueita, joilla oli iso vaikutus sukukypsyysikään. Tilastollisesti merkittäviä markkereita, jotka olivat jo tiedettyjen kandidaattigeenien lähellä (Grep1l, Six6a, Vgl3, ja kromosomin 5 inversio), havaittiin 4 kpl. Tässä populaatiossa sukukypsyysikä näyttää periytyvän niin, että on paljon pienivaikutteisia geenejä sekä muuttamia isompivaikutteisia geenejä.

VEKKI-hankkeessa kerätty aineisto on myös yhdistetty kaikkeen muuhun JALO-valintaohjelmassa kerättyyn genomiaineistoon. Tämän isomman aineiston analyysi on tehty AqualIMPACT EU-hankkeessa. Analyysi osoittaa, että kun genomitieto lisätään jo olemassa olevan JALO-sukupuunaaineiston rinnalle samaan aineistoon, tarkkuus, jolla emokalojen kyky periyttää aikaisin tai myöhään sukukypsyviä kaloja lähes kaksinkertaistuu (AqualIMPACT

hanke). Tämä tarkoittaa, että perinnöllinen edistymisen nopeus myös lähes kaksinkertaistuu. Tällainen genomisen valinnan menetelmä on siis suuri parannus perinteiseen sukupuuhun perustuvaan valintaan verrattuna.

Kuolleisuusominaisuuksissa ei havaittu yksittäisiä isovaikutteisia genomialueita. Kuolleisuus siis periytyy lukuisten pienivaikutteisten geenien määräämänä. Koska kuolleisuudessa on merkittävää perinnöllistä vaihtelua, genominen valinta toimii hyvin myös kuolleisuudelle.

3.3.3. Johtopäätökset

Genomisella valinnalla voidaan oleellisesti tehostaa kirjolohen ominaisuuksien perinnöllistä parantamista, jolloin mm. sukukypsyysiän hallinta tehostuu. Kehitettyjä laskennallisia menetelmiä ja kerättyjä aineistoja käytetään jo aktiivisesti JALO-valintaohjelman jalostustyössä. Aineisto kirjolohen vesihomekuolleisuuden periytymisen selvittämiseksi on vaatimaton, eikä tällä aineistolla ole mahdollista tehdä johtopäätöstä voidaanko sitä parantaa suoraan valintajalostuksella. Sen sijaan ominaisuuksia, jotka ovat kiinteästi liittyneitä vesihomeeseen, mm. sukukypsyysikä, voidaan parantaa genomisella valinnalla.

4. Yhteenveto

Rokotuskokeessa haettiin vastausta kysymykseen, vähentääkö tai ehkäiseekö monitehorokotteen käyttäminen vesihometta poikas- ja emokalavaiheissa järvilohella ja kirjolohella. Kyseisen rokotteen käytöstä on saatu aiemmin lupaavia tuloksia vesihomeen torjumisessa, vaikka kyseessä ei ole spesifisesti vesihometta vastaan kehitetty rokotevalmiste (Janhunen ym. 2019). Hankkeessa tehtyjen kokeiden perusteella monitehorokotteen ei katsota parantavan järvilohen tai kirjolohen kykyä vastustaa vesihometta. Molempien lajien osalta testaukseen liittyi kuitenkin metodologisia puutteita (so. järvilohella tehosterokotuksen viivästyminen tai puuttuminen kokonaan ja kirjolohella koekalojen poistaminen ennen kutukauden jälkeistä sairastumista), joten tuloksiin pitää suhtautua jossain määrin kriittisesti. Kirjolohella vesihomeen havaittiin vaivaavan ainoastaan kutuikäisiä koiraskaloja, mutta rokotuksen ei voida katsoa hillinneen kalojen sairastumista vesihometautiin suhteessa rokottamattomiin. Jatkokokeissa monitehorokotetta tulisi testata kalojen eri ikävaiheissa rokotteen sekä tehosterokotteen antaman vasteen tutkimiseksi.

Steriilikalatekniikkaa kehittävässä osatyössä järvitaimenelle löydettiin 100 % triploidia-asteen ja hyvän haudontatuloksen antava käsittely, ja nämä tulokset ovat suoraan elinkeinon hyödynnettävissä. Järvilohelle tarvitaan jatkoselvityksiä täydellisen triploidiasaannon saavuttamiseksi. Taimenella erityisesti täysnaaras pohjaisen triploiditaimenryhmän kasvupotentiaalista saatiin lupaavia tuloksia ensimmäisenä kesänä, jolloin 2N- ja 3N-vertailuryhmiä kasvatettiin erillään. Myöhemmässä jatkokasvatusvaiheessa, jossa vertailuryhmiä pidettiin yhdessä, havaittiin triploidien kalojen suoriutuvan osin verrokkeja heikommin. Tämä tulos on havaittu myös aiemmissä tutkimuksissa (esim. Maxime 2008). Käytännössä triploidien kalojen tuotanto pidetään kuitenkin aina erillään lisääntyvistä kaloista, joten jatkoselvityksiäkin tulee tehdä erityisesti tällaisissa asetelmissä. Triploiditaimenen selviytyvyyttä, kasvua ja terveysominaisuuksia on syytä tarkastella myös myöhempien elinkierron vaiheiden osalta ja vaihtelevissa ympäristöolosuhteissa.

Genomista työkalua kirjolohen vesihomekuolleisuuden vähentämiseksi ei saatu hankkeessa tehtyä, koska kirjolohella vesihomekuolleisuus oli vähäistä, eikä siinä pystytty tunnistamaan ominaisuuteen vaikuttavia geenimerkkejä. Sen sijaan ominaisuuksia, jotka liittyvät kiinteästi vesihomeen ilmenemiseen (erityisesti kalojen sukukypsyyksiä) voidaan parantaa hankkeessa testatulla genomisella valinnalla. Genominen valinta tehostaa ominaisuuksien parantamista jopa yli 1.5-kertaisesti. Kehitettyjä laskennallisia menetelmiä ja kerättyjä aineistoja käytetään jo aktiivisesti käytännön JALO-valintaohjelmassa ja sen kehitystyössä. Tällaisten työkalujen kehitys on Luken avaintekemistä myös seuraavissa tutkimushankkeissa. Genomisen valinnan työkalun kehitys kasvatetun siian vesihomekuolleisuuden vähentämiseksi on ollut menestykäs viljellyllä siialla (ArctAqua EU-hanke). Tämä osoittaa, että valintatyökalun kehitys onnistuu, kun kerätty aineisto on hyvä. Tätä työtä jatketaan siialla aktiivisesti seuraavissa hankkeissa.

5. Hankkeen toteutus

Hankkeen kestoajaksi oli 5.4.2019 – 31.12.2022. Covid-19 pandemia vaikutti hankkeen toteutukseen erityisesti kevään 2020 osalta, jolloin rokotuskokeen sekä steriilikalatekniikka - osatöissä ei pystytty toimimaan alkuperäisen hankesuunnitelman mukaisesti. Hanke toteutui alkuperäisessä aikataulussaan, vaikka osa suunnitelluista töistä ja ostopalveluista painottui hankkeen loppupäähän.

Hankkeessa tehtiin muutoshakemus loppusyksystä 2022, jotta hanke pystyttiin saattamaan loppuun asianmukaisesti. Hanke toteutui myönnettyillä määrärahoilla (Taulukko 8). Hankkeen projektipäällikkönä toimi Luken erityisasiantuntija Antti Nousiainen. Käytännön töiden toteuttamiseksi hankkeelle perustettiin Luken sisäinen projektiryhmä, joka kokoontui tarpeen vaatiessa etäyhteyksien avulla. Hankkeelle perustettiin lisäksi seurantaryhmä, johon kuuluivat Markku Tuomainen (Pohjois-Savon ELY-keskus), Satu Viljamaa-Dirks (Ruokavirasto), Antti Nousiainen (Luke) ja Heikki Koskinen (Luke).

Taulukko 8. Hankkeen toteutuneet menot.

	Kustannusarvio 2018-21	Toteutuneet (Kum.)	Jäljellä	Käyttöaste
Palkat (sis. HSK)	86 400,00	96 829,96	-	112,07 %
Matkakulut	4 000,00	4 415,66	-	110,39 %
Laitteet / tarvikkeet	18 500,00	15 688,41	2 811,59	84,80 %
Ostopalvelut	41 700,00	43 245,18	-	103,71 %
-	-	-	-	
ALV	14 448,00	5 209,33	9 238,67	36,06 %
Flat Rate 15%	12 960,00	14 524,49	-	112,07 %
YHTEENSÄ	178 008,00	179 913,03	-	101,07 %

5.1. Liittyminen muihin hankkeisiin

Kansallinen kirjolohen ja siian valintajalostusohjelma (JALO), joka on yksi maailman johtavista viljeltyjen kalojen valintajalostusohjelmista. VEKKI-hankkeen rokotuskokeessa on mukana JALO kirjolohen vuosiluokka 2018.

Kansalliset uhanalaisten lohikalujen säilytysohjelmat. Vesiviljelyllä on merkittävä asema uhanalaisten luonnonkalojen säilytyksessä. Äärimmäisen uhanalaiseksi luokiteltu järvilohi on ollut jo useita vuosikymmeniä riippuvainen jatkuvasta emokalaviljelystä ja sen avulla tuotetuista istukkaista. Järvilohikannan elvyttäminen on toistaiseksi turvattu luonnossa elävien järvilohien mädillä, mutta sen viljelyssä on kuitenkin ongelmia: järvilohi on erityisen herkkä vesihomeelle, mikä voi vaarantaa kannan pelastamisen. Viime vuosina menetykset ovat olleet suuria: jopa yli 80 % järvilohiemokaloista on kuollut vesihometartunnan seurauksena. Kun emokalat kuolevat, lypsettävän mädin määrä vähenee ja istutettavia kaloja on seuraavina vuosina vähemmän. Lisäksi vesihomekuolleisuudesta aiheutuu kannan elintärkeän ja jo ennestään alhaisen perinnöllisen monimuotoisuuden vähenemistä.

AquaIMPACT EU Horizon 2020 -hanke, jossa kehitetään genomisen valinnan menetelmiä yritysten sekä valintajalostusohjelmien sisällä Euroopassa eri kalalajeilla. Hankkeen tietoja hyödynnetään VEKKI-hankkeessa kirjolohen vesihomeresistenssin perinnöllisen vaihtelun selvittämiseen. <https://projects.luke.fi/aquaimpact/>

ArctAqua KOLARCTIC EU CBC -hanke, jossa on mukana Norja, Ruotsi ja Suomi sekä yrityksiä elinkeinon puolelta. Tutkimusaiheina Lukessa ovat viljelyn siian lisääntymisteknologioiden kehittäminen sekä genomisen valinta vesihomeresistenssin parantamiseksi viljelyllä siialla. <https://site.nord.no/arctaqua/>

Bakteerien merkitys vesihomeen esiintymisessä ja vesihomeen sekä bakteerien PCR-tunnistusmenetelmät EMKR-hanke (hankenumero 87476), jonka toteuttajana Ruokavirasto. Tässä hankkeessa kehitettiin PCR-menetelmiä vesihomepitoisuuksien määrittämiseksi kalanviljelylaitoksien tulo- ja poistovesistä.

Vesihomeen ajallinen esiintyminen ja estomenetelmien optimointi kalanviljelylaitoksilla EMKR-hanke (hankenumero 169768), jonka toteuttajana Ruokavirasto.

5.2. Tiedottaminen ja julkaisut

VEKKI-hankkeen esittely, Kalatalouden Innovaatiopäivät 9.10.2021. Esitys: Vesiviljelyn innovaatioverkosto ja spin off-hankkeita. Esittelijänä Jouni Vielma.

Nousiainen A., Koskinen H., Seppänen E., Janhunen M., Vehviläinen H., Kause A. 2022. Steriilitaimenen jäljillä. Suomen kalastuslehti 3/2022: s. 27.

VEKKI-hankkeen tulosten esittely, Järvi-Suomen Kalatalouspäivä 8.2.2023. Teams-koulutus. Esitys: Uhkaako vesihome istukkaitamme, entä luonnonkalojamme? Esittelijänä Antti Nousiainen.

Keväällä 2023 loppuraportin julkaisemisen jälkeen laaditaan sähköiset tiedotteet Kalankasvattajaliitolle ja Kalatalouden keskusliitolle hankkeen keskeisistä tuloksista.

Kiitokset

Haluamme kiittää Luonnonvarakeskuksen Enonkosken henkilökuntaa hankkeen toteutuksesta. Erityiskiitokset Ruokaviraston Tiina Korkea-aholle hankkeen aikana tehdystä yhteistyöstä. Tämä hanke sai rahoitusta Euroopan meri- ja kalatalousrahastolta Pohjois-Savon ELY-keskuksen myöntämänä (hankenro 97749).

6. Lähdeluettelo

- Bruno D.W., van West P. & Beakes G.W. 2010. Saprolegnia and other oomycetes. *Fish Diseases and Disorders* 3: 669-720.
- De la Bastide P.Y, Leung W.L. & Hintz W.E. 2015. Species composition of the genus *Saprolegnia* in fin fish aquaculture environments, as determined by nucleotide sequence analysis of the nuclear rDNA ITS regions. *Fungal Biology* 119 (1): 27-43.
- Gomelsky B. 2003. Chromosome set manipulation and sex control in common carp: a review. *Aquatic Living Resources* 16: 408-415.
- Hussein M.M.A., Hatai K., Nomura T. 2001. Saprolegniosis in salmonids and their eggs in Japan. *Journal of wildlife Diseases* 37: 204-207.
- Janhunen M., Koski P. & Makkonen J. 2019. Vesihomeselvitys suomalaisilla kalanviljelylaitoksilla. Loppuraportti.
- Lee P., King H. & Pankhurst N. 2004. Preliminary Assessment of Sex Inversion of Farmed Atlantic Salmon by Dietary and Immersion Androgen Treatments. *North American Journal of Aquaculture* 66: 1-7.
- Maxime V. 2008. The physiology of triploid fish: current knowledge and comparisons with diploid fish. *Fish and Fisheries* 9: 67-78.
- Piferrer F. 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture* 197: 229-281.
- Piferrer F., Beaumont A., Falguière J.-C., Flajšhans M., Haffray P. & Colombo L. 2009. Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture* 293: 125-156.
- Preston A.C., Taylor J.F., Craig B., Bozzolla P., Penman D.J. & Migaud H. 2013. Optimisation of triploidy induction in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Aquaculture* 414-415: 160-166.
- Taylor J.F., Bozzolla P., Frenzl B., Matthewa C., Hunter D. & Migaud H. 2014. Triploid Atlantic salmon growth is negatively affected by communal ploidy rearing during seawater grow-out in tanks. *Aquaculture* 432: 163-174.
- Thoen E., Eversen Ø. & Skaar I. 2010. Microwell enumeration of viable Saprolegniaceae in water samples. *Mycologia* 102: 478-485.
- van den Berg A.H., McLaggan D., Diéguez-Uribeondo J. & van West P. 2013. The impact of the water moulds *Saprolegnia diclina* and *Saprolegnia parasitica* on natural ecosystems and the aquaculture industry. *Fungal Biology Reviews* 27 (2): 33-42.
- van West P. & Beakes G.W. 2014. Animal pathogenic oomycetes. *Fungal Biology* 118: 525-526.



luke.fi

Luonnonvarakeskus
Latokartanonkaari 9
00790 Helsinki
puh. 029 532 6000