



Suomen elinkeinokalatalouden
toimintaohjelma
2007-2013



Elinkeino-, liikenne- ja
ympäristökeskus



ITÄ-SUOMEN
YLIOPISTO



Luke
NATURAL RESOURCES
INSTITUTE FINLAND

LOPPURAPORTTI

Pilottihanke 1003453

28.10.2015

Lapin ELY-keskus
PL 8060
Hallituskatu 3 B
96101 Rovaniemi



Laitosviljelyyn soveltuvan ahvenen emokalaston tuotanto

Laura Härkönen^{1,2}, Pekka Hyvärinen³, Ville Aro¹, Lotta Eela¹, Aslak Eronen¹, Ursula Strandberg^{1,4},
Anssi Vainikka¹

¹Itä-Suomen yliopisto, Biologian laitos, PL 111, 80101 Joensuu

²Oulun yliopisto, Ekologian laitos, PL 3000, 90014 Oulun yliopisto

³Luonnonvarakeskus, Kainuun Kalantutkimus, Manamansalontie 90, 88300 Paltamo

⁴Ryerson University, Department of Chemistry and Biology, 350 Victoria Street, Toronto, Ontario, Canada, M5B 2K3



Sisällysluettelo

1. Hankkeen tausta.....	4
2. Hankkeen toteutus.....	5
2.1. Laitoskasvatetun ahvenen ominaisuudet	5
2.1.1. Ahvenen kasvupotentiaali, sukukypsyminen ja kuolleisuus laitosolosuhteissa	5
2.1.2. Seurannan materiaali ja menetelmät.....	6
2.1.3. Laitoskasvatettujen ahventen käyttäytyminen.....	6
2.1.4. Käyttäytymisseurannan menetelmät	7
2.2. Uuden laitosviljelyyn soveltuvan ahvensukupolven tuottaminen	7
2.2.1. Kasvuun perustuva emokalojen valinta.....	7
2.2.3. Käyttäytymiseen perustuva emokalojen valinta.....	10
2.2.4. Käyttäytymisvalintakokeen menetelmät.....	10
2.2.5. Alkuruokintamenetelmän vaikutus starttimenestykseen	12
2.2.6. Alkuruokinnan menetelmät	12
2.2.7. Pienpoikasten lampikasvatus ja oppiminen kuivarehulle.....	13
2.2.8. Sosiaalisen oppimisen kokeiden menetelmät.....	13
2.2.9. Pienpoikasten käyttäytyminen suhteessa vanhempien ominaisuuksiin	14
2.2.10. Pienpoikasten käyttäytymismittauksen menetelmät.....	15
2.3. Laitoskasvatuksen ja ravinnon vaikutus ahvenfileen rasvahappokoostumukseen.....	16
2.3.1. Rasvahappoanalyysien menetelmät.....	16
3. Tulokset.....	20
3.1. Laitoskasvatuksen vaikutukset ahvenen ominaisuuksiin	20
3.1.1. Ahvenen kasvupotentiaali, sukukypsyminen ja kuolleisuus laitosolosuhteissa	20
3.1.2. Laitoskasvatettujen ahventen käyttäytyminen.....	21
3.2. Uuden laitosviljelyyn soveltuvan ahvensukupolven tuottaminen	22
3.2.1. Kasvuun perustuva emokalojen valinta.....	22
3.2.2. Käyttäytymiseen perustuva emokalojen valinta.....	24
3.2.3. Alkuruokintamenetelmän vaikutus starttimenestykseen	25
3.2.4. Pienpoikasten lampikasvatus ja oppiminen kuivarehulle.....	27
3.2.5. Pienpoikasten käyttäytyminen suhteessa vanhempien ominaisuuksiin	28
3.3. Laitoskasvatuksen ja ravinnon vaikutus ahvenfileen rasvahappokoostumukseen.....	29



3.3.1. Rehun vs. kalasilpun vaikutus rasvahappokoostumukseen	29
3.3.2. Kuore- vs. särkisilpun vaikutus rasvahappokoostumukseen	31
3.3.3. Ahventen ravintokalojen sekä rehun rasvahappokoostumus.....	34
4. Tulosten tarkastelu.....	35
4.1. Menestyvä viljelyahven – laitosoloihin soveltuvan emokalaston ominaisuudet	36
4.1.1. Ahvenen kasvupotentiaali, sukukypsyminen ja kuolleisuus laitosolosuhteissa	36
4.1.2. Käyttäytyminen ja sen kytkeytyminen kasvunopeuteen ja vastustuskykyyn	36
4.2. Laitokseen soveltuvan emokalaston tuotanto	36
4.2.1. Kasvuun ja käyttäytymiseen perustuva emokalojen valinta	36
4.2.2. Uuden ahvensukupolven menestyminen ensimmäisen kasvukauden aikana	37
4.2.3. Pienpoikasten luonne ja ravintokäyttäytyminen suhteessa vanhempien ominaisuuksiin ..	38
4.3. Viljellyn ahvenfileen terveellisyys ja luonnonmukaisuus	39
4.4. Tulosten sovellettavuus ja yhteenveto	41
5. Budjetin toteutuminen.....	42
6. Kirjallisuus	43



1. Hankkeen tausta

Vesiviljely on kansainvälisesti yksi nopeimmin kasvavista ravinnontuotannon aloista, ja arvoltaan noin kolmasosa globaalista ravinnon kulutuksesta koostuu kaloista ja äyriäisistä (FAO, 2014). Suomen yleisin kalalaji, ahven (*Perca fluviatilis*), on arvostettu ruokakala, jonka vuosisaalis vapaa-ajankalastuksessa vuonna 2012 oli 6,6 miljoonaa kiloa ja ammattikalastuksessa 1,05 miljoonaa kiloa vuonna 2013 (RKTL 2014). Suomen sisävesistä pyydetty ahven on kuitenkin pääasiassa kooltaan pientä ja kaupalliseksi filekalaksi huonosti soveltuvaa. Myöskään ahvenen saatavuutta ei pystytä takaamaan varsinkaan kelirikkokausina. Suhteellisen korkean kauppahinnan ja etenkin Keski-Eurooppaan suuntautuvan vientipotentiaalin vuoksi filekokoinen ahven tarjoaa mahdollisuuksia sen kannattavalle tuotannolle vesiviljelyn keinoin. Vaikka menetelmät ahvenen tehokkaaseen viljelyyn ovat osittain vasta kehitteillä, on ahvenen nykyinen viljelytuotanto ruokakalaksi muualla Euroopassa (erityisesti Irlannissa, Sveitsissä ja Ranskassa) jo noin 400 tonnia vuodessa (FAO, 2014).

Ahvenen viljelyä on kokeiltu Suomessa erilaisissa hankkeissa, mutta kaupallista ruokakalatuotantoa ei ole aloitettu. Olemme tätä nyt kuvattua hanketta edeltäneessä, Kainuun ELY-keskuksen myöntämässä ja Kainuun-Koillismaan kalatalousryhmän rahoittamassa pienimuotoisessa pilottihankkeessa (Vainikka et al., 2015) selvittäneet, kuinka villiä alkuperää oleva ahven oppii keinoravinnolle ja kasvaa sillä. Pilottihankkeessa havaittiin, että intensiivikasvatukseen ja keinoravinnolle siirtyminen aiheutti luonnonravintolammikossa alkukasvatetuissa 1+ -ikäisissä ahvenissa korkeaa kuolleisuutta, ja tämä johtui vaikeuksista oppia syömään tehdasteikoista rehua (Vainikka et al., 2015). Tulosten perusteella ahvenen viljelyä voitaisiin kannattavasti harjoittaa erityisesti, jos ahvenen kasvatuksessa käytettävä ravinto kuten vähäarvoinen särkikala tai kuore saataisiin hoitokalastusprojektien tuotteena tai ammattikalastuksen sivusaaliina. Lisäksi ahvenen kykyä oppia lajitovereilta ja muilta kaloilta voitaisiin käyttää hyväksi vaiheessa, jolloin ahventen tulisi siirtyä tehdastekoiselle rehuravinnolle.

Vuonna 2014 toteutetussa pilottihankkeessa käytettyjen ahventen suhteellisen korkea (44 - 73 %) kuolleisuus laitokseen siirtämisen jälkeen tarkoitti väistämättä voimakasta valintaa viljelylaitosolosuhteisiin sopeutumisen suhteen. Tässä hankkeessa korkean laitosten kuolleisuuden kautta valikoitunutta ahvenmateriaalia käytettiin jatkotutkimuksiin, joiden päätavoitteina oli: 1) tutkia laitospasvatuksessa menestyvien emoahventen ominaisuuksia sekä seurata emokalaston toisen intensiivikasvatuskauden aikaista kasvua, 2) tuottaa laitosten viljelyyn entistä soveltuvampi uusi ahvensukupolvi sekä seurata koon suhteen valittujen valintalinjojen ahventen alkuvaiheen kasvua, kuolleisuutta ja kehitystä suhteessa villien ahventen jälkeläisten verrokkiryhmään kokeellisissa olosuhteissa; ja 3) arvioida laitosten viljelyn ahvenen luonnonmukaisuutta ja terveellisyyttä ihmisravintona selvittämällä eri ravinnolla kasvatettujen ahventen rasvahappokoostumusta suhteessa villien järviahventen rasvahappokoostumukseen.



2. Hankkeen toteutus

Hanke toteutettiin Luonnonvarakeskuksen Kainuun Kalantutkimusasemalla (www.kfrs.fi) Paltamossa 19.1.2015 - 30.9.2015. Tutkimushankkeessa käytetty ahvenmateriaali oli tuotettu keväällä 2012 ryhmäkudettamalla 300 luonnosta pyydettyä 100-400 g Oulujärven ahventa keinoturoille 50 m² ulkoaltaassa. Kudetuksen, laitoshaudonnan ja kahden kesän luonnonravintolammikkokasvatuksen kautta saatua poikasmateriaalia (alun perin n. 17 000 yksilöä) käytettiin vuoden 2014 pilottikokeissa (Vainikka et al., 2015). Pilottikokeissa sovellettiin ns. tandem-kasvatusmenetelmää (Toner and Rougeot, 2008), jossa luonnonravintolammikosta pyydettyjä ahvenia siirrettiin laitosolosuhteisiin 2. kesän lopulla ja jatkokasvatettiin joko rehuravinnolla tai sekaravinnolla, jossa rehun lisäksi tarjottiin kuoresilppua. Pilottikokeen jäljiltä tämän hankkeen käytettävissä oli n. 2000 ahventa, jotka olivat käyneet läpi voimakkaan valinnan viljelylaitosolosuhteisiin sopeutumisen suhteen. Lisäksi tätä hanketta varten pyydystettiin pilkkimällä ja katiskoilla n. 220 Oulujärven villiä verrokkiahventa.

2.1. Laitoskasvatetun ahvenen ominaisuudet

Laitosviljelyn tiedetään karsivan stressille herkkiä yksilöitä ja johtavan viljelyssä olevan ahvenkannan stressiherkkyyden alentumiseen (Douxflis et al., 2011). Uutta laitossukupolvea suunniteltaessa haluttiin ensin selvittää yhden sukupolven laitosvalinnan ja laitosoloihin aklimoitumisen vaikutuksia viljeltävän ahvenen käyttäytymisominaisuuksiin. Uusimpien tutkimusten mukaan kasvunopeus ja käyttäytyminen ovat kytkeytyneitä keskenään, mutta ne liittyvät myös muihin piirteisiin, kuten stressinsietokykyyn, metaboliaan ja immuunipuolustukseen (esim. Jentoft et al., 2005; Réale et al., 2010; Niemela et al., 2013). Esimerkiksi puhtaasti kokoon perustuva valinta saattaisi tahattomasti karsia myös muita ahvenen viljelyn kannalta oleellisia ominaisuuksia, jotka välillisesti vaikuttavat poikasten kasvuun ja selviytymiseen. Hyvä stressinsietokyky ja immuunipuolustus ovat tärkeässä osassa myös kalaston hyvinvoinnin kannalta, sillä esim. kalojen käsittely altistaa stressille ja mekaanisille vaurioille, mitkä lisäävät alttiutta taudeille. Lisäksi nopeasti nuoruusvaiheessa kasvavien kalojen valikointi emokaloiksi voi johtaa myös ei-toivottavaan jalostukseen kohti aiempaa sukukypsymistä. Aikainen sukukypsyys tyypillisesti hidastaa kalojen kasvua, mutta voi myös lisätä kuolleisuutta.

2.1.1. Ahvenen kasvupotentiaali, sukukypsyminen ja kuolleisuus laitosolosuhteissa

Vuoden 2014 pilottikokeissa ensimmäisen intensiivisen kasvukauden loppuun selviytyivät ahvenet, jotka tottuivat laitosoloihin ja oppivat syömään tarjolla ollutta kuivarehua tai kuivarehun ja kalasilpun yhdistelmää (Vainikka et al., 2015). Ahvenen keinoravinnon käytössä havaittiin merkittävää vaihtelua yksilöiden välillä. Tämän seurauksena viljelyoloihin otetuilla ahvenilla oli havaittavissa selkeästi kaksi eri kokoluokkaa: suurin osa ahvenista oli kasvanut hyvin, kun taas pieni osa ahvenista erottautui kokojakaumaltaan selväksi pieniksi ja todennäköisemmin huonosti keinoravinnolle siirtyneiden ryhmäksi (Vainikka et al., 2015).

Ahven saavuttaa sukukypsyyden tyypillisesti 2-5 -vuotiaana, ja sukukypsyyden tiedetään hidastavan kalojen kasvua sekä joskus lisäävän kuolleisuutta (Lester et al., 2004). Pilottikokeen



päätyttyä suuren kokoluokan yksilöistä sukukypsiä oli kaikkiaan 80 % (koiraista 100 %, naaraista 58 %), kun taas pienen kokoluokan yksilöistä sukukypsiä oli vain 13 % (koiraista 22 %, naaraista 2 %).

2.1.2. Seurannan materiaali ja menetelmät

Toisen intensiivisen laitoskasvatuskauden seurantaan käytettävissä oleva ahvenmateriaali koostui vuoden 2014 laitosolojen valikoimista 3-vuotiaista yksilöistä. Ahventen kasvua ja kuolleisuutta oli tarkoitus seurata koko hankkeen ajan tammikuulta syyskuulle 2015.

Toisen laitosvuoden kasvun määrittämiseksi ahventen kasvua seurattiin ns. sekaravinnolla (rehu + kalasilppu). Yksilökohtaisen kasvunopeuden määrittämiseksi kaikki kasvuseurannassa olleet ahvenet oli merkitty PIT-tunnistein. Varsinainen kasvuseuranta alkoi kutukokeiden päätyttyä, jolloin valintalinjoissa käytetyt emokalat (200 nopeakasvuista emokalaa ja kudun jälkeen elossa olleet 186 satunnaisen kokoista kontrolliahventa) merkittiin. Kasvun ja käyttäytymisen välisten yhteyksien tutkimiseksi kasvuseurannassa oli mukana myös kaikki käyttäytymiskokeita varten merkityt laitosahvenet. 29.-30.6. emokalat mitattiin ja ahvenet siirrettiin kahteen 15 m² altaaseen jatkokasvatusta varten. Heinäkuussa koe jouduttiin kuitenkin lopettamaan yllättävän ja todennäköisesti bakteeriperäisen taudin (*Flavobacterium psychrophilum* ja *Lactococcus piscium*) aiheuttaman kuolleisuuden vuoksi (Eviran tutkimustodistus 2015-038379). Flavobakteerin on todettu aiemmin aiheuttavan ns. kylmän veden tautia ahvenilla (Lönnström et al., 2008).

Yksilömerkittyjen ahventen seurantakokeen keskeytymisen takia kasvun seuranta jatkettiin merkitsemättömillä ahvenilla, joita ensisijaisesti oli tarkoitus kasvattaa eri kalaravinnolla rasvahappoprofiilien määrittämistä varten. Kasvua ja kuolleisuutta läpi toisen laitoskasvukauden seurattiin neljässä 15 m² altaassa. Kokeessa alun perin pelkällä kuivarehulla ruokituissa altaissa oli 114 ja 116 ahventa. Alun perin sekaravinnolla olleita kaloja oli vastaavasti 668 ja 650 yksilöä.

Ahvenet mitattiin ennen kasvukauden alkua (10.5.2015). Ensimmäisen 2 kuukautta kaloja ruokittiin eri tuorekalalajilla (kuore vs. särki – yksi aiempi sekarehu ja kuivarehu allas per käsittely). Kasvun seurantamittaus toteutettiin rasvahappokokeen päättyessä 20.-21.7.2015. Tämän jälkeen seuraavat 2 kuukautta kaikki kalat kasvoivat samalla ravinnolla (kala + rehu), mutta kasvatus tapahtui edelleen kahdessa eri tiheydessä. Kasvukauden loppumittaus suoritettiin tehokkaan kasvukauden päätteeksi 21.-23.9.2015. Lisäksi ennen kasvukautta (17.4.) umpimähkäisestä 40 kalan otoksesta määritettiin yksilöiden sukupuoli ja sukukypsyys.

2.1.3. Laitoskasvatettujen ahventen käyttäytyminen

Kalojen luonne, ts. yksilöiden väliset pysyvät käyttäytymiserot, ilmenevät yleensä siinä, kuinka aktiivisia tai rohkeita yksilöt toisiinsa verrattuina keskimäärin ovat. Kasvunopeus ja käyttäytymismallit ovat usein korreloituneita toisiinsa; Yleensä nopeasti kasvavat kalat ovat rohkeampia, ottavat enemmän riskejä, ja ovat aktiivisempia, eli ruokailevat joko useammin tai intensiivisemmin kuin hidaskasvuiset kalat (Stamps, 2007; Biro & Post, 2008). Laitosvalinnan on arveltu nopeakasvuisten yksilöiden lisäksi suosivan samalla aktiivisia ja rohkeita yksilöitä, mm. ruokailukäyttäytymisen kautta. Tämän osatyön tarkoituksena oli tutkia pilottikokeiden laitosvalinnan läpikäyneiden ahventen käyttäytymistä suhteessa intensiivikasvatuksessa käytettyyn ravintoon ja villien ahventen käyttäytymiseen, sekä käyttäytymisen yhteyttä kalan kasvunopeuteen. Kokeiden tarkoituksena oli



lisäksi arvioida kudetukseen käytettävissä olevien laitoskasvatettujen ahventen eroja yksilöllisissä käyttäytymispiirteissä ja niiden vaikutusta lisääntymismenestykseen.

2.1.4. Käyttäytymisseurannan menetelmät

Tarjolla ollut valikoitunut ahvenmateriaali tarjosi ainutlaatuisen tilaisuuden tutkia ahvenen ensimmäisen laitossukupolven käyttäytymisominaisuuksia suhteessa villeihin ahveniin. Emokalojen käyttäytymistä tutkittiin tammi-huhtikuun välisenä aikana. Kokeet toteutettiin jakamalla kerrallaan 160 ahventa neljään katettuun 75 m² uoma-altaaseen kahdeksi viikoksi automaattista käyttäytymisseurantaa varten ns. open field –testillä (ks. Kekäläinen et al., 2014, Härkönen et al., 2015). Koe toistettiin neljä kertaa eli yhteensä testattiin 640 ahventa. Kahdessa ensimmäisessä koeerässä testattiin ainoastaan laitostaustaisten ahventen aktiivisuutta suhteessa kokoon ja aiempaan ruokakäsittelyyn. Kahdessa viimeisessä toistossa vertailtiin laitosahventen ja villien ahventen liikkumisaktiivisuutta suhteessa kokoon. Käyttäytymiskokeissa testattiin kaikkiaan 480 laitostaustaista ja 160 villiä yksilöä.

Koska kokeessa ei käytetty petoriskiä, käyttäytymismuuttujista erityisen mielenkiinnon kohteena olivat keskimääräinen kokonaisaktiivisuus, maksimiaktiivisuus ja alkuaktiivisen jakson kesto. Näiden muuttujien informaatioisältö yhdistettiin käyttäen pääkomponenttianalyysia (PCA). Yksilöiden välisiä käyttäytymiseroja analysoitiin lineaarisia sekamalleja (General Linear Mixed Effects Models) käyttäen. Sekamalleissa huomioitiin selittävinä muuttujina myös kalan pituus, toistoallas, toteutuserä ja tausta (villit vs. laitoskalat).

2.2. Uuden laitosviljelyyn soveltuvan ahvensukupolven tuottaminen

Laadukkaan emokalaston jalostaminen on tärkeä osa kustannustehokasta kalantuotantoketjua. Yksi suurimmista haasteista ahventen viljelykasvatuksessa on ollut villiä alkuperää olevien yksilöiden korkea stressiherkkyys ja siitä seuraavat korkea kuolleisuus ja keskimäärin hidas kasvunopeus (Jentoft et al., 2005). Tämän hankkeen tavoite oli luoda läpivirtauslaitosten viljelyolosuhteisiin soveltuva nopeakasvuinen ahvenkanta tutkimustarkoituksiin, ja selvittää yhden sukupolven valintajalostuksen potentiaalia parantaa alkukasvatuksen tehokkuutta. Uuden laitossukupolven tuottamista varten emokalat valikoitiin ensisijaisesti laitosoloissa toteutuneen kasvupotentiaalin perusteella, mutta samalla arvioitiin pienpoikasten selviytymistä ja kasvua eri intensiiviruokintamenetelmillä laitosoloissa sekä poikasten kasvua ja käyttäytymistä suhteessa vanhempien kasvu- ja käyttäytymisominaisuuksiin.

2.2.1. Kasvuun perustuva emokalojen valinta

Vuoden 2014 pilottikokeissa parhaiten laitoksessa kasvaneet emoahvenet pystyivät jopa kymmenkertaistamaan painonsa yhden kasvukauden aikana (10 grammasta 100 grammaan) (Vainikka et al., 2015). Kasvunopeuden periytyvyys kaloilla on laitosolosuhteissa tyypillisesti 20-40 % (Kause et al., 2002; 2005), ja ikäluokan suurimpia yksilöitä edelleen valikoimalla ja keskenään risteyttämällä voidaan oletettavasti jalostuksen kautta luoda laitosolosuhteissa nopeasti kasvavaa ahvenmateriaalia. Työn tarkoituksena oli risteyttää pilottikokeen intensiivikasvatuksessa nopeimmin kasvaneita yksilöitä. Lisäksi verrokiksi risteytettiin keskenään otos umpimähkään valikoituja



laitostaustaisia ahvenia sekä Oulujärven villejä ahvenia. Kontrolloidusti kudetettujen ryhmien lisäksi hedelmöittyneitä mätinauhoja kerättiin kasvatusaltaiden pohjalta. Lisäksi tarkasteltiin eritaustaisten emokalojen fekunditeettia, eli mätimunien määrää suhteessa kokoon. Risteytyksen jälkeen arvioitiin emokalojen taustan, fekunditeetin ja kasvunopeuden vaikutusta lisääntymismenestykseen ja pienpoikasten selviytymiseen.

2.2.2. Massavalintakokeen menetelmät

Ennen kudun alkamista nopea- ja hidaskasvuisten laitostaustaisten kalojen sekä villien ahventen kokoriippuvaista fekunditeettia arvioitiin laskemalla mätimunien määrä otoksesta kaloja. Fekunditeetin määrittämistä varten lopetettiin 120 erikokoista, 3-vuotiasta laitostaustaista kalaa, joista puolta oli ruokittu rehulla ja toista puolta sekä rehulla että kalalla (kuore). Lisäksi määrittystä varten lopetettiin 10 villiä alkuperää olevaa ahventa, joiden ikä ei ollut tiedossa. Kalat mitattiin lopetuksen yhteydessä ja pakastetut kalat siirrettiin Joensuuhun fekunditeetti-määrittäystä varten (samoja kaloja käytettiin rasvahappoanalyyseissä). Fekunditeetti määritettiin laskemalla mätimunien suhde näytekalojen painoon. Mätimunien tiheys määritettiin punnitsemalla kalan mätisäkin tuorepaino ja ottamalla siitä n. 1,0 g näyte. Gramman näytteestä otettiin vielä kaksi n. 0,1 g leikettä josta mätimunat laskettiin stereomikroskoopin alla. Leikkeistä laskettujen mätimunien määrä suhteutettiin koko mätisäkin painoon, jotta saataisiin selville mädin kokonaismäärä.

Risteytyskokeessa yhteensä 200 voimakkaan laitosvalinnan läpikäynyttä nopeakasvuista ahventa, 200 laitosvalinnan läpikäynyttä umpimähkään valittua sekakokoista kontrolliahventa sekä 200 villiä ahventa ryhmäkudetettiin keinoalustoille kuudessa katetussa 3,2 m² ulkoaltaassa.

Kontrolliryhmä muodostettiin valikoimalla umpimähkään ensin kaksi 100 satunnaisesti valitun ahvenen ryhmää: Kumpikin ryhmä koostui 50 kuivarehuravinnolla ja 50 sekaravinnolla (kala+kuivarehu) olleesta kalasta. Yksilöitä otettiin tasamäärät ns. isojen ja pienien kalojen ryhmistä (keskikoko 149 mm ja 40,3 g; N = 200).

Kalojen kokojakauman yläkvartiiliin (25%) perusteella määritettiin nopeakasvuiseksi ahveniksi 160 mm ylittäneet yksilöt (keskikoko 169 mm ja 61,7 g; N = 200). Nopeakasvuista ahvenista muodostettiin kaksi 100 kalan kuturyhmää, joissa puolet olivat kasvaneet kuivarehulla ja puolet sekaravinnolla.

Vertailukaloiksi pyydettiin (pilkkimällä ja katiskalla) villejä Oulujärven ahvenia, joista muodostettiin kaksi 100 yksilön kuturyhmää (pilkkittyjen ahventen keskikoko 211 mm ja paino 125,3 g; N = 100), jolloin voitiin arvioida myös mm. laitosvalinnan vaikutuksia poikasten selviytymiseen ja kasvuun verrattuna villien kalojen jälkeläisiin. Katiskalla pyydettyjen villien ahventen alkumittoja ei kudun välittömän alkamisen takia otettu (siirrettiin katiskoista altaisiin samana päivänä kuin kutu alkoi).

Valikoidut ryhmät siirrettiin kutualtaisiin 29.4., mutta käyttäytymistestatut villit kalat olivat kutualtaissa jo käyttäytymiskokeiden jälkeen ja katiskalla pyydettyjen villien ryhmä siirrettiin altaisiin 11.5.2015. Kutualustaksi asetettiin 2-3 riisijuurista valmistettuja alustoja, ja päivittäin kerätyt mätinauhat siirrettiin viljelylaitoksen haudontakaukaloihin (läpivirtausuomiin; Kuva 2.1). Lisäksi haudontaan kerättiin sisältäissään kuteneiden kasvatuskokeen laitoskalojen mätinauhoja. Kudun aikana emokalojen kuolleisuutta seurattiin päivittäin ja kuolleiden yksilöiden koko ja sukupuoli



määritettiin. Kutuajan jälkeen aikuiset yksilömerkittiin mittauksen yhteydessä ja siirrettiin 15 m² altaisiin kasvuseurantaan.

Haudonnassa mätinauhojen kehitystä ja kuoriutumismuutosta seurattiin päivittäin. Ohivirtausuomien poistumisveden alle asetettuihin sihtisaaveihin kerääntyneet poikaset siirrettiin päivittäin jatkokasvatukseen. Viikon sisällä kuoriutumisesta poikaset alitsariinivärjättiin (pitoisuus / kesto: 30 ppm / 3 h). Alitsariinivärjäyksen aiheuttamaa kuolleisuutta eri pitoisuuksilla arvioitiin ensimmäisillä kuoriutuneilla villien ahventen poikasilla. Näiden esikokeiden perusteella päädyttiin käytettyyn 30 ppm pitoisuuteen, joka ei aiheuttanut havaittavaa kuolleisuutta 3 h kuluessa. Ennen siirtoa lampikasvatusoloihin tai Joensuuhun starttikokeeseen vastakuoriutuneille poikasille tarjottiin sihtisaaveissa ravinnoksi Larviva PROWEAN 100 -poikasrehulla, artemiaa sekä luonnosta kerättyä planktonia.

Kuoriutuneiden poikasten määrää arvioitiin sekoittamalla varovasti poikasia sisältävää vesimassaa, ja laskemalla poikasten määrän keskiarvo ennalta tunnetussa tilavuusmitassa (esim. 3 x 2 dl), ja kertomalla poikasten määrä koko vesimäärän tilavuudella. Kuoriutuneita poikasia jaettiin jatkokasvatukseen seuraavasti:



Kuva 2.1. Ahvenet kutivat riisijuurista valmistetuilla turoille (vas). Turoilta kerätyt mätinauhat siirrettiin haudontakaukaloihin, joista virtaavan veden mukana kulkeutuneet poikaset kerättiin muovisiin sihtisaaveihin (kesk.). Poikasia otoliittimerkittiin alitsariiniliuoksessa (30ppm) kolmen tunnin ajan (oik.).

Luonnonravintolampi

Kuhmossa sijaitsevaan Koppelolampeen (6,74 ha) siirrettiin yhteensä 50000 villiä ja 2700 (nopeakasvuista) laitostaustaista poikasta kahdessa erässä (10.6. ja 19.6.). Villit poikaset otoliittimerkittiin alitsariinilla eritaustaisten poikasten erottamiseksi jälkepäin. Koppelolammesta haettiin 11.8.2015 199 yksilön näyte kasvun arvioimista varten, mutta otoliittimerkkejä ei ehditty hankkeen kuluessa analysoida.

Maa-altaat

Koppelolammen kasvatusta kontrolloidumman lampikasvatusstartin tutkimiseksi kaikkien kuturyhmien alitsariinilla otoliittimerkittyjä poikasia siirrettiin Kainuun Kalantutkimusaseman kuuteen luonnonravintolampea mukailevaan 400 m² hiekkapohjaiseen maa-altaaseen (2 x nopeakasvuisten laituskalojen, 2 x satunnaisten laituskalojen, 2 x villien maa-allasta). Poikaset otoliittimerkittiin, jotta ne tunnistaisi mahdollisesti virran mukanaan tuomista poikasista. Sekä villiä että satunnaista laitostaustaa olevien ahventen poikasia siirrettiin jatkokasvatukseen n. 20000 yks./maa-allas. Laitostaustaisten kontrolliryhmien mädin huonon kuoriutumismenestyksen vuoksi poikasista suurin osa (75 %) jouduttiin ottamaan sisäaltaissa kuteneiden satunnaisten laituskalojen poikasten joukosta.



Nopeakasvuisten kuturyhmien huonon kuoriutumismenestyksen ja lopun mädin ennakoimattoman homehtumisen takia kumpaankin maalampeen siirrettiin ainoastaan 2500 vastakuoriutunutta poikasta, mutta lisäksi myös jonkun verran osittain homeisia mätinauhoja, joissa oli kuoriutumattomia munia.

Poikasten annettiin kasvaa luonnonravinnolla elokuuhun asti. 4.-6.8.2015 kaikista kuudesta maa-altaassa kerättiin haavilla ja/tai poikasnuotalla n. 250-300 poikasta. Pyydystetyt poikaset käytettiin jatkokasvatus- ja käyttäytymiskokeissa, jotka on kuvattu tarkemmin kohdassa 2.2.4 ja 2.2.5.

Sisäaltaat

Noin 20000 villien ahventen vastakuoriutunutta poikasta jaettiin kahteen 3,2 m² sisäaltaaseen kesäkuun lopussa. Altaissa kokeiltiin luonnonravintolammikon oloja jäljittelevää kasvatusta keinotekoisessa sisäaltaissa. Veden virtaus pidettiin niin alhaisena, että altaisiin kerääntyi pienikokoista planktonia poikasten ravinnoksi. Lisäksi altaan reunalle asetettiin kirkas lamppu, jonka alle poikasia ruokittiin starttirehulla. Rehua syömään oppineita poikasia käytettiin myöhemmin tutoreina maalamista kerätyille poikasille sosiaalisen oppimisen kokeessa, jotka on kuvattu tarkemmin erikseen.

Vastakuoriutuneiden poikasten intensiivikasvatusta artemiaa ja poikasrehua käyttäen kokeiltiin myös 0,4 m² altaissa sihtisaaveissa kahtena toistona per kuturyhmä, mutta kokeilu epäonnistui viimeisten poikasten kuollessa heinäkuun alkuun mennessä.

Akvaariokasvatus

Osa poikasista (N = 1000 jokaisesta kuudesta kuturyhmästä) siirrettiin Joensuuhun akvaarioskaalan starttiruokintakokeisiin, jotka on kuvattu tarkemmin alla.

2.2.3. Käyttäytymiseen perustuva emokalojen valinta

Yleensä nopeasti kasvavat kalat ovat myös aktiivisempia, eli ruokailevat joko useammin tai intensiivisemmin kuin hidaskasvuiset kalat (Biro & Post, 2008). Kaloilla yksilöiden väliset käyttäytymiserot ovat myös jossain määrin periytyviä (esim. Kortet et al., 2014). Laitosvalinnan on arveltu nopeakasvuisten yksilöiden lisäksi suosivan juurikin aktiivisia ja rohkeita yksilöitä (Sundström et al., 2004). Tämän osatyön tarkoituksena oli arvioida aiemmin määritettyjen emokalojen käyttäytymisominaisuuksien vaikutusta lisääntymismenestykseen ja pienpoikasten selviytymiseen.

2.2.4. Käyttäytymisvalintakokeen menetelmät

Emokaloille tehtyjen käyttäytymiskokeiden jälkeen PIT-antennihavaintoihin perustuva liikkuvuusaineisto analysoitiin ja mm. koon vaikutus poistettiin yksilöiden välisestä käyttäytymisvaihtelusta tilastollisin menetelmin. Kuturyhmiä varten yksilöt valikoitiin lopulta kokonaisaktiivisuudesta kertovan käyttäytymistiedon perusteella. Ensimmäisen ryhmän emokatat valikoitiin aktiivisimpien 25 %:in joukosta, toisen ryhmän kalat passiivisimpien 25 %:in joukosta ja kolmannen verrokkiryhmän kalat satunnaisesti. Ennen kutua kummankin ravintokäsittelyn (kuivarehu/sekaravinto) eri käyttäytymistyyppien (aktiivinen, passiivinen, verrokki) kaloista



muodostettiin umpimähkäisesti viisi 10 yksilön ryhmää, mutta kuitenkin samalla varmistaen silmämääräisesti, että jokaiseen ryhmään tulisi sukukypsiä koiraita ja naaraita. Kalat siirrettiin ryhmittäin 0,4 m² virtavesilaatikoihin, joiden pohjalle kutualustaksi tarjottiin kuusenoksia. Yhteensä 30 laatikkoa asetettiin kuuteen virtavesialtaaseen (Kuva 2.2).



Kuva 2.2. Kymmenen ahvenen kuturyhmät asetettiin virtavesialtaisiin läpivirtauslaatikoihin, joista mätinauhat kerättiin päivittäin.

Kudun aikana munanauhut kerättiin päivittäin ja siirrettiin kehittymään hautomoon kullekin kuturyhmälle varattuun ohivirtausuomaan. Uomista kuoriutuneet poikaset kerättiin ohivirtauksen mukana sihtisaaveihin. Kuoriutuneiden poikasten määrä arvioitiin päivittäin, minkä jälkeen ne siirrettiin jatkokasvatukseen sihtisaaveihin, jotka asetettiin 0,4 m² altaisiin (2 toistoa / käsittely; Kuva 2.3). Pienpoikasille tarjottiin poikasrehua automaattiruokkijoilla ympäri vuorokauden ja sen lisäksi poikasille kasvatettiin artemiaa (Kuva 2.3), jota tarjottiin kolme kertaa päivässä. Kun eri aktiivisuusryhmien poikasia oli elossa alle 50 / käsittely, starttikokeilu sihtisaaveissa lopetettiin. Kaikki 1.7.2015 hengissä olleet poikaset siirrettiin Joensuuhun akvaariokasvatukseen, jossa kuolleisuus kuitenkin jatkui. 4.7. asti hengissä selvinneet poikaset mitattiin ja koe päätettiin.



Kuva 2.3. Vastakuoriutuneiden ahvenpoikasten (vas.) ja Artemia-äyriäisten (oik.) kasvatusolot Kainuun Kalantutkimusasemalla.



2.2.5. Alkuruokintamenetelmän vaikutus starttimenestykseen

Ahvenen viljelyn yksi suurimmista haasteista on poikasten kuoriutumisen jälkeen tapahtuva kalojen alkukasvatus. Laitosoloissa tapahtuva alkukasvatus on haastavaa pienialkioisilla lajeilla, joilla lampikasvatuksen ohella on käytetty starttivaiheen ravintona Artemia-äyriäistä ja erikoisrehuja. Artemia (eli suolalehtijalkaisten naupliustoukat) on elävänä ja liikkuvana ravintona kaloille usein maittavaa ja ravitsevuudeltaan laadukasta. Onnistuessaan kuivarehulla ruokkimisen hyvänä puolena on kuitenkin se, että poikasia ei tarvitse totuttaa erikseen Artemia-ravinnolta kuivarehulle. Tämän osatyön tarkoituksena oli tutkia Artemia-äyriäisten sekä kaupallisen poikasrehuravinnon soveltuvuutta ahvenen alkukasvatukseen.

2.2.6. Alkuruokinnan menetelmät

Eri starttiravinnon vaikutusta selviytymiseen ja kasvuun tutkittiin akvaarioskaalassa Itä-Suomen yliopiston Biologian laitoksella Joensuussa. Koe toteutettiin allashuoneessa olevissa kuudessa isossa kasvatusaltaassa (900 mm × 800 mm × 800 mm). Altaihin sijoitettiin akvaarioita kannatteleva metallikehikko, ja jokaisen altaan päälle asetettiin kaksi läpivirtausakvaariota (yht. 12 akvaariota; 300 mm × 300 mm × 500 mm). Yhteen altaista laskettiin jatkuvasti kloorista puhdistettua hanavettä, ja altaassa oleva pumppu kierrätti vettä akvaarioiden yläpuolelle asennettuun yläsäiliöön, missä oleva termostaattillinen Lauda-lämmitin lämmitti vettä. Säiliöstä vesi johdettiin puutarhaletkuilla (Ø n. 1cm) akvaarioihin. Letkun päähän oli liitetty erillinen hana, jolla altaaseen virtaavan veden määrä ja lämpötila (n. 14-15 °C) akvaariossa pystyttiin pitämään vakiona. Ylimääräinen vesi valutettiin akvaarioista viemäriin akvaarion päässä olevan hanan kautta. Poikasten karkaaminen hanan läpi estettiin käyttämällä suodatinta, jonka verkon silmäkoko oli 200 µm.

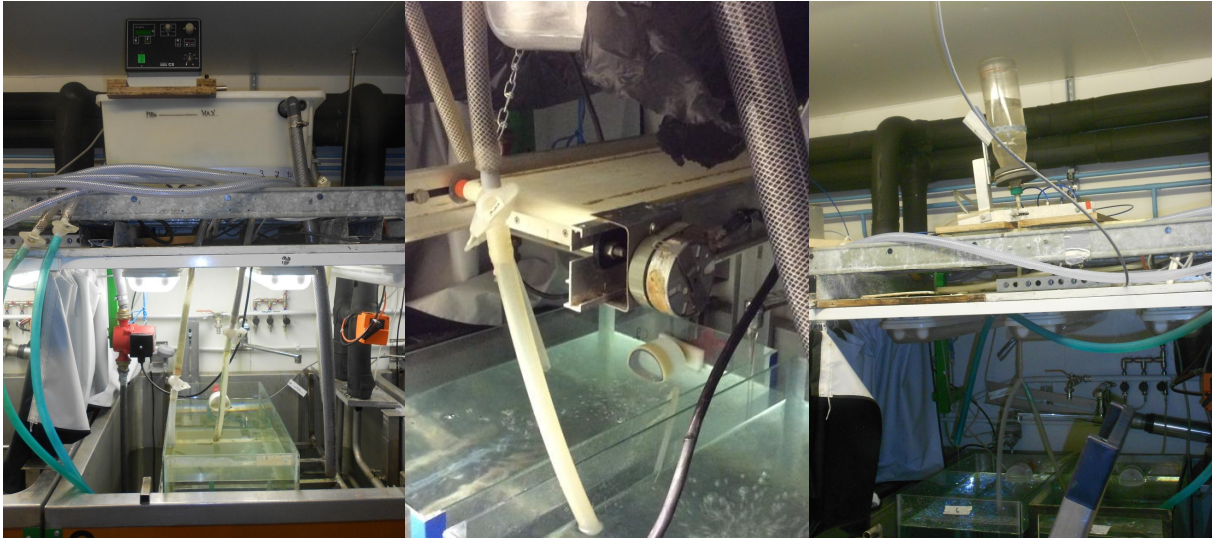
Vastakuoriutuneita pienpoikasia siirrettiin Paltamosta Joensuuhun erillisissä happipakkauksissa. Siirtoajankohta määräytyi eri kuturyhmien poikasten kuoriutumisen mukaan; ensimmäiset poikaset tuotiin Joensuuhun 10.6. ja loput 22.6. Jokaisesta kuudesta kuturyhmästä (2 × nopeakasvuiset laitosahvenet, 2 × satunnaiset laitosahvenet, 2 × villit ahvenet) poikasia siirrettiin 1000 yksilöä, jotka jaettiin Joensuuhun saavuttaessa kahteen 500 poikasen ryhmään. Poikasryhmät jaettiin kahteen akvaarioon, joista toisessa poikasia ryhdyttiin välittömästi ruokkimaan poikasrehulla (Larviva PROWEAN 100 –starttirehu) ja toisessa artemialla. Näin eritaustaisten vanhempien jälkeläisistä muodostui kaksi toistoa jokaisesta ruokintakäsittelystä.

Kokeen aikana rehua annettiin poikasille hihnaruokkijalla (Kuva 2.4). Artemiaa kuoriutettiin päivittäin ilmastetuissa pulloissa, ja annettiin poikasille n. 70 ml kerta-annoksena kahden altaan välille 1 tunnin välein. Artemian automaattiseen antamiseen soveltuva välineistö ei riittänyt kuin neljälle altaalle, joten jäljelle jäävien kahden altaan artemiaruokinta hoidettiin käsin antamalla poikasille 400 - 500 ml kerta-annoksena 4 kertaa päivässä tasaisin väliajoin. Kokeen loppupuolella poikasten vähetessä artemiaa annettiin käsin kaikkiin artemia-altaisiin. Artemia-tiheys määritettiin kerran vuorokaudessa pipetoimalla artemiaseoksesta kolme rinnakkaista 2 ml näytettä, josta artemiat laskettiin stereomikroskoopin alla. Näytteet otettiin aamulla suodatetusta n. 8 litran artemia-annoksesta ennen hoitorutiineja.

Akvaarioiden pohja siistittiin päivittäin lappoletkulla erilliseen ämpäriin, jonka sisältö käytiin huolellisesti läpi. Imetyksen veden mukana tulleet elävät poikaset vapautettiin takaisin



akvaarioihin. Siivouksen yhteydessä löytyneet kuolleet yksilöt poistettiin ja laskettiin. Päivittäisestä siivouksesta huolimatta kuolleisuuden seuraaminen oli vaikeaa, koska kuolleet poikaset hajosivat nopeasti. Poikasmäärän alittaessa 20 yksilöä / akvaario, akvaario tyhjennettiin ja jäljellä olleet elävät poikaset pyydystettiin pipetillä loppumittausta varten. Koon määrittämiseksi poikaset laskettiin petrimaljalle, jonka alle oli asetettu millimetripaperi, ja pituus mitattiin valomikroskoopin alla. Kaikkiaan starttikoe kesti 26 vuorokautta, missä ajassa viimeisetkin ryhmät alittivat 20 yksilön rajan.



Kuva 2.4. Kasvatusakvaario, pumppu, yläsäiliö ja termostaattilämmitin (vas.), hihnaruokkija (kesk.) ja automaattinen artemiaruokinta (oik.) Joensuussa Itä-Suomen yliopiston Biologian laitoksella.

2.2.7. Pienpoikasten lampikasvatus ja oppiminen kuivarehulle

Yksi ahvenen viljelyn suurimmista haasteista on saada luonnonravintolammessa alkukasvatetut yksilöt hyväksymään intensiivikasvatuksessa käytettyä keinorehua ravinnoksi. Ahven on sosiaalinen parvikala, ja oppiminen uudelle ravinnolle voi riippua kyvystä kopioida toisten poikasten ruokailukäyttäytymistä. Vuoden 2014 pilottikokeissa havaittiin, että laitostuneita taimenia voitiin jossain määrin käyttää parantamaan 2-vuotiaiden villien ahventen selviytymistä ja kasvua lampikasvatuksesta laitosoloihin siirtämisen yhteydessä (Vainikka et al., 2015). Tässä osatyössä tutkittiin, voitaisiinko luonnonravintolammikoissa alkukasvatettujen pienpoikasten oppimista rehuruokintaan ja laitosympäristön oloihin tehostaa lajin sisäisen sosiaalisen oppimisen keinoin.

2.2.8. Sosiaalisen oppimisen kokeiden menetelmät

Luonnonravintolammikoissa tapahtuneen alkukasvun tarkempaa vertailua varten 4.-6.8.2015 jokaisesta maa-altaasta kerättiin haavilla ja/tai poikasnuotalla n. 250-300 poikasta. Pyydystetyistä ahvenista otettiin ensin vähintään 20 yksilön näyte, jotka mitattiin ja punnittiin. Varsinaista sosiaalisen oppimisen koetta varten jokaisesta maa-altaasta kerätyistä poikasista muodostettiin kaksi käsittelyä. Ensimmäisessä käsittelyssä 90 poikasen ryhmän joukkoon lisättiin 10 laitosoloissa alkukasvatettua poikasta ns. tutoreiksi ja toinen käsittely muodostettiin 100 lampikasvatetusta



poikasesta. Ryhmien tottumista laitosympäristöön ja rehuravinnolle siirtymisen menestystä (kasvua ja selviytymistä) seurattiin kahtena toistona. Ennen kokeen alkua kaikki poikaset valokuvattiin viiden yksilön ryhmissä millimetripaperin päällä, ja satunnaisten 25 poikasen otoksesta / replikaattiallas (eli 50/maa-allas) kalojen pituus määritettiin jälkikäteen kuvista ImageJ-ohjelman avulla (<http://imagej.nih.gov/ij/>).

Kaikki koepoikaset ja tutorit siirrettiin 3,2 m² altaisiin 7.8.2015. Poikasia ruokittiin ympäri vuorokauden pienpoikasten starttirehulla (Larviva PROWEAN 100) sekä astetta suurempirakeisella rehulla (Veronesi Vita 0,5, raekoko 0,5 mm). Altaiden reunalle, automaattiruokkijan välittömään läheisyyteen, asennettiin kirkas kohdevalo. Yhtä rehutyyppiä annettiin 0,5 g kerralla, joten yksi kerta-annos oli 1 g (2*0,5g). Päivän ensimmäinen rehuannos annettiin poikasille aamulla klo: 9.00–10.00, heti altaiden päivittäisen puhdistuksen jälkeen. Seuraava annos annettiin klo: 16.00–17.00 ja viimeinen annos illalla klo: 21.00, ennen valojen sammutusta yön ajaksi.

Altaiden valaistusta mitattiin digitaalisella lux-mittarilla: Mastech MS6610 Luxmeter. Valon määrä mitattiin yhdestä altaasta vedenpinnalta viidestä eri kohtaa. Allas jaettiin neljään eri alueeseen. Ensimmäinen alue sijaitsi heti valonlähteen alla, toinen kohta altaan suodattimen vierestä valon lähteen puolelta, kolmas kohta suodattimen varjopuolelta ja neljäs altaan varjopuolelta. Viimeiseksi altaasta mitattiin valonmäärä hihнаруokkijan kohdalta. Valon määrä oli aina suurimmillaan heti lampun alapuolella (n. 1000-5000 lux) ja seuraavaksi valon määrä oli suurimmillaan heti hihнаруokkijan alapuolella (n. 500-1500 lux). Suodattimen molemmilla puolilla valon määrän vaihtelu oli vähäistä, tai sitä ei ollut ollenkaan. Vähäisimmillään valonmäärä oli altaan reunalla, valonlähteen vastakkaisella puolella (n. 5-20 lux). Samaan aikaan altaista mitattiin myös virtausnopeus (n. 10 litraa vettä 55 sekunnissa), veden kiertosuunta, vedenpinnan korkeus (26 cm) Veden virtausnopeus kasvatusaltaissa mitattiin MiniAir2, Schiltknecht-mittarilla, ottamalla virtausnopeuden keskiarvo 6 sekunnin aikana.

Kokeen aikana kuolleet poikaset mitattiin ja niiden lukumäärä laskettiin päivittäin, ja kasvuerojen havaitsemiseksi ensimmäinen välimittaus suoritettiin kahden viikon kuluttua kokeen alkamisesta (20.8.). Tällöin altaista pyydystettiin min. 20 yksilöä, jotka valokuvattiin viiden yksilön ryhmissä ja niiden pituus mitattiin ImageJ-ohjelman avulla. Välimittauksen jälkeen ruokinnan kohdevalot poistettiin. Kaikkien yksilöiden loppumittaus suoritettiin 8.9.2015, jolloin kalat lopetettiin yliannostuksella benzocainia.

2.2.9. Pienpoikasten käyttäytyminen suhteessa vanhempien ominaisuuksiin

Viimeaikaisissa tutkimuksissa on havaittu, että kaloilla kasvunopeus ei periydy sellaisenaan, vaan kasvunopeus on tiiviisti kytkeytynyt kalojen perinnöllisiin käyttäytymispiirteisiin. Kalan luonne (esim. riskinottoaipeus) liittyy läheisesti myös kalan kykyyn oppia käyttämään uutta ravintokohdetta (Attia et al., 2012), kuten keinotekoista laitosrehua. Tässä osatyössä tutkittiin vanhempien laitostumisen ja kasvunopeuden vaikutusta risteytyspoikasten kasvuun ja käyttäytymiseen, ja näin ollen pyrittiin saamaan jatkoa varten oleellista tietoa kasvunopeuden ja käyttäytymisen geneettisestä kytkeytyneisyydestä ahvenella.



2.2.10. Pienpoikasten käyttäytymismittauksen menetelmät

Maa-lammissa alkukasvatetuille poikasille suoritettiin yksilöllisesti kaksi käyttäytymiskoetta, joissa poikasten ns. persoonallisuus määritettiin mittaamalla rohkeutta ja eksploraatiivisuutta. Maa-altaista poikaset siirrettiin ylläpidettäväksi sisäaltaisiin (0,4 m²), joissa niistä erotettiin käyttäytymistestattavat yksilöt kasvatuskokeissa käytettävistä kaloista. Sisäaltaissa ahvenia ruokittiin kolme kertaa päivässä keinorehulla ja altaita puhdistettiin päivittäin.

Jokaisesta maa-altaasta testattiin 23 poikasta käyttäytymisareenalla. Käyttäytymisareenaan kuului ns. aloituslaatikko (pituus = 160 mm; leveys = 150 mm), johon poikanen laitettiin tottumaan uuteen ympäristöön ennen kokeen alkua. Aloituslaatikosta aukesi luukku itse käyttäytymisareenalle (pituus = 600 mm; leveys = 570 mm). Areenalle asetettiin muovikasvi ja kiviä, joiden suojaan kalat pystyivät hakeutumaan kokeen aikana (Kuva 2.5).



Kuva 2.5. Ahvenen persoonallisuuden mittaamisessa käytetyt areenat.

Koetta varten oli valmisteltu kaksi käyttäytymisareenaa, mikä mahdollisti kahden poikasen testaamisen samanaikaisesti. Jokainen yksilö testattiin kahdesti, jotta saatiin selville käyttäytymisen toistettavuus. Poikasten testausjärjestys arvottiin päivittäin kuitenkin niin, että jokaisen maa-altaan poikasia testattiin samana päivänä yhtä paljon. Näin ollen testattavia poikasia oli kaikkiaan 138 yksilöä, joista aina 2 × 23 kalaa olivat peräisin yhdestä valintaryhmästä (nopeakasvuiset laitosahvenet, satunnaiset laitosahvenet, villit ahvenet).

Ennen ensimmäistä käyttäytymiskoetta poikaset pyydystettiin sisäaltaista pienen haavin avulla ja siirrettiin kannella peitettyyn 10 litran muovisankoon. Muovisangossa ne olivat 15 minuutin ajan, jonka jälkeen poikaset siirrettiin käyttäytymisareenan aloituslaatikkoon. Aloituslaatikko oli pimennetty, jotta liikkeelle lähteminen valaistulle käyttäytymisareenalle kuvastaisi kalojen rohkeutta. Aloituslaatikossa poikasten annettiin rauhoittua 5 minuutin ajan, ja tämän jälkeen käyttäytymisareenalle johtava luukku avattiin narusta vetämällä. Koetta jatkettiin 15 minuutin ajan, jonka jälkeen poikaset siirrettiin samaan 10 litran ruskeaan saaviin, jossa ne odottivat toista käyttäytymiskoetta 2,5 tuntia. Käyttäytymisareenan vesi vaihdettiin jokaisen kokeen jälkeen. Käyttäytymiskokeet tallennettiin myös tietokoneelle web-kameralla, mutta jo reaaliaikaisesti kirjattiin ylös kuinka kauan poikasella kesti lähteä liikkeelle ja kuinka aktiivisesti ne liikkuvat kokeen aikana.



Kokeen jälkeen poikaset valokuvattiin ja niiden koko määritettiin mittaamalla pituus myöhemmin ImageJ-ohjelmalla.

Poikasten rohkeutta mitattiin sillä, kuinka nopeasti (sek) kala tuli ulos aloituslaatikosta luukun avaamisen jälkeen. Mikäli testattu yksilö ei tullut koko kokeen aikana (15 min) ulos laatikosta, sai se liikkeellelähtöajakseen maksimians eli 900 sekuntia. Persoonallisuuspiirteiden oleellisinta perustetta, eli yksilöiden käyttäytymisen toistettavuutta kuvattiin ICC (intraclass correlation) – määreellä. Tarkemmissa tilastoanalyyseissä selvitettiin muiden vaikuttavien tekijöiden, eli poikasen vanhempien ominaisuuksien (villit ahvenet, kontrollit eli satunnaiset laitosahvenet ja nopeakasvuiset laitosahvenet) ja poikasten koon, sekä (satunnaisen) kasvatusallastoiston merkitystä liikkeellelähtöaikaan käyttäen lineaarista sekamallia.

2.3. Laitoskasvatuksen ja ravinnon vaikutus ahvenfileen rasvahappokoostumukseen

Laitosviljellyn ahvenen luonnonmukaisuus ja terveellisyys ihmisravintona saattaa erota luonnonkaloista. Erityisesti ravinnon rasvahappokoostumus heijastuu suoraan kalan lihaksen rasvahappokoostumukseen, ja ahvenen omega-3 rasvahappojen määrän on todettu vaihtelevan riippuen mm. ravinnosta (Mairesse et al., 2007). Ravinnon rasvahappokoostumuksen, ja erityisesti ns. omega-3 rasvahappojen EPA ja DHA määrän on myös todettu olevan keskeisiä laatutekijöitä kasvatuskalojen kasvulle (ravinnonkäyttötehokkuudelle) ja selviytymiselle (Mairesse et al., 2007). Kalat eivät kuitenkaan itse pysty tuottamaan näitä rasvahappoja, vaan ne on saatava ravinnosta. Tässä osatyössä haluttiin selvittää eri ravinnolla kasvatettujen viljelylaitosahventen rasvahappokoostumusta suhteessa villien Oulujärven ahventen rasvahappokoostumukseen. Erityisesti haluttiin tarkastella ihmiselle välttämättömien, sekä sydän- ja verisuonitautiriskiä alentavien omega-3-rasvahappojen, sekä monitydyttymättömien rasvahappojen osuutta laitosviljellyille ahvenille syötetyssä ravinnossa, luonnonvaraisissa ahventen ravintokaloissa ja eri alkuperää edustavien ahventen lihaksessa.

2.3.1. Rasvahappoanalyysien menetelmät

Lähtötilannetta tarkasteltiin toukokuussa 2015 Kainuun Kalantutkimusasemalla kasvatetuilla 3+-vuotiailla ahvenilla. Ennen kasvukauden alkua otettiin näytteet siihen asti n. vuoden ajan rehulla tai rehun ja kuoreen yhdistelmällä ruokittujen ahvenien sekä Oulujärvestä pyydettyjen villien ahventen selkälihasta alkutilanteen rasvahappojen määrittämistä varten (yht. 15 rasvahapponäytettä). Rasvahappoanalyysijä varten näytekaloista yhdistettiin aina neljän ahvenyksilön lihasnäytteet yhdeksi rasvahapponäytteeksi, jolloin saatiin niiden keskimääräinen rasvahappokoostumus (Taulukko 2.1). Vertailussa oli kasvatettuja ja villejä kaloja neljän kalan toistoina. Erikseen käsiteltiin eri kokoluokkien (nopeakasvuiset – hidaskasvuiset), mutta samaa ruokavaliota saaneiden ahventen rasvahapponäytteet.

Alkumittausten jälkeen 22.5.2015 aiemmin rehu- ja kalaravinnolla olleet ahvenet jaettiin puoliiksi kahteen käsittelyyn, joista toisessa ahvenia ruokittiin kuoreella ja toisessa särjellä kahtena allastoistona 21.7.2015 saakka. Heinäkuun lopussa otettiin uudet ahvennäytteet. Tällä kertaa rasvahapponäytteet tehtiin yksilökohtaisesti, jotta saataisiin arvio kuore- tai särkiravinnolla olleiden ahventen yksilöiden välisestä vaihtelusta. Vertailukohtana laitosviljelyssä kasvatetuille



ahvenille käytettiin saman seudun luonnonvaraisia ahvenia, joita pyydystettiin Oulujärven Niskan- ja Ärjänseliltä, sekä humuspitoisista Kivesjärvestä ja pienehköstä Kangasjärvestä kattavan vertailuaineiston saamiseksi. Jokaisesta pyyntipaikasta analysoitiin vähintään viiden ahvenen näytteet (Taulukko 2.1).

Lisäksi sekä villien että laitosahventen eri ravintokohteille, eli kuivarehulle sekä kuore- ja särkisilpulle, tehtiin rasvahappoanalyysejä. Samoin analyysejä tehtiin luonnonahventen mahdollisille ravintokaloille, eli särjille (*Rutilus rutilus*), kuoreille (*Osmerus eperlanus*), muikuille (*Coregonus albula*), kiiskille (*Gymnocephalus cernuus*), salakoille (*Alburnus alburnus*) ja seiville (*Leuciscus leuciscus*), jotka olivat kaikki peräisin Oulujärven Niskanselältä. Ravintokalanäytteitä varten homogenoitiin viisi kalaa kokonaisina (kahtena toistona), jolloin saatiin niiden keskimääräinen rasvahappokoostumus.

Taulukko 2.1. Tutkimuksessa analysoidut kalat, sekä niiden keskipainot ja -pituudet. Otokoko, "n" tarkoittaa taulukossa rasvahaponäytteiden määrää ja "S.E." keskiarvon keskivirhettä.

Näytekalat tai näytteet	Otos (n)	Keskipaino (g)	S.E.	Keskipituus (mm)	S.E.
4 villiä ahventa	2	170,1	4,8	234	1,5
4 kalalla ruokittua ahventa, nopeakasvuisia	4	46,7	3,0	151	9,7
4 kalalla ruokittua ahventa, hidaskasvuisia	3	27,4	1,4	136	2,7
4 kuivarehulla ruokittua ahventa	6	38,6	3,7	144	9,6
Kuoreella ruokittuja ahvenia, nopeakasvuisia	6	46,1	7,2	162	11,9
Kuoreella ruokittuja ahvenia, hidaskasvuisia	6	33,4	4,8	149	10,7
Särjellä ruokittuja ahvenia, nopeakasvuisia	6	45,5	10,2	157	16,8
Särjellä ruokittuja ahvenia, hidaskasvuisia	6	33,2	4,2	147	9,4
Oulujärven Niskanselän ahvenia	5	475,0	33,1	334	5,8
Oulujärven Ärjänselän ahvenia	5	174,4	18,5	255	14,9
Kivesjärven ahvenia	5	121,1	35,0	217	32,8
Kangasjärven ahvenia	8	49,4	7,7	166	20,4
5 särkeä Oulujärven Niskanselältä	2	24,0	1,4	142	2,5
5 kuoretta Oulujärven Niskanselältä	2	4,1	0,2	99	3,5
5 muikkua Oulujärven Niskanselältä	2	6,5	0,1	103	1,0
5 salakkaa Oulujärven Niskanselältä	2	15,3	1,5	138	3,0
5 seipeä Oulujärven Niskanselältä	2	15,2	0,9	128	2,5
5 kiiskeä Oulujärven Niskanselältä	2	8,4	0,5	99	1,5
Särkisilpusta tehtyjä näytteitä	3				
Kuoresilpusta tehtyjä näytteitä	3				
<i>Raisio Circuit 1,7 mm</i> -rehusta tehtyjä näytteitä	2				
<i>Raisio Veronesi Vita 1</i> .-rehusta tehtyjä näytteitä	2				

Rasvahappoanalyysejä varten rasvat eristettiin pakastetuista kala- tai rehunäytteistä laajalti tunnettua Folch et al. (1957) menetelmää mukailien, jonka jälkeen rasvahapot metyloitiin metyylisterieikseen. Rasvahappokoostumuksen analysointi puolestaan tapahtui



massaspektrometrillä varustetun kaasukromatografian sekä tarkoitukseen soveltuvan tietokoneohjelman avulla.

Ahventen rasvojen eristämistä varten selkälihaksesta tai neljän kalan selkälihaksen homogenaatista otettiin noin 200 mg näyte, jonka tarkka paino kirjoitettiin ylös rasvahappomäärien kvantifioimiseksi, ja joka liuotettiin 4 millilitraan kloroformi-metanoliseosta (sekoitusuhde 2:1 vol $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$). Kokonaisina homogenoidusta ahventen ravintokaloista puolestaan otettiin noin 400 mg näytteet, jotta niistä tulisi edustavampia. Kalarehusta, jonka tiedettiin olevan hyvin rasvapitoista, otettiin vain noin 50 mg näytteet. Liuotintilavuudet olivat jälkimmäisissä näytteissä kaksinkertaisia suurempien rasvamäärien takia. Rasvojen liukenemisen tehostamiseksi näytteitä sonikoitiin 10 minuutin ajan jäisessä vesihautteessa, jonka jälkeen rasvat uutettiin kloroformimetanolista lisäämällä siihen 0,88 % kaliumkloridiliuosta vedessä, jolloin kloroformi ja metanoli sijoittuivat eri faaseihin. Faaseista alempi, eli kloroformifaasi, johon suurin osa rasvoista oli liuennut, pipetoitiin talteen ja näyte huuhdeltiin uudelleen kloroformilla, jotta loputkin rasvat saataisiin mahdollisimman pitkälti talteen. Rasvojen saanti tällä menetelmällä on noin 97 % (Folch et al., 1957). Koko eristysprosessin ajan näytteet pyrittiin pitämään jäissä ja työvaiheiden välissä ne tyytettiin ja säilytettiin $-20\text{ }^\circ\text{C}$ pakastimessa hapettumisen minimoimiseksi.

Ennen metylointia näytteisiin lisättiin vielä sisäisenä standardina tunnettu määrä (5 tai 10 μg) heneikosaanihappoa (21:0-rasvahappo) kloroformissa. Metylointia varten kloroformi haihdutettiin typpivirtauksen alla ja korvattiin 1 millilitralla n-heksaania (C_6H_{14}) ja 2 millilitralla 1 % rikkihappoa metanolissa. Metylointi tapahtui $+90\text{ }^\circ\text{C}$ lämpötilassa 90 minuutin aikana. Rikkihappo toimii reaktiossa katalyyttinä ja rasvat transesteröityivät rasvahappojensa metyyliestereiksi, jolloin ne pystyttiin erottamaan ja tunnistamaan kaasukromatografiajossa. Heksaanifaasi, joka tällä kertaa asettui 1,5 ml vesi- ja 4 ml heksaanilisäyksen jälkeen yläfaasiksi, eristettiin samalla lailla kuin aiemmin kloroformifaasi.

Lopuksi näytteet siirrettiin pieniin ajovialeihin ja ajettiin tunnetussa heksaanitilavuudessa (750 μl tai rasvaisemmissa näytteissä 1000 μl) kaasukromatografilla (Agilent Technologies 6890N), johon oli liitetty massaspektrometri (Agilent Technologies 5973N). Injektointitilavuus oli 1 μl , mutta ajossa käytettiin split-ohjelmia, jolloin kolonniin päätyi vain kahdeskymmenesosa, tai rasvaisemmissa näytteissä vain viideskymmenesosa injektointitilavuudesta. Ajokaasuna toimi helium uunin alkulämpötilan ollessa $+180\text{ }^\circ\text{C}$ 8 minuutin ajan, jonka jälkeen lämpötilaa kohotettiin $3\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ aina $+210\text{ }^\circ\text{C}$ asti, joka pidettiin 27 minuutin ajan. Injektorin lämpötila oli $+250\text{ }^\circ\text{C}$ ja kolonnina käytettiin DB-WAX-kapillaarikolonnia (Agilent), jonka pituus oli 30 metriä ja halkaisija 0,250 mm. Sisäpinnan kiinteän faasin, polyetyleeniglykolin, paksuus oli 0,25 μm .

Rasvahappojen tunnistus tapahtui Chemstation-tietokoneohjelman (MSD-chemstation E.02.01.1177, Agilent Technologies) avulla vertailemalla rasvahappojen retentioaikoja sekä massaspektrejä. Tunnistetut rasvahapot kvantifioitiin suhteuttamalla niiden kromatogrammeista integroidut pinta-alat valmiin rasvahapposekoitukseen (GLC-68D, Nu-Check Prep, Inc.) laimennossarjaan perustuvaa standardisuoraan.

Aineisto käsiteltiin monimuuttujamenetelmin (MDS, PERMANOVA) Primer 7 -ohjelmalla. Varsinaisia tilastollisia testejä varten laskettiin rasvakoostumuksia kuvaavia, terveysvaikutusten kannalta olennaisia suureita: Kokonaisrasvapitoisuuden lisäksi laskettiin omega-3-ryhmän (ω -3 tai n-3), omega-6-ryhmän (ω -6 tai n-6), monitydyttymättömien (PUFA) ja



tydyttyneiden (SAFA) rasvahappojen, sekä EPA- (20:5n-3) ja DHA-rasvahappojen (22:6n-3) yhteenlasketut %-osuudet kokonaisrasvahapoista. Näiden suureiden riippuvuutta käsittelystä testattiin tilasto-ohjelma R:ssä (The R Foundation) yleistetyllä lineaarisella mallilla, jossa pituus otettiin mukaan selittävänä tekijänä mahdollisten koon mukana välittyvien vaikutusten varalta. Käsittelyiden ja järvien välisiä parittaisia eroja taas testattiin Tukeyn HSD- post hoc -testillä (Tukey, 1949). Tilastollisesti merkitseväksi eroksi testeissä katsottiin $p \leq 0,01$ ja tuloksissa mainitaan erikseen suuntaa antaviksi alle arvon 0,05 sijoittuvat todennäköisyydet.



3. Tulokset

3.1. Laitoskasvatuksen vaikutukset ahvenen ominaisuuksiin

3.1.1. Ahvenen kasvupotentiaali, sukukypsyminen ja kuolleisuus laitosolosuhteissa

Toisen intensiivikasvatuskauden aikana laitoskasvatukseen otettujen luonnonravintolammikossa tuotettujen villien ahventen jälkeläisten kuolleisuus oli erittäin alhaista: Kaikkiaan vain 1,4 % kutukokeeseen osallistumattomista yksilöistä kuoli kasvuseurannan aikana 22.9.2015 mennessä. Suurin osa kuolleisuudesta tapahtui kasvuseurannan alkuvaiheessa, jolloin kuoreella ruokittujen ahventen tiheämmässä allastoistossa kuolleisuus oli korkeampi kuin särjellä ruokittujen tiheämmässä altaassa (Taulukko 3.1). Alhaisen tiheyden altaissa ei havaittu kuolleisuutta.

Kahden ensimmäisen kuukauden kasvun perusteella yksilötiheys vaikutti merkitsevästi ahventen pituuteen (ANOVA: $F_{1,824} = 53,192$, $P < 0.001$) ja painoon (ANOVA: $F_{1,827} = 45,168$, $P < 0.001$). Tarjotulla kalalajilla ei ollut vaikutusta keskipituuksiin kahden kuukauden kasvun jälkeen ($F_{2,824} = 0,267$, $P = 0,766$), mutta särkisilpulla saatiin kahdessa kuukaudessa aikaiseksi merkitsevästi suurempi painonlisäys kuin kuoresilpulla ($F_{1,826} = 4,303$, $P = 0,014$). Korkeassa tiheydessä kuoreella ruokittujen ahventen kasvu oli heikkoa verrattuna sekä särjellä yhtä tiheästi kasvatettuihin kaloihin, mutta myös alhaisessa tiheydessä kuoreella kasvaneisiin (Taulukko 3.1). Tehokkainta kasvu alkukesän aikana oli alhaisessa tiheydessä särjellä kasvatetuilla ahvenilla (jopa +20% painonlisäys).

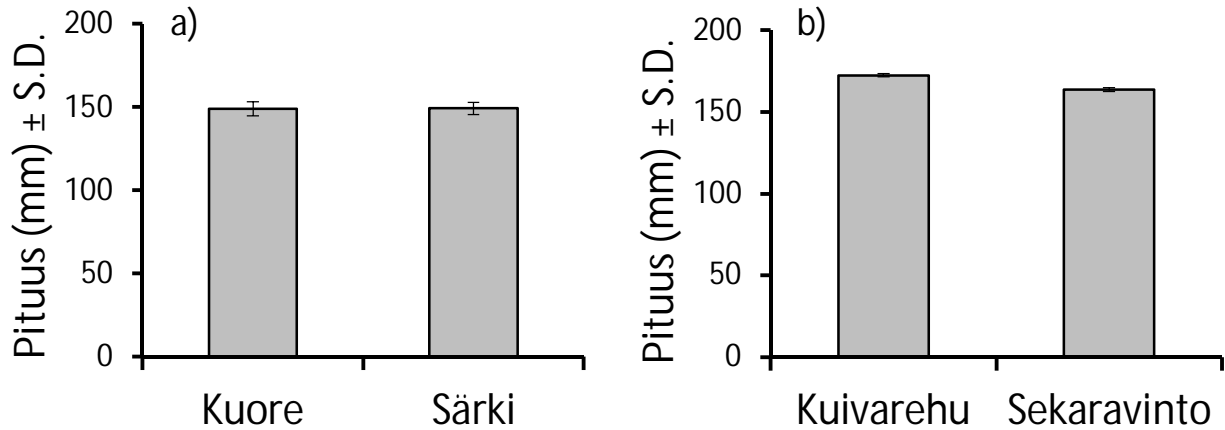
Kasvuseurannan lopussa kaikkien lopussa kaikkien ryhmien yli laskettu painon lisäys oli 19.5.-22.9. välillä 69 % (33,7 g → 57,0 g). Yksilötiheys kasvatusaltaassa vaikutti merkitsevästi toteutuneeseen pituuskasvuun ($F_{1,1003} = 33,267$; $P < 0.001$) ja painoon ($F_{1,1003} = 96,2$; $P < 0.001$). Huomattavasti alhaisemmassa tiheydessä kasvatetut ahvenet (edellisen kasvukauden läpi pelkällä rehulla ruokitut ahvenet) olivat toisen kasvukauden lopussa keskimäärin 7 mm pidempiä sekä 16 g painavampia kuin tiheämmässä kasvatetut, aiemmin jo sekaravinnolla olleet ahvenet. Tiheystoistojen välillä ei ollut eroja yksilöiden loppukoossa (pituus: $F_{2,1003} = 1.812$; $P = 0,164$; paino: $F_{1,1003} = 1,4$; $P = 0,252$), ts. alkukesän kuore- vs. särki-ruokinta ei vaikuttanut painonlisäykseen pysyvästi.

Alhaisen kuolleisuuden lisäksi käytännössä kaikki ahvenet olivat sukukypsiä toisen laitoskasvukauden lopussa, joten kasvun ja kuolleisuuden vertailua sukukypsytyden suhteen ei voitu tehdä.

Taulukko 3.1. Laitostuneiden emokalojen toisen kasvukauden aikainen kasvu.

Tausta	Ruokakäsittely*	N	Pituus / Paino 19.5.	Pituus / Paino 21.7. (kasvu)	Pituus / Paino 22.9. (kasvu)	Kuolleisuus kasvukauden aikana
Kala + rehu	Särki	689	140,4 mm / 32,7 g	145,7 mm / 35,1 g (+3,7 % / +7,3 %)	165,0 mm / 49,3 g	1,0 %
Kala + rehu	Kuore	686	139,8 mm / 32,6 g	144,9 mm / 32,4 g (+3,6 % / -0,01 %)	162,6 mm / 47,4 g	4,3 %
Rehu	Särki	116	142,5 mm / 33,6 g	152,8 mm / 40,6 g (+7,2 % / +20,8 %)	173,4 mm / 66,6 g	0,0 %
Rehu	Kuore	114	144,8 mm / 35,8 g	153,1 mm / 39,3 g (+5,7 % / +9,8 %)	171,4 mm / 63,4 g	0,0 %

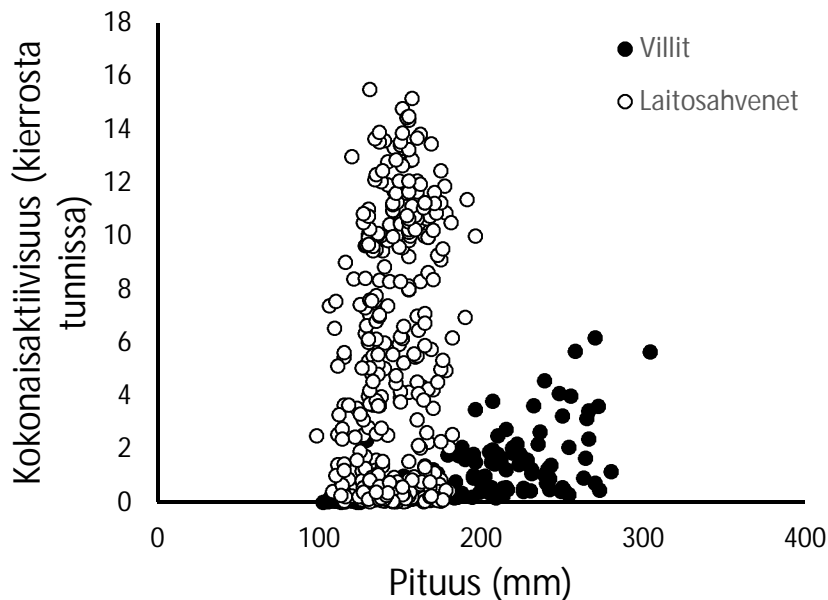
*21.7.2015 asti



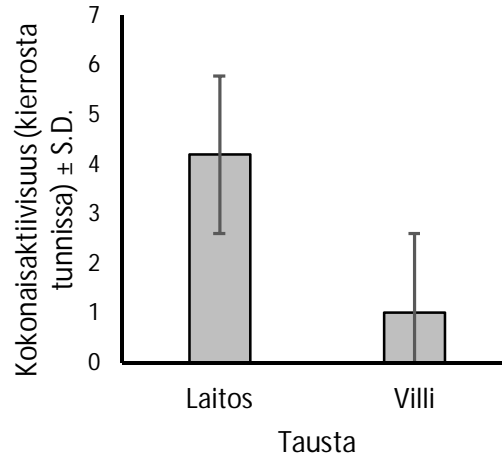
Kuva 3.1. Kasvatuskalojen pituus ruokintaryhmittäin a) välimittauksen yhteydessä 20.-21.7.2015 ja b) kokeen lopussa 21.-23.9.2015. Loppupituus on esitetty suhteessa vuoden 2014 ruokintaan, sillä särki/kuore-ruokinnan loputtua kaikkia altaita ruokittiin kalasilpun ja kuivarehun yhdistelmällä.

3.1.2. Laitoskasvatettujen ahventen käyttäytyminen

Isot kalat olivat aktiivisempia uimaan kuin pienet (Kuva 3.2). Vaikka villit ahvenet olivat suurempia kuin laitostaustaiset kalat, olivat laitostaustaiset ahvenet kuitenkin huomattavasti aktiivisempia kuin villit ahvenet (Kuva 3.3). Tarkasteltaessa vain laitostaustaisia ahvenia, sekaravinnolla kasvatetut ahvenet olivat keskimäärin hieman aktiivisempia kuin kuivarehulla kasvaneet ahvenet.



Kuva 3.2. Uintiaktiivisuuden riippuvuus kalan koosta.



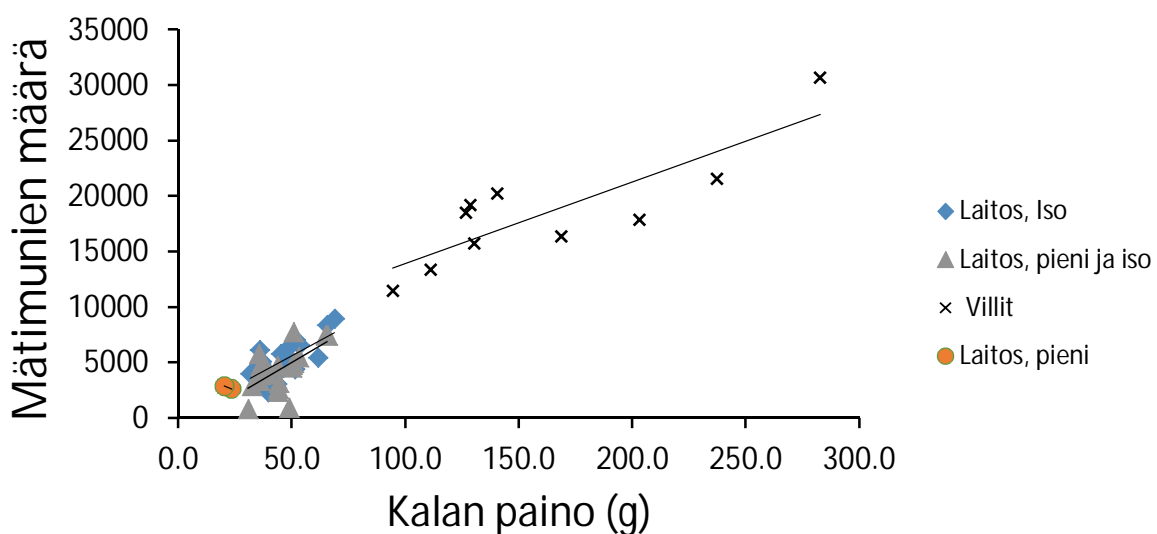
Kuva 3.3. Erot kokonaisaktiivisuudessa laitostaustaisilla ja villeillä ahvenilla.

3.2. Uuden laitosviljelyyn soveltuvan ahvensukupolven tuottaminen

3.2.1. Kasvuun perustuva emokalojen valinta

Kontrolliemojen keskipituus oli toistoissa $149,9 \text{ mm} \pm 14,3 \text{ mm}$ ja $147,6 \text{ mm} \pm 12,9 \text{ mm}$. Nopeakasvuisten emojen ryhmässä keskipituus oli toistoissa $170,1 \text{ mm} \pm 8,6 \text{ mm}$ ja $168,0 \text{ mm} \pm 5,7 \text{ mm}$. Villit emot olivat selvästi suurempia, mutta todennäköisesti myös merkittävästi vanhempia: käyttäytymistestattujen, pilkkimällä pyydettyjen emojen keskipituus oli $211,4 \text{ mm} \pm 36,7 \text{ mm}$ ja katiskalla pyydettyjen merkitsemättömien emojen keskipituus oli $221,4 \text{ mm} \pm 23,9 \text{ mm}$.

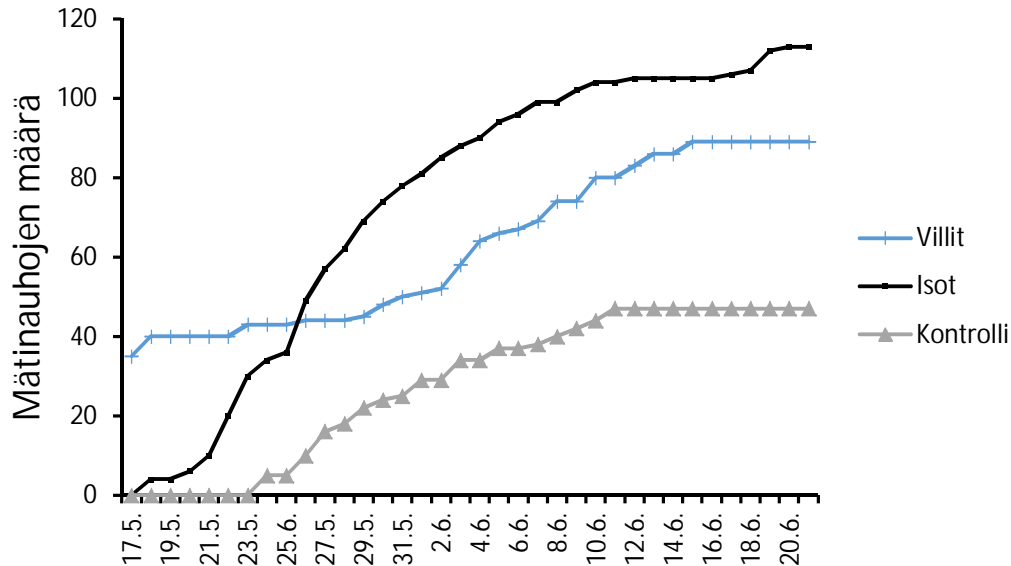
Tutkitussa otoksessa laitoskasvatetuista ahvennaaraista ($N = 84$) oli kutukauden alkaessa sukukypsiä 57 %. Sukukypsät naaraat olivat kooltaan juveniileja hieman suurempia. Tutkituista 29 koiraista sukukypsiä oli 93%. Naaraiden fekunditeetti oli lineaarisesti massasta riippuvaista (Kuva 3.4). Sekä kokoriippuvaisen sukukypsyyden että kokoriippuvaisen fekunditeetin myötä valintaa suurempaa kokoa kohti tapahtui myös kontrolliryhmissä.



Kuva 3.4. Erikokoisten laitostaustaisten sekä villien naaraiden mätimunien määrä suhteessa painoon.

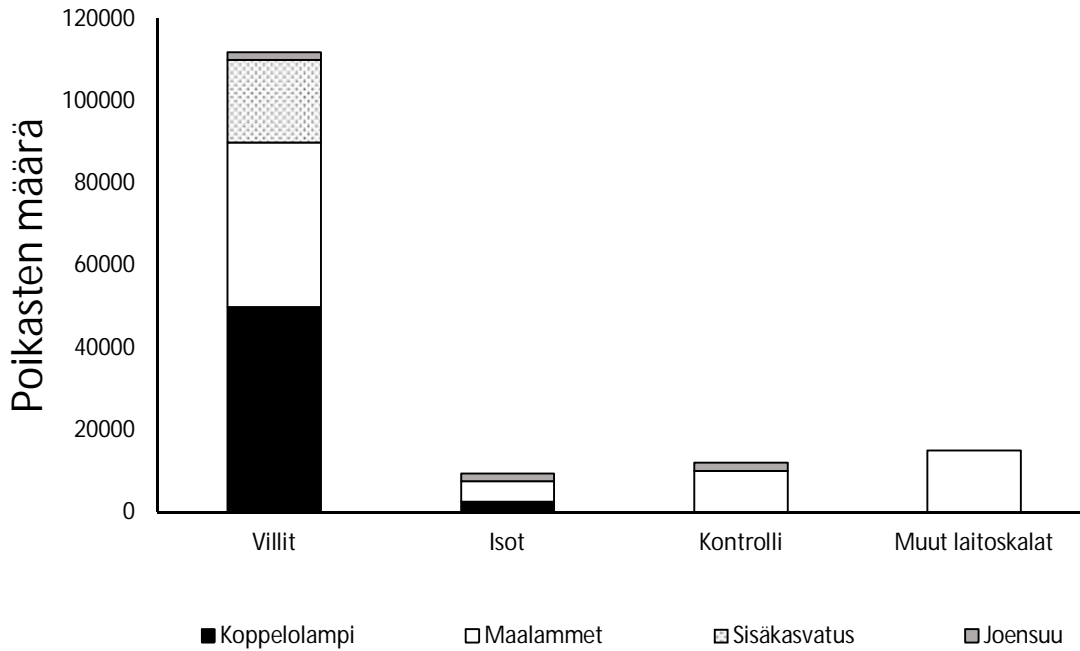


Villiiä taustaa olevien ahventen kutu alkoi ensimmäisenä (17.5.). Mätinauhojen tuotto kaikissa käsittelyissä jatkui pitkälle kesäkuulle (kuva 3.5). Villien ryhmässä ahvenet aloittivat kudun erittäin tehokkaasti, ja mätinauhoja kerättiin jo ensimmäisen päivän aikana 35. Vähiten mätinauhoja koko kutuajan puitteissa tuottivat laitostaustaiset, sekakokoiset kontrolliahvenet, jotka aloittivat kudun viimeisenä (22.5.) ja myös lopettivat sen ensimmäisinä. Oletettavasti näistä kaloista osa oli myös vielä sukukypsymättömiä, mitä ei kyetty kaloista ulkoapäin varmasti havaitsemaan.



Kuva 3.5. Villien ja laituskalojen mätinauhojen tuotto suhteessa aikaan ja kuturyhmien taustaan.

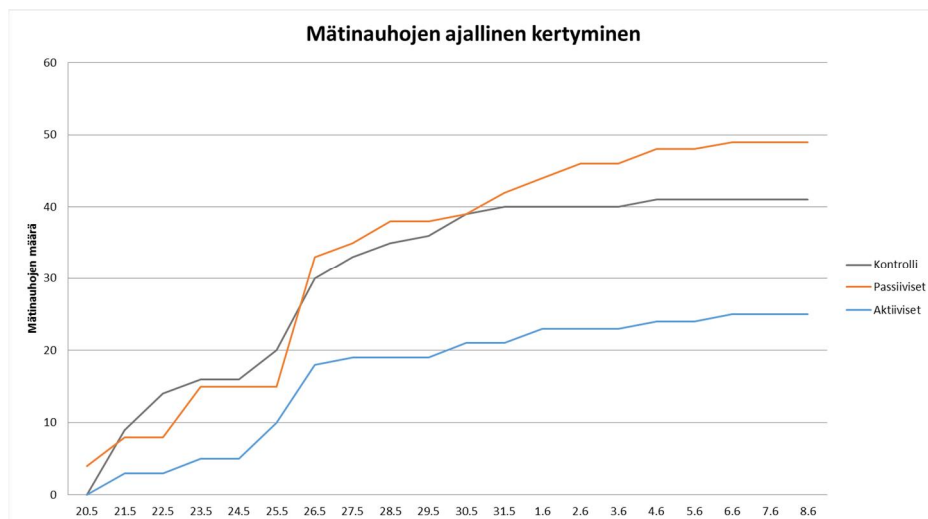
Koko kutuajan aikana nopeakasvuiset laitosahvenet kutivat villejä ja laitostaustaisia kontrollikontrolliahvenia useammin, mahdollisesti naarasvoittoisen sukupuolijakauman vuoksi. Vaikka villit naaraat tuottivat määrällisesti vähemmän mätinauhoja kuin laitostaustaiset nopeakasvuiset kalat, olivat villien naaraiden tuottamat mätinauhut selkeästi pidempiä ja paksumpia, ts. sisälsivät huomattavasti enemmän munia kuin laitostaustaisten naaraiden tuottamat mätinauhut. Tämä heijastui eritoten kuoriutuvien poikasten määrään. Villien ahventen poikasia saatiin jatkokokeisiin n. 110 000 yksilöä, kun taas laitostaustaisten poikasten määrät jäivät alle 10 000 yksilön (Kuva 3.6). Varsinaisen kokeen ulkopuolelta kerätyistä kasvatuskokeen kalojen mätinauhoista kuoriutui kuitenkin lisäksi vähintään 50 000 poikasta, joita jatkossa käytettiin korvaavina kontrollipoikasina.



Kuva 3.6. Erot jatkokasvatuksiin siirrettyjen poikasten määrissä valintaryhmittäin.

3.2.2. Käyttäytymiseen perustuva emokalojen valinta

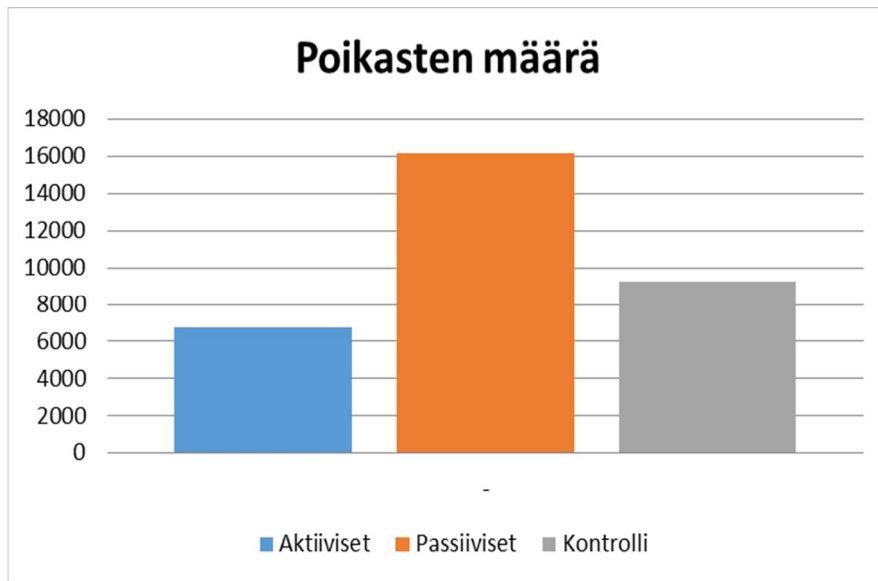
Virtavesialtaisiin sijoitetuissa läpivirtauslaatikoissa kutu alkoi 20.5 ja hidastui toukokuun lopussa (kuva 3.7). Eniten mätiä tuotettiin 24.-27.5. välisenä aikana. Passiiviset ahvenet lisääntyivät muita ryhmiä (aktiiviset ja kontrolliahvenet) paremmin ja tuottivat eniten mätinauhoja (kuva 3.10). Aktiiviset ahvenet tuottivat vähiten mätiä. Passiivisilla yksilöillä mädin tuotanto jatkui hieman pidempään kuin aktiivisilla ja kontrolleilla.



Kuva 3.7. Mätinauhojen tuotto suhteessa aikaan emokalojen käyttäytymiseen.



Passiivisten ahventen kuoriutumismenestys on myös muita ryhmiä parempi (kuva 3.8). Passiivisten kalojen poikasia kuoriutui noin 16 100 kun taas aktiivisten kalojen poikasia kuoriutui yhteensä noin 6700 ja kontrolleja noin 9200.

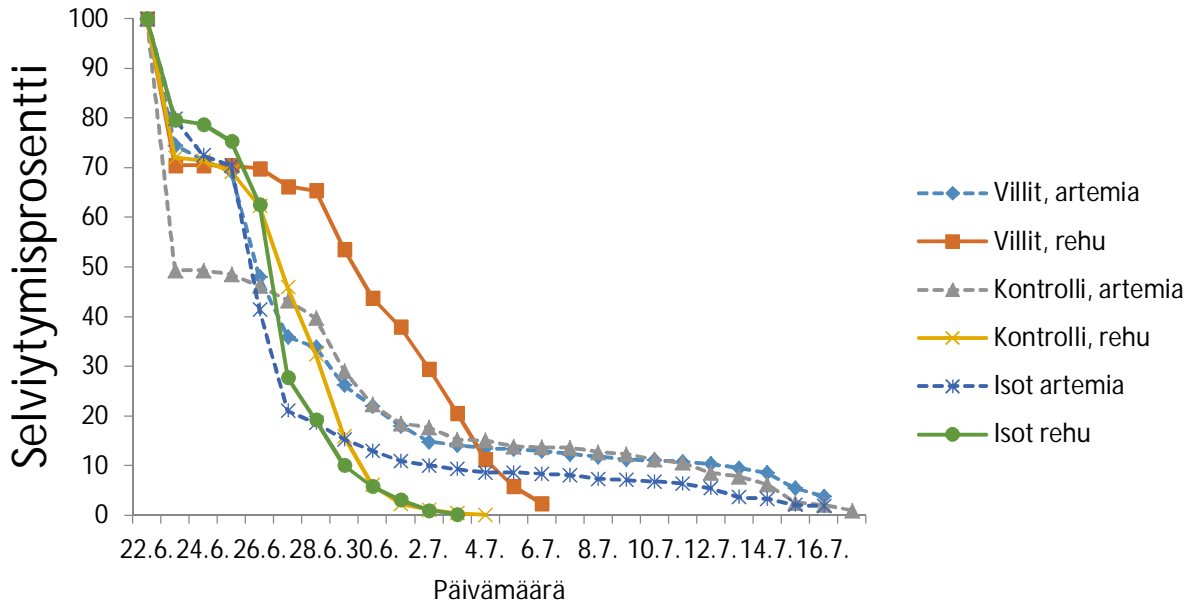


Kuva 3.8. Erot kuoriutuneiden poikasten määrässä emokalojen käyttäytymiseen perustuvan valinnan seurauksena.

Hautomon sihtisaaveissa tapahtuneessa vastakuoriutuneiden poikasten starttikokeiluissa kuolleisuus oli suurta ja kasvu vähäistä. Passiivisten emojen poikasia säilyi hengissä hieman enemmän ja pidempään kuin muiden ryhmien poikasia, mikä todennäköisesti kuitenkin johtui niiden alun perin suuremmasta määrästä.

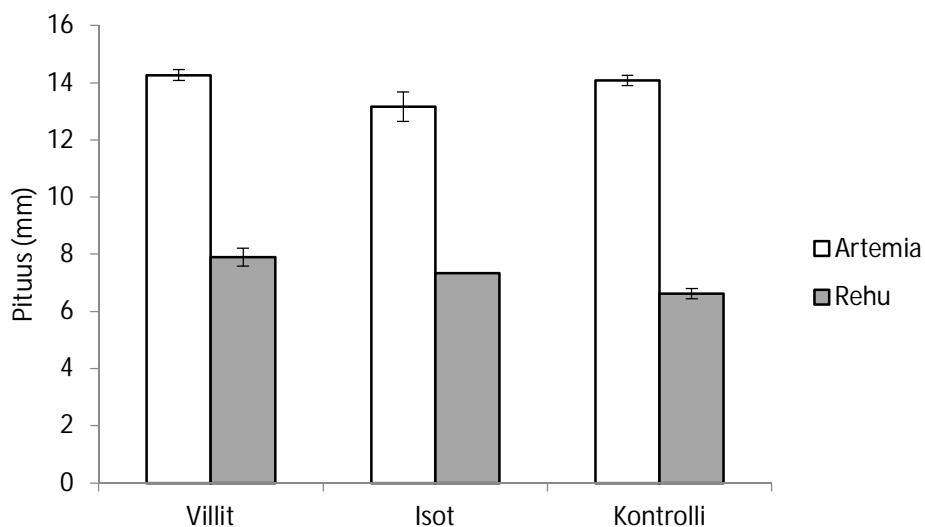
3.2.3. Alkuruokintamenetelmän vaikutus starttimenestykseen

Eri valintaryhmien poikasten kuolleisuus noin kuukauden kestäneen akvaarioskaalan starttikokeen aikana on esitetty kuvassa 3.9. Poikasten kuolleisuus oli korkea kokeen ensimmäisinä päivinä kaikissa käsittelyissä, jolloin ruskuaispussin vararavinto oli todennäköisesti loppumassa, mutta poikaset eivät alkaneet syömään kumpaakaan tarjottua ravintoa tai stressaantuivat liikaa siirron ja käsittelyn seurauksena. Tämän jälkeen kuolleisuus jatkui korkeana etenkin poikasrehukäsittelyssä, ja 4.-6.7.2015, vain kaksi viikkoa kokeen alkamisen jälkeen rehurukintaryhmät lopetettiin poikasmäärän alittaessa 20 yksilöä. Korkean alkukuolleisuuden jälkeen artemialla ruokittujen poikasten määrä väheni päivittäin enää n. 10 yksilön verran. Artemialla startatut poikaset selviytyivät starttirehulla ruokittuja selvästi pidempään. Artemialla ruokittujen ryhmien osalta koe lopetettiin miltei kaksi viikkoa starttirehukäsittelyä myöhemmin (16.-17.7.2015).



Kuva 3.9. Elossa olevien poikasten määrä Joensuussa suoritetuissa kasvatuskokeissa starttiravinnon ja vanhempien taustan suhteen. Katkoviivat edustavat artemialla ruokittuja ryhmiä ja yhtenäiset viivat poikasrehulla ruokittuja.

Artemialla startattujen poikasten vatsalaukkujen tarkastelun perusteella poikaset söivät artemiaa jossain määrin, ja eläessään pitempään ne myös alkoivat kasvaa paremmin kokoa toisin kuin starttirehulla kasvatetut. Starttikokeen lopussa elossa olleiden eri ryhmien poikasten pituudet on esitetty kuvassa 3.10. On huomioitava että rehulla starttatut poikaset elivät 2 viikkoa lyhemmän ajan ennen kokeen lopetusta, ja ovat osittain myös siksi loppupituuksiltaan pienempiä kuin artemialla ruokittujen poikasten. Valintaryhmien suhteen eroja poikasten kasvussa ei havaittu (kuva 3.10). Villien emojen jälkeläiset näyttivät selviytyvän hieman paremmin kuin kasvatuskalojen, todennäköisesti johtuen isompien emojen maternaalivaikutuksesta.

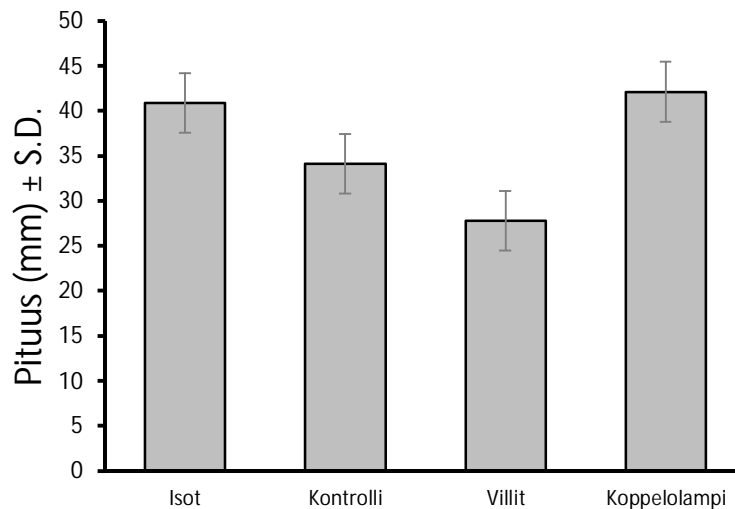


Kuva 3.10. Poikasten pituus kokeen lopussa (millimetreinä ja keskihajonnat) kahden starttiravintokäsittelyn välillä.



3.2.4. Pienpoikasten lampikasvatus ja oppiminen kuivarehulle

Koppelolammessa poikaset kasvoivat paremmin pituutta ja painoa kuin luonnonravintolammikkoa muistuttavissa 400 m² maa-altaissa (Kuva 3.11). Maalammissa poikasia kasvatettiin huomattavasti Koppelolampea suuremmissa yksilötiheydessä, joskin nopeakasvuisten käsittelyssä tiheys jäi huonon kuoriutumismenestyksen takia muita maalampikäsittelyjä huomattavasti alhaisemmaksi. Maalammissa kasvatettujen eri käsittelyjen poikasista pituutta kasvoivat parhaiten nopeakasvuisten emokalojen jälkeläiset, kun taas selkeästi pienimmäksi jäivät maalammissa alkukasvatetut villien ahventen jälkeläiset (Kuva 3.11). Kuvassa huomionarvoinen on villien ja kontrollikalojen (laitoskalojen) välinen kokoero, joka ei selity eroilla kasvatustiheydessä (molemmissa altaissa 20 000).



Kuva 3.11. Koppelolammesta ja Paltamon tutkimusyksikön maa-altaista pyydettyjen ahventen koko n. 2 kk kasvun jälkeen.

Sosiaalisen oppimisen koetta varten maalammissa kerättyjen yksilöiden pituudet suhteessa vanhempien taustaan vastasivat kuvassa 3.11. esitettyjä eroja. Alkupituuksissa oli tilastollisesti merkitsevä ero käsittelyjen välillä ($F_{2,293} = 124,3$; $P < 0.001$), mutta myös käsittelyjen sisällä toistoaltaiden välillä ($F_{3,293} = 60,9$; $P < 0,001$).

Ensimmäisen kahden viikon selviytymistodennäköisyyteen vaikutti poikasten tausta ($F_{2,2} = 112,1$; $P = 0.009$) sekä tutorointikäsittely ($F_{1,2} = 24,2$; $P = 0.039$). Kahden viikon jälkeen lisääntyvää kuolleisuutta oli havaittavissa erityisesti villitaustaisten poikasten kasvatusaltaissa (Taulukko 3.2). Laitostaustaisista etenkin isot-ryhmän poikasilla kuolleisuus oli erittäin alhaista. Tutor-käsittelyssä kuolleisuus oli tässä vaiheessa koetta alhaisempaa kuin ilman tutoreita. Ensimmäisen kahden viikon aikana havaittu poikasten kasvu oli vielä hyvin vähäistä. Villien poikaset ja kontrollipoikaset eivät keskimäärin kasvaneet vielä juuri lainkaan, mutta nopeakasvuista taustaa olevat poikaset olivat kasvaneet jo 4 % kokeen kahden ensimmäisen viikon aikana.

Välimittauksen jälkeen villien altaissa poikasten kuolleisuus jatkoi nopeaa kasvuaan ja villien poikasten kohdalla koe lopetettiin jo neljän viikon jälkeen puolessa altaista. Muissa altaissa koe lopetettiin viiden viikon jälkeen. Viiden viikon selviytymistodennäköisyyteen vaikutti enää vain



poikasten tausta ($F_{2,2} = 28,6$; $P = 0.034$), mutta ei tutorointi ($F_{1,2} = 4,0$; $P = 0.182$). Loppuun asti hengissä selvinneet, eli mitä todennäköisimmin rehua syömään oppineet poikaset, olivat myös kasvaneet jo huomattavasti suhteessa alkutilanteen allaskohtaisiin keskipituuksiin (Taulukko 3.2). Nopeakasvuisten ahventen poikaset kasvoivat suhteessa alkutilanteeseen vähiten, mutta toisaalta niiden kuolleisuus oli alhaisin. Villi ja kontrolli –taustaisten poikasten kasvu oli suhteessa nopeampaa koko viiden viikon aikana, mutta samalla myös niiden kuolleisuus oli selkeästi korkeampaa kuin muilla ryhmillä.

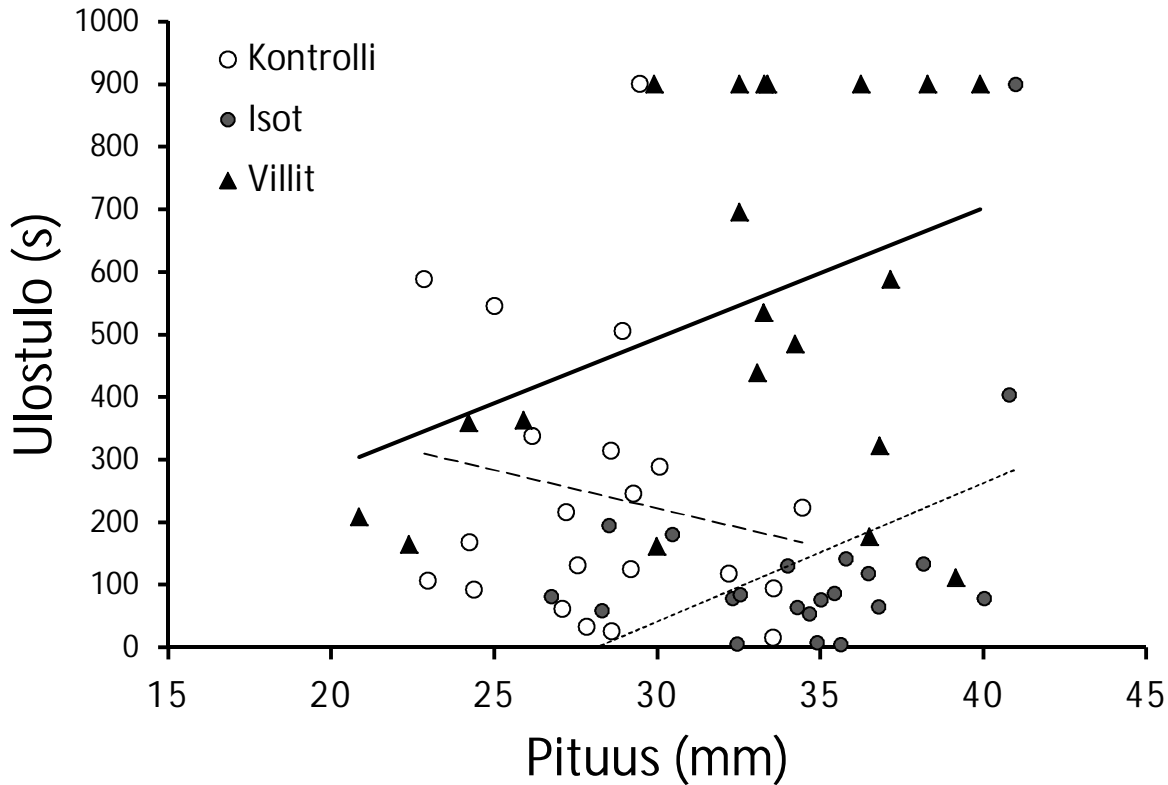
Taulukko 3.2. Ahventen pienpoikasten kasvu viiden viikon aikana laitosoioihin ja rehuravinnolle siirtymisen jälkeen

Tausta	Käsittely	Alkumittaus mm ± s.d.	Välimittaus mm ± s.d. (2 viikon kasvu/kuolleisuus)	Loppumittaus mm ± s.d. (5 viikon kasvu/kuolleisuus)
Villit	Ei tutoria	29 ± 4	30 ± 4 (+2.8 % / -22 %)	36 ± 7 (+23.7 % / -82 %)
	Tutor	28 ± 0	28 ± 6 (+0.0 % / -13 %)	34 ± 7 (+20.1 % / -81,5 %)
Kontrollit	Ei tutoria	36 ± 10	37 ± 8 (+0.3 % / -5,5 %)	45 ± 6 (+24.5 % / -77%)
	Tutor	34 ± 7	34 ± 7 (+0.1 % / -4 %)	42 ± 7 (+21.6 % / -71,5 %)
Isot	Ei tutoria	40 ± 6	42 ± 6 (+4.0 % / -0,5 %)	46 ± 5 (+15.4 % / -61,5 %)
	Tutor	41 ± 6	42 ± 7 (+3.0 % / -0,5 %)	47 ± 5 (15.7 % / -67,5 %)

Aloitus 6.8.2015, Välimittaus 20.8.2015, Loppumittaus 8.9.2015

3.2.5. Pienpoikasten käyttäytyminen suhteessa vanhempien ominaisuuksiin

Kahdesti toistettujen testien perusteella yksilöiden liikkeelle lähtö aloituslaatikosta oli toistettavaa ($ICC = 0,673$; $F_{137,137} = 3,1$; $P < 0.001$). Käyttäytymistestien aikana 18 yksilöä ei poistunut aloituslaatikosta kummankaan käyttäytymiskoetoiston aikana. Liikkeellelähdön todennäköisyydellä mitattuna kontrollikäsittelyn poikaset olivat rohkeimpia, sillä vain muutama jäi kummassakin toistossa aloituslaatikkoon, kun taas isojen ja villien joukossa oli useampi hyvin arka yksilö, joka ei poistunut laatikosta kokeiden aikana. Rohkeus oli riippuvaista poikasten koosta ($F_{1, 116,98} = 260,3$; $P < 0.001$). Isot yksilöt olivat pieniä ujompia (kuva 3.12). Poikasten koolla oli lisäksi merkitsevä yhdysvaikutus poikasten taustakäsittelyn kanssa ($F_{2, 117} = 7,9$; $P = 0.001$), minkä vuoksi ryhmien välisten yleiserojen tulkinta on vaikeaa (Kuva 3.12). Näin ollen eri ryhmien väliset rohkeuserot riippuvat siitä, minkä kokoisia yksilöt ovat olleet. Kalan koolla ja testauksen ajankohdalla voi olla myös yhdysvaikutus, minkä vuoksi kuva 3.12. kuvaa vain koko tutkimusjakson aikaisia eroja. Koska kaikkia ryhmiä kuitenkin testattiin joka päivä, ei mahdollinen ajallinen vaikutus voi selittää ryhmien välisiä eroja.

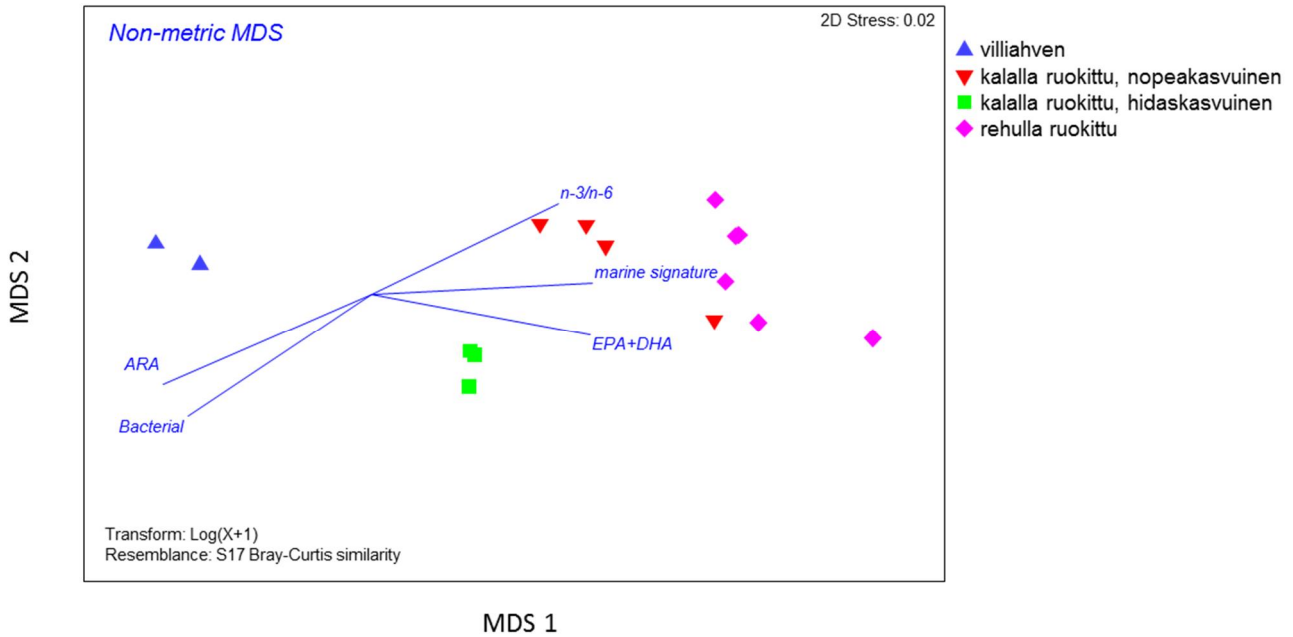


Kuva 3.12. Maalammissa alkukasvatettujen, käyttäytymistestattujen poikasten ensimmäisessä kokeessa aloituslaatikosta ulostuloon käyttämä aika suhteessa yksilön kokoon ja taustaryhmään. Isot villitaustaiset poikaset (ylin musta viiva) olivat ns. ujompia kuin isot laitostaustaisen poikaset, mutta pienet villitaustaiset olivat yhtä rohkeita kuin pienet kontrolliryhmätaustaiset kalat (keskimäinen katkoviiva). Viivat esittävät lineaarisia regressioita.

3.3. Laitoskasvatuksen ja ravinnon vaikutus ahvenfileen rasvahappokoostumukseen

3.3.1. Rehun vs. kalasilpun vaikutus rasvahappokoostumukseen

Alkutilanteessa, ennen kokeellista kasvatusjaksoa särki- ja kuoresilpulla, eri käsittelyryhmät poikkesivat toisistaan selkeästi (kuva 3.13). Käsittelyn vaikutukset ahventen rasvahappokoostumukseen olivat tilastollisesti merkitseviä (PERMANOVA Pseudo-F = 27,8; P = 0,001). Kasvatetut ahvenet (kalasilpulla tai rehulla ruokitut) olivat lihastensa rasvahappokoostumuksiltaan lähempänä toisiaan kuin luonnonahvenia.



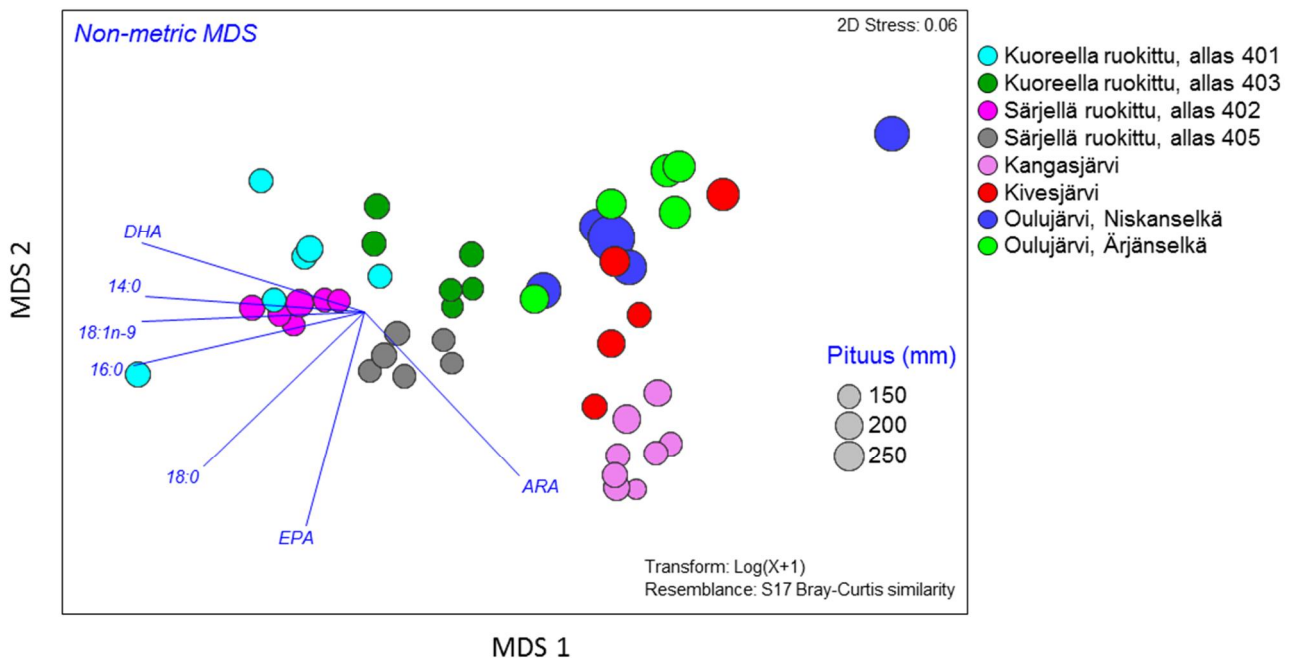
Kuva 3.13. Oordinaatiokuva (multidimensional scaling) alkutilanteen näyteahventen lihasten rasvahappokoostumuksista. Analyysissä käytetty rasvahappopitoisuuksia ahvenen lihaksessa (mukana kaikki analysoidut rasvahapot). Ennen analyysiä arvoille tehtiin logaritimuunnos, $\log(x+1)$ ja matriisissa käytettiin Bray-Curtis samankaltaisuutta. Jokainen symboli kuvaa yhden neljän kalan lihaksesta yhdistetyn näytteen sijoittumista rasvahappoavaruudessa suhteessa muihin näytteisiin. Siniset vektorinuolet kuvaavat rasvahappojen/rasvahapporyhmien vaikutussuuntia ja -suuruuksia kuvaajassa, niinpä esimerkiksi rehulla ruokituissa ahvenissa on enemmän DHA:ta (22:6n-3-rasvahappoa) kuin muissa näytteissä.

Laitoskasvatettujen ahventen n-3/n-6 suhde oli luonnonkaloja suurempi ja lisäksi ne sisälsivät enemmän terveydelle hyödyllisiä rasvahappoja eikosapentaeenihappoa, EPA:a (20:5n-3) ja dokosaheksaanihappoa, DHA:ta (22:6n-3), sekä merikalaille tyypillisiä rasvahappoja, koska kalarehun valmistukseen käytetään yleisesti merikalvoja. Yhteensä EPA:a ja DHA:ta oli villiahvenissa keskimäärin noin 2 mg/g lihasta, kasvatetuilla kaloilla n. 3-3.5 mg/g lihasta. Villiahvenet puolestaan sisälsivät enemmän arakidonihappoa, ARA (20:4n-6) sekä bakteereista peräisin olevia rasvahappoja. Bakteereista peräisin olevat rasvahapot viittaavat siihen, että ravintoketjun alussa (eläinplankton, pohjaeliöstö) on käytetty luonnollisia bakteereita ravinnoksi, ja nämä rasvahapot ovat kulkeutuneet ruoan mukana kaloihin. Rehulla ruokitut ahvenet olivat myös huomattavasti luonnonahvenia, sekä hieman kalalla ruokittuja ahvenia (~9 %) rasvaisempia (taulukko 3.3). Erot kokonaisrasvamäärissä selittävät suurimman osan DHA- ja EPA-pitoisuuksissa havaituista eroista, vaikkakin kasvatetut kalat sisälsivät myös suhteellisesti enemmän DHA:ta ja EPA:a (~38 % kokonaisrasvahapoista villeillä ahvenilla ja ~41 % kasvatetuilla ahvenilla). Eri ravintokäsittelyt eivät vaikuttaneet DHA:n ja EPA:n osuuteen kaikista rasvahapoista. Erityisesti DHA:n osuus oli suurempi kasvatetuilla ahvenilla (noin 35 % kaikista rasvahapoista), kuin villiahvenilla (noin 30 % kaikista rasvahapoista). Kiintoisaa kyllä hidaskasvuiseksi valikoiduilla, kalalla ruokituilla ahvenilla oli lihaksessaan suhteellisesti enemmän omega-6 monityydyttymättömiä rasvahappoja, erityisesti ARAa kuin saman ruokavalion nopeakasvuiseksi valikoiduilla ahvenilla. Niinpä hidaskasvuiset kalalla ruokitut ahvenet sijoittuivatkin oordinaatiokuvaajassa kasvatetuista ahvenista lähimmäs luonnonahvenia (kuva 3.13).



3.3.2. Kuore- vs. särjellä kasvatettujen ahventen lihasten rasvahappokoostumukseen

Kuoreella ja särjellä kasvatettujen ahventen lihasten rasvahappokoostumukset erosivat luonnonvaraisista ahvenista selvästi vielä intensiivikasvatusjakson loputtuakin (PERMANOVA, Pseudo-F = 51,5; P = 0.001; Kuva 3.14). Kasvatus vs. villi selitti noin 68 % rasvahappokoostumuksen eroista ahvenilla. Myös järviältaiden ja järvien välillä näkyi eroja, vaikka saman järven tai järviältaan ahvenet sijoittuivat oordinaatiokuvaajassa toistensa lähelle. Etenkin Kangasjärven ahvenet poikkesivat selkeästi suurempien järvien ahvenista. Kivesjärven ahvenet taas sijoittuivat oordinaatiokuvaajassa Oulujärven Ärjän- ja Niskanselkien sekä Kangasjärven välimaastoon. Kasvatettujen ahventen sisällä kuoreella ja särjellä ruokitut ahvenet sijoittuivat oordinaatiokuvaajassa osittain erilleen, osittain päällekkäin. Allastoistojen 401 ja 402 (alhainen tiheys; alun perin vain rehulla ruokitut) ahvenet erosivat allastoistojen 403 ja 405 (korkea tiheys; alun perin sekaravinnolla) ahvenista, huolimatta siitä oliko niille syötetty särki- vai kuoresilppua, todennäköisesti riippuen alkuperäisestä rehu vs. rehu ja kuore -ravinnosta tai tiheyseroista syntyneistä eroista kasvunopeudessa.



Kuva 3.14. Oordinaatiokuva (multidimensional scaling) kasvatettujen ja villien ahvenyksilöiden lihasten rasvahappokoostumuksesta kokeen lopussa heinä-elokuussa. Analyysissä on mukana kaikki rasvahapot. Jokainen symboli kuvaa yhdestä ahvenyksilöstä tehdyn näytteen sijoittumista rasvahappoavaruudessa suhteessa muihin näytteisiin, ja symbolin koko viittaa yksilön pituuteen. Siniset vektorinuolet kuvaavat rasvahappojen vaikutussuuntia ja -suuruuksia kuvaajassa. Symbolin koko kuvaa kalan pituutta (katso kuvassa oleva skaala).

Pituudella ei ollut yhdysvaikutuksia lihaksen kokonaisrasvahappomäärän kanssa ahventen taustan (villi tai kasvatettu) tai kasvatusaltaiden välillä. Villiahvenilla sitä vastoin löytyi heikko negatiivinen korrelaatio pituuden ja rasvahappopitoisuuden välillä, mutta se oli vain suuntaa antava (P = 0,05). Kasvatettujen ahventen lihasten rasvahappopitoisuus oli 50 % suurempi kuin luonnonvaraisilla ahvenilla keskimäärin, mutta muuten ruokintakäsittelyiden, järvien tai järviältaiden välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä parittaisia eroja kokonaisrasvahappopitoisuuden suhteen.



Kasvatetuissa ahvenissa oli 86 % enemmän n-3-ryhmän rasvahappoja suhteessa n-6-ryhmän rasvahappoihin kuin luonnonahvenissa. Toisin sanoen kasvatettujen ahventen n-3/n-6-rasvahappojen suhdeluku oli huomattavasti korkeampi kuin luonnonahvenissa (taulukko 3.3). Ruokintakäsittelyjen välillä eroa ei ollut, mutta alun perin sekaravinnolla ja kokeen aikana särjellä ruokittujen ahventen n-3/n-6-suhdeluku oli matalampi kuin alun perin rehulla ruokituissa ahvenissa, eikä poikennut Ärjän- ja Niskanselän ahventen n-3/n-6-suhdeluvusta. Näin ollen pituuden ja n-3/n-6-suhdeluvun väliltä löytyi voimakas positiivinen korrelaatio kasvatetuissa ahvenissa, eli pidemmissä ahvenissa oli suhteellisesti enemmän omega-3-ryhmän rasvahappoja. Luonnonahvenista taas Kangasjärven ahvenissa oli matalampi n-3/n-6-suhdeluku kuin Ärjänselän ahvenissa, eli niissä oli suhteellisesti eniten n-6-ryhmän rasvahappoja.

EPA:n ja DHA:n yhteenlaskettu osuus kaikista rasvahapoista oli kasvatetuilla ahvenilla merkitsevästi (~41% kaikista rasvahapoista) korkeampi kuin luonnonahvenilla (~38% kaikista rasvahapoista). Kangasjärven ahvenet puolestaan poikkesivat kaikista muista ahvenryhmistä erityisen alhaisten EPA+DHA-pitoisuutensa suhteen (~31% kaikista rasvahapoista), kun taas Ärjänselän ahvenilla osuus oli samaa luokkaa kuin kasvatetuilla ahvenilla (~43% kaikista rasvahapoista).

Taulukko 3.3. Ahventen lihasten rasvahappokoostumuksia kuvaavia lukuja, eli keskimääriä (KA) ja keskihajontoja (SD). Viidellä ylimmällä rivillä eri rasvahapporyhmien %-osuuksia kokonaisrasvahapoista: n-3 tarkoittaa omega-3-ryhmän rasvahappoja ja n-6, omega-6-ryhmän rasvahappoja. "PUFA" tarkoittaa monitydyttymättömiä rasvahappoja ja "SAFA" tyydyttyneitä rasvahappoja. EPA ja DHA ovat kummatkin monitydyttymättömiä n-3-ryhmän rasvahappoja. Rasvojen kokonaismäärä on ilmaistu milligrammoina lihasen märkäpainoa (grammoina) kohden.

	Alkutilanne						Lopputilanne					
	Kalalla ruokittu, n=7		Rehulla ruokittu, n=6		Villi, n=2		Kuoreella ruokittu, n=12		Särjellä ruokittu, n=12		Villi, n=23	
	KA	SD	KA	SD	KA	SD	KA	SD	KA	SD	KA	SD
EPA + DHA %	40.8	1.7	41.0	2.0	37.8	0.1	40.9	2.5	38.6	1.1	33.5	4.6
ARA %	4.8	1.7	1.8	0.2	10.8	0.2	5.1	2.4	6.3	2.1	12.5	2.0
Bacterial FA %	0.6	0.1	0.3	0.0	1.1	0.1	0.5	0.2	0.9	0.2	1.1	0.6
20:1 + 22:1 %	0.8	0.3	1.3	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.3
SAFA %	24.2	0.8	23.2	0.4	24.5	0.0	26.3	0.6	25.7	0.6	26.5	1.1
n-3/n-6	4.2	0.6	4.7	0.4	2.7	0.0	4.4	1.1	3.8	0.6	2.2	0.6
Kokonaisrasvahappo pit, mg/g	6.9	0.4	7.6	0.7	4.8	0.3	6.5	0.5	6.8	0.4	4.4	0.6

Taulukko 3.4. Ahventen ravintokalojen ja ravinnon rasvahappokoostumuksia kuvaavia lukuja, eli keskimääriä (KA) ja keskihajontoja (SD). Viidellä ylimmällä rivillä eri rasvahapporyhmien %-osuuksia kokonaisrasvahapoista: n-3 tarkoittaa omega-3-ryhmän rasvahappoja ja n-6, omega-6-ryhmän rasvahappoja. "PUFA" tarkoittaa monitydyttymättömiä rasvahappoja ja "SAFA" tyydyttyneitä rasvahappoja. EPA ja DHA ovat kummatkin monitydyttymättömiä n-3-ryhmän rasvahappoja. Rasvojen kokonaismäärä on ilmaistu mikrogrammoina homogenaatinäytteen märkäpainoa (milligrammoina) kohden.

	Luonnonkalaja												Kalarehu					
	Kuore kutuaikana, n=3		Kuore, n=2		Särki, n=5		Kiiski, n=2		Muikku, n=2		Salakka, n=2		Seipi, n=2		Raisio Circuit, n=2		Raisio Veronesi Vita, n=2	
	KA	SD	KA	SD	KA	SD	KA	SD	KA	SD	KA	SD	KA	SD	KA	SD	KA	SD
EPA + DHA %	18.3	0.3	27.9	0.3	19.0	0.5	20.6	2.0	24.2	0.8	17.4	1.2	17.4	0.2	8.5	0.1	17.1	0.0
ARA %	6.0	0.1	7.6	1.2	9.6	1.2	8.4	0.4	4.9	0.3	7.4	0.3	5.8	0.1	0.1	0.0	0.4	0.0
Bacterial FA %	3.7	0.0	1.9	0.5	3.5	0.3	1.9	0.3	3.1	0.0	2.9	0.1	3.1	0.4	0.6	0.0	1.4	0.0
20:1 + 22:1 %	0.1	0.0	0.1	0.0	0.2	0.0	0.1	0.0	0.2	0.0	0.3	0.0	0.2	0.0	6.6	0.0	13.5	0.1
SAFA %	23.0	0.2	24.4	0.2	24.0	0.7	23.4	0.2	25.9	0.3	22.6	1.7	21.5	0.2	16.7	0.0	25.0	0.0
n-3/n-6	2.4	0.0	2.5	0.3	1.6	0.1	1.8	0.0	3.7	0.4	1.8	0.1	1.9	0.1	1.0	0.0	2.3	0.0
Kokonaisrasvahappo pit, mg/g	12.2	0.2	3.8	0.9	4.8	0.2	4.1	0.7	7.1	0.2	8.1	0.3	7.8	0.0	71.8	1.7	71.8	2.4

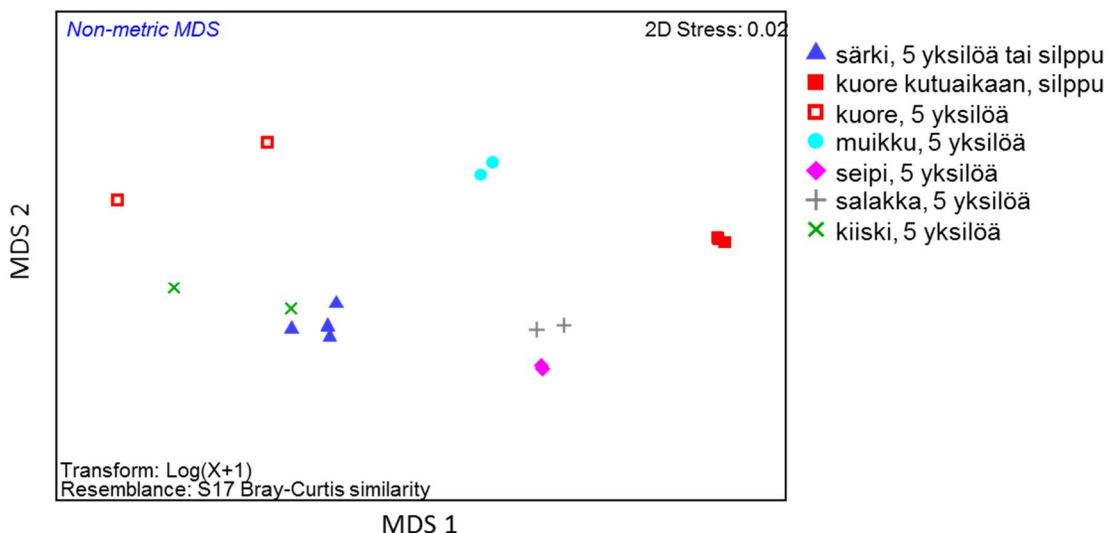
3.3.3. Ahventen ravintokalojen sekä rehun rasvahappokoostumus

Ekologisille näytteille tehdystä pääkomponenttianalyysistä näkyy, että kalalajien välillä on selkeitä eroja rasvahappokoostumuksissa (kuva 3.15). Särkisilpun, jota allaskaloillekin syötettiin, rasvahappokoostumus oli hyvin samankaltainen Niskanselän särkien kanssa. Sen sijaan kuoresilpun ja Niskanselän kuoreista tehtyjen näytteiden rasvahappokoostumus erosi merkittävästi ja ne sijoittuivat ordinaatiokuvaajassa aivan ensimmäisen pääkomponentin vastakkaisiin päihin. Tämä johtunee ennen kaikkea siitä, että kuoreilla oli juuri ensimmäisten rasvahaponäytteiden ottoaikaan kutuaika meneillään, monilla naarailla oli rasvaista mätiä sisässään ja niinpä niistä tehtyjen näytteiden rasvapitoisuus oli huomattavasti suurempi kuin ekologisten näytteiden ottoaikaan.

Kokonaisrasvahappopitoisuus korreloi voimakkaasti MDS 1 kanssa ($r = 0.97$). Parittaisen "Tukeyn HSD"-testin perusteella aineistomme kalalajit voidaan jakaa kolmeen toisistaan poikkeavaan kokonaisrasvahappopitoisuusluokkaan: Pienimpään kokonaisrasvahappomäärän luokkaan kuuluvat kiiski, kuore ja särki. Edellisiä keskimäärin 81 % korkeamman kokonaisrasvahappomäärän luokkaan, jossa kaikki lajit poikkesivat tilastollisesti merkitsevästi edellisistä, kuuluvat muikku, seipi ja salakka. Aivan omaa luokkaansa oli kutuaikaan pyydetty kuore, jonka kokonaisrasvahappopitoisuus oli vielä 59 % edellisen ryhmän kaloja korkeampi.

Muikulla oli korkein n-3/n-6 suhde, seivellä, salakalla, kiiskellä ja särjellä pienin (taulukko 3.4). Muikussa olikin suhteellisesti enemmän omega-3-ryhmän rasvahappoja kuin missään muussa kalalajissa lukuun ottamatta kuoreita kutuajan ulkopuolella. Yhteenlaskettu EPA:n ja DHA:n osuus rasvahapoista oli muita lajeja korkeampi muikuilla sekä kuoreilla ja pienin kutuaikaan pyydytyillä kuoreilla sekä kesällä pyydytyillä seivillä ja salakoilla.

Omega-3/Omega-6 suhde oli luonnonkaloissa suuntaa-antavasti korkeampi kuin Circuit-rehussa ($P = 0,050$). EPA:n ja DHA:n osuus luonnonkalojen rasvahapoista oli 138 % suurempi kuin Circuit-rehussa, mutta Veronesi Vita-rehun ja kalojen välillä ei löytynyt merkitsevää eroa. Rehussa esiintyviä 22:1-ryhmän rasvahappoja ei luonnonkaloissa esiintynyt juuri lainkaan.



Kuva 3.15. Ordinaatiokuva (multidimensional scaling) luonnonvaraisten kalojen rasvahappokoostumuksesta. Jokainen symboli kuvaa yhden viidestä kokonaisesta kalasta yhdistetyn näytteen sijoittumista rasvahappoavaruudessa. Niinpä esimerkiksi kiisket ovat rasvahappokoostumukseltaan samankaltaisempia särkien, kuin seipien kanssa.



4. Tulosten tarkastelu

Tämän työn päätavoitteena oli tutkimustarkoituksessa luoda viileän veden läpivirtauslaitosten viljelyolosuhteisiin soveltuva nopeakasvuinen ahvenkanta, ja selvittää jalostuksen potentiaalia parantaa viljelyn tehokkuutta. Ahventen ominaisuuksissa oli vuoden laitospasvatuksen jälkeen havaittavissa etenkin käyttäytymiseroja suhteessa viilleihin ahveniin. Jo yhden sukupolven laitos- ja jalostusvalinnan seurauksena nopeakasvuisten vanhempien jälkeläisillä oli myös havaittavissa näitä menestyvälle viljelyahvenelle olennaisia piirteitä: laitosvanhempien jälkeläiset kasvoivat samassa tiheydessä maalammissa nopeammin kuin villien kalojen jälkeläiset (Kuva 4.1) ja ne olivat jonkin verran rohkeampia käyttäytymiseltään kuin villien kalojen jälkeläiset. Johtuen erilaisesta poikastuotannosta villien ja laitoskalojen välillä ja siitä seuranneesta kasvatustiheyserosta sekä tämän hankkeen lyhyestä kestosta, ei voida kuitenkaan vielä varmasti sanoa kuinka suuri massavalinnan kautta saatavissa oleva kasvunlisäys olisi sukupolvea kohti 4-5 vuotiailla, filekaloiksi myytäväksi valmiilla kaloilla. Aikaisempien tutkimusten valossa laitosvalinta lisää myös ahventen stressinsietokykyä (Douxflis et al., 2011). Kokonaisuutena laitosvalinta (ilman kokoon kohdistuvaa valintaakin) suosii matalaa stressiherkkyttä, aktiivista käyttäytymistä ja sitä kautta parantunutta selviämistä keinoravinnolla. Kirjolohen valintalinjoilla saatujen tulosten valossa (mm. Kause et al., 2002; 2005) ei ole syytä, miksei ahvenella ja kuhalla tulisi pyrkiä jalostamaan ruokakalaviljelyssä käytettävää materiaalia paremmin viljelyoloihin soveltuvaksi.

Hankkeessa tutkittiin myös kasvatettujen ahventen rasvahappokoostumuksia ja vertailtiin niitä luonnonvaraisiin ahveniin selvittääksemme kasvatetun ahvenen luonnonmukaisuutta ja terveellisyyttä ihmisravintona. Päätulosten mukaan viljelyssä kalaruokavaliolla, eli särki- ja kuoresilpulla, kasvatetut ahvenet olivat rasvahappokoostumukseltaan luonnollisen vaihtelun rajoissa, mutta sen terveellisimmästä päässä.



Kuva 4.1. Kokoon perustuvan emokalojen valinnan tuloksena saatiin selkeitä kasvueroja poikasten välillä kahden kuukauden lampikasvatustuksen jälkeen, mutta kuvassa olevat kasvuerot voivat selittyä myös vastakuoriutuneiden poikasten kuolleisuuseroilla eri ryhmien välillä. Koeolosuhteissa villien kalojen jälkeläiset selvisivät pidempään kuin laitoskalojen jälkeläiset.



4.1. Menestyvä viljelyahven – laitoslaitoihin soveltuvan emokalaston ominaisuudet

Ahventen suhteellisen korkea kuolleisuus laitokseen siirtämisen jälkeen tarkoitti väistämättä voimakasta valintaa viljelylaitosolosuhteisiin sopeutumisen suhteen. Hankkeessa tutkittiin laitosten valinnan alla menestyneiden intensiivikasvatettujen ahventen ominaisuuksia, ja havaittiin merkittäviä eroja erityisesti käyttäytymisessä suhteessa villeihin ahveniin, ja nämä erot näkyivät myös poikasten käyttäytymisen samansuuntaisina eroina indikoiden niiden mahdollista perinnöllistä alkuperää.

4.1.1. Ahvenen kasvupotentiaali, sukukypsyminen ja kuolleisuus laitosolosuhteissa

Kasvuseurannassa olleiden ahventen kuolleisuus toisen kasvukauden aikana oli erittäin alhaista lukuun ottamatta erillisiä PIT-merkittyjen kalojen ryhmiä, jotka jouduttiin lopettamaan todennäköisesti bakteeriperäisen infektion takia. Käytännössä kaikki ahvenet sukukypsyivät viimeistään kesän 2015 aikana, joten sukukypsyyden suhteen ei havaittu kasvu- eikä kuolleisuuseroja. Ahvenet kasvoivat toisen laitostuskauden aikana 22.9. mennessä keskimäärin 69 %, mutta särki- ja kuoreravinnon välillä ei ollut käytännössä eroa kasvunopeudessa. Belgiassa on todettu ahvenen kasvavan maksimaalisesti 23°C lämpötilassa (Mélard et al., 1996). Näin korkeaan lämpötilaan ei Paltamossa ylletty edes kesän kuumimpana aikana, vaikkakin pohjoisen oloihin sopeutuneen ahvenen maksimikasvu voinee tapahtua hieman tätä alemmassa lämpötilassa.

4.1.2. Käyttäytyminen ja sen kytkeytyminen kasvunopeuteen ja vastustuskykyyn

Laitoskasvatetut ahvenet olivat huomattavan aktiivisia lopputalvesta toteutetuissa käyttäytymiskokeissa ja selvästi aktiivisempia kuin villit Oulujärven vertailukalat. Ahventen kasvunopeus selitti aktiivisuutta nopeakasvuisten kalojen ollessa huomattavasti hidaskasvuisia aktiivisempia. Tulokset tukevat aiempia havaintoja siitä, että sekä laitostusympäristö että laitosten valinta suosivat aktiivisia ja rohkeita yksilöitä. Mielenkiintoinen havainto oli, että myös laitostustaistiset ahvenet passivoituivat, kun samassa parvessa oli keskimäärin passiivisempia villejä kaloja.

4.2. Laitokseen soveltuvan emokalaston tuotanto

4.2.1. Kasvuun ja käyttäytymiseen perustuva emokalojen valinta

Kudun alkaessa otetun näytteen perusteella 3-vuotiaista ahvennaaraista 57 % oli saavuttanut sukukypsyyden. Sukukypsyminen ja fekunditeetti riippuivat naaraan koosta, ja mm. tästä johtuen omaa kuturyhmää ei suunnitellusta koeasetelmasta poiketen tehty hidaskasvuilla yksilöillä, joilla sukukypsyysfrekvenssi oli huomattavasti alhaisempi kuin nopeakasvuilla naarailla.

Tulosten perusteella 3-vuotiaana risteytettyjen laitosten ahventen lisääntyminen ei ole mätinauhujen pienen koon vuoksi vielä kovinkaan tehokasta. Nopeasti kasvavat naaraat sukukypsyvät aiemmin kuin hitaasti kasvavat, joten nuorella iällä tehty nopeakasvuisten kalojen valinta voi johtaa esimerkiksi ei-toivottuun jalostukseen kohti aiempaa sukukypsymistä, joka yleensä hidastaa kalojen koon kasvua. Näin ollen emokalastona tulisikin mahdollisuuksien mukaan käyttää vanhempaa laitostustaista ahvenmateriaalia ja samalla vähentää valintaa aikaisempaa sukukypsyttä kohtaan.



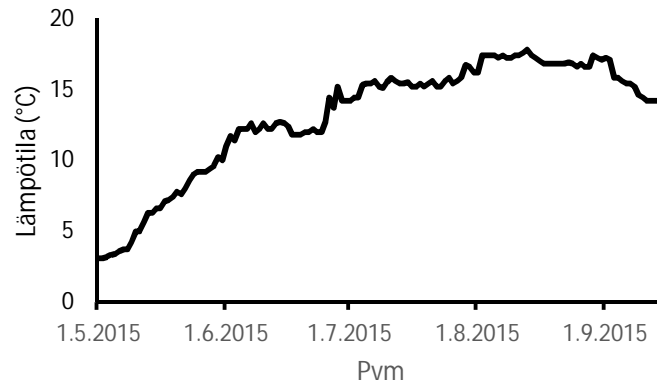
Kudetuksissa käytetyt villit naaraat olivat kooltaan laitosnaaraita suurempia. Vaikka villit naaraat tuottivat määrällisesti vähemmän mätinauhoja kuin nopeakasvuiset laitosahvenet, oli niiden tuottama munamäärä yli nelinkertainen sekä mätinauhojen koko selkeästi suurempi suhteessa laitostaustaisiin naaraisiin. Suurikokoisten ahventen on myös huomattu tyypillisesti tuottavan parempilaatuisia jälkeläisiä (Olin et al., 2012), ja kuoriutuneiden villien poikasten määrä olikin n. kymmenkertainen verrattuna laitostaustaisten kuoriutuneiden poikasten määrään.

Kun emokaloja valikoitiin käyttäytymisen mukaan, passiivisten ahventen havaittiin lisääntyvän aktiivisia ja kontrolliryhmän ahvenia paremmin tuottamalla enemmän mätinauhoja ja enemmän kuoriutuneita poikasia. Passiivisilla yksilöillä myös kutuaika kesti kauemmin kuin aktiivisilla ja kontroleilla. Aktiiviset ahvenet tuottivat kaikkiaan vähiten mätinauhoja ja poikasia. Valikoimalla emokalastoon vain nopeakasvuisia yksilöitä on riskinä, että samalla voidaan karsia muita laadukkaan emokalaston luomiseen tarvittavia ominaisuuksia. Tulokset käyttäytymiseen perustuvasta valinnasta viittaisivat siihen, että laitosojojen suosima ja nopeaan kasvuun usein kytkeytynyt aktiivinen käyttäytyminen saattaisi vähentää tehokkaaseen lisääntymiseen tarvittavia resursseja, millä on merkitystä etenkin tuotettaessa kalanpoikasia luonnonvesiin tehtäviin istutuksiin.

4.2.2. Uuden ahvensukupolven menestyminen ensimmäisen kasvukauden aikana

Oman haasteensa eri osatöiden poikasille aiheutti pitkä ja kylmä alkukesä (Kuva 4.2), joka vaikutti erityisesti aseman poikashallissa tehtyjen starttikasvatusten heikkoon onnistumiseen. Kylmästä alkukesästä johtuen myös ahventen kutu venyi kesäkuun lopulle saakka. Kylmänä pysytelleen veden takia myös munien kehitys pitkittyi, minkä seurauksena iso osa mätinauhoista ehti homehtua ennen poikasten kuoriutumista. Poikasten startti laitosoissa osoittautui myös erityisen hankalaksi, ja lopulta starttikokeilu jouduttiin keskeyttämään useiden toistoaltaiden 100 % kuolleisuuden seurauksena.

Poikasten kuolleisuus oli korkeaa jo heti kokeiden alusta alkaen, ja syitä tälle voi olla monia. Ruskuaispussin vararavinnon ehtymisen jälkeen vastakuoriutuneet poikaset eivät hyväksyneet tarjottua poikasrehua, ja artemiaa syöneitä yksilöitäkin oli harvassa. Huono menestys keinotekoiselle tai epäluonnolliselle ravinnolle oppimisessa saattoi osaltaan myös johtua liian kylmästä kasvatusympäristöstä. Lisäksi kasvatusaltaiden ja niissä pidettyjen sihtisaavien puhtaanapito osoittautui vaikeaksi, mikä yhdessä päivittäisen puhdistuksen kanssa todennäköisesti lisäsi poikasten stressiä ja sitä kautta kuolleisuutta. Muualla tehdyissä tutkimuksissa on havaittu, että himmeä valaistus ja harmaiden kasvatustankkien käyttö edesauttavat poikasten eloonjääntiä (Tamazouzt et al., 2000). Sihtisaavit olivat vaalean harmaita/valkoisia, mutta keinovalaistus pidettiin päällä mahdollisesti liian pitkään ja liian voimakkaana.



Kuva 4.2. Kivesjärvestä johdetun tuloveden lämpötila Kainuun Kalantutkimusasemalla kasvukauden 2015 aikana.

Alkuruokintamenetelmän vaikutuksia poikasten kasvuun ja selviytymiseen selvitettiin akvaariomittakaavassa, ja tulosten perusteella artemialla ruokitut poikaset menestyivät paremmin kuin poikasrehulla ruokitut. Rehulla ruokitut poikaset kuolivat keskimäärin kaksi viikkoa aikaisemmin kuin artemialla ruokitut poikaset. Vaikka artemian käyttäminen vaikuttaisi olevan pelkkää poikasrehua parempi vaihtoehto vastakuoriutuneiden poikasten ruokinnassa, tarvitaan edelleen kehitystyötä allasympäristön saamiseksi sellaiseksi, että artemia voidaan tarjota ahvenille mahdollisimman seisovassa vedessä mielellään kohdevalaistuksen avulla muuten hämärässä ympäristössä.

Koppelolammessa vajaan kahden kuukauden aikana kasvaneet villien jälkeläisten poikaset kasvoivat paremmin kuin vesikasvittomissa maa-altaissa. Maa-allaskasvatuksessa villien ahventen jälkeläiset olivat toisaalta taas kooltaan kaikkein pienimpiä ja nopeakasvuisten jälkeläiset odotetusti suurimpia. Kokovaihtelu oli verrattain pientä yhden maa-altaan sisällä, mutta suurempaa toistoaltaiden välillä etenkin kontrollikäsittelyn poikasilla, eli laitostaustaisten satunnaisen kokoisten emokalojen poikasissa: toisessa maa-altaassa poikaset olivat yhtä suuria kuin nopeakasvuisten emokalojen jälkeläiset, toisessa taas samaa koko luokkaa kuin villien poikaset. Myös kahden eri villien ryhmän välillä oli selkeitä eroja: pilkittyjen emokalojen poikaset olivat alkukasvatuksen jälkeen saavuttaneet suuremman koon kuin myöhemmin katiskalla pyydettyjen ahventen jälkeläiset.

Erot kasvussa maa-altaiden välillä johtuivat todennäköisesti poikasten siirtoaikojen eroista, kutuajankohtien eroista, starttivaiheen kuolleisuuden eroista ja ylipäätään epätarkkuuksista poikasten laskemisessa. Nopeakasvuisten vanhempien poikaset kasvoivat selvästi alhaisemmassa tiheydessä, mikä on todennäköisesti johtanut eroihin esimerkiksi ravintokilpailussa verrattuna villien tai kontrolliryhmien altaisiin. Koppelolammessa tilavuuteen suhteutettu yksilötiheys oli kaikkein alhaisin, mutta myös ympäristöolot hyvin erilaiset, mikä voinee selittää poikasten huomattavasti tehokkaamman kasvun siellä verrattuna maa-altaisiin.

4.2.3. Pienpoikasten luonne ja ravintokäyttäytyminen suhteessa vanhempien ominaisuuksiin

Käyttäytymiskokeiden perusteella poikasten käyttäytyminen uudessa ympäristössä oli toistettavaa. Nopeakasvuista laitostaustaa olevat poikaset olivat villiä taustaa olevia rohkeampia, mutta ilmiö oli riippuvainen poikasten koosta. Nopeakasvuisten emokalojen poikaset olivat myös villejä poikasia

huomattavasti nopeakasvuisimpia. Tulosten perusteella eritaustaisten emokalojen välillä havaitut käyttäytymiserot saattavat olla jossain määrin periytyviä (esim. Kortet et al., 2014). Poikasten emoihin kohdistunut laitosvalinta näkyi potentiaalisesti poikasten rohkeammassa käyttäytymisessä verrattuna villien poikasten käyttäytymiseen.

Kalan luonne ja etenkin sen riskinotto taipumus liittyy läheisesti kalan kykyyn oppia käyttämään uutta ravintokohdetta (Attia et al., 2012). Kalojen oppimiskyky vaihtelee myös yksilöiden välillä ja useilla kalalajeilla tämän uskotaan johtuvan käyttäytymiseroista erityisesti ujo-rohkea – käyttäytymisakselilla (Sneddon et al., 2003). Sosiaalisen oppimisen kokeessa poikasten siirtyminen rehurvinnolle oli käyttäytymiskokeen tuloksia tukien tehokkainta nopeakasvuisten laitoskalojen poikasten keskuudessa, mutta myös kontrollialtaissa. Kokeessa myös tutor-ahventen läsnäolo vaikutti positiivisesti selviytymiseen ensimmäisen kahden koeviikon aikana, mikä viittaisi siihen että rehulla alkukasvatettujen tutoreiden esimerkin myötä etenkin laitostaustaiset rohkeammat koeyksilöt oppivat syömään kuivarehua. Oppimiskokeen myötä tärkeämmäksi tekijäksi kasvun ja selviytymisen kannalta muodostui kuitenkin pienpoikasten tausta. Kuolleisuus oli korkeaa villien jälkeläisten altaissa, joissa koe jouduttiin keskeyttämään jo viikkoa muita aikaisemmin. Kokeen perusteella villien emokalojen poikaset oppivat huonommin kuivarehurvinnolle kuin laitostaustaisten emokalojen poikaset.

4.3. Viljellyn ahvenfileen terveellisyys ja luonnonmukaisuus

Tutkimuksessa löytyi merkittäviä eroja eri alkuperää olevien ahventen lihaksen rasvahappokoostumuksessa. Tutkimuksen kannalta olennaisimmat erot liittyivät luonnonvaraisten ja laitoksessa kasvatettujen ahventen rasvahappokoostumukseen. Tulosten valossa näyttäisi siltä, että laitoksessa kontrolloiduissa olosuhteissa kasvatettujen ahventen liha saattaa olla ihmiselle keskimääräistä luonnonahvenen lihaa terveellisempää ainakin EPA- ja DHA- pitoisuuksien suhteen. Tämä perustuu havaintoon, että laitoksessa kasvatetut ahvenet olivat luonnonahvenia rasvaisempia ja niiden suhteellinen omega-3-rasvahappojen osuus, ja osittain myös EPA- sekä DHA-pitoisuudet olivat luonnonahvenia korkeampia. Kaikki nämä ovat piirteitä, jotka yhdistetään kalan terveysvaikutuksiin (mm. FAO, 2010; Kris-Etherton et al., 2002; Bang et al., 1980). Kalansyönnin on todettu mm. vähentävän riskiä sairastua sydän- ja verisuonitauteihin, sekä vaikuttavan sikiöiden aivojen kehitykseen, lisäksi monitydyttymättömiä rasvahappoja on ehdotettu hoidoksi erilaisissa suoliston tulehdusairauksissa (Ruxton et al., 2004). Euroopan elintarviketurvallisuus (European Food Safety Authority, EFSA) suosittelee päivittäiseksi annokseksi 250 mg EPAa ja DHAta. Kalalla ruokittu ahven sisälsi n. 308 mg EPAa+DHAta per 100 g filettä, joten jo alle 100 g ahventa päivässä riittää kattamaan suositellun päivittäisannoksen.

Kasvatettujen ahventen korkean rasva- ja n-3- sekä matalamman n-6-pitoisuuden suhteen aiemmissakin tutkimuksissa on päädytty samansuuntaisiin tuloksiin (Jankowska et al., 2010; González et al., 2006). Jankowska et al. (2010) tutkimuksessa ei tosin löytynyt merkittäviä eroja kasvatettujen ja luonnonvaraisten ahventen välisissä EPA- ja DHA-pitoisuuksissa. González et al. (2006) tutkimuksessa kasvatettujen kelta-ahventen (*Perca flavescens*) rasvapitoisuus oli peräti kaksinkertainen verrattuna luonnonvaraisiin amerikkalaisiin kelta-ahveniiniin, kun meidän tutkimuksessamme erot eivät olleet aivan yhtä suuria. Mairesse et al. (2007) puolestaan tutkivat



domestikaation ja ruokavalion vaikutusta ahvenen rasvahappoihin. Heidän mukaansa domestikaatio lisäsi tyydyttyneiden rasvojen määrää, mutta vähensi lihaksen kokonaisrasvamääriä.

Myös luonnonvaraisten ahventen eri alkuperien välillä ja laitoksessa eri tavoin ruokittujen ahventen välillä havaittiin merkittävää vaihtelua rasvahappokoostumuksissa. Luonnonkaloista etenkin humusvetisen Kangasjärven, joka on 0,05 km² pinta-alallaan pienin tutkimusjärvistä, ahvenet poikkesivat n-6-rasvahappojen korkeamman osuuden suhteen selkeästi suurempien järvien ahvenista (pinta-alat laskettu Maanmittauslaitoksen Maastokartta-aineistosta 9.9.2015, QGIS 2.6.1-Brighton paikkatieto-ohjelmassa). Kiintoisaa kyllä keskikokoisen Kivesjärven (26 km²), ahvenet sijoituivat sekä n-3/n-6-suhdelukunsa suhteen, että oordinaatiokuvaajassakin, suurten järviäntaiden (Niskanselkä 339 km² ja Ärjänselkä 397 km²) ja Kangasjärven välimaastoon. Järvien koko siis näytti selkeästi vaikuttavan luonnonahventen n-3/n-6 suhdelukuun. Ongelmana tässä päätelmässä tosin on, etteivät yhdysvaikutukset pituuden kanssa ole täysin poissuljettuja, koska suurten järvien kalat olivat myös pidempiä, joten suurempi ja kooltaan vakioitu luonnonahvenaineisto olisi tarpeen kysymykseen vastaamiseksi. On kuitenkin mahdollista, että suurten järvien ravintoketjut eroavat siinä määrin pienemmistä järvistä, että se vaikuttaa ahventen rasvakoostumuksiin. Esimerkiksi Goedkoop et al. (2000) ovat osoittaneet, että eri pohjaeläinryhmät poikkeavat rasvahappokoostumuksiltaan toisistaan ja Ahlgrenin et al. (1997) mukaan järvien pelagisessa ravintoketjussa näyttäisi olevan enemmän monitydyttymättömiä rasvahappoja kuin pohjaeliöstössä.

Myös Mairesse et al. (2007) ovat osoittaneet, että n-6-pitoisuus riippuu ahvenella pääasiassa ruokavaliosta, eikä domestikaatiolla ole tähän juurikaan vaikutusta. Kiintoisaa kyllä meidän tutkimuksemme havaittu ero samaa ruokavaliota saaneiden, mutta erikokoisiksi valikoitujen ahventen n-6-pitoisuudessa viittaisi siihen, että perinnöllisetkin tekijät voivat vaikuttaa ahventen tapaan kerryttää n-6-rasvahappoja. Ruokavalio taas näytti vaikuttaneen etenkin EPA:n ja DHA:n kerrytykseen, koska vain kalarehulla ruokitut ahvenet olivat kerryttäneet eniten rasvaa ja siten myös eniten DHA:ta ja EPA:a. Kalarehun tuotanto kuitenkin vaatii maailman mittakaavassa valtavia määriä muutenkin syömäkelpoisia luonnonkaloja, esimerkiksi 2006 arvioitiin 87 % maailmanlaajuisesti tuotetusta 1 miljoonasta megatonnista kalaöljyä käytetyn kalarehun tuotantoon (FAO, 2010).

Nykytrendi on pyrkiä korvaamaan kalaöljyä mahdollisimman pitkälti kasviöljyillä, koska se on ekologisesti kestävämpi vaihtoehto (Opsahl-Ferstad et al., 2003; Xueliang & Kestemont, 2002). Tutkimuksemme mukaan kasvatetun kalan terveysedut eivät kuitenkaan katoa, vaikka rehuna käytettäisiin "roskaloina" pidettyä sivusaalista, eli särkeä tai kuoretta. Tutkimuksemme suolattoman veden kaloista löydetyt n-3/n-6 suhdeluvut vaihtelivat särjen 1,6 ja muikun 3,7 välillä. Myös esimerkiksi Valfré et al. 2003 esittävät suolattoman veden kaloille suhdeluvun vaihteluväliksi 1-4. Eri kalalajeilla ruokittujen ahventen välillä merkittävin ero näytti olevan, että särjellä ruokitut ahvenet olivat kerryttäneet lihakseensa suuntaa antavasti enemmän DHA:ta ja EPA:a, vaikka kuoreiden suhteellinen EPA- ja DHA-pitoisuus olikin kalalajien huippua. Särki näytti kuitenkin, vaikka se kuuluiikin vähärasvaisimpien kalojen ryhmään, olevan suuntaa antavasti kuoretta rasvaisempi. Ahven pystyyneen sitä paitsi konvertoimaan muita n-3-ryhmän rasvahappoja DHA:ksi (Xueliang & Kestemont, 2002).

Yhteenvetona kalalla kasvatetuista ahvenista voisikin todeta, että ne näyttivät rasvahappokoostumuksensa suhteen olevan luonnollisen vaihtelun puitteissa, mutta sen



terveellisemmässä päässä. Kokonaisrasvapitoisuutensa suhteen kasvatetut ahvenet sen sijaan ovat luonnollisen vaihtelun ulkopuolella, mutta rasvaisempi kala on tunnetusti terveellisempää (mm. FAO, 2010; Kris-Etherton et al., 2002). Tässäpä suhteessa kalankasvatuksen kontrolloidut olosuhteet ja ahvenien parempi rasvakerrytys laitosoloissa näyttäisivätkin tekevän kasvatetuista ahvenista jopa terveellisempiä kuin luonnonahvenista, vaikka niille syötettäisiinkin hyvin samankaltaista ravintoa kuin luonnonkalatkin syövät.

4.4. Tulosten sovellettavuus ja yhteenveto

Pilottihankkeemme yhteenvetona voidaan todeta, että ahven kasvaa laitosolosuhteissa vähäarvoisella kalalla kuten särjellä ja kuoreella 50-100% painonlisäyksen verran kasvukaudessa jopa kylmissä läpivirtausolosuhteissa, viljelty ahven on rasvahappo-ominaisuuksiltaan erittäin terveellistä ruokaa ja yleisen laitosvalinnan sekä tietoisien kokoon kohdistuvan valinnan avulla emokalastoa voidaan kehittää ilman yhden sukupolven aikana paljastuneita haittavaikutuksia. Selvästi kuitenkin tässä 8 kk mittaisessa hankkeessa toteutettu pilottitutkimus ei tarjoa lopullisia vastauksia siitä, mikä kasvunopeuden ja laitoksessa elossapysyvyyden periytymisaste on 4-5 vuoden ikäisillä kaloilla. Ahventen loppupituus kahden kasvukauden jälkeen huomioiden voidaan olettaa, että filekokaisen ahvenen tuotanto viileän veden olosuhteissa vaatii kolme kasvukautta laitoksessa.

Tämä hanke osoittaa, että ahven kasvaa nopeasti laitosolosuhteissa suhteellisen suurissa tiheyksissä, alkukasvatuksen vaikeuksiin on löydettävissä ratkaisuja sosiaalisen oppimisen ja kasvatusympäristön teknisten ratkaisujen (tutorien käyttö, seisova vesi, yleisesti himmeä valaistus, kohdevalaistus ruokintapisteellä ja harmaa kasvatusympäristö) myötä (Tamazouzt et al., 2000; Toner & Rougeot, 2008) ja ahven tarjoaa kansainvälisen esimerkin mukaisesti yhden potentiaalisen uuden vesiviljelylajin suomalaiselle vesiviljelytaloudelle (Mélard et al., 1996). Toisin kuin toisinaan vähärasvaiset ja filekalana huonolaatuiset luonnon ahvenet, viljelty ahven on tasalaatuista, rasvaista ja hyvälihaista filekalaksi. Vähäarvoisen kalan käyttö ahventen rehuna vaatii uusia teknisiä ratkaisuja mm. mahdollisten kalatautiin leviämisen ehkäisemiseksi. Tämän hankkeen perusteella voidaan suositella myös kuhan viljelyssä kehittämään jalostusmenetelmiä emokalastojen kehittämiseksi. Toisaalta tämän hankkeen perusteella laitospesäkkeiden heijastuu nopeasti tuotettujen kalojen ominaisuuksiin, millä voi olla negatiivisia vaikutuksia tuotettaessa kaloja istutuksiin. Tämän vuoksi ruokakalakäyttöön jalostettavia ahvenen ja kuhan emokalastoja ei tulisi käyttää luonnonvesiin suuntautuvien istukkaiden tuotannossa.



5. Budjetin toteutuminen

Hankkeen budjetti toteutui pääosin suunnitellusti. Kokonaissumma ylittyi 55,32 €, mistä vastaa Itä-Suomen yliopisto. 10 % poikkeamarajan ylittävien matkakulujen osalta em. ylitys huomioiden poikkeama myönnetystä matkabudjetista on 10,9% (62,82 €). Toteutunut budjetti on esitetty alla taulukossa 5.1.

Taulukko 5.1. Hankkeen budjetti ja toteutuneet kulut.

	Henkilöstökulut	Ostopalvelut ja palkkiot	Matkakulut	Yhteensä
Henkilöstökustannukset				
UEF:n henkilökunnan ohjaustyö	2 002.11			
Apulaisprofessori, 1,5 kk	9 495.21			
Opiskelijat, 3 henkeä, yht. 10 kk	22 525.38			
Tutkija, 8 kk	30 339.49			
Ostopalvelut ja palkkiot				
Tutkimustarvikkeet		1 369.00		
Laboratoriokemikaalit/tarvikkeet		1 045.99		
Luke:n osuus kalojen ylläpidosta		23 600.00		
Matkakustannukset				
Matkakulut ja päivärahat			6 133.14	
Majoituspalvelut			1 905.00	
Toteutunut	64 362.19	26 014.99	8 038.14	98 415.32
Myönnetty	64546	26614	7200	98360
Erotus-%	-0.3	-2.3	11.6	0.1



6. Kirjallisuus

- Ahlgren, G., Goedkoop, W., Markenstein, H., Sonesten, L. & Boberg, M., 1997. Seasonal variations in food quality for pelagic and benthic invertebrates in Lake Erken - the role of fatty acids. *Freshwater Biol.* 38: 555-570.
- Attia, J., Millot, S., Di-Poi, C., Bégout, M.-L., Noble, C., Sanchez-Vazquez, F.J., Terova, G., Saroglia, M. & Damsgård, B., 2012. Demand feeding and welfare in farmed fish. *Fish Physiol. Biochem.* 38: 107-18.
- Bang, H., Dyerberg, M. & Sinclair, H., 1980. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33: 2657-2661.
- Biro, P.A. & Post, J.R., 2008. Rapid depletion of genotypes with fast growth and bold personality traits from harvested fish populations. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 105: 2919-2922.
- Douxflis, J., Mandiki, S.N., Marotte, G., Wang, N., Silvestre, F., Milla, S., Henrotte, E., Vandecan, M., Rougeot, C., Mélard, C. & Kestemont, P. 2011. Does domestication process affect stress response in juvenile Eurasian perch *Perca fluviatilis*? *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 159: 92-99.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA); Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal* 2010. 8(3):1461. [online]: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1461.htm>
- FAO, 2010. Fats and fatty acids in Human Nutrition. Report of an expert consultation. FAO Food and nutrition paper 91. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FAO, 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Folch, J., Lees, M. & Stanley, G. H. S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
- González, S., Flick, G., O'Keefe, S., Duncan, S., McLean, E. & Craig, S. 2006. Composition of farmed and wild yellow perch (*Perca flavescens*). *J. Food Comp. Anal.* 19: 720-726.
- Goedkoop, W., Sonesten, L., Ahlgren, G. & Boberg, M. 2000. Fatty acids in profundal benthic invertebrates and their major food resources in Lake Erken, Sweden: seasonal variation and trophic indications. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57: 2267-2279.
- Härkönen, L., Hyvärinen, P., Niemelä, P.T. & Vainikka, A. 2015. Behavioural variation in Eurasian perch populations with respect to relative catchability. *Acta Ethol., painossa*. doi: 10.1007/s10211-015-0219-7.
- Jankowska, B., Zakęs, Z., Żmijewski, T. & Szczepkowski, M. 2010. Fatty acid profile of muscles, liver and mesenteric fat in wild and reared perch (*Perca fluviatilis* L.). *Food Chem.* 118: 764-768.
- Jentoft, S., Aastveit, A.H., Torjesen, P.A. & Andersen, O. 2005. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 141: 353-358.



- Kause, A., Ritola, O., Paananen, T., Mäntysaari, E. & Eskelinen, U. 2002. Coupling body weight and its composition: a quantitative genetics analysis in rainbow trout. *Aquaculture* 211: 65-79.
- Kause, A., Ritola, O., Paananen, T., Wahlroos, H. & Mäntysaari, E.A. 2005. Genetic trends in growth, sexual maturity and skeletal deformations, and rate of inbreeding in a breeding programme for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 247: 177-187.
- Kekäläinen, J., Podgorniak, T., Puolakka, T., Hyvärinen, P. & Vainikka, A. 2014. Individually assessed boldness predicts European perch's *Perca fluviatilis* behaviour in shoals, but is not associated with the capture order or angling method. *J. Fish Biol.* 85: 1603-1616.
- Kortet, R., Vainikka, A., Janhunen, M., Piironen, J. & Hyvärinen, P. 2014.. Behavioral variation shows heritability in juvenile brown trout *Salmo trutta*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 68: 927-934.
- Kris-Etherton, P., Harris, W. & Appel, L. 2002. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation, J. Am. Heart Assoc.* 106: 2747-2757.
- Lester, N.P., Shuter, B.J. & Abrams, P.A. 2004. Interpreting the von Bertalanffy model of somatic growth in fishes: the cost of reproduction. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271: 1625-1631.
- Lönström, L.-G., Hoffrén, M.L. & Wiklund, T., 2008. *Flavobacterium psychrophilum* associated with mortality of farmed perch, *Perca fluviatilis* L. *J. Fish Dis.* 31: 793-797.
- Mairesse, G., Thomas, M., Gardeur, J-N. & Brun-Bellut, J. 2007. Effects of dietary factors, stocking biomass and domestication on the nutritional and technological quality of the Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquaculture* 262: 86-94.
- Mélard, C., Kestemont, P. & Grignard, J.C. 1996. Intensive culture of juvenile and adult Eurasian perch (*P. fluviatilis*): effect of major biotic and abiotic factors on growth. *J. Appl. Ichtyol.* 12: 175-180.
- Niemelä, P.T., Dingemans, N.J., Alioravainen, N., Vainikka, A. & Kortet, R., 2013. Personality pace-of-life hypothesis: testing genetic associations among personality and life history. *Behav. Ecol.* 24: 935-941.
- Olin, M., Jutila, J., Lehtonen, H., Vinni, M., Ruuhijärvi, J., Estlander, S., Rask, M., Kuparinen, A. & Lappalainen, J. 2012. Importance of maternal size on the reproductive success of perch, *Perca fluviatilis*, in small forest lakes: implications for fisheries management. *Fish. Man. Ecol.* 19: 363-374.
- Opsahl-Ferstad, H., Rudi, H., Ruyter, B. & Reftie, S. 2003. Biotechnological approaches to modify rapeseed oil composition for applications in aquaculture. *Plant Science* 165: 349-357.
- Réale, D., Garant, D., Humphries, M.M., Bergeron, P., Careau, V. & Montiglio, P.-O. 2010. Personality and the emergence of the pace-of-life syndrome concept at the population level. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.* 365: 4051-4063.
- RKTL, 2014. Vapaa-ajankalastajien saalis kalastusalueittain / Saaliit merialueen ammattikalastuksessa. Suomen Virallinen Tilasto. <http://www.rktl.fi/tilastot/> (katsottu 20.10.2015)
- Ruxton, C., Reed, S., Simpson, M. & Millington, K. 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J. Hum. Nutr. Diet.* 17: 449-459.
- Sneddon, L.U. 2003. The bold and the shy: individual differences in rainbow trout. *J. Fish Biol.* 62:971-975
- Stamps, J.A. 2007. Growth-mortality tradeoffs and 'personality traits' in animals. *Ecol. Lett.* 10: 355-363.



- Sundström, L.F., Petersson, E., Höjesjö, J., Johnsson, J. & Järvi, T. 2004. Hatchery selection promotes boldness in newly hatched brown trout (*Salmo trutta*): implications for dominance. *Behav. Ecol.* 15: 192-198.
- Tamazouzt, L., Chatain, B. & Fontaine, P. 2000. Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae (*Perca fluviatilis* L.). *Aquaculture* 182: 85-90.
- Toner, D.. & Rougeot, C., 2008. Farming of Eurasian Perch. Volume 1: Juvenile production. *Aquaculture Explained*. Report n°24. Dublin, Ireland.
- Tukey, J. 1949. Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. *Biometrics* 5: 99-114.
- Vainikka, A., Härkönen, L. & Hyvärinen, P., 2015. Ahvenen viljelyn mahdollisuudet Suomessa. Loppuraportti 1/2015, Kainuun ELY-keskus.
- Valfré, F., Caprino, F. & Turchini, G.M. 2003. The Health Benefit of Seafood. *Vet. Res. Com.* 27 (suppl. 1): 507-512.
- Xueliang, X. & Kestemont, P. 2002. Lipid Metabolism and FA Composition in Tissues of Eurasian Perch *Perca fluviatilis* as Influenced by Dietary Fats. *Lipids* 37: 297-304.