

KALA- JA RIISTARAPORTTEJA nro 344

*Antti Forsman
Susanna Airaksinen
Tarja Aro
Olli Norrdahl
Jari Riihimäki
Markku Vaajala
Kari Ruohonen*

**Kirjoloihen kutukypsyyden säätö
ruokakalatuotannossa (KutuSää)**

Ensimmäinen osakoe

Helsinki 2005

Antti Forsman, Susanna Airaksinen, Tarja Aro, Olli Norrdahl, Jari Riihimäki, Markku Vaajala ja Kari Ruohonen

Kirjoloheen kutukypsyden säätö ruokakalatuotannossa (KutuSää). Ensimmäinen osakoe

Tutkimusraportti

KutuSää (319 123)

Tutkimus oli ensimmäinen osakoe Suomen Kalankasvattajaliitto ry:n tilaamasta ja Varsinais-Suomen TE-keskuksen sekä Ahvenanmaan maakuntahallituksen rahoittamasta (Euroopan yhteisön kalatalouden ohjauksen rahoitusväline – KOR) hankkeesta. Hankkeessa tutkitaan mahdollisuuksia säädellä valojaksotuksen avulla kirjoloheen kutukypsyden ajoittumista Suomen olosuhteissa. Ensimmäisessä osakokeessa tutkittiin lisääntymiskierron loppupuolella annetun valokäsittelyn vaikutusta kutukypsyden viivästyemiseen sekä kalan laatu- ja tuotanto-ominaisuuksiin.

Kokeessa valokäsittelyt toteutettiin vedenalaisin lampuin verkkoallasviljelyssä. Valokäsittelyt valittiin ositetun 2³-faktoriaalin mukaisesti siten, että muuttujina olivat käsittelyn aloitusajankohta ja kesto sekä päivän pituus. Tutkittavina muuttujina kutukypsyden kehityksessä olivat estradioli- ja testosteronipitoisuudet, mätimunän koko sekä gonadosomaattinen indeksi. Laatu- ja tuotanto-ominaisuuksista tutkittiin lihaksen väriä, kiinteyttä ja koostumusta, fileen rasvapitoisuutta ja fileesaantoa sekä kalan kyljen paksuutta.

Saatujen tulosten perusteella valokäsittelyllä voidaan Suomen oloissa vaikuttaa kutukypsyden kehitykseen. Kesäpäivän tasauksesta aloitetulla ja vuoden vaihteeseen jatkuvalla valokäsittelyllä voitiin viivästyä kutukypsyden kehittymistä jopa 50% gonadosomaattisella indeksillä mitaten. Kutukypsyys ja valokäsittelyt vaikuttivat myös laatu- ja tuotanto-ominaisuuksien kehittymiseen kasvatuskautena aikana. Pitkällä valokäsittelyllä oli laatua parantava vaikutus lihaksen väriin sekä fileen rasvapitoisuuteen.

kutukypsyys, säätely, valo, käsittely, GSI, värit, rakenne, rasvapitoisuus, kirjolohi

Kala- ja riistaraportteja 344

951-776-481-2

1238-3325

37 s. + 2 liitettä

suomi

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos

Turun riistan- ja kalantutkimus

Pukinmäenaukio 4

Itäinen Pitkätatu 3

PL 6

20520 TURKU

00721 Helsinki

Puh. 02057511 Faksi 0205751 689

Puh. 0205 7511

Faksi. 0205 751 201

<http://www.rktl.fi/tutkimuslaitos/julkaisut> (pdf)

Utgivare

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet

Utgivningsdatum

Januari 2005

Författare

Antti Forsman, Susanna Airaksinen, Tarja Aro, Olli Norrdahl, Jari Riihimäki, Markku Vaajala och Kari Ruohonen

*Publikationens namn***Reglering av lekmognad i regnbågslax produktionen. Första experimentet***Typ av publikation*

Forskningsrapport

*Uppdragsgivare**Datum för uppdragsgivandet**Projektnamn och -nummer**Referat*

Rapporten innehåller resultaten från den första delen av ett större forskningsprojekt som beställts av Finlands Fiskodlarförbund rf. Forskningsprojektet har erhållit finansiering från Egentliga Finlands TE-central och från Ålands landskapsstyrelse (EU kommissionens Fonden för fiskets utveckling, FFU). I projektet undersöks möjligheterna att med hjälp av olika ljusperioder reglera tidpunkten då regnbågslaxen uppnår lekmognad under finska förhållanden. I den första delen projektet undersöktes hur ljusbehandling given under slutskedet av reproduktionscykeln påverkar fördröjningen av lekmognad. Fiskarnas kvalitets- och produktionsegenskaper undersöktes även.

Undervattenslampor användes i nätkassodlingar. Ljusbehandlingarna valdes enligt en 2³-faktor –design och de variabler som undersöktes var tidpunkten för behandlingens början, dess varaktighet och dygnsrytm. De variabler som undersöktes i utvecklingen av lekmognaden var estradiol- och testosteronhalterna, romkornets storlek och det gonadosomatiska indexet. Kvalitets- och produktionsegenskaperna undersöktes även och omfattade muskelns färg, fasthet och sammansättning, filéns fetthalt och filéfångst samt flankmuskelns tjocklek.

På basen av resultaten kan man dra den slutsatsen att man med ljusbehandlingarna under finska förhållanden kan påverka utvecklingen av lekmognad. Med ljusbehandlingar som började vid midsommar och varade till årsskiftet, kunde man fördröja utvecklingen av lekmognaden upp till 50% mätt med det gonadosomatiska indexet. Lekmognad och ljusbehandlingarna påverkade också utvecklingen av kvalitets- och produktionskaraktärerna under odlingstiden. En lång ljusbehandling förbättrade muskelns kvalitet både gällande dess färg och filéns fetthalt.

Nyckelord

reglering av lekmognad, ljus, behandling, GSI, färger, struktur, fetthalt, regnbågslax

Seriens namn och nummer

Kala- ja riistaraportteja 344

ISBN

951-776-481-2

ISSN

1238-3325

Sidoantal

37 s. + 2 bilagor

*Språk**Pris**Sekretessgrad**Försäljning*

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet
Åbo vilt- och fiskeriforskning
Österlånggatan 3
20520 ÅBO
tel. 0205 7511 Fax 0205 751 689
<http://www.rkti.fi/tutkimuslaitos/julkaisut> (pdf)

Förlag

Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet
PB 6
00721 Helsinki
Tel. 0205 7511 Fax 0205 751 201

Sisällys

1. JOHDANTO.....	1
2. MATERIAALIT JA MENETELMÄT.....	2
2.1 Koetilat	2
2.2 Koejärjestelyt.....	2
2.2.1 Koekalat ja ruokinta.....	2
2.2.2 Koeasetelma.....	3
2.3. Punnitukset ja näytteenotot.....	3
2.3.1 Punnitukset ja ultraäänimääritykset (UÄ).....	4
2.3.2 Näytteenotot.....	4
2.3.2.1 Kymmenen kalan otos (10-otos)	4
2.3.2.2 Viiden kalan otos (5-otos).....	5
2.3.3 Kokeen päätös.....	6
2.4 Näytteiden analysointi	6
2.4.1 Lihaksen raakakoostumus.....	6
2.4.2 Plasman hormonimääritykset.....	6
2.4.3 Kuva-analyysit.....	6
2.5 Tilastolliset menetelmät.....	7
3. TULOKSET	9
3.1 Valokäsittelyjen vaikutus sukukypsien kalojen osuuksiin ja kasvuun	9
3.2 Valokäsittelyjen vaikutus kutukypsyyteen	12
3.2.1 Gonadosomaattinen indeksi (GSI).....	12
3.2.2 Mätimunnan halkaisija.....	14
3.2.3 Plasman estradioli(E2)- ja testosteroni(T) -pitoisuudet	15
3.3 Kutukypsyyden vaikutus kalan laatu- ja tuotanto-ominaisuuksiin	17
4. TULOSTEN TARKASTELU	30
4.1 Valokäsittelyjen vaikutus sukukypsyyden kehittymiseen ja kasvuun	30
4.2 Valokäsittelyjen vaikutus kutuajan säätelyyn.....	30
4.2.1 Muutokset hormonierityksen ajankohdissa	31
4.2.2 Muutokset mätimunnan halkaisijan kasvussa sekä gonadosomaattisessa indeksissä (GSI)....	32
4.3 Kalan laatu- ja tuotanto-ominaisuuksissa näkyvät sukukypsyyden, vuodenajan sekä valokäsittelyn vaikutukset.....	32
4.4 Sukukypsyyden määrittäminen elävästä kalasta.....	33
5. YHTEENVETO	34
LÄHTEET	35
LIITTEET.....	39

1. Johdanto

Suomessa on tuotettu vuosittain noin 15 miljoonaa kiloa kasvatettua kirjolohta, josta yli 40 % on teurastettu vuosittain loka-joulukuussa. Samanaikaisen teurastamisen johdosta markkinoille syntyy loppuvuodesta ylitarjontaa, joka laskee etenkin kalasta, mutta myös elintarvikemädistä saatavaa tuottajahintaa. Syitä teurastuksen samanaikaiseen ajoittumiseen mädin kysynnän lisäksi ovat mm. kalojen riskialtis talvehdittaminen sekä sukukypsien kalojen lihan laadun heikkeneminen kutuajan lähestyessä, sillä myös mädintuotantoon käytettävien kalojen ruhot pyritään hyödyntämään elintarvikkeiksi. Lisäksi kasvanut lohikalojen tuonti Suomeen on viime vuosina muuttanut markkinatilannetta.

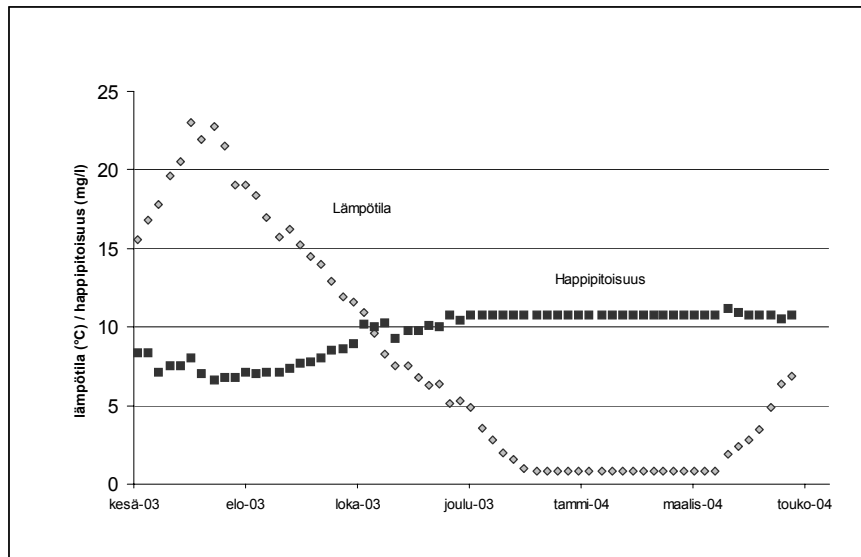
Mätimunien kehittyessä munasarjojen suhteellinen paino kalaan nähden kasvaa. Lisääntymisponnistus heijastuu ravinto-, hiven- ja kivennäisaineiden sekä väripigmenttien siirtymisenä kalan lihaksesta kehittyviin munasoluihin. Tämä vaikuttaa heikentävästi lihan laatuun - sukukypsyvän kalan lihas pehmenee, sen väri haalenee sekä koostumus ja maku muuttuvat. Esimerkiksi Skotlannissa huomattavimmat hävikit lohien tuotantoprosesseissa on raportoitu juuri värimuutoksien ja lihaksen pehmenemisen seurauksena (Kestin ja Warriss 1999). Mikäli kalankasvattajat voisivat pidentää tai jaksottaa kirjolohien teurastusajankohtaa paremmin kysyntää vastaavaksi, tuottaja voisi saada paremman hinnan kasvatetusta kalasta sekä elintarvikemädistä. Aiempien tutkimusten perusteella tämä voisi olla mahdollista säätelemällä kirjolohen lisääntymiskiertoa erilaisin valorytmein.

Tämä raportti on ensimmäisestä osatutkimuksesta Suomen Kalankasvattajaliitto ry:n tilaamassa kolmen tutkimuksen sarjassa. Sen tarkoituksena oli selvittää valokäsittelyn ajoituksen ja keston sekä käytettävän päivänpituuden merkitystä kutukypsyyden viivästyttämisessä Suomen olosuhteissa. Lisäksi kalan lihan laatuominaisuuksia ja niiden muutoksia tutkittiin suhteessa kalan lisääntymiskiertoon. Tutkimuksessa kalat altistettiin erilaisille valokäsittelyille lisääntymiskierron loppupuoliskolla ja muutoksia seurattiin kesäkuulta 2003 huhtikuulle 2004.

2. Materiaalit ja menetelmät

2.1 Koetilat

Valokäsittelykoe tehtiin Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen Rymättylän kalantutkimusasemalla (os. 21150 Röölä) 18 verkkoaltaassa, joiden laskennallinen kokonaistilavuus oli 48 m³ (4m x 4m x 3m). Veden lämpötila sekä happipitoisuus koealueella noudattivat luonnollista vaihtelua (kuva 1).



Kuva 1. Veden lämpötilan ja happipitoisuuden vaihtelut tutkimusasemalla koejakson aikana.

Bild 1. Variationerna i vattentemperaturen och vattnets syrehalt under experimentet på forskningsstationen.

2.2 Koejärjestelyt

2.2.1 Koekalat ja ruokinta

Kokeisiin varattiin 2800 kappaletta kaksivuotiaita, kaupalliseen tarkoitukseen kasvatettuja naaraskirjolohia (Savon Taimen Oy). Kalat siirrettiin tutkimusasemalle keväällä 2003 ja yksilömerkittiin ID-merkein (Trovan Ltd., Saksa). Kalat ruokittiin kokeen aikana kaupallisella Royal Plus- sekä Royal Herkules rehuilla valmistajan ruokintataulukon mukaisesti (Rehurasio Oy; Liite 1) Kokeen alussa rehun pellettikoko oli 3.5 mm ja astaksantiinipitoisuus 20 mg/kg. Kalojen kasvaessa pellettikokoa muutettiin 5.0 mm:iin 01.07.2003 ja 7.0 mm:iin 01.08.2003. Rehun astaksantiinipitoisuus muuttui samalla ensin 50:een ja lopulta 80:een mg/kg. Kalojen ruokinta tapahtui tietokoneohjatuilla ruokinta-automaateilla (Itu Salmo Micro, T Drum 2000, Arvo-Tec Oy). Ennen jokaista toimenpidettä kalat olivat paastolla 11 vuorokauden ajan.

2.2.2 Koeasetelma

Kokeessa kartoitettiin valokäsittelyn vaikutusta kutukypsyyden säätelyyn seitsemällä valokäsittelyllä. Käsittely valittiin ositetun 2³-faktoriaalin mukaisesti. Muuttujina olivat valokäsittelyn aloitusaika juhannuksesta, valokäsittelyn kesto sekä päivän pituus. Jokaisessa valokäsittelyssä oli kaksi rinnakkaista ryhmää ja vertailuryhminä toimivat neljä luonnonvalo-oloissa pidettyä ryhmää (Taulukko 1). Yhteensä ryhmiä oli siis 18, joista kussakin oli alunperin 155 kalaa.

Valolähteenä käytettiin vedenalaisia lamppuja (Idema Aqua, Norja), joiden teho oli noin 4 W m⁻². Valokäsittelyt aloitettiin kesäpäivän tasauksesta 2003 ja ne kestivät pisimmillään vuoden 2003 loppuun saakka. Taulukossa 1 on esitetty eri valokäsittelyiden aloitusaika, valokäsittelyn kesto kuukausina sekä käsittelyn päivittäinen pituus eli päivänpituus. Lisäksi on esitetty eri käsittelyistä tässä raportissa käytetyt koodit.

Taulukko 1. Kokeen valokäsittelyryhmät. Valot sytytettiin heti (0 kk), kahden (2 kk) tai neljän kuukauden (4 kk) kuluttua juhannuksesta ja valokäsittelyä jatkettiin 2, 4 tai 6 kuukautta (kesto). Valot olivat päällä eli valojaksoa kesti 18, 21 tai 24 tuntia vuorokaudessa. NL (*natural light*) tarkoittaa luonnonvalossa kasvatettua ryhmää.

Tabell 1. Experimentets ljusbehandlingsgrupper. Ljusen tändes omedelbart (0 mån.) efter två månader (2 mån.) eller efter fyra månader (4 mån.) från midsommaren och ljusbehandlingarna fortsatte i 2, 4 eller 6 månader (varaktigheten). Ljusens var på 18, 21 eller 24 timmar i dygnet. NL (*natural light*) avser den fiskgrupp som odlades under naturligt ljus.

KÄSITTELY	ALOITUS (KK)	KESTO (KK)	VALOJAKSO (H)	RYHMIÄ (KPL)
0-2-18	0	2	18	2
0-6-18	0	6	18	2
0-2-24	0	2	24	2
0-6-24	0	6	24	2
4-2-18	4	2	18	2
4-2-24	4	2	24	2
2-4-21	2	4	21	2
NL	NL	NL	NL	4

Kokeen alussa kaikki kalat punnittiin ja kalojen kasvua sekä kutukypsyyden kehittymistä seurattiin seuraavan yhdeksän kuukauden ajan punnitukseen sekä näytteenotoin.

2.3. Punnitukset ja näytteenotot

Kalojen kasvua sekä mädin kehittymistä seurattiin alkupunnituksella, välipunnituksilla, ultraäänitutkimuksilla (UÄ), näytteenotoilla sekä päätöslopetuksella. Täten saatiin arvioitua kalojen keskimääräinen kasvu sekä kypsyvien kalojen määrät kussakin ryhmässä. Tämän lisäksi näytteenotoissa tutkittiin kalan lisääntymiskierron etenemistä sekä sen vaikutusta kalan kaupalliseen laatuun. Kokeen seurantaan liittyneet toimenpiteet on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Kaloille tehty toimenpiteet, niiden ajankohdat sekä käsiteltyjen kalojen lukumäärät jokaisessa ryhmässä. Toimenpiteet on kuvattu yksityiskohtaisesti tekstissä.

Tabell 2. Åtgärderna som gjordes åt fiskarna, tidpunkterna för åtgärderna samt antal behandlade fiskar i varje grupp. Åtgärderna beskrivs mera detaljerat i texten (på finska).

VKO	KK	VUOSI	TOIMENPIDE	KALOJA / RYHMÄ
26	kesäkuu	2003	alkupunnitus	kaikki
34	elokuu	2003	välipunnitus	50
			näytteenotto	10
40	syyskuu	2003	UÄ	50
44	marraskuu	2003	välipunnitus	50
			UÄ	50
			näytteenotto	10
2	tammikuu	2004	välipunnitus	50
			UÄ	50
			näytteenotto	10+5
13	maaliskuu	2004	näytteenotto	10+5
			kokeen päätöslöpetus	kaikki

2.3.1 Punnitukset ja ultraäänimääritykset (UÄ)

Punnituksissa kalat haavittiin kasvatuskasseista nukutussaaveihin, joissa oli 0,03 g/l, MS-222 -nukutusainetta (Finquel, USA). Nukutetut kalat punnittiin yksitellen ja syyskuusta lähtien ne määritettiin ultraäänitutkimuksen (lineaarianturi 6/8 MHz, 485 ANSER, ESAOTE-Pie Medical, Italia) perusteella marroiksi (0), kehittyviksi (1) tai hyvin kehittyneiksi (2) kaloiksi. Määritys tapahtui UÄ-laitteen monitorissa näkyvän mätipussin koon perusteella. Punnituksen ja UÄ-tutkimuksen jälkeen kalat siirrettiin takaisin kasvatuskasseihin.

2.3.2 Näytteenotot

Jokaisessa näytteenotossa jokaisesta ryhmästä otettiin kymmenen kalan otos. Tammi- ja maaliskuussa otettiin jokaisesta ryhmästä vielä viiden kalan lisäotokset. Kymmenen kalan otoksista tutkittiin kalojen kasvun, gonadien, lihaksen koostumuksen, lihaksen värin ja rasvapitoisuuden muutoksia. Kaloista saatujen tietojen perusteella laskettiin fileesaanto sekä gonadosomaattinen indeksi. Viiden kalan lisäotoksista tutkittiin kalojen kasvun ja gonadin kehittymisen lisäksi kalojen lihaksen rakennetta.

2.3.2.1 Kymmenen kalan otos (10-otos)

10 kalan otoksissa kalat haavittiin kasvatuskasseista kuljetussaaveihin ja siirrettiin näytteenottotiloihin. Näytteenottotiloissa kalat tainnutettiin kolkkaamalla. Kaloista otettiin verinäytteet heparinisoiduilla (200 IE/KY/ml, LEO, Tanska) injektioruiskuilla. Verinäytteet fuugattiin (4500 rpm / 5 min) ja erotettu plasma säilytettiin pakastettuna (-20°C) analyysiin saakka. Verinäytteenoton jälkeen kaloilta leikattiin kidusvaltimot auki ja kalat siirrettiin verestymään jäätettyyn veteen n. 30 minuutiksi. Verestyneet kalat mitattiin, punnittiin ja perattiin. Perkauksen jälkeen punnittiin vielä kalan perattu paino sekä mätipussit ja maksa. Mätipussien painosta laskettiin kalan gonadosomaattinen indeksi (GSI) laskukaavalla:

$$GSI(\%) = \text{gonadien paino (g)} * 100 / \text{perattu paino (g)}$$

Mätipussista erotettiin kymmenen mätimunaa ja niiden yhteenlaskettu halkaisija mitattiin millimetripaperia apuna käyttäen. Tämän jälkeen kalat jätettiin styroksilaatikoihin kuolinjäykkyyden eli *rigorin* ajaksi (4-5 vrk).

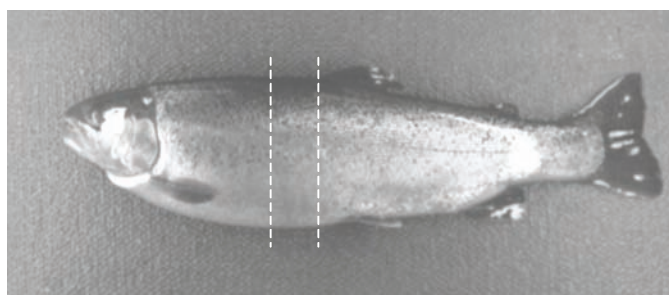
Kuolinjäykkyyden kadottua kalojen rasvapitoisuus mitattiin rasvamittarilla (Malli 692, Distell, Iso-Britannia). Mittari määrittää lihasen vesipitoisuuden ja hyödyntää sen käänteistä suhdetta rasvapitoisuuteen. Mittaus tehtiin molemmilta kyljiltä kylkiviivan yläpuolelta neljästä eri kohtaa kiduksien ja rasvaevän väliseltä alueelta. Yhteensä mitauksia tuli kahdeksan jokaista kalaa kohti ja kalan rasvapitoisuudeksi määritettiin näiden mittauservojen keskiarvo. Tämä mittausero vastaa mittarin valmistajan mukaan kirjolohen fileen rasvaprosenttia. Rasvamittauksen jälkeen kala fileoitiin ja saadut fileet punnittiin. Punnitustietojen perusteella laskettiin fileesaanto (S) laskukaavalla:

$$S(\%) = \text{myytävän materiaalin paino (g)} * 100 / \text{paino (g)}$$

Oikea filee kuvattiin kokonaisena digitaalikameralla (Sigma SD9, Japani) fileen halkeilun määrittämistä varten. Vasen filee leikattiin selkävän kohdalta poikki ja poikkileikkauksesta mitattiin kalan väri heijastavan valon spektrofotometrillä (3 mm aukko, 10° havaintokulma, D65 päivänvalo, malli CM-2600d, Minolta, Japani). Mittarin aukko asetettiin poikkileikkauksipinnalle siten, että mitattavan alueen keskellä oli yksi lihasjaoke. Värimittari käyttää CIELab-värimallia, jossa väri määritellään L*a*b*-avaruudessa (L*=vaaleus; a*=punaisuus; b*=keltaisuus) ja sen värikylläisyys (C*) ja sävy (h*) ilmoitetaan laskennallisesti: $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ja $h^* = \tan^{-1}(b^*/a^*)$. Lisäksi vasemmasta fileestä otettiin 10 g lihasnäyte selkävän alapuolelta, josta määritettiin myöhemmin valkean lihasen raakakoostumus.

2.3.2.2 Viiden kalan otos (5-otos)

Tammi- ja maaliskuussa otettu viiden kalan lisäotos käsiteltiin ennen jättämistä kuten 10-otos, mutta kaloista ei otettu verinäytettä eikä niiden mätimunien halkaisijaa laskettu. Kuolinjäykkyyden kadottua kalasta leikattiin kahden senttimetrin paksuinen poikkileikkaus kuvan 2 osoittamasta kohdasta.



Kuva 2. Rakennemäärityksiä varten leikatun poikkileikkauksen sijainti kalassa.

Bild. 2. Positionen för det tvärsnitt som togs för strukturbestämningarna.

Poikkileikkausten päänpuoleinen pinta tallennettiin skannerilla (Canon, CanoScan3200F, USA) myöhempää kyljen rakenteiden mittasuhteiden määrittämistä varten. Tallennuksen jälkeen poikkileikkauksista mitattiin lihasen kiinteys ns. pistotestillä rakennetestaustilteistoa käyttäen (TA.XTPlus, Stable Micro Systems, Iso-Britannia). Mittapäänä käytettiin sylinteriä (Ø 12,7 mm), joka painettiin 90% poikkileikkauksen paksuudesta nopeudella 2 mm/s. Laitteisto rekisteröi lihasen kiinteyden voimana (N), joka tarvittiin sylinterin painamiseen. Mittauskohtana käytettiin ruodotonta aluetta juuri kylkiviivan yläpuolella.

2.3.3 Kokeen päätös

Kokeen päätyttyä kaikki jäljellä olleet kalat lopetettiin. Niistä mitattiin paino, pituus, paino perattuna sekä gonadien paino.

2.4 Näytteiden analysointi

2.4.1 Lihaksen raakakoostumus

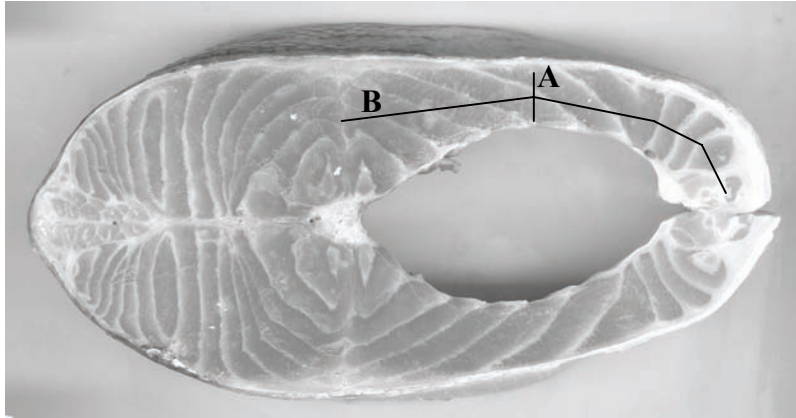
10-otos kalojen lihasnäytteet valkoisen lihasen alueelta homogenisoitiin ja niiden proteiini-, rasva- sekä kuiva-ainepitoisuus määritettiin valmistajan ohjeiden mukaisesti infrapuna-analysaattorilla (FMA2001, MIT, mid-infrared technology, Miris Ab, Uppsala, Ruotsi).

2.4.2 Plasman hormonimääritykset

Estradioli- ja testosteronipitoisuudet määritettiin 10-otos kalojen plasmanäytteistä aikarajoitteisella fluoroimmunoanalyysillä valmistajan ohjeiden mukaisesti (DELFI[®]A Fluorometer, Wallac Oy, Turku ; DELFI[®]A Estradiol, DELFI[®]A Testosterone, PerkinElmer, Boston, USA). 20 µl kutakin näytettä uutettiin dietyylieetterissä. Uutetut näytteet liuotettiin 100 µl:aan II puskuria (Wallac Oy, Turku), jonka jälkeen saadusta liuoksesta pipetoitiin 12,5 µl estradioli- ja 25 µl testosteronimäärityksiin. Minimi dektektiorajat olivat 0.4 nM (100 pg/ml) testosteronille ja 0.05 nM (13.6 pg/ml) estradiolille.

2.4.3 Kuva-analyysit

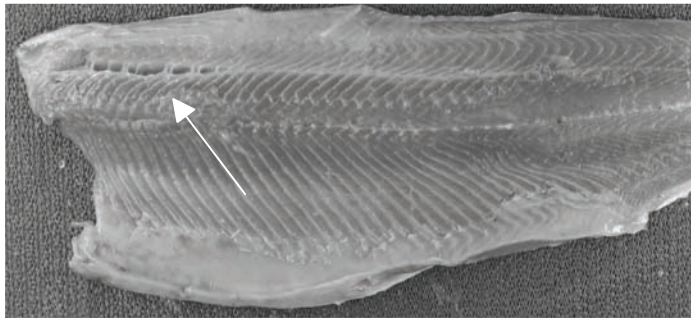
Skannerilla ja digitaalikameralla tallennetut kuvat avattiin Image-Pro PLUS- ohjelmassa (Version 4.0 for Windows[™], Media Cybernetics, MD, USA), jonka mittatyökälua hyväksikäyttäen kuvista voitiin laskea sekä suhteellisia mittoja että kalibroinnin jälkeen todellisia millimetrimääräisiä mittoja. 5-otos kalojen kylkien suhteelliset paksuudet mitattiin pikseleissä. Kyljen paksuus ruumiinontelon keskivaiheilta määritettiin sen prosentuaalisena suhteenä kyljen korkeuteen, kylkiviivalinjasta vatsaliepeeseen (kuva 3).



Kuva 3. Kylkilihaksen paksuus määritettiin kuva-analyysin avulla standardoidulta alueelta. Paksuus ilmoitettiin indeksinä: $100 \times AB^{-1}$.

Bild 3. Flankmuskelns tjocklek bestämdes från ett standardiserat område med hjälp av bildanalys.

10-otos kalojen fileistä määritettiin kylkilihasten mahdollinen halkeilu fileoinnin aikana. Image Pro-PLUS ohjelman mittatyökalu kalibroitiin mittaviivaimen avulla. Lihaksen halkeilu voitiin mitata millimetreissä ja se suhteutettiin fileen kokonaispituuteen (kuva 4).



Kuva 4. Kirjolahifileen halkeilua.

Bild 4. Rämningar i regnbågsloxfilen.

2.5 Tilastolliset menetelmät

Eri vastemuuttujien riippuvuutta kokeessa tutkituista tekijöistä mallinnettiin tilastollisesti ns. sekamallien (mixed-effects models) sekä semiparametrisen regression avulla. Sekamallia käytettiin kalojen kasvun, GSI:n ja mätimunän halkaisijan kehittymisen analysoinnissa. Mallinnus tehtiin lisäämällä tutkittavia tekijöitä yksitellen malliin ja tarkastelemalla tekijöiden ja niiden yhdysvaikutusten merkitystä ns. lisäneliösumma-periaatteen (extra sums-of-squares principle), uskottavuussuhteen sekä kahden informaatiokriteerin (AIC, BIC) perusteella. Lisäksi tarkasteltiin graafisesti kunkin mallin residuaaleja. Lopulliseksi malliksi valittiin malli, johon sisältyi ainoastaan tilastollisesti merkitseviä ($P < 0,05$) tekijöitä tai yhdysvaikutuksia. Yhdysvaikutuksen ollessa merkitsevä vastaavat päävaikutukset säilytettiin mallissa riippumatta niiden tilastollisesta

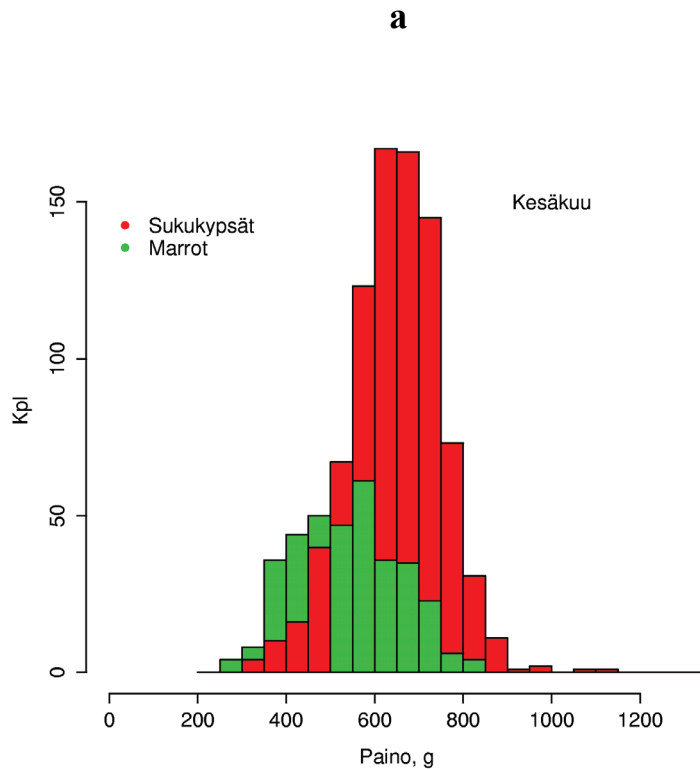
merkitsevyydestä, jotta mallin hierarkisuus säilyi. Analyysit tehtiin R-kielen nlme-kirjaston avulla (R Core Development Team, 2004; Pinheiro ja Bates 2000).

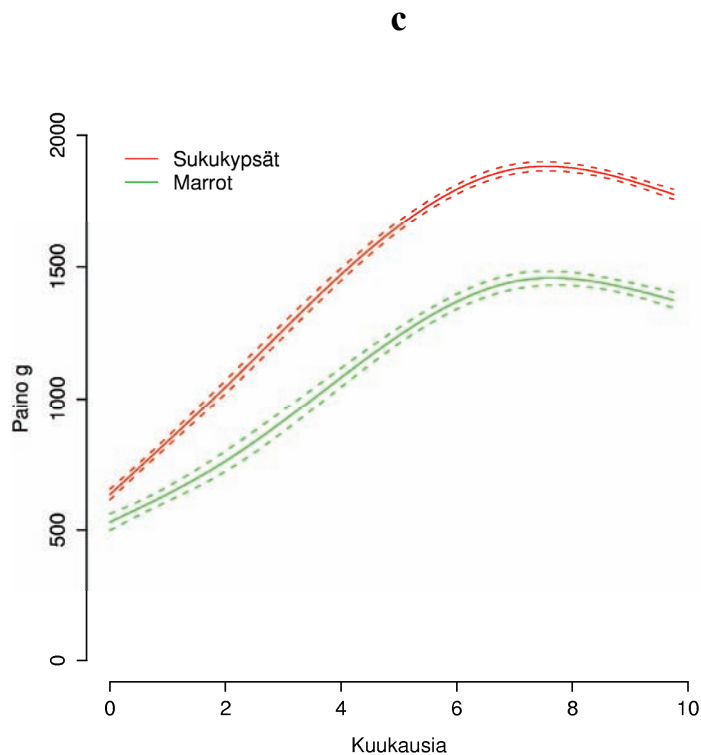
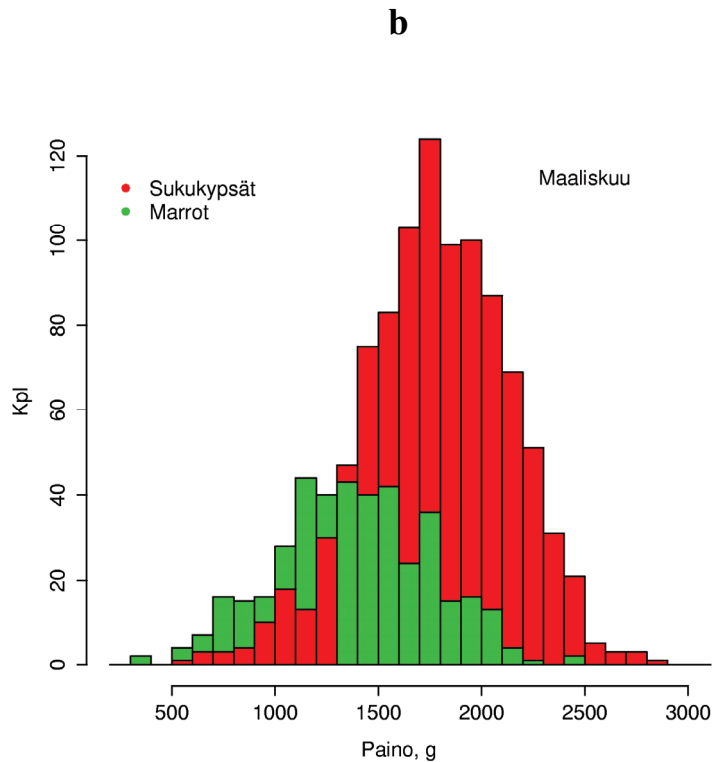
Muiden vastemuuttujien tilastolliseen tarkasteluun käytettiin semiparametrista regressioanalyysia, jossa vasteen mahdollista epälineaarisuutta suhteessa selittäviin muuttujiin tarkasteltiin rajoitetun kuutio splinein avulla. Lopullinen malli valittiin samoilla kriteereillä kuin edellä sekamallien tapauksessa. Analyysit tehtiin R-kielen Design-kirjaston avulla (R Core Development team, 2004; Alzola ja Harrell 2004).

3. Tulokset

3.1 Valokäsittelyjen vaikutus sukukypsien kalojen osuuksiin ja kasvuun

Kalojen sukukypsyys tai martous määritettiin maaliskuussa kokeen lopetuksen yhteydessä. Valokäsittelyt eivät vaikuttaneet sukukypsien kalojen osuuteen koekaloista. Martoja kaloja, eli kaloja, jotka eivät saavuttaneet sukukypsyyttä vuoden 2003 aikana oli 15.8 %. Kuvissa 5a ja 5b on esitetty martojen ja sukukypsien kalojen painojakaumat kokeen alussa (kesäkuu 2003) ja lopussa (maaliskuu 2004). Marrot kalat olivat kokeen alussa keskipainoltaan sukukypsyneitä kaloja pienempiä, mutta jakaumissa on paljon päällekkäisyyttä. Kokeen lopussa martojen ja sukukypsyneiden kalojen painojakaumat olivat enemmän erillään. Kalojen painot kokeen alussa (kesäkuu 2003) on saatu yksilömerkkietietojen pohjalta. Kuvassa 5c on esitetty martojen ja sukukypsyneiden kalojen kasvukäyrät koko koejakson ajalta (10-otos kalat). Marrot kalat kasvoivat hitaammin kasvukauden aikana ja sen lopussa painoero oli noin puoli kiloa.





Kuva 5. Kalojen painojakaumat sukukypsyyden (sukukypsät ja marrot) mukaan kokeen alussa (kesäkuu 2003) (a), lopussa (maaliskuu 2004) (b) sekä sukukypsien ja martojen näytekalojen kasvukäyrät kokeen ajalta (c). Katkoviivat rajaavat keskipainon 95 %:n luottamusvälin.

Bild 5. Fiskarnas viktfordelning enligt könsmognad (köns mogen och omogen) i början (juni 2003) (a) och i slutet (mars 2004) (b) av experimentet. De köns mogna och omogna försöksfiskarnas tillväxtkurvor under experimentets förlopp (c). De streckade linjerna anger medelvikten med 95% konfidensintervall.

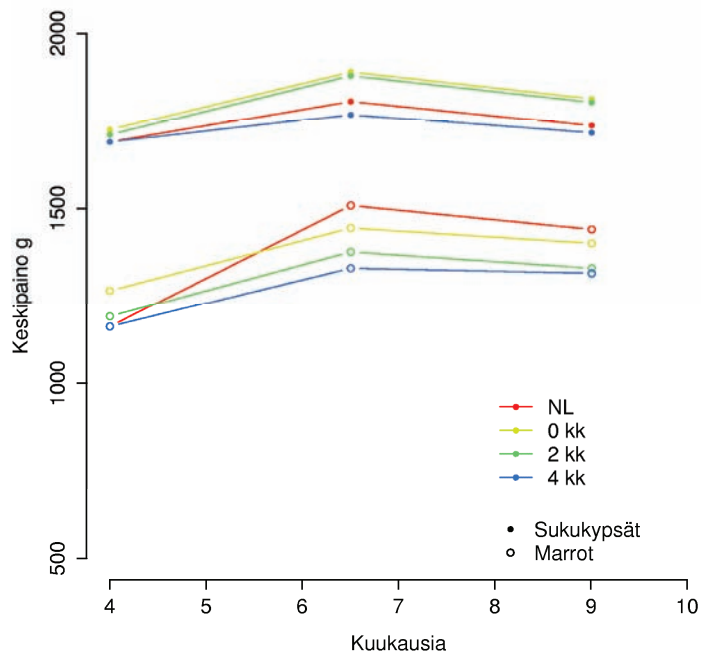
Sukukypsyyden määrittämisessä käytettiin kokeen aikana myös ultraäänikuvantamista, joka mahdollisti kalaparven yksinkertaisen ja tehokkaan seurannan kokeen aikana ilman kalojen tappamista. Kokeen lopetuksen yhteydessä virheellisten määritysten osuus laskettiin yksilömerkintätietojen perusteella ja menetelmän luotettavuus arvioitiin. Mätipussien eri kehitysvaiheiden erottaminen suunnitellun kolmiportaisen asteikon perusteella havaittiin epävarmaksi. Tästä syystä kalojen jaottelu muutettiin koskemaan vain martoutta ja mädin kehittymistä yleensä. Syyskuun lopussa, noin kuusi kuukautta ennen kutuaikaa 92.7 % marroista ja 93.5 % kehittyvistä kaloista määritettiin oikein (taulukko 3). Vastaavat luvut olivat marraskuussa 96.2 % ja 96.1 % ja tammikuussa 95.3 % ja 98.7 %. Virheprosentti tällä aikavälillä tippui sukukypsyvien kalojen osalta 6.5 %:sta 1.3 %:iin.

Taulukko 3. Ultraäänikuvantamisen luotettavuus sukukypsyydsasteen määrittämisessä syys-, marras- ja tammikuussa. Oikeat ja väärät arviot on ilmoitettu prosentteina maaliskuussa GSI:n perusteella luokitelluista kaloista.

Tabell 3. Tillförlitligheten hos ultraljudsundersökningarna vid definieringen av könsmognadsgraden i september, november och januari. De rätta och felaktiga uppskattningarna presenteras i procent hos fiskar som klassificerats på basen av GSI i mars.

MAALISKUU	TAMMIKUU		MARRASKUU		SYYSKUU	
	oikein	väärin	oikein	väärin	oikein	väärin
sukukypsyys						
marto (GSI<2%)	95.3	4.7	96.2	3.8	92.7	7.3
kypsä (GSI>2%)	98.7	1.3	96.1	3.9	93.5	6.5

Valokäsittelyn aloitusajankohta vaikutti sukukypsyien kalojen kasvuun (kuva 6). Mitä aiemmin valokäsittely alkoi, sen paremmin kalat kasvoivat koejakson aikana. Ennustettu ero ääripäiden välillä tammi- ja maaliskuussa oli maksimissaan 110 g. Valokäsittelyn kokonaispituudella tai päivän pituudella ei ollut vaikutusta kalojen kasvuun. Tilastollinen malli kasvulle on esitetty liitteessä 2.



Kuva 6. Kalojen keskipainojen kehitys neljänneltä koekuukaudelta kokeen loppuun valonkäsittelyn aloitusajankohdan (0 kk, 2 kk, 4 kk) mukaan. Luonnonvalokalat (NL) olivat ilman valokäsittelyä. Kypsien ja martojen kalojen keskipainot on esitetty erikseen.

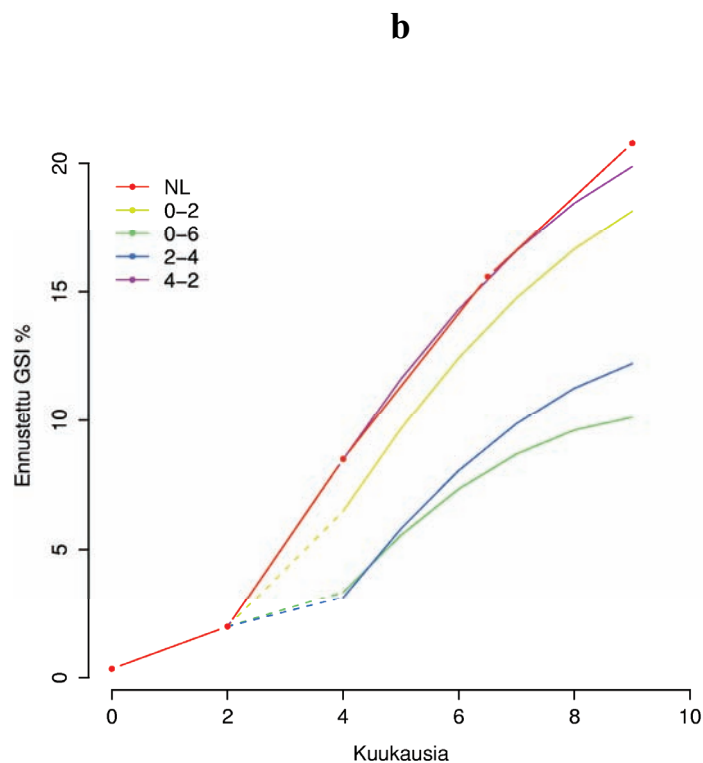
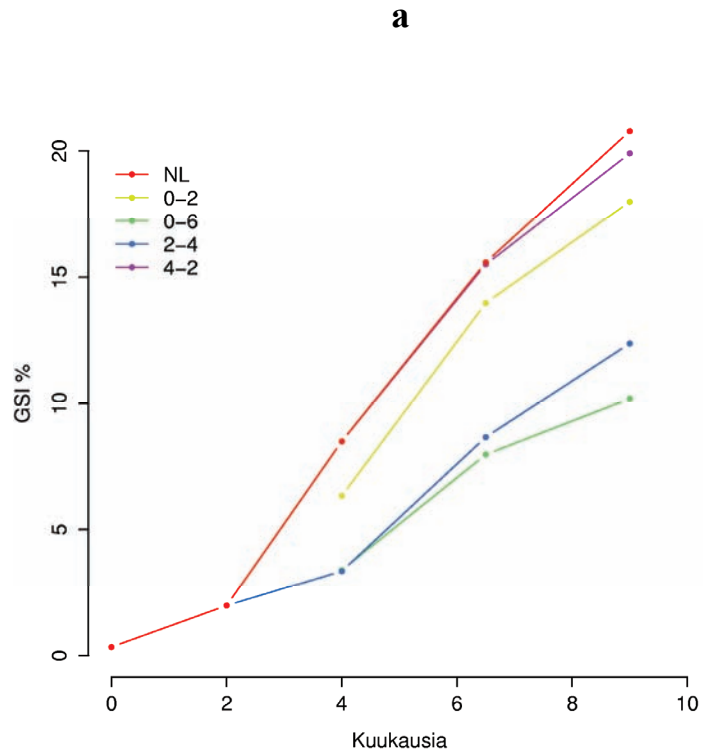
Bild 6. Utvecklingen av fiskarnas medelvikt från experimentets fjärde månad till experimentets slut enligt ljusbehandlingens begynnelsepunkt (0 mån., 2 mån., 4 mån.). Naturljusfiskarna (NL) fick ingen ljusbehandling. De köns mogna och omogna fiskarnas medelvikt presenteras separat.

3.2 Valokäsittelyjen vaikutus kutukypsytyteen

Kutukypsytyden kehittymistä tarkasteltiin sukukypsien kalojen osalta niiden gonadosomaattisen indeksin (GSI), mätimunnan halkaisijan sekä estradioli- ja testosteronipitoisuuksien avulla. Tarkasteluissa olivat mukana ne 10-otos kalat, joiden GSI ylitti mittaushetkellä 2%:n raja-arvon.

3.2.1 Gonadosomaattinen indeksi (GSI)

GSI:n keskimääräinen kehitys eri valokäsittelyissä on esitetty kuvassa 7a. Mittauskuukausi, valokäsittelyn aloitusaika ja kesto vaikuttivat mätimäärän kasvuun, mutta vuorokauden pituus ei. Pitkäkestoisella ja aikaisin aloitetulla valokäsittelyillä GSI:n kehitystä voitiin viivästyttää jopa 50 % luonnonvalokaloihin verrattuna. Käsittelyjen vaikutus GSI:n kehitykseen mallinnettiin käyttämällä ainoastaan mittauksia koekuukausilta 4-9 (kuva 7b), koska aiemmissa mittauksissa sukukypsiksi luokiteltavia kaloja ei esiintynyt ryhmissä riittävästi. Mallin avulla voidaan ennustaa eri valokäsittelyjen vaikutusta GSI:hin. Tilastollinen malli GSI:n kehitykselle on esitetty liitteessä 2.

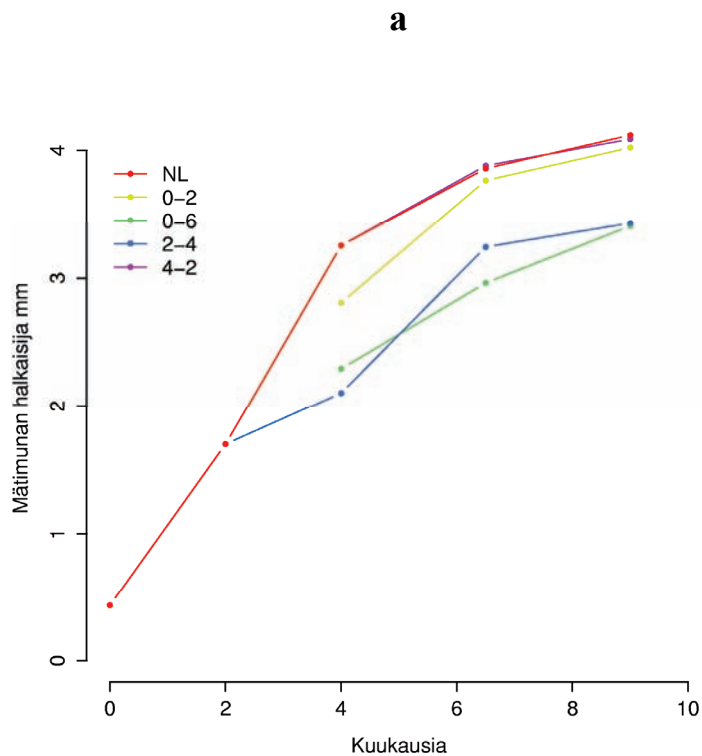


Kuva 7. Gonadosomaattisen indeksin kehitys (a). Eri valokäsittelyjen (NL, 0-2, 0-6, 2-4, 4-2) vaikutukset GSI:hin on esitetty suhteessa aikaan. Gonadosomaattisen indeksin ennuste eri valokäsittelyissä (b). Mallin residuaalivirhe on 0,94 %-yksikköä.

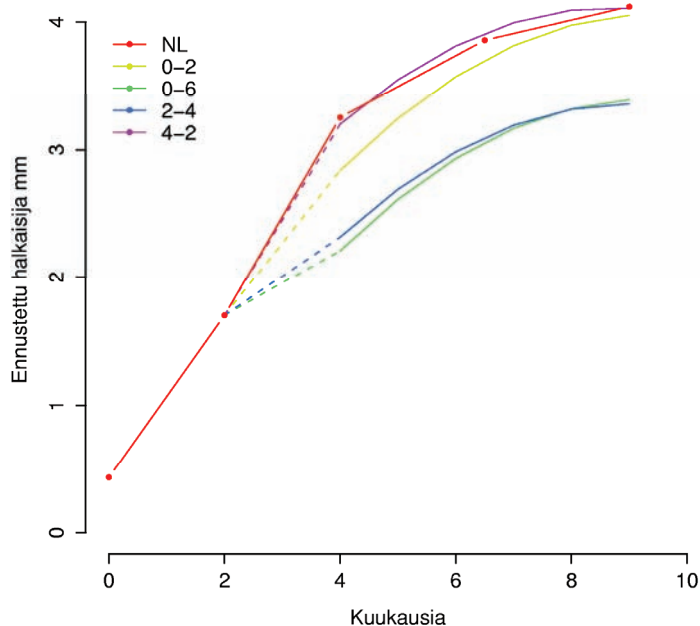
Bild 7. Utvecklingen av det gonadosomatiska indexet (GSI) (a). De olika behandlingarnas (NL, 0-2, 0-6, 2-4, 4-2) inverkan på GSI presenteras i förhållande till tiden. Prognosen för GSI under de olika ljusbehandlingarna (b). Modellens residualfel är 0,94 procentenheter.

3.2.2 Mätimunan halkaisija

Mätimunan halkaisijan keskimääräinen kasvu eri valokäsittelyissä on esitetty kuvassa 8a. Mittauskuukausi, valokäsittelyn aloitusaika ja kesto vaikuttivat mätimunan kasvuun, mutta vuorokauden pituus ei. Mädin määrässä (GSI) havaittu ero toistui siis samankaltaisena mätimunan koossa. Luonnonvalossa (NL) sekä lyhyessä (0-2) tai myöhään aloitetussa (4-2) valokäsittelyssä olleet kalat tuottivat enemmän ja suurempaa mätiiä kuin kalat pitkäkestoisessa (0-6) ja aikaisin aloitetussa valokäsittelyssä (0-6 ja 2-4). Valokäsittelyjen vaikutus sukukypsyvien kalojen mätimunan halkaisijan kasvuun mallinnettiin samoin kuin GSI:n tapauksessa (kuva 8b). Malli kuvaa hyvin mätimunan kasvua ja sen avulla voidaan ennustaa luotettavasti eri valokäsittelyjen vaikutusta.



b



Kuva 8. Mätimunän halkaisijan kasvu (a). Eri valokäsittelyjen (NL, 0-2, 0-6, 2-4, 4-2) vaikutukset mätimunän halkaisijan kasvuun on esitetty suhteessa aikaan. Mätimunän halkaisijan kasvun ennuste eri valokäsittelyissä (b). Mallin residuaali-virhe on 0,15 mm.

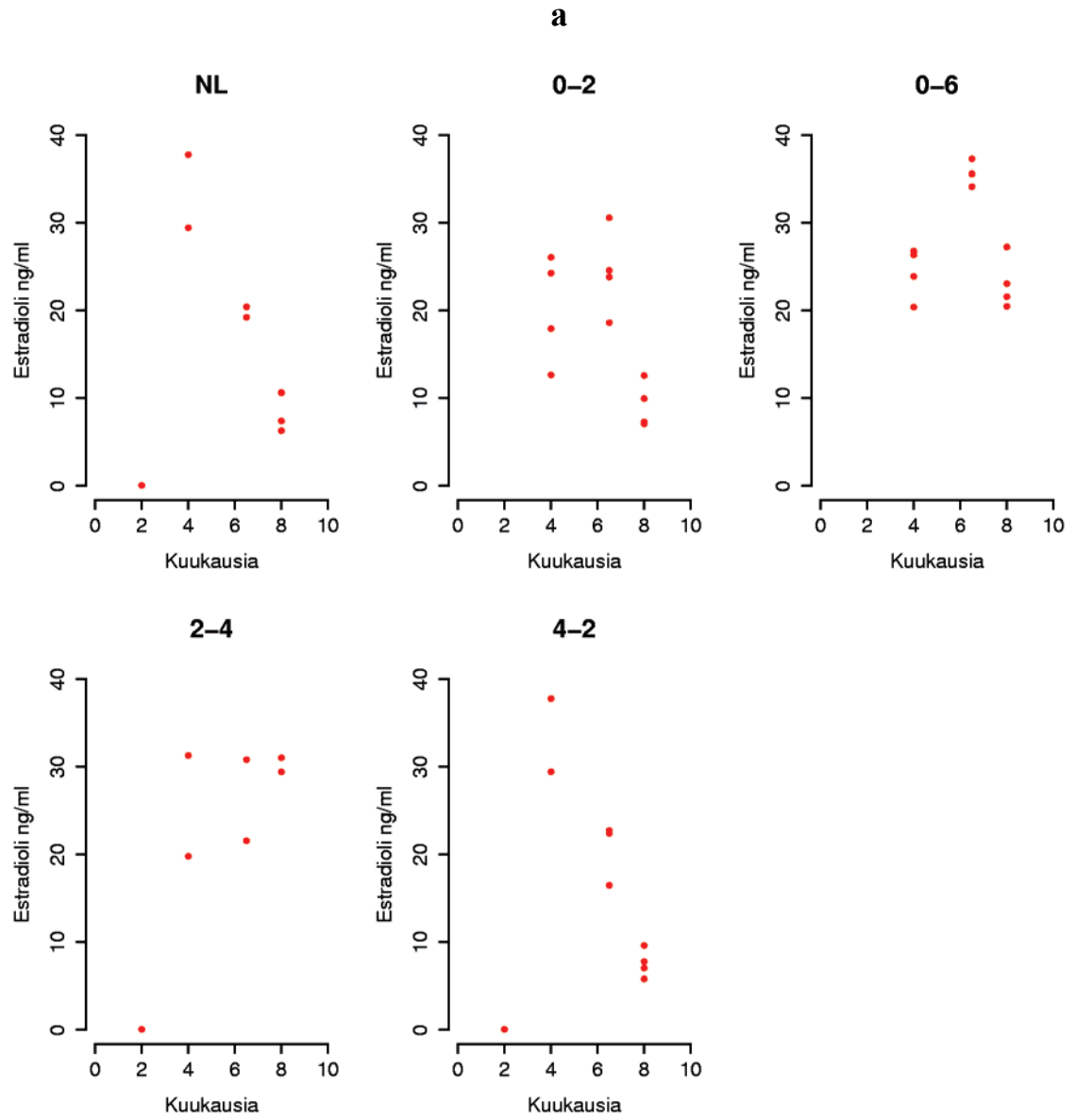
Bild 8. Tillväxten av romkornets diameter (a). De olika ljusbehandlingarnas (NL, 0-2, 0-6, 2-4, 4-2) inverkan på tillväxten av romkornets diameter presenteras i förhållande till tiden. Prognosen för tillväxten av romkornets diameter under de olika ljusbehandlingarna (b). Modellens residualfel är 0,15 mm.

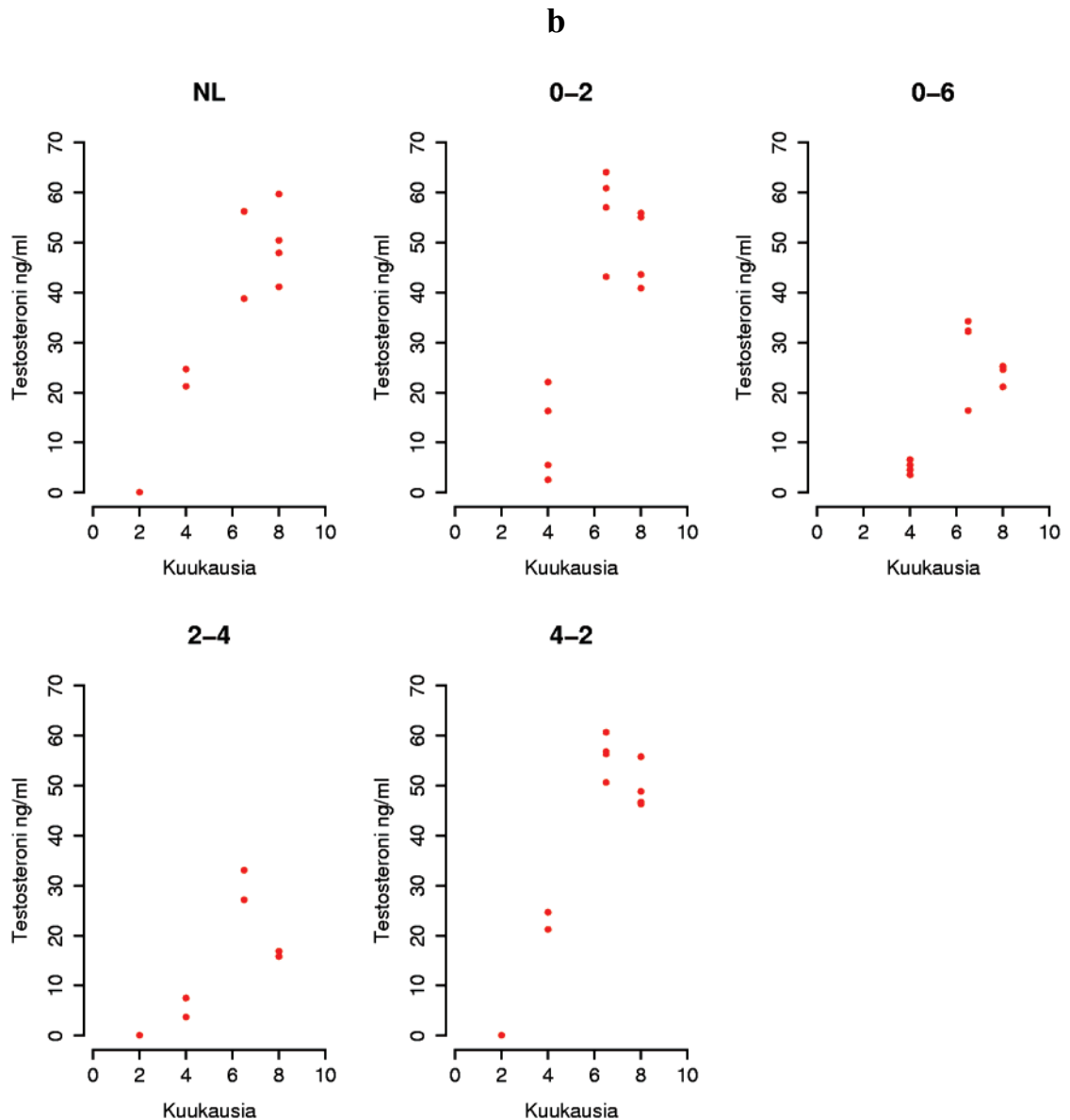
Mätimunän halkaisijan kehitystä kuvaava malli poikkeaa GSI-mallista kuuden (0-6) ja neljän (2-4) kuukauden valokäsittelyjen suhteen (kuvat 7b ja 8b). Kyseiset valokäsittelyt eivät erottuneet keväällä toisistaan mätimunän halkaisijan suhteen toisin kuin GSI:tä käytettäessä. Tilastollinen malli mätimunän kasvulle on esitetty liitteessä 2.

3.2.3 Plasman estradioli(E2)- ja testosteroni(T) -pitoisuudet

Sukukypsien kalojen plasman hormonipitoisuuksien keskiarvot eri valokäsittelyryhmissä on esitetty kuvissa 9a ja 9b. Päivänpituutta ei ole otettu huomioon valokäsittelyryhmissä. Koska hormonipitoisuuksien tiedetään vaihtelevan lyhyellä aikavälillä, ei kokeen harvojen näytteenottojen perusteella voida piirtää tarkkoja hormonipitoisuus-käyriä. Arvoja voidaan kuitenkin verrata eri valokäsittelyjen välillä kyseisenä ajankohdaksi ja niiden perusteella arvioida pitoisuushuippujen ajoittumista näytteenottoajankohdian ympärille. Kaloilla, joilla valokäsittely on aloitettu kesäpäivän tasauksesta (0-2 ja 0-6) E2-pitoisuus nousee myöhemmin kuin luonnonvaloryhmällä (NL, kuva 9a). Korkeimmat E2-pitoisuudet mitattiin näissä ryhmissä tammikuussa, kun ne luonnonvaloryhmässä mitattiin kaksi kuukautta aikaisemmin marraskuussa. Elokuussa aloitettu valokäsittely (2-4) näyttää muuttavan E2-käyrää siten, että E2-pitoisuus jää kevättalvella korkeammalle kuin luonnonvaloryhmällä. Lokakuussa aloitettu valokäsittely (4-2) ei enää vaikuta E2-pitoisuuksiin. T-pitoisuuksien nousu seuraa E2-pitoisuuksien

nousua (kuva 9b.). Pitkäkestoisissa valokäsittelyissä (0-6 ja 2-4) T-pitoisuudet näyttävät jäävän alhaisemmiksi luonnonvalokäsittelyyn verrattuna.



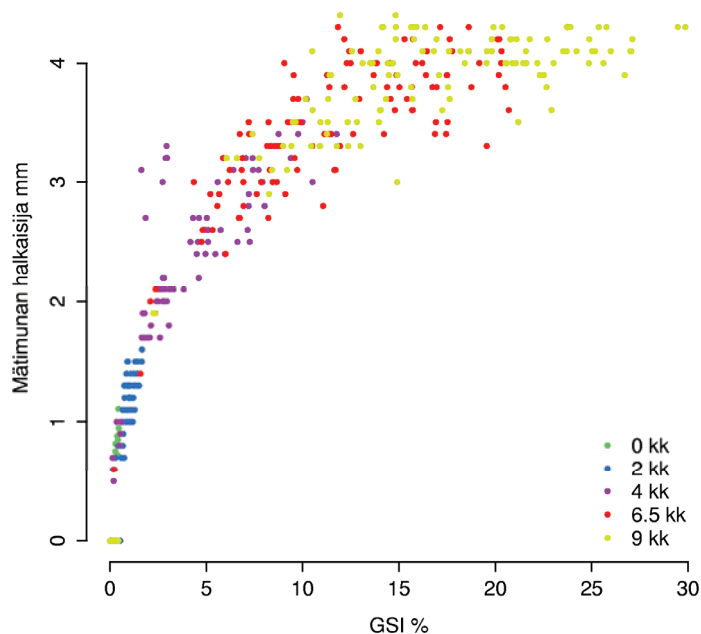


Kuva 9. Sukukypsien kalojen estradiolipitoisuudet (ng/ml) (a) ja testosteronipitoisuudet (ng/ml) (b) näytteenottohetkillä eri valokäsittelyissä (NL, 0-2, 0-6, 2-4, 4-2).

Bild 9. De könsmogna fiskarnas estradiol- (a) och testosteronhalter (b) (ng/ml) under provtagningstidpunkterna under de olika ljusbehandlingarna (NL, 0-2, 0-6, 2-4, 4-2)

3.3 Kutukypsyysen vaikutus kalan laatu- ja tuotanto-ominaisuuksiin

Kuvassa 10 on esitetty GSI:n suhde mätimunän halkaisijaan. GSI-arvojen kasvu jatkui lähes lineaarisena koko koejakson ajan (kuva 7a), kun taas mätimunän halkaisijan kasvu lähestyi edellistä voimakkaammin maksimiaan jo tammikuussa (kuva 8a). Tämä havaitaan kuvassa 10 GSI:n hajonnan kasvuna mätimunän halkaisijan kasvaessa.



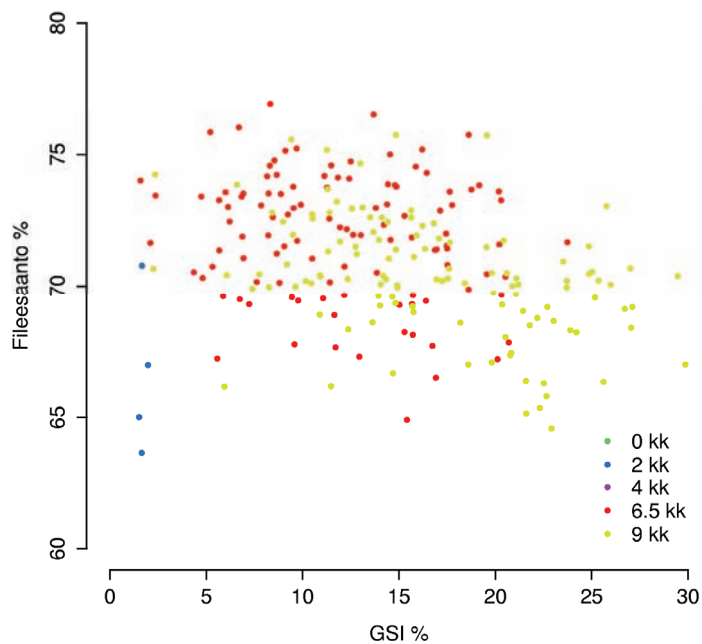
Kuva 10. Munan halkaisija (mm) suhteessa GSI:hin (%). Näytteenottoajankohdat (0, 2, 4, 6,5 ja 9 kk) on merkitty eri värein.

Bild 10. Romkornets diameter i förhållande till GSI (%). Provtagningsstidpunkterna (0, 2, 4, 6,5 och 9 mån.) har markerats med olika färger.

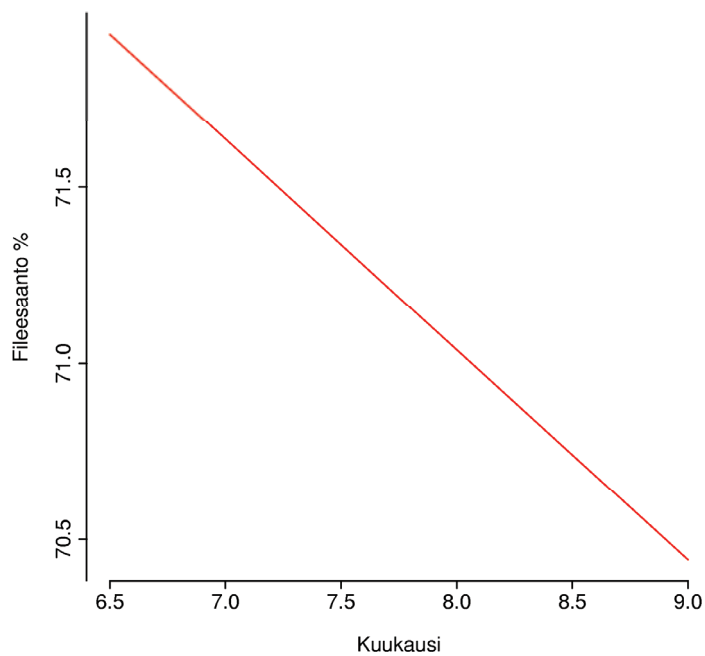
Seuraavissa laatu- ja tuotanto-ominaisuuksien tarkasteluissa GSI:tä käytetään kutukypsyuden ja mädin kehityksen mittarina. Mukana tarkasteluissa ovat 10-otos kalat, lukuun ottamatta kyljen paksuus- ja rakennevertailuja, jotka tehtiin 5-otos kaloilla. Havaintopisteet ovat näytteenottoajankohtia, joissa eri valokäsittelyjä ei ole huomioitu. Mikäli GSI:llä, valokäsittelyllä, näytteenottoajankohdalla tai näillä yhteisesti oli vaikutusta laatu- tai tuotanto-ominaisuuksiin, on vaikutukset esitetty erillisissä kuvissa. GSI:stä riippumattomat erot analysoitiin tammi- ja maaliskuulta. Tilastolliset mallit ovat liitteessä 2.

Fileesaanto. Peratusta kalasta saatavan myytävän materiaalin määrä eli fileesaanto ei ollut riippuvainen GSI:stä (kuva 11a). Sen sijaan fileesaanto oli riippuvainen näytteenottoajankohdasta laskien noin 1,5 prosenttiyksikköä tammikuusta (6,5 kk) maaliskuun loppuun (9 kk; kuva 11b).

a



b

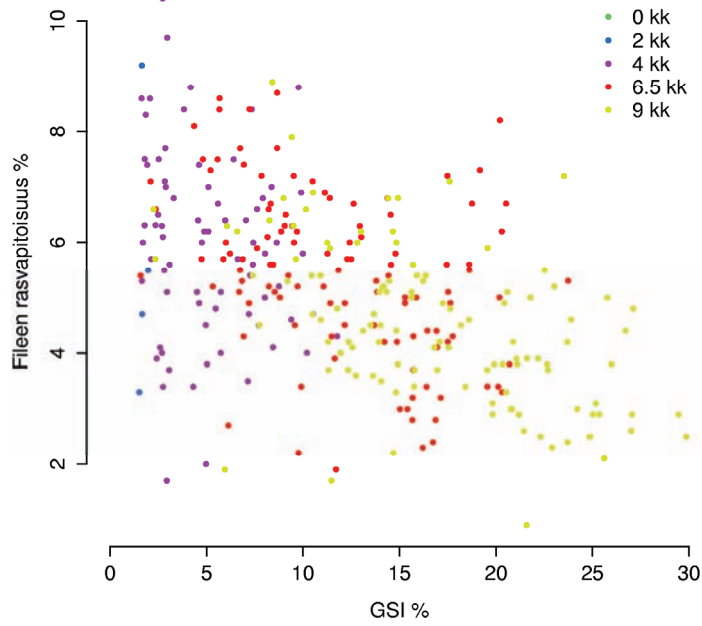


Kuva 11. Fileesaannon suhde GSI:hin (a). Näytteenottoajankohdat on merkitty eri väreihin. Fileesaannon muutos kevättalvella (b).

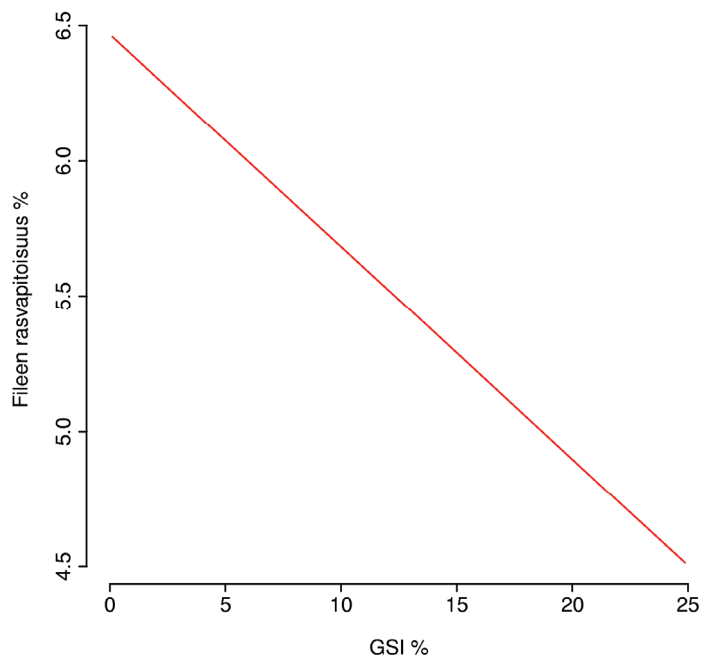
Bild 11. Filéfångsten i förhållande till GSI (a). Provtagningsstidpunkterna (0, 2, 4, 6,5 och 9 mån.) har markerats med olika färger. Förändringen i filéfångsten under vårvintern (b).

Fileen rasvapitoisuus. Fileen rasvapitoisuus pieneni GSI:n noustessa (kuvat 12a ja 12b). Kevättalvella rasvapitoisuudessa havaittiin lisäksi GSI:stä riippumaton ero valokäsittelyäriipäiden välillä (kuva 12c). Luonnonvalokalojen (NL) rasvapitoisuus laski reilun prosenttiyksikön verran maaliskuulle mentäessä, mutta aikaisin aloitetun ja pitkäkestoisen valokäsittelyn (0-6) kalojen rasvapitoisuus pysyi lähes vakiona.

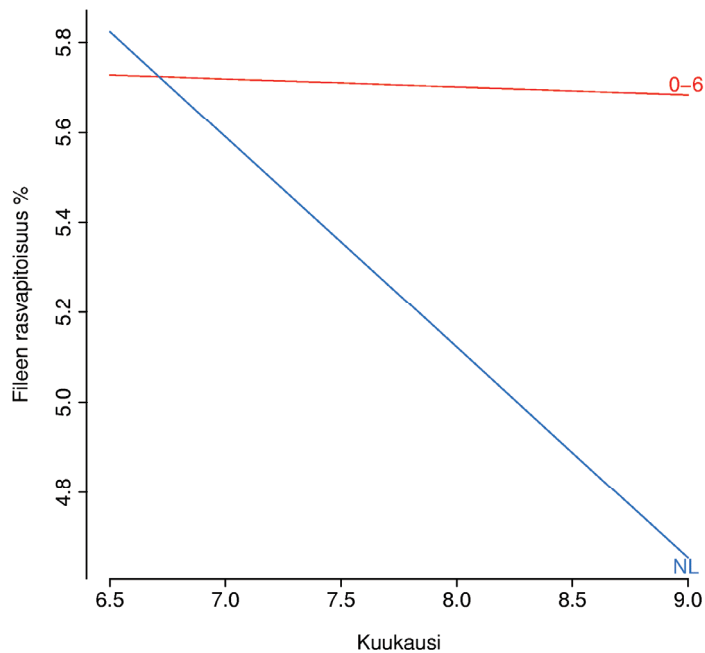
a



b



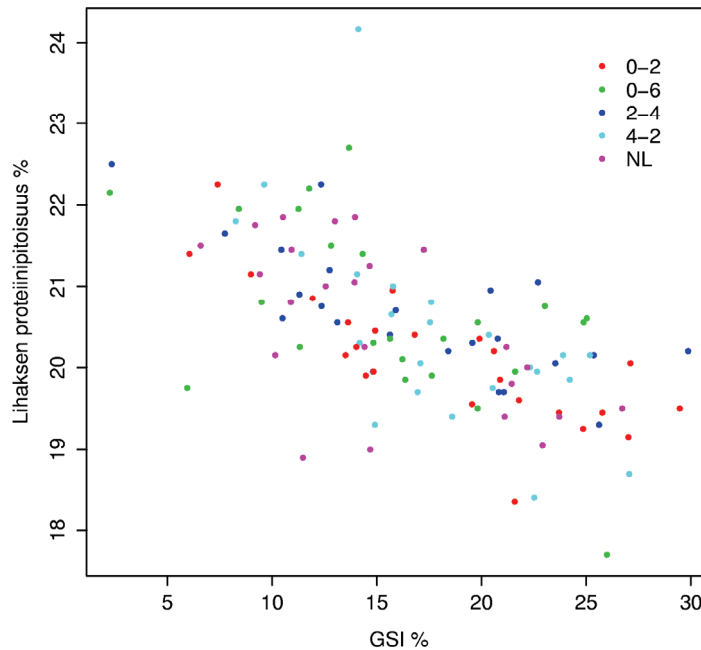
c



Kuva 12. Fileen rasvapitoisuuden suhde GSI:hin (a ja b). Näytteenottoajankohdat on merkitty eri värein. GSI:stä riippumaton pitkän valokäsittelyn (0-6) vaikutus fileen rasvapitoisuuteen verrattuna luonnonvalokäsittelyn (NL) vaikutukseen (c). Huomioi mitta-asteikko.

Bild 12. Filéns fetthalt i förhållande till GSI (a och b). Provtagningsstidpunkterna (0, 2, 4, 6,5 och 9 mån.) har markerats med olika färger. Inverkan av en lång ljusbehandling (0-6) (oberoende av GSI) på filéns fetthalt jämfört med inverkan av naturlig ljusbehandling (NL) (c). Observera måttskalan.

Valkoisen lihaksen raakakoostumus. Rasva-, proteiini- ja kuiva-ainepitoisuus määritettiin koejakson lopussa. Rasvapitoisuuden vaihtelut valkoisessa lihaksessa eivät olleet GSI:stä riippuvia. Sen sijaan proteiinipitoisuus laski GSI:n kasvaessa (kuva 13). Valokäsittelyllä ei ollut vaikutusta raakakoostumukseen.

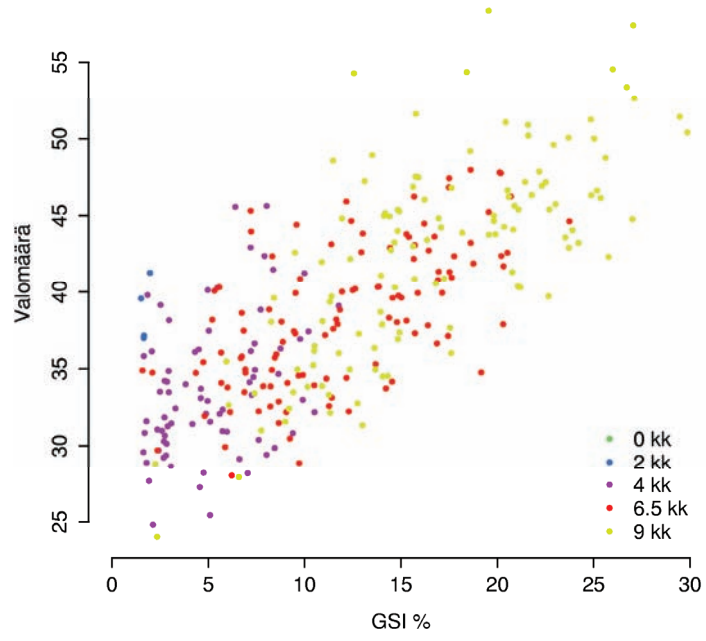


Kuva 13. Lihaksen proteiinipitoisuuden suhde GSI:hin. Valokäsittelyt (0-2, 0-6, 2-4, 4-2, NL) on merkitty eri värein.

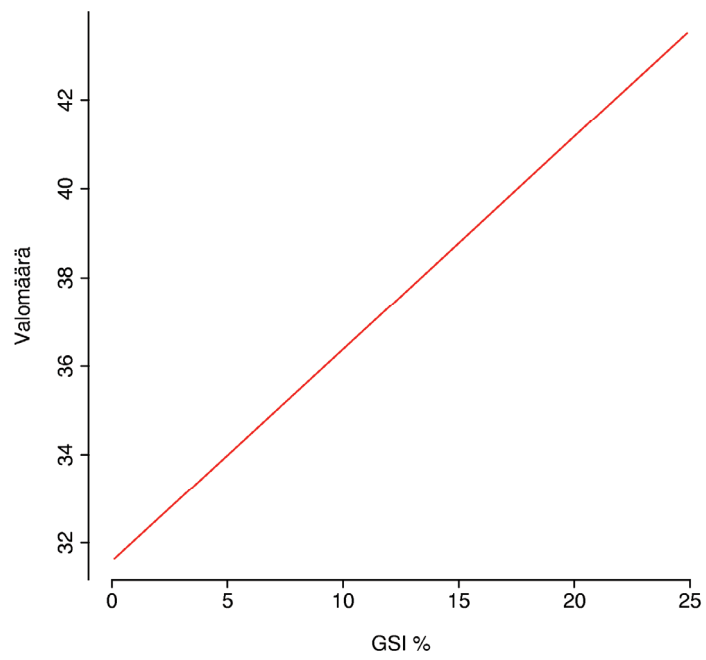
Bild 13. Muskelns proteinhalt i förhållande till GSI. Ljusbehandlingarna (NL, 0-2, 0-6, 2-4, 4-2) har markerats med olika färger.

Lihaksen väri. Lihaksen väri muodostuu kolmesta itsenäisestä komponentista, joita mitattiin koejakson aikana. Näitä ovat valomäärä (0=musta, 100= valkoinen), värikylläisyys (0-100 %) ja värisävy (esim. 0=punainen ja 90=keltainen). Valomäärä kasvoi eli lihas vaaleni GSI:n kasvaessa (kuva 14a ja 14b). Lisäksi ääripäiden valokäsittelyt erosivat toisistaan GSI:stä riippumattomasti. Aikaisin aloitettu ja pitkäkestoinen valokäsittely (0-6) piti lihaksen valomäärän lähes vakiona koko kevään ajan, kun taas luonnonvaloryhmissä (NL) lihas vaaleni (kuva 14c). Värikylläisyys kasvoi valomäärän tapaan GSI:n kasvaessa (kuva 15a ja 15b) ja se oli suurempi 0-6-käsittelyssä verrattuna NL-käsittelyyn (15c). Värisävyssä ei havaittu riippuvuutta GSI:hin (kuva 16a). Värisävyssä havaittiin kuitenkin GSI:stä riippumaton ero 0-6 ja NL-ryhmien välillä (kuva 16b). NL-ryhmässä lihas muuttui kevään aikana voimakkaammin keltaiseen suuntaan kuin 0-6 -ryhmässä.

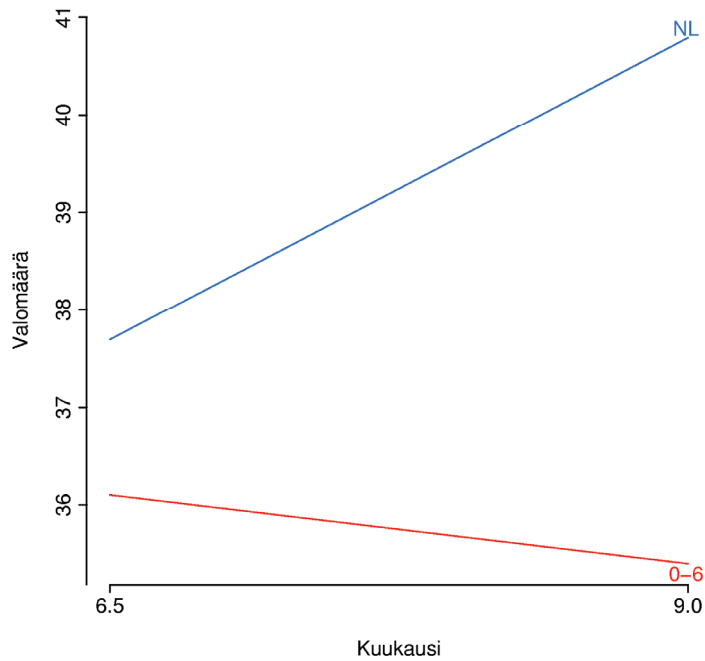
a



b



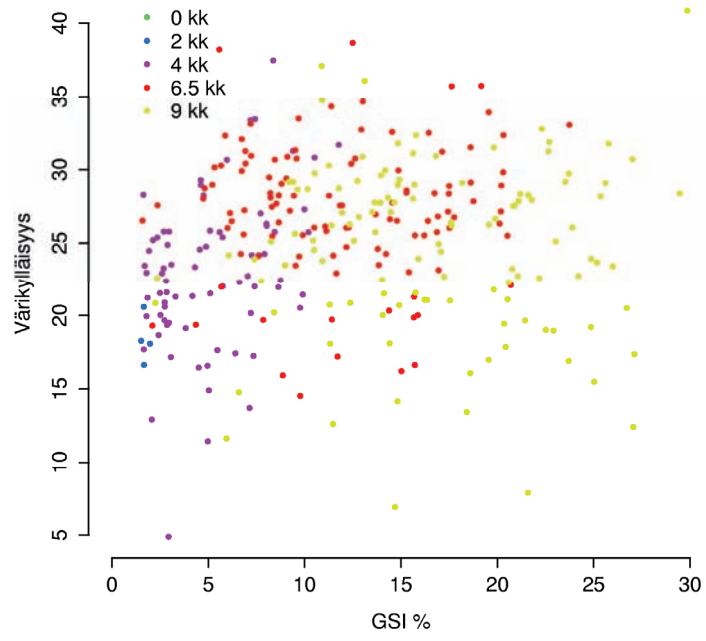
c



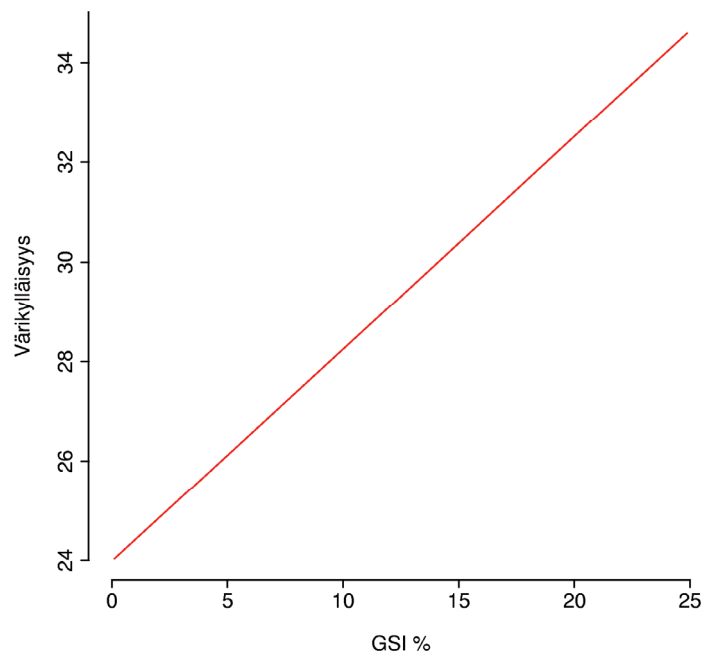
Kuva 14. Lihaksen valomäärän suhde GSI:hin (a ja b). Näytteenottoajankohdat on merkitty eri värein. GSI:stä riippumaton pitkän valokäsittelyn (0-6) vaikutus lihaksen valomäärään verrattuna luonnonvalokäsittelyn (NL) vaikutukseen (c). Huomioi mitta-asteikko.

Bild 14. Muskelns ljusmängd i förhållande till GSI (a och b). Provtagnings-tidpunkterna (0, 2, 4, 6,5 och 9 mån.) har markerats med olika färger. Inverkan av en lång ljusbehandling (0-6) (oberoende av GSI) på muskelns ljusmängd jämfört med inverkan av naturlig ljusbehandling (NL) (c). Observera måttskalan.

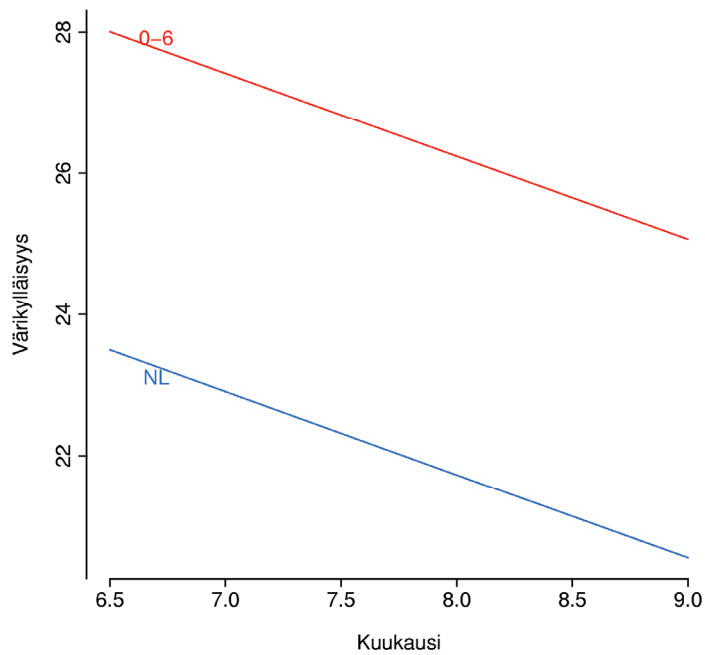
a



b



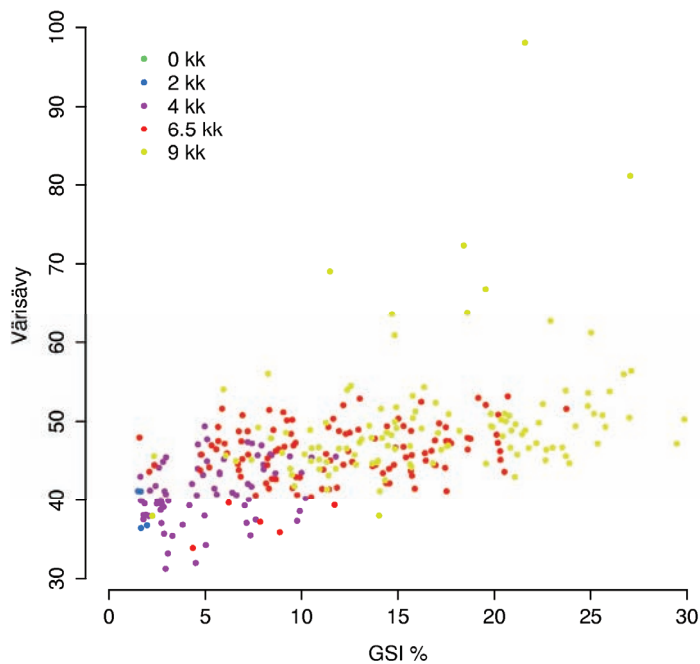
c



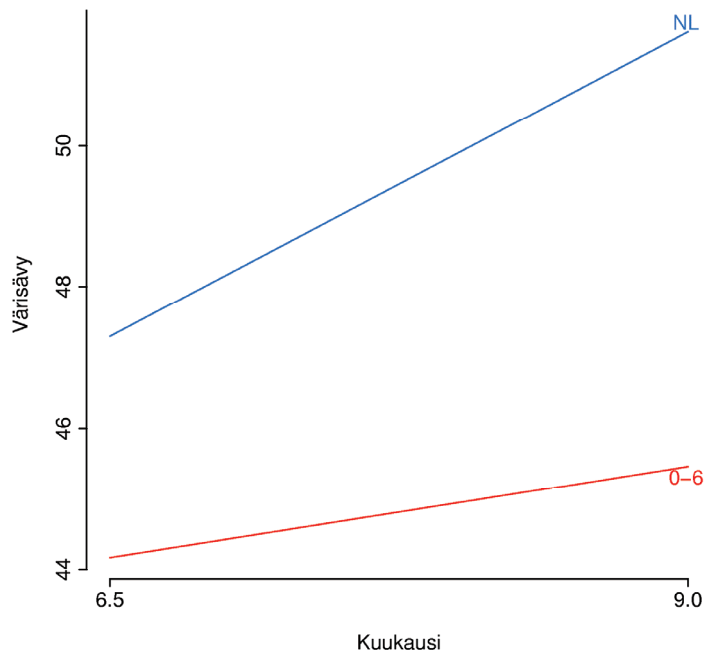
Kuva 15. Lihaksen värikylläisyyden suhde GSI:hin (a ja b). Näytteenottoajankohdat on merkitty eri värein. GSI:stä riippumaton pitkän valokäsittelyn (0-6) vaikutus lihaksen värikylläisyyteen verrattuna luonnonvalokäsittelyn (NL) vaikutukseen (c). Huomioi mitta-asteikko.

Bild 15. Muskelns färgmättnad i förhållande till GSI (a och b). Provtagningspunkterna (0, 2, 4, 6,5 och 9 mån.) har markerats med olika färger. Inverkan av en lång ljusbehandling (0-6) (oberoende av GSI) på muskelns färgmättnad jämfört med inverkan av naturlig ljusbehandling (NL) (c). Observera måttskalan.

a



b

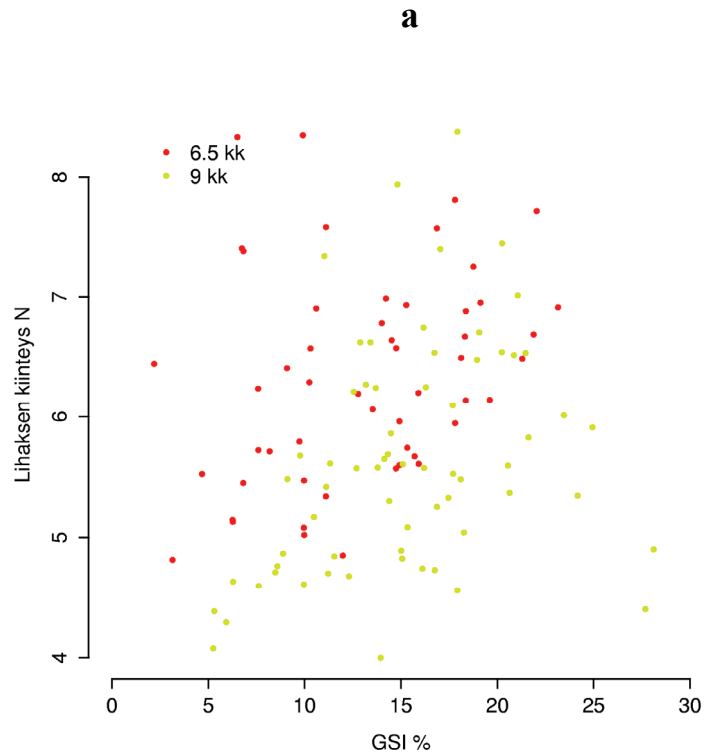


Kuva 16. Lihaksen värisävyn suhde GSI:hin (a). Näytteenottoajankohdat on merkitty eri värein. GSI:stä riippumaton pitkän valokäsittelyn (0-6) vaikutus lihaksen värisävyyteen verrattuna luonnonvalokäsittelyn (NL) vaikutukseen (b). Huomioi mitta-asteikko.

Bild 16. Muskelns färgnyans i förhållande till GSI (a). Provtagningsstidpunkterna (0, 2, 4, 6,5 och 9 mån.) har markerats med olika färger. Inverkan av en lång ljusbehandling (0-6) (oberoende av GSI) på muskelns färgnyans jämfört med inverkan av naturlig ljusbehandling (NL) (b). Observera måttskalan.

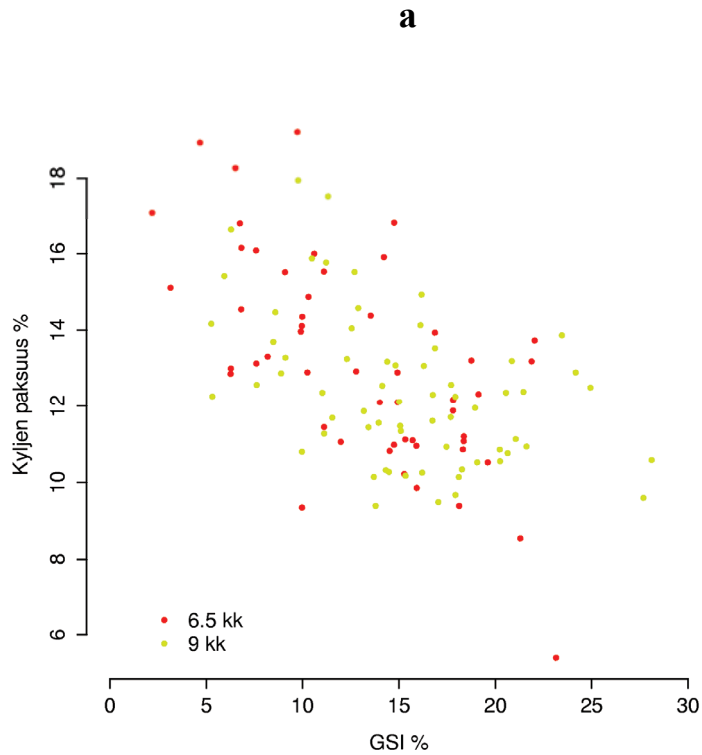
Fileen halkeilu. Fileen halkeilu mitattiin tammi- ja maaliskuun näytteenotoissa. Halkeilu oli sattumanvaraista eikä sitä pystytty selittämään tutkituilla tekijöillä.

Lihaksen kiinteytys ja kyljen paksuus. Lihaksen kemiallinen koostumus sekä fysikaalinen rakenne vaihtelevat alueittain fileessä (Montero and Borderias 1989, Sigurgisladottir ym. 1999, Jonsson ym. 2001). Tästä johtuen näytteenottoa rakennemittauksissa vakioitiin keskiselle alueelle, jonka tiedetään olevan laajalti homogeeninen. Viiden kalan otoskoolla lihaksen kiinteydessä ei havaittu muutoksia suhteessa GSI:hin (kuva 17a). Sen sijaan tammikuulta maaliskuulle lihas pehmeni GSI:stä ja valokäsittelystä riippumatta (kuva 17b). Kyseisellä ajanjaksolla lihaksen poikkileikkauksen 90 %:een puristamiseen tarvittava voima aleni 0,8 N. Samojen kalojen kyljenpaksuusindeksi pieneni eli kyljet ohenivat GSI:n kasvaessa (kuva 18a). Tämän lisäksi kyljet olivat GSI:stä riippumatta maaliskuussa (9 kk) ohuempia kuin tammikuussa (6,5 kk) (kuva 18b).



Kuva 17. Lihaksen kiinteyden suhde GSI:hin (a). Näytteenottoajankohdat on merkitty eri väreihin. Lihaksen kiinteyden muutos kevättalvella (b).

Bild 17. Muskelns fasthet i förhållande till GSI (a). Provtagningsstidpunkterna (0, 2, 4, 6,5 och 9 mån.) har markerats med olika färger. Förändringar i muskelns fasthet under vårvintern (b).



Kuva 18. Kyljen paksuuden suhde GSI:hin (a). Näytteenottoajankohdat on merkitty eri väreihin. Kyljen paksuuden suhde GSI:hin tammi- (6,5) ja maaliskuussa (9) (b).

Bild 18. Flankmuskelnens tjocklek i förhållande till GSI (a). Provtagningspunkterna (0, 2, 4, 6,5 och 9 mån.) har markerats med olika färger. Flankmuskelnens tjockleken i förhållande till GSI i januari (6,5) och mars (9) (b).

4. Tulosten tarkastelu

Kirjolohen lisääntymiskiertoa voidaan säädellä keinotekoisesti erilaisin valokäsittelyin (Boulier ja Billard 1984, Duston ja Bromage 1987, Pavlidis ym. 1992). Aiemmin hyviksi raportoitujen valojaksojen käyttäminen muualla kuin tutkitulla koealueella ei ole kuitenkaan suositeltavaa, sillä myös alueellisilla tekijöillä on vaikutusta kirjolohen kutuaikaan. Lisäksi viljelyssä käytettävä kirjolohikanta sekä viljelylaitoksen rakenteet ja käytettävä rehu voivat osaltaan vaikuttaa lisääntymiskierron ajankohtaan. Tämän takia tarkempi paikallinen tutkimus on tarpeen suunniteltaessa erilaisten valokäsittelymenetelmien hyödyntämistä kalankasvatuksessa. Tässä kokeessa tarkasteltiin voidaanko mädin kypsyminen sekä kutuaikaa viivästyä valokäsittelyn avulla myöhempään kevääseen. Lisäksi tutkittiin kuinka kutukypsyys vaikuttaa kalan laatu- ja tuotantominaisuuksiin.

4.1 Valokäsittelyjen vaikutus sukukypsyyden kehittymiseen ja kasvuun

Kirjolohi on iteroparinen laji eli saavutettuaan sukukypsyyden toisen tai kolmannen ikävuoden aikana se voi lisääntyä toistuvasti elinikänsä ajan. Vuosittainen lisääntymiskierto alkaa ensimmäistä kertaa kutevilla kirjolohilla noin 12 kk ennen varsinaista kutuaikaa (Sumpter ym. 1984, Tyler ja Sumpter 1996), joten Suomessa kasvatettavien kevätkutuiisten kirjolohikantojen lisääntymiskierto käynnistyy kevättalvella. Täten ke- säkuussa 2003 aloitetut valokäsittelyt eivät voineet vaikuttaa sukukypsyyden kehitykseen, mikä havaitaan myös tuloksissa martojen kalojen lukumääränä.

Melatoniinihormonia pidetään yleisesti välittävänä tekijänä ympäristön valojaksotuksen ja erilaisten fysiologisten muutosten välillä. Melatoniinin erityksen on havaittu olevan kirjolohella voimakkainta pimeässä (Futter ym. 1999, Max ja Menaker 1992). Falcon ym. (2003) ovat todistaneet melatoniinin vaikuttavan myös kasvuhormonin erittymiseen ja täten valokäsittelyt voivat vaikuttaa myös kalojen kasvuun.

Tässä kokeessa kalojen kasvu oli nopeinta niissä ryhmissä, joissa valokäsittelyt alkoivat heti kesäpäivän tasauksesta. Valokäsittelyn päivittäisellä kestolla (18, 21 tai 24 tuntia) ei ollut vaikutusta kasvuun. Vastaavan kaltainen tulos on raportoitu myös nuorilla kirjolohilla, joilla 16 tunnin valojakson havaittiin parantavan kasvua verrattuna luonnonvalossa kasvaviin kaloihin (Erguen ym. 2002).

4.2 Valokäsittelyjen vaikutus kutuajan säätelyyn

Kalojen lisääntymiskierto alkaa oogoneesillä, missä jakautuva oogonia tuottaa munasoluja, mitkä aloittavat kehittymisen kypsiksi munasoluiksi. Muutaman kuukauden kehittymisen jälkeen munat siirtyvät syys-lokakuussa vitellogeneesivaiheeseen, jolloin maksan tuottamaa vitellogeniiniä varastoidaan kehittyvään munasoluun ruskuaisproteiinien lähteeksi. Vitellogeneesin aikana tapahtuu suurin osa (n. 95%) munasolun kasvusta (Tyler ja Sumpter 1996). Kirjolohen mätimunien lopullinen kypsyminen sekä ovulaatio tapahtuvat Suomessa maaliskuussa.

Edellä kuvattuja lisääntymiskierron vaiheita ohjaavat aivolisäke- ja sukupuolihormonit, joiden erittymistä säädellään edelleen ympäristön valojaksotuksen mukaan (Bromage ym. 1992). Myös melatoniinin yhteyttä lisääntymiskierron hormonaaliseen säätelyyn on tutkittu ja sen on havaittu vaikuttavan mm. sukupuolihormonien eritykseen (Leatherland ja Lin 2001). Kaloilla, kuten muillakin selkärangaisilla, aivolisäkkeen erittämät gonadotropiinit (GTH) ovat kuitenkin ensisijaisia sulusolujen kypsyästä ohjaavia hormoneja. Kalojen GTH I vastaa nisäkkäiden follikkelia stimuloivaa hor-

monia (FSH), ja säätelee vitellogeneesin käynnistymistä kirjolohilla (Davies ym. 1999). Lisäksi GTH I saattaa liittyä munasolujen aktivoimiseen aivan lisääntymiskierron alussa (Prat ym. 1996). GTH II vastaa puolestaan nisäkkäiden luteinisoivaa hormonia (LH), ja sen pääasiallinen tehtävä kirjolohilla liittyy munasolun lopulliseen kypsymiseen ennen kutuaikaa (Davies ym. 1999). Edellä mainittujen gonadotropiinien vaikutus munasoluihin välittyy munarauhasten tuottamien sukupuolihormonien kautta. Näitä hormoneja ovat mm. estradioli (E2) ja testosteroni (T), joiden tuotantoa säätelee GTH I sekä 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP), jonka tuotantoa säätelee puolestaan GTH II (Nagahama 1994).

4.2.1 Muutokset hormonierityksen ajankohdissa

Kokeessa tutkittaviksi hormoneiksi valittiin E2 ja T, koska niiden tuotannon ajankohdian on havaittu korreloivan vitellogeneesin kanssa (Duston ja Bromage 1986, 1987, Davies ym. 1999). Lisäksi E2-pitoisuuden nopea lasku ja sitä seuraava T-pitoisuuden lasku edeltää munasolun lopullista kypsymistä (Davies ym. 1999). Lisääntymiskierron aikana esiintyvän pitoisuushuipun ajankohtaa ei näytteenottojen harvalukuisuuden takia pystytty tarkasti määrittämään, mutta mittaustulosten perusteella pystyttiin vertaamaan hetkellisiä eroja hormonipitoisuuksissa eri valokäsittelyjen välillä ja pitoisuuksien suhdetta luonnonvalossa olleisiin kaloihin. Lisäksi voitiin esittää arvioita olivatko hormonipitoisuudet näytteenottohetkellä laskemassa vai nousemassa.

Kokeessa havaittiin E2-pitoisuushuipun siirtyneen myöhäisemmäksi kaloilla, joilla valokäsittely oli alkanut kesäpäiväntasauksesta. Tämä on mahdollisesti selitettävissä valojaksotuksella, joka esti päivän lyhenemisen heinäkuusta eteenpäin. Niillä kaloilla, joilla valokäsittely jatkui vuodenvaihteeseen saakka, hormonipitoisuudet nousivat myöhemmin, luultavasti muiden ympäristötekijöiden ohjaamina. Tällöin hormonipitoisuudet saattoivat kuitenkin jäädä alhaisemmiksi. Kaloilla, joilla valot sammutettiin jo elokuun lopussa hormonipitoisuudet lähtivät todennäköisesti nousuun välittömästi valojen sammumisen jälkeen.

Elokuussa aloitettu valokäsittely ilmeisesti pysäytti keskikesällä alkaneen hormoninoton nousun. Tämä osoittaa ettei lisääntymiskierron sisäinen ohjaus ollut vielä lopullisesti määräytynyt ja valokäsittelyn aloittaminen mahdollisesti häiritsi hormonaalista säätelyjärjestelmää. Marraskuussa aloitetut valokäsittelyt eivät enää vaikuttaneet steroidipitoisuuksiin. Tässä vaiheessa lisääntymiskierron kulku on muuttunut todennäköisesti sisäisesti ohjatuksi.

Selkeää fysiologista syytä T-pitoisuuksien nousuun kutukypsyyden lähestyessä ei tunneta. T-pitoisuuksien tiedetään kuitenkin korreloivan vahvasti E2-pitoisuuksien kanssa (Sumpter ym. 1984) ja onkin mahdollista että T on vain sivutuote E2-pitoisuuden noustessa. Kokeen tulokset E2-pitoisuuksia seuraavista T-pitoisuuksien muutoksista noudattivat aiemmin raportoituja tuloksia, vaikka näytteenottopisteiden harvalukuisuuden takia T-pitoisuushuippujen ajankohtaa ei voitu määrittää (ks. Pavlidis ym. 1994). Pitkissä valokäsittelyissä T-pitoisuudet olivat mittaushetkinä matalampia kuin luonnonvalossa olleilla kaloilla.

Näytteenotossa marroksi havaittujen kalojen hormonipitoisuudet pysyivät alhaisina, lukuun ottamatta marraskuussa 2004 havaittua hormonipiikkiä. Kyseinen hormonipitoisuuden muutos saattaa liittyä kalojen sukukypsyyden kehittymiseen, mikä tarkoittaisi, että Suomen olosuhteissa ensimmäiset sukukypsyyteen liittyvät hormonaaliset muutokset tapahtuisivat 18 kk ennen varsinaista kutuaikaa.

4.2.2 Muutokset mätimunnan halkaisijan kasvussa sekä gonadosomaattisessa indeksissä (GSI)

Vitellogeneesin aikana tapahtuvaa munan koon kasvua säädellään hormonaalisesti. Munarauhasten syntetisoima E2 saa aikaan vitellogeniinin tuotannon maksassa (Idler ja Campbell 1980, Hyllner ym. 1990), mistä se siirtyy verenkierron välityksellä munasoluihin kasvattaen niiden kokoa. Kokeessa havaittu valojaksojen vaikutus munasolun kasvuun noudatti E2-pitoisuuksien muutoksia. Valokäsittelyn aloittaminen kesäpäivän tasauksesta sai aikaan munasolun kehittymisen viivästymisen. Valokäsittelyjen lopettamista elokuun lopussa seurasi kuitenkin mätimunnan nopea kasvu, niin että se lähes saavutti luonnonvalossa kasvaneiden kalojen mätimunien koon kevääseen mennessä. Syyskuussa aloitettu valokäsittely hidasti mätimunnan kasvua huomattavasti, mutta marraskuussa aloitetulla valokäsittelyllä ei ollut enää vaikutusta munan kasvuun.

GSI:n kasvu seurasi munankoon kasvun muutoksia. Suuremmilla GSI-arvoilla vaihteluväli mätimunien halkaisijan suhteen kuitenkin kasvoi, mikä voidaan selittää mätipusseissa olevien mätimunien koon suurella vaihtelulla munien kehityksen edetessä heterogeenisesti (Tyler ja Sumpter 1996).

4.3 Kalan laatu- ja tuotanto-ominaisuuksissa näkyvät sukukypsyyden, vuodenajan sekä valokäsittelyn vaikutukset

Käsite elintarvikekalan laatu muodostuu joukosta erillisiä, mutta vuorovaikutteisia ominaisuuksia. Näitä ovat mm. rakenne, kemiallinen koostumus, väri ja rasvapitoisuus. Sen lisäksi, että kyseiset tekijät vaikuttavat keskeisesti kalan jalostuksellisiin ominaisuuksiin, heijastuvat ne myös kalan ulkonäköön ja ovat siten vaikuttamassa kuluttajan ostopäätökseen. Laadun heikkenemisessä merkittävänä tekijänä on sukukypsyyden. Mm. skotlantilaisessa lohiteollisuudessa sukukypsyyden on syynä 50 % tapauksista, joissa elintarvikekala tippuu perkuun yhteydessä parhaasta laatuluokasta heikompaan (Michie 2001). Tällöin syynä ovat selkeät sekundaariset sukupuoliominaisuudet, jotka ilmenevät esimerkiksi kalan värin ja/tai muodon muutoksina. Tarkempia tutkimuksia sukukypsyyden myötä ilmenevistä lihan laatuominaisuuksien muutoksista on kuitenkin julkaistu niukalti.

Sukukypsyyden kehityksen mittarina laatu- ja tuotanto-ominaisuuksien tarkastelussa käytettiin GSI:tä. Kasvava GSI eli lisääntynyt mädin tuotanto pienensi fileen rasvapitoisuutta maksimissaan 2 %. Rasvapitoisuus ei pienentynyt valkoisesta lihaksesta otetussa näytteessä, jossa rakennerasvojen osuus kokonaisrasvasta on filettä suurempi. Tämä kuvastanee erillisten rasvavarastojen merkitystä energian lähteenä lisääntymis- ja kasvun aikana. Tulokset valkoisen lihaksen proteiinipitoisuuden laskusta GSI:n kasvaessa puolestaan viittaavat myös proteiinien hyödyntämiseen energian lähteenä.

Energiavarastojen hyödyntäminen sukukypsyyden saavuttamiseksi näkyi myös ohenevina kylkinä GSI:n kasvaessa. GSI:n ohella vuodenaika eli teurastusajankohdan siirtäminen tammikuun alusta maaliskuun loppuun ohensi kyljen paksuutta. Tällä aikavälillä myös fileesaanto laski. Fileesaannon laskeminen ei ollut kuitenkaan GSI:stä riippuvaa, vaan todennäköisesti seurausta talven aikaisesta paastosta ja painon laskusta, mikä havaitaan kasvukäyriä tarkastelemalla.

Toinen selkeästi näyteajankohdasta riippuva ominaisuus oli lihaksen kiinteys. Rakenne kiinteyttä pidetään hyvänä laatuominaisuutena kalan lihaksessa. Kiinteys on puolestaan suhteessa lihaksen sidekudoksen kollageenin ja kollageenien poikittaissidosten määrään (Hatae ym. 1986, Botta 1991). Näistä molempia on kalalla vähän esimerkiksi linnun tai nisäkkään lihaksen verrattuna. Sukukypsyyden on osoitettu entisestään vähentävän poikittaissidosten määrää, jolloin kalan tyyppillisestikin pehmeä lihaksen rakenne pehmenee entisestään (Johnston ym. 2004). Tätä vaikutusta ei tässä tutkimuksessa havaittu, mutta kevään edetessä tammikuusta maaliskuun loppuun, lihaksen pu-

ristusta vastustava voima (N) eli lihaksen kiinteyden pieneni. Samalla aikavälillä fileen rasvapitoisuus aleni. Rasvapitoisuuden osuutta lihaksen kiinteyteen ei tarkasti tunneta. Esimerkiksi Mørkøre ym. (2002) osoittivat korkean rasvapitoisuuden korreloivan kirjolohon fileen pehmeuden kanssa, kun taas Bjørnevik ym. (2004) eivät havainneet atlantin lohella rasvapitoisuuden vaikutusta lihaksen leikkuuvoimiin. Käytetyt rakenne-testausmenetelmät poikkesivat kuitenkin toisistaan sekä nyt käytetystä. Valokäsittelyillä ja GSI:llä ei ollut kiinteyteen vaikutusta.

Tuoreella lohikalalla väri on kriittinen laatuominaisuus. Väri riippuu läheisesti väripigmentin eli astaksantiinin määrästä lihaksessa (Nickell ja Bromage 1998). Väriin vastakaisesti vaikuttavia seikkoja ovat mm. kalan kasvu ja sitä myötä astaksantiinin kertyminen lihakseen ja toisaalta kalan sukukypsyys. Sukukypsyminen johtaa lihaksen värin vähenemiseen GSI:n kasvaessa, mutta myös sekundaaristen efektien kautta, mikä ilmenee ulkoisina värimuutoksina. Astaksantiinin lisäksi väriin vaikuttavat myös muut valon taittumiseen ja absorptioon liittyvät tekijät lihaksessa, kuten lihassyiden koko ja tiheys sekä rasvapitoisuus. Vain osa kokeessa havaituista värimuutoksista oli puhtaasti sukukypsyydestä (GSI) riippuvia. GSI:n kasvaessa lihaksen väri vaaleni ja värikylläisyys lisääntyi. Lihaksen väri vaaleni myös vuodenajan mukaan eli maaliskuussa mitatut kalat olivat tammikuussa mitattuja kaloja vaalempia. Värikylläisyys oli puolestaan maaliskuussa tammikuuta alhaisempi ja värisävy oli muuttunut keltaisen suuntaan.

Valokäsittelyjen ääripäitä verrattaessa havaittiin pitkäkestoisessa ja aikaisin aloitetussa valokäsittelyssä (0-6) olleiden kalojen ylläpitävän korkeampaa fileen rasvapitoisuutta sekä tummempaa, värikylläisempää ja punaisempaa lihaksen väriä. Fileen rasvapitoisuudessa muutos tapahtui kevään aikana, kun taas väriominaisuuksien erot olivat havaittavissa jo tammikuun näytteenotossa, joskin ne tummuuden ja värisävyn osalta kevään aikana entisestään kasvoivat. Valokäsittelyllä pystyttiin täten parantamaan tuotelaatua edellä mainittujen ominaisuuksien osalta, mikä mahdollistaa teurastusajankohdan valinnan laajemman aikaikkunan sisällä. Miten vuodenvaihteen yli jatkuva valokäsittely vaikuttaa edelleen mm. edellä mainittuihin ominaisuuksiin, selvitetään erillisessä jo käynnistetyssä koesarjan toisessa osassa. Samoin arvioitavaksi jää mädin määrään ja laatuun liittyvät kysymykset.

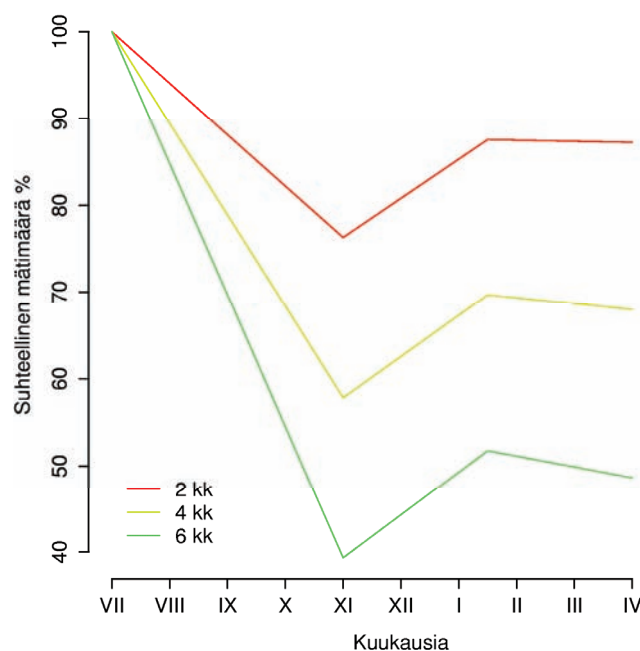
Lohiteollisuuden laadulliseksi ongelmaksi nimeämää fileen halkeilua (eng. *gaping*) tutkittiin kirjolohella näytteenottojen yhteydessä. Atlantin lohella halkeilun syytä on etsitty lähinnä vuodenaikaisvaihteluista, käsittely- ja teurastusmenetelmistä sekä säilytysolosuhteista (Johnston ym. 2002). Halkeilu ei noudattanut kirjolohella sen paremmin valokäsittelyn, vuodenajan kuin sukukypsyydestään mukaista vaihtelua. Lisäksi halkeilua esiintyi huomattavan vähän, minkä perusteella sen vaikutukset tuotelaatuun lienevät vähäiset.

4.4 Sukukypsyyden määrittäminen elävästä kalasta

Ultraäänikuvantamista on kehitetty useilla kalalajeilla jo 1980-luvun lopulta lähtien, jotta elävän kalan sukupuoli ja sukukypsyyden taso voitaisiin määrittää mahdollisimman aikaisin. Aiemmin on raportoitu, että kirjolohon sukupuoli ja sukukypsyminen voidaan helposti tunnistaa ultraäänellä viisi kuukautta ennen kutuaikaa (Reimers ym. 1987). Tässä kokeessa havaittiin vastaavaa. Jo syyskuussa yli 92 % kaloista luokiteltiin oikein. Ongelmalliseksi osoittautui sukukypsyyden tason arviointi. Kypsyvien kalojen luokittelussa testattiin gonadien kokoon perustuvaa silmämääräistä jakoa 1, kehittymään lähtenyt ja 2, hyvin kehittynyt. Tällä arviolla ei kuitenkaan pystytty luotettavasti ennustamaan kypsymiseroja marras- ja tammikuun välillä. Ultraäänikuvantamisessa käytetyn suhteellisen mitta-asteikon erottelukyky ei riitä sukukypsyyden tasoerojen marto/kypsyvä-luokittelua tarkempaan analyysiin. Ultraääniluokittelun herkyyttä voitaneen tarvittaessa kehittää koulutuksella, mutta myös absoluuttista mitta-asteikkoa käyttämällä.

5. Yhteenveto

Valokäsittelyllä voidaan Suomen oloissa vaikuttaa sekä vitellogeneesivaiheeseen että mahdollisesti myös mädin lopullisen kypsymisen ajankohtaan. Saatujen tulosten perusteella lisääntymiskierron loppupuolelle ajoitettu valokäsittely vaikuttaa parhaiten silloin, kun aloitusajankohta on lähellä kesäpäivän tasausta. Myöhemmin syksyllä lisääntymiskierron vaiheiden on arveltu muuttuvan sisäsyntyisen kontrollin alaisiksi (Bon ym. 1999). Tätä käsitystä vahvistavat myös kokeesta saadut tulokset. Juhannuksesta aloitetuilla valokäsittelyjaksoilla voitiin näissä oloissa saada aikaan 50% säätelyvara kirjolohen suhteellisessa mätimäärässä (kuva 19). Valojaksotukset eivät vaikuttaneet käsittelyjen sisäisiin vaihteluihin.



Kuva 19. Juhannuksesta aloitettujen eri pituisten valokäsittelyiden (2 kk, 4 kk ja 6 kk) vaikutus mätimäärän kehitykseen suhteessa luonnonvalokaloihin (100%). Ennusteet on laskettu käsittelyiden ryhmäkeskiarvoista.

Bild 19. På midsommaren påbörjade ljusbehandlingar av olika längd (2 mån., 4 mån. och 6 mån.), och deras inverkan på rommängdens utveckling jämfört med naturljusfiskarna (100%). Prognoserna har beräknats ur ljusbehandlingarnas gruppmedeltal

Kalan tuotanto- ja laatuominaisuuksista kalan väriä sekä fileen rasvapitoisuutta pystyttiin kevään aikana paremmin ylläpitämään 0-6-käsittelyssä verrattuna luonnonvaloon. Valokäsittely vähensi siten GSI:n kasvun ja myöhäisemmän teurastusajankohdan haitallisia vaikutuksia samoihin ominaisuuksiin. Valokäsittelyä voidaan tämän perusteella pitää potentiaalisena kalan tuotelaatua parantavana tekijänä, joka mahdollistaa luonnonvalo-oloihin verrattuna parempilaatuisen kalan teurastuksen laajemmalla aikavälillä.

Lähteet

- Alzola, C.F., Harrell, F.E. (2004). An Introduction to S and the Hmisc and Design Libraries (<http://biostat.mc.vanderbilt.edu/twiki/pub/Main/RS/sintro.pdf>).
- Bjornevik, M., Espe, M., Beattie, C., Nortvedt, R., Kiessling, A. (2004). Temporal variation in muscle fibre area, gaping, texture, colour and collagen in triploid and diploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *J. Sci. Food Agric.* 84, 530-540.
- Bon, E., Breton, B., Govoroun, M.S., Le Menn, F. (1999). Effects of accelerated photoperiod regimes on the reproductive cycle of the female rainbow trout: II seasonal variations of plasma gonadotrophins (GTH I and GTH II) levels correlated with ovarian follicle growth and egg size. *Fish Physiol. Biochem.* 20, 143-154
- Botta, J.R. (1991). Instrument for nondestructive texture measurement of raw Atlantic cod (*Gadus morhua*) fillets. *J. Food Sci.* 56, 962-964.
- Boulier, A., Billard, R. (1984). Delay of gametogenesis and spawning by constant illumination of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during the first reproductive cycle. *Can. J. Zool.* 62, 2183-2187
- Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Duston, J., Barkes, G. (1992). Broodstock management, fecundity, egg quality and timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 100, 141-166.
- Davies, B., Bromage, N., Swanson, P. (1999). The Brain-Pituitary-Gonadal Axis of Female Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*: Effects of Photoperiod Manipulation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 115, 155-166.
- Duston, J., Bromage, N. (1986). Photoperiodic mechanisms and rhythms of reproduction in the female rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.* 2, 35-51.
- Duston, J., Bromage, N. (1987). Constant photoperiod regimes and the entrainment of the annual cycle of reproduction in the female rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 65, 373-384.
- Erugen, S., Yigit, M., Tuerker, A. (2002). Growth and feed consumption of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to different photoperiods. *Isr. J. Aquacult.* 55, 132-138
- Falcon, J., Besseau, L., Fazzari, D., Attia, J., Gaildrat, P., Beauchaud, M., Boeuf, G. (2003). Melatonin modulates secretion of growth hormone and prolactin by trout pituitary glands and cell in culture. *Endocrinol.* 4, 4648-4658.
- Futter, C.W., Roed, M.J.R., Randall, C.F., Bromage, N.R. (1999). The effects of differential light intensities on the diel rhythm of melatonin release in rainbow trout. *Reproductive Physiology of Fish*. Ed. Norberg, B., Kjesbu, O.S., Taranger, G.L., Andersson, E. ja Stefansson, S.O. University of Bergen. 340.
- Hatae, K., Tobimatsu, A., Takeyama, M., Matsumoto, J.J. (1986). Contribution of the connective tissues on the texture difference of various fish species. *Gyoniku no bussei to sono gyoshu-sa ni taisuru ketsugo soshiki no kiyo*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* /Nissuishi. 52, 2001-2007.
- Hatae, K., Yoshimatsu, F., Matsumoto, J.J. (1990). Role of muscle fibers in contributing firmness of cooked fish. *J. Food Sci.* 55, 693-696.
- Johnston, I.A., Alderson, R., Sandham, C., Dingwall, A., Mitchell, D., Selkirk, C., Nickell, D., Baker, R., Robertson, B., Whyte, D., Springate, J. (2000). Muscle fibre density in relation to the colour and texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 189, 335-349.

- Johnston, I.A., Manthri, S., Alderson, R., Campbell, P., Mitchell, D., Whyte, D., Dingwall, A., Nickell, D., Selkirk, C., Robertson, B. (2002). Effects of dietary protein level on muscle cellularity and flesh quality in Atlantic salmon with particular reference to gaping. *Aquaculture* 210, 259-283.
- Jonsson, L., Sigurgisladottir, S., Hafsteinsson, H., Kristbergsson, K. (2001). Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets measured by different methods in comparison to expressible moisture. *Aquaculture Nutrition* 7, 81-89.
- Hyllner, S.J., Oppen-Bernsten, D.O., Helvik, J.V., Walther, B.T., ja Haux, C. (1991). Oestradiol -17 α induces the major envelope proteins in both sexes in teleosts. *J. Endocrinol.* 131, 229-236.
- Idler, D.R., Campbell, C.M. (1980). Gonadotropin stimulation of estrogen and yolk precursor synthesis in juvenile rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.* 41. 384-391.
- Leatherland, J.F., Lin, L. (2001). Melatonin effects on steroid production by rainbow trout ovarian follicle in vitro: Influence of stage of follicle maturation. *Biol. Rhythm. Res.* 32, 5, 337 - 568.
- Max, M., Menaker, M. (1992). Regulation of melatonin production by light, darkness, and temperature in the trout pineal. *J. Comp. Physiol., A.* 170, 479-48.
- Michie, I. (2001). Causes of downgrading in the Salmon farming industry. Teoksessa: *Farmed fish quality (toim. S. C. Kestin, P. D. Warris)*. MPG Books Ltd., Bodmin, Cornwall. s. 129-136.
- Montero, D., Borderias, A.J. (1989). Distribution and hardness of muscle connective tissue in hake (*Merluccius merluccius L.*) and trout (*Salmo irideus Gibb*). *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 189, 530-533.
- Morkore, T., Hansen, A.Å., Unander, E., Einen, O. (2002). Composition, liquid leakage, and mechanical properties of farmed Rainbow trout: Variation between fillet sections and the impact of ice and frozen storage. *J. Food Sci.* 67, 1933-1938.
- Nagahama, Y., Yoshikuni, M., Yamashita, M., Sakai, N., Tanaka, M. (1993). Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation in fish. *Fish Physiol. Biochem.* 11, 1-6.
- Nagahama, Y. (1994). Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int. J. Dev. Biol.* 38, 217-229.
- Nickell, D.C., Bromage, N.R. (1998). The effect of dietary lipid level on variation of flesh pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 161, 237-251.
- Palvidis, M., Theochari, V., Paschos, J., Dessypris, A. (1992). Effect of six photoperiod protocols on the spawning time of two rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), populations in north-west Greece. *Aquaculture and Fisheries Management.* 23, 431-441.
- Palvidis, M., Dimitriou, D., Dessypris, A. (1994). Testosterone and 17 β -estradiol plasma fluctuations throughout spawning period in male and female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), kept under several photoperiod regimes. *Annales Zool. Fennici.* 31, 319-327.
- Pinheiro, J.C., Bates, D.M. (2000). *Mixed-Effects models in S and S-Plus*. Springer, New York.
- Pratt, P., Sumpter, J.P., Tyler, C.R. (1996). Validation of radioimmunoassays for two salmon gonadotropins (GTH I and GTH II) and their plasma concentrations throughout the reproductive cycle in male and female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biol. Reprod.* 54, 1375-1382.

R Development Core Team, (2004). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (<http://www.r-project.org>).

Reimers, E., Landmark, P., Sorsdal, T., Bohmer E., Solum, T. (1987). Determination of Salmonids' sex, maturation and size: An ultrasound and photocell approach. *Aquaculture Magazine*, 13:41-44.

Sigurgisladdottir, S., Hafsteinsson, H., Jonsson, A., Lie, O., Nortvedt, R., Thomassen, M., Torrissen, O. (1999). Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. *J. Food Sci.* 64, 99-104.

Solbakken, V., Taranger, G.L., Hansen, T. (2000). Effects of photoperiod on somatic growth and sexual maturation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in sea cages. *Reprod. Physiol. Fish.* 339.

Sumpter, J.P., Scott, A.P., Baynes, S.M., Witthames, P.R. (1984). Early stages of the reproductive cycle in virgin female rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture* 43, 235-242.

Tyler, C.R., Sumpter, J.P. (1996). Oocyte growth and development in teleosts. *Rev. Fish Biol. Fish.* 6, 287-318.



Ruokintataulukko/syksy Utfodringstabell/höst

% painosta vrk⁻¹

Etelä- ja Keski-Suomi 15.7. alkaen,
Pohjois-Suomi 1.8. alkaen,
Södra- och mellersta Finland f.o.m 15.7.,
norra Finland f.o.m 1.8.

Kalan paino g Fiskens storlek g	Lämpötila/Temperatur °C						
	8	10	12	14	16	18	20
20	2,4	2,9	3,4	3,8	3,8	2,0	1,3
30	2,2	2,6	3,1	3,6	3,6	2,0	1,3
40	1,9	2,4	2,7	3,2	3,2	1,9	1,3
50	1,7	2,1	2,4	2,7	2,7	1,9	1,3
60	1,4	1,7	2,2	2,6	2,6	1,5	1,2
80	1,3	1,5	2,0	2,2	2,2	1,5	1,2
100	1,2	1,4	2,0	2,2	2,2	1,5	1,2
120	1,2	1,4	2,0	2,2	2,2	1,5	1,2
150	1,1	1,4	1,9	2,2	2,1	1,5	1,2
180	1,0	1,4	1,9	2,2	2,1	1,5	1,2
210	1,0	1,4	1,9	2,1	2,1	1,5	1,2
250	0,9	1,3	1,9	2,0	2,1	1,5	1,1
300	0,9	1,4	1,8	2,1	2,0	1,5	0,9
350	0,8	1,4	1,7	2,1	2,0	1,5	0,9
400	0,9	1,4	1,6	2,0	2,0	1,5	0,8
450	0,9	1,2	1,6	1,9	1,9	1,4	0,8
500	0,9	1,2	1,6	1,9	1,8	1,3	0,8
550	0,8	1,2	1,5	1,9	1,8	1,2	0,8
600	0,8	1,3	1,5	1,8	1,7	1,0	0,8
650	0,8	1,2	1,5	1,8	1,7	1,0	0,8
700	0,8	1,2	1,3	1,6	1,5	0,9	0,8
750	0,8	1,2	1,2	1,5	1,4	0,9	0,7
800	0,8	1,2	1,2	1,4	1,3	0,9	0,7
850	0,8	1,2	1,2	1,4	1,3	0,9	0,7
900	0,7	0,9	1,2	1,3	1,2	0,8	0,7
1000	0,7	0,9	1,2	1,2	1,1	0,8	0,5
1200	0,7	0,9	1,2	1,2	1,1	0,8	0,5
1400	0,7	0,8	1,1	1,1	1,0	0,8	0,5
1600	0,6	0,7	1,0	1,1	1,0	0,6	0,4
2000	0,5	0,6	0,8	0,8	0,8	0,5	0,3
2500	0,5	0,6	0,8	0,8	0,7	0,5	0,2

Rehurasio

Tiedustelut ja tilaukset: Rehurasio Oy,
PL 101, 21201 Raisio,
puh. (02) 443 2111, telefax (02) 443 2360
www.rehurasio.com

Liite 2. Tilastolliset mallit (1/2)

> anova (keskipainot)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	67	16714.029	<.0001
sampl.month	1	67	28.390	<.0001
immature	1	67	1208.972	<.0001
light.on	1	12	15.574	0.0019
I(sampl.month^2)	1	67	44.737	<.0001

> summary(kesipainot)

Linear mixed-effects model fit by REML
Data: Gotos.ok

AIC	BIC	logLik
933.9906	955.3157	-457.9953

Random effects:

Formula: ~sampl.month | cage

Structure: General positive-definite, Log-Cholesky parametrization

	StdDev	Corr
(Intercept)	61.406214	(Intr)
sampl.month	4.488861	-0.905
Residual	62.166826	

Fixed effects: weight ~ sampl.month + immature + light.on + I(sampl.month^2)

	Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
(Intercept)	901.0947	124.33063	67	7.24757	0.0000
sampl.month	311.7600	43.38245	67	7.18632	0.0000
immature	-471.6905	13.56591	67	-34.77027	0.0000
light.on	-27.3441	6.92893	12	-3.94636	0.0019
I(sampl.month^2)	-24.0603	3.59721	67	-6.68861	0.0000

> anova(GSI)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)		1	22 3705.750	<.0001
month	1	22	682.327	<.0001
light.on	1	12	112.196	<.0001
light.dur	1	12	161.175	<.0001
I(month^2)	1	22	16.808	0.0005
month:light.on	1	22	5.076	0.0346
month:light.dur	1	22	28.179	<.0001
light.on:light.dur	1	12	25.341	0.0003

> anova(mätimunan halkaisija)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	22	19840.941	<.0001
month	1	22	357.563	<.0001
light.on	1	12	78.230	<.0001
light.dur	1	12	140.958	<.0001
I(month^2)	1	22	26.994	<.0001
month:light.on	1	22	5.029	0.0353
month:light.dur	1	22	0.047	0.8311
light.on:light.dur	1	12	31.113	0.0001

> anova(fileesaanto)

Analysis of Variance

Factor	d.f.	Partial SS	MS	F	P
month	1	56.1942	56.194195	11.94	8e-04
REGRESSION	1	56.1942	56.194195	11.94	8e-04
ERROR	99	466.0620	4.707697		

Liite 2. Tilastolliset mallit (2/2)

> anova(fileen rasvapitoisuus)

Analysis of Variance

Response: FAT..TROUT.1.

Factor	d.f.	Partial SS	MS	F	P
GSI.	1	9.017479	9.017479	4.95	0.0284
month (Factor+Higher Order Factors)	2	11.027060	5.513530	3.03	0.0531
All Interactions	1	7.193948	7.193948	3.95	0.0497
on.dur (Factor+Higher Order Factors)	2	9.146665	4.573332	2.51	0.0865
All Interactions	1	7.193948	7.193948	3.95	0.0497
month * on.dur (Factor+Higher Order Factors)	1	7.193948	7.193948	3.95	0.0497
REGRESSION	4	80.171382	20.042846	11.01	<.0001
ERROR	96	174.821885	1.821061		

> anova(proteiinit)

Analysis of Variance

Response: Prot.

Factor	d.f.	Partial SS	MS	F	P
GSI.	1	47.91283	47.9128333	80.69	<.0001
REGRESSION	1	47.91283	47.9128333	80.69	<.0001
ERROR	115	68.28455	0.5937787		

> anova(valomäärä)

Analysis of Variance

Response: L...SCE.

Factor	d.f.	Partial SS	MS	F	P
GSI.	1	335.93720	335.93720	28.35	<.0001
month(Factor+Higher Order Factors)	2	89.71394	44.85697	3.79	0.0262
All Interactions	1	81.87830	81.87830	6.91	0.0100
on.dur(Factor+Higher Order Factors)	2	197.44275	98.72137	8.33	0.0005
All Interactions	1	81.87830	81.87830	6.91	0.0100
month * on.dur(Factor+Higher Order Factors)	1	81.87830	81.87830	6.91	0.0100
REGRESSION	4	2418.65093	604.66273	51.03	<.0001
ERROR	96	1137.54201	11.84940		

> anova(värin kylläisyys)

Analysis of Variance

Response: C.

Factor	d.f.	Partial SS	MS	F	P
GSI.	1	271.3268	271.32680	10.11	0.0020
month	1	173.3491	173.34910	6.46	0.0126
on.dur	1	202.1204	202.12037	7.53	0.0072
REGRESSION	3	331.5125	110.50417	4.12	0.0085
ERROR	97	2603.1646	26.83675		

> anova(värisävy)

Analysis of Variance

Response: h

Factor	d.f.	Partial SS	MS	F	P
month (Factor+Higher Order Factors)	2	200.26996	100.13498	6.58	0.0021
All Interactions	1	52.88191	52.88191	3.48	0.0653
on.dur (Factor+Higher Order Factors)	2	601.00635	300.50318	19.75	<.0001
All Interactions	1	52.88191	52.88191	3.48	0.0653
month * on.dur (Factor+Higher Order Factors)	1	52.88191	52.88191	3.48	0.0653
REGRESSION	3	862.18614	287.39538	18.89	<.0001
ERROR	97	1475.93447	15.21582		

> anova(lihaksen kiinteys)

Analysis of Variance

Response: hardN

Factor	d.f.	Partial SS	MS	F	P
month	1	7.642477	7.6424772	8.68	0.005
REGRESSION	1	7.642477	7.6424772	8.68	0.005
ERROR	47	41.361796	0.8800382		

> anova(kyljen paksuus)

Analysis of Variance

Response: kylki.paks

Factor	d.f.	Partial SS	MS	F	P
GSI	1	56.72718	56.727184	15.91	0.0002
month	1	25.99230	25.992297	7.29	0.0097
REGRESSION	2	130.88530	65.442648	18.35	<.0001
ERROR	46	164.00985	3.565432		