

KALA- JA RIISTARAPORTTEJA nro 163

Pekka Hyvärinen ja Taina Leinonen (toim.)

**Ryhmämerkkien käyttö kalojen
istutustutkimuksissa**

Kirjallisuusselvitys

Paltamo 1999



RIISTAN- JA KALANTUTKIMUS

Pekka Hyvärinen ja Taina Leinonen (toim.)

Ryhmämerkkien käyttö kalojen istutustutkimuksissa. Kirjallisuusselvitys

Kirjallisuusselvitys

Maa- ja metsätalousministeriö

Istutustarpeiden määrittely ja istutusten vaikuttavuuden seuranta (202280)

Selvityksen tavoitteena oli kartoittaa kirjallisuudessa esitettyjen ryhmämerkintämenetelmien soveltuvuutta tärkeimmille Suomessa istutetuille kalalajeille. Tarkasteluun valittiin seitsemän menetelmätyyppiä: otoliittimerkintä, radioaktiivinen merkintä, polttomerkintä, eväleikkaukset, kuonomerkintä, ruiskuvärjäys ja panjet-tatuointi. Kuhunkin menetelmään liittyvässä osiossa esitetään aihekohtainen julkaisuluettelo sekä kirjallisuuden perusteella laaditut yhteenvedot. Kirjallisuusselvityksen lisäksi selvitykseen on kerätty puhelinhaastatteluun perustuvaa ennestään julkaisematonta tietoa Suomessa käytetyistä ryhmämerkintämenetelmistä. Raportin tarkoituksena on olla tietolähteenä, kun halutaan etsiä sopiva ryhmämerkintämenetelmä tietyn istutustutkimushankkeen tarkoituksiin.

Ryhmämerkintä, otoliittimerkintä, radioaktiivinen merkintä, polttomerkintä, eväleikkaus, kuonomerkintä, ruiskuvärjäys, Panjet-tatuointi

Kala- ja riistaraportteja 163

951-776-232-1

1238-3325

68 s.

suomi

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos
Kainuun kalantutkimus ja vesiviljely
Manamansalontie 90
88300 Paltamo
puh. 0205 751 640 Fax. 0205 751 649

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos
Pukinmäen aukio 4, PL 6
00721 Helsinki
Puh. 0205 7511 Fax. 0205 751 201

SISÄLLYS

1. JOHDANTO	1
2. OTOLIITTIMERKINNÄT - KUDOSVÄRJÄYS JA LÄMPÖKÄSITTELY	2
<i>JARMO MAKKONEN</i>	
2.1. HISTORIA JA MENETELMÄN KUVAUS.....	2
2.2. YLEISIMMÄT KÄYTTÖTARKOITUKSET.....	3
2.2.1. Lajit.....	3
2.2.2. Kalojen kehitysvaihe, ikä ja koko	4
2.2.3. Koodien määrä	4
2.3. AINEISTON KERÄÄMINEN JA KÄSITTELY.....	4
2.4. ONGELMAT	5
2.4.1. Merkin laatu ja pysyvyys	5
2.4.2. Haittavaikutukset	5
2.5. MERKINNÄN KUSTANNUKSET	6
2.6. YHTEENVETO	6
2.6.1. Kudosvärjäys	6
2.6.2. Lämpökäsittely.....	7
2.6.3. Osmoottinen shokki.....	8
KIRJALLISUUS	8
3.RADIOAKTIIVINEN MERKINTÄ	16
<i>KARI NYBERG JA PEKKA J. VUORINEN</i>	
3.1. JOHDANTO.....	16
3.2. RADIOAKTIIVISEN MERKINNÄN KÄYTTÖTARKOITUKSET, SOVELTUVUUS JA KUSTANNUKSET	16
3.3. RADIOAKTIIVISESSA LEIMAUKSESSA TARVITTAVAT TILAT JA VÄLINEISTÖ	17
3.4. AINEISTON KERÄÄMINEN JA KÄSITTELY.....	18
3.5. RADIOAKTIIVISEN MERKINNÄN ONGELMAT JA RAJOITUKSET	19
3.6. ARVIO TUTKIMUSTARPEISTA	20
KIRJALLISUUS	20
4. POLTTOMERKINTÄ	23
<i>ARI SAURA</i>	
4.1. HISTORIA JA MENETELMÄN KUVAUS.....	23
4.2. MERKINTÄVÄLINEET KUUMAPOLTTOMENETELMÄSSÄ.....	23
4.3. YLEISIMMÄT KÄYTTÖTARKOITUKSET.....	25
4.4. POLTTOMERKKIEN PYSYVYYS JA NÄKYVYYS	26
4.5. AINEISTON KERÄÄMINEN	26
4.6. ONGELMAT	26
4.7. MERKINNÄN KUSTANNUKSET JA MERKINTÄNOPEUS	27
4.8. KÄYTÖN RAJOITUKSET	27
KIRJALLISUUS	27
5. EVÄLEIKKAUS	30
<i>TEUVO NIVA</i>	
5.1. HISTORIA JA MENETELMÄN KUVAUS.....	30
5.2. YLEISIMMÄT KÄYTTÖTARKOITUKSET.....	30
5.2.1. Lajit.....	31
5.2.2. Koodien määrä	31
5.3. AINEISTON KERÄÄMINEN JA KÄSITTELY.....	31
5.4. ONGELMAT	31
5.4.1. Koodien määrä	31
5.4.2. Kasvu ja kuolleisuus	32
5.4.3. Merkin pysyvyys.....	32
5.5. MERKINNÄN KUSTANNUKSET	32
5.6. KÄYTÖN RAJOITUKSET	32
KIRJALLISUUS	33
6. KUONOMERKINTÄ	36

TEUVO NIVA	
6.1. HISTORIA JA MENETELMÄN KUVAUS.....	36
6.2. YLEISIMMÄT KÄYTTÖTARKOITUKSET.....	37
6.2.1. Lajit.....	37
6.2.2. Koodien määrä.....	38
6.3. AINEISTON KERÄÄMINEN JA KÄSITTELY.....	38
6.4. ONGELMAT.....	38
6.4.1. Kuolevuus ja merkin pysyvyys.....	38
6.4.2. Näytteiden keruu ja dokumentointi.....	41
6.5. MERKINNÄN KUSTANNUKSET.....	41
6.6. KÄYTÖN RAJOITUKSET.....	42
KIRJALLISUUS.....	42
7. RUISKUVÄRJÄYSMENETELMÄ	48
ARI LESKELÄ	
7.1. HISTORIA JA MENETELMÄN KUVAUS.....	48
7.2. YLEISIMMÄT KÄYTTÖTARKOITUKSET.....	50
7.3. AINEISTON KERÄÄMINEN JA KÄSITTELY.....	51
7.4. ONGELMAT.....	52
7.5. MERKINNÄN KUSTANNUKSET.....	53
7.6. KÄYTÖN RAJOITUKSET.....	53
7.7. YHTEENVETO.....	54
KIRJALLISUUS.....	54
8. PANJET-MENETELMÄ	56
ERKKI JOKIKOKKO	
8.1. HISTORIA JA MENETELMÄKUVAUS.....	56
8.2. YLEISIMMÄT KÄYTTÖALUEET.....	57
8.3. AINEISTON KERÄÄMINEN JA KÄSITTELY.....	58
8.4. ONGELMAT.....	58
8.5. MERKINNÄN KUSTANNUKSET.....	59
8.6. KÄYTÖN RAJOITUKSET.....	59
KIRJALLISUUTTA.....	59
9.SUOMESSA TEHTYJÄ RYHMÄMERKINTÄKOKEILUJA	61
TAPIO LAAKSONEN, TAINA LEINONEN JA PETRI KREIVI	
9.1. JOHDANTO.....	61
9.2. OTOLIITTIMERKINTÄ	62
9.3. RADIOAKTIIVINEN MERKINTÄ.....	63
9.4. POLITOMERKINTÄ	64
9.5. EVÄLEIKKAUKSET	65
9.6. KUONOMERKINTÄ.....	65
9.7. RUISKUVÄRJÄYSMENETELMÄ.....	66
9.8. PANJET-MERKINTÄ.....	68

1. Johdanto

Kun kaloja istutetaan vesistöön, jossa kyseinen laji lisääntyy myös luontaisesti, ollaan yleensä kiinnostuneita siitä, kuinka suuri osa saaliista on istutuksista peräisin. Istuttajien tavoitteena voi olla myös eri istukasryhmien tuottavuuden vertailu. Monia istutuksiin liittyviä tutkimusaiheita on voinut jäädä selvittämättä, koska sopivaa, luotettavaa ja edullista merkintämenetelmää ei ole ollut tiedossa. Tämän selvityksen tavoitteena on kartoittaa kirjallisuudessa esitettyjen ryhmämerkintämenetelmien soveltuvuutta tärkeimmille Suomessa istutetuille lajeille.

Tässä selvityksessä tarkasteluun valittiin seitsemän menetelmätyyppiä: otoliittimerkintä, radioaktiivinen merkintä, polttomerkintä, eväleikkaukset, kuonomerkintä, ruiskuvärjäys ja panjet-tatuointi. Kirjallisuusselvityksessä koottiin yhteen kuhunkin aiheeseen liittyvä julkaisuluettelo sekä esitettiin kirjallisuuden perusteella laaditut menetelmäkohtaiset yhteenvedot, joissa pyrittiin löytämään vastauksia mm. seuraaviin kysymyksiin:

- Kuinka pitkään merkki on kalasta luettavissa?
- Minkä kokoisille kaloille menetelmä soveltuu?
- Mille lajeille menetelmä soveltuu?
- Mikä on eri kalalajeille soveliaain merkintätapa ja ajankohta?
- Onko merkillä vaikutuksia kalan kehitykselle viljelyssä ja istutuksen jälkeen?
- Onko merkistä muuta haittaa kalalle?
- Kuinka suuri osa merkityistä kaloista kuolee merkin takia?
- Mitä muita vaikutuksia merkistä on esim. kalan elintarvikekelpoisuuteen?
- Kuinka monta eri koodia on käytettävissä?
- Minkälaiset merkintäolosuhteet menetelmä vaatii?
- Millä tavalla aineisto on kerättävä?
- Paljonko merkintä ja aineiston keruu maksaa?

Kirjallisuusselvityksen lisäksi tässä julkaisussa on kerätty yhteen myös ennestään julkaisematonta tietoa Suomessa käytetyistä ryhmämerkintämenetelmistä. Eri menetelmiä käyttäneiden henkilöiden puhelinhaastatteluun perustuvan yhteenvedon tarkoituksena on tuoda esille Suomessa jo tehtyjä, mutta vielä julkaisemattomia tietoja, joista voi olla hyötyä menetelmiin liittyviä ongelmia ja lisäselvitystarpeita arvioitaessa.

Raportin tarkoituksena on olla tietolähteenä, kun halutaan etsiä sopiva ryhmämerkintämenetelmä tietyn istutustutkimushankkeen tarkoituksiin. Aikaisemmin yhteenvetoja ja menetelmän kuvauksia eri ryhmämerkintämenetelmistä on esitetty mm. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen monisteessa Kalamerkin Workshop 26.11.1996 (toim. Pakarinen & Lindström 1996) sekä kirjassa Kalataloustarkkailu -periaatteet ja menetelmät (toim. Böhling ja Rahikainen 1999). Nyt koottu yhteenvedo täydentää aikaisempia koosteita etenkin laajan kirjallisuuskatsauksensa osalta.

2. Otoliihtimerkinnät - kudosvärjäys ja lämpökäsittely

JARMO MAKKONEN

RKTL / Saimaan kalantutkimus ja vesiviljely

2.1. Historia ja menetelmän kuvaus

Kudosvärjäystä kemiallisilla väriaineilla kalojen otoliittien (kuuloluut) merkinnöissä on käytetty 1960-luvulta lähtien (mm. Weber ja Ridgway 1962 ja 1967, Choate 1964, Kobayashi ym. 1964, Jensen ja Cumming 1967, Scidmore ja Olson 1969). Värjäyksen tarkoituksena on aikaansaada otoliitteihin pysyvä, yleensä fluoresoiva värimerkki. Otoliihtit soveltuvat merkintään muita kalan ruumiinosia paremmin, sillä ne ovat ensimmäiset alkioon ilmestyvät luutuvat kudokset ja niissä merkin pysyvyys on muita luutuneita osia parempi (mm. Campana ja Neilson 1985, Neilson ym. 1985, Brothers 1990).

Kudosvärjäys voidaan tehdä kolmella tavalla, imeyttämällä väriaine otoliitteihin veden tai rehun kautta sekä injektoimalla. Merkintä veden kautta (mm. Lorson ja Mudrak 1987, Nordeide ym. 1992) suoritetaan kylvettämällä mätää tai kaloja pari tuntia - vuorokausi vedessä, johon on liuotettu jotain väriainetta (ks. liite). Rehumerkinnässä (mm. Odense ja Logan 1974, Nagiec 1992) väriaine sekoitetaan rehuun ja kaloja ruokitaan sillä muutamia päiviä - pari viikkoa. Injektoinnissa (mm. Smith 1984, Babaluk ja Campbell 1987) kalat nukutetaan ja väriaine injektoidaan kaloihin (lihakseen).

Merkinnöissä on käytetty monia aineita, eniten antibiootteina tunnettuja tetra- (TC) ja oksitetrasykliiniä (OTC) sekä niiden johdannaisia, myös kloraalitetrasykliiniä (CTC). Käytetyin yhdiste on ollut oksitetrasykliinihydrokloridi (mm. Nagiec ym. 1983, Bilton 1986, Wahl & Stein 1987, Nagiec ym. 1988, Tzeng ja Yu 1989, Gleason ja Recksiek 1990, Muth ja Bestgen 1991, Thomas ym. 1995, MacFarlane ja Beamish 1995, Conover ja Sheenan 1996). Otoliihteja on merkitty myös kalseiinilla (CAL) (mm. Wilson ym. 1987, Tsukamoto 1988, Beckman ym. 1990, Monaghan 1993, Bumguardner ja King 1996) sekä alitsariiniyhdisteillä, joista käytetyin on ollut alitsariini-3-metyyliamiini-N,N-dietikka-happodihydraatti (engl. *alizarin complexone*, ALC) (mm. Tsukamoto ym. 1989a, Takahashi 1994, Nordiska Ministerråd 1995, Radtke ja Fey 1996, Höglund ja Wahlberg 1997, Iglesias ja Rodriguez-Ojea 1997), viime vuosina myös alitsariinipuna S (engl. *alizarin red S*, ARS) (mm. Blom ym. 1994, Nagiec ym. 1995, Beckman ja Schulz 1996, Makkonen ja Pursiainen 1997). Lisäksi on kokeiltu mm. kalseiinisinistä (engl. *calcein blue*) (Brooks ym. 1994).

Kalojen otoliitit kasvavat koko ajan muodostaen kasvurenkaita. Kasvuun vaikuttavat sekä sisäiset että ulkoiset tekijät (Campana ja Neilson 1985). Ulkoisista tekijöistä tärkeimpiä ovat lämpötila, valo ja ravinnon määrä (Brothers 1990, Buckley ja Blankenship 1990), joita manipuloimalla voidaan vaikuttaa kasvuun, mikä näkyy kasvurenkaiden tihentyminä tai harventumina. Lämpötilan manipulointi on osoittautunut parhaimmaksi menetelmäksi aikaansaada otoliitteihin selvästi havaittavia merkkejä (mm. Wilson ja Larkin 1980, Campana 1983, Volk ym. 1984).

Tätä lämpökäsittelyksi kutsuttua menetelmää, joka perustuu veden lämpötilan nopeaan nostamiseen tai laskemiseen kerran tai jaksoittain useita kertoja peräkkäin, on alettu käyttää merkinnöissä 1980-luvulta lähtien (mm. Bergstedt ym. 1990, Volk ym. 1990 ja 1994, Wright ym. 1991, Akinicheva ja Rogatnykh 1996, Schroder ym. 1996, Letcher ja Terrick 1998).

Uutena menetelmänä on viime vuosina kokeiltu perinteisen kudovärjäyksen ohella ns. osmoottista shokkia. Menetelmässä mätää tai poikasia pidetään lyhyt aika 5-12 %:n suolaliuoksessa (NaCl), jossa on 1 %:n pitoisuus tetra- tai oksitetrasykliiniä. Muilla väriaineilla menetelmää ei ole kokeiltu (mm. Ruhlé ja Winecki-Kühn 1992, Rojas-Beltran ym. 1995a ja 1995b).

2.2. Yleisimmät käyttötarkoitukset

Merkintöjä on tehty lukuisiin eri tarkoituksiin, kuten kalojen ja/tai otoliittien kasvuun, ikään ja iänmäärittelyyn liittyvissä tutkimuksissa (mm. Tsukamoto ja Shima 1990, Huuskonen ja Karjalainen 1993, Hales ja Able 1995, Fitzhugh ja Rice 1995, MacLellan ja Fargo 1995), mm. vertailtaessa luonnon- ja laitoskalojen kasvua (Nagata ym. 1995) ja erilaisten manipulaatioiden (veden lämpötila, valojakso, ruokinta) vaikutusta päivittäiskasvuun (mm. Campana ja Neilson 1982, Alhossaini ja Pitcher 1988, Wright ym. 1991), populaatiodynamiikkaan liittyvissä tutkimuksissa (Secor ja Houde 1995), lohikalojen vaellustutkimuksissa (Tsukamoto ym. 1989b ja 1995), arvioitaessa luonnonpoikastuotannon määrää (Kayle 1992), selvitetessä kuljetustiheyden ja -ajan vaikutusta merkittyjen kalojen eloonjääntiin (Peterson ja Carline 1996) sekä merkin säilyvyyttä ajan kuluessa (Reinert ym. 1998). Usein on myös testattu jonkin väriaineen tai menetelmän soveltuvuutta (mm. pitoisuus, aika) tietyille kalalajeille tai vertailtu eri aineita tai menetelmiä keskenään (mm. Hettler 1984, Tsukamoto 1985, Wilson ym. 1987, Thomas ym. 1995, Moen 1996, Makkonen ja Pursiainen 1997, Unkenholz ym. 1997).

2.2.1. Lajit

TC- tai OTC-yhdisteillä on merkitty ainakin seuraavia Suomessa tavattavia tai viljelyssä olevia kalalajeja: lohi (Odense ja Logan 1974), harjus (Nagiec ym. 1995), kirjolohi (Trojnar 1973), muikku (Huuskonen ja Karjalainen 1993), nieriä (Radtke ja Fey 1996), peledsiika (Nagiec ym. 1988), puronieriä (Choate 1964), siika (Nagiec 1992, Nagiec ym. 1983 ja 1988) ja turska (Jensen ja Cummings 1967, Pedersen ja Carlsen 1991, Nordeide ym. 1992). ALC- tai ARS-yhdisteillä on merkitty ankeriaita (Holmgren 1996), lohia (Moen 1996), harjuksia (Nagiec ym. 1995), nieriöitä (Radtke ja Fey 1996), piikkikampeloita (Iglesias ja Rodriguez-Ojea 1997), siikoja (Höglund ja Wahlberg 1997) ja turskia (Blom ym. 1994, Otterlei ym. 1997). Kalseiinia on kokeiltu ainakin lohelle (Moen 1996).

Ulkomaisista kalalajeista väriaineilla on merkitty lukuisia lajeja, mm. aju (Tsukamoto 1988), keita-ahven (Unkenholz ym. 1997), kultakala (Kobayashi ym. 1964), maitokala (Tzeng ja Yu 1989), meriahven (Hales ja Able 1995), punarumpukala (Bumguardner 1991), punahammasahven (Tsukamoto ym. 1989a), silli (Folkvord ja Johannessen 1997), silosimppu (McFarlane ja Beamish 1995), valkosilmäkuha (Brooks ym. 1994), eri ankeriaslajeja (Umeza ja Tsukamoto 1991, Oliveira 1996), basseja (Secor ja Houde 1995, Bumguardner ja King 1996, Reinert ym. 1998), kampelalajeja (Alhossaini ja Pitcher 1988, Fitzhugh ja Rice 1995) ja Tyynenmeren lohilajeja (mm. Wilson ja Larkin 1980, Volk ym. 1984, Neilson ym. 1985, Koenings ym. 1986).

Lämpökäsittelyä on käytetty vain lohikalojen merkinnöissä, mm. harmaanierää (Bergstedt ym. 1990), lohi (Wright ym. 1991, Letcher ja Terrick 1998), Tyynenmeren lohilajit (Volk ym. 1990, Akinicheva ja Rogatnykh 1996, Schroder ym. 1996). Osmoottisella shokilla on merkitty nieriöitä (Rojas-Beltran ym. 1995b) ja siikoja (Ruhlé ja Winecki-Kühn 1992, Rojas-Beltran ym. 1995a).

2.2.2. Kalojen kehitysvaihe, ikä ja koko

Kudosvärjäys soveltuu merkintämenetelmäksi kaikissa kalojen kehitysvaiheissa aina alkiosta (spa-mäti) (mm. Dabrowski ja Tsukamoto 1986, Nagata ym. 1995, Tsukamoto 1995) aikuisiin kaloihin (mm. Monaghan 1993, Oliveira 1996). Otolitiitit ovat ainoat aikaisin kehittyvät ja pysyvät rakenteet kalojen varhaiskehityksen aikana, joihin on mahdollista tuottaa merkki mätivaiheessa (Brothers 1990). Valtaosa merkinnöistä, väriaine yleensä veden tai rehun kautta, on tehty vastakuoriutuneille tai nuorille poikasille. Suurimmat, väriaine injektoimalla, merkityt kalat ovat olleet 4-30, jopa 93 kg:n marliineja ja purjekaloja (Speare 1992). Injektointi soveltuu myös pienille poikasille, mm. 0,1 g:n rumpukalat (Thomas ym. 1995).

Lämpökäsittely (mm. Akinicheva ja Rogatnykh 1996) ja osmoottinen shokki (Rojas-Beltran ym. 1995a) soveltuvat vain mädin, vastakuoriutuneiden ja pienten poikasten merkintään.

2.2.3. Koodien määrä

Kudosvärjäyksellä otoliitteihin saadaan aikaan yksi koodi eli kullekin aineelle tyypillisen värinen merkki: ALC punavioletti, OTC keltainen ja CAL vaihtelevan värinen, mm. vihreä, keltainen, punainen UV-valossa (Tsukamoto 1988, Thomas ym. 1995), ARS punavioletti normaalivalossa (Makkonen ja Pursiainen 1997). Tarvittaessa pystytään tekemään useampiakin koodeja, mm. samat mädit ja/tai kalat voidaan merkitä useita kertoja peräkkäin, esimerkiksi TC/OTC veden kautta 2-4 kertaa 4 päivän tauoin tai rehun kautta 2-3 kertaa kolmen päivän ajan ja 5-7 päivän tauoin (Hendricks ym. 1991). Toisaalta voidaan käyttää kahta aineita, mm. kaksoismerkki merkitsemällä mätiä ALC:llä ja uudelleen vastakuoriutuneita TC:llä (Tsukamoto 1988) ja kolmoismerkki vaikka yhdistelmällä ALC+TC+ALC (Tsukamoto ym. 1989b).

Lämpökäsittelyllä saadaan käsittelyaikoja ja -kertoja muuttamalla tai lisäämällä aikaan teoriassa hyvinkin runsaasti erilaisia koodeja (Brothers 1990), mm. Yhdysvalloissa on vuosina 1987-1993 merkitty yli 35 miljoonaa viiden Tyynenmeren lohilajin poikasta menetelmällä, jossa on käytetty 10 erilaista koodia (Volk ym. 1994).

2.3. Aineiston kerääminen ja käsittely

Aineiston kerääminen merkityistä yksilöistä tapahtuu käytännössä aineesta tai menetelmästä riippumatta samalla tavalla. Yksinkertaisimmillaan näytekaloilta irrotetaan otoliitit, jotka puhdistetaan (esim. etanoli) ja merkki tarkistetaan stereomikroskoopilla pienellä suurennoksella (mm. Makkonen ja Pursiainen 1997, Letcher ja Terrick 1998). Väriainemerkit (TC, OTC, CAL, ALC) vaativat näkyäkseen useimmiten UV-valon (mm. Tsukamoto 1988, Fitzhugh ja Rice 1995, Hales ja Able 1995, McFarlane ja Beamish 1995), ARS-merkki näkyy myös normaalivalossa (Wilson 1995, Makkonen ja Pursiainen 1997) kuten myös lämpökäsittelyllä aikaansaatu merkki (Letcher ja Terrick 1998).

Otoliitit on kuitenkin usein käsiteltävä, mm. halkaisu, poltto, kiinnitys alustaan, kiillotus, ennenkuin merkki voidaan havaita. Lisäksi joudutaan useissa tapauksissa, mm. merkin pienen koon tai koodien takia käyttämään suurempia suurennoksia (100-1250x) (mm. Bergstedt ym. 1990, Wright ym. 1991, Villanueva ja Moli 1997). Yleistäen voidaan todeta, että pieniä otoliitteja ei tarvitse käsitellä, suuret sen sijaan vaativat käsittelyn (Hoff ym. 1997). Mikäli otoliitteja ei tarkisteta heti, voidaan kalat tai päät säilöä esimerkiksi etanoliin (90-96 %) (mm. Tsukamoto ym. 1989a, Nagata ym. 1995, Beckman ja Schulz 1996, Makkonen ja Pursiainen 1997).

2.4. Ongelmat

2.4.1. Merkin laatu ja pysyvyys

Otoliittimerkkien pysyvyys on yleensä varsin hyvä. TC-merkki on pysynyt ainakin 2 vuotta valkosilmäkuhalla (Babaluk ja Campbell 1986) ja yli 4,5 vuotta siialla (Nagiec 1992), OTC-merkki 2 vuotta koira- ja punalohilla (Bilton 1986, Koenings ym. 1986), 3 vuotta bassilla (Reinert ym. 1998), 5 vuotta kielikampelalla (MacLellan ja Fargo 1995) ja 5-11 vuotta silosimpuilla (McFarlane ja Beamish 1995), CAL-merkki 13 kuukautta mm. rumpukaloilla (Wilson ym. 1987), ALC-merkki 3 vuotta kirjolohilla ja 5 vuotta punahammasahvenilla (Tsukamoto 1995) sekä ARS-merkki yli vuoden järvilohilla ja taimenilla ja 3 vuotta nieriöillä (seuranta jatkuu) (Makkonen, julkaisematon). Lämpökäsittelyllä aikaansaatu merkki on pysynyt vähintään 5 vuotta Tyynenmeren lohilla (Volk 1994) ja osmoottisella shokilla tuotettu merkki yli vuoden nieriöillä (Rojas-Beltran ym. 1995b).

Tetrasykliiniyhdisteillä on tehty joitain merkin häviämiseen tai laadun heikkenemiseen liittyviä havaintoja, mm. Lorson ja Mudrak (1987) havaitsivat OTC-merkin laadun huonontuvan, mikäli merkintä tehdään ja kaloja säilytetään auringon valossa. Lisäksi TC-merkityillä siioilla on havaittu merkkihävikin olleen 40 % talvehtimisen aikana, syynä lienee ollut ainakin osittain merkittyjen valikoitunut kuolevuus tai kalsiumhävikki talven aikana (Nagiec ym. 1988). Ongelmaksi, annettaessa väriaine rehun kautta, saattavat muodostua ne yksilöt, jotka eivät syö rehua tai syövät sitä niin vähän, ettei väriainetta kerry kalaan riittävästi merkin muodostumiselle (Nordeide ym. 1992).

2.4.2. Haittavaikutukset

Merkinnöissä käytetyt väriaineet voivat vaikuttaa kalojen kuntoon, vahingoittaa ihmistä ja niiden käyttö voi olla luvanvaraista (mm. Monaghan 1993, Wilson 1995, Letcher ja Terrick 1998). OTC:n on mm. havaittu vähentävän kalojen aktiivisuutta ja aiheuttavan ruokahaluttomuutta (Monaghan 1993), TC on lisännyt kalojen kuolevuutta (Wilson ym. 1987) ja ARS suurina pitoisuuksina (400 ppm tai yli) on erittäin haitallista kaloille, mm. limakalvoille, silmille ja iholle ja aine voi aiheuttaa 100 %:n poikaskuolevuuden (Blom ym. 1994). Väriaineiden sietokyky vaihtelee suuresti kehitystasosta ja lajista riippuen. Sietokyky yleensä alenee ja kuolevuus kasvaa veden lämpötilan noustessa (mm. Brooks ym. 1994). Yleensä aineesta riippumatta, käytettäessä sopivia pitoisuuksia ja olosuhteita, kuolevuus jää vähäiseksi tai sitä ei esiinny lainkaan merkinnän aikana ja sen jälkeen eikä merkintä myöskään vaikuta kalojen kasvuun tai kuntoon, mm. TC/OTC (Tsukamoto 1985, Secor ym. 1991, Nagiec 1992), CAL (Thomas ym. 1995), ALC (Tsukamoto 1995, Secor ja Houde 1995) ja ARS (Beckman ja Schulz 1996, Makkonen ja Pursiainen 1997).

Käytettäessä väriaineita, etenkin TC/OTC-yhdisteitä, merkintävesi kannattaa puskuroida (pH 7 tai yli) esimerkiksi natriumfosfaatilla tai -bikarbonaatilla (mm.

Wilson ym. 1987, Monaghan 1993, Brooks ym. 1994, Unkenholz ym. 1997). Puskurointi vähentää kalojen stressiä ja käyttäytymishäiriöitä, jolloin kuolevuus vähenee (mm. Höglund ja Wahlberg 1997).

Lämpökäsittelyn ei ole havaittu aiheuttavan merkintäkuolevuutta eikä vaikuttavan kasvuun tai kalojen kuntoon, vaikka lämpötilavaihtelu käsittelyissä olisi ollut jopa 8-13 °C (Bergstedt ym. 1990, Brothers 1990, Letcher ja Terrick 1998).

Ihmisten kannalta ongelmaksi muodostuu väriaineen imeytyminen kalaan, mm. OTC varastoituu lihaksiin ja merkitty kala on ihmisravinnoksi soveltuvaa vasta 110 vrk kuluttua merkinnästä (pitoisuus alle 0,05 mg/g) (Unkenholz ym. 1997). Mikäli väriaineiden haitallisuudesta ympäristölle ja eliöille ei ole tutkittua tietoa, kannattaa varovaisuussyistä noudattaa käyttöturvallisuustiedotteen yleisiä ohjeita aineen käsittelystä ja hävittämisestä.

2.5. Merkinnän kustannukset

Otoliittimerkinnöissä merkintäkustannukset (työ- ja materiaali) ovat vähäiset, sillä yksi henkilö voi merkitä suurenkin määrän mätä tai poikasia työpäivän aikana. Kudonvärjäyksiä tehtäessä kustannuksia aiheuttavat väriaineet, joiden hinnat vaihtelevat aineesta, valmistajasta ja hankintamäärästä riippuen. Vuonna 1999 (via Tamro) grammahinnat ilman arvonlisäveroa vaihtelevat pakkauskoosta riippuen seuraavasti: TC-yhdisteet 6,35-14,40 mk, OTC-yhdisteet 7,45-11,20 mk, CAL 40,00-88,00 mk, ALC 140,00-220,00 mk ja ARS 3,40-7,84 mk. Hintairoista huolimatta ei merkintäkustannus kalliillakaan aineella nouse yhtä yksilöä kohden laskettuna kovinkaan suureksi. Lämpökäsittelyssä tulee veden lämmityskulut ottaa huomioon (Letcher ja Terrick 1998).

Suurimmat kustannukset aiheutuvat näytteiden keräämisestä sekä kalojen ja otoliittien käsittelystä. Tältä osin yksikkökustannuksia on mahdoton arvioida, sillä ne vaihtelevat tapauskohtaisesti. Suuntaa-antavasti työaikaa lohen 3-5 cm:n näytekalan otoliittien käsittelyyn kuluu n. 5 min, 5-10 cm:n kalalla (vähäinen kiillotus) 5-10 min ja yli 10 cm:n kalalla (kiillotus) 10-15 min (Moen 1996).

Mikäli merkin havaitsemisessa joudutaan käyttämään erikoisvälineitä, mm. UV-mikros-kooppi (väriaineet), on laitteiden hankintahinta varsin korkea. Laboratoriomikroskooppi UV-varustuksella maksaa n. 40.000 mk (Olympus CX40) ja stereomikroskooppi vastaavalla varustuksella n. 70.000 (Olympus SZX9) tai 90.000 mk (Leica MZFLIII).

2.6. Yhteenveto

2.6.1. Kudonvärjäys

Kudonvärjäyksessä on vuosien kuluessa käytetty useita erilaisia väriaineita ja se soveltuu merkintämenetelmäksi kaikille kalojen kehitysvaiheille aina alkioista (spamäti) aikuisiin kaloihin. Kaikilla käytetyillä aineilla on hyviä, mutta myös huonoja ominaisuuksia ja sopivaa ainetta valittaessa lähtökohdaksi tuleekin asettaa mm. seuraavia ehtoja: helppokäyttöisyys, edullisuus, vaaraton, suuri merkintämäärä, merkin helppo havaittavuus (taulukko 1).

Taulukko 1. Otoliittimerkinnöissä käytettyjen aineiden vertailu.

Ominaisuus	TC-OTC	KALSEIINI	ALC	ARS
helppokäyttöinen	+	+	+	+
nopea	+	+	+	+
halpa	+	(+)	(+)	+
ei vaikuta kalojen kasvuun	+	+	+	+
ei aiheuta kuolevuutta	- (+)	- (+)	+	- (+)
suuri merkintämäärä	+	+	+	+
merkin havaittavuus hyvä	- (+)	- (+)	+	+
ei erikoisvälineistöä	-	-	+ (-)	+

Kudosvärjäyksessä optimaaliset merkintäolosuhteet, kuten veden lämpötila, pH sekä väriainepitoisuus ja käsittelyaika, ovat kalojen kehitysasteesta, lajista ja käytettävästä aineesta riippuvia. Merkintälämpötilat ovat mm. vaihdelleet turskan ja nieriän 4-5 °C:sta (Blom ym. 1994, Radtke ja Fey 1996) aina valkosilmäkuhan 33 °C:een (Brooks ym. 1994). Yksiselitteisten ohjeiden antaminen on siten mahdotonta, joitain ohjearvoja ja suosituksia voidaan kuitenkin antaa.

Veden kautta imeytettynä lohi- ja siikakaloille (myös kuha) TC/OTC 300-600 ppm/2-24 h (mm. Dabrowski ja Tsukamoto 1986, Nagiec ym. 1988, Huuskonen ja Karjalainen 1993, Brooks ym. 1994, Moen 1996, Höglund ja Wahlberg 1997), CAL 125-500 ppm/2-6(24 h) (mm. Brooks ym. 1994, Moen 1996), ALC 25-200(400) ppm/2-12(24 h) (mm. Tsukamoto 1995, Nagata 1995, Moen 1996, Höglund ja Wahlberg 1997) ja ARS 50-200(300) ppm (4)12-24 h (Beckman ja Schulz 1996, Makkonen ja Pursiainen 1997). Yleissääntönä merkinnän onnistumiselle voidaan pitää sitä, oletuksella että pitoisuus ei ole liian suuri, että veden ominaisuuksien tulee olla merkinnän aikana kunkin lajin ja/tai kehitysasteen normaaliolosuhteita vastaavia.

Rehun kautta annettuna TC/OTC lohille ja sioille 100-1.000 mg/kg/vrk 2-13 vuorokauden ajan (mm. Weber ja Rigdway 1967, Trojnar 1973, Odense ja Logan 1974, Nagiec ym. 1983, Nagiec 1992) sekä CAL ja ALC eri lajeille 25-50 mg/kg/vrk (mm. Monaghan 1993, Thomas ym. 1995). Injektoituna TC/OTC (mm. Agrimycin-100, Terramycin) ja CAL lohikaloille ja kuhille (10)25-150 mg/kg (mm. Tsukamoto 1988, Brooks ym. 1994, Thomas ym. 1995).

Kudosvärjäyskokeiluja veden kautta tapahtuvan imeyttämisen kautta kannattaa jatkaa ensisijaisesti ARS:lla, josta jo on hyviä kokemuksia. Menetelmää tulee testata ja kehittää etenkin lohikaloille, mm. eri kehitysasteille, lajeille ja eri kokoisille kaloille. Tutkittavia asioita ovat ainakin lämpötila, värjäysaika, kalojen koko, (pH). Tarvittaessa voidaan kokeilla myös muita väriaineita ja antotapoja.

2.6.2. Lämpökäsittely

Lämpökäsittely soveltuu lohikalojen mädin (spa) tai pienten poikasten (ennen omatoimisen syömisen alkamista) merkintää (Akinicheva ja Rogatnykh 1996). Etuna yksinkertaisuus, alhaiset merkintäkustannukset ja merkin havaittavuus ilman erikoisvälineitä (Letcher ja Terrick 1998). Käytetty suurissa massamerkinnöissä, mm. Yhdysvalloissa merkitään vuosittain yli 30 miljoonaa lohenpoikasta (Schroder ym. 1996).

Käytännössä soveltuvia menetelmiä on useita, mm. lohenpoikasten pitäminen kaksi vuorokautta lämpimässä (5 tai 9 °C) vedessä, nopea (10 minuutissa) lämpötilan pudotus kylmään (1 °C) veteen, jossa vähintään 8 tuntia (Letcher ja Terrick 1998) tai

useita (2-8) perättäisiä lämpimän ja kylmän veden jaksoja. Jaksojen tulee olla riittävän lyhyitä (miel. alle 24 h) (Bergstedt ym. 1990, Brothers 1990) ja lämpötilaero jaksojen välillä vähintään 2 °C (Volk ym. 1990), mielellään 5-10 °C (Bergstedt ym. 1990, Brothers 1990). Lohikalojen mäti ja poikaset kestävät suuriakin lämpötilan vaihteluita, mm. harmaanieriän poikaset jopa 12,8 °C:een lämpötilamuutosta (Bergstedt ym. 1990). Lohikalojen kehittyvään alkioon ei aiheudu vaurioita, mikäli lämpötila pidetään välillä 1-13 °C (Schroder ym. 1996).

Kokeilun arvoinen menetelmä, jonka soveltuvuutta kannattaa testata pienikokoisilla vastakuoriutuneilla, mm. siika ja harjus sekä myös mädillä.

2.6.3. Osmoottinen shokki

Uusi menetelmä, jota kokeiltu vasta muutamilla lajeilla ja TC/OTC-yhdisteillä. Etuna yksinkertaisuus ja merkinnän lyhyt kesto. Merkin havaitseminen vaatii kuitenkin UV-mikroskoopin. Soveltuu mädin (spa) ja pienten poikasten merkintään, mm. siioilla saatu parempia tuloksia kuin perinteisellä TC-merkinnällä (Rojas-Beltran ym. 1995a).

Siioille soveltuvia käsittelyjä: 5-12 % NaCl + 1 % TC 10-15 min (spa mäti) tai 3,5 min (mäti juuri ennen kuoriutumista), 5 % NaCl + 1 % TC 1,5 min (vastakuoriutuneet) ja alle 1 min (yli 20 mm:n poikaset) (Rojas-Beltran ym. 1995a). Nieriän vastaavia: 5 % NaCl + 1 % OTC 5-17 min (spa mäti) ja 2-7 min (poikaset) lämpötiloissa 7,5-9,5 °C (Rojas-Beltran ym. 1995b).

Menetelmää kannattaa kokeilla mikäli kudosisvärjäys tai lämpökäsittely eivät tuota toivottua tulosta. Mikäli merkintöihin ryhdytään, niin kannattanee testata myös muita väriaineita (esim ARS).

Kirjallisuus

- Akinicheva, E.G. & Rogatnykh, A.Y. 1996. The salmon marking experiment at fish hatcheries: Thermal marking. *Journal of Ichthyology* 36:693-698.
- Alhossaini, M. & Pitcher, T.J. 1988. The relationship between daily rings, body growth and environmental factors in plaice, *Pleuronectes platessa* L., juvenile otoliths. *Journal of Fish Biology* 33:409-418.
- Babaluk, J.A. & Campbell, J.S. 1987. Preliminary results of tetracycline labelling for validating annual growth increments in opercula of walleyes. *North American Journal of Fisheries Management* 7:138-141.
- Beckman, D.W., Wilson, C.A., Lorica, F. & Dean, J.M. 1990. Variability in incorporation of calcein as a fluorescent marker in fish otoliths. *American Fisheries Society Symposium* 7:547-549.
- Beckman, D.W. & Schulz, R.G. 1996. A simple method for marking fish otoliths with alizarin compounds. *Transactions of the American Fisheries Society* 125:146-149.
- Bergstedt, R.A., Eshenroder, R.L., Bowen, C., Seelye, J.G. & Locke, J.C. 1990. Mass-marking of otoliths of lake trout sac fry by temperature manipulation. *American Fisheries Society Symposium* 7:216-223.
- Bilton, H.T. 1986. Marking chum salmon fry vertebrae with oxytetracycline. *North American Journal of Fisheries Management* 6:126-128.
- Blom, G., Nordeide, J.T., Svåsand, T. & Borge, A. 1994. Application of two fluorescent chemicals, alizarin complexone and alizarin red S, to mark otoliths of

- Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture and Fisheries Management* 25 (Suppl. 1):229-243.
- Brooks, R.C., Heidinger, R.C. & Kohler, C.C. 1994. Mass-marking otoliths of larval and juvenile walleys by immersion in oxytetracycline, calcein, or calcein blue. *North American Journal of Fisheries Management* 14:143-150.
- Brothers, E.B. 1990. Otolith marking. *American Fisheries Society Symposium* 7:183-202.
- Buckley, R.M. & Blankenship, H.L. 1990. Internal extrinsic identification systems: Overview of implanted wire tags, otolith marks, and parasites. *American Fisheries Society Symposium* 7:173-182.
- Bumgardner, B.W. 1991. Marking subadult red drums with oxytetracycline. *Transactions of the American Fisheries Society* 120:537-540.
- Bumgardner, B.W. & King, T.L. 1996. Toxicity of oxytetracycline and calcein to juvenile striped bass. *Transactions of the American Fisheries Society* 125:143-145.
- Campana, S.E. 1983. Calcium deposition and check formation during periods of stress in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Comparative Biochemistry and Physiology A, Comparative Physiology* 75:215-220.
- Campana, S.E. & Neilson, J.D. 1982. Daily growth increments in otoliths of starry flounder (*Platichthys stellatus*) and the influence of some environmental variables in their production. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 39:937-942.
- Campana, S.E. & Neilson, J.D. 1985. Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42:1014-1032.
- Choate, J. 1964. Use of tetracycline drugs to mark advanced fry and fingerlings brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Transactions of the American Fisheries Society* 93:309-311.
- Conover, G.A. & Sheenan, R.J. 1996. Evaluation of oxytetracycline marks in sagittal otoliths of juvenile black crappies. *North American Journal of Fisheries Management* 16:686-688.
- Dabrowski, K. & Tsukamoto, K. 1986. Tetracycline tagging in coregonid embryos and larvae. *Journal of Fish Biology* 29:691-698.
- Fitzhugh, G.R. & Rice, J.A. 1995. Error in back-calculation of lengths of juvenile southern flounders, *Paralichthys lethostigma*, and implications for analysis of size-selection. In: Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (eds.). *Recent Developments in fish otolith research*. The Belle W. Barush Library in Marine Science number 19:227-246.
- Folkvord, A. & Johannessen, A. 1997. Temperature-dependent otolith growth in herring (*Clupea harengus*) larvae. *Journal of Fish Biology* 51 (Suppl. A): 404 (poster abstract).
- Gleason, T.R. & Recksiek, C. 1990. Preliminary field verification of daily growth increments in the lapillar otoliths of juvenile cunners. *American Fisheries Society Symposium* 7:562-565.
- Hales Jr., L.S. & Able, Kenneth, W. 1995. Effects of oxygen concentration on somatic and otolith growth rates of juvenile black bass, *Centropristis striata*. In: Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (eds.). *Recent Developments in fish otolith research*. The Belle W. Barush Library in Marine Science number 19:135-153.

- Hendricks, M.L., Bender Jr., T.R. & Mudrak, V.A. 1991. Multiple marking of American shad otoliths with tetracycline antibiotics. *North American Journal of Fisheries Management* 11:212-219.
- Hettler, W.F. 1984. Marking otoliths by immersion of marine fish larvae in tetracycline. *Transactions of American Fisheries Society* 113:370-373.
- Hoff, G.R., Logan, D.J. & Markle, D.F. 1997. Otolith morphology and increment validation in young Lost River and shortnose suckers. *Transactions of the American Fisheries Society* 126:488-494.
- Holmgren, K. 1996. Otolith growth scaling of the eel, *Anguilla anguilla* (L.), and back-calculation errors revealed from alizarin labelled otoliths. *Nordic J. Freshw. Res.* 72:71-79.
- Huuskonen, H. & Karjalainen, M. 1993. Growth and daily increments in otoliths of experimentally reared vendace, *Coregonus albula* (L.), larvae. *Aqua Fennica* 23:101-109.
- Höglund, E. & Wahlberg, B. 1997. En metod för massmärkning av gulesäcksyngel av sik (*Coregonus lavaretus* L.). Laxforskningsinstitutet. Meddelande 1/1997, 12 p.
- Iglesias, J. & Rodriguez-Ojea, G. 1997. The use of alizarin complexone for immersion marking of the otoliths of embryos and larvae of the turbot, *Scophthalmus maximus* (L.): dosage and treatment time. *Fisheries Management and Ecology* 4:405-417.
- Jensen, A.C. & Cumming, K.B. 1967. Use of lead compounds and tetracycline to mark scales and otoliths of marine fish. *The Progressive Fish-Culturist* 29:166-167.
- Kayle, K.A. 1992. Use of oxytetracycline to determine the contribution of stocked fingerling walleyes. *North American Journal of Fisheries Management* 12:353-355.
- Kobayashi, S., Yuki, R., Furui, T. & Kosugiyama, T. 1964. Calcification in fish and shellfish - I. Tetracycline labelling patterns on scale, centrum, and otolith in young goldfish. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 30:6-13.
- Koenings, J.P., Lipton, J. & McKay, P. 1986. Quantitative determination of oxytetracycline uptake and release by juvenile sockeye salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 115:621-629.
- Letcher, B.H. & Terrick, T.D. 1998. Thermal marking of Atlantic salmon otoliths. *North American Journal of Fisheries Management* 18:406-410.
- Lorson, R.D. & Mudrak, V.A. 1987. Use of tetracycline to mark otoliths of American shad fry. *North American Journal of Fisheries Management* 7:453-455.
- MacLellan, S.E. & Fargo, J. 1995. Validation of age and growth for english sole (*Parophrys vetulus*) in Hecate Strait, British Columbia. In: Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (eds.). *Recent Developments in fish otolith research*. The Belle W. Barush Library in Marine Science number 19:341-355.
- Makkonen, J. & Pursiainen, M. 1997. Nieriän ruskuaisspussipoikasten merkintä alitsariinipunainen S-väriaineella. Teoksessa: Makkonen, J. (toim.). *Saimaan nieriä, syvien vesien uhanalainen. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. Kalatutkimuksia - Fiskundersökningar* 133:115-129.
- McFarlane, G.A. & Beamish, R.J. 1995. Validation of the otolith cross-section method of age determination for sablefish (*Anoplopoma fimbria*) using oxytetracycline. In: Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (eds.). *Recent Developments in fish otolith research*. The Belle W. Barush Library in Marine Science number 19:319-329.

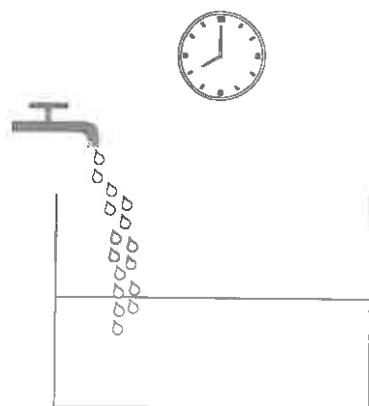
- Moen, V. 1996. Otolitt-merking av laks (*Salmo salar* L.) - Massemerking av rogn og yngel ved tilsetning av fargestoff i vannbad. Statens veterinære laboratorium i Trondheim - Oppdragsavdeling. Rapport, 21 p.
- Monaghan, J.P. 1993. Comparison of calcein and tetracycline as chemical markers in summer flounder. Transactions of the American Fisheries Society 122:298-301.
- Muth, R.T. & Bestgen, K.R. 1991. Effects of sunlight on tetracycline marks in otoliths of Colorado squawfish larvae. Transactions of the American Fisheries Society 120:666-668.
- Nagata, M., Nakajima, M. & Okada, H. 1995. Growth differences between wild and domestic juvenile masu salmon, *Oncorhynchus masou*, as determined by otolith marking of domestic fish at the eyed-egg stage. In: Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (eds.). Recent Developments in fish otolith research. The Belle W. Barush Library in Marine Science number 19:445-454.
- Nagiec, M. 1992. Persistence of tetracycline mark in the otoliths of whitefish (*Coregonus lavaretus*). Bulletin of the Sea Fisheries Institute 3:77-80.
- Nagiec, M., Nagiec, C., Dabrowski, K. & Murawska, E. 1983. Marking of juvenile whitefish *Coregonus lavaretus* (L.) with tetracycline antibiotics. Acta Ichthyologica et Piscatoria XIII:47-57.
- Nagiec, M., Dabrowski, K., Nagiec, C. & Murawska, E. 1988. Mass-marking of coregonid larvae and fry by tetracycline tagging otoliths. Aquaculture and Fisheries Management 19:171-178.
- Nagiec, M., Czerkies, P., Goryczko, K., Witkowski, A. & Murawska, E. 1995. Mass-marking of grayling, *Thymallus thymallus* (L.), larvae by fluorochrome tagging of otoliths. Fisheries Management and Ecology 2:185-195.
- Neilson, J.D., Geen, G.H. & Bottom, D. 1985. Estuarine growth of juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) as inferred from otolith microstructure. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 42:899-908.
- Nordeide, J.T., Holm, J.C., Otterå, H., Blom, G. & Borge, A. 1992. The use of oxytetracycline as a marker for juvenile cod (*Gadus morhua* L.). Journal of Fish Biology 41: 21-30.
- Nordisk Ministerråd 1995. Massemerking av tidlig livsstadier av torsk med alizarin. ThemaNord 1995:540, 31 s.+appendiks.
- Odense, P.H. & Logan, V.H. 1974. Marking Atlantic salmon (*Salmo salar*) with oxytetracycline. Journal Fisheries Research Board of Canada 31:348-350.
- Oliveira, K. 1996. Field validation of annular growth rings in the American eel, *Anguilla rostrata*, using tetracycline-marked otoliths. Fishery Bulletin 94:186-189.
- Otterlei, E., Nyhammer, G., Folkvord, A. & Stefansson, S.O. 1997. Temperature- and size-dependent growth of larval and juvenile cod (*Gadus morhua* L.) - a comparative study between Arcto-Norwegian and Norwegian coastal cod. Journal of Fish Biology 51 (Suppl. A): 415 (poster abstract).
- Pedersen, T. & Carlsen, B. 1991. Marking cod (*Gadus morhua* L.) juveniles with oxytetracycline incorporated into the feed. Fisheries Research 12:57-64.
- Peterson, D.L. & Carline, R.F. 1996. Effects of tetracycline marking, transport density, and transport time on short-term survival of walleye fry. The Progressive Fish-Culturist 58:29-31.
- Radtke, R. & Fey, D.P. 1996. Environmental effects on primary increment formation in the otoliths of newly-hatched arctic charr. Journal of Fish Biology 48:1238-1255.

- Reinert, T.R., Wallin, J., Griffin, M.C., Conroy, M.J. & van den Avyle, M.J. 1998. Long-term retention and detection of oxytetracycline marks applied to hatchery-reared larval striped bass, *Morone saxatilis*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 55:539-543.
- Rojas-Beltran, R., Champigneulle, A. & Vincent, G. 1995a. Mass-marking of bone tissue of *Coregonus lavaretus* L. and its potential application to monitoring the spatio-temporal distribution of larvae, fry and juveniles of lacustrine fishes. Hydrobiologia 300/301:399-407.
- Rojas-Beltran, R., Gillet, C. & Champigneulle, A. 1995b. Immersion mass-marking of otoliths and bone tissue of embryos, yolk-sac fry and fingerlings of arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.). Nordic Journal of Freshwater Research 71:411-418.
- Ruhlé, Ch. & Winecki-Kühn, C. 1992. Tetracycline marking of coregonids at the time of egg fertilization. Aquatic Sciences 54:165-175.
- Scidmore, W.J. & Olson, D.E. 1969. Marking walleye fingerlings with oxytetracycline antibiotics. The Progressive Fish-Culturist 31:213-216.
- Schroder, S.I., Volk, E.C., Knudsen, C.M. & Grimm, J.J. 1996. Marking embryonic and newly emerged salmonids by thermal events and rapid immersion in alkaline-earth salts. Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult. Suppl. 2:79-83.
- Secor, D.H., White, M.G. & Dean, J.M. 1991. Immersion marking of larval and juvenile hatchery-produced striped bass with oxytetracycline. Transactions of American Fisheries Society 120:261-266.
- Secor, D.H. & Houde, E.D. 1995. Larval mark-release experiments: potential for research on dynamics and recruitment in fish stocks. In: Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (eds.). Recent Developments in fish otolith research. The Belle W. Barush Library in Marine Science number 19:423-444.
- Smith, S.E. 1984. Timing of vertebral-band deposition in tetracycline-injected leopard sharks. Transactions of the American Fisheries Society 113:308-313.
- Speare, P. 1992. A technique for tetracycline injecting and tagging billfish. Bulletin of Marine Science 51:197-203.
- Takahashi, Y. 1994. Otolith staining by oral administration of alizarin complexon for juveniles of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Nippon Suisan Gakkaishi 60:611-615.
- Thomas, L.M., Holt, S.A. & Arnold, C.R. 1995. Chemical marking techniques for larval and juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) otoliths using different fluorescent markers. In: Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (eds.). Recent Developments in fish otolith research. The Belle W. Barush Library in Marine Science number 19:703-717.
- Trojnar, J.R. 1973. Marking rainbow trout fry with tetracycline. The Progressive Fish-Culturist 35:52-54.
- Tsukamoto, K. 1985. Mass-marking of ayu eggs and larvae by tetracycline-tagging of otoliths. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 51:603-911.
- Tsukamoto, K. 1988. Otolith tagging of ayu embryo with fluorescent substances. Nippon Suisan Gakkaishi 54:1289-1295.
- Tsukamoto, K. 1995. Use of otolith-tagging in a stock enhancement program for masu salmon (*Oncorhynchus masou*) in the Kaji River, Japan. In: Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (eds.). Recent Developments in fish otolith research. The Belle W. Barush Library in Marine Science number 19:403-422.

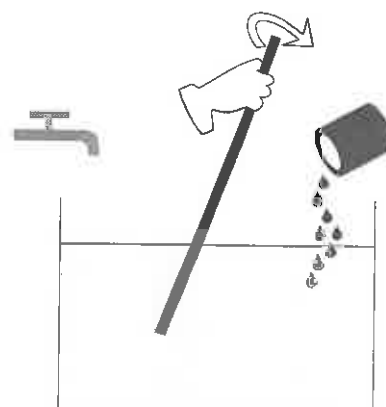
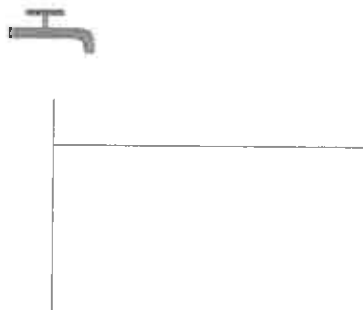
- Tsukamoto, K. & Shima, Y. 1990. Otolith daily increment in sandfish. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56:1083-1087.
- Tsukamoto, K., Kuwada, H., Hirokawa, J., Oya, M., Sekiya, S., Fujimoto, H. & Imaizumi, K. 1989a. Size-dependent mortality of red sea bream, *Pagrus major*, juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan *Journal of Fish Biology* 35 (Suppl. A):59-69.
- Tsukamoto, K., Seki, Y., Oba, T., Oya, M. & Iwahashi, M. 1989b. Application of otolith to migration study of salmonids. *Physiol. Ecol. Japan* 1:119-140.
- Tzeng, W.-N. & Yu, S.-Y. 1989. Validation of daily growth increments in otoliths of milkfish larvae by oxytetracycline labeling. *Transactions of the American Fisheries Society* 118:168-174.
- Unkenholz, E.G., Brown, M.L. & Pope, K.L. 1997. Oxytetracycline marking efficacy for yellow perch fingerlings and temporal assays of tissue residues. *The Progressive Fish-Culturist* 59:280-284.
- Umeza, A. & Tsukamoto, K. 1991. Factors influencing otolith increment formation in Japanese eel, *Anguilla japonica* T. & S., elvers. *Journal of Fish Biology* 39:211-223.
- Villanueva, R. & Moli, B. 1997. Validation of the otolith increment deposition ratio using alizarin marks in juveniles of the sparid fishes, *Diplodus vulgaris* and *D. puntazzo*. *Fisheries Research* 30:257-260.
- Volk, E.C., Schroder, S.L. & Fresh, K.L. 1990. Inducement of unique otolith banding patterns as a practical means to mass-mark juvenile Pacific salmon. *American Fisheries Society Symposium* 7:203-215.
- Volk, E.C., Schroder, S.L. & Grimm, J.J. 1994. Use a bar code symphology to produce multiple thermally induced otolith marks. *Transactions of the American Fisheries Society* 123:811-816.
- Volk, E.C., Wissmar, R.C., Simensted, C.A. & Eggers, D.M. 1984. Relationship between otolith microstructure and the growth of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) under different prey rations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 41:126-133.
- Wahl, D.H. & Stein, R.A. 1987. Application of liquid oxytetracycline in formulated feeds to mark and treat tiger muskellunge (northern pike $\times$ muskellunge). *The Progressive Fish-Culturist* 49:312-314.
- Weber, D.D. & Ridgway, G.J. 1962. The deposition of tetracycline drugs in bones and scales of fish and its possible use for marking. *The Progressive Fish-Culturist* 24:150-155.
- Weber, D.D. & Ridgway, G.J. 1967. Marking Pacific salmon with tetracycline antibiotics. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 24:849-865.
- Wilson, C.A. 1995. Chemical marking in otoliths. In: Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (eds.). *Recent Developments in fish otolith research*. The Belle W. Barush Library in Marine Science number 19:719.
- Wilson, K.H. & Larkin, P.A. 1980. Daily growth increments in the otoliths of juvenile sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37:1495-1498.
- Wilson, C.A., Beckman, D.W. & Dean, J.M. 1987. Calcein as a fluorescent marker of otoliths of larval and juvenile fish. *Transactions of the American Fisheries Society* 116:668-670.

Wright, P.J. , Rowe, D. & Thorpe, J.E. 1991. Daily growth increments in the otoliths of Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L., and the influence of environmental factors on their periodicity. *Journal of Fish Biology* 39:103-113.

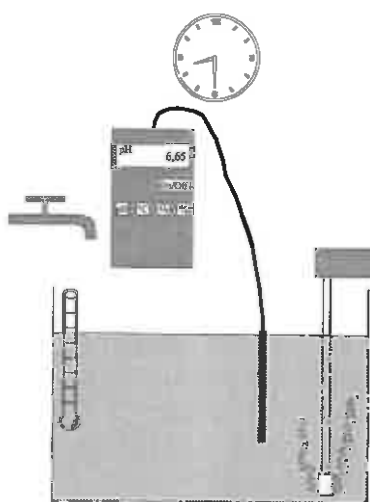
LIITE. Otolitiittien kudosisvärjäyksen suorittaminen imeytettäessä väriaine veden kautta.



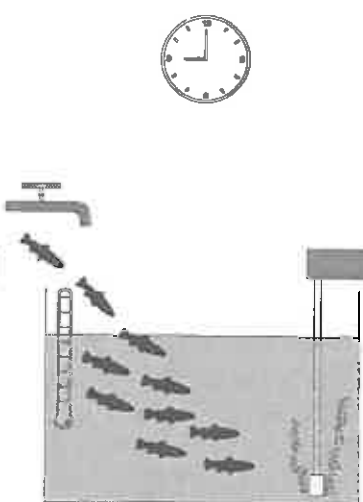
Laita astiaan sopiva määrä vettä.



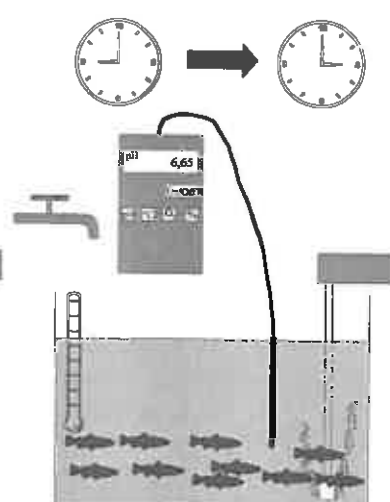
Lisää väriaine, sekoita hyvin.



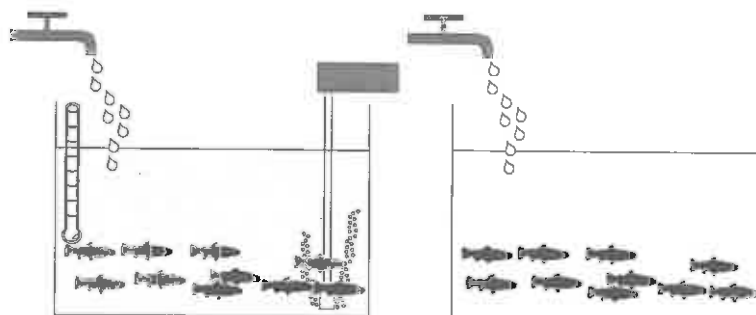
Kytke hapetus päälle.
Väriaineen liuottua mittaa pH.
Tarvittaessa puskuroi vesi.



Lisää kalat.



Kylvetä kaloja tarvittava aika,
tarkkaile lämpötilaa, happipitoisuutta ja pH:ta.



Lisää puhdas vesi vähitellen.

3. Radioaktiivinen merkintä

KARI NYBERG

Helsingin yliopisto / Limnologian ja ympäristönsuojelun laitos

PEKKA J. VUORINEN

RKTL / Helsinki

3.1. Johdanto

Aikuisten kalojen ja kookkaiden poikasten merkintöihin kehitettyjä yksilöllisiä menetelmiä ei voi soveltaa vastakuoriutuneisiin kalanpoikasiin, sillä ne vahingoittuvat helposti varsin vähäisestäkin mekaanisesta kosketuksesta. Poikasten pieni koko (pituus 5 - 25 mm) ja suuri käsittelyherkkyys asettavat korkeat vaatimukset niiden tutkimuksessa käytettävälle merkintämenetelmille. Lupaavista yrityksistä huolimatta (mm. Dabrowski & Tsukamoto 1986, Nordeide ym. 1992, Schroder ym. 1995) vastakuoriutuneiden kalanpoikasten helposti toteutettavissa olevia massamerkintöjä sekä samalla merkittyjä poikasia luotettavasti ja nopeasti pyynnin jälkeen tunnistavia menetelmiä ei ole onnistuttu kehittämään. Edellisistä poiketen radioaktiivisten isotooppien käyttö mahdollistaa tämän. Vastakuoriutuneita kalanpoikasia on merkitty radioaktiivisilla yhdisteillä eli leimaamalla (engl. labelling) jo muutaman vuosikymmenen aikana (Bogoyavlevskaja 1955, 1961, Anwand 1966, 1968, Carlson & Shealy 1972, Krüger 1974, Hansen & Fattah 1986, Vuorinen & Lehtonen 1988, Lehtonen ym. 1992, Vuorinen ym. 1998).

3.2. Radioaktiivisen merkinnän käyttötarkoitukset, soveltuvuus ja kustannukset

Strontiumin radioaktiivinen isotooppi, ^{85}Sr , on ruskuaispussivaiheessa olevien vastakuoriutuneiden kalanpoikasten leimauksissa usein käytetty alkuaine (mm. Carson & Shealey 1972, Vuorinen & Lehtonen 1988, Nyberg 1991, Lehtonen ym. 1992, Vuorinen ym. 1998). Sitä on helppo käyttää vesiliukoisena kloridina ($^{85}\text{SrCl}_2$). Strontiumilla on luonnollinen reitti kalojen aineenvaihdunnassa samaan alkuaineryhmään kuuluvan kalsiumin (Ca) tapaan. Siksi se sitoutuu helposti kalojen tukirankaan ja jää sinne (Boroughs ym. 1956). Luustossa tai rustossa oleva radioaktiivinen strontium voidaan tunnistaa helposti sen lähettämää säteilyä mittaamalla. ^{85}Sr lähettää gammasäteilyä, joka läpäisee sekä poikasen että näyteputken säilöntäliuoksineen ja siksi leimatut poikaset voidaan tunnistaa helposti ja automaattisesti pulssimittauksilla ilman, että niitä täytyy esikäsitellä aikaa vievillä ja monimutkaisilla menetelmillä (esim. näytteen preparointi tai märkäpoltto). On tärkeää, että leimauksissa käytetyissä isotoopeissa ei ole mukana alfasäteilyä tai voimakasta betasäteilyä, koska ne ovat haitallisempia eläville organismeille kuin esim. ^{85}Sr :n lähettämä suhteellisen matalaenerginen (0,514 MeV) gammasäteily ja koska ne tekevät tällaisista isotoopeista kokonaissäteilyltään vaarallisempia. Lisäksi alfa- ja betasäteily

vaimentuvat tehokkaasti orgaaniseen kudokseen, joten niiden mittaaminen suoraan näytekalasta ei ole mahdollista (Choppin ym. 1995).

Radioaktiivisen merkinnän on havaittu toimivan luotettavasti, kun tutkitaan vastakuoriutuneina leimattuja erilaisiin vesistöihin istutettuja kalanpoikasia niiden ensimmäisen kasvukauden aikana. Suomessa ^{85}Sr :a on käytetty hauen (*Esox lucius*; Nyberg 1991, Vuorinen ym. 1998, Korhonen 1999, Korhonen & Mutenia 1999), vaellussiiian (*Coregonus lavaretus*; Lehtonen ym. 1992, Vähänäkki ym. 1995, Nyberg 1997, 1998 ja Aronen 1998) ja harjuksen (*Thymallus thymallus*; Nyberg 1994) vastakuoriutuneiden poikasten sekä nahkiaisen (*Lampetra fluviatilis*) vastakuoriutuneiden toukkien eli likomatojen (Nyberg 1999) leimaukseen. Näiden lisäksi se soveltunee myös muiden kalalajien vastakuoriutuneiden poikasten merkitsemiseen. Leimattujen vaellussiiianpoikasten kontrolliryhmien 25 - 40 vrk kestäneissä seurannoissa (Nyberg 1997) ei ole havaittu selkärangan käyristymiä tai muita radioaktiiviselle säteilylle altistumisesta aiheutuvia tyypillisiä epämuodostumia (Vuorinen & Lehtonen 1988). ^{85}Sr :lla voidaan leimata myös kookkaita kalanpoikasia, mutta tämä ei ole tarkoituksenmukaista niin kauan kuin siihen on mahdollista käyttää jotain muuta vastaavaa merkintämenetelmää.

Vastakuoriutuneet kalanpoikaset leimataan kylvettämällä niitä 2-3 vuorokautta $^{85}\text{SrCl}_2$ -liuoksessa, jonka aktiivisuus on 1,85 - 3,70 MBq/l (50 - 100 $\mu\text{Ci/l}$). Esim. noin 100 000 kpl:een ruskuaispussivaiheessa olevan vaellussiiian poikasten yhteen leimaukseen (liuostilavuus 50 l, liuoksen aktiivisuus 1,85 MBq/l (50 $\mu\text{Ci/l}$)) tarvittava kokonaisradioaktiivisuus on suhteellisen pieni (92,5 MBq (2,5 mCi)). Leimausainekustannukset ovat noin 3 500 mk eli 3,5 p/poikanen. Leimausliuosta voidaan kiintoaineen suodatuksen jälkeen käyttää uudelleen vähintään kertaalleen, jolloin kustannukset pienenevät edelleen. Poikasten kuolleisuus on varsin vähäistä ja se jää kerralla tehdyn leimauksen aikana tavallisesti alle 100 kpl:een (alle 0,1 %) veden lämmön ollessa 4 - 6 °C (Nyberg 1997). Liuoksen lämpötilan noustessa ja radioaktiivisuuden sekä poikasten tiheyden ja koon suurentuessa myös niiden kuolevuus saattaa nousta huomattavasti. Lämpötilan nouseminen kiihdyttää poikasten aineenvaihduntaa ja toisaalta vähentää hapen liukoisuutta. Lämpimässä vedessä poikaset saattavat altistua myös taudeille. Leimauksen aikana kuolleet ja hajoavat poikaset saattavat pilata liuoksen niin, ettei sitä voi käyttää enää uudelleen. Kuitenkin, jos liuosta ei käytetä enää uudelleen, sen hyvän laadun säilymisellä leimauksen jälkeen ei ole merkitystä.

Yhdellä kerralla leimattavien poikasten lukumäärä riippuu käytettävissä olevan merkintäliuoksen tilavuudesta. Poikasten määrää saattaisi olla mahdollista lisätä tai vastaavasti tarvittavan ^{85}Sr :n ja leimausliuoksen määrää voitaisiin vähentää, jos hedelmöitettyä mätää kyettäisiin leimaamaan ennen poikasten kuoriutumista. Mätää on merkitty menestyksekkäästi väriaineilla (Muncy & D'Silva 1981) ja tetrasykliinillä (Dabrowski & Tsukamoto 1986, Ruhlé & Winecki-Kühn 1992), mutta mädin leimaamista ^{85}Sr :lla ei ole kokeiltu aikaisemmin. Jos menetelmä osoittautuisi toimivaksi, se saattaisi avata uusia mahdollisuuksia vastakuoriutuneiden kalanpoikasten merkintätutkimuksessa.

3.3. Radioaktiivisessa leimauksessa tarvittavat tilat ja välineistö

Koska poikasten leimauksessa kerrallaan käytettävä liuosmäärä on suhteellisen pieni (50 - 80 l), leimausvälineistön sekä tarvittavan tilan määrä on vähäinen. Varsinaisen kannellisen leimausaltaan (tyypilliset mitat: pituus 60 cm, leveys 40 cm, korkeus 40 cm) ympärillä on käytetty tavallisimmin 1 m²:n vedellä täytettyä lasikuituallasta, joka toimii lämmöntasaajana ja vaimentaa leimausaltaasta lähtevää säteilyä (menetelmän yksityiskohtaisempi kuvaus Nyberg 1991). Lisäksi altaan kahden vierekkäisen sivun

ympäriältä tarvitaan jonkin verran liikkumatilaa poikasten siirtämisvaiheissa. Useimmiten ulkopuolisten henkilöiden pääsemättömissä oleva leimaukseen sopiva tila löytyy esim. poikashautomon nurkasta, josta löydetään henkilökunnan työskentelyä tai kulkureittejä mahdollisimman vähän häiritsevä paikka.

Suuret lämpötilan vaihtelut eivät ole suotavia. Jotta happi liukenesi riittävän tehokkaasti liuokseen ja jotta poikasten aineenvaihduntatuotteet eivät huonontaisi liuoksen happitilannetta, leimausliuoksen lämpötila ei saisi nousta yli 10 °C:een. Ruskuaispussipoikaset eivät tarvitse ulkopuolista ravintoa, mikä on perusedellytys leimausliuoksen hyvän laadun säilymiselle koko leimauksen ajan. Jos poikashautomon tasoisia olosuhteita ei ole käytettävissä, minimivaatimus poikasten leimaukselle on lukittava tila, johon aurinko ei paista suoraan. Ilman lämpötilan noustessa korkealle, leimausliuoksen lämpenemistä voidaan estää lisäämällä leimausallasta ympäröivään vesihaudealtaaseen jäätä tai lunta. Koska kerrallaan leimattava poikasmäärä on suhteellisen suuri (jopa 100 000 kpl/50 l = 2 000 kpl/l), leimausliuosta on ilmastettava tehokkaasti. Jos käytettävissä on verkkovirtaa, ilmastus on helpointa järjestää akvaariopumpun avulla (esim. RENA 301, pumppausteho 600 l/h, on riittävän tehokas malli). Altaaseen johdetaan ilmaa haaroitetuilla muoviletkuilla hiekkakivikuutioiden kautta (tavallisimmin kaksi kiveä riittää), jotka pitävät letkun pään samalla altaan pohjalla. Vaihtoehtoisesti sähkön puuttuessa voidaan käyttää paineilmaa. Käytetty leimausliuos on helpointa lapota kanistereihin. Käytettyä leimausliuosta vanhennetaan yhden vuoden ajan ennen kuin se hävitetään huuhtomalla viemäriin laimentaen samalla runsaalla vesimäärällä.

3.4. Aineiston kerääminen ja käsittely

Poikasten takaisinpyynti on radioaktiivisen merkinnän ja siihen liittyvän poikastutkimusten vaikein yksittäinen vaihe (kuten yleensä myös muiden vastaavien tutkimusten kohdalla). Menetelmä sellaisenaan on siis vain yksi työkalu muiden poikastutkimuksessa sovellettavien apuvälineiden joukossa. Koska radioaktiivisuutta ei voi havaita heti pyyntien yhteydessä ilman erityistä mittausvälineistöä, kaikki saaliiksi saadut tutkittavan lajin poikaset on otettava talteen. Poikasten säilöntään voidaan käyttää esim. etanolia (70 tilavuusprosenttia). Etanoli ei liuota vastakuoriutuneina leimatuista poikasista strontiumia niin suuria määriä, että pyydettyjen leimattujen ja luonnon poikasten erottaminen toisistaan vaikeutuisi, vaikka niitä molempia olisi säilötty samaan näyteputkeen (Nyberg 1997). Istutetut poikaset voidaan erottaa luonnonpoikasista heti pyynnin jälkeen laboratorioissa helposti ja nopeasti esim. vertaamalla niistä mitattuja radioaktiivisuusarvoja (cpm/poikanen) kontrolliryhmän vastaaviin arvoihin. Automaattinen mittaustekniikka (gamma-säteilyn mittaamiseen soveltuva laitteisto (esim. Ultrogamma 1280 tai Wizard 3"; Wallac OY), joka koostuu natriumjodidi-tallium (NaI(Tl)) -tukekisteestä, monikanava-analysaattorista, tulostimesta sekä automaattisesta näytteenvaihtimesta) mahdollistaa tarvittaessa ympärivuorokautisen työskentelyn.

Esimerkiksi alle 20 mm:n pituisina pyydettyjen kalanpoikasten pulssimittaukset eivät ole aikaa vieviä, koska kentällä lieriömäisiin muovisiin mittausputkiin (pituus 55 mm, leveys 15 mm) etanoliin säilötty poikaset voidaan asettaa sellaisenaan radioaktiivisuusmittaukseen (enimmillään noin 30 kpl/putki). Jo vajaan minuutin pulssimittauksella saadaan selville, onko putkessa leimattuja kalanpoikasia, koska niistä mitattavat pulssimäärät ovat suhteellisen korkeita luonnon tausta-arvoihin verrattuna. Menetelmän etu on se, että jos näyteputkessa voidaan pulssimittauksen perusteella osoittaa olevan ainoastaan luonnonpoikasia, niiden käsittelyihin verrattuna muilla menetelmillä merkitsemiseen (mm. otoliittien preparointi ja värjäysainerenkaiden mikroskopiointi) ei kulu ylimääräistä aikaa. Leimatut poikaset voidaan etsiä jakamalla putken poikaset uusiin yksittäisiin koodattuihin putkiin jotka mitataan myöhemmin

uudelleen. Pienikokoiset (alle 25 mm) poikaset voidaan sijoittaa myös yksilöllisesti ja tiiviisti koodattujen teippisuikaleiden väliin, jotka laitetaan mittauksen ajaksi suoraan mittauslaitteen putkipidikkeisiin. Tällöin varsinaisia muovisia mittausputkia ei tarvita (Nyberg 1998).

Näytteiden nopea käsittely ja analysointi on tärkeää ajankäytöllisesti, kun tutkitaan esim. joen yläjuoksulle istutettujen siianpoikasten kulkeutumista kohti merta ja kun poikasia pyydetään sekä lähetetään jatkuvasti radioaktiivisuusmittauksiin (Vähänäkki 1995). Jos mittausputkessa on leimattuja poikasia, pyyntiponnistus voidaan välittömästi kohdentaa joen tai rannikon osalle, josta ne on saatu saaliiksi tai johon niiden oletetaan kulkeutuvan. Säilötyn leimatun poikasan radioaktiivisuus vähenee fysikaalisen hajoamisen seurauksena puoleen alkuperäisestä 65 vuorokauden kuluessa eikä sitä voi hidastaa millään tavalla. Siksi radioaktiivisuusmittaukset on suositeltavinta tehdä mahdollisimman nopeasti pyynnin jälkeen muutaman vuorokauden kuluessa.

3.5. Radioaktiivisen merkinnän ongelmat ja rajoitukset

Suuren vastakuoriutuneiden kalanpoikasten määrän leimaaminen ja takaisinpyydettyjen poikasten tunnistaminen on radioisotooppitekniikan avulla suhteellisen vaivatonta ja nopeaa. Kuitenkin menetelmän laajemman soveltamisen rajoituksena on, että käytössä on ainoastaan yksi tunnistuskoodi yhtä käytössä olevaa isotooppia kohti eli pyydetty poikanen on joko leimattu ja istutettu tai peräisin luonnonkudusta. Erilaisia leimausaktiivisuuksia käyttämällä ryhmien keskimääräisiä radioaktiivisuusarvoja (cpm/poikanen) voidaan nostaa tai laskea, mutta ryhmien sisäiset yksilökohtaiset radioaktiivisuusarvot vaihtelevat niin paljon, että leimattujen ja takaisin pyydettyjen poikasten ei voida osoittaa kuuluvan täysin varmasti tiettyyn merkintäryhmään (Nyberg 1997). Jos voitaisiin ottaa käyttöön useampia isotooppeja, käytössä olevien koodien sekä niiden yhdistelmien määrää voitaisiin lisätä.

Leimausliuoksessa käytetty vesi ei saa olla liian kovaa ts. se ei saa sisältää liikaa kalsiumia. Tutkimusten mukaan (Ophel & Judd 1967, Shimmins 1967, Nyberg 1997) veden korkea kalsiumpitoisuus vähentää strontiumin imeytymistä kaloihin. Siksi esim. suolaista murtovettä tai kemiallisesti käsiteltyä vesijohtovettä ei pidä käyttää leimausliuoksen pohjana. Strontium kuuluu toisen alkuaineryhmän maa-alkalimetalleihin kuten magnesium ja kalsium. Magnesium ei estä strontiumin imeytymistä poikasiin samalla tavalla kuin kalsium (Nyberg 1994). Leimausliuoksen kalsiumpitoisuuden pitäisi olla alle 5 mg/l eli 0,125 mmol/l (Nyberg 1997). Myös leimausliuoksena käytetyn veden suuri kiintoaineen määrä (kolloidiset aineet, humus) saattaa vaikuttaa strontiumin imeytymiseen (Nyberg 1998).

Koska strontium kerääntyy pääasiassa kalan luustoon ja rustoihin (Boroughs ym. 1956) ja koska etenkin kookkaasta kalasta ei yleensä syödä ruotoja ja kiduksia, vastakuoriutuneena leimatun kalan syömisestä isompana ei aiheudu vaaraa ihmiselle. Kookkaamman petokalan syödessä yksittäisen leimatun kalanpoikasan sen mukana niellystä ^{85}Sr :sta on Vuorisen & Lehtosen (1988) mukaan havaittu imeytyvän petokalan ruoansulatuksen läpi ainoastaan vajaan prosentin verran (0,7 %). Mahdollinen leimatun kalan syötävissä osissa oleva ^{85}Sr :n määrä vähenee lisäksi suhteessa kalan kokoon jatkuvasti kalan kasvaessa. Esimerkiksi vastakuoriutuneen hauenpoikasan massa kasvaa noin 50 000 kertaiseksi, ennen kuin se on saavuttanut pyyntikoon eli noin 40 cm (Vuorinen & Lehtonen 1988). ^{85}Sr :n lyhyen efektiivisen puoliintumisaajan vuoksi (= fysikaalinen + biologinen puoliintumisaika) esim. vastakuoriutuneina leima-
tuissa hauenpoikasissa ($T_{1/2\text{ eff}} = 7,1\text{ d}$; Vuorinen & Lehtonen 1988) ei ole enää merkkiainetta jäljellä havaittavia määriä, kun ne ovat kasvukauden lopulla kasvaneet yli 10 cm:n pituisiksi (Nyberg 1991). Tämän vuoksi ^{85}Sr :n käyttö rajoittuu korkeintaan yhden

kesän (noin kolme kuukautta) kestäviin merkintä-takaisinpyyntitutkimuksiin (Korhonen 1999, Nyberg 1999).

Muita vastakuoriutuneiden kalanpoikasten leimaukseen soveltuvia pidemmän puoliintumisajan omaavia gammasäteilijöitä on vähän. Vaikka mm. radioaktiivista mangaania (^{54}Mn ; $T_{1/2} = 312$ d) olisi teknisesti mahdollista käyttää, sen käyttäytymistä ei tunneta kalanpoikasissa. Ilman taustatutkimuksia sen riski joutua istutettujen kalojen mukana ihmisiin tai eläimiin kasvaisi liian suureksi etenkin vesialueilla, joilla harrastetaan runsaasti kalastusta. Vaikka poikasten leimauksessa käytetään aktiivisuuksiltaan hyvin alhaisia gammasäteilijöitä, niiden mahdollisia haitallisia vaikutuksia kaloihin on mahdotonta arvioida ilman pitkäaikaista seurantaa (kaksi-kolme vuotta). Siksi aikaisemmin pienten kalanpoikasten merkintätutkimuksissa kokeilemattomien isotooppien käyttökelpoisuutta pitäisi tutkia ensin valvotuissa olosuhteissa.

Radioaktiivisen merkinnän käyttöä rajoittaa varsin kalliin teknisen mittausvälineistön hankinnan lisäksi radioaktiivisten aineiden käsittelyn luvanvaraisuus. Säteilyturvakeskus myöntää hakijalle erikseen jokaiseen kokeeseen tarvittavan luvan, jonka myöntäminen edellyttää hakijalta lakisääteisen pätevyystason hallitsemista. Säteilytyöhön liittyvät turvallisuusriskit voidaan minimoida pätevällä koulutuksella ja oikeilla työskentelymenetelmillä. Lisäksi vaaditaan koevesialueen omistajan tai sen käytöstä vastaavan kalastuskunnan kirjallinen suostumus.

3.6. Arvio tutkimustarpeista

Tärkein tutkimuskohde radioisotooppimerkinnän kohdalla on poikasten leimauksen jälkeisten pitkäaikaisvaikutusten vaikutusten seuranta, koska sitä ei ole toistaiseksi ollut mahdollista tehdä. Siksi eri kalalajien vastakuoriutuneita poikasasia (esim. vaellussiika, hauki, harjus), jotka on leimattu aktiivisuuksiltaan eri vahvuisissa liuksissa, pitäisi seurata laitosolosuhteissa 1 - 2 vuoden ajan leimauksen mahdollisten haittavaikutusten selvittämiseksi (esim. epämuodostumat ja kasvuerot ei-leimattuihin poikasiin verrattuna). Myös muiden kalalajien vastakuoriutuneiden sekä mahdollisesti kookkaampien poikasten leimaamista voidaan tutkia tarpeen mukaan.

^{85}Sr :a ($T_{\text{fys}} = 65$ d) pidemmän puoliintumisajan omaavien ja muilta ominaisuuksiltaan leimaukseen soveltuvien radioaktiivisten isotooppien (esim. ^{54}Mn ; $T_{\text{fys}} = 312$ d) toimivuutta vastakuoriutuneiden kalanpoikasten merkinnöissä olisi aiheellista tutkia, koska tällöin poikasten pitempiaikainen seuranta saattaisi olla mahdollista.

Radioisotooppimerkinnän toimivuutta saattaisi olla tarkoituksen mukaista tutkia myös alkiovaiheella juuri ennen poikasten kuoriutumista, koska tällöin leimattavien poikasten määrää voitaisiin lisätä. Kuitenkin on mahdollista, että menetelmä ei toimi, koska poikasten leimauksessa käytetyt aktiivisuudet ovat niin pienet (1,85 - 3,7 MBq/l (50 - 100 $\mu\text{Ci/l}$), että ^{85}Sr :a ei ehkä imeydy tarpeeksi mätimunän kuoren läpi. Toisaalta riittävän korkean ^{85}Sr -pitoisuuden (mahdollisesti 7,4 - 18,5 MBq/l (200 - 500 $\mu\text{Ci/l}$)) käyttö ei ole tarkoituksenmukaista.

Kirjallisuus

Anwand, K. 1966. Die Anreicherung von ^{45}Ca und ^{91}Y in Brut von *Esox lucius* L. und *Anguilla anguilla* (L.). Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 16, s. 1124 - 1129.

Anwand, K. 1968. Ergebnisse der Besatzversuche mit signierter Hechtbrut. Deutsche Fischerei Zeitung 15 (7), s. 195 - 198.

Aronen, K. 1998. Kalajoen alaosan kalataloudellinen tila vuosina 1995-1997. Hamarin voimalaitoksen rakentamisen ja Alavieskan tulvasuojelutöihin liittyvä jälkitarkkailu. Alueelliset ympäristöjulkaisut 79. Pohjois-Pohjanmaan ympäristökeskus, 116 s.

Bogoyavlevskaja, M. P. 1955. Eine Möglichkeit der Verwendung von ^{45}Ca zum Markieren der Fische. Rybnoe Khozyaistvo 31, s. 50 - 51 (ref. Anwand, 1966).

Bogoyavlevskaja, M. P. 1961. Metodik der Massenmarkierung junger Störe mit ^{45}Ca durch das Wasser. Trudy VRINO 44, s. 151 - 155 (ref. Anwand, 1966).

Boroughs, H., Townsley, S.J., & Hiatt, R.W. 1956. The metabolism of radionuclides by marine organisms I. The uptake, accumulation and loss of strontium-89 by fishes. Biological Bulletin 111, s. 336 - 351.

Carlson, C. A. & Shealy, Jr. M. H. 1972. Marking larval largemouth bass with radiostrontium. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 29, s. 455 - 458.

Choppin, G. R., Rydberg, J. & Liljenzin, J. O. 1995. Radiochemistry and Nuclear Chemistry. 2nd edition of Nuclear Chemistry. Theory and applications. Butterworth-Heinemann Ltd. 1995, 707 s.

Dabrowski, K. & Tsukamoto, K. 1986. Tetracycline tagging in coregonid embryos and larvae. Journal of Fish Biology 29, s. 691 - 698.

Hansen, H.J.M. & Fattah, A.T.A. 1986. Long-term tagging of elvers, *Anguilla anguilla*, with radioactive europium. Journal of Fish Biology 29, s. 535 - 540.

Korhonen, P. 1999. Päijänteen säännöstelyn vaikutukset haukikantoihin ja hauen poikasistutusten tuloksellisuus. Painossa. Korhonen, P. & Mutenia, A. 1999. Vastakuoriutuneiden hauen poikasten istutustutkimus Lokan tekojärvellä vuonna 1998. Kala- ja riistaraportteja nro 148. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. Helsinki 1999, 12 s.

Krüger, A. 1974. Method of labelling *Anguilla anguilla* with the injection of some radionuclides. Joint ICES/EIFAC Symposium on eel research and management (*Anguilla* spp.) in Helsinki, Finland, 7 - 15 June 1976, 49, 13 s.

Lehtonen, H., Nyberg, K., Vuorinen, P. J. & Leskelä, A. 1992. Radioactive strontium (^{85}Sr) in marking whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) larvae and the dispersal of larvae from river to sea. Journal of Fish Biology 41, s. 417 - 423.

Muncy, R. J. & D'Silva, A. P. 1981. Marking walleye eggs and fry. Transactions of American Fisheries Society 110, s. 300 - 305. Nordeide, J. T., Holm, J. C., Otterå, H., Blom, G. & Borge, A. 1992. The use of oxytetracycline as a marker for juvenile cod (*Gadus morhua* L.). Journal of Fish Biology 41, s. 21 - 30.

Nyberg, K. 1991. Vastakuoriutuneiden hauenpoikasten istutusten tuloksellisuus. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. Kalatutkimuksia 17, 88 s.

Nyberg, K. 1994. Vastakuoriutuneiden harjuksenpoikasten (*Thymallus thymallus* (L.)) leimaus radioaktiivisella ^{85}Sr :lla. Työraportti. Helsingin yliopisto. Limnologian ja ympäristönsuojelun laitos, 14 s.

Nyberg, K. 1997. Vastakuoriutuneiden vaellussiianpoikasten merkintä radioaktiivisella strontium-85:lla. Lisensiaatintutkimus. Helsingin yliopisto. Limnologian ja ympäristönsuojelun laitos, 67 s.

Nyberg, K. 1998. Summanjoen vaellussiikojen vastakuoriutuneiden poikasten leimaustutkimukset 2.5.-28.5.1998 (summary in English). Kaakkois-Suomen ympäristökeskus. Kouvola 1998, 25 s.

Nyberg, K. 1999. Vastakuoriutuneiden nahkiaisentoukkien leimaukset sekä toukkien istutukset ja takaisinpyynnit Perhonjoella vuonna 1998. Länsi-Suomen ympäristökeskus, Kokkolan toimipaikka/ Helsingin yliopisto. Limnologian ja ympäristönsuojelun laitos. Käsikirjoitus

Ophel, I. L. & Judd, J. M. 1967. Skeletal distribution of radiostrontium and calcium strontium/calcium ratios in several species of fish. In: Strontium Metabolism. Proceedings of the international symposium on some aspects of strontium metabolism held at Chapelcross, Glasgow and Strontian, May 5 - 7, 1967. Eds. Lenihan, J. M. A., Loutit, J. F. & Martin, J. H. New York, London, Academic Press. s. 103 - 109.

Ruhlé, Ch. & Winecki-Kühn, C. 1992. Tetracycline marking of coregonids at the time of egg fertilization. Aquatic Sciences 54, s. 165 - 175.

Schroder, S. L., Knudsen, C. H., Volk, E. C. 1995. Marking salmon fry with strontium chloride solutions. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 5. s. 1141 - 1149.

Shimmins, J., Smith, D. A., Nordin, B. E. C. & Burkinshaw, L. 1967. A comparison between calcium-45 and strontium-85 absorption, excretion and skeletal uptake. Teoksessa: Strontium metabolism. Proceedings of the international symposium on some aspects of strontium metabolism held at Chapelcross, Glasgow and Strontian, May 5 - 7, 1967. Toim. Lenihan, J. M. A., Loutit, J. F. & Martin, J. H. New York, London, Academic Press. s. 149 - 159.

Vuorinen, P.J. & Lehtonen, H. 1988. Strontium-85:n käyttö hauenpoikasten merkitsemiseen. Suomen kalatalous 53, s. 21 - 30.

Vuorinen, P.J., Nyberg, K. & Lehtonen, H. 1998. Radioactive strontium (^{85}Sr) in marking newly hatched northern pike (*Esox lucius* L.) and success of stocking. Journal of Fish Biology 52, s. 268 - 280.

Vähänäkki, P., Päivärinta, P. & Vatto, T. 1995. Kymijoen vaellussiikakanta ja siikaistutusten tuloksellisuus. Raportti vuosien 1993 ja 1994 tutkimuksista. Kymen maaseutuelinkeinopiiri. Kalatalouden vastuualue, s. 23 - 44.

4. Polttomerkintä

ARI SAURA

RKTL/Helsinki

4.1. Historia ja menetelmän kuvaus

Polttomerkintää on käytetty yleisesti vesieläintutkimuksissa. Merkinnän kohteena ovat olleet mm. ravut (Abrahamsson 1965), hummerit (Bennett ja Lovewell 1983), taskuravut (Fletcher ym. 1989), juotikkaat (Wilkin ja Scofield 1991), valaat (Hammond 1990, Tanaka ym. 1987), hylkeet (Hindell ja Little 1988), meriguaanit (Dellinger ja Hegel 1990) ym. vedenelävät vähintään yhtä usein kuin kalat.

Nykyään kaloilla käytössä olevia polttomenetelmiä on kolmea tyyppiä: kuumapoltto, kylmäpoltto ja kemiallinen poltto. Kuumapoltossa "polttoraudan" hehkuttamiseen on käytetty esim. kaasuliekkiä tai sähkövirtaa (mm. Hargreaves 1992). Myös laser-valoa on käytetty polttomerkin aikaansaamiseksi (Brock ja Farrell 1977). Tavallisin kylmäpolttomenetelmä on nk. nestetyypimenetelmä, jossa polttorauta jäähdytetään nestetyypessä (mm. Busack 1985 ja Bouvet ja Quost-Cristau 1985). Myös hiilihappojäätä ja asetonia (Buss 1953, Everest ja Edmundson 1967) tai hiilihappojäätä ja etanolia (Fujihara ja Nakatani 1967) on aikaisemmin kokeiltu. Kemiallisessa poltossa käytetään jotain syövyttävää kemikaalia, esim. hopeanitraattia polttojäljen aikaansaamiseksi (mm. Moore 1986 ja Myers ja Iwamoto 1986).

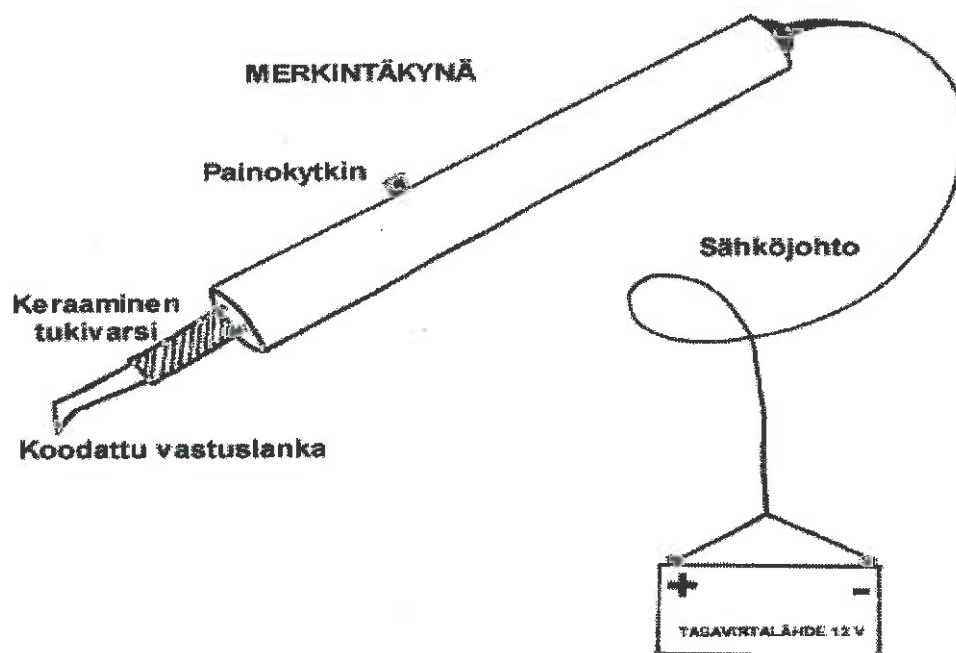
Kaikissa kolmessa polttomerkintätyypissä kalan saama merkki syntyy fysiologisesti samalla tavalla. Kuuma tai kylmä metalli, laser-valo tai syövyttävä aine polttaa kalan suomuihin ja niitä muodostavaan ihokudokseen vaurion, joka parannuttuaan näkyy arpimuodostumana koko kalan eliniän. Arpimuodostuman lisäksi polttomerkintä aiheuttaa pigmenttimuutoksia, jotka auttavat merkin tunnistamisessa.

4.2. Merkintävälineet kuumapolttomenetelmässä

Merkinnässä käytettävä sähkövirralla hehkutettava "polttorauta" on vastuslankaa (nikkelin ja kromin seos), jolla on tietty ominaisvastus (ohmia/metri). Langan sisäinen vastus riippuu sen pituudesta; mitä pitempi tietyn ominaisvastuksen omaava lanka on, sitä suurempi on sen sisäinen vastus. Lankoja on saatavana hyvin monenvahvuisia. Ne ovat sitkeitä, kestävät hyvin taivuttelua ja jopa tuhansien kertojen hehkutuksen. Mitä paksumpaa lanka on, sitä pienempi on sen ominaisvastus. Kullakin lankavahvuudella on oma optimivirtansa (ampeeria), jolla se hehkuu sopivasti. Mitä pitempi vastuslanka on, sitä korkeampaa jännitettä ja suurempaa tehoa virtalähteeltä edellytetään, jotta lankaan saataisiin optimivirta ja sopiva hehku. Langat, joiden ominaisvastus vaihtelee 10-15 ohmia/m ovat sopivan ohuita yksikesäisten kalanpoikasten merkitsemiseen ja ne saadaan hehkumaan helposti 6-12 voltin tasavirralla. Tällöin energianlähteenä voidaan käyttää akkua, paristoa, verkkomuuntajaa tai aggregaattia, jossa on 12 voltin ulosotto. Paksumpia vastuslankoja (ominaisvastus < 10 ohmia/metri) käytettäessä

tulee muissa virtalähteissä akkua lukuunottamatta helposti vastaan tehon puute, jolloin lankaa ei saada riittävän kuumaksi. Energianlähteessä on hyvä olla ulostulojännitteen säätömahdollisuus (säätöpotentiometri), jolloin hehkulankaa ei tarvitse leikata tietyn mittaiseksi optimivirran aikaansaamiseksi (Saura 1993).

Kätevä verkkovirralla toimiva virtalähde on tavallinen 12 voltin akkulaturi, johon on asennettu säätöpotentiometri ulostulojännitteelle. Hehkulanka kiinnitetään pienillä ruuveilla merkintälaitteen kynässä olevan keraamisen tukivarren päähän, jonka avulla lanka saadaan kauemmaksi merkintäkynästä eikä se jää merkintäkynän varjoon merkittäessä. Keraamisesta tukivarresta on sekin hyöty, että se toimii eristeenä hehkuvan vastuslangan ja muoviputkesta valmistetun merkintäkynän välillä ja estää kynän liiallisen kuumenemisen tai jopa sulamisen pitkään kestävässä merkintätyössä. Merkintäkynässä on painokytkin, jonka avulla lanka saadaan hehkumaan halutulla hetkellä. Merkintäkynän johdon tulee olla riittävän kevyt ja pitkä, jottei se hankaloita kynän käsittelyä (kuva 1) (Saura 1993).



Kuva 1. Polttomerkintälaite.

Merkittäessä laitteen hehkulankaa hehkutetaan painokytkimen avulla ja koodi painetaan kalan suompeitteeseen kevyesti. Hehkuvaa lankaa pidetään kalan iholla vain hetken (1-2 sekuntia), jotta ainoastaan suomut ja niitä muodostava kudosis vahingoittuisi arpimuodostuman aikaansaamiseksi. Liian voimakas tai pitkään kestävä painaminen vaurioittaa lihaskudosta ja saattaa aikaansaada vaarallisen tulehduksen. Polttojälki on onnistunut, jos se näkyy ruskeana ja ehyenä kalan suompeitteessä. Aivan polttojäljen ympärille muodostuu vaaleanharmaa alue, joka syntyy kalan liman koaguloituessa kuumuudesta. Koaguloitunut lima irtoaa parissa päivässä. Merkin paikkaa kalassa voidaan vaihdella. Kylkiviivaa, vatsaontelon aluetta, eviä ja peräaukon seutua on kuitenkin syytä välttää (Saura 1993).

Merkintää varten kalat kannattaa koota kalanviljelyaltaaseen, josta ne saa helposti kiinni. Viljelyaltaasta kalat siirretään huumaaamisliuokseen, mikä on välttämätöntä

merkinnän onnistumisen kannalta. Jos on käytettävissä esim. neljä merkkajaa ja yksi kalojen huumaamisesta vastaava henkilö, kannattaa huumaamiseen käyttää neljää pesuvatia, joissa on hapetus. Jokaiseen pesuvatiin laitetaan parin minuutin välein kerralla 50-100 kalaa (kalojen koosta ja merkkajien nopeudesta riippuen). Kun kalat ovat ensimmäisessä vadissa taintuneet, se siirretään kahden merkkajan väliin ja merkintä voi alkaa. Vadin tyhjennettyä kaloista, se siirretään taas huumaamispaikalle hapetukseen ja uudet kalat laitetaan siihen jne.. Tällä systeemillä merkkajilla on koko ajan sopivan taintuneita kaloja saatavilla, eivätkä kalat joudu olemaan liian kauan huumaamisliuoksessa. Heti merkinnän jälkeen kalat laitetaan virkistysaltaaseen raikkaaseen veteen toipumaan. Kätevimmän kalat siirtyvät merkkajien välissä olevaa muovikourua pitkin virkistysaltaaseen. Kouruun pitää järjestää vesitys ja asettaa se viettämään loivasti virkistysaltaaseen päin (Saura 1993).

Koko merkinnän ajan on huolehdittava siitä, etteivät kalat joudu liian vähähappiseen veteen tai olemaan liian pitkään huumaamisliuoksessa ja että veden lämpötila pysyy kaikissa vaiheissa, jossa kalat joutuvat olemaan, samana (Saura 1993). Veden lämpötila merkittäessä ei saa olla yli 10° C.

Sopivat huumaamisainepitoisuudet vaihtelevat eri kalalajeilla. Polttomerkinnässä on pakko käyttää melko korkeita pitoisuuksia, koska merkittävien kalojen on oltava ehdottoman liikkumattomia merkintähetkellä. Käytännössä sopiviksi havaitut pitoisuudet eri lajien yksikesäisille poikasille polttomerkinnän suorittamista varten on esitetty taulukossa 1. Huumaamisliuoksen hapetus tai hyvä ilmastus on välttämätöntä (Saura 1993).

Taulukko 1. Sopiva MS 222 pitoisuus polttomerkinnässä käytettäessä varastoliuosta, jossa 10 g MS 222 on liuotettu yhteen litraan vettä veden lämpötilan ollessa n. 10 °C (Saura 1993).

LAJI	lohi	taimen	siika	harjus	nieriät	toutain	kuha
ml varastoliuosta/10 l vettä	120	120	220	150	120	85	100

4.3. Yleisimmät käyttötarkoitukset

Polttomerkintä soveltuu mm. populaatiokokojen arvioimiseen merkintä-takaisinpyynti-menetelmillä, vaellusten ja kotipaikkauskollisuuden tutkimiseen sekä kalojen kasvun tutkimiseen (merkittyjen ikä tiedetään). Useimmat kalalajit, joiden populaatiotutkimuksiin polttomerkintää on käytetty, ovat taloudellisesti tärkeitä, viljelyn kohteena olevia lajeja kuten esim. Tyynenmeren lohet (McCutcheon ja Giorgi 1989 ja 1990, Murray ja Beacham 1990), Atlantin lohi (Bourgeois ym. 1987 ja Herbingen ym. 1990), turska (Svasand 1990), ruijanpallas (Berge 1990), kielikampela (Coggan ja Dando 1988), ankerias (Sorensen ym. 1983, Rossi ym. 1983, Rossi ym. 1986 ja Rossi ym. 1987), kissamonnit (Moore 1986), tilapiat (Myers ja Iwamoto 1986), nieriä (Laurent 1982) ja valkosilmäkuha (LaJeune ja Bergerhouse 1991).

Ankeriailla (kelta-ankeriailla) on kylmäpolttomenetelmää käytetty mm. nousuvaellusten (Rossi ym. 1983 ja Rossi ym. 1987) ja populaatiokoon arviointeihin (Rossi ym. 1986). Myös muilla lajeilla polttomerkinnät ovat yleensä liittyneet populaatiokoon arviointeihin. Ruotsissa on kylmäpolttomerkintää käytetty pikkunahkiaisilla yksilöiden erottamiseen toisistaan kutukäyttäytymisen seurannassa (Malmquist 1983). Lisääntymiskäyttäytymisen seurantaan liittyvät myös Hert'n (1989) afrikkalaisilla kikliideillä ja Morris'n ym. (1995) platyillä tekemiä kokeita,

joissa koiraiden kutuasun kuuluvia viivoja tai täpliä muutettiin kylmäpolttomenetelmällä. Kylmäpolttoa on käytetty myös viljelytutkimuksissa eri viljelyparvien erottamiseen mm. Norjassa (Joerstad ym. 1990). Britanniassa on kylmäpolttomenetelmällä tutkittu istutusten vaikutusta vapakalastajien taimen- ja kirjolohisaaliisiin Draycote Water'ssa (North 1983).

Suomessa on kuumapolttomenetelmän todettu soveltuvan ainakin lohien ja taimenen poikasille, siialle, harjukselle, nieriöille (Saura 1986 ja 1993) ja kuhalle (Saura 1996). Kuhalla sitä on käytetty tutkimuksissa, joissa on tarkoituksena ollut selvittää kuhaistutusten merkitystä sellaisissa vesissä, joissa on luonnostaankin kuhaa (Salminen).

Kuumapolttomenetelmällä merkittävien kalojen tulisi olla mielellään vähintään yksikesäisiä, kuitenkin vähintään 2 g:n painoisia. Ylärajaa kalan koossa ei periaatteessa ole. Isommilla kaloilla pitää käyttää paksumpia hehkulankoja, mikä vaatii käytettävältä laitteistolta suurempaa tehoa ja sähkövirransietokykyä. Hehkulangan koodaus tapahtuu helpoiten kapeakärkisillä pihdeillä taivutteleamalla. Helpoimpia ovat yksinkertaiset kirjain- ja numerokoodit (U, I, A, S, J, L, Z, V, N, M, W, 1, 2, 3 jne.) (Saura 1993). Kirjain- ja numerokoodit saattavat kuitenkin muuttua (esimerkiksi V U:ksi) tai tulla kokonaan tunnistamattomaksi arpimuodostuman kasvaessa. Tällöin varmin ryhmäkoodi on polttoarven paikka kalassa. Yksikesäisen kalanpoikasen kyljessä on polttomerkillä 5-10 eri paikkaa kalalajista riippuen. Näin ollen käytettävissä olevien ryhmien lukumäärä molemmat kyljet mukaan lukien on enintään 10-20.

4.4. Polttomerkkien pysyvyys ja näkyvyys

Siialla, harjuksella ja harmaanieriällä polttoarvet ovat olleet selvästi näkyvissä vielä viiden vuoden kuluttua poikasten merkinnästä, jolloin kalat oli kasvatettu täysikasvuiseksi emokaloiksi kalanviljelylaitoksella. Emokalaparvissa oli merkittyjen ja merkkeämättömien kalojen suhde sama kuin merkinnässä. Lohella ja taimenella vastaavissa olosuhteissa polttoarvet olivat jääneet osittain kutuasujen kalojen paksun pintaihon alle piiloon (Saura 1999). Kuhan polttomerkintäkokeissa merkit näkyvät hyvin koko kalan eliniän (Saura 1995).

4.5. Aineiston kerääminen

Polttomerkittyjen kalojen kerääminen luonnosta vaatii aina näytepyynnin järjestämistä ja näytteenkerääjien harjaannuttamista merkkien tunnistamiseen. Esimerkiksi populaatiokokojen arvioimiseen täytyy tietää, kuinka suuri merkintämäärä ja näytemäärä tarvitaan haluttuun tarkkuuteen pääsemiseksi.

4.6. Ongelmat

Huolellisesti em. ohjeita ja veden lämpötiloja noudattamalla polttomerkintä ei aiheuta kuolevuutta eikä vaikuta merkittyjen kalojen kasvuun (Saura 1993). Liian lämpimässä vedessä tehty poltto jälki saattaa tulehtua, mikä yleensä johtaa kirjainkoodin katoamiseen ja arpimuodostumien voimistumiseen. Pahimmassa tapauksessa kala voi kuolla tulehdukseen. Kun arpimuodostuma on syntynyt, se pysyy kalalla koko sen eliniän ja kasvaa kalan mukana. Ongelmia merkin tulkinnassa saattavat tuottaa muut

kalan saamat arvet. Niitä voivat aiheuttaa kalanpyydykset (verkot, koukut, atraimet), petokalat tai muut pedot ja vahingoittumiset esimerkiksi kututapahtumassa.

4.7. Merkinnän kustannukset ja merkintänopeus

Kuumapolttomerkintälaite maksaa alle 1000 mk. Hehkulankaa kuluu niin vähän, että se ei käytännössä aiheuta kustannuksia. Suurin merkinnän aiheuttama kustannus on työvoimakustannus. Polttomerkintä on kuitenkin kohtalaisen nopea menetelmä, millä yksi henkilö pystyy merkitsemään 500-1000 kalaa tunnissa.

4.8. Käytön rajoitukset

Polttomerkintä on koe-eläinluvan varaista toimintaa, joka on luokiteltu 2-luokan eläinkokeiksi. Kuumapolttomerkintä on riippuvainen myös sähkövirrasta ja kylmäpoltto nestetypestä, jonka säiliöiden kuljetus ja säilytys maastossa saattaa olla hankalaa tai jopa vaarallista.

Kirjallisuus

- Abrahamsson, S. 1965. A method of marking crayfish *Astacus astacus* L. in population studies. *Oikos* 16, p. 228-231
- Bennet, D. B. and Lovewell, S. R. J. 1983. Lobster (*Homarus gammarus* (L.)) tagging trials in England. *Fish. Res. Tech. Rep. Dir. Fish. Res.* 71, 10 p.
- Berge, G. M. 1990. Freeze branding of Atlantic halibut. *Aqua-culture*. 89(3-4), p. 383-386.
- Bourgeois, C. E., O'Connell, M. F. and Scott, D. C. 1987. Cold-branding and fin-clipping Atlantic salmon smolts on the Exploits River, Newfoundland. *N. Am. J. Fish. Manage.* 7(1), p. 154-156.
- Bouvet, Y. and Quost-Cristau, I. 1985. The use of cold branding in freshwater fish study. *Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon.* 54(7), p. 170-192.
- Brock, J. A. and Farrell, R. K. 1977. Freeze and laser marking of channel catfish. *Prog. Fish-Cult.* 39(3), p. 138.
- Busack, C. 1985. A simplified cold-branding apparatus. *Prog. Fish-Cult.* 47(2), p. 127-128.
- Buss, K. 1953. A method for marking trout by branding. *Pa. Fish. Comm. Prog. Rep.* Harrisburg, Pa. 4 p.
- Coggan, R. A. and P. R. Dando. 1988. Movements of juvenile dover sole, *Solea solea* (L.), in the Tamar estuary, south-western England. *J. Fish Biol.*; 33(Suppl. A):177-184. FR 34(1)
- Dellinger, T. and Hegel, G. von 1990. Sex identification through cloacal probing in juvenile marine iguanas (*Amblyrhynchus cristatus*). *J. Herpetol.* 24(4), p. 424-426.
- Everest, F. H. and Edmundson, E. H. 1967. Cold branding for field use in marking juvenile salmonids. *Prog. fish-Cult.* 29, p. 175-176.

- Fletcher, W. J., Fielder, D. R. and Brown, I. W. 1989. Comparison of freeze- and heat-branding techniques to mark the coconut crab (*Birgus latro*, Crustacea, Anomura). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 127(3), p. 245-251.
- Fujihara, M. P. and Nagatani, R. E. 1967. Cold and mild heat marking of fish. *Prog. Fish-Cult.* 29, p. 172-174.
- Hammond, P. S. 1990. Capturing whales on film - estimating cetacean population parameters from individual recognition data. *Mamm. Rev.* 20(1), p. 17-22.
- Hargreaves, N. B. 1992. An electronic Hot-branding device for marking fish. *Prog. Fish-Cult.* 54, p. 99-104.
- Herbinger, C. M., Newkirk, G. F. and Lanes, S. T. 1990. Individual marking of Atlantic salmon: Evaluation of cold branding and jet injection of Alcian Blue in several fin locations. *J. Fish. Biol.* 36(1), p. 99-101.
- Hert, E. 1989. The function of egg-spots in an African mouth-brooding cichlid fish. *Animal behaviour*. London; vol. 37, no. 5, pp. 726-732
- Hindell, M. A. and Little, G. J. 1988. Longevity, fertility and philopatry of two female southern elephant seals (*Miro-unga leonina*) at Macquarie Island. *Mar. Mamm. Sci.* 4(2), p. 168-171.
- Joerstad, K.E., Leroey, R., Ervik, A., Farestveit, E., Egidius, E. and Gjerde, J. 1990. Ranking of salmon sib groups under different environmental conditions and disease incidence. *Aquaculture*. Amsterdam; vol. 85, no. 1-4, p. 322.
- Johnson, D. E. and Fields, P. E. 1959. The effectiveness of an electric-hot wire branding technique for marking steel-head fingerling trout. University of Washington College of Fisheries Technical report No 47. 4 p.
- LaJeune, L. J. and Bergerhouse, D. L. 1991. A liquid nitrogen freeze-branding apparatus for marking fingerling Wall-eyes. *Prog. Fish-Cult.* 53(2), p. 130-133.
- Laurent, P. J. 1982. Results obtained after release of tagged chars in Lemna Lake. *Bull. Fr. Piscic.* 285, p. 210-220.
- McCutcheon, C. S. and Giorgi, A. E. 1989. Assessment of freeze brand and PIT tag recovery data at McNary Dam: Annual report, 1987. Rep. U. S. Dep. Energy. 64 p.
- McCutcheon, C. S. and Giorgi, A. E. 1990. Assessment of freeze brand and PIT tag recovery data for juvenile salmonids at McNary Dam: Annual report, 1990. Rep. U. S. Dep. Energy. 28 p.
- Moore, A. 1986. Branding - an improvement in catfish stock. *Farm. Pond. Harvest.* 20(1), 16 p.
- Morris, M.R., Mussel, M., Ryan, M.J. 1995. *BEHAV. ECOL*; vol. 6, no. 3, pp. 274-279; 1995 ISSN: 1045-2249.
- Murray, C. B. and Beacham, T. D. 1990. Marking juvenile pink and chum salmon with hot brands in the form of a binary code. *Prog. Fish-cult.* 52(2), p. 122-124.
- Myers, J. M. and Iwamoto, R. N. 1986. Evaluation of thermal and chemical marking techniques for tilapia. *Prog. Fish-Cult.* 48(4), p. 288-289.
- North, E. 1983. Relationships between stocking and anglers' catches in Draycote Water trout fishery. *Fish. Manage*; vol. 14, no. 4, pp. 187-198.
- Rossi, A., Carrieri, A., Franzoi, P. and Teatini, L. 1983. Preliminary results on homing ability of yellow eels (*Anguilla anguilla* L.) in a delta area. *Quad. Ist. Idrobiol. Acquacolt.* "G. Brunelli"; vol. 3, no. 2, pp. 73-80.

- Rossi, R., Bianchini, M., Carrieri, A. and Franzoi, P. 1987. Observations on movements of yellow eels, *Anguilla anguilla* L., after displacement from coastal waters to sea. *Journal of fish biology*. London, New York NY; vol. 31, no. 2, pp. 155-164.
- Rossi, R., A. Carrieri, P. Franzoi and Bianchini, M. 1986. Freeze-branding in population assessment of the eel *Anguilla anguilla* (L.). *Oebalia*; 13:15-25. 1986. In English with Italian summ. FR 32(2).
- Saura, A. 1986. Polttomerkinnän käyttö meritaimenen (*Salmo trutta m. trutta*) jokipoikasten kotipaikkauskollisuuden selvittämisessä. *Suomen Kalastuslehti*. 7, s. 327-330.
- Saura, A. 1993. Polttomerkinnän soveltuvuus yksikesäisten kalanpoikasten merkintään. *Kalatutkimuksia - Fiskundersökningar*. RKTL. Nro 63, 38 s.
- Saura, A. 1996. Use of hot branding in marking juvenile pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). *Ann. Zool. Fennici* 33:617-620).
- Saura, A. 1999. Polttomerkkien pysyvyys yksikesäisinä merkityillä, emokaloksi kasvatetuilla kaloilla. (käsikirjoitus).
- Sorensen, P. W., Bianchini, M. and Winn, H. E. 1983. Individually marking American eels by freeze branding. *Prog. Fish-Cult.* 45(1), p. 62-63.
- Svasand, T. 1990. Cod enhancement experiments in Norway. *Proceedings of Canada-Norway Finfish Aquaculture Workshop*, September 11-14, 1989. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 1761. p. 143-151.
- Tanaka, S., Takao, K. and Kato, N. 1987. Tagging techniques for bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi/Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 53(8), p 1317-1325.
- Wilkin, P. J. and Scofield, A. M. 1991. The structure of natural population of the medical leech, *Hirudo medicinalis*, at Dungeness, Kent. *Freshwat. Biol.* 25(3), p. 539-546.

5. Eväleikkaus

TEUVO NIVA

RKTL/Oulun riistan- ja kalantutkimus

5.1. Historia ja menetelmän kuvaus

Nielsen (1992) erottaa käsitteellisesti toisistaan kalaan ulkoisesti kiinnitettävät merkit (external tags) muista kalaan tehtävistä, ulkoisesti havaittavista merkeistä (external marks). Jälkimmäinen ryhmä käsittää Nielsenin luokittelussa eväleikkauksen, polttomerkinnän ja pigmenttimerkinnän. Eväleikkauksia on tehty 1820-luvulta lähtien, ja se on nykyisinkin hyvin yleistä erilaisissa lyhytaikaisseurannoissa. Pitkäaikaistutkimuksissa on viime vuosikymmeninä paljolti siirrytty kuonomerkintään sen tarjoaman runsaan koodivalikoiman ja kuonomerkkien ikuisen luettavuuden takia (Childerhose & Trim 1979, Nielsen 1992).

Eväleikkaus on yksinkertaista. Se tehdään yleensä (käyrillä) saksilla tai sivuleikkureilla (esim. ahvenkalojen vatsaevien poistoon). Saksien tulee olla niin suuret, että evä voidaan leikata yhdellä liikkeellä. Tätä tulee testata muutamalla kuolleella kalalla ennen merkinnän aloittamista. Yleensä ei tarvita nukutusta (Nicola & Cordova 1973). Kala tulisi pitää veden alla leikkauksen aikana, jos mahdollista. Voimakkaassa valossa kalojen silmät tulisi peittää. Eväleikkauksen aiheuttama stressi ei poikkea normaalien kalanviljelyrutiinien tai esim. kuonomerkinnän aiheuttamasta stressistä (Sharpe et al. 1988).

Eväleikkauksessa poistetaan evä kokonaan tai osittain. Kokonaan leikattu evä ei yleensä regeneroidu täydellisesti, joten tämä merkintä säilyy havaittavana koko kalan eliniän. Osittaisessa eväleikkauksessa pyritään leikkaamaan selvimmin ulkoneva kärki evästä pois (Eipper & Forney 1965). Osittain leikattu evä yleensä regeneroituu (McNeil & Crossman 1979, Coombs et al. 1990), josta syystä osittaista leikkausta on käytetty lyhytaikaisseurannoissa. Osittaisessa eväleikkauksessa evä voidaan rei'ittää tai viilellä (Wydoski & Emery 1983), jolloin voi syntyä yksilöllisiä arpia eviin (Welch & Mills 1981). Osittain leikattu evä voi regeneroitua täydellisesti muutamassa kuukaudessa (Churchill 1963). Leikattujen evien haavaumat paranevat yleensä ilman erityisiä hoitotoimenpiteitä, joskin haavoja on myös arpeutettu kylmäpoltolla (Boxrucker 1982, Bourgeois et al. 1987). Kokenut eväleikkaaja voi leikata satoja eviä tunnissa.

5.2. Yleisimmät käyttötarkoitukset

Emery ja Wydoski (1987) listaavat kaikkiaan 246 hydrobiologista tutkimusta, joissa oli hyödynnetty ulkoisia merkkejä. Niistä 162:ssa (66%) oli käytetty eväleikkausta. Eväleikkauksen tärkein käyttöalue on ollut erottaa eri kalakantoja tai -ryhmiä toisistaan, esimerkiksi erottaa populaatiosta viljelty istukkaat luonnonlisäntymisestä peräisin olevista kalayksilöistä (esim. Hesthagen et al. 1999). Myös villien kalojen

populaation koon arviointiin sitä on käytetty (Forney 1967, Peterson & Cederholm 1984, Hvidsten & Ugedal 1991).

Eväleikkausta on käytetty erilaisissa lyhytaikaisseurannoissa, kuten kalan vaellusten ja liikkeiden tutkimisessa (Svenning & Grotnes 1991, Hesthagen & Hegge 1992, Bridcut & Giller 1993, Erkinaro & Gibson 1997) tai esim. uistinten koukuista aiheutuvan kuolevuuden tutkimisessa (Persons & Hirsch 1994). Ulkoisten merkkien edullisuus ja merkinnän nopeus tekevät niistä lähes ideaalisen menetelmän tällaisiin tarkoituksiin (Laufle *et al.* 1990). Eväleikkausta on myös käytetty kasvu- ja ikämääritysten kontrollimenetelmänä (Faragher 1992).

5.2.1. Lajit

Eväleikkaus soveltuu käytännössä kaikille kalalajeille. Eniten tutkimuksia, joissa on hyödynnetty eväleikkausta, on tehty lohikaloilla, aurinkoahvenilla ja ahvenkaloilla (esim. Coble 1967). Rasvaeväleikkausta on käytetty yleisesti sekundäärisenä merkinä kuonomerkintöjen yhteydessä, eli poistamalla rasvaevä voidaan kuonomerkitty kala tunnistaa ulkoisesti näytteitä kerätettäessä (esim. Youngson *et al.* 1994).

5.2.2. Koodien määrä

Eväleikkauksella saavutettavien koodien määrä riippuu siitä, mitä eviä leikataan, leikataanko evä kokonaan vai osittain ja leikataanko useampia eviä kerrallaan (katso luku 4). Vatsaevät ja rasvaevä muodostavat useissa tutkimuksissa koodien rungon. Esimerkiksi Forney ryhmineen tutki Oneida-järven valkosilmäkuhakantoja yli 20 vuotta pelkästään vatsaeväleikkauksin (Nielsen 1992).

5.3. Aineiston kerääminen ja käsittely

Eväleikkaus on ulkoisesti havaittava merkki, jonka koodi voidaan lukea ja tallentaa kalaa tappamatta. Toisin sanoen varsinaisia kalanäytteitä ei ole välttämätöntä kerätä merkintädatan saamiseksi.

5.4. Ongelmat

5.4.1. Koodien määrä

Merkittävin eväleikkauksen ongelma on koodivalikoiman suppeus (esim. Bryant *et al.* 1990). Pitkäikäisillä kaloilla aikaisemmin tehtyt eväleikkaukset rajoittavat samoilla kalayksilöillä myöhemmin tehtäviä merkintöjä eväleikkaamalla (Nielsen 1992). Ei-merkittyjä kaloja voidaan tulkita eväleikatuiksi koska eviä silpoutuu myös luontaisesti, esimerkiksi predaation ja muun aggressiivisen käytöksen seurauksena: Blankenship (1990) havaitsi, että noin 2 % viljellyistä hopealohista (*O. kisutch*) menetti rasvaevänsä.

5.4.2. Kasvu ja kuolleisuus

Yleensä eväleikkaus ei vaikuta kalojen kasvuun (esim. Brynildson & Brynildson 1967, Haines & Modde 1996), varsinkaan osittaisessa leikkauksessa, jossa evät regeneroituvat nopeasti. Eväleikattujen kalojen kuolevuus vaihtelee voimakkaasti. Osittain tämä voi johtua muusta kalan käsittelystä eväleikkauksen yhteydessä kuten lypsämisestä tai mahanäytteiden ottamisesta (Nielsen 1992). Merkintäkuolevuuden on havaittu olevan korkeinta lohikaloilla, keskimääräistä aurinkoahvenilla ja pienintä ahvenkaloilla, ja pienillä kaloilla kuolevuus on suurempaa kuin suurilla. Coblen (1967) mukaan erityisesti alle 90 mm:n pituiset kalat ovat herkkiä merkintäkuolevuudelle. Tämä havainto ei saa tukea Hainesin ja Modden (1996) tutkimuksesta, jossa he havaitsivat vain 14 % kuolevuuden 142 päivän aikana 50 mm:n pituisilla särkikaloilla (*Ptychocheilus lucius*). Myöskään pienillä (80 mm) nahkiaisilla ei havaittu kohonnutta merkintäkuolevuutta kun verrattiin eväleikkausta ja injektoituja pigmenttejä (Swink *et al.* 1995). Kuolevuus on korkeampaa niillä kaloilla, joilta on leikattu selkäevä(t) tai rintaevä(t), kuin niillä joilla on leikattu rasvaevä tai vatsaevä(t) (Coble 1971, Nicola & Cordova 1973, McNeil & Crossman 1979, Vincent-Lang 1993). Useamman kuin yhden evän leikkaaminen kerralla voi nostaa kuolevuutta (Mears & Hatch 1976), minkä takia tulisi pyrkiä suunnittelemaan merkintä siten, että riittävä määrä koodeja saadaan yhden evän tai eväparin erilaisilla leikkauksilla (Nielsen 1992).

On myös huomioitava onko merkittävä laji tai kanta urheilukalastuksen kohteena: ihmiset eivät halua saada saaliikseen epämuodostuneita yksilöitä, joiksi myös eväleikatut kalat helposti mielletään. Tällaisissa tapauksissa eväleikkaukset tulisi tehdä niin huomaamattomasti kuin mahdollista ja niin pieneen määrään kaloja kuin mahdollista ja lisäksi merkinnästä tulisi tiedottaa kalastajille väärinkäsitysten välttämiseksi (Nielsen 1992).

5.4.3. Merkin pysyvyys

Eväleikattu kala ei ole niin yksiselitteisesti tulkittavissa merkityksi kuin esimerkiksi ulkoisilla ankkurimerkeillä merkityt yksilöt (Johnsen & Ugedal 1988). Osittain eväleikattujen kalojen evät voivat olla regeneroitumisen takia hyvin vaikeita tulkita. Tämä on merkittävä ongelma ja se aiheuttaa aliarvion merkittyjen kalojen osuudesta populaatiosta (Faragher 1992). Esimerkiksi koloradolaisilla särkikaloilla oli merkkien luettavuus (pysyvyys) mustetatuointia käytettäessä 26 %, eväleikatuilla kaloilla 34 %, mutta elastisia polymeereja käytettäessä se oli 85 % (Haines & Modde 1996).

5.5. Merkinnän kustannukset

Eväleikkauksen kustannukset koostuvat käytännössä ainoastaan työvoimakustannuksista.

5.6. Käytön rajoitukset

Maa- ja metsätalousministeriön mukaan (Niina Menna, suullinen keskustelu) eväleikkaukseen ei ole vireillä käytön rajoituksia viranomaisten taholta. Myöskään RKTL:n eläinsuojelutoimikunta (Tapani Pakarinen ja Lena Söderholm-Tana,

suullinen keskustelu) ei ole tietoinen, että eväleikkausta oltaisiin rajoittamassa Suomessa.

Kirjallisuus

- Blankenship H.L. 1990. Effects of time and fish size on coded wire tagg loss from chinook and coho salmon. American Fisheries Society Symposium 7: 237–243
- Bourgeois, C.E., O'Connell, M.F. & Scott D.C. 1987. Cold-branding and fin-clipping Atlantic salmon smolts on the Exploits River, Newfoundland. North American Journal of Fisheries Management 7: 154–156.
- Boxrucker, J.C. 1982. Mass marking of fingerlings largemouth bass by fin-clipping followed by freeze-cauterization of the wound. N. Am. J. Fish. Mgmt. 2: 94–96.
- Bridcut, E.E. & Giller, P.S. 1993. Movement and site fidelity in young brown trout *Salmo trutta* populations in a southern Irish stream. J. Fish. Biol. 43: 889–899.
- Bryant, M.D., Dollloff, C.A., Porter, P.E. & Wright, B.E. 1990. Freeze branding with CO₂: an effective and easy-to-use field method to mark fish. Am. Fish. Soc. Symp. 7: 30–35.
- Brynildson, O.M. & Brynildson, C.L. 1967. The effect of pectoral and ventral fin removal on survival and growth of wild brown trout in a Wisconsin stream. Trans. Am. Fish. Soc. 96: 353–355.
- Childerhose, R.J. & Trim, M. 1979. Pacific Salmon & Steelhead Trout. Douglas & McIntyre Ltd., Vancouver. 158 pp.
- Churchill, W.S. 1963. The effect of fin removal on survival, growth, and vulnerability to capture of stocked walleye fingerlings. Trans. Am. Fish. Soc. 92: 298–300.
- Coble, D.W. 1967. Effects of fin-clipping on mortality and growth of yellow perch with a review of similar investigations. Journal of Wildlife Management 31: 173–180.
- Coble, D.W. 1971. Effects of fin clipping and other factors on survival and growth of smallmouth bass. Trans. Am. Fish. Soc. 100: 460–473.
- Coombs, K.A., Bailey, J.K., Herbinger, C.M. & Friars, G.W. 1990. Evaluation of various external marking techniques for Atlantic salmon. Am. Fish. Soc. Symp. 7: 142–146.
- Eipper, A.W. & Forney, J.L. 1965. Evaluation of partial fin clips for marking largemouth bass, walleyes and rainbow trout. New York Fish and Game Journal 12: 233–240.
- Emery, L. & Wydoski, R. 1987. Marking and tagging of aquatic animals: an indexed bibliography. U.S. Fish and Wildlife Service Resource Publication 165.
- Erkinaro, J. & Gibson, R.J. 1997. Interhabitat migration of juvenile Atlantic salmon in a Newfoundland river system, Canada. J. Fish. Biol. 51: 373–388.
- Faragher, R.A. 1992. Growth and age validation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Lake Eucumbene, New South Wales. Aust. J. Mar. Freshwater Res. 43: 1033–1042.
- Forney, J.L. 1967. Estimates of biomass and mortality rates in a walleye population. New York Fish and Game Journal 14: 176–192.

- Haines, G.B. & Modde, T. 1996. Evaluation of marking techniques to estimate population size and first-year survival of Colorado squawfish. *N. Am. J. Fish. Mgmt.* 16: 905–912.
- Hesthagen, T. & Hegge, O. 1992. Stranding of pond- and hatchery-reared juvenile brown trout, *Salmo trutta* L., during draw-down of a pond. *Aquaculture and Fisheries Management* 23: 399–403.
- Hesthagen, T., Fløystad, L., Hegge, O., Staurnes, M. & Skurdal J. 1999. Comparative life-history characteristics of native and hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta* L., in a sub-Alpine river. *Fish. Mgmt. Ecol.* 6: 47–61.
- Hvidsten, N.A. & Ugedal, O. 1991. Increased densities of Atlantic salmon smolts in the River Orkla, Norway, after regulation for hydropower production. *Am. Fish. Soc. Symp.* 10: 219–225.
- Johnsen, B.O. & Ugedal, O. 1988. Effects of different kinds of fin-clipping on overwinter survival and growth of fingerling brown trout, *Salmo trutta* L., stocked in small streams in Norway. *Aquaculture and Fisheries Management* 19: 305–311.
- Laufle, J.C. Johnson, L. & Monk, C.L. 1990. Tattoo-ink marking method for batch-identification of fish. *Am. Fish. Symp. Soc.* 7: 38–41.
- McNeil, F.I. & Crossman, E.J. 1979. Fin clips in the evaluation of stocking programs for muskellunge, *Esox masquinongy*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 108: 335–343.
- Mears, H.C. & Hatch, R.W. 1976. Overwinter survival of fingerling brook trout with single and multiple fin clips. *Trans. Am. Fish. Soc.* 105: 669–674.
- Nicola, S.J. & Cordova, A.J. 1973. Effects of fin removal on survival and growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in a natural environment. *Trans. Am. Fish. Soc.* 102: 753–758.
- Nielsen, L.A. 1992. Methods of marking fish and shellfish. *Am. Fish. Soc. Spec. Publ.* 23. Bethesda, USA, 208 pp.
- Persons, S.E. & Hirsch, S.A. 1994. Hooking mortality of lake trout angled through ice by jigging and set-lining. *N. Am. J. Fish. Mgmt.* 14: 664–668.
- Peterson, N.P. & Cederholm, C.J. 1984. A comparison of the removal and mark-recapture methods of population estimation for juvenile coho salmon in a small stream. *N. Am. J. Fish. Mgmt.* 4: 99–102.
- Sharpe, C.S., Thompson, D.A., Blankenship, H.L. & Schreck, C.B. 1988. Effects of routine handling and tagging procedures on physiological stress in juvenile chinook salmon. *Progressive Fish Culturist* 60: 81–87.
- Svenning, M-A. & Grotnes, P. 1991. Stationarity and homing ability of landlocked Arctic charr. *Nordic. J. Freshw. Res.* 66: 36–43.
- Swink, W.D., Morkert, S.B. & Slaght, K.S. 1995. Comparison of mark retention and survival of sea lamprey larvae marked by pigment injection and tail clipping. Technical Report. Great Lakes Fishery Commission 61. 7 pp.
- Welch, H.E. & Mills, K.H. 1981. Marking fish by scarring soft fin rays. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 1168–1170.
- Vincent-Lang, D. 1993. Relative survival of unmarked and fin-clipped coho salmon from Bear Lake, Alaska. *Progressive Fish-Culturist* 55: 141–148.
- Wydoski, R. & Emery, L. 1983. Tagging and marking. Teoksessa: Nielsen, L.A. & Johnson, D.L. (toim.) *Fisheries techniques*. Am. Fish. Soc. Bethesda, USA. Pp. 215–237.

Youngson, A.F., Jordan, W.C. & Hay, D.W. 1994. Homing of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) to a tributary spawning stream in a major river catchment. *Aquaculture* 121: 259–267.

6. Kuonomerkintä

TEUVO NIVA

RKTL/Oulun riistan- ja kalantutkimus

6.1. Historia ja menetelmän kuvaus

Jefferts *et al.* kuvasivat vuonna 1963 menetelmän merkitä makro-organismeja niiden sisälle injektoitavilla ferromagneettisilla teräslangan pätkillä, joita he kutsuivat myöhemmin 'implanted coded wire fish tag' -merkeiksi (Bergman *et al.* 1968). Merkistä on käytetty myös lyhennettä 'CWT' tai synonyymia 'micro tag', ja suomen kielessä yleisimmin käytetty termi on ollut kuonomerkki, jota myös tässä tekstissä käytetään. Kuonomerkin biologisesti (*sensu* Laird & Stott 1978) merkittävin etu verrattuna sen aikaisiin ja myöhempiinkin 'fyysisiin' merkkeihin on sen tavattoman pieni koko: pituus 1,1 mm ja läpimitta 0,25 mm. Koska tämän lisäksi kuonomerkki valmistetaan tyypin 302 ruostumattomasta teräslangasta, jonka aiheuttamat histologiset muutokset eläinten kudoksissa ovat hyvin vähäisiä (Bergman *et al.* 1968, Fletcher *et al.* 1987, Bordner *et al.* 1990), se ei vaikuta kalojen kasvuun, kuolevuuteen, käyttäytymiseen eikä pyydystettävyyteen (Nielsen 1992). Toinen kuonomerkin keskeinen ominaisuus on se, että merkki pysyy kalassa sen kuolemaan saakka ja että sen koodi on luettavissa ja itse merkki on arkistoitavissa käytännössä ikuisesti.

Lohikaloilla kuonomerkki injektoidaan yleensä kalan kuonoon, mutta muilla kalaheimoilla voi sovelia in merkintäkohta sijaita muissa ruumiinosissa (Buckley *et al.* 1994), kuten poskilihaksessa (Fletcher *et al.* 1987, Ingram 1993), tai muualla kalan ruumiissa (Winters 1977a, Bergstedt *et al.* 1993). Tietyillä kalalajeilla kuonomerkintä on osoittautunut merkkien pysyvyyden suhteen ainoaksi toimivaksi menetelmäksi (Russell & Hales 1992). Kuonomerkintä on Northwest Marine Technology Inc. (NMT)-yhtiön patentoima menetelmä.

Suurissa massamerkinnoissä käytetään yleisimmin kiinteää, jaloilla seisovaa merkintälaitteistoa, joka on kaikkienensa noin 40 cm leveä ja 130 cm pitkä (kts. Nielsen 1992, s. 97). Laitteisto koostuu injektointi- ja tarkastusyksiköstä. Injektointiyksikkö, jonka nykyinen tyyppinimi on 'Mark IV Tag Injector', katkoo merkintälangan (merkintälanka on pakattu pienelle puolalle, jolle mahtuu noin 10 000 merkkiä), jonka jälkeen merkki ohjautuu merkintäneulaan, jonka kärki sijaitsee ns. kuonumuotin pohjalla. Kuonumuotti muotoillaan käsityönä esim. proteesimassasta sopivaksi merkinnän kohteena oleville kaloille, ja muotin pienilläkin muotoilueroilla on havaittu olevan vaikutusta merkkien pysyvyyteen (Ostergaard 1982). Merkittävän kalan pää (tai se ruumiinosa, johon merkki injektoidaan) työnnetään muottiin kiinni, jonka jälkeen merkintäneula (ja sen sisällä oleva merkki) injektoidaan puoliautomaattisesti kalan sisään. Tämän jälkeen merkitty kala liu'utetaan tarkastusyksikön läpi, jossa merkki ensin magnetoituu. Sen jälkeen laite laskee sen läpi menneet merkityt kalat sekä erottelee merkittömät yksilöt. Kiinteä laitteisto vaatii jonkinlaisen sadesuojan sekä sähköä toimiakseen. Merkintäryhmään kuuluu minimissään merkkäaja ja kalojen nukuttaja, mutta pyrittäessä maksimaaliseen merkintänopeuteen, ryhmässä tulisi olla myös kaksi kalojen kuljetuksesta

merkintäpaikan ja kasvatusaltaiden välillä huolehtivaa henkilöä. Tällöin yhdellä laitteella voidaan merkitä noin 5000 kalaa päivässä. 1990-luvun lopulla NMT on kehittänyt automaattisen merkintäyksikön, jolla on jo pystytty merkitsemään yli 30 000 kalaa päivässä, ja merkintänopeuden uskotaan vielä nousevan laitteiston kehittyessä (L. Blankenship, suullinen keskustelu). Maastossa (luonnonkaloille) tehtäviä merkintöjä varten on olemassa käsikäyttöinen ja kevyt pistoolinmallinen injektointilaitte, jota käytettäessä maksimaalinen merkintänopeus on n. 50 % kiinteää yksikköä alempi. Tällä merkintälaitteella kuonomerkkejä voidaan injektoida eri puolille kalaa, jolloin merkin sijaintia voidaan käyttää koodina (Peterson & Key 1992, Oven & Blankenship 1993). Tällöin detektoitavista kaloista merkin sijaintiin perustuva 'koodi' voidaan lukea kalaa tappamatta (jonka lisäksi ovat käytössä normaalit kuonomerkkikoodit). Merkkien etsintää varten on olemassa useita erilaisia detektoreja, jotka perustuvat merkkien magneettisuuteen. Laboratoriossa käytetään pöytämallista detektoria, jota voidaan rajoitetusti käyttää myös maastossa. Kun joudutaan detektoimaan suuria kalamääriä esimerkiksi satamissa tai kalastusaluksissa, voidaan käyttää hihnadetektoria, joka automaattisesti erottelee merkityt kalat (Morrison 1990). Varsinaisiin maastodetektointeihin on olemassa ns. sauvadetektori, joka pystyy erottamaan merkin sijainnin n. 20 mm tarkkuudella. Yksi henkilö pystyy normaaleissa laboratorio-olosuhteissa etsimään merkin kalan sisästä ja lukemaan merkkikoodin noin 200 kalasta yhdessä työpäivässä, jolloin noin 1 % koodeista luetaan väärin (Elrod & Schneider 1986).

6.2. Yleisimmät käyttötarkoitukset

Kuonomerkkiä on käytetty erilaisissa istutustutkimuksissa (Bilton *et al.* 1992, Green & Macdonald 1987, Geiger 1990, Bernard *et al.* 1998), joissa halutaan verrata esimerkiksi iältään (Niva 1999), kooltaan (Leber 1995, Minkinen *et al.* 1995, Willis *et al.* 1995), perimältään (Bartley *et al.* 1995) tai viljelytaustaltaan erilaisten kalaryhmien kasvua ja kuolevuutta (Isaksson & Bergman 1978) sekä vaelluksia (Youngson *et al.* 1994, Leber *et al.* 1995) istutusvesistössä, sekä verrata viljeltyjä kaloja villeihin (Drawbridge *et al.* 1995, Kent *et al.* 1995, Leber *et al.* 1995). Kuonomerkintää on myös käytetty kalojen populaatiokoon estimoinnissa (Dempson & Stansbury 1991, Beukers *et al.* 1995, Hixon & Carr 1997, Isely & Tomasso 1998) sekä vaellusten tutkimisessa (Copeland & Noble 1994). Viljeltyjen Oncorhynchus-suvun lohikalojen istutusten tuloksellisuuden seurantaan kuonomerkintää on käytetty lähes ainoana merkintämenetelmänä USAn ja Kanadan länsirannikolla 1970-luvun lopulta lähtien. Esimerkiksi vuonna 1986 nämä maat CW-merkitsivät yhteensä 42 miljoonaa juveniilia kalaa (Buckley & Blankenship 1990), ja pelkästään Washingtonin osavaltiossa on 1990-luvulla CW-merkitty vuosittain noin 15 miljoonaa juveniilia Tyynenmeren lohta (L. Blankenship, suullinen keskustelu). Nielsen (1992) arvioi, että noin 400 miljoonaa kalaa (eläintä) on kuonomerkitty 1970-luvun puolivälin jälkeen.

6.2.1. Lajit

Kuonomerkintää on testattu tähän mennessä 24 kalaheimolla (Taulukko 1). Merkittävien kalojen minimikokona pidetään 0,25 gramman painoa (Thrower & Smoker 1984, Champigneulle *et al.* 1987) koska sitä pienemmillä kaloilla merkki voi joutua liian lähelle pään hermoratoja, josta voi aiheutua häiriöitä mm. kutuvaelluksen tarkkuuteen (Morrison & Zajac 1987, Peltz & Miller 1990, Habicht *et al.* 1998). Sen sijaan merkkien magneettisuuden ei ole havaittu vaikuttavaan esim. hopealohen

vaelluspoikasten uinnin suuntautumiseen (Quinn & Groot 1983). Alle 2 g painaville kaloille suositellaan puolitettua merkkiä (Blankenship 1990).

6.2.2. Koodien määrä

Standardimerkkiin (1,1 x 0,25 mm) on koodattu urittamalla kolme 6-bittistä datariviä, joiden yhteenlaskettu koodimäärä on 262 144 kappaletta. Yksi datarivi on varattu ns. maakoodiksi (kaikkiaan 64 kpl, Suomi = 31), joten kussakin maassa on käytettävissä 4096 koodia. Ns. sekventiaalisesti koodatut kuonomerkit sisältävät noin 40 miljoonaa koodia kunkin maakoodin sisällä, jolla päästään yksilölliseen tunnistukseen (jokaisessa lankarullassa on noin 16 400 erilaista koodia, kts. Unwin *et al.* 1997). Lisäksi valmistetaan puolta lyhyempää merkkiä (half-length tag), jossa 4-bittisiä koodirivejä on 6, minkä takia nämä merkit tarjoavat 16 maakoodia ja 32 768 koodia kunkin maan sisällä. Vuoden 2000 alusta lähtien kuonomerkkien koodaus vaihtuu binäärisestä desimaaliseen, jolloin esim. standardimerkkien maakoodien lukumäärä tulee olemaan 99 ja maakoodien sisällä on käytettävissä 10 000 merkkikoodia (entisten 4096 sijaan). Myös merkkien lukeminen tulee helpottumaan (D. Solomon, suullinen keskustelu).

6.3. Aineiston kerääminen ja käsittely

Koska kuonomerkkiä ei voi havaita ulkoisesti, on merkityiltä (lohi)kaloilta yleisesti leikattu rasvaevä merkkien etsimisen helpottamiseksi. Suomessa kuonomerkittyjen kalojen keruu saaliista ei koskaan ole perustunut yleisöpalautteeseen (josta aiheutuvaa virhettä ovat tarkastelleet mm. Green *et al.* 1983 ja Palermo 1990), vaan näytekaloja ovat keränneet erityiset 'näytekalastajat' tai niitä on etsitty kalakaupan eri vaiheista. Tämä on ollut yleinen käytäntö myös muualla maailmalla. Useimmiten kalanäyte käsittää kalan pään, sen pituus ja painotiedot, pyyntipäivän ja -välineen. Päänäytteet detektoidaan, merkit etsitään ja dekodataan laboratoriossa.

6.4. Ongelmat

6.4.1. Kuolevuus ja merkin pysyvyys

Kuonomerkin merkintähaava on hyvin pieni ja paranee nopeasti (Buckley & Blankenship 1990), mistä syystä merkintäkuolevuus on vähäistä (Heidinger & Cook 1988). Joillakin lajeilla kalat saattavat kuitenkin hangata merkintähaavaa altaiden seinämiin, jolloin merkkejä irtoaa paljon (Guy *et al.* 1996). Paras merkintäpaikka riippuu merkittävästä kalalajista, ja jos tätä ei ole tutkittu, on järjestettävä jonkinlainen koe ja seuranta ennen kuin päästään varsinaiseen merkintään (esim. Klar & Parker 1986). Merkkien irtoavuus on lohikaloilla alle 5 % ensimmäisen kuukauden aikana merkinnästä, jonka jälkeen merkkejä ei käytännössä irtoa (Bergman *et al.* 1968, Blankenship 1981, Elrod & Schneider 1986, Buckley & Blankenship 1990, Hale & Gray 1988). Sammilla merkintäsyvyyden tuli olla 4–5 mm, jotta saavutettiin vastaava pysyvyys (Bordner *et al.* 1990). Suomessa kuonomerkkien pysyvyys on ollut lohien jokipoikasilla ja smolteilla 1980-luvulla keskimäärin 97,0 % (S.D. $\pm$ 1,6) (Vittaniemi 1994) ja 1990-luvulla 2- ja 3-vuotiailla järvitaimenilla keskimäärin 97,8 % (S.D. $\pm$ 2,7) (Niva 1999). Basseilla kuonomerkkejä on havaittu irtoavan pitemmän

ajan kuluessa kuin lohikaloilla (Williamson 1987). Luonnosta merkittäväksi pyydetyillä kalalajeilla saattaa ilmetä korkeaa merkintäkuolevuutta, jos kaloja joudutaan säilyttämään liian kauan ennen merkintää (Winters 1977b).

Taulukko 1. Kalahcimot, joihin kuonomerkintämentelmää on testattu. K= kuono; B = ruumis; SE = selkäevä; M = merkintäkuolevuus. Taulukossa olevat tiedot ovat peräisin julkaisusta, jonka/joidenka numero on lihavoitu.

Heimo, <i>Suku</i>	Merkintäkuodos	Paino/pituus	Pysyvyys % (aika)	Huom.	Lähde
Myxinidae,					1
Petromyzonidae,					2
Acipenseridae,	K syvä/K matala/ selkäilpi	144/139/142 g	100/60 /100 (180 d)		3
Polyodontidae,					4, 5
Clupeidae, sillikalat	Bhorizontal/Bvertical	?	90 (10–180 d)	M 3–4 %	6, 7, 8
Engraulidae,					9
Cyprinidae,					10
Ictaluridae,					10
Esocidae, hauet					11
Galaxiidae, meltit					12
<i>Salmo</i>	K	95–195 g	98		13, 14
<i>Oncorhynchus</i>					15, 16, 17, 18
<i>Salvelinus</i>					19, 20
<i>Coregonus</i>					21, 22, 23
<i>Thymallus</i>					24
Scorpaenidae,	poskilihas	36–94 mm	100		25
Hexagrammidae,					43
Centropomidae,					26
Percichthyidae,	?	31–317 mm	> 90 (300 d)	detektointi (27)	27, 28, 29, 30, 35
Theraponidae,					28
Centrarchidae,					31, 10, 32
Percidae, ahvenet	K etu/K sivu/SE tyvi/S taka	10–95/8/11/11 g	51/62/99/86 (180 d)		10, 33, 38
Sciaenidae,	poskilihas	60–120 mm	95 (168 d)		37
Cichlidae,	K/SE taka/SE etu	7/7/7 g	93/88/94 (328 d)		38
Pomacentridae,	selkälihas	10–20/25–40 mm	100/90		39
Mugilidae, keltit	K viljelty/K villi	70–130 mm	98/99 (75 d)		40, 41
Pleuronectidae,					42

1 Nakamura 1991; 2 Bergstedt *et al.* 1993; 3 Bordiner *et al.* 1990; 4 Heinricher & Fiss 1996; 5 Guy *et al.* 1996; 6 Morrison 1990; 7 Richardson & Minikkinen 1995; 8 Isely & Tomasso 1998; 9 Leary & Murphy 1975; 10 Heidinger & Cook 1988; 11 Tipping & Heinricher 1993; 12 Crook & White 1995; 13 Isaksson & Bergman 1978; 14 O'Maolleidigh *et al.* 1994; 15 Quinn & Groot 1983; 16 Blankenship 1990; 17 Johnson 1990; 18 Blankenship & Tipping 1993; 19 Elrod & Schneider 1986; 20 Champigneulle *et al.* 1987; 21 Meng *et al.* 1986; 22 Salojärvi 1989; 23 Mavrakis & Yule 1998; 24 Buckley & Blankenship 1990; 25 Buckley *et al.* 1994; 26 Russell & Hales 1992; 27 Mattson *et al.* 1990; 28 Ingram 1993; 29 Andreasen 1995; 30 Minikkinen *et al.* 1995; 31 Fletcher *et al.* 1987; 32 Copeland & Noble 1994; 33 Peterson & Key 1992; 35 Drawbridge *et al.* 1995; 37 Willis *et al.* 1995; 38 Klar & Parker 1986; 39 Beukers *et al.* 1995; 40 Leber *et al.* 1995; 41 Leber 1995; 42 Sullivan *et al.*

6.4.2. Näytteiden keruu ja dokumentointi

Kuonomerkinnän suurimmat ongelmat liittyvät populaatiotason estimointeihin, kuten kuolevuus- ja saalisestimaatteihin (Geiger 1990, Palermo 1990, Bernard *et al.* 1998). Esimerkiksi yleisesti käytetty istutuserän tuottoestimaatti (saalis 1000 istukasta kohden) edellyttää, että A) merkkien pysyvyys tunnetaan ja että B) merkittyjen kalojen osuus istutetuista kaloista tunnetaan ja että C) niiden osuus kerätyistä näytteistä tunnetaan ja että D) näytteiden osuus kokonaissaaliista tunnetaan ja että E) kerättävät näytteet ovat ajallisesti, alueellisesti ja käytettyjen pyydysten suhteen edustava ja satunnainen otos. Kokonaissaaliin estimointiin liittyvät virheet voivat olla suuria mutta nämä virhelähteet ovat kuonomerkinnästä riippumattomia. Merkinnän virhelähteet liittyvät näytteiden keruuseen ja sen dokumentointiin (esim. Ahonen 1995). Jos kerätään vain rasvaeväleikattuja kaloja, on hyvin tärkeää pitää kirjaa millaisesta kokonaissaaliista kukin näyte-erä on peräisin. Minimissään tämä tarkoittaa lukumäärien kirjaamista (esim. 100 kalasta löytyi 10 rasvaeväleikattua kalaa), mutta mieluummin tulisi pyrkiä yksilöllisiin pituus- ja painomittauksiin kaikista saaliskaloista. Tämä ongelma voidaan poistaa keräämällä kaikista kaloista näytteet, jolloin myös rasvaeväleikkauksesta voidaan luopua. Tällöin kuitenkin keruun kustannukset nousevat, ellei samalla nosteta merkittyjen kalojen osuutta, jolloin myös niiden osuus näytteissä nousee, jolloin näytemäärää voidaan pienentää. Suomessa em. systeemiä on soveltanut Niva (1999), jolloin 93 % näytteistä oli merkittyjä. Kuonomerkinnän kustannukset riippuvat merkintämäärien ja näytteidenkeruun kustannuksista, joiden suhteet tulee arvioida tapauskohtaisesti.

Merkintämäärien virheellinen mitoitus voi olla ongelma tutkimuksen alkuvaiheessa. Näytteidenkerääjien tehokkuutta on vaikea ennakoida, ja usein teho on (aluksi) huonompi kuin oli arvioitu. Siksi näytteitä on usein saatu liian vähän. Tätä ongelmaa voidaan vähentää kahdella tavalla: aloitetaan näytteiden keruu aikaisemmin kuin varsinainen merkintäistutus, ja/tai merkitään ensimmäisenä vuotena enemmän kaloja. Jos vuosittain kertyvää näyteaineistoa ei dekoddata ja analysoida välittömästi (vaan työ tehdään muutaman vuoden välein) ei voida tunnistaa näytteiden keruussa olevia ongelmia, kuten liian pientä näytemäärää tai alueellista yms. epäedustavutta.

Myös merkkien detektoinnissa on havaittu ongelmia: 7,7 % kuonomerkityistä juovabasseista ei havaittu detektoinnissa, ja 3,4 % merkittömistä kaloista luultiin merkityiksi kalossa olleiden metallikappaleiden kuten koukkujen takia (Mattson *et al.* 1990). Saman kaltaisia ongelmia on havaittu myös Suomessa 1990-luvulla (Ahonen 1997). Tämä ilmeisesti johtuu epätäydellisestä merkkien magnetoitumisesta, jolloin detektori ei tunnista merkittyä kalaa. Tämä ongelma on onneksi helppo ratkaista: kaikki detektoitavat näytteet magnetoidaan laboratoriossa ennen detektointia.

6.5. Merkinnän kustannukset

Kuonomerkinnän ja merkkien detektoinnin ja dekodauksen materiaali ja työ kustannukset ovat noin 4 markkaa merkityltä kalalta. Kokonaiskustannukset kuitenkin määräytyvät ostettavien näytteiden hinnan mukaan sekä sen mukaan kuinka suuri osa ostetuista näytteistä on merkittyjä. Jos kaikki näytteet ovat merkittyjä on merkinnän kokonaiskustannus näytettä kohden: näytteen hinta + 4 mk. Jos esimerkiksi yksi näyte kymmenestä on merkitty, on vastaava kokonaiskustannus kutakin merkittyä kalaa kohden: (näytteen hinta x 10) + 4 mk.

6.6. Käytön rajoitukset

Maa- ja metsätalousministeriön mukaan (Niina Menna, suullinen keskustelu) kuonomerkintään ei ole vireillä käytön rajoituksia viranomaisten taholta. Myöskään RKTL:n eläinsuojelutoimikunta (Tapani Pakarinen ja Lena Söderholm-Tana, suullinen keskustelu) ei ole tietoinen, että kuonomerkintää oltaisiin rajoittamassa Suomessa.

Kirjallisuus

- Ahonen, M. 1995. Inarijärven järvitaimenten kuonomerkintöjen tulokset. Kala- ja riistaraportteja nro 29. 29 s. + 1 liite.
- Ahonen, M. 1997. Kuonomerkintä. Monisteessa: Kalamerkinän workshop (Lindström, R. & Pakarinen, T., toim.). Riistan- ja kalantutkimus, Helsinki. 21 s. + 6 liitettä
- Andreasen, L.L. 1995. Predation and cannibalism on hatchery-reared striped bass in the Patuxent River, Maryland. American Fisheries Society Symposium 15: 553–554.
- Bartley, D.M., Kent, D.B., & Drawbridge, M.A. 1995. Conservation of genetic diversity in a white seabass hatchery enhancement program in southern California. American Fisheries Society Symposium 15: 249–258.
- Bergman, P.K., Jefferts, K.B., Fiscus, H.F. & Hagar, R.C. 1968. A preliminary evaluation of an implanted, coded wire fish tag. Fisheries Research Papers, WA Dept. of Fisheries 3(1): 63–84.
- Bergstedt, R.A., Swink, W.D. & Seelye, J.G. 1993. Evaluation of two locations for coded wire tags in larval and small parasitic-phase sea lampreys. North American Journal of Fisheries Management 13: 609–612.
- Bernard, D.R., Marshall, R.P. & Clark, J.E. 1998. Planning programs to estimate salmon harvest with coded-wire tags. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 55: 1983–1985.
- Beukers, J.S., Jones, G.P. & Buckley, R.M. 1995. Use of implant microtags for studies on populations of small reef fish. Marine Ecology Progress Series 125: 61–66.
- Bilton, H.T., Alderdice, D.F. & Schnute, J. T. 1982. Influence of time and size at release of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) on returns at maturity. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39: 426–447.
- Blankenship, H.L. 1981. Code-wire tag loss study. Technical Report No. 65. Department of Fisheries, State of Washington. 27 pp.
- Blankenship, H.L. 1990. Effects of time and fish size on coded wire tagg loss from chinook and coho salmon. American Fisheries Society Symposium 7: 237–243
- Blankenship, H. L. & Tipping, J.M. 1993. Evaluation of visible implant and sequentially coded wire tags in sea-run cutthroat trout. North American Journal of Fisheries Management 13: 391–394.
- Bordner, C.E., Doroshov, S.I., Hinton, D.E., Pipkin, R.E., Fridley, R.B. & Haw, F. 1990. Evaluation of marking techniques for juvenile and adult white sturgeons reared in captivity. American Fisheries Society Symposium 7: 293–303.

- Buckley, R.M., Blankenship, H.L. 1990. Internal extrinsic identification systems: overview of implanted wire tags, otolith marks, and parasites. *American Fisheries Society Symposium* 7: 173–182.
- Buckley, R.M., Hueckel, G., Benson, B., Quinnell, S. & Canfield, M. 1984. Enhancement research on lingcod (*Ophiodon elongatus*) in Puget Sound. State of Washington Department of Fisheries Progress Report No. 216.
- Buckley, R.M., West, J.E. & Doty, D.C. 1994. Internal micro-tag systems for marking juvenile reef fishes. *Bulletin of Marine Science*, 55: 850–859.
- Champigneulle, A., Escommel, J. & Laurent Ph. 1987. Marking small Atrich charr (*Salvelinus alpinus*) by injection of magnetized microtags. *Bull. Fr. Pêche. Piscic.* 304: 22–31. (French with English summary).
- Childerhose, R.J. & Trim, M. 1979. Pacific salmon and steelhead trout. University of Washington Press, Seattle.
- Copeland, J. & Noble, R. 1994. Movements by young-of-year and yearling largemouth bass and their implications for supplemental stocking. *North American Journal of Fisheries Management* 14: 119–124.
- Crook, D.A. & White, R.W.G. 1995. Evaluation of sub-cutaneously implanted visual implant and coded wire tags for marking and benign recovery in a small scaleless fish, *Galaxias truttaceus* (Pisces, Galaxiidae). *Marine and Freshwater Research* 6 (Australia).
- Dempson, J.B. & Stansbury, D.E. 1991. Using partial counting fences and a two-sample stratified design for mark-recapture estimation of an Atlantic salmon smolt population. *N. Am. J. Fish. Mgmt.* 11: 27–37.
- Drawbridge, M.A., Kent, D.B., Shane, M.A. & Ford, R.F. 1995. The assessment of marine stock enhancement in southern California: a case study involving the white seabass. *American Fisheries Society Symposium* 15: 568–569.
- Elrod, J.H. & Schneider, C.P. 1986. Evaluation of coded wire tags for marking lake trout. *North American Journal of Fisheries Management* 6: 264–271.
- Ennis, G.P. 1972. Growth per moult of tagged lobsters (*Homarus americanus*) in Bonavista Bay, Newfoundland. *J. Fish. Res. Bd. Canada* 29: 143–148.
- Fletcher, D.H., Haw, F. & Bergman, P. K. 1987. Retention of coded wire tags implanted into cheek musculature of largemouth bass. *North American Journal of Fisheries Management* 7: 436–439.
- Forrester, G. E. 1995. Strong density-dependent survival and recruitment regulate the abundance of a coral reef fish. *Oecologia* 103: 275–282.
- Frederick, J. L. 1997. Post-settlement movement of coral reef fishes and bias in survival estimates. *Marine Ecology Progress Series* 150: 65–74.
- Fuselier, L. F. & Edds, D. 1994. Seasonal variation in habitat use by the *Neosho madtom* (Teleostei: Ictaluridae: *Noturus placidus*). 1994. *The Southwestern Naturalist* 39(3): 217–223.
- Geiger, H.J. 1990. Parametric bootstrap confidence intervals for estimating contributions to fisheries from marked salmon populations. *Am. Fish. Soc. Symp.* 7: 667–676.
- Green, P.E.J. & Macdonald, P.D.M. 1987. Analysis of mark-recapture data from hatchery-raised salmon using log-linear models. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: 316–326.

- Green, A.W., Matlock, G. C. & Weaver, J. E. 1983. A method of directly estimating the tag-reporting rate of anglers. *Trans. Am. Fish. Soc.* 112: 412-415.
- Guy, C.S., Schjultz, R.D. & Clouse, C.P. 1996. Coded wire tag loss from paddlefish: a function of study location. *North American Journal of Fisheries Management* 16: 931-934.
- Habicht, C., Sharr, S., Evans, D. & Seeb, J.E. 1998. Coded wire tag placement affects homing ability of pink salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 127: 652-657.
- Haines, B.G. & Modde, T. 1996. Evaluation of marking techniques to estimate population size and first year survival of Colorado squawfish. *North American Journal of Fisheries Management* 16: 905-912.
- Hale, R.S. & Gray, J.H. 1998. Retention and detection of coded wire tags and elastomer tags in trout. *North American Journal of Fisheries Management* 18: 197-201.
- Heidinger, R.C. & Cook, S.B. 1988. Use of coded wire tags for marking fingerling fishes. *North American Journal of Fisheries Management* 8: 268-272.
- Heinricher, J.O. & Fiss, F.C. 1996. MICRA national paddlefish research 1995 interim report. Mississippi Interstate Cooperative Resource Association, P.O. Box 774, Bettendorf, IA 52722-0774.
- Hixon, M.A. & Carr, M.H. 1997. Synergistic predation, density dependence, and population regulation in marine fish. *Science* 277: 946-949.
- Ingram, B.A. 1993. Evaluation of coded wire tags for marking fingerling golden perch, *Mockery ambigua* (Percichthyidae), and silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Terapnidae). *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 44: 817-824.
- Isely, J.J. & Tomasso, J.R. 1998. Estimating fish abundance in a large reservoir by mark-recapture. *North American Journal of Fisheries Management* 18: 269-273.
- Isaksson, Á. & Bergman, P.K. 1978. An evaluation of two tagging methods and survival rates of different age and treatment groups of hatchery-reared Atlantic salmon smolts. *J. Agr. Res. Icel.* 10(2):74-99.
- Jefferts, K.B., Bergman, P.K. & Fiscus, H.F. 1963. A coded wire identification system for macro-organisms. *Nature* 198: 460-462.
- Johnson, K.J. 1990. Regional overview of coded wire tagging of anadromous salmon and steelhead in Northwest America. *American Fisheries Society Symposium* 7: 782-816.
- Kent, D.B., Drawbridge, M.A. & Ford, R.F. 1995. Accomplishments and roadblocks of a marine stock enhancement program for white seabass in California. *American Fisheries Society Symposium* 15: 492-498.
- Klar, G.T. & Parker, N.C. 1986. Marking fingerling striped bass and blue tilapia with coded wire tags and microtaggants. *North American Journal of Fisheries Management* 6: 439-444.
- Laird, L.M. & Stott, B. 1978. Marking and tagging. In: Bagenal, T. (ed), *Methods for assessment of fish production in fresh waters*: 84-100. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Larscheid, J.G. 1995. Federal Aid to Fish Restoration Completion Report. Natural Lakes Investigations Project No. F-135-R (1 July, 1990 - 30 June 1995). Iowa Department of Natural Resources.

- Leary, D.F. & Murphy, G.I. 1975. A successful method for tagging the small, fragile engraulid, *Stolephorus purpureus*. Transactions of the American Fisheries Society 1: 53–55.
- Leber, K.M., Brennan, N.P. & Arce, S. M. 1995. Marine enhancement with striped mullet: are hatchery releases replenishing or displacing wild stocks? American Fisheries Society Symposium 15: 376–387.
- Leber, K.M. 1995. Significance of fish size-at-release on enhancement of striped mullet fisheries in Hawaii. Journal of the World Aquaculture Society 26: 143–153.
- Mattson, M.T., Friedman, B.R., Dunning, D.J. & Ross Q.E. 1990. Magnetic tag detection efficiency for Hudson River striped bass. American Fisheries Society Symposium 7: 267–271.
- Mavrakis, P.H. & Yule, D.L. 1998. North Platte comprehensive fisheries study: creel survey and stocking evaluation, 1995–1996. The Wyoming Game and Fish Department, Fish Division, 5400 Bishop Blvd., Cheyenne, WY 82006.
- Meng, H.J., Müller, R. & Geiger, W. 1986. Growth, mortality and yield of stocked coregonid fingerlings identified by microtags. Advances in Limnology. Proceedings of the symposium on coregonid fishes held 2 to 4 October 1984 at Thonon (France). Heft 22: 320–325.
- Minkinen, S.P., Stence, C.P. & Richardson, B.M. 1995. The use of hatchery-produced striped bass for stock restoration and validation of stock parameters. American Fisheries Society Symposium 15: 555–556.
- Morrison, J. & Zajac, D. 1987. Histologic effect of coded wire tagging in chum salmon. N. Am. J. Fish. Manage. 13: 29–441.
- Morrison, J.A. 1990. Insertion and detection of magnetic microwire tags in Atlantic herring. American Fisheries Society Symposium 7: 272–280.
- Nakamura, R. 1991. A survey of the Pacific hagfish resource off the Central California Coast. Final report to the Secretary of Environmental Affairs, Office of Environmental Protection, Marine Fisheries Impacts Programs (Contract agreement A-800-184), Biological Sciences Department, CA Polytechnic State U., San Luis Obispo, CA.
- Nielson, L. A. 1992. Methods of marking fish and shellfish. American Fisheries Society Special Publication 23.
- Niva, T. 1999. Relations between diet, growth, visceral fat content and yield of stocked brown trout in three small lakes in northern Finland. Annales Zoologici Fennici 36, painossa.
- O'Maoileidigh, N., Browne, J., Cullen, A., McDermott, T. & Keating M. 1994. Exploitation of reared salmon released into the Burrishoole River system. International Council for the Exploration of the Sea, C.M..1994/M:9 Anadromous and Catadromous fish Committee.
- Ostergaard, D.E. 1982. Retention of coded wire tags in lake trout. Prog. Fish.-Cult. 44: 162.
- Oven, J.H. & Blankenship H.L. 1993. Benign recovery of coded wire tags from rainbow trout. North American Journal of Fisheries Management 13: 852–855.
- Palermo, R.V. 1990. Jeopardized estimates of the contribution of marked Pacific salmon to the sport fishery of the Strait of Georgia, British Columbia, due to awareness factor variability. Am. Fish. Soc. Symp. 7: 631–646.

- Peltz, L. & Miller, J. 1990. Performance of half-length coded wire tags in a pink salmon hatchery marking program. *Am. Fish. Soc. Symp.* 7: 244–252.
- Peterson, M.S. & Key, J.P. 1992. Evaluation of hand-tagging juvenile walleyes with binary-coded wire microtags. *North American Journal of Fisheries Management* 12: 814–818.
- Prentice, E.F. & Rensel, J.E. 1977. Tag retention of the spot prawn, *Pandalus platyceros*, injected with coded wire tags. *J. Fish. Res. Board Can.* 34:2199–2203.
- Quinn, T.P. & Groot, C. 1983. Orientation of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) after internal and external magnetic field alteration. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40: 1598–1606.
- Richardson, B.M. & Minikinen, S.P. 1995. American shad handling, rearing and marking trials. *American Fisheries Society Symposium* 15:557–559.
- Russell, D.J. & Hales, P.W. 1991. Evaluation of techniques for marking juvenile barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch), for stocking. *Aquaculture and Fisheries Management* 23: 691–699.
- Salojärvi, K. 1989. Validity of scale ages determined for whitefish (*Coregonus lavaretus* L. s.l.) checked by microtagging in Lake Oulujärvi, northern Finland. *Aqua Fennica* 19: 119–122.
- Schwartz, F.J. 1981. A long term internal tag for sea turtles. *Northeast Gulf Science* 5(1):87–93.
- Sullivan, P.J., St-Pierre, G. & Geernaert, T.O. 1990. Stock assessment document II: research results in 1989. International Pacific Halibut Commission, Seattle, WA.
- Thrower, F.P. & Smoker, W.W. 1984. First adult return of pink salmon tagged as emergents with binary-coded wires. *Trans. Am. Fish. Soc.* 113: 803–804.
- Tipping, J.M. & Heinricher, J.R. 1993. Use of magnetic wire tag locations to mark tiger muskellunge. *North American Journal of Fisheries Management* 13: 190–193.
- Tipping, J.M., Cooper, R.V., Byrne, J.B. & Johnson, T.H. 1995. Length and condition factor of migrating and nonmigrating hatchery-reared steelhead smolts. *The Progressive Fish-Culturist* 57: 120–123.
- Unwin, M.J., Hill, J.T. & Lucas, D.H. 1997. An accurate and effecient method for reading sequentially coded wire tags aided by a PC-based data capture program. *North American Journal of Fisheries Management* 17:446–450.
- Wallin, J. & van den Avyle, M.J. 1994. Retention of coded wire tags by juvenile striped bass. *Proc. Annu. Conf. SEAFWA*.
- Williamson, J.H. 1987. Evaluation of wire nose tags for marking for largemouth bass. *Prog. Fish.-Cult.* 49: 156–158.
- Willis, S.A., Falls, W.W., Dennis, C.W., Roberts, D.E. & Whitchurch, P.G. 1995. Assessment of season of release and size at release on recapture rates of hatchery-reared red drum. *American Fisheries Society Symposium* 15: 354–365.
- Winters, G.H. 1977a. Healing wounds and location of tags in Atlantic herring (*Clupea harengus*) relaeased with abdominally inserted magnetic tags. *J. Fish. Res. Board. Can.* 34: 2402–2404.
- Winters, G.H. 1977b. Estimates of tag extrusion and initial tagging mortality in Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*) relaeased with abdominally inserted magnetic tags. *J. Fish. Res. Board. Can.* 34: 354–359.

Vittaniemi, J. 1994. Simojokeen istutettujen lohenpoikasten kuonumerkinnät ja kuonumerkittyjen llohien takaisinsaanti 1984–1992. Erikoistumistyö, Valtion kalatalousoppilaitos. 34 s + 1 liite.

Youngson, A.F., Jordan, W.C. & Hay, D.W. 1994. Homing of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) to a tributary spawning stream in a major river catchment. *Aquaculture* 121: 259–267.

7. Ruiskuvärjäysmenetelmä

ARI LESKELÄ

RKTL/Merenkurkun kalantutkimusasema

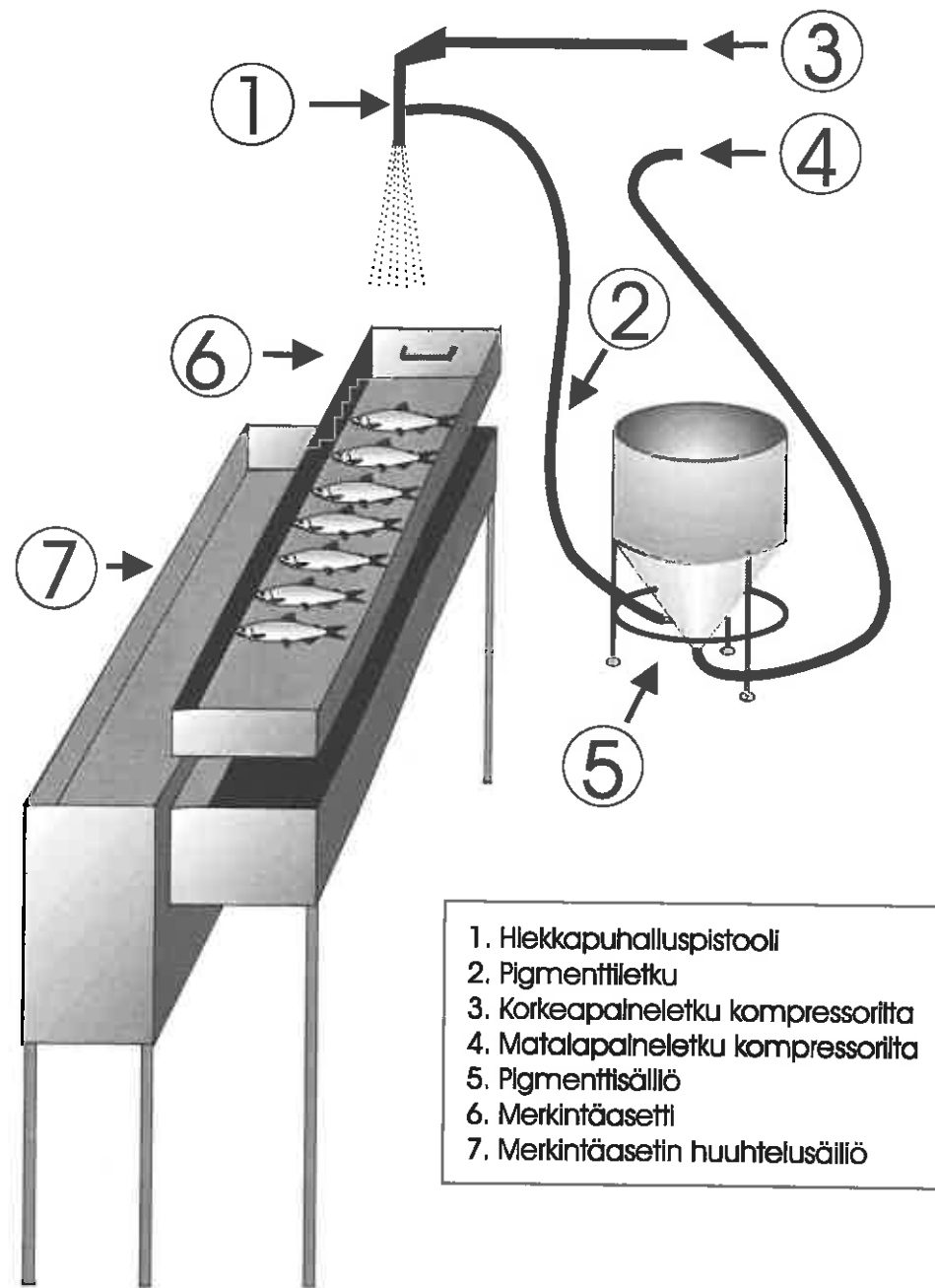
7.1. Historia ja menetelmän kuvaus

Ruiskuvärjäysmenetelmää käytti kalojen ryhmämerkintämenetelmänä ensimmäisenä Jackson (1959). 1960-luvulla menetelmää käytettiin erityisesti Tyynenmeren lohenpoikasten massamerkintämenetelmänä (Phinney ym. 1967, Phinney & Matthews 1969, 1973). Menetelmää on testattu myös Atlantin lohelle ja meritaimenelle (Strange & Kennedy 1982), sekä useille lämpimän veden kalalajeille (Andrews 1972, Rinne & Deacon 1973, Engelhardt 1977, Pierson & Bayne 1983, Strange & Kennedy 1984). Suomessa menetelmää on sovellettu myös coregonidien merkintään (Friman ja Leskelä 1998).

Ruiskuvärjäyksessä puhalletaan paineilman ja hiekkapuhalluspistoolin avulla fluoresoivaa pigmenttiä kalan ihoon. Jauhemainen pigmentti tarttuu suomun pintaan tai suomujen alle, sekä kalan ihoon esim. operculumien päällä. Pigmentti suihkutetaan joko kuivana tai veteen sekoitettuna, Suomessa merkintöjä on tehty vain 1:1 veteen sekoitetulla pigmentillä (Friman ja Leskelä 1998). Kaloja ei nukuteta merkintää varten. Merkinnän aikana kalat ovat 20-30 sekuntia nostettuna ylös vedestä haavin tai erillisen merkintäritilän päällä. Heti merkinnän jälkeen kalat ovat pigmentin peitossa, mutta suurin osa pigmentistä on kalojen limakerroksessa ja huuhtoutuu pois muutaman tunnin kuluessa. Pysyvästi kalaan jäävät pigmenttimäärät ovat niin pieniä, että ne eivät erotu paljaalla silmällä normaalissa valossa. Merkki detektoidaan pimennetyssä tilassa ultraviolettilampun valossa.

Kaavakuva ruiskuvärjäysmerkinnän vaatimasta välineistöstä silloin, kun kalat merkitään vesi-pigmenttiseoksella on esitty kuvassa 1. Laitteisto koostuu hiekkapuhalluspistoolista (1), pigmentin syöttöletkusta (2), kompressorilta tulevasta korkeapaine- (3) ja matalapaine- (4) letkuista, pigmenttiastiasta (5), merkintäasetista, jonka pohja on tiheää nailonverkkoa (6) ja merkittyjen kalojen huuhtontakaukalosta (7). Lisäksi tarvitaan kompressor, joka tuottaa esim. 200 l ilmaa / min max 10 barin paineella. Kompressoria varten tarvitaan sähköliitäntä tai generaattori. Merkintää helpottaa, mikäli käytettävissä on vesipumppu, jolta voidaan johtaa vettä työpisteessä olevaan käsisuihkuun kalojen huuhtelua yms. varten. Mikäli kalat merkitään kuivalla pigmenttijauheella, on tarvittava laitteisto hieman yksinkertaisempi. Esim. Phinney ym. (1967) ja Strange & Kennedy (1982) ovat kuvanneet millaista laitteistoa tällöin voidaan käyttää. Merkintä vesi-pigmenttiseoksella on kuitenkin huomattavasti miellyttävämpää, koska veteen sekoitettu pigmenttijauhe ei merkityssä pölyä ja leviä ilmaan niin paljon kuin kuiva pigmentti.

Sujuva merkintä vaatii 2-3 hengen työryhmän. Tällöin yksi henkilö hoitaa itse merkinnän, toinen haavii kaloja merkintäasetille ja mahdollinen kolmas henkilö huolehtii altaiden vedenkorkeudesta tai sumppujen siirtelystä ja kiristelystä, tarkkailee



Kuva 1. Rulskuvärjäysmerkintään tarvittava välineistö, kun merkinnässä käytetään vesi-pigmenttiseosta.

kalojen hyvinvointia, valmistaa tarvittavat pigmentti-vesiseokset ja toimii yleensäkin apuhenkilönä.

Kaloja merkittäessä haavimies nostaa ensin sopivan määrän kaloja lipolla merkintäasetille. Esim. 100 x 30 x 20 sentin kokoiselle merkintäasetille mahtuu kerrallaan 200-300 yksikesäistä siianpoikasta. Kalat merkitään kuljettamalla hiekkapuhalluspistoolia edestakaista liikettä tehden merkintäasetin päästä toiseen ja takaisin. Pistoolin kärjen etäisyys kaloihin tulee olla n. 20 senttimetriä ja värisuihku kohdistetaan kohtisuoraan alaspäin. Merkinnässä käytettävä ilmanpaine riippuu kalalajista, sialle käytetään 6 barin painetta (Friman ja Leskelä 1998) ja taimenelle suositus on 7,7 barin paine (Strange & Kennedy 1982). Merkinnässä on tärkeää olla huolellinen ja liikuttaa pistoolia siten, että kaikki kalat ovat alttiina värisuihkulle.

Merkinnän jälkeen merkitsijä nostaa merkintäasetin huuhtontakaukalon päälle, ja suihkuttaa käsisuihkulla vettä kalojen päälle, jolloin ylimääräinen väri huuhtoutuu kaloista kaukaloon. Tämän jälkeen merkitsijä kumoaa kalat vieressä sumppuun tai altaaseen. Merkitsijän huuhtellessa ja kumotessa kaloja pois merkintäasetilta haavimies kerää jo uuden haavillisen, ja nostaa sen asetille välittömästi, kun merkitsijä on asettanut sen paikoilleen. Kalojen turhaa säilyttämistä lipossa ja toisaalta niiden turhan rajua haavimista on vältettävä, joten haavimiehen tulee kyetä rytmittämään työnsä merkitsijän työtahdin mukaan.

Kaloista irtoava ylimääräinen pigmentti kertyy huuhtontakaukalon pohjalle. Kaukalosta vesi poistuu pinta poistona, joten vettä raskaampaa pigmenttiä poistuu veden mukana vain rajoitetusti. Mikäli pigmentti halutaan talteen tarkasti, tulee poistovesi johtaa yhden tai useamman saostusastian kautta. Merkintäasetti ja huuhtontakaukalo voidaan myös yhdistää toisiinsa siten, että merkityssä ritilä on kaukalon sisällä ylemmällä tasolla (kalat ovat kuivillaan) ja värin suihkutuksen jälkeen kalat upotetaan syvemmälle kaukaloon ja huuhdotaan.

Merkintä voidaan tehdä kalankasvatusaltaiden äärellä tai esim. luonnonravintolammikon kuormauslaiturilla, jolloin merkittävät kalat ovat sumpuissa laiturin vieressä. Merkintä onnistuu myös veneessä, mikäli siinä on tasainen sisäpohja, jonka päällä merkintälaitteisto pysyy vaakasuorassa. Vesi-pigmenttiseostakin käytettäessä värijauhetta leviää sumuna ilmaan jonkin verran, joten merkintä on miellyttävintä tehdä ulkotiloissa. Merkittäessä käytetään pölyn suodattavaa hengityssuojainta.

7.2. Yleisimmät käyttötarkoitukset

Ruiskuvärijäysmenetelmää on tyypillisesti käytetty istukkaiden merkintään, useimmiten tilanteissa, joissa istutetaan niin suuria määriä poikasii niin pienikokoisina, ettei niiden merkintä esim. ulkoisilla yksilömerkeillä tai eväleikkauksilla ole käytännössä mahdollista (Babey 1983, Nielson 1990). Menetelmää on sovellettu myös populaation koon suuruutta ja kalojen vaelluksia ja olinpaikkoja selvittävissä merkintä-takaisinpyynti -tutkimuksissa (Weinstein ja O'Neil 1986, Holland-Bartels ym. 1989, Shreffler ym. 1990). Lajeja, joille merkintämenetelmän on todettu sopivan, ovat *Pimephales promelas* (Andrews 1972), bassit ainakin 9 kuukautta kestävässä tutkimuksessa (Engelhardt 1977), kirjolohi aina noin viiteen vuoteen asti (Wiltzius & Smith 1976, Evenson ja Ewing 1985), *Onchorhynchus clarki* (Nielson 1990), *Ictalurus punctatus* (Pierson ja Bayne 1983), siika (Friman ja Leskelä 1998, Leskelä 1999). Menetelmä ei sovellu hyvin ainakaan *Culaea inconstans* (Moodie ja Salfert 1982), *Onchorhynchus gorbuchan* poikasille, joille ei vielä ole kehittynyt suomuja (White 1976), *Hypophthalmichthys molitrix* (Pierson ja Bayne 1983), mateelle ja nieriälle (Friman ja Leskelä 1998). Useilla lajeilla on myös tietty minimikoko, jota pienempiä poikasii ei voida merkitä. Minimikoko on ilmeisesti yhteydessä suomupeitteen kehittymiseen (Phinney ym. 1967, Andrews 1972, Strange ja Kennedy 1982). Suosituksia minimipituuksista on annettu ainakin siialle 8,0 cm (Friman ja Leskelä 1998), Atlantin lohelle ja taimenelle 6,8 cm (fork length, pituus kuonon kärjestä pyrstön loven pohjukkaan) (Strange ja Kennedy 1982).

Koodien määrä riippuu toisistaan erottuvien värisävyjen määrästä. Näitä ovat ainakin keltainen ja oranssi/punainen (Friman ja Leskelä 1998). Keltainen ja vihreä eivät välttämättä erotu toisistaan, sillä värisävyt ovat hyvin lähellä toisiaan ja lisäksi esim. siikojen iho fluoresoi sinisenä, mikä aiheuttaa sen, että keltainen väri näkyy vihreän sävyisenä (Friman ja Leskelä 1998). Toisaalta mm. Phinney ja Mathews (1973) ja Nielson (1990) ovat käyttäneet sekä keltaista että vihreää pigmenttiä eivätkä ole

maininneet ongelmista niiden erottamisessa. Strange ja Kennedyn (1982) mukaan oranssi, keltainen, punainen ja sininen erottuvat toisistaan, mutta esim. Nielsonin (1990) mukaan sininen väri on vaikea erottaa kalasta. Myös väriyhdistelmiä voidaan käyttää toisistaan erottuvina koodeina. Merkin pysyvyyttä on eri kalalajeilla kontrolloitu vaihtelevan pituisia aikoja, ainakin siialla (Leskelä 1999), *Salmo clarkilla* (Nielson 1990) ja *Pimephales promelasilla* (Andrews 1972) merkin on todettu pysyvän hyvin istutuskooosta saaliskokoon asti tai kalan odotettavissa olevan eliniän ajan. Kalaan tarttuvan pigmentin määrä vaihtelee, mutta yksikin kiinni tarttunut värihiukkanen riittää detektointiin (Andrews 1972). Nielsonin (1990) mukaan kaloissa harvoin oli alle 5 värihiukkasta kalaa kohti. Useilla lajeilla on havaittu, että merkki tarttuu useammin tiettyihin kohtiin kalaa (Rinne ja Deacon 1973, Engelhardt 1977).

7.3. Aineiston kerääminen ja käsittely

Merkki ei näy paljaalla silmällä normaalissa päivänvalossa. Pimeässä huoneessa UV-lampun valossa merkin havaitseminen kalasta on helppoa (Strange ja Kennedy 1982), ja detektointi onnistuu keneltä tahansa pienen harjoittelun jälkeen. Mikäli kaloja käydään läpi ulkotiloissa, on pimentämiseen käytettävä vaikka pressua, normaalissa päivänvalossa tai keinovalossa merkin havaitseminen UV-lampun allakin on vaikeaa. Keskeistä on oppia erottamaan pigmenttihiukkaset kalan pinnalla olevista muista mahdollisesti fluoresoivista aineista, esim. useista kelluntahaalareista saattaa irrota fluoresoivia kuidunpätkiä. Mikäli detektoitavia kaloja säilytetään tiloissa, joissa on aikaisemmin säilytetty merkinnässä käytettyä kalustoa tai vaatteita, on mahdollista että kaloihin tarttuu pigmenttihiukkasia esim. työskentelypinnoilta. Tällaiset pigmenttihiukkaset kuitenkin liikkuvat kalan pinnalla niitä sormella pyyhkäistessä tai lähtevät huuhdellessa irti. Merkinnän yhteydessä kalaan kiinnittyneet pigmenttihiukkaset ovat paremmin kiinni eivätkä liiku kosketettaessa (Nielson 1990). Rutiininomaisesti on syytä tarkistaa, että kalan pinnassa havaitut pigmenttihiukkaset eivät ole irtoshiukkasia.

Näytekalojen pakastaminen ei vaikuta merkin laatuun (Leskelä 1999). Pakastetut näytekalat on syytä sulattaa vedessä, jolloin niiden pinnalle muodostuva paksu lima on helppo kevyesti pyyhkäistä pois. Koska detektoiminen on nopeaa eikä vaikuta kalojen laatuun, ei kaloja välttämättä tarvitse ostaa kalastajilta. Kalasatamien kylmähuoneet ovat valmiiksi pimeitä tiloja, eikä kalojen detektointi kylmähuoneissa vaikuta niiden laatuun, koska kalat voidaan siirtää laatikosta toiseen ja jättää uudestaan ilman, että kylmäketju katkeaa.

Lisäksi merkin detektoinnissa käytetyn UV-lampun iällä, käyttölämpötilalla ja virtalähteellä on merkitystä merkin havaitsemisen suhteen. Lampun teho pienenee iän myötä ja kylmissä olosuhteissa. Lampun tehon alenemista on vaikea havaita, joten UV-lamput on syytä vaihtaa rutiininomaisesti kerran vuodessa. Kylmissä olosuhteissa, kuten kalasatamien kylmähuoneissa, on ennen detektoinnin aloittamista odotettava, että lamppu ehtii lämmetä. Lampun virtalähteeksi sopii parhaiten verkkovirta, mutta myös agrekaatti toimii suhteellisen hyvin. Sen sijaan akku on virtalähteenä ongelmallinen, koska sen teho laskee detektoinnin aikana.

7.4. Ongelmat

Merkin pysyvyyden on todettu riippuvan ainakin kalalajista (Rinne ja Deacon 1973, Pierson ja Bayne 1983), merkittävän kalan koosta (Strange ja Kennedy 1982), pigmentin hiukkaskoosta (Strange ja Kennedy 1982) ja merkinnässä käytetystä ilmanpaineesta (Andrews 1972). Menetelmä on testattava ja sopivat merkintätulokseen vaikuttavien muuttujien arvot on etsittävä erikseen kullekin lajille, joille sitä aiotaan käyttää (Rinne ja Deacon 1973). Tämä hidastaa menetelmän käyttöönottoa uusille lajeille, erityisesti jos tavoitteena on merkki, jonka avulla kaloja voidaan seurata useita vuosia. Merkin pysyvyyden toteamiseksi koe-eriä on seurattava ainakin niin kauan kuin tutkimuksen on suunniteltu kestävän.

Merkkien pysyvyydessä lohella ja taimenella näyttää kotimaisten alustavien tulosten mukaan olevan vahva kokoriippuvuus. RKTL:n Kainuun kalanviljelylaitoksella tehtyjen kokeiden mukaan merkin pysyvyys alkaa pudota pituusluokassa 60-79 mm ja painoluokassa 4-8 g, ja sadan prosentin pysyvyyteen päästään vasta kokoluokassa 110-119 mm.

Mahdollisia syitä merkin pysyvyyden kokoriippuvuudelle ovat:

1. Merkintäasetilla pienet kalat jäävät isojen alle eivätkä siten saa värisuihkua. Lisäksi pienellä kalalla on pienemmän pinta-alansa takia suurempi todennäköisyys jäädä katveeseen.
2. Pienten kalojen ihon rakenne on sellainen, ettei väri tartu siihen. Tähänastisten kokemusten perusteella merkintä ei onnistu hyvin pienisuomuisilla kaloilla (White 1976, Moodie ja Salfert 1982, Friman ja Leskelä 1998).
3. Käytetyn pigmentin pienempi ominaispaino tai pigmentin sekoittaminen veteen vähentävät hiukkasten liike-energiaa esim. Strange ja Kennedyn (1982) ja Nielsonin (1990) tekemiin merkintöihin verrattuna. Mikäli pienet kalat vaativat väriaineen kovemman puhalluksen, saattavat nämä tekijät edelleen huonontaa merkintätulosta pienillä kaloilla.

Jos pienten kalojen jääminen katveeseen on pääasiallinen syy merkin pysyvyyden kokoriippuvuuteen, on ratkaisuna joko kerrallaan puhallettavien kalojen määrän olennainen vähentäminen tai kalojen kokolajittelu ennen merkintää. Jos taas syynä on pienten kalojen suomun kokoon ja ihon rakenteeseen liittyvät tekijät, voidaan yrittää lisätä puhalluspainetta pienemmille kaloille. Myös puhallustekniikkaa tai pigmenttijauheen tyyppiä vaihtamalla voidaan yrittää löytää ratkaisu.

Normaalitapauksissa merkinnästä ei ole todettu aiheutuvan kaloille haittaa. Iho- tai silmätulehduksia tai muita merkinnästä aiheutuvia ongelmia ei ole havaittu pitkienkään seurantajaksojen aikana (Andrews 1972). Predaattorien ei ole todettu valikoivan merkattuja kaloja (Phinney ja Matthews 1969). Merkinnän yhteydessä todettu ylimääräinen kuolleisuus on ollut enintään muutaman prosentin luokkaa sen jälkeen, kun kullekin lajille sopiva merkintäpaine ym. tekijät on määritetty (Andrews 1972, Engelhardt 1977, Strange ja Kennedy 1982, Friman ja Leskelä 1998). Strange ja Kennedy (1982) kuitenkin huomauttavat, että smolttiutumisosprosessin kuluessa lohenpoikasia ei tulisi merkitä, koska merkinnän aiheuttama stressi yhdessä smolttiutumisen aiheuttaman stressin kanssa voi johtaa korkeaan kuolleisuuteen. Merkki ei vaikuta kalojen kasvuun (Phinney ja Matthews 1969). Merkintää varten kaloja ei tarvitse nukuttaa.

Eri värien erottamisen suhteen kirjallisuudessa on osittain ristiriitaista tietoa. Toisistaan varmuudella erottuvien värien vähäisyys aiheuttaa sen, että vain muutama ryhmä voidaan erottaa toisistaan. Lisäksi mm. Nielsonin (1990) mukaan samankin valmistajan eri valmistuserissä pigmentin sävy ja karkeus saattaa vaihdella. Esim. keltainen ja vihreä eivät ainakaan kaikissa tapauksissa erotu toisistaan. Käyttämällä aallonpituuden mittausjärjestelmää ja erilaisia värisuotimia voidaan toisistaan erottuvien värien määrää mahdollisesti kasvattaa.

7.5. Merkinnän kustannukset

Merkintälaitteiston kokoonpanon hinta on n. 15 000 - 20 000 mk. Merkinnässä tarvittava värijauhe maksaa alle 200 mk/kg, kilo värijauhetta riittää n. 10 000 9-senttiselle yksikesäiselle siianpoikaselle. Isommat poikaset vaativat enemmän värijauhetta ja pienemmät vastaavasti vähemmän. Detektointilampuksi sopii 70 cm pitkä akvaariovalaisin, johon sopii 60 cm pitkä UV-valoa säteilevä loisteputki. Hintaa tällaiselle kokoonpanolle kertyy n. 500 mk.

Merkinnän vaatimat työvoimakustannukset voidaan laskea siten, että kolme henkilöä merkitsee 8-tuntisen työpäivän aikana 50 000 - 100 000 poikasta. Merkintänopeuteen vaikuttaa mm. se, miten helposti kalat on saatavissa merkintälaitteiston äärelle, joudutaanko sumppuja tai merkintälaitteistoa siirtelemään päivän kuluessa yms. Myös merkittävien kalojen koko ja henkilöiden rutinoituneisuus vaikuttavat merkintänopeuteen.

7.6. Käytön rajoitukset

Eläinsuojelulliset näkökohdat eivät rajoita merkin käyttöä. Ruiskuvärjäys on moniin muihin merkintämenetelmiin verrattuna jopa hellävarainen, koska kalan ihoa ei lävistetä tai arpeuteta.

Kalat stressaantuvat merkinnässä jonkun verran, mutta verrattuna luonnonravintolammikoissa kasvatettujen poikasten läpikäymän pyydystys-sumputus-kuormaus-kuljetus-istutus -ketjun aiheuttamaan stressiin, on merkinnän aiheuttama stressi vähäistä (Leskelä ym. 1998). Yleensäkin merkittävien ja/tai istutettavien kalojen käsittelyssä kaloilla tulisi olla mahdollisuus rauhassa toipua stressistä eri käsittelyvaiheiden välissä. Merkattuja poikasia ei tulisi kuormata ja kuljettaa heti merkinnän jälkeen, vaan 1-2 vuorokauden kuluttua.

Merkinnän yhteydessä merkintäpaikalle leviävä pigmentti aiheuttaa esteettistä haittaa. Käytetyn pigmentin talteenotto laskeutusaltailla tulee järjestää tilanteen ja ympäristön vaatimalla tavalla. Käytetty pigmentti voidaan viedä kaatopaikalle.

Merkintä suositellaan tehtäväksi kylmän veden aikana. Holland-Bartels ym:n (1989) mukaan kuolleisuus pyydystyksen, käsittelyn ja merkinnän vuoksi oli suoraan verrannollinen veden lämpötilaan 10-20,60 C:n lämpötilassa. Kuolleisuuden tasossa oli eroja myös eri lajien välillä. Friman ja Leskelä (1998) suosittelivat, ettei coregonideja merkittäisi yli 10o C vedessä.

Merkinnässä käytettävät pigmentit on toksisuustesteillä todettu nisäkkäille suhteellisen myrkyttömiksi, esim. Phinney ym:n (1967) mukaan LD-arvo kaniineilla oli yli 38 g / kg. Kalaan jäävät pigmenttimäärät ovat alle milligramman / kalayksilö. Lisäksi pigmentti jää kiinni kalan suomuihin ja nahkaan, joita usein ei käytetä ravinnoksi. Merkintä ei jätä kalaan normaalivalaistuksessa näkyvää jälkeä. Merkin

detektointi ei myöskään jätä kalaan jälkeä. Siten kalan markkina-arvo ei merkinnän ja detektoinnin seurauksena laske.

7.7. Yhteenveto

Suomen olosuhteissa merkin on todettu sopivan hyvin ainakin siioille. Menetelmää voidaan käyttää, kun veden lämpötila on alle 10o C. Merkittävien siikojen tulee olla yli 8 cm:n pituisia. Merkin pysyvyys oli lähes 100 % kun merkinnästä oli kulunut 4 vuotta. (Friman ja Leskelä 1998, Leskelä 1999).

Suomessa menetelmää on kokeiltu myös useille muille lajeille, ainakin lohia, taimenia, harjuksia, kuhia, haukia, toutaimia, nieriöitä ja mateita on kokeiltu merkitä ruiskuvärjäyksellä. Tulokset eivät kaikissa tapauksissa ole olleet rohkaisevia, mm. merkin pitkäaikaispysyvyys on ollut kyseenalainen. Friman ja Leskelän (1998) mukaan ruiskuvärjäyksellä tehdyt merkit olivat siioissa selvempiä kuin useissa muissa lajeissa, joihin menetelmää on kokeiltu. Menetelmä ei sovellu ainakaan nieriälle ja mateelle.

Suomessa tehdyt havainnot mm. lohella ja taimenella ovat jossain määrin ristiriitaisia ulkomailla julkaistujen tulosten kanssa. Siksi olisi syytä testata menetelmää systemaattisesti, seurata merkittyjä kaloja riittävän pitkän aikaa ja myös julkaista tulokset. Myös ulkomailla enemmän käytettyä pigmentin ruiskutusta kuivana olisi ehkä syytä kokeilla, mm. ulkomailla salmonideilla saadut hyvät tulokset ovat nimenomaan kuivan pigmentin puhalluksella saatuja tuloksia. Edelleen olisi syytä tutkia mahdollisuuksia tarkempaan eri pigmenttien erotteluun, jolloin käytettävissä olevien koodien määrä kasvaisi.

Kirjallisuus

- Andrews, A. 1972. Survival and mark retention of a small Cyprinid marked with fluorescent pigments. *Trans. Am. Fish. Soc.* 101(1): 128-133.
- Babey, G.J. 1983. Evaluation of three strains of rainbow trout stocked in a reservoir where the ectoparasite *Lernaea cyprinacea* is endemic. M.S. Thesis, Utah State University. 94 pp.
- Engelhardt, W. H. 1977: Retention of fluorescent pigment marks by two strains of largemouth bass. *Transactions of the American fisheries society* 106: 64-66.
- Evenson, M.D. & Ewing, R.D. 1985. Long-term retention of fluorescent pigment marks by spring chinook salmon and summer steelhead. *North American Journal of Fisheries Management* 5: 26-32.
- Friman, L.T. & Leskelä, A. 1998. Spray marking one-summer-old coregonid fish with fluorescent pigment. *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Advanc. Limnol.* 50: 471-477.
- Holland-Bartels, L.E., Dewey, M.R. & Zigler, S.J. 1989: effects of water temperature on the mortality of field-collected fish marked with fluorescent pigment. *North American Journal of Fisheries Management* 9: 341-344.
- Jackson, C. F. 1959: A technique for mass-marking fish by means of compressed air. New Hampshire Fish and Game Department, Technical Circular. 17: 1-8
- Leskelä, A., Friman, T. & Hudd, R. 1998. Stress response of whitefish fingerlings marked with the fluorescent pigment spraying method. *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Advanc. limnol.* 50: 479-485.

- Leskelä, A. 1999. Prolonged retention of fluorescent pigment spray marks in European whitefish *Coregonus lavaretus* (L.). *Fisheries Management and Ecology* 1999, 6:1-3.
- Moodie G. E. E. and Salfert, I. G. 1982: Evaluation of fluorescent pigment for marking a scaleless fish, the brook sickleback. *Progressive fish-culturist* 44: 192-195
- Nielson, B. R. 1990: twelve-year overview of fluorescent grit marking of cutthroat trout in Bear lake, Utah-Idaho. *American Fisheries Society Symposium* 7: 42-46.
- Phinney, D.E., Miller, D.M. & Dahlberg, M.L. 1967. Mass-marking young salmonids with fluorescent pigment. *Trans. Am. Fish. Soc.* 96(2): 157-162.
- Phinney, D.E. & Matthews, S.B. 1969. Field test of fluorescent pigment marking and finclipping of coho salmon. *J. fish. Res. Bd. Canada* 26(6): 1619-1624.
- Phinney, D. E. & Mathews, S. B. 1973: Retention of fluorescent pigment by coho salmon after two years. *The progressive fish-culturist* 35: 161-163.
- Pierson, J.M. & Bayne, D.R. 1983. Long-term retention of fluorescent pigment by four fishes used in warmwater culture. *Progressive Fish-culturist* 45(3): 186-188.
- Rinne, W. E. and Deacon, J. E. 1973. Fluorescent pigment and immersion stain marking techniques for *Lepidomeda mollispinis* and *Cyprinodon nevadensis*. *Transactions of the American fisheries society* 102: 459-462.
- Shreffler, D.K., simenstad, C.A. & Thom, R.M. 1990. Temporary residence by juvenile salmon in a restored estuarine wetland. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47: 2079-2084.
- Strange, C. D. and Kennedy, G. J. A. 1982. Evaluation of fluorescent pigment marking of brown trout (*Salmo trutta* L.) and Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fisheries management* 13: 89-95.
- Strange, C. D. and Kennedy, G. J. A. 1984. Fluorescent pigment marking of cyprinids. *Fisheries Management* 15: 67-69.
- Weinstein, M.P. & O'Neil, S.P. 1986. Exchange of marked juvenile spots between adjacent tidal creeks in the York river estuary, Virginia. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115: 93-97.
- White, L. E. 1976: Fluorescent pigment retention by pink salmon marked as scaleless fry. *The progressive fish-culturist* 38:184-186.
- Wiltzius, W.J. & Smith, N.F. 1976. Curecanti Unit, Lower Gunnison River Fishery Investigation Report. Colorado fisheries Research Review 1972-1975 (ed. O.B. Cope) 8:37-43. Colorado Division of Wildlife.

8. Panjet-menetelmä

ERKKI JOKIKOKKO

RKTL / Perämeren tutkimusasema

8.1. Historia ja menetelmäkuvaus

Kalojen merkinnässä käytettävistä musteista ja väriaineista on kirjallisuustietoja 1960-luvulta alkaen (mm. Kelly 1967). Hartin ja Pitcherin (1969) kirjoituksessa on kuva Panjet-rokoteruiskusta (jet inoculator), joka on päällisin puolin täysin identtinen RKTL:lle vuonna 1996 ja 1998 hankittujen laitteiden kanssa. Laitteen valmistaja oli jo tuolloin skotlantilainen F. H. Wright, Dental Manufacturin Co. Alunperin hammaslääkäreiden käyttöön valmistetun metalliruiskun pituus on vajaan 20 cm ja halkaisija 1,5 cm. Painoa laitteella on 270 g. Vaihdetavan lasisen mustesäiliön tilavuus on 3,5 ml, ja tällä mustemäärällä merkitsee runsaat satakunta kalaa.

Vastaavanlaisia jousikuormitteisia korkeapaineruiskuja on muitakin kuin Panjet. Laufle ym. (1990) ovat testanneet hyvällä menestyksellä amerikkalaisvalmisteista Syrijet Mark II - merkkistä ruiskua, joka kuvasta ja toimintatavasta sekä käyttömahdollisuuksista päätellen on samanlainen kuin Panjet.

Periaatteena tatuoinnissa on "ampua" mustetäplä kalan ihoon 30-40 barin paineella (Gollmann ym. 1986) 2-5 mm:n (Hart & Pitcher 1969) ja jopa 2-3 cm:n (Laufle ym. 1990) etäisyydeltä kalan pinnasta.

Suomeen hankittiin ensimmäinen Panjet tietävästi Oulun yliopistolle Oulangan biologiselle asemalle, mutta jokseenkin samoihin aikoihin myös Perämeren kalantutkimusasemalle Simoon vuonna 1996. Kolmas Panjet-laite hankittiin Kainuun kalantutkimus ja vesiviljelyyn keväällä 1998.

Väriaineena Suomessa on käytetty kaupalliselta nimikkeeltä Alcian Blue 8GX-jauhetta, joka veteen sekoitettuna muodostaa sinisen suspension. Kellyn (1967) suosituksen mukaan sekoitussuhde on 64 g jauhetta ja yksi litra vettä, eli tämän perusteella 25 gramman purkin voisi sekoittaa neljään desilitraan vettä. Määrällisesti tämä riittäisi arviolta runsaan 10 000 kalan merkintään. Gollmann ym. (1986) antavat sekoitusohjeeksi yksi osa jauhetta ja 15-20 osaa vettä eli toisin sanoen sama kuin Kellyn ohjeessa. He myös suosittelevat musteen suodattamista ennen käyttöä mahdollisten sakkaantumien poistamiseksi ja Panjetin suuttimen tukkeentumisen estämiseksi, mutta tämä ei liene täysin välttämätöntä. Ainakaan Perämeren kalantutkimusasemalla ja Kainuun kalantutkimus ja vesiviljelyssä tehdyissä merkinnöissä suodatusta ei ole tehty, eikä ongelmia ole esiintynyt.

Kainuun kalantutkimus ja vesiviljelyssä on käytetty myös kaupalliselta nimeltään Titaanivalkoinen - jauhetta (titaanidioksidi, TiO_2) 1-vuotiaiden järvitaimenten merkitsemiseen. Tämä värijauhe muodostaa veteen sekoitettuna valkoisen suspension. Sekoitussuhteena käytettiin 12 g värijauhetta ja 1,5 dl vettä.

Kädessä pidettävänä kynämallisena ruiskuna Panjet ei merkintää tehtäessä vaadi erityisjärjestelyjä tilojen tai merkintäjärjestelyjen suhteen. Kalat on kuitenkin nukutettava ennen merkintää, koska paras merkintäalue kalassa on sen vaalea vatsapuoli, ja ilman nukutusta kalaa ei käytännössä ole mahdollista kääntää selälleen.

Lisäksi on syytä huomata, että itse merkintä on sotkuinen tapahtuma, koska mustetta räisky kalan pinnasta värjäten ympäristöä parin metrin säteellä. Merkkeajilla on siksi syytä olla sade- tai muut suojavarusteet, joiden värjäntyminen ei haittaa. Väri myös pysyy erittäin hyvin, joten varusteiden pesukaan ei juuri auta. Nämä seikat huomioiden kaloja on mahdollista merkitä esim. normaalin kasvumittauksen yhteydessä joko sisällä tai ulkona. Pakkasella ruisku voi jäättyä, mutta se ei liene suuri ongelma, koska harvoin lienee tarvetta maastossa tapahtuvaan merkintään talvella. Kesäaikana Panjet voi olla vakiovarusteena esim. sähkökalastusryhmällä, koska merkintä onnistuu maastossa yhtä hyvin kuin laitoksella.

Merkinnän voi tehdä yksinkin, mutta apulainen kalojen nukutuksessa ja niiden ojentajana nopeuttaa huomattavasti tapahtumaa. Hart ja Pitcher (1969) mainitsevat merkinneensä jopa 30 kalaa minuutissa, mutta Laufle ym. (1990) arvioivat merkintänopeudeksi yli 200 kalaa tunnissa. Jälkimmäinen luku kuulostaa realistiselta, jos nopeutta verrataan Simojoen lohismolttien merkintänopeuksiin, jotka olivat samaa suuruusluokkaa.

8.2. Yleisimmät käyttöalueet

Panjetia voidaan käyttää kalojen ryhmämerkintään erityisesti silloin, kun kalamäärät eivät ole kovin suuria (maks. tuhansia yksilöitä). Menetelmää on kokeiltu lukuisille kalalajeille, ja Hartin ja Pitcherin (1969) mukaan erityisen hyvin merkittäviksi sopivia kaloja olivat turpa, seipi, mutu ja jokibarbi. Kalojen koko saattoi vaihdella neljästä 60 senttiin. Merkki näkyi heikosti särjellä ja salakalla sekä kivisimpulla. Simpulla tosin suuttimen etäisyys kalan pinnasta oli 3-4 cm, kun kaikilla muilla lajeilla se oli 2-5 mm. Merkin näkyvyys oli keskimääräinen töröllä, ahvenella, kiiskellä, hauella ja kivenuoliaisella. Turvalla ja mudulla Alcian Blue - sininen merkki näkyi laboratorio-oloissa vielä 14 kuukauden, ja luonnosta pyydytyillä vuoden kuluttua.

Gollmann ym. (1986) pitivät Panjet-menetelmää parhaiten sopivana pituudeltaan 15-20 cm kaloille lajista riippumatta, joskin värin pysyvyys on sitä parempi, mitä pienisuoimuismuomasta kalasta on kyse. Siten esim. taimenen ja ankeriaan merkintä onnistui hyvin. Sen sijaan suuri- ja kovasuomuisilla kaloilla merkki ei pysy kovin hyvin, koska värisuihku ei tahdo läpäistä suomuja. Esim. kookkaassa jokibarbissa merkki oli vuoden kuluttua suhteellisen laimea, joskin selvästi näkyvä (vrt. Hart ja Pitcher 1969).

Panjetiin on saatavissa kolmea eri jäykkyyttä olevaa joustaa, jotka on tarkoitettu alle 10 senttisille, 10-20 senttisille ja yli 20 senttisille kaloille. Kovin pienet kalat, esim. 10 cm pituinen taimenen poikanen, on vaikea merkitä vahingoittamatta sitä. Myös Laufle ym. (1990) korostivat sitä, että alle 10 cm:n pituinen poikanen vahingoittuu ja kuolee helposti. He merkitsivät kokeissaan nieriää ja kahta pohjois-amerikkalaista siikalajia (*Coregonus sardinella* ja *C. autumnalis*).

Paras merkintäalue kaloilla on vaalea vatsapuoli, mistä väritäplä erottuu hyvin. Gollmanin ym. (1986) mukaan parhaat paikat ovat vatsaevien tyvet evien etupuoolella, missä kalan nahka ja lihakset ovat paksut ja hyvin kehittyneet suojaten sisäelimiä. Kalan kurkunseutua rintaevien välissä on syytä välttää, koska värisuihku läpäisee ohuen nahkan helposti, ja alla on vaurioitumiselle herkkiä ja elintärkeitä verisuonia ja sydän. Hart ja Pitcher (1969) neuvoivat merkkeämään pienet kalat pyrstön tyveen, ja yli 7,5 cm:n pituisia kaloja voidaan merkitä myös perä- ja selkäevään. Evämerkinnöissä he neuvoivat asettamaan nukutetun kalan märeille vaahtokumille, jota vasten levitettyyn evään värisuihku on helppo suunnata. Jos mahdollista, merkki tulisi tehdä eväruotoon. Yli 30 senttisiä kaloja voidaan merkitä lukuisiin paikkoihin, esim. kiduskansiin.

Kalojen koon kasvaessa merkintäkoodeja on lukemattomia. Merkki voidaan tatuoida vatsaevän etupuolelle tai kyljen puolelle, poskeen, eviin rintaevien tyveen, peräaukon eteen jne. Useampaakin merkkiä voidaan käyttää samalla yksilöllä, mikä lisää huomattavasti mahdollisuuksia. Samoin eri värejä on mahdollista käyttää, vaikka sininen Alcian Blue on osoittautunut parhaimmaksi. Hart ja Pitcher (1969) käyttivät sinisen ohella keltaista ja mustaa väriä. Musta väri pysyi ja näkyi hyvin, mutta keltainen hävisi näkyvistä viikon kuluessa merkinnästä. Laufle ym. (1990) käyttivät kokeissaan sinisen lisäksi punaista, vihreää ja keltaista mustetta, ja myöskin heillä keltainen väri erottui huonosti kalan vaalealta pinnalta, ja sen käytöstä luovuttiin. Tosin heidän mielestään keltaisen tai muiden vaaleiden värien käyttöä tummalla pohjalla pitäisi tutkia. Muut värit olivat käyttökelpoisia. Käytännön kokemuksen pohjalta esim. vihreä tai punainen väri ei ole hyvä kirjaviiden kalojen kuten punanieriöiden kylkimerkinnöissä. Vaikka väri pysyisikin hyvin, sen erottaminen saattaa olla hankalaa kalan oman pilkutuksen seasta (Kevin Davidson, suull. ilm.).

Kainuun kalantutkimus ja vesiviljelyssä tehdyissä Titaanivalkoinen-merkinnöissä tarkoituksena oli saada mustavalkoisessa videomonitorissa näkyvä valkea merkki kalan tummaan selkään. Lähekkäin tehdyillä 3-5 merkillä aikaansaatiin monitorissa näkyvä merkki, jonka pysyvyys oli 100 % kuukauden mittaisen seurannan aikana (Tapio Laaksonen, suull. ilm.).

8.3. Aineiston kerääminen ja käsittely

Perämeren kalantutkimusasemalla on käytetty Panjet-menetelmää Simojoen lohismolttien merkinnöissä kolmena keväänä poikasten vaellustappion selvittämiseksi. Kiiminkijoella menetelmää on käytetty keväällä 1998 vastaavaan tarkoitukseen (Kemppainen ja Hyvärinen 1999). Kevättalvella 1997 merkittiin Panjetilla pyyntikokoisia kirjolohia Pohjanmaalla pilkkikilpailujen saaliiden seuraamiseksi.

Sekä Simo- että Kiiminkijoella merkittyjä kaloja kerättiin smolttirysällä ja merkittyjen kalojen määrä laskettiin ennen niiden vapauttamista jatkamaan vaellustaan. Merkki erottui erittäin hyvin, eikä tulkintavaikeuksia ollut kuten Simojoella aiemmin käytetyllä polttomerkillä. On mahdollista, ettei polttomerkinä tehty kunnolla, mutta sen arviointi on vaikeaa siksi, että heti polttamisen jälkeen merkki erottui erinomaisesti. Oltuaan muutamia viikkoja laitoksessa ennen istutusta kalan limakerros ehti parantua niin, ettei smolttirysällä voitu aina olla varmoja, onko kyseessä polttomerkattu kala vai oliko kyseessä jokin muu pinta- tai suomuvaurio. Panjet-tatuoiduilla kaloilla ei näitä tulkintavaikeuksia ollut. Merkin erottamiseen ei tarvita mitään laitteita, vaan se havaitaan paljain silmin. Siksi suurienkin saaliiden seulonta sujuu nopeasti maasto-olosuhteissakin, eikä esimerkiksi sähköä tai erityistä havaintolaitetta tarvita.

8.4. Ongelmat

Sekä Hart ja Pitcher (1969) ja Laufle ym. (1990) olivat sitä mieltä, ettei merkintämenetelmästä ole haittaa kaloille, joskin Laufle ym. (1990) korostivat mahdollisten haittavaikutusten tutkimistarvetta. Saattaahan olla, että itse väriaine aiheuttaa sairauksia, stressiä, hidastaa kasvua tms. Simojoella kolmena vuonna tehtyjen merkintöjen perusteella menetelmän ei todettu aiheuttaneen minkäänlaista kuolevuutta merkityissä vaelluspoikasissa, joskin ne olivat seurannassa vain parisen viikkoa ennen istutuksia. Moffett ym. (1997) totesivat, että Panjet-merkittyjen lohien

eloonjäänti niiden palatessa kosseina vuoden kestäneeltä merivaellukselta oli selvästi pienempi (vain 46,8 %) kuin vertailuryhmänä olleiden kuonomerkittyjen kalojen. He epäilivät, että suurin syy kontrolliryhmää huonompaan eloonjääntiin oli värimerkinnän ajankohta (maaliskuu). Tällöin poikasten smolttiutuminen oli parhaillaan käynnissä, ja ne olivat herkkiä käsittelylle.

Merkin pysyvyyden puolesta Panjet osoittautui parhaimmaksi useista eri menetelmistä, sillä vuoden meressäolon jälkeen merkki näkyi 90 %:lla merkityistä, joskin se oli jonkin verran laajentunut ja himmentynyt. Tatuoitu merkki saattaa vaaleta ja laimeta kalan kasvaessa ja esim. smoltteina merkityissä lohissa mustetäplä ei välttämättä enää näy niiden palatessa merivaiheen jälkeen täysikasvuisena kudulle (Alan Youngson, suull. ilm.). Tämä on syytä muistaa merkintää suunniteltaessa.

8.5. Merkinnän kustannukset

Panjet-merkintä on menetelmänä halpa. Laite maksaa vajaa 2500 mk, varajousi kalan koon mukaan 40 mk ja 25 g:n purkki Alcian Blue - värijauhetta noin 10 000 kalan merkintään vajaat 250 mk. Kaikkia näitä voi tilata suoraan valmistajalta (Wright Health Group) Skotlannista. Titaanivalkoinen-värijauhe maksaa 34 mk / 500 g. Pelkästään väriaineesta johtuva kulut ovat 2-3 penniä kalaa kohden. Yleensä suurempia määriä merkittäessä kannattaa käyttää kahta henkilöä, joista toinen merkkää, ja toinen nukuttaa kaloja. Tällöin työ sujuu paljon nopeammin kuin yhdeltä ihmiseltä, vaikka yksinäänkin merkintä onnistuu.

8.6. Käytön rajoitukset

Niin kauan kuin kaloja saadaan nukuttaa ja käsitellä, pitäisi myös Panjet-merkintää voida käyttää. Vaikka menetelmän ja käytettyjen väriaineiden vaikutuksia kaloihin ei perusteellisesti olekaan tutkittu, saadut kokemukset puoltaisivat Panjetin käyttöä kalojen kannalta inhimillisenä menetelmänä. Muutoin käytön rajat määräytyvät aiemmin mainituista merkin pysyvyyteen ja näkyvyyteen liittyvistä tekijöistä sekä jossain määrin erilaisten koodien lukumäärästä.

Panjet-menetelmä sopii parhaiten 15-20 cm:n pituisten pienisuomuisten tai suomuttomien kalojen merkintään. Tällöin kala on sopivan kokoinen käsiteltäväksi, ja siinä on riittävästi pinta-alaa merkin sijoittamiseksi eri kohtiin. Liian pienet kalat saattavat vaurioitua merkinnässä, ja sopivien kohtien löytäminen merkillä on erittäin vaikeaa.

Kirjallisuutta

Gollmann, H. P., Kainz, E. ja Fuchs, O. 1986. Zur Markierung von Fischen unter besonderer Berücksichtigung der Anwendung von Farbstoffen und Pigmenten, insbesondere von Alcianblau 8 GS. Österreichs Fischerei 39: 340-345.

Hart, P. J. B. ja Pitcher, T. J. 1969. Field Trials of Fish Marking using a Jet Inoculator. J. Fish Biol. 1: 383-385.

Kelly, W. H. 1967. Marking freshwater and a marine fish by injected dyes. Transactions of the American Fisheries Society 96: 163-175.

Kemppainen, S. ja Hyvärinen, P. 1999. Lohen ja meritaimenen kotiutusistutusten seuranta Kiiminkijoella. Vuoden 1998 tulokset. Paltamo. Kala- ja riistaraportteja 142. 14 s. + 5 liitettä.

Laufle, J. C., Johnson, L. ja Monk, C. L. 1990. Tattoo-Ink Marking Method for Batch-Identification of Fish. American Fisheries Society Symposium 7: 38-41.

Moffett, I. J. J., Crozier, W. W. ja Kennedy, G. J. A. 1997. A comparison of five external marks for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Fisheries Management and Ecology 4: 49-53.

9. Suomessa tehtyjä ryhmämerkintäkokeiluja

TAPIO LAAKSONEN, TAINA LEINONEN JA PETRI KREIVI
RKTL / Kainuun kalantutkimus ja vesiviljely

9.1. Johdanto

Tähän lukuun on koottu julkaisematonta aineistoa Suomessa tehdyistä merkintäkokeiluista ja eri merkintämenetelmistä lajikohtaisesti. Merkinnän tekijät on haastateltu puhelimitse. Tässä luvussa esitetyt käsitykset perustuvat monelta osin merkitsijän henkilökohtaisiin havaintoihin; välttämättä ei siis ole tehty tieteelliset kriteerit täyttäviä mittauksia tai kokeita merkintään liittyen. Kaikkia merkintäkokeiluja ei ole sisällytetty tähän, vaan ne, joiden seuranta on järjestetty tyydyttävästi merkinnän jälkeen, jotta merkinnän onnistumistakin on voitu arvioida. Havainnot on jaoteltu menetelmän ja sen laitoksen mukaan, jossa kokeilu on tehty. Menetelmäkohtaisesti tässä esitettyjen havaintojen tekijät olivat seuraavat:

1. Otoliittimerkintä :

- Jarmo Makkonen: nieriä, kuha, järvilohi, järvitaimen, harjus ja planktonsiika
- Sirkka Heinimaa ja L. Arttijeffer-Kuosmanen: nieriä, järvilohi, järvitaimen, pohjasiika, harmaanieriä.
- Tapio Laaksonen: kuha

2. Radioaktiivinen merkintä:

- Kari Nyberg: hauki, harjus ja nahkiainen

3. Polttomerkintä:

- Antti Soivio: meritaimen
- Matti Salminen: kuha
- Kari Hietanen ja Aija Vilmi: merilohi
- Tuija Paananen ja Sinikka Sillman-Valle: kirjolohi
- Teuvo Niva: vaellussiika

4. Eväleikkaus:

- Rauno Hokki ja Tapio Laaksonen: merilohi
- Martti Rask: ahven.

5. Kuonomerkintä:

- Rauno Hokki: järvitaimen, muikku, harjus ja nahkiainen
- Heikki Mosorin: järvitaimen
- Leo Partanen: järvitaimen ja harjus

6. Ruiskuväriäysmenetelmä:

- Jyrki Autti: vaellussiika
- Tuomas Friman: merilohi, järvitaimen ja kuha
- Tapio Laaksonen: merilohi, järvitaimen ja kuha

7. Panjet-merkintä:

- Tuomas Friman: kirjolohi
- Tuija Paananen: kirjolohi
- Rauno Hokki: merilohi
- Tapio Laaksonen: merilohi, siika
- Pasi Korhonen: järvitaimen

9.2. Otoliittimerkintä

Saimaan kalantutkimus ja vesiviljely

Otoliittimerkintää väriaineena alitsariinipuna S on kokeiltu useilla kalalajeilla. Vanajaveden 1-2 -kesäisiä kuhia merkittiin kolmessa eri erässä. Ensimmäisessä erässä merkintä (altistusaika 24 h, pitoisuus 200 ppm) ei onnistunut, sillä kahden viikon kuluttua merkinnästä merkkiä ei ollut näkyvissä. Epäonnistuminen johtui mahdollisesti kalojen liian suuresta koosta (keskipituus 125 mm), veden alhaisesta lämpötilasta (10 °C) tai myöhäisestä merkintäajankohdasta (syyskuun loppu), jolloin kalojen aineenvaihdunta oli vähäistä. Kahdessa muussa erässä (2 h / 200 ppm, 7,5 h / 100 ppm) 1-kesäisten kuhien (keskipaino 5,5 g) merkintä ei onnistunut johtuen kalojen heikosta kunnosta. Näissä kahdessa erässä merkinnänjälkeinen kuolleisuus oli 89-100 %.

Menetelmää testattiin myös Vuoksen vesistön järvilohen ja järvitaimenen spa-mädillä. Järvitaimenia merkittiin 110 000 kpl (8 h / 50 ppm) ja järvilohia 325 000 kpl (8 h / 50 ppm) sekä kaksi 600 kpl erää (8 h, 25/75 ppm). Merkintä ei onnistunut yhdessäkään erässä. Veden lämpötila (2,8-4,5 °C) oli ehkä merkittäessä liian alhainen ja merkki, mikäli sitä tuli lainkaan, oli niin pieni, ettei se näkynyt stereomikroskooppilla normaalissa valossa. Merkinnästä aiheutuva kuolleisuus oli kuitenkin vähäistä.

1-kesäistä harjusta (keskipaino 2,8 ja 2,2 g) merkittiin pieniä erä 50 ja 150 ppm:n pitoisuudella (altistusaika 50 ppm 3h/6h ja 150 ppm 3h). 50 ppm pitoisuus osoittautui riittäväksi ja soveltuu hyvin käytettäväksi ainakin kyseisissä merkintäolosuhteissa (veden lämpötila 15 °C, pH 6,8). 150 ppm pitoisuus oli liian suuri, kuolleisuus oli kolmessa tunnissa 73 %. 50 ppm alitsariinipuna S pitoisuudella kuolleisuutta ei esiintynyt.

1-kesäistä planktonsiikaa (keskipaino 3,4 ja 3,9 g) merkittiin kaksi kymmenen kalan erää (3/4 h, 100 ppm). Viikon kuluttua merkinnästä kuolleisuus oli 3 tunnin erässä

40 % ja 4 h:n erässä 30 %. Kahden viikon kuluttua merkki näkyi kaikissa merkityissä kaloissa molemmissa erissä. Syntyneen merkin laatu ei ollut kovin hyvä, mikä johtui käytetyn merkintäaineen liian suuresta pitoisuudesta.

Sarmijärven kalanviljelylaitos

Eri kalalajien yksikesäisillä poikasilla tehtiin otoliittien värjäyskoe alitsariinipuna S:llä. Kokeessa käytettiin nieriöitä (keskipituus 84 mm, keskipaino 5,5 g), järvilohia (72 mm, 3,5 g), järvitaimenia (73 mm, 4,0 g), pohjasiikoja (76 mm, 2,6 g) sekä harmaanieriöitä (102 mm, 8,3 g). Värjäysajat olivat 3 ja 6 tuntia sekä pitoisuudet 75 ja 200 mg/l, joten jokaisesta lajista värjättiin neljä kahdensadan kalan erää. Koe-erät, joiden värjäysaika oli kuusi tuntia, merkittiin myös rasvaeväleikkauksella. Kuolleisuus oli vuorokauden kuluessa värjäyksestä useimmissa tapauksissa vähäistä (0-3 %). Poikkeuksina järvilohierä (200 mg/l 6 h), jossa kuolleisuus oli 12 % sekä pohjasiikaerät, joissa kuolleisuus oli 200 mg/l pitoisuudella 21 % (altistus aika 3 h) ja 13,5 % (altistus aika 6 h). 6 tunnin altistusajan ja 200 mg/l pitoisuuden koe-erillä kontrolloitiin merkin pysyvyyttä neljän ja puolen kuukauden kuluttua merkinnästä. Nieriällä ja järvilohella merkki näkyi erittäin hyvin, pohjasiialla ja harmaanieriällä suhteellisen hyvin ja järvitaimenella heikosti tai ei ollenkaan.

Kainuun kalantutkimus- ja vesiviljely

Alitsariinipuna S:llä kokeiltiin 0+-kuhan (49 mm, 0,89 g) merkintää. Merkintäerän suuruus oli 1000 kalaa, joiden merkitseminen vei yhden tunnin yhdeltä merkitsijältä. Veden lämpötila oli 17,8 °C ja pH 6,4. kaloja paastotettiin ennen merkintää 3 vrk. Merkinnän jälkeinen (0-7 vrk) kuolevuus oli suurta (52 %), mikä johtui mahdollisesti siitä, etteivät luonnonravintolammikosta laitokseen siirretyt kalat oppineet syömään kuivarehua. Merkkien pysyvyys yhdeksän kuukautta merkinnän jälkeen oli 100 %.

9.3. Radioaktiivinen merkintä

Saimaan kalantutkimus ja vesiviljely

Radioaktiivista merkintää on kokeiltu ($^{85}\text{SrCl}_2$ - leimaus) hauella, harjuksella ja nahkiaisella.

Hauet olivat 0+-ikäisiä (keskipituus noin 50-60 mm, keskipaino 1-2 g) ja niitä merkittiin veden lämpötilan ollessa 18 °C ja pH:n noin 6. Leimausaika 1,5 MBq/l (40 $\mu\text{Ci/l}$) aktiivisuudella oli 18 tuntia. Menetelmä toimi hyvin. Esikesäiset hauenpoikaset imivät hyvin leimausainetta ja merkinnästä aiheutuvaa kuolleisuutta ei ollut leimauksen aikana. Merkityt hauet istutettiin, mutta takaisinpyynnissä ei onnistuttu saamaan yhtään niistä takaisin.

Vastakuoriutuneita harjuksen ruskuaispussipoikasia merkittiin 1,4 MBq/l (37 $\mu\text{Ci/l}$) aktiivisuudella kaksi erää. Ensimmäisellä erällä merkintäaika oli 48 tuntia ja toisella 36 tuntia. Poikaset merkittiin kesäkuussa ja toisen merkintäerän poikasia pyydystettiin takaisin kesäkuusta elokuun alkuun. Leima säilyi havaittavana 50 vuorokauden ajan. Leimaus ei vaikuttanut harjusten kasvuun ja leimauksen aiheuttama kuolleisuus oli vähäistä (alle 1%). Takaisin pyydytyissä leimatuissa kaloissa ei havaittu epämuodostumia. Menetelmä toimii siis hyvin harjuksen vastakuoriutuneiden poikasten merkitsemisessä.

$^{85}\text{SrCl}_2$ - leimauksella merkityt nahkiaiset (Siikajoesta mereen laskeutuvat osittain kirkkaat vastakuoriutuneet likomadot) olivat noin 4-5 - viikkoisia (keskipituus noin 100 mm, keskipaino noin 1-2 g). Nahkiaiset merkittiin 1,5 MBq/l (40 $\mu\text{Ci/l}$) aktiivisuudella ja 10 °C merivedessä Kalajoen edustalla. Merkintäaika oli kaksi

vuorokautta. Merkit olivat tunnistettavissa hyvin ensimmäisen kesän ajan. Merkin­nän haittavaikutuksia tutkittiin kuukauden pituisella sumputus­kokeilla Kalajoen edustalla. Sumputuksen aikana ei havaittu ulkoisia vaurioita, mutta sumputus­aika oli ehkä liian lyhyt ulkoisten vaurioiden syntymiseen.

9.4. Polttomerkintä

Tornionjoen kalanviljelylaitos

Tornionjoen 2-vuotiaita meritaimenia (merkintäerien keskipituus vaihteli 173 - 182 mm, keskipaino 55,0 - 67,7 g) merkittiin huhtikuussa polttomerkillä tutkittaessa valojakson vaikutusta smoltituumiseen 75 000 kalan merkintään kului kolmelta henkilöltä kuusi päivää. Merkkien seurannassa huomattiin, että merkinnän ja seurannan tulisi hoitaa samat henkilöt, jolloin merkkien tulkinta olisi helpompaa. Tornionjokeen istutettavia 1-vuotiaita (keskipituus 70 mm, keskipaino 2,8 g) lohia merkittiin kuumapoltolla. Kalojen havaittiin olevan liian pieniä polttomerkintään.

Evon kalantutkimus ja vesiviljely

Vanajaveden 1-kesäisiä kuhia (keskipituus noin 71-90 mm, keskipaino noin 2,3-4,7 g) merkittiin polttomerkillä tutkittaessa kuhanpoikasten iän ja koon vaikutusta istutustulokseen ja kasvatuksen kannattavuuteen. Veden lämpötila oli 10-14 °C ja pH noin 6,5. 50 000 kalan erän merkitsemiseen merkitsijät käyttivät yhteensä 15 työpäivää. Kuolleisuus vaihteli 0-7 vuorokautta merkinnästä 1-10 % ja 7-30 vuorokautta merkinnästä 4-25 %. Merkitsijän mukaan menetelmä on aika työläs ja kuolevuus tämän kokoisilla kuhilla suuri. Kun poikanen on selviytynyt merkinnästä, vaikutukset sen jälkeen ovat ilmeisesti olemattomat. Merkin havaittavuuskin on aiemmin tehtyjen kontrollien perusteella hyvä.

Perämeren tutkimusasema

Simojokeen istutettuja 0-2 -vuotiaita merilohia on merkitty maaliskokuussa (kerran syyskuussa). 0- ja 1-vuotiaille merilohille polttomerkintä on soveltunut huonosti tai ei ollenkaan, 2-vuotiaille hyvin.

Tervon kalantutkimus ja vesiviljely

Kylmäpolttomerkintää on käytetty 1-vuotiaille kirjolohille (keskipaino 40-70 g) perhemerkintään usean vuoden aikana. Merkintäaikana veden lämpötila on ollut 0,2-2 °C ja pH noin 7. Merkintää on edeltänyt 7-14 vuorokauden paasto. Merkinnässä on päädytty 1,5 sekunnin kolvin kosketusaikaan. Merkintäkuolleisuus on 1 viikon - 3 kuukauden kuluttua merkinnästä vaihdellut 5-15 %. Kun merkintälämpötila muuttui 0,2->2 °C, merkintäkuolleisuus oli ratkaisevasti pienempi.

Taivalkosken kalantutkimus ja vesiviljely

Kemijoki Oy:n rahoittamassa selvityksessä, jonka tarkoituksena oli dokumentoida vaellussiikojen kutunousua Kemijärvestä Ylä-Kemijoelle, käytettiin polttomerkintää. Koska poikasille tarkoitetuissa laitteissa käytettävä ohut 0,2-0,3 mm:n merkintälanka ei sovellu isojen kalojen merkintään, valmistutettiin helsinkiläisellä Sähkösepot Ky:llä kaksi 0,8 mm merkintälankaa käyttävää polttomerkintälaitetta. Merkintälaitetta testattiin kesäkuun alussa polttomerkintäemällä 26 kappaletta keskipituudeltaan 338 mm:n siikaa I-, V-, S-, U- (leveäpohjainen) ja L -koodeilla. Merkintäkohdat olivat siian vasemman kyljen kylkiviivan yläpuolella kalan etupäässä (1) ja kalan takapäessä (2), kylkiviivan alapuolella kalan etupäässä (3) sekä takapäessä (4) ynnä kiduskannassa (5). Siikat kontrolloitiin heinäkuun puolivälissä, jolloin kaikki koodit

olivat helposti luettavissa S-koodia ja kiduskansikohtaa lukuun ottamatta. Kaikkia koodeja käytettäessä merkintälangan oli oltava yhtä pitkä, jotta lanka hehkuisi sopivasti. Siksi S-koodin peittämä pinta-ala kalan iholla oli pienempi kuin muilla koodeilla ja tämä aiheutti merkintäalueen tulehtumista. Kiduskannen iho oli puolestaan niin ohut, ettei siihen jäänyt kunnolla erottuvaa merkintäjälkeä. S-koodi korvattiin varsinaisissa merkinnöissä A-koodilla eikä merkintöjä tehty kiduskanteen.

9.5. Eväleikkaukset

Montan kalanviljelylaitos

1-kesäistä planktonsiikaa (keskipituus 90-110 mm, keskipaino 5-10 g) merkittiin noin 30 000 kappaleen erä rasvaeväleikkauksella määritettäessä luonnonravintolammikon tuotantoa Petersen-menetelmällä. Merkintään kului neljältä henkilöltä neljä päivää. Veden lämpötila oli 15-20 °C ja pH noin 7. Kuolleisuus 7 vuorokauden kuluessa oli < 1%.

Kainuun kalantutkimus ja vesiviljely

Kiiminkijokeen istutettavia 2-vuotiaita merilohia (161 mm, 39,7 g) merkittiin rasvaeväleikkauksella kuuden vuorokauden aikana yhteensä 20 000 kappaletta. Kuolleisuus ensimmäisen viikon aikana merkinnän jälkeen oli 1 %.

Evon kalantutkimus ja vesiviljely

Eväleikkauksilla on merkitty tuhansia ahvenia ja särkiä kanta-arvioinnin tekemiseksi. Veden lämpötila on ollut 5-15°C. Työpari on merkinnyt noin 1000 kalaa päivässä, paastoa tai nukutusta ei ole käytetty. Merkityt kalat ovat olleet 2-3 -vuotiaita tai vanhempia, keskipituudeltaan 9-13 cm. Merkintäkuolleisuutta ei ole havaittu (luonnollinen kuolleisuus n. 30%). Käytetty merkintämenetelmä soveltuu ahvenen karkeaan populaatiokoon arviointiin.

9.6. Kuonomerkintä

Taivalkosken kalan- ja riistantutkimus

Kuonomerkillä on merkitty 1-vuotiaita (keskipaino 3,1) taimenia (Jyrävän yläpuolinen kanta). Tavoitteena oli istutusvelvoitteen seuranta. Taimenia merkittiin kahtena keväänä (3800 kpl ja 3580 kpl). Jälkimmäisen erän kohdalla viikon seurannan jälkeen merkin pysyvyys oli 97 %. Erän merkintään kului yhdeltä henkilöltä kolme päivää, josta laitteistojen valmisteluun, desinfiointiin ym. kului lähes kaksi päivää. Merkintä onnistui parhaiten, kun kalaparvi on seulottu tasakokoiseksi. Merkinnän seurannassa toimiva detektori maasto-oloissa on hiukan kyseenalainen ja heikentää koko menetelmän käyttökäytännöä.

Kallunkijärven 0+-muikkuja merkittiin 2424 kappaleen (keskipituus 90 mm, keskipaino 4,5 g) erä. Merkinnän kustannukset olivat 1700 mk ja aikaa kului yhdeltä henkilöltä 6,5 tuntia. Kaloja ei istutettu, vaan ne jätettiin emokalaparveksi laitokselle. Veden lämpötila oli 4,5 °C ja pH 6,6. Merkintäkuolleisuutta ei esiintynyt. Kuuden ja puolen kuukauden kuluttua merkkien pysyvyys oli 85,1 %. Muikkujen kuonomerkintä onnistui hyvin. Kalojen käsittelyssä oltiin varovaisia suomujen irtoamisen ehkäisemiseksi ja siinä myös onnistuttiin. Muottina käytettiin valmiita "siika"-muotteja. Parempi merkin pysyvyys saataneen, jos muikulle tehdään oma muotti.

Lijoen kantaa olevia harjuksia merkittiin pienempi 383 kappaleen (kalojen keskipituus 100 mm ja paino 6,0 g) erä samaan aikaan muikkujen merkinnän kanssa. Merkintä liittyi Kurtinjärven tehokalastuksen tutkimuksiin. Aikaa kului yhdeltä henkilöltä yksi tunti ja kustannukset olivat 200 mk. Merkintäkuolleisuutta ei esiintynyt. Merkkien pysyvyys oli seitsemän kuukauden kuluttua 99,7 %. Kuonomerkintä sopi harjukselle hyvin, vaikka sille ei tehty erikseen omaa muottia, vaan käytettiin siikamuottia. Kuonomerkinnän ei havaittu vaikuttavan kalojen kasvuun. Ennen pysyvyys-/kuolleisuuskoetta merkittiin samasta luonnonravintolammikosta 1802 harjusta Kurtinjärveen. Niitä seurattiin kuusi vuorokautta. Merkin pysyvyys oli 100 % ja kuolleisuus 0,3 %.

Siipojen 8 viikon ikäisiä nahkiaisia (135 mm, noin 5 g) on merkitty merivaelluksen pituuden ja jokiuskollisuuden selvittämistä varten. Yksi henkilö merkitsi tunnissa noin 200 yksilöä. Merkintäkuolleisuutta ei esiintynyt. Merkin pysyvyys kolmen viikon kuluttua merkinnästä oli 99,7 %. Kuonomerkintä oli nahkiaisella hieman hitaampaa kaloihin verrattuna. Merkki sijoitettiin kaloista poiketen lihakseen.

1-vuotiaita järvitaimenia (77 mm, 4,6 g) merkittiin kuonomerkillä tutkittaessa järvitaimenen kotiutusta Korpuanjoelle. 3690 kalan merkintään kului yhdeltä henkilöltä kolme vuorokautta (sisältäen matkat, merkintävalmistelut, merkinnän, kontrollin ja laitteiston purkamisen). Kokonaiskustannukset olivat noin 7500 mk. Merkintähetkellä veden lämpötila oli 4,5 °C. Merkinnän aiheuttama kuolleisuus oli vain 0,7 %. Vuoden kuluttua istutuksesta suoritettuna sähkökalastuksen perusteella kaikki alueelta tavoitetut 2-kesäiset taimenyksilöt olivat kuonomerkittyjä.

Lijoen pääuoman koskialueilla 1-kesäisiä harjuksia (96 mm, 6,0 g) merkittiin harjuksen luonnonvaraisen lisääntymisen arvioimiseksi. Merkintä kesti kahdelta henkilöltä (20 193 kpl) kalojen kiinniotto ja merkinnän valmistelut mukaan lukien 10 työpäivää. Merkintäkustannukset olivat noin 20 000 mk. Veden lämpötila oli noin 5 °C. Merkintäkuolleisuus oli 0,1 % ja merkin pysyvyys viikon kuluttua merkinnästä 96,9 %. Vuoden kuluttua istutuksesta joesta pyydystetyistä poikasista (2-kes.) noin 40 % oli kuonomerkittyjä. Seuranta jatkuu edelleen, mutta kalojen merkkien kontrollointi on vaikeaa, koska vanhetessaan kalat hajaantuvat yhä laajemmalle alueelle. Kasvuun ei kuonomerkinnällä näyttänyt olevan vaikutusta.

Voimalohi Oy

Lijoen 1-kesäistä harjusta (97 mm, 6,1 g) merkittiin harjuksen luonnontuoton ja istutusten osuuksien arvioimiseksi Kemijoen Sierilän voimalaitoshankkeen vaikutusalueella. 25 047 kalan merkintä (sisältäen kalojen kiinnioton, merkinnän valmistelut, merkinnän ja viikkokontrollit) vei 15 työpäivää yhdeltä henkilöltä ja kustannukset olivat noin 25 000 mk. Merkinnässä käytettiin siialle valmistettua muottia. Merkintäaikana veden lämpötila oli 6,7 °C. Merkin pysyvyys oli viikon kuluttua merkinnästä 99,0 %.

9.7. Ruiskuvärjäysmenetelmä

Voimalohi Oy

Ruiskuvärjäyksellä on merkitty Kemijoen 1-kesäistä (merkintäerien keskipituus vaihteli 90-101 mm, keskipaino 4,0-5,6 g,) vaellussiikaa istutusten vaikutusten tutkimiseksi. Siikoja merkittiin kolme yli miljoonan kalan erää: vihreällä, keltaisella ja punaisella värijauheella. Merkinnässä käytetyn pistoolin ilmanpaine oli 6 bar. Värijauhetta kului 0,83-0,95 kg 10 000 kalaa kohden ja väriaineen hinta oli noin 140 mk/kg. Veden lämpötila oli 4,2-8,4°C.

Kuolleisuus kahden ensimmäisen vuorokauden jälkeen keltaisella väriaineella oli 9 sumputuserässä keskimäärin 3,7 % (kontrolliryhmissä keskimäärin 2,2 %), punaisella väriaineella 10 vuorokauden kuolleisuus oli toisessa erässä 12,4 % ja toisessa 0,5 % (kontrolleissa 1,2 ja 0 %) sekä vihreällä väriaineella kahden ensimmäisen viikon aikana 1,1 % (kontrolliryhmässä 0,7 %) ja seuraavan 2,5 kuukauden aikana 2,5 % (kontrolli 1,75 %).

Merkintävärin pysyvyyttä tutkittiin keltaisella ja vihreällä värillä. Keltainen merkki oli säilynyt 6 kuukauden kuluttua 100 % ja vielä kahden vuoden kuluttua 96,2 % merkityistä kaloista. Vihreä väri näkyi 7 kuukauden kuluttua kaikissa merkityissä kaloissa. Menetelmä oli nopea, parhaimmillaan kolme henkilöä pystyi merkitsemään 100 000 kalaa päivässä kahdella laitteistolla.

Tornionjoen kalanviljelylaitos

Istutettavia Tornionjoen lohia merkittiin oranssilla ja vihreällä värillä. Merkittäviä kaloja oli 30 160 kappaletta ja merkintä kesti noin 12 tuntia. Veden lämpötila oli 4,1 °C ja pH 6,9. Merkin pysyvyys vuoden kuluttua oli 90 %. Menetelmä ei sovi alle 5 g:n lohille. Lisäksi merkittyjen kalojen seurannan järjestäminen oli vaikeaa.

Kainuun kalantutkimus ja vesiviljely

Kiiminkijokeen istutettavia merilohia (0+, 1-v) merkittiin keltaisella ja punaisella ruiskuvärijäyksellä neljässä eri erässä. Merkittävien kalojen keskimääräinen pituus oli 69-90 mm ja paino 2,5-9 g. Istutuserien, joiden koko vaihteli 40 000-57 162 kappaleeseen, merkintään kului noin yksi työpäivä. Työn lisäksi kustannuksia kertyi hieman alle tuhat markkaa per istutuserä. Merkintäpistoolin ilmanpaine oli aina 8 bar ja värin pitoisuus 1:1. Merkinnän aikana veden lämpötila oli välillä 1,8-9,7 °C ja pH 6,7-6,9. Kalojen kuolleisuus seitsemän päivää merkinnän jälkenn oli alhainen (0,4-1,2 %). Riippumatta siitä merkittiinkö kaloja syyskuussa vaiko maaliskuussa, värimerkkien pysyvyys oli seuraavan kesän alkuun korkea (87-100%), mutta kesän ja alkusyksyn aikana merkin pysyvyys laski nopeasti, niin että marraskuun alussa merkki havaittiin enää 30-65 % kaloista. Pysyvyysprosentit eivät laskeneet juurikaan talven ja kevään aikana, vaan jälleen seuraavan kesän ja alkusyksyn aikana. Ruiskuvärijäysmerkinnällä ei huomattu olevan vaikutusta lohen kasvuun.

1-kesäisiä kuhia (emokalaparvi) merkittiin marraskuussa kaksi erää: 782 kappaletta (keskipaino 2,9 g) ja 559 kappaletta (keskipaino 3,1 g). Veden lämpötila oli 2,6 °C ja pH 6,8. Kummankin erän merkintään kului 10 minuuttia ja merkintäkuolleisuus oli 0,4 % (0-7 vrk). Käytetty väri oli punaisen ja keltaisen värin sekoitusta (pitoisuus 1(sekoite):1(vettä)) ja paine oli ensimmäiselle erälle 8 bar ja jälkimmäiselle erälle 9 bar. 9 bar paineella oli merkkien pysyvyys parempi; vuoden kuluttua se oli 90 % ja kahden vuoden kuluttua 48 %. 8 bar paineella merkkien pysyvyydet oli vastaavasti 70 % ja 32 %. Merkintäkustannukset työn lisäksi olivat kummankin erän osalta 100 mk.

Esikesäisiä kuhia (emokalaparvi) on merkitty 1000 kappaleen erä (49 mm, 0,89 g) punaisella värillä (pitoisuus 1:1, paine 9,3 bar). Veden lämpötila oli 18 °C ja pH 6,5. Merkintäkuolleisuus oli seitsemän vuorokautta merkinnästä 46,8 %, kun se kontrolliryhmässä oli 14,3 %. Suuren kuolleisuuden arveltiin johtuvan siitä, etteivät luonnonravintolammikosta pyydetty ja paastolla (3 vrk) pidetyt kalat laitoksella oppineet syömään kuivarehua. Yhdeksän kuukautta merkinnän jälkeen kaikissa elossa olevissa kaloissa näkyi merkki. Merkintään kului aikaa 10 minuuttia ja kustannukset työn lisäksi olivat 100 mk.

9.8. Panjet-merkintä

Tornionjoen kalanviljelylaitos

1-vuotiaita kirjolohia merkittiin kahdessa eri erässä (150 kpl ja 900 kpl) (keskipituus 215 mm ja 160 mm, keskipaino 105 ja 40 g) elo-syyskuussa altistuskokeita varten. Jälkimmäistä erää merkittäessä veden lämpötila oli 13 °C ja pH 6,3. Merkintälaitteessa käytettiin jousta S1A/F1 (tarkoitettu kaloille, joiden pituus on 10-20 cm), sekä S1A/F2 (tarkoitettu kaloille, joiden pituus on alle 10 cm). Aineitten ja tarvikkeitten kustannukset olivat noin 500 mk. Merkintänopeus oli 33 erilaisella koodilla ja 6 merkintäpisteellä (vatsanahassa rintaevien etupuolet yksi pari rinnakkain, takapuolella yksi pari rinnakkain, kolmas pari vatsaevien etupuolet) noin 100 kpl/h. Ensimmäisessä erässä ei seitsemän päivän jälkeen merkinnästä esiintynyt kuolleisuutta, toisessa erässä kuolleisuus oli 0,2 %. Kahdeksan viikon päästä kokeen loputtua merkki oli nähtävissä kaikissa kaloissa.

Tervon kalantutkimus ja vesiviljely

Panjet-menetelmää kokeiltiin perhemerkintätarpeisiin kirjolohen valintajalostuksessa, jolloin 180 kpl 1-vuotiaita kirjolohta (keskipaino 50 g) merkittiin yhden päivän aikana (lämpötila 1,2 °C, pH 7 ja kaloja paastottiin viikko). Merkintäkoodeja (paikka / väri) todettiin olevan perhemerkintään liian vähän. Käytettävissä olivat vain vaaleat vatsanosat (edessä, keskellä, takana) ja eri väri vaihtoehdot, joten mahdollisten merkintäkoodien lukumäärä on 3*värien määrä. Merkinnässä käytettiin vain sinistä väriä. Merkin pysyvyys vuoden kuluttua oli 70 % ja kahden vuoden kuluttua 22 %. Merkinnästä ei todettu olevan haittaa kalan kasvulle.

Kainuun kalantutkimus ja vesiviljely

Menetelmää on käytetty 2-vuotiaiden merilohien (keskipituus 161 mm, keskipaino 39,7 g) vaelluskuolleisuuden seurannassa. 6000 merilohta merkittiin Alcian Blue-merkillä 11 tunnin aikana keväällä 1998. Käytetty värin pitoisuus oli noin 64 g/l. Merkintäkuolleisuus ensimmäisen viikon aikana oli 1,2 %. Merkintäkustannukset olivat 200 mk (+ työkustannukset). Merkki näkyi hyvin seuraavana kesänä. 7-vuotiaita siikoja (keskipaino 2200 g) merkittiin 47 kappaletta emokalaparven siikavuosisluokkien erottamiseksi toisistaan. Siikat merkittiin peräevään. Merkki ei kuitenkaan ollut 100 % pysyvä. 1-vuotiaita järvitaimenia (50 kpl) merkittiin valkoisella merkillä (titaanivalkoinen). Jotta aikaansaatiin videokameran kautta mustavalkomonitorissa näkyvä merkki jouduttiin ampumaan useita pisteitä. Värin pitoisuus oli 80 g/l. Työ kesti tunnin, veden lämpötila oli 2,2 °C. Merkintäkuolleisuutta ei ollut. Merkin pysyvyys kuukauden kuluttua oli 100 %.