

Pro gradu -tutkielma

**Pidentyvän paastojakson vaikutus kirjoloihen
(*Oncorhynchus mykiss*) kasvuun**

Kimmo Nieminen



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Akvaattiset tieteet

5.6.2018

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Akvaattiset tieteet

NIEMINEN KIMMO, J.: Pidentyvän paastojakson vaikutus kirjolohen (*Oncorhynchus mykiss*) kasvuun

Pro gradu: 32 s.

Työn ohjaajat: Dos. Juhani Pirhonen

Tarkastajat: Dos. Juhani Pirhonen, Prof. Juha Karjalainen

Kesäkuu 2018

Hakusanat: hyperfagia, kirjolohi, kompensatiokasvu, *Oncorhynchus mykiss*, ruokintarytmi

TIIVISTELMÄ

Tässä tutkimuksessa seurattiin pidentyvän paastojakson vaikutusta kirjolohen (*Oncorhynchus mykiss*) kasvuun ja morfologiaan. 240 kpl 1-vuotiaita kirjolohia jaettiin satunnaisesti neljään eri ruokintarytmiin kolmeen rinnakkaiseen altaaseen. Kontrolliryhmää ruokittiin maanantaista perjantaihin kahdesti päivässä koko 13 viikkoa kestäneen koejakson ajan. Muut ryhmät ruokittiin harvemmin tai harvonevasti. Kontrolliryhmän kirjolohilla oli ruokintapäiviä yhteensä 68, käsittelyllä 1 48, käsittelyllä 2 43 ja käsittelyllä 3 38 päivää. Kokeen viimeiset neljä viikkoa kaikki ryhmät ruokittiin maanantaista perjantaihin kaksi kertaa joka päivä. Ravinnon kulutusta seurattiin jatkuvasti. Näytteitä otettiin neljän, yhdeksän ja kolmentoista viikon jälkeen. Tällöin kaikki kalat punnittiin ja pituudet mitattiin. Näytekaloilta poistettiin sisäelimet ja niiden maksa, suolistorasva, tyhjennetty mahalaukku ja mahalaukun sisältö punnittiin. Lisäksi määritettiin mahalaukkujen tilavuudet ja maksojen vesipitoisuudet. Näytekaloilta otettiin myös verinäytteet, joista analysoitiin hematokriitti sekä plasmasta kloridipitoisuus. Kokeen lopussa kontrollikalat olivat merkittävästi suurempia ($235,3 \pm 27,8$ g) kuin käsittelyn 3 kalat ($134,7 \pm 24,5$ g). Kuntokertoimissa, kasvukertoimissa (SGR), rehukertoimissa eikä mahojen tilavuuksissa havaittu merkittäviä eroja käsittelyiden välillä. Lasketut kompensatiokertoimet kasvun ja rehunkulutuksen osalta jäivät pieniksi ja kompensatiokasvu vähäiseksi.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Mathematics and Science

Department of Biological and Environmental Science

Aquatic Science

NIEMINEN KIMMO, J.: Effects of prolongation of starvation period on growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Master of Science Thesis: 32 p.

Supervisors: Docent Juhani Pirhonen

Inspectors: Docent Juhani Pirhonen, Professor Juha Karjalainen

June 2018

Key Words: compensatory growth, hyperphagia, feeding regime, *Oncorhynchus mykiss*.

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the influence of prolongation of starvation periods on growth and morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 240 rainbow trout (c. 40 g) were randomly assigned into four different feeding regimes using three tanks per treatment. The control group were fed twice a day from Monday to Friday. Other groups were fed less frequently. The control group had 68 feeding days during the experiment. Treatment 1 had 48 feeding days, treatment 2 43 and treatment 3 38 days. Whole experiment lasted for 13 weeks and during the last four weeks all groups were fed every day from Monday to Friday. Feed intake was continuously monitored. Samples were taken from each tank after four, nine and thirteen weeks. The sampled fish were eviscerated. The liver, visceral fat, emptied stomach and stomach contents were weighed. Stomach volume and liver water content were measured, and blood samples were taken from each sampled fish. The haematocrit and plasma chloride were analysed from the blood samples. At the end of the experiment control group fish were the biggest ($235,3 \pm 27,8$ g) and the treatment 3 fish were the smallest ($134,7 \pm 24,5$ g). There were no significant differences in condition factor, specific growth rate (SGR), feed conversion ratio or stomach volume between the treatments. The compensation coefficients in growth and food consumption were relatively low and only limited compensation growth occurred.

Sisältö

1. JOHDANTO	5
2. TUTKIMUKSEN TAUSTA	6
2.1. Yleistä kompensatiokasvusta.....	6
2.2. Kompensatiokasvuun vaikuttavat tekijät.....	7
2.2.1. Ruokintarytmi.....	7
2.2.2. Sosiaalinen ympäristö.....	8
2.2.3. Lämpötila ja happipitoisuus.....	8
2.3. Kompensatiokasvun vaikutukset morfologiaan.....	9
2.3.1. Maha ja maksa.....	9
2.3.2. Suolistorasva.....	9
3. AINEISTO JA MENETELMÄT	10
3.1. Koeasetelma.....	10
3.2. Veden laatu.....	10
3.3. Kokeen suoritus.....	10
3.4. Näytteenotto ja määritykset.....	11
3.5. Aineiston käsittely ja tilastolliset menetelmät.....	13
4. TULOKSET	13
4.1. Kasvu.....	13
4.2. Ravinnonkulutus.....	16
4.3. Maha.....	19
4.4. Maksa.....	24
4.5. Suolistorasva.....	24
4.6. Verinäytteet.....	25
5. TULOSTEN TARKASTELU	25
5.1. Kasvu.....	25
5.2. Rehun kulutus.....	26
5.3. Mahat.....	27
5.4. Maksa ja suolistorasva.....	28
5.5. Verinäytteet.....	29
6. JOHTOPÄÄTÖKSET	29
Kiitokset	30
Kirjallisuus	30

1. JOHDANTO

Kirjolohi (*Oncorhynchus mykiss*) on ylivoimaisesti eniten viljelty kalalaji Suomessa ja maamme ruokakalankasvatus perustuu suurelta osin kirjolohen kasvatukseen. Vuonna 2016 Suomessa kasvatettiin 14,4 miljoonaa kiloa ruokakalaa ja siitä yli 90% oli kirjolohta (Anon. 2017). Kirjolohi on myös laajalti viljelty laji ympäri maailman. Koska suomalainen kalankasvatus perustuu kirjolohenkasvatukseen, on koko kalankasvatussektori altis kysynnän vaihteluista ja lohen maailmanmarkkinahintojen muutoksista johtuville heilahteluille. Suomalainen kirjolohi kilpailee myös Norjasta tuodun kasvatetun lohen (*Salmo salar*) ja kirjolohen kanssa. Tästä syystä on tärkeää, että kasvatus tapahtuu mahdollisimman kustannustehokkaasti. Kalanviljelysektorin intresseissä on luonnollisesti mahdollisimman suuri tuotanto mahdollisimman pienin kustannuksin.

Rehukustannukset ovat usein kalanviljelylaitoksen suurin kuluerä ja viljelysektorin mielenkiinnon kohteena on mahdollisimman tehokas rehun käyttö. Tavoitteena siis on kalan mahdollisimman suuri kasvu mahdollisimman pienellä rehumäärällä. Potentiaalisena keinona rehukustannusten pienentämiseksi ja kalan nopeamman kasvun aikaansaamiseksi on kalanviljelytutkimuksen piirissä pidetty ns. kompensatiokasvua. Kalan ravinnonsaanti voi luonnossa vähentyä monestakin syystä. Tällaisia syitä voi olla esimerkiksi talvi tai lisääntyminen. Ravinnon saatavuuden taas parantuessa kalan kasvu voi olla hyvin nopeaa. Tätä kutsutaan kompensatiokasvuksi. Kompensatiokasvua koskevissa tutkimuksissa on todettu, että paaston jälkeen kala saattaa ottaa nopeasti kiinni menettämänsä kasvun ja voi kasvaa yhtä hyvin tai joskus jopa paremmin, kuin jatkuvasti ravintoa saanut lajitoverinsa.

Kompensatiokasvu on luonnossa hyvin yleinen ilmiö ja sitä esiintyy monilla eri eliölajeilla. Kalojen kompensatiokasvua on tutkittu paljon eri puolilla maailmaa. Myös kirjolohen kompensatiokasvua on tutkittu aiemmin mm. (Quinton & Blake 1990; Boujard ym. 2000; Nikki ym. 2004). Aiemmin ei ole kuitenkaan tutkittu vähän kerrallaan pidentyvän paastojakson vaikutusta kirjolohen kasvuun ja fysiologiaan sekä toisaalta sitä, kuinka hyvin kirjolohi pystyy kompensoimaan kasvuaan sekä ravinnonottoaan paastopäivien välillä pidentyvän paastojakson aikana sekä paaston päätyttyä ruokinnan palattua normaaliksi. Edellä mainittuja asioita pyrittiin tutkimaan käyttäen eri ruokintarytmejä sekä eripituisia vähitellen pidentyviä paastojaksoja eri koeryhmillä. Näin pyrittiin saamaan tietoa eri rytmien vaikutuksista kirjolohen kasvuun ja ravinnonkäyttöön. Paastojakson jälkeisen ylensyönnin (hyperfagia) on todettu olevan yksi kompensatiokasvun mahdollistava tekijä (Russell & Wootton 1993). Lisäksi tiedetään, että epäsäännöllinen ravinnonsaanti voi aiheuttaa kalan suoliston kapasiteettia lisääviä rakenteellisia muutoksia (Carter ym. 2001) sekä mahan tilavuuden kasvua (Bélanger ym. 2002), jotka ovat myös kompensatiokasvun mahdollistavia tekijöitä. Tästä syystä tutkittiin, millaisia mahdollisia vaikutuksia eri rytmeillä on kirjolohen ruoansulatuselimistöön kuten mahan tilavuuteen ja painoon sekä maksan kokoon ja vesipitoisuuteen, kalan rasvavarastoihin tutkimalla suolistorasvan määrää sekä veriarvoihin. Lisäksi tarkasteltiin mahdollista kompensatiokasvua eli pyrkiikö kirjolohi kompensoimaan eripituisia paastojaksoja ja jos pyrkii, kuinka voimakasta kompensatio on ja mistä mahdollinen kompensatio johtuu. Hypoteesina oli aikaisempien tutkimusten perusteella, että kirjolohi pyrkii kompensoimaan paastojaksojen aikana menettämänsä kasvua sekä ylensyömällä että mukauttamalla ruoansulatuselimistöään.

2. TUTKIMUKSEN TAUSTA

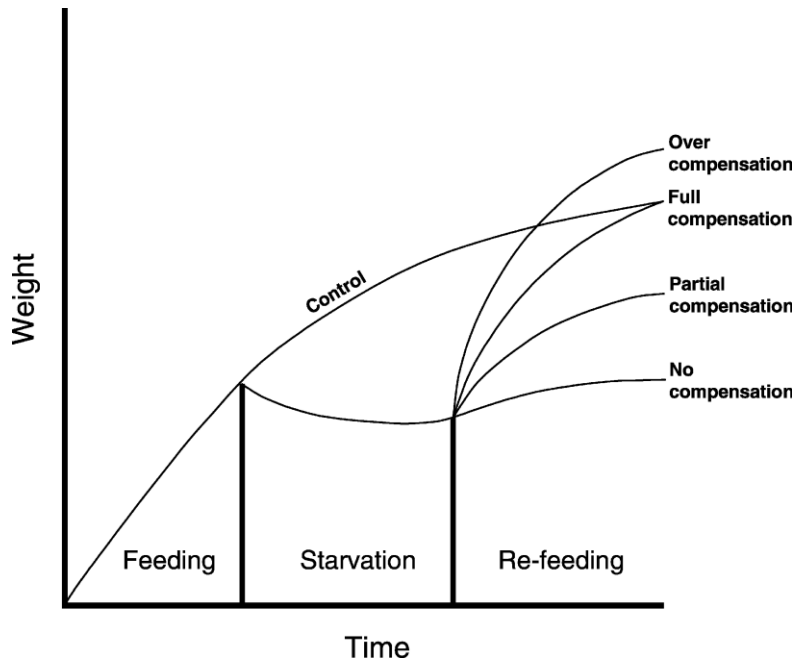
2.1. Kompensaatiokasvu

Kompensaatiokasvulla tarkoitetaan tavallista nopeampaa kasvua, joka on seurausta jaksosta, jonka aikana ravinnonsaanti on selvästi heikentynyt tai kokonaan estynyt. Tämä on hyvin yleinen ilmiö koko eläinkunnassa. Kaloilla ravinnonsaanti voi heikentyä tai kokonaan estyä monestakin syystä, mutta yleensä tähän liittyy erilaiset muutokset ympäristössä, kuten pitkä talvi. Myös lisääntymiskausi usein vähentää ravinnonottoa tai pysäyttää sen kokonaan (Jobling 1994). Kalojen on todettu sietävän varsin hyvin pitkiäkin paastoajkoja ilman ongelmia (Reimers ym. 1993). Jos paastojakson jälkeen ravintoa on riittävästi tarjolla, paastolla olleiden kalojen on todettu voivan kasvaa nopeammin kuin jatkuvasti ravintoa saaneet lajitoverinsa ja voivat saavuttaa saman koon melko nopeastikin. Kasvunopeus voi olla selvästi suurempaa kuin mitä kasvatusta muilla keinoin optimoimalla voidaan saavuttaa (Russell & Wootton 1992). Veden ollessa kylmää, kompensaatiokasvun on todettu olevan hyvin vähäistä tai olematonta johtuen alhaisesta aineenvaihdunnan tasosta ja siitä johtuvasta heikommasta ruokahalusta (Pirhonen & Forsman 1998). Kompensaatiokasvun voidaan todeta olevan eräänlainen sopeuma ympäristön muuttuville olosuhteille (Maclean & Metcalfe 2001).

Nopea kasvu ja siitä aiheutuvan suuremman koon saavuttaminen hyödyttää kalaa mm. alhaisempana kuolleisuutena, fekunditeetin ja mätimunien koon ja laadun paranemisena ja myös mahdollisuutena suurempiin saaliseläimiin (Ali ym. 2003). Toisaalta kompensaatiokasvusta voi olla kaloille myös haittaa. Lisääntynyt ravinnonetsintä voi aiheuttaa aggressiivista käytöstä yksilöiden välillä lisääntyneen ravintokilpailun myötä. Lisääntynyt aktiivisuus vaikuttaa myös hapenkulutukseen ja tämä voi olla ongelma, varsinkin jos veden happipitoisuus on alentunut. Lopputuloksena voi olla kasvanut kuolleisuus. Lisäksi liian nopea kasvu voi aiheuttaa epämuodostumia ja pitkällä tähtäimellä myös alentunutta kasvua (Ali ym. 2003). On myös mahdollista, että kompensaatiokasvu voi aiheuttaa alentunutta vastustuskykyä eri taudinaiheuttajille (Johnsson & Bohlin 2006).

Rehukustannukset ovat usein kalanviljelylaitosten yksi suurimmista kulueristä. Vesiviljelysektorin intresseissä voisi tulevaisuudessa olla kompensaatiokasvuun liittyvien tutkimusten hyödyntäminen viljellyn lajin kasvatuksessa ja näin pyrkiä pienentämään rehukerrointa. Toisin sanoen pyritään kasvattamaan enemmän kalaa pienemmällä rehumäärällä ja näin siis myös pienemmin kustannuksin. Ruokintaa optimoimalla voidaan myös pienentää ympäristön kuormitusta.

Kompensaatiokasvua voidaan kuvailla eri tyypeillä tai tasoilla, riippuen siitä, kuinka suurta kompensaatiokasvu on (Kuva 1). Kala voi siis saavuttaa täydellisen kompensaatiokasvun, eli saavuttaa saman koon kuin vastaava kala jatkuvalla ruokinnalla. Kompensaatiokasvu voi olla myös osittaista, jolloin kasvu jää kontrollikaloja alemmalle tasolle. Myös ylikompensaatio on mahdollinen. Tällöin kala saavuttaa suuremman koon kuin jatkuvalla ruokinnalla ollut vertailuryhmä (Jobling 1994).



Kuva 1. Kompensaatiokasvun tyypit ja eteneminen (Jobling 1994).

2.2. Kompensaatiokasvuun vaikuttavat tekijät

Kompensaatiokasvun mahdollistaviksi tekijöiksi on todettu ylensyönti eli hyperfagia (Nicieza & Metcalfe 1997) sekä siihen liittyvät muuttuneen ruokintarytmin aiheuttamat pinta-alaa lisäävät muutokset ruoansulatuskanavassa (Houlihan ym. 2001) ja toisaalta mahan tilavuuden kasvu (Bélanger ym. 2002). Kompensaation taso voi johtua useista tekijöistä, kuten paaston pituudesta ja ruokintarytmistä. Esim. barramundilla (*Lates calcarifer*) tehdyissä kokeissa on havaittu, että jos paastotettujen kalojen paino laskee liikaa suhteessa kontrollikaloihin, voidaan saavuttaa ainoastaan osittainen kompensaatio. (Tian & Qin 2004). Nikki ym. (2004) puolestaan totesivat, ettei lyhyillä (2-14 vrk) paastojaksoilla ole merkitsevää vaikutusta kirjolohen kasvuun. Maclean & Metcalfe (2001) totesivat, että myös kalojen väliset sosiaaliset suhteet vaikuttavat kalojen kasvuun ja näin myös mahdolliseen kompensaatiokasvuun. Myös veden lämpötilan nousun todettiin aiheuttavan kasvupyrähdyksen verrattuna stabiileissa oloissa kasvaneisiin kontrollikaloihin.

2.2.1. Ruokintarytmi

Yleensä kompensaatiokasvu johtuu paaston jälkeisestä kasvaneesta ravinnonotosta. Bull & Metcalfe (1997) huomasivat Atlantin lohen kasvattavan ravinnonottoaan huonon ravintotilanteen parannuttua. Kalan rasvavarastojen määrän huomattiin vaikuttavan ylensyönnin (hyperfagia) keston. Mitä enemmän kalan energiavarastot olivat hupenneet, sitä pidempään kasvanut ravinnonotto jatkui. Kirjolohella tehdyssä kasvatuskokeessa Nikki ym. (2004) totesivat kalojen kasvattavan ravinnonottoaan paastojakson jälkeen. Kokeessa kaloja paastotettiin 2, 4, 8 tai 14 päivää. Paaston jälkeen kirjolohia ruokittiin niin pitkään, että niiden suhteellinen ravinnonotto erosi alle 10% jatkuvalla ruokinnalla olleesta kontrolliryhmästä tai neljä kertaa paastojakson pituuden verran. Kokeen lopussa 80 päivän jälkeen 2, 4 ja 14 päivää paastotettujen kalojen massa ei eronnut kontrolliryhmästä. Paastotetut kalat olivat siis kompensoineet kasvunsa syömällä paaston jälkeen enemmän. Boujard ym. (2000) huomasivat kirjolohella tehdyssä kokeessa kompensaatiokasvun johtuvan paremmasta ravinnonkäytön tehokkuudesta. Kirjolohia paastotettiin ensin 1, 11 ja

21 päivää. Paaston jälkeen kaloja ruokittiin 10 päivää. Kokeessa todettiin paaston pituuden vaikuttavan sekä ravinnonottoon, että ravinnon käytön tehokkuuteen.

2.2.2. Sosiaalinen ympäristö

Kalojen sosiaalisella ympäristöllä on vaikutusta kalojen kasvuun. Esimerkiksi populaation tiheydellä, kalojen kokoeroilla ja myös kalojen sukupuolella on oma merkityksensä. Esim. Houlihan ym. (1996) totesivat ryhmän niilintilapioita (*Oreochromis niloticus*), joka koostuu vain koiraista, kasvavan nopeammin ja käyttävän ravintoa tehokkaammin hyväksi kuin naarasparven. Kun kaloja kasvatettiin sekaparvissa, ravinnonkulutus oli suurempi kuin yhden sukupuolen parvissa. Naaraat kuitenkin kasvoivat yhtä hyvin molemmissa käsittelyissä, kun taas koiraat kasvoivat huonommin sekaparvessa. Koiraiden huonompi kasvu johtunee niiden välisestä kilpailusta naaraiden huomiosta. Niilintilapiolla on tehty myös sukupuoleen liittyviä kompensatiokasvukokeita. Barreto ym. (2003) totesivat koiraiden syövän enemmän ja kasvavan paremmin paastojakson jälkeen kuin naaraat.

Macleane & Metcalfe (2001) tutkivat kylmän jakson jälkeistä kompensatiokasvua nuorilla Atlantin lohilla. He käyttivät automaattisia valvontamenetelmiä seuratakseen kompensatiokasvun aikaista käyttäytymistä ja sosiaalisia suhteita ja miten ne vaikuttavat kompensatiion saavuttamiseen. Tilanteessa, jossa ravinnonlähteen puolustaminen oli mahdollista, dominoivimmat yksilöt pyrkivät vartioimaan ravinnonlähdettä ja samalla kompensatiokasvu oli niiden kohdalla voimakkaampaa aiheuttaen edelleen voimakkaampaa jakautumista kalojen välisessä hierarkiassa. Näin sosiaaliset tekijät voivat estää täydellisen kompensatiion saavuttamisen. Normaalisti kalanviljelylaitoksen yksinkertaisissa altaissa tämän ei katsota olevan suuri ongelma, koska ravintoa on yleensä saatavissa runsaasti ja pääsy ravinnon luo on rajoittamaton, joten suurin osa kaloista onnistuu saamaan riittävästi ravintoa kompensatiion saavuttamiseksi. Luonnossa näin ei kuitenkaan välttämättä ole. Jo virikealtaissa, jotka ovat kuitenkin varsin kaukana luonnonoloista, alistuvimmilla yksilöillä ei ollut mahdollisuutta kasvupyrähdykseen odotetulla tavalla, joten selvästikin ympäristötekijät ja sosiaaliset tekijät hierarkioineen voivat vaikuttaa kompensatiokasvuun (Macleane & Metcalfe 2001).

2.2.3. Lämpötila ja happipitoisuus

Lämpötila voi myös olla kompensatiokasvua laukaiseva tekijä. Koska kala on vaihtolämpöinen, veden ollessa kylmää, kalan kasvu hidastuu johtuen alemmasta aineenvaihdunnan tasosta. Veden jälleen lämmitessä voi seurata samankaltainen kasvupyrähdys kuin paastonkin jälkeen. Tällaisia tuloksia on saatu nieriällä (*Salvelinus alpinus*) (Mortensen & Damsgård, 1993) ja Atlantin lohella (Mortensen & Damsgård, 1993; Nicieza & Metcalfe, 1997). Maclean & Metcalfe (2001) kuitenkin esittävät, että samat mekanismit eivät voi säädellä näitä kylmän ajanjakson ja paaston jälkeisiä kasvupyrähdyksiä. Heidän näkemyksensä mukaan kylmässä vedessä kasvu on toki hidasta, mutta kalat saattavat silti syödä itsensä kylläiseksi ja eivät näin käyttäisi kehossa olevia rasvavarantoja. Näin ollen veden lämmitettyä, kalat eivät välttämättä olisi yhtä nälkäisiä, kuin paastonneet kalat.

Samoin kuin lämpötila, myös happipitoisuus voi vaikuttaa kasvuun. Alhainen happipitoisuus voi rajoittaa kasvua ja happitilanteen parantuessa voi esiintyä kompensatiokasvua kuten lämpötilan noustessakin. Foss & Imsland (2002) havaitsivat täplämerikissalla (*Anarhichas minor*) selvää kompensatiokasvua sen jälkeen, kun ne siirrettiin alhaisesta happipitoisuudesta normaalioloihin.

2.3. Kompensaatiokasvun vaikutukset morfologiaan

Kompensaatiokasvututkimusten yhteydessä on kasvun lisäksi jonkin verran tutkittu myös muutoksia kalojen morfologiassa kuten mahan tilavuutta, suolistorasvan määrää ja maksan kokoa ja lihan laatua. Tutkimuksia on tehty esim. kirjolohella (Nikki ym. 2004), siialla (*Coregonus lavaretus*) (Känkänen & Pirhonen 2009), kuhalla (*Sander lucioperca*) (Mattila ym. 2009) ja turskalla (*Gadus morhua*) (Bélanger ym. 2002; Bjornevik ym. 2017). Savoie ym. (2017) esittävät, että jotkin fysiologiset muutokset ovat välttämättömiä ennen kompensaatiiovaihetta ja myös sen aikana, jotta maksimaalinen kasvu olisi mahdollista. Kuten on todettu, kaloilla kompensaatiokasvu perustuu kasvaneeseen ravinnonottoon ja joskus ravinnon tehokkaampaan hyödyntämiseen. Bélanger ym. (2002) esittävät ruoansulatuselimistön koolla, kuten mahan tilavuudella, olevan vaikutusta kompensaatiokasvukapasiteettiin.

2.3.1. Maha ja maksa

Kuhilla tehdyssä kokeessa (Mattila ym. 2009) todettiin, että kalojen on myös mahdollista muunnella mahan kokoa kohdatessaan muutoksen ruokintarytmissä, mutta ei ole täysin selvää, kuinka nopeasti nämä muutokset mahan kapasiteetissa on mahdollista saavuttaa. Samankaltaisia tuloksia on saatu myös siialla (Känkänen & Pirhonen 2009). Toisaalta Nikki ym. (2004) eivät havainneet merkitseviä eroja mahojen koossa kirjolohella tehdyssä kompensaatiokokeessa.

Lähtökohtaisesti on kaksi tapaa, joiden avulla kala voi totuttautua syömään suurempia ruokamääriä kompensaatiokasvun saavuttamiseksi: mahan koon tosiasiallinen kasvu tai mahan venyminen. Luultavimmin myös näiden yhdistelmä on mahdollinen. Aiheesta on kuitenkin olemassa varsin vähän tietoa. Todennäköisesti mahan sopeutumiskyky riippuu myös lajista. Kuhalla todettiin tapahtuvan sekä mahan venymistä, että kasvamista (Mattila ym. 2009), kun taas siialla vain mahan venymistä (Känkänen & Pirhonen 2009). Maksan koon on todettu siialla riippuvan kalan koosta, eikä ruokintarytmillä todettu olevan siihen vaikutusta (Känkänen & Pirhonen 2009).

2.3.2. Suolistorasva

Kalojen aineenvaihdunta perustuu rasvoihin ja proteiineihin. Kalat varastoivat rasvoja sisäelimiin (suolistorasva), maksaan ja lihakseen. Rasvan varastointitapa vaihtelee jonkin verran lajeittain (Jobling 1994). Rasva toimii aineenvaihdunnan perusenergianlähteenä esimerkiksi talven ajan, jolloin ravintoa on vähemmän saatavilla (Bull & Metcalfe 1997). Kalan rasvapitoisuus muuttuu ennen kompensaatiokasvua sekä sen aikana. Miglavs & Jobling (1989a) totesivat suolistorasvan vähenevän nieriöillä verrattuna kontrolliryhmään, kun niitä paastotettiin 8, 12 ja 16 viikkoa. Myös Mattila ym. (2009) totesivat jatkuvasti syötettyjen kuhien suolistorasvan määrän olevan suurempi kuin paastotettujen kalojen. Tämä viittaisi siihen, että mitä pidempi paasto, sitä vähemmän kaloilla on suolistorasvaa. Kalat siis käyttävät kehossaan olevaa rasvaa energianlähteenä ravinnonsaannin ollessa rajoitettua. Toisaalta Nikki ym. (2004) eivät havainneet kirjolohilla eroja suolistorasvan määrässä paastolla olleiden ja jatkuvasti ruokittujen kontrollikalojen välillä.

3. AINEISTO JA MENETELMÄT

3.1. Koeasetelma

Koe suoritettiin Jyväskylän yliopiston bio- ja ympäristötieteiden laitoksen allashuoneessa ajalla 27.3.2017-26.6.2017. Kokeessa käytettiin 1-vuotiaita kirjolohia, jotka hankittiin Hanka-Taimen Oy:n Venekosken kalanviljelylaitokselta. Kasvatuskoe oli kestoltaan 13 viikkoa. Koealtaina käytettiin teräksisiä altaita, joiden vesitilavuus kokeen aikana oli n. 345 litraa. Kokeessa kirjolohien kasvua seurattiin neljällä eri ruokintarytmikäsittelyllä ja jokaista käsittelyä varten oli kolme rinnakkaista allasta. Näin altaita oli yhteensä 12. Jokaisessa altaassa oli 20 kalaa ja kaloja näin yhteensä 240. Kalat eri käsittelyille valittiin satunnaisesti.

Kirjolohet siirrettiin akklimoitumaan koealtaisiin viikkoa ennen kokeen alkua. Jokaisessa altaassa oli ilmastus ja altaiden päälle laitettiin verkko estämään kalojen hyppimistä pois altaista. Lisäksi jokaisen altaan pohjalle asetettiin kivi kaloille virikkeeksi. Akklimointijakson aikana kaikki kalat ruokittiin käsin kahdesti päivässä kylläisiksi aamulla klo 8 ja iltapäivällä n. klo 15. Akklimointijakson aikana kuoli kaksi kalaa, joiden tilalle valittiin satunnaisesti uudet kalat ennen varsinaisen kokeen alkua. Valojakso kokeen aikana oli 12 tuntia valoa ja 12 tuntia pimeää (12L:12D). Kokeen alussa valaistuksen voimakkuus allashuoneen eri osissa vaihteli välillä 24-118 lux. 6.4. valaistusta pyrittiin säätämään tasaisemmaksi, jonka jälkeen valaistus vaihteli välillä 29-81 lux.

3.2. Veden laatu

Koealtaisiin tuleva vesi oli porakaivovettä. Veden lämpötila mitattiin joka aamu ennen kalojen ruokintaa. Veden lämpötila vaihteli kokeen aikana välillä 16,8-17,1 °C. Jokaisesta altaasta mitattiin veden happipitoisuus kerran viikossa (mittauslaite YSI ProODO). Veden happipitoisuus vaihteli kokeen aikana välillä 7,67-10,53 mg/l. Kerran viikossa mitattiin myös pH (6,52-6,77) ja sähkönjohtokyky (179,2-217,2 mS/m). Ammoniumtyypen (NH₄-N) määrä mitattiin 13.4. kontrollialtaista ruokinnan jälkeen (Sera for natural aquarium pikatesti) ja sen pitoisuus oli noin 1 mg/l. Kokeen alussa veden virtausnopeus oli n. 1 litra/min allasta kohden, mutta 13.4. ammoniumtyypen mittauksen jälkeen virtausnopeutta lisättiin 1,5 litraan/min.

3.3. Kokeen suoritus

Kasvatuskokeessa kirjolohille oli neljä eri ruokintakäsittelyä. Kirjolohet ruokittiin kahdesti päivässä siten, että kontrolliryhmä ruokittiin maanantaista perjantaihin joka päivä koko kokeen ajan ja kolmen muun ryhmän kohdalla harvemmin tai harvanevasti yhdeksän viikon ajan, jonka jälkeen viimeiset neljä viikkoa kaikki käsittelyt ruokittiin maanantaista perjantaihin joka päivä (Taulukko 1). Kalat ruokittiin käsin kaupallisella kuivarehulla aamulla klo 8 ja iltapäivällä klo 15. Kalat ruokittiin kylläisiksi jokaisella ruokintakerralla. Ensimmäiset neljä viikkoa rehuna käytettiin Biomarin Efico E 3 mm, jonka jälkeen rehu vaihdettiin Raisioagron Vital Red 3,5 mm rehuun. Jokaiselle altaalle oli oma rehupurkki ja sen sisältö punnittiin ennen ja jälkeen ruokinnan. Syömättä jäänyt rehu poistettiin altaista lappoletkun avulla ja syömättömät rehupelletit laskettiin. Näin saatiin selville todellinen syödyn rehun määrä. Tästä syystä selvitettiin yksittäisen rehupelletin paino. Rehupelletit punnittiin siten, että otettiin 200 kpl pellettejä jotka punnittiin. Tulos jaettiin pellettien lukumäärällä. Tämä toistettiin kolme kertaa ja pelletin painona käytettiin punnitusten keskiarvoa (0,025g ja 0,044g). Kokeen aikana kuoli yhdeksän kalaa eri altaista. Kalat löydettiin kuolleina aamuruokinnan yhteydessä.

Taulukko 1. Kirjolohien ruokintapäivät käsittelyittäin 13 viikon koejakson aikana. Sinisellä värillä on merkitty biomassan mittauspäivät viikon alussa ja punaisella varsinaiset näytteenotot viikon alussa.

viikko	kontrolli	käsittely 1	käsittely 2	käsittely 3
1	ma-pe	ma, ke, pe	ma, ke, pe	ma, ke, pe
2	ma-pe	ma, ke, pe	ma, ke, pe	ma, ke, pe
3	ma-pe	ma, ke, pe	ma, pe	ma, pe
4	ma-pe	ma, ke, pe	ma, pe	ma, pe
5	ma-pe	ma, ke, pe	ma, pe	ma
6	ma-pe	ma, ke, pe	ma, pe	ma
7	ma-pe	ma, ke, pe	ma, pe	ma
8	ma-pe	ma, ke, pe	ma, pe	ma
9	ma-pe	ma, ke, pe	ma, pe	ma
10	ma-pe	ma-pe	ma-pe	ma-pe
11	ma-pe	ma-pe	ma-pe	ma-pe
12	ma-pe	ma-pe	ma-pe	ma-pe
13	ma-pe	ma-pe	ma-pe	ma-pe
14				

3.4. Näytteenotto ja määritykset

Kokeen alussa akklimointijakson jälkeen kaikki kalat nukutettiin, punnittiin 0,1g tarkkuudella ja pituudet mitattiin mittalaudan avulla kalan kuonon kärjestä yhteen puristetun pyrstön kärkeen 0,1 cm tarkkuudella. Tämän jälkeen altaiden biomassaa seurattiin kahden viikon välein haavimalla kalat kustakin altaasta saaviin, joka taarattuna punnittiin. Neljän viikon jälkeen kalat jälleen nukutettiin, punnittiin ja pituudet mitattiin, ja kustakin altaasta otettiin kolme näytekalaa eli yhdeksän kalaa käsittelyä kohden. Sama toistettiin yhdeksän viikon jälkeen sekä kokeen lopussa mutta kahdella viimeisellä kerralla näytekalaja otettiin viisi per allas eli viisitoista kalaa käsittelyä kohden. Samoin kahdella viimeisellä kerralla kalat syötettiin kylläisiksi ennen näytteenottoa. Näytekalat lopetettiin napakalla iskulla päähän. Lopetuksen yhteydessä kaloilta otettiin myös verinäytteet lukuun ottamatta ensimmäistä näytteenottoa. Sisälmykset poistettiin varovasti.

Näytteenottojen jälkeen eri käsittelyiden vertailemiseksi kaloille laskettiin kuntokerroin (K), rehukerroin (RK), kasvukerroin% (Specific Growth Rate SGR), absoluuttinen ravinnonkulutus yksilöä kohden sekä suhteellinen ravinnonkulutus. Lisäksi eri käsittelyille laskettiin variaatiokertoimet kokeen alussa ja lopussa.

Kuntokerroin laskettiin kaavalla:

$$K = W / L_3 * 100,$$

jossa W on kalan paino (g) ja L pituus (cm)

Allaskohtainen rehukerroin (RK) laskettiin kaavalla:

syöty rehu (g) / kalojen painonlisäys (g)

Allaskohtainen SGR laskettiin kaavalla:

$$SGR (\% / päivä) = 100 * (\ln W_2 - \ln W_1) / t,$$

jossa W₁= kalan paino (g) jakson alussa, W₂= kalan paino (g) jakson lopussa ja t= aika vuorokausissa.

Allaskohtainen suhteellinen ravinnonkulutus laskettiin kaavalla:

$$FI_{cum} / t1 / (Biom1 + Biom2) / 2 \times 100,$$

jossa FI_{cum} on kumulatiivinen ravinnonkulutus (g) ruokintapäivien aikana, $t1$ mittauspäivien välinen jakso vuorokausina ja $Biom1$ ja $Biom2$ altaan biomassassa (g) jakson alussa ja lopussa.

Variaatiokerroin (CV) laskettiin kaavalla:

$$CV = sd / \bar{x} * 100$$

Kompensaation määrää arviotiin sekä kasvuna että ravinnonkulutuksena kompensatiokerroimen avulla. Kompensatiokerroin saatiin, kun jaettiin kalan todellinen kasvu odotetulla kasvulla ja todellinen ravinnonkulutus odotetulla ravinnonkulutuksella. Odotettu kasvu sekä ravinnonkulutus saatiin, kun käsittelyiden ruokintakertojen määrä laskettiin ja määrää verrattiin kontrolliryhmän ruokintakertojen määrään. Jos arvo = 1, ei kompensatiota; arvo >1, kompensatiota esiintyy (Mattila ym. 2009).

Kalojen nukutukseen käytettiin neilikkaöljyä. Etanoli-neilikkaöljyliuosta (9:1) (varastoliuos) sekoitettiin 2 ml 5 litraan vettä. Nukutusastiaan laitettiin ilmastus. Mittausten jälkeen kalat sijoitettiin ilmastettuun heräilyastiaan, josta ne siirrettiin takaisin koealtaaseen heräämisen jälkeen.

Verinäytteet otettiin kalan pyrstösuonesta heparinoidulla 1ml:n ruiskulla. Veri siirrettiin ruiskusta eppendorf-säilytysputkeen. Säilytysputket säilytettiin jäissä käsittelyn ajan. Verestä mitattiin hematokriitti sekä plasmasta kloridi. Hematokriitin mittaamista varten verta otettiin kapillaariputkeen. Kapillaariputket sentrifugoitiin (10 000 rpm/5min.). Tämän jälkeen punasoluosuus luettiin lukulevyltä prosentteina. Tämän jälkeen verinäytteet sisältävät eppendorf-säilytysputket sentrifugoitiin (6500 rpm/5min) plasman erottelemiseksi. Plasma siirrettiin uusiin säilytysputkiin ja pakastettiin -18 asteeseen. Pakastetuista plasmanäytteistä analysoitiin myöhemmin kloridi Sherwood 926S Chloride analyser -laitteella.

Sisäelimistä kaavittiin irti rasva, joka punnittiin. Tämän jälkeen laskettiin myös rasvan osuus ruumiin painosta sekä kokonaisuena että perattuna.

Maksat irrotettiin ja punnittiin. Tämän jälkeen maksat tai sen osat laitettiin etukäteen punnittuihin eppendorf-säilytysputkiin ja punnittiin 0,0001g tarkkuudella, jonka jälkeen ne kuivattiin uunissa 24 tuntia 75 °C ja punnittiin uudelleen. Maksoista laskettiin vesipitoisuus % sekä kaloille heptosomaattinen indeksi (HSI)

Hepatosomaattinen indeksi (HSI) laskettiin kaavalla:

$$HSI = 100 * (\text{maksan massa (g)} / \text{kalan massa (g)})$$

Maksan vesipitoisuus laskettiin kaavalla:

$$(100 - (\text{maksan kuivapaino (g)} / \text{maksan tuorepaino (g)}) * 100)$$

Mahat tyhjennettiin nielun kautta kevyesti puristamalla ja niiden sisältö punnittiin. Tämän jälkeen mahat pakastettiin (-18°C). Sulatettujen mahojen tilavuus mitattiin siten, että mahat suljettiin langalla mahaportin kohdalta ja tämän jälkeen maha kiinnitettiin nielun kohdalta langalla byretin päähän. Byrettiin laitettiin 50cm:n vesipatsas. Mahan ollessa kiinni byretissä, byretin hana avattiin ja vettä lisättiin pipetillä byrettiin siten, että sen pinta pysyi 50cm:ssä. Näin kaikkiin mahoihin saatiin mitattaessa sama vedenpaine. Byrettiin lisätty veden määrä on yhtä kuin mahan tilavuus. Mittauksen jälkeen tyhjä maha punnittiin. Kaloille laskettiin myös gastrosomaattinen indeksi (GaSI) kaavalla:

$$\text{GaSI} = 100 * (\text{mahan massa} / \text{kalan massa})$$

3.5. Aineiston käsittely ja tilastolliset menetelmät

Eri mittausten arvoina käytettiin kunkin altaan yksilöiden keskiarvoja ($n=3$). Tiedot kerättiin Excel-taulukkolaskentaohjelmaan käsittelyä varten ja tarvittavat tiedot siirrettiin edelleen SPSS Statistics 24 -ohjelmaan tilastollisia analyysejä varten. Eri käsittelyiden vertailussa käytettiin yksisuuntaista varianssianalyysiä (1-ANOVA). Varianssien yhtäsuuruuden testaamiseen käytettiin Levenen testiä ja normaalijakautuneisuuden testaamiseen Saphiro-Wilkin testiä. Poikkeamia oletuksista ei havaittu. Jos tilastollisesti merkitseviä eroja löytyi, suoritettiin parittaiset vertailut (Tukey HSD Post Hoc). Mahalaukun tilavuuden riippuvuutta muista mitatuista muuttujista tutkittiin lineaarisen regressioanalyysin avulla.

4. TULOKSET

4.1. Kasvu

Kokeen alussa kirjolohien keskipainot $39,5 \pm 1,3$ g ja keskipituudet $15,9 \pm 0,2$ cm eri käsittelyihin lajiteltujen kalojen välillä eivät poikenneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan ($p>0,05$) (Taulukko 2.). Neljän viikon kasvatuksen jälkeen kontrolliryhmän kalojen keskipainot olivat merkitsevästi suuremmat kuin muissa ryhmissä (käsittely 1 $p=0,024$, käsittely 2 $p=0,008$ ja käsittely 3 $p=0,005$). Käsittelyiden 1, 2 ja 3 massat eivät tässä vaiheessa eronneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan. Toisena näytteenottopäivänä 29.5. kokeen kestänyt yhdeksän viikkoa, eri käsittelyjen massat erosivat selvästi toisistaan ($p<0,001$) kontrollikalorien ollessa suurimpia ($177,2 \pm 11,6$ g) ja käsittelyn 3 kalat pienimpiä ($83,9 \pm 9,0$ g). Kontrolliryhmä erosi tilastollisesti merkitsevästi kaikista muista ryhmistä (käsittely 1 $p=0,005$, käsittely 2 $p<0,001$, käsittely 3 $p<0,001$). Käsittelyt 1 ja 2 eivät eronneet merkitsevästi toisistaan. Käsittelyiden 1 ja 3 välillä oli ero ($p=0,001$) ja käsittelyiden 2 ja 3 välillä oli myöskin ero ($p=0,015$). Kokeen lopussa 26.6. jolloin koe oli kestänyt 13 viikkoa ja kaikkia ryhmiä oli ruokittu viimeiset neljä viikkoa samalla rytmillä, eri käsittelyiden välillä oli edelleen tilastollisesti merkitseviä eroja kalojen painojen osalta ($p=0,002$). Kontrolliryhmän kalat eivät olleet merkitsevästi suurempia kuin käsittelyn 1 kalat ($p=0,235$). Kontrolliryhmän kalat olivat kuitenkin merkitsevästi suurempia kuin käsittelyn 2 ja 3 kalat ($p=0,025$ ja $p=0,001$). Käsittelyt 1 ja 2 eivät poikenneet massojen osalta toisistaan ($p=0,420$) eivätkä myöskään käsittelyt 2 ja 3 ($p=0,156$). Käsittelyiden 1 ($235,3 \pm 27,8$ g) ja 3 ($134,7 \pm 24,5$ g) painot poikkesivat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan myös kokeen lopussa ($p=0,016$). Käsittely 1:en kirjolohet olivat kokeen loputtua massaltaan 14,6 % pienempiä kuin kontrolliryhmän kalat. Käsittelyllä 2 vastaava luku oli 26 % ja käsittelyllä 3 42 %. Kokeen alussa kontrolliryhmän variaatiokerroin (CV) oli kalojen painon osalta 17 ± 1 , käsittelyllä 1 20 ± 0 , käsittelyllä 2 19 ± 3 ja käsittelyllä 3 20 ± 1 . Kokeen päätyttyä CV oli kalojen painojen osalta kontrollilla 16 ± 3 , käsittelyllä 1 20 ± 1 , käsittelyllä 2 23 ± 4 ja käsittelyllä 3 23 ± 3 .

Kokeen alussa kirjolohien kuntokertoimet eivät poikenneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan ($p=0,375$) (Taulukko 2) keskiarvon ollessa $0,96 \pm 0,02$. Neljän viikon kuluttua ensimmäisenä näytteenottopäivänä 24.4. kuntokertoimissa ei edelleenkään ollut havaittavissa tilastollisesti merkitseviä eroja ($p=0,078$). Toisena näytteenottopäivänä 29.5. käsittelyvaikutus näkyi myös kuntokertoimissa ($p=0,003$) kontrolliryhmän kuntokerrointen ollessa suurimpia ($1,30 \pm 0,04$) ja käsittelyn 3 pienimpiä ($1,13 \pm 0,02$).

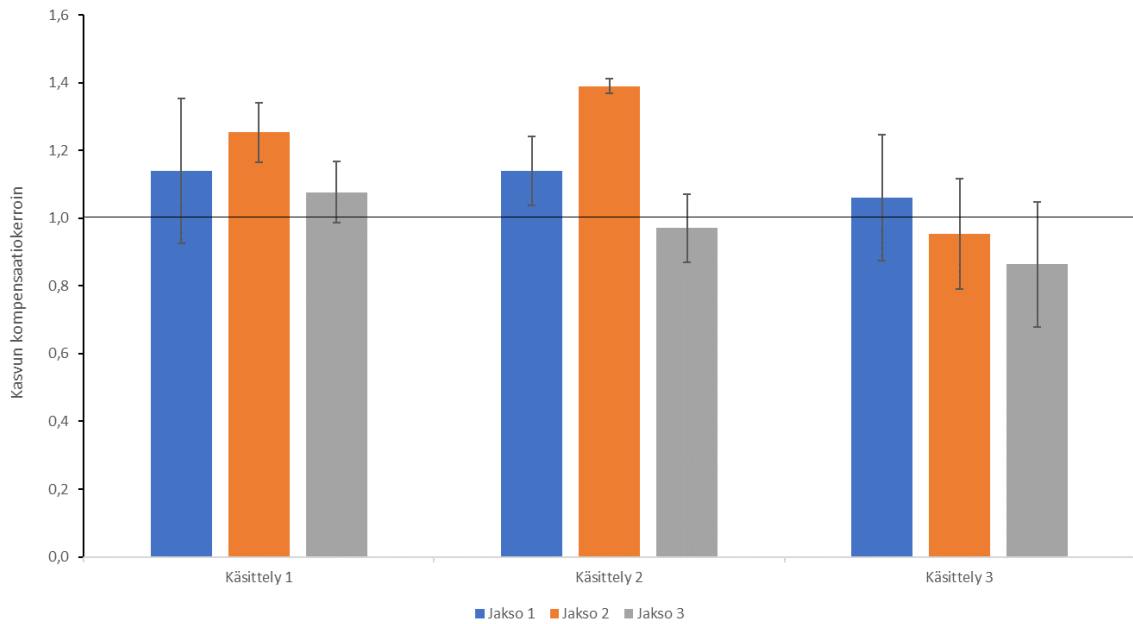
Käsittely 3 poikkesi tässä vaiheessa tilastollisesti merkitsevästi kaikista ryhmistä (kontrolli $p=0,003$, käsittely 1 $p=0,016$ ja käsittely 2 $p=0,017$) (Taulukko 2). Muiden ryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja. Kokeen lopussa 26.6., kun kaikkia koeryhmiä oli ruokittu neljä viikkoa samalla rytmillä, ei kuntokertoimissa enää ollut tilastollisesti merkitseviä eroja ($p=0,142$). Kokeen lopussa kuntokertoimet olivat välillä $1,12 \pm 0,04$ (käsittely 3) ja $1,27 \pm 0,03$ (kontrolli).

Ruokintarytmillä havaittiin olevan tilastollisesti merkitsevä vaikutus myös kasvukerroinprosenttiin (SGR) kokeen eri vaiheissa (taulukko 2). Kokeen ensimmäisen jakson aikana 27.3.-24.4 kontrolliryhmän SGR oli muita suurempi ja poikkesi tässä vaiheessa tilastollisesti merkitsevästi käsittelyistä 2 ja 3 ($p=0,006$ ja $p=0,003$), muttei käsittelystä 1 ($p=0,067$). Käsittelyt 1, 2 ja 3 eivät ensimmäisen vaiheen jälkeen poikenneet SGR:n osalta toisistaan (Taulukko 2). Ensimmäisen ja toisen näytteenoton välisen jakson (mittaus 29.5.) kasvukerroinprosenttien välillä oli edelleen tilastollisesti merkitseviä eroja ($p=0,007$). Toisen jakson aikana suurin kasvukerroinprosentti oli kuitenkin käsittelyllä 1 ($1,73 \pm 0,05$), kontrollilla toiseksi surin ($1,68 \pm 0,52$) kolmantena käsittely 2 ($1,58 \pm 0,00$) ja viimeisenä käsittely 3 ($0,55 \pm 0,13$). Kontrollikäsittelyn ja käsittelyiden 1 ja 2 välillä ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkitseviä eroja. Käsittely 3 sen sijaan poikkesi tilastollisesti merkitsevästi kaikista muista käsittelyistä (kontrolli $p=0,014$, käsittely 1 $p=0,009$ ja käsittely 2 $p=0,022$). Kokeen viimeisellä neljän viikon jaksolla, jolloin eri käsittelyitä ruokittiin samalla ruokintarytmillä, SGR:ssä havaittiin edelleen tilastollisesti merkitseviä eroja käsittelyiden välillä ($p=0,001$). Nyt kuitenkin siten, että suurin SGR oli käsittelyllä 3 ($1,73 \pm 0,18$), toiseksi suurin käsittelyllä 2 ($1,46 \pm 0,15$), kolmantena käsittely 1 ($1,39 \pm 0,12$) ja pienin SGR oli kontrolliryhmällä ($1,04 \pm 0,26$). Kontrolliryhmä ei poikennut tilastollisesti merkitsevästi käsittelystä 1, mutta muista ryhmistä kylläkin (käsittely 2 $p=0,046$, käsittely 3 $p<0,001$). Käsittely 1 ei poikennut käsittelystä 2, mutta käsittelystä kolme kyllä ($p=0,003$). Myös käsittelyjen 2 ja 3 välillä oli tilastollisesti merkitsevä ero ($p=0,017$). Kun otetaan huomioon koko koejakso ajalla 27.3.-26.6. ei eri käsittelyiden kasvukerroinprosentteissa havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja ($p=0,111$).

Taulukko 2. Kirjolohtien massat (g), pituudet (cm), kuntokerroimet sekä kasvukerroinprosentit (SGR) ja niiden keskihajonnat neljällä näytteenottohetkellä käsittelyittäin. Arvot ovat rinnakkaisten altaiden keskiarvoja \pm SD, n=3. Yläindeksit ilmaisevat mahdolliset käsittelyiden väliset erot ($p < 0,05$). 1. jakso 27.3.-24.4., 2. jakso 24.4.-29.5. ja 3. jakso 29.5.-26.6.

	Kontrolli	Käsittely 1	Käsittely 2	Käsittely 3
Massa (g)				
27.3.	41,0 \pm 1,3	38,0 \pm 1,0	39,6 \pm 0,6	39,4 \pm 2,2
24.4.	89,7 \pm 1,9 ^a	71,3 \pm 7,2 ^b	67,4 \pm 2,5 ^b	65,1 \pm 6,0 ^b
29.5.	177,2 \pm 11,6 ^a	140,5 \pm 11,6 ^b	118,0 \pm 3,4 ^b	83,9 \pm 9,0 ^c
26.6.	235,3 \pm 27,8 ^a	200,9 \pm 12,7 ^{ab}	174,1 \pm 9,8 ^{bc}	134,7 \pm 24,5 ^c
Pituus (cm)				
27.3.	16,0 \pm 0,2	15,8 \pm 0,0	15,9 \pm 0,1	16,0 \pm 0,2
24.4.	19,6 \pm 0,1 ^a	18,4 \pm 0,5 ^b	18,2 \pm 0,2 ^b	18,1 \pm 0,4 ^b
29.5.	23,9 \pm 0,3 ^a	22,4 \pm 0,4 ^b	21,1 \pm 0,2 ^b	19,5 \pm 0,6 ^c
26.6.	26,4 \pm 0,8 ^a	25,2 \pm 0,7 ^{ab}	24,3 \pm 0,4 ^{bc}	22,3 \pm 1,2 ^c
Kuntokerroin				
27.3.	0,97 \pm 0,01	0,96 \pm 0,03	0,97 \pm 0,01	0,95 \pm 0,03
24.4.	1,17 \pm 0,01	1,10 \pm 0,05	1,10 \pm 0,02	1,08 \pm 0,03
29.5.	1,30 \pm 0,04 ^a	1,26 \pm 0,04 ^a	1,26 \pm 0,02 ^a	1,13 \pm 0,02 ^b
26.6.	1,27 \pm 0,03	1,25 \pm 0,03	1,22 \pm 0,01	1,21 \pm 0,04
SGR				
1. jakso	2,80 \pm 0,06 ^a	2,23 \pm 0,28 ^{ab}	1,90 \pm 0,13 ^{bc}	1,79 \pm 0,21 ^c
2. jakso	1,68 \pm 0,52 ^a	1,73 \pm 0,05 ^a	1,58 \pm 0,00 ^a	0,55 \pm 0,13 ^b
3. jakso	1,04 \pm 0,26 ^a	1,39 \pm 0,12 ^{ab}	1,46 \pm 0,15 ^{bc}	1,73 \pm 0,18 ^c
Koko koe	1,65 \pm 0,15	1,68 \pm 0,07	1,55 \pm 0,07	1,43 \pm 0,16

Kompensaatiokasvun voimakkuutta kuvaava kompensatiokerroin jäi eri ruokintarytmeillä varsin maltilliseksi (Kuva 2).



Kuva 2. Eri käsittelyiden keskimääräinen kompensatiokasvu ja keskihajonnat verrattuna kontrolliin (kerroin = 1) kokeen eri vaiheissa. Arvon ollessa >1, kompensatiota esiintyy (n=3).

4.2. Ravinnonkulutus

Kokeen aikana kontrolliryhmän kirjolohilla oli ruokintapäiviä yhteensä 68 ja ne käyttivät rehua $183,76 \pm 13,13$ g kalayksilöä kohden. Käsittely 1:llä ruokintapäiviä oli 48 ja ne käyttivät rehua $145,28 \pm 10,96$ g yksilöä kohden. Käsittely 2:lla vastaavat luvut olivat 43 ja $123,97 \pm 7,88$ g ja käsittelyllä 3 38 päivää ja $96,86 \pm 12,61$ g. (Taulukko 3). Kokeen ensimmäisen neljän viikon aikana kontrolliryhmän absoluuttinen rehun kulutus oli merkitsevästi suurempi kuin muilla käsittelyillä (käsittely 1 $p=0,010$, käsittely 2 $p=0,001$, käsittely 3 $p=0,001$). Kokeen toisessa jaksossa käsittelyiden rehunkulutuksessa oli edelleen merkitsevä ero ($p<0,001$) kontrolliryhmän rehunkulutuksen ollessa suurin ja käsittelyn 3 pienin ja kaikkien käsittelyiden rehun kulutukset erosivat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi. Kolmannessa jaksossa, jossa kaikkien käsittelyiden ruokintarytmi oli sama, ei tilastollisesti merkitseviä eroja ryhmien välillä ollut havaittavissa ($p=0,374$). Otettaessa huomioon koko kolmentoista viikon koejakso, käsittelyt poikkesivat merkitsevästi toisistaan ($p<0,001$). Kontrollikäsittelyn rehunkulutus oli suurin ja ero rehunkulutuksessa kaikkiin muihin käsittelyihin verrattuna oli tilastollisesti merkitsevä (käsittely 1 $p=0,017$, käsittely 2 $p<0,001$, ja käsittely 3 $p<0,001$). Käsittelyn 1 rehun kulutus poikkesi kontrollin lisäksi myös käsittelystä 3 ollen sitä suurempi ($p=0,001$). Muilta osin merkitseviä eroja ei ollut.

Suhteellisessa rehun kulutuksessa oli havaittavissa merkitseviä eroja kokeen ensimmäisen jakson aikana ($p=0,001$). Kontrollin suhteellinen rehunkulutus oli suurin ja se erosi merkitsevästi käsittelyistä 2 ja 3 ($p=0,019$ ja $p=0,021$) (Taulukko 2.). Muilta osin ei ensimmäisessä jaksossa merkitseviä eroja havaittu. Suhteellisessa rehun kulutuksessa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja toisessa eikä kolmannessa jaksossa ($p=0,112$ ja $p=0,217$). Kun koko koejakso otetaan huomioon, ei suhteellisessa rehun kulutuksessa havaittu merkitseviä eroja ryhmien välillä ($p=0,161$)

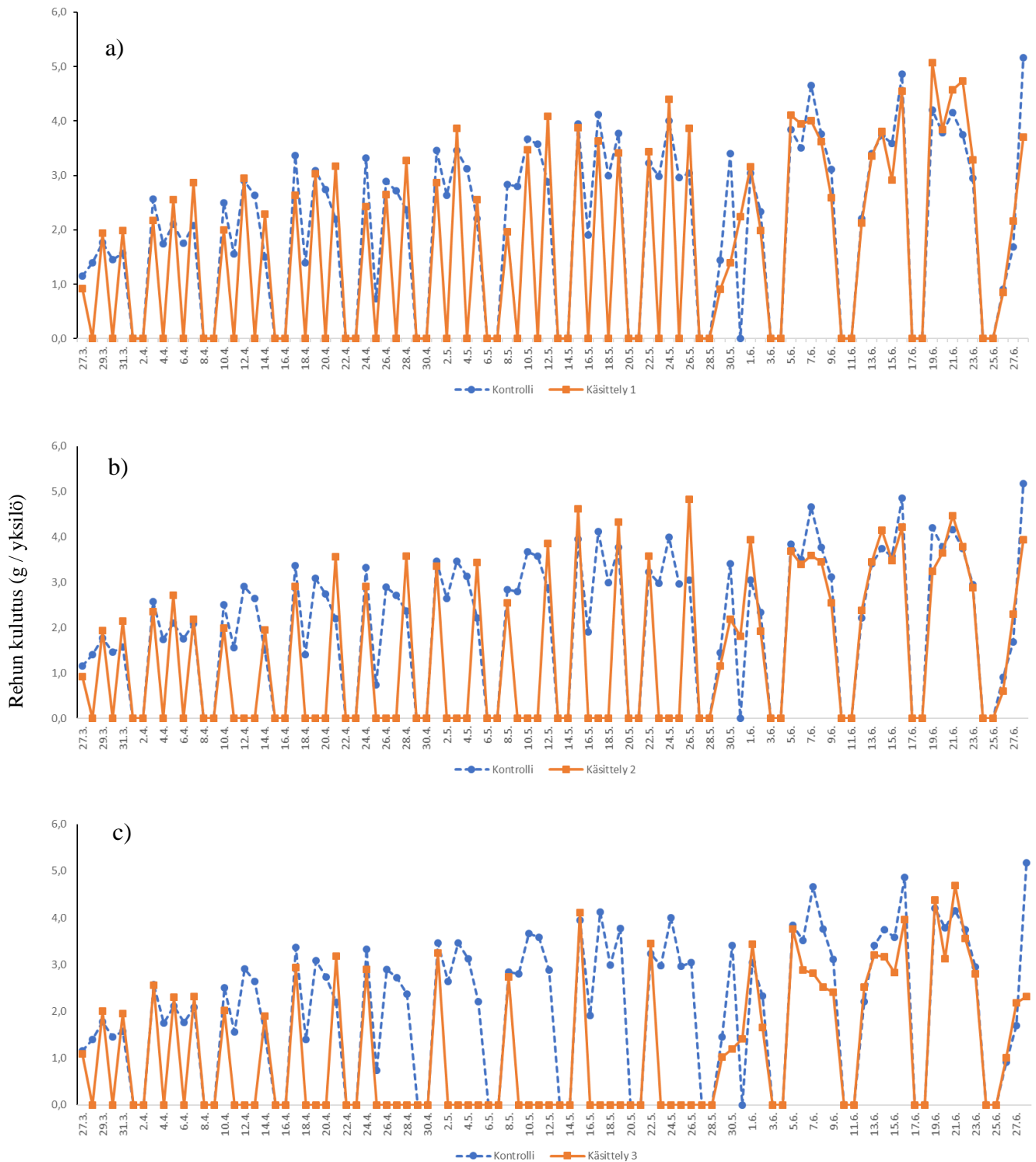
Eri käsittelyille lasketut rehukertoimet eivät poikenneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan kokeen ensimmäisen jakson aikana. ($p=0,195$). Toisessa jaksossa käsittely 3:n

rehukerroin oli suurin ja se poikkesi merkitsevästi kaikista muista käsittelyistä (kontrolli $p=0,046$, käsittely 1 $p=0,029$ ja käsittely 2 $p=0,014$). Kolmannessa jaksossa ei rehukertoimissa merkitseviä eroja havaittu ($p=0,423$), eikä myöskään koko kolmentoista viikon mittakaavassa ($p=0,272$).

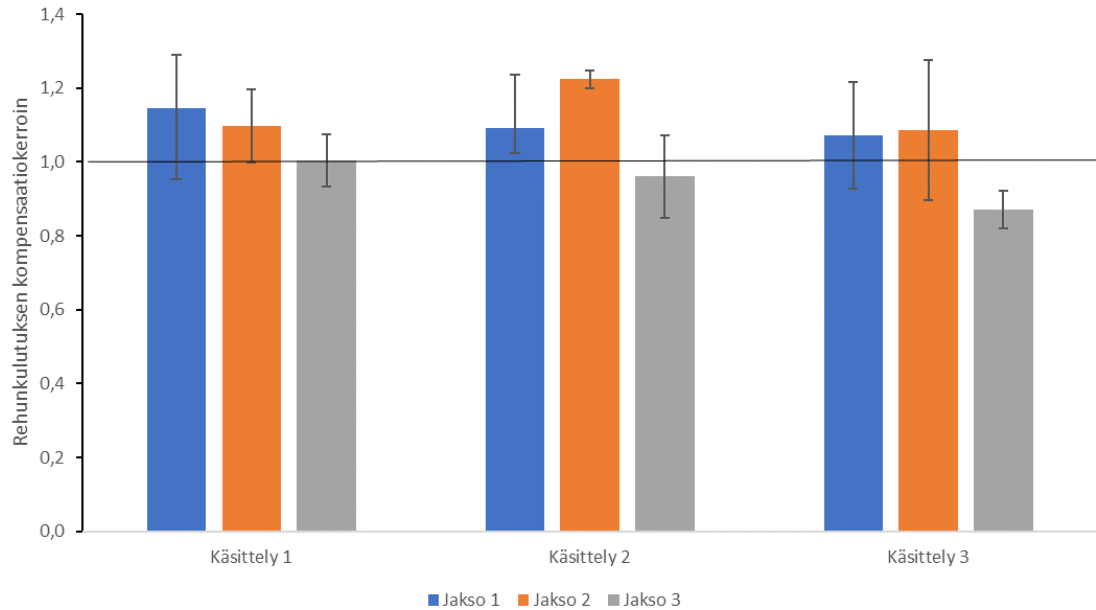
Taulukko 3. Kirjolohtien rehukertoimet, rehun kulutus g/yksilö) ja suhteellinen rehunkulutus % käsittelyittäin. Arvot ovat rinnakkaisten altaiden keskiarvoja \pm SD, $n=3$. Yläindeksit ilmaisevat mahdolliset käsittelyiden väliset erot ($p<0,05$). 1. jakso 27.3.-24.4., 2. jakso 24.4.-29.5. ja 3. jakso 29.5.-26.6.

	Kontrolli	Käsittely 1	Käsittely 2	Käsittely 3
Rehukerroin				
1. jakso	0,85 \pm 0,00	0,86 \pm 0,02	0,82 \pm 0,02	0,87 \pm 0,04
2. jakso	1,12 \pm 0,25 ^a	1,11 \pm 0,02 ^a	1,11 \pm 0,03 ^a	1,28 \pm 0,13 ^b
3. jakso	1,04 \pm 0,12	1,00 \pm 0,03	1,01 \pm 0,04	0,94 \pm 0,04
Koko koe	1,00 \pm 0,21	0,99 \pm 0,03	0,98 \pm 0,02	1,17 \pm 0,12
Rehun kulutus (g/yksilö)				
1. jakso	41,5 \pm 0,6 ^a	28,5 \pm 4,8 ^b	22,6 \pm 1,4 ^b	22,2 \pm 3,0 ^b
2. jakso	76,0 \pm 6,5 ^a	50,2 \pm 3,1 ^b	37,5 \pm 1,0 ^c	16,9 \pm 2,6 ^d
3. jakso	66,3 \pm 8,5	66,6 \pm 4,5	63,8 \pm 7,2	57,7 \pm 5,4
Koko koe	183,8 \pm 13,1 ^a	145,3 \pm 11,0 ^b	124,0 \pm 7,88 ^{bc}	96,9 \pm 12,6 ^c
Suhteellinen rehunkulutus %				
1. jakso	0,53 \pm 0,06 ^a	0,46 \pm 0,05 ^{ab}	0,38 \pm 0,02 ^{bc}	0,38 \pm 0,03 ^{bc}
2. jakso	0,43 \pm 0,03	0,36 \pm 0,01	0,30 \pm 0,00	0,25 \pm 0,13
3. jakso	0,37 \pm 0,13	0,34 \pm 0,02	0,38 \pm 0,02	0,48 \pm 0,04
koko koe	0,44 \pm 0,06	0,39 \pm 0,01	0,35 \pm 0,01	0,35 \pm 0,04

Kirjolohtet pyrkivät jonkin verran kompensoimaan paastojaksojen ravinnottomuutta ja jonkinasteista kohonnutta ravinnonottoa oli havaittavissa ruokintapäivinä (Kuva 3). Kompensaatiokertoimet jäivät kuitenkin pieniksi rehun kulutuksen osalta (Kuva 4).



Kuva 3. Kirjolohtien vuorokautinen rehun kulutus yksilöä kohden koko kolmentoista koeviikon ajalta. a) käsittely 1, b) käsittely 2 ja c) käsittely 3 verrattuna kontrolliin. Arvot ovat käsittelykeskiarvoja (n=3). Hajonnat jätetty pois selvyiden vuoksi.



Kuva 4. Eri käsittelyiden rehunkulutuksen kompensatiokertoimet ja keskihajonnat verrattuna kontrolliin kokeen eri vaiheissa. Arvon ollessa >1, kompensatiota esiintyy.

4.3. Maha

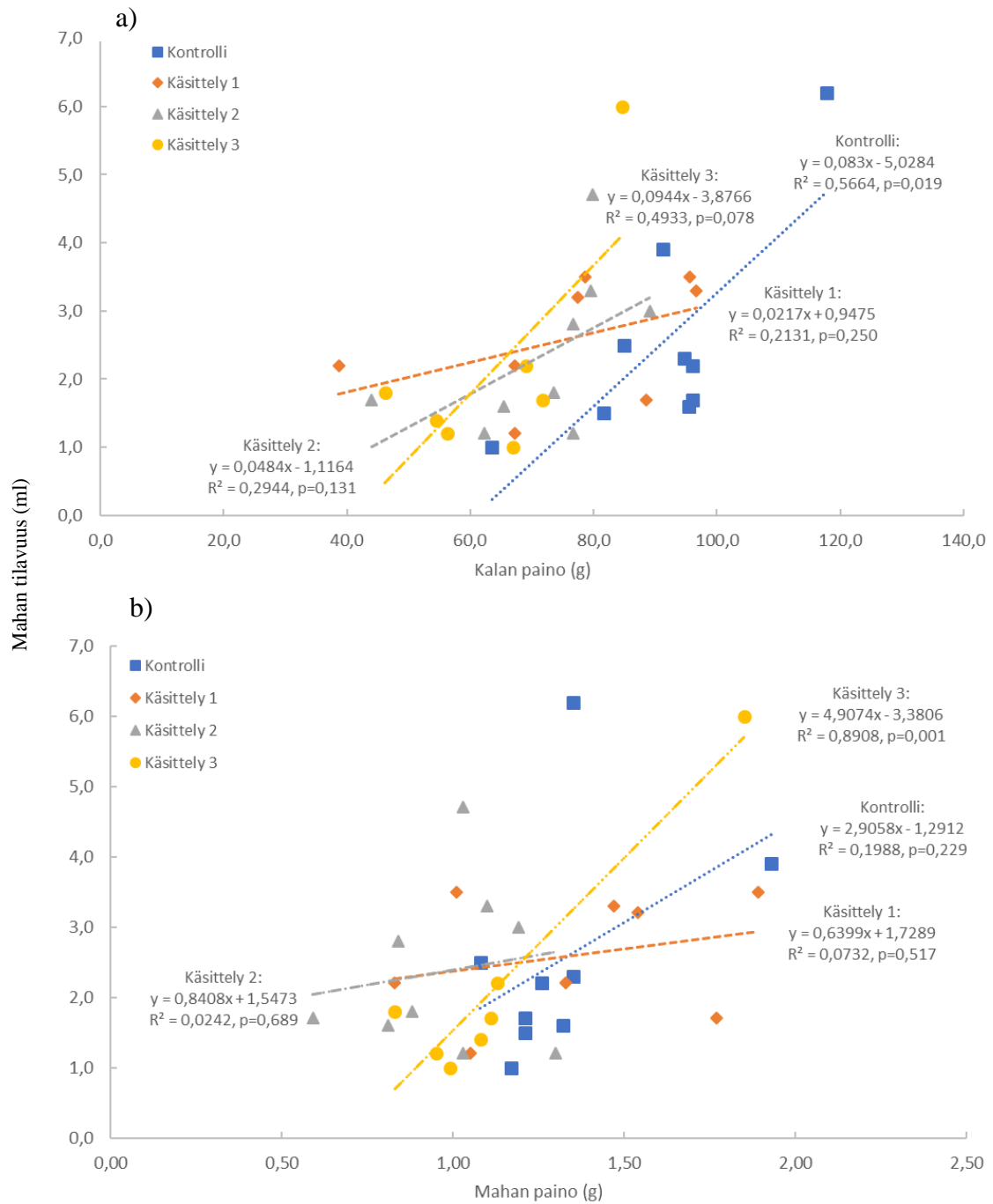
Kokeessa ei havaittu mahojen tilavuuksissa tilastollisesti merkitseviä eroja eri käsittelyiden välillä ensimmäiseen ($p=0,690$), toisen ($p=0,223$), eikä kolmannen jakson jälkeen ($p=0,451$) Myöskään mahojen painoissa ei havaittu merkitseviä eroja kokeen eri jaksoissa ($p=0,139$, $p=0,338$ ja $p=0,243$) (Taulukko 4). Niin ikään mahan painon ja yksilön painon välinen suhde, gastrosomaattinen indeksi (GaSI), ei poikennut tilastollisesti merkitsevästi eri käsittelyiden välillä kokeen edetessä ($p=0,056$, $p=0,705$ ja $0,054$). Ensimmäisen ja kolmannen vaiheen jälkeen erot olivat kuitenkin hyvin lähellä 0,05 merkitsevyystasoa. Kun verrattiin mahan painon ja mahan tilavuuden välistä suhdetta, ei käsittelyiden välillä ollut tilastollisesti merkitseviä eroja ($p=0,474$). Toisen jakson jälkeen käsittelyt poikkesivat merkitsevästi toisistaan ($p=0,002$) suurimman tilavuuden suhteessa mahan painoon ollessa käsittelyn 2 kirjolohilla. Parittaiset vertailut osoittivat kontrolliryhmän ja käsittely 2:en poikkeavan merkitsevästi toisistaan ($p=0,001$). Kolmannen jakson jälkeen ei tilastollisesti merkitseviä eroja mahan painon ja tilavuuden välisessä suhteessa enää havaittu ($p=0,602$). Mahan sisällön määrässä ei käsittelyiden välillä havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja ensimmäisen jakson ($p=0,530$), toisen jakson ($p=0,090$), eikä kolmannen jakson jälkeen ($p=0,925$).

Mahan painon, kalan painon ja mahan sisällön yhteyttä mahan tilavuuteen tarkasteltiin myös käsittelyjen sisällä. Tarkasteltaessa mahan tilavuutta suhteessa kalan painoon eri käsittelyiden sisällä, havaittiin kalan painon selittävän mahan tilavuutta kontrolliryhmällä kokeen ensimmäisen jakson jälkeen ($R^2=0,5664$, $p=0,019$), mutta muissa käsittelyissä merkitsevää yhteyttä ei havaittu. Kun tarkasteltiin mahan tilavuuden ja mahan painon välistä suhdetta kokeen ensimmäisen vaiheen jälkeen, ainoastaan käsittelyllä kolme todettiin mahan painon selittävän tilastollisesti merkitsevästi mahan tilavuutta ($R^2=0,8908$, $p=0,001$), mutta muissa käsittelyissä yhteyttä ei ollut (kuva 5b.). Kokeen toisen vaiheen jälkeen kalan painon ja mahan tilavuuden välinen yhteys ei kontrollikäsittelyllä ollut merkitsevä ($R^2=0,0514$, $p=0,417$), mutta kaikilla muilla käsittelyillä oli (Kuva 6a). Mahan

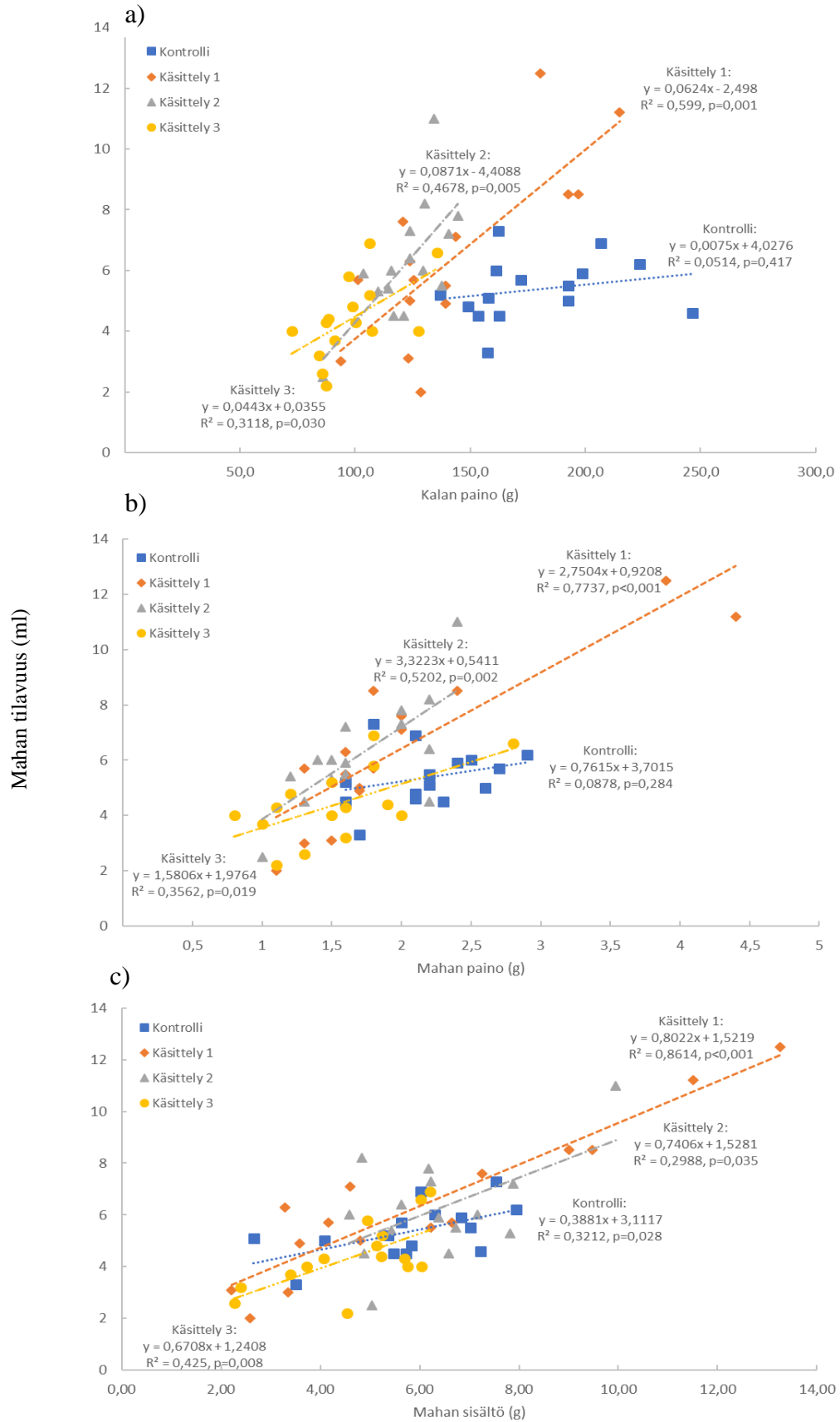
painon ja tilavuuden välinen suhde toisen vaiheen jälkeen oli tilastollisesti merkitsevä käsittelyllä 1 ($R^2=0,7737$, $p<0,001$), käsittelyllä 2 ($R^2=0,5202$, $p=0,002$) ja käsittelyllä 3 ($R^2=0,3562$, $p=0,019$), muttei kontrolliryhmällä (Kuva 6b). Kokeen toisen ja kolmannen vaiheen jälkeen tarkasteltiin myös mahan sisällön määrää sekä mahan tilavuuden ja mahan sisällön määrän välistä suhdetta. Toisen vaiheen jälkeen kaikilla käsittelyryhmillä mahan sisällön määrän ja mahan tilavuuden välinen riippuvuus oli tilastollisesti merkitsevä (Kuva 6c). Kolmannen vaiheen jälkeen kokeen lopussa kalan koon ja mahan tilavuuden välinen riippuvuus oli merkitsevä kontrollikäsittelyllä ($R^2=0,6218$, $p<0,001$), käsittelyllä 1 ($R^2=0,6078$, $p=0,001$) ja käsittelyllä 2 ($R^2=0,3458$, $p=0,027$) (Kuva 7a). Käsittelyllä 3 kalan koon ja mahan tilavuuden välinen riippuvuus ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Kokeen lopussa mahan painon ja mahan tilavuuden välinen riippuvuus oli merkitsevä käsittelyllä 1 ($R^2=0,5018$, $p=0,005$) ja käsittelyllä 2 ($R^2=0,3611$, $p=0,023$) (Kuva 7b). Mahan sisällön ja mahan tilavuuden välinen riippuvuus oli kokeen lopussa merkitsevä kaikilla käsittelyryhmillä (Kuva 7c).

Taulukko 4. Kirjolohien mahojen tilavuus (ml), paino (g), GaSI, tilavuus/paino ja mahan sisältö (g) sekä niiden keskihajonnat käsittelyittäin eri näytteenottopäivinä. Arvot ovat rinnakkaisten altaiden keskiarvoja \pm SD, $n=3$. Yläindeksit ilmaisevat minkä käsittelyiden välillä mahdolliset erot ovat ($p<0,05$).

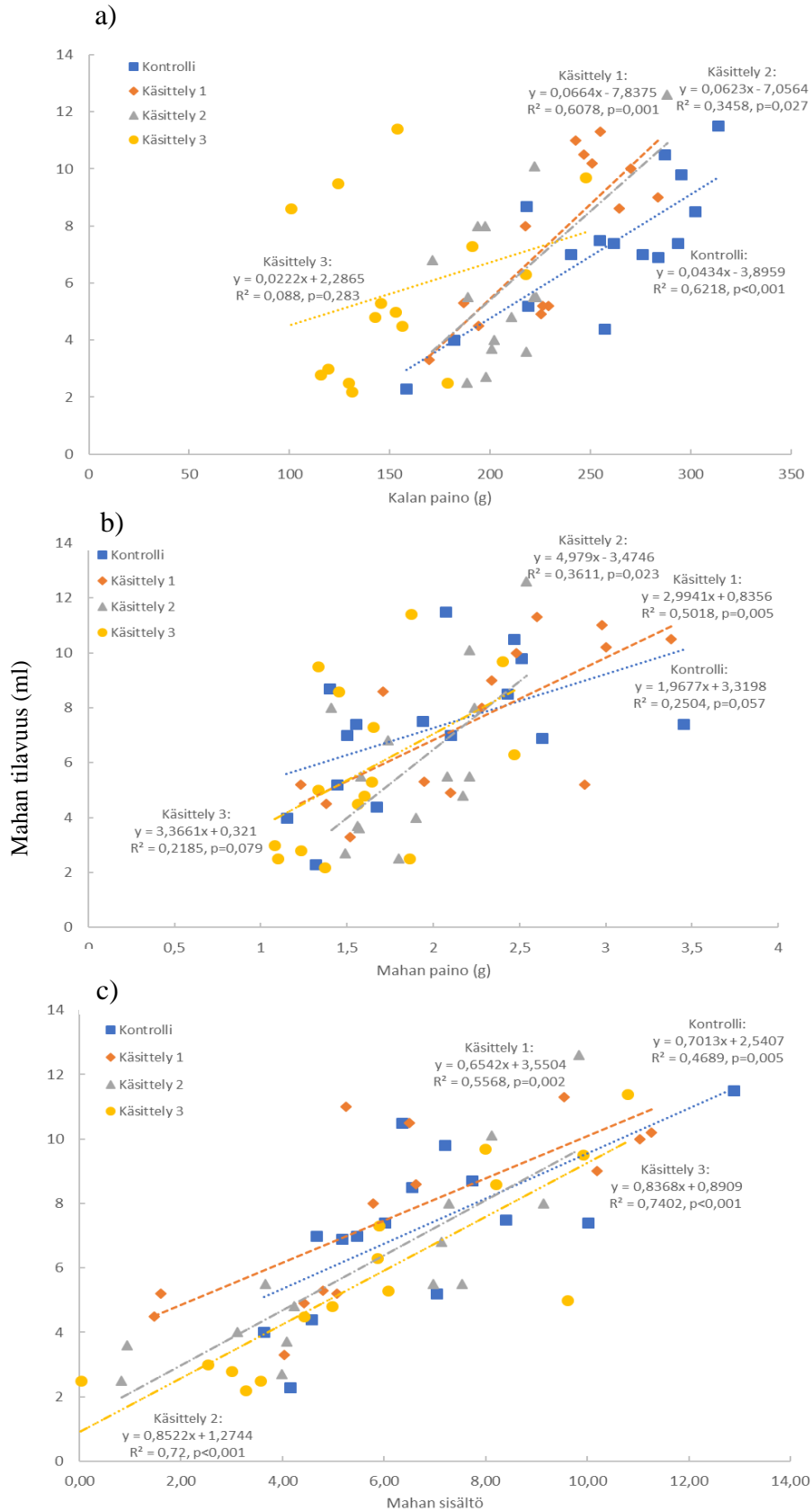
	Kontrolli	Käsittely 1	Käsittely 2	Käsittely 3
Maha				
Tilavuus (ml)				
24.4.	2,54 \pm 0,70	2,61 \pm 0,23	2,37 \pm 0,44	2,01 \pm 0,64
29.5.	5,37 \pm 0,53	6,44 \pm 1,57	6,23 \pm 0,81	4,40 \pm 0,72
26.6.	7,21 \pm 1,06	7,65 \pm 0,18	6,03 \pm 1,78	5,69 \pm 1,69
Paino (g)				
24.4.	1,32 \pm 0,12	1,28 \pm 0,19	0,97 \pm 0,14	1,17 \pm 0,15
29.5.	2,19 \pm 0,25	2,01 \pm 0,53	1,71 \pm 0,27	1,53 \pm 0,32
26.6.	1,98 \pm 0,35	2,19 \pm 0,18	1,89 \pm 0,17	1,60 \pm 0,32
GaSI				
24.4.	1,47 \pm 0,29	1,74 \pm 0,33	1,36 \pm 0,19	1,70 \pm 0,26
29.5.	1,24 \pm 0,20	1,38 \pm 0,37	1,40 \pm 0,27	1,54 \pm 0,33
26.6.	0,76 \pm 0,16	0,95 \pm 0,24	0,91 \pm 0,12	1,05 \pm 0,15
tilavuus / paino				
24.4.	1,90 \pm 0,14	2,01 \pm 0,76	2,49 \pm 1,06	1,78 \pm 0,70
29.5.	2,51 \pm 0,58 ^a	3,22 \pm 0,80 ^{ab}	3,65 \pm 0,70 ^b	3,01 \pm 0,91 ^{ab}
26.6.	3,75 \pm 1,18	3,39 \pm 0,87	2,83 \pm 1,42	3,56 \pm 1,64
Sisältö (g)				
24.4.	0,31 \pm 0,26	0,19 \pm 0,15	0,43 \pm 0,18	0,58 \pm 0,39
29.5.	5,81 \pm 0,17	6,13 \pm 1,28	6,35 \pm 0,38	4,71 \pm 0,23
26.6.	6,65 \pm 0,36	6,01 \pm 1,81	5,68 \pm 2,17	5,74 \pm 1,50



Kuva 5. Kirjoloihen mahan tilavuuden suhde a) kalan painoon ja b) mahan painoon käsittelyittäin ensimmäisen jakson jälkeen 24.4. Jokainen merkki edustaa yhtä kalayksilöä.



Kuva 6. Kirjolohen mahan tilavuuden suhde a) kalan painoon, b) mahan painoon ja c) mahan sisältöön toisen jakson jälkeen 29.5. Jokainen merkki edustaa yhtä kalayksilöä.



Kuva 7. Kirjolohen mahan tilavuuden suhde a) kalan painoon, b) mahan painoon ja c) mahan sisältöön kokeen päättyessä 26.6. Jokainen merkki edustaa yhtä kalayksilöä.

4.4. Maksa

Kirjolohien maksojen painoissa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja kokeen ensimmäisen jakson jälkeen 24.4. eri käsittelyiden välillä ($p=0,632$). Toisen jakson päätyttyä kontrollikäsittelyn kalojen maksat olivat merkitsevästi painavampia kuin muissa ryhmissä (Taulukko 5.). Käsittely 1 poikkesi merkitsevästi kontrollin lisäksi käsittelystä 3 ($p=0,001$). Käsittely 2:lla oli merkitsevä ero kontrollin lisäksi käsittelyn 3 kanssa ($p=0,006$). Käsittely 3 poikkesi tilastollisesti merkitsevästi kaikista ryhmistä. Kokeen lopussa 26.6. maksojen massoissa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja käsittelyiden välillä ($p=0,176$) (taulukko 5).

Maksojen vesipitoisuuksissa eikä HSI:ssä havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja käsittelyiden välillä millään mittauskerralla (taulukko 5).

Taulukko 5. Kirjolohien maksojen paino (g), vesipitoisuus %, sekä heptosomaattinen indeksi (HSI) sekä niiden keskihajonnat käsittelyittäin eri näytteenottopäivinä. Arvot ovat rinnakkaisten altaiden keskiarvoja \pm SD, $n=3$. Yläindeksit ilmaisevat minkä käsittelyiden välillä mahdolliset erot ovat ($p<0,05$).

	Kontrolli	Käsittely 1	Käsittely 2	Käsittely 3
Paino (g)				
24.4.	0,97 \pm 0,16	0,84 \pm 0,21	0,98 \pm 0,21	0,79 \pm 0,08
29.5.	1,82 \pm 0,11 ^a	1,44 \pm 0,09 ^{ab}	1,25 \pm 0,11 ^b	0,80 \pm 0,04 ^c
26.6.	2,29 \pm 0,31	2,29 \pm 0,30	2,05 \pm 0,15	1,69 \pm 0,31
Vesipitoisuus %				
24.4.	75,43 \pm 0,44	74,05 \pm 0,86	74,8 \pm 0,54	74,8 \pm 0,52
29.5.	73,7 \pm 1,55	73,82 \pm 0,74	72,61 \pm 0,36	74,14 \pm 1,65
26.6.	73,38 \pm 0,39	73,84 \pm 0,51	73,69 \pm 0,36	73,24 \pm 0,41
HSI				
24.4.	1,06 \pm 0,11	1,13 \pm 0,11	1,35 \pm 0,16	1,15 \pm 0,04
29.5.	1,02 \pm 0,02	1,01 \pm 0,09	1,03 \pm 0,12	0,82 \pm 0,06
26.6.	1,11 \pm 0,04	1,22 \pm 0,17	1,21 \pm 0,03	1,39 \pm 0,02

4.5. Suolistorasva

Kirjolohien sisäelimestä irti raavitun rasvan määrissä (g) ei ensimmäisen jakson jälkeen 24.4. havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja käsittelyiden välillä ($p=0,114$). Toisen jakson jälkeen 29.5. kontrolliryhmän suolistorasvan määrä oli selvästi suurin ja poikkesi merkitsevästi käsittelyn 2 ($p=0,011$) ja käsittelyn 3 ($p=0,001$) määristä. Käsittelyn 1 ja 3 välillä oli myöskin merkitsevä ero ($p=0,011$) (Taulukko 6).

Kun suolistorasvan massa laskettiin prosentteina kalan massasta, ei käsittelyiden välillä havaittu olevan tilastollisesti merkitsevää eroa millään mittauskerralla (Taulukko 6).

Taulukko 6. Kirjolohien suolistorasvojen painot (g), sekä prosenttiosuudet kalan painosta sekä niiden keskihajonnat käsittelyittäin eri näytteenottopäivinä. Arvot ovat rinnakkaisten altaiden keskiarvoja \pm SD, n=3. Yläindeksit ilmaisevat minkä käsittelyiden välillä mahdolliset erot ovat ($p < 0,05$).

	Kontrolli	Käsittely 1	Käsittely 2	Käsittely 3
massa (g)				
24.4.	1,56 \pm 0,64	1,02 \pm 0,16	0,54 \pm 0,20	0,85 \pm 0,27
29.5.	5,93 \pm 0,83 ^a	4,59 \pm 0,58 ^{ab}	3,4 \pm 0,53 ^{bc}	2,04 \pm 0,31 ^c
26.6.	12,61 \pm 1,62 ^a	9,68 \pm 0,62 ^{ab}	10,00 \pm 1,13 ^a	5,4 \pm 1,84 ^b
% kalan massasta				
24.4.	1,67 \pm 0,56	1,39 \pm 0,06	0,79 \pm 0,34	1,2 \pm 0,28
29.5.	3,35 \pm 0,59	3,21 \pm 0,40	2,79 \pm 0,50	2,06 \pm 0,25
26.6.	4,91 \pm 0,12	4,23 \pm 0,27	4,74 \pm 0,32	3,45 \pm 0,80

4.6. Verinäytteet

Hematokriitissä ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja käsittelyiden välillä toisen jakson ($p=0,175$), eikä kolmannen jakson jälkeen kokeen lopussa ($p=0,084$). Myöskään kloridipitoisuudessa ei havaittu merkitsevää käsittelyvaikutusta toisen eikä kolmannen jakson jälkeen ($p=0,766$ ja $p=0,558$) (taulukko 7).

Taulukko 7. Kirjolohista otettujen verinäytteiden hematokriitti ja kloridipitoisuudet (mmol/l) sekä niiden keskihajonnat käsittelyittäin eri näytteenottopäivinä. Arvot ovat rinnakkaisten altaiden keskiarvoja \pm SD, n=3.

	Kontrolli	Käsittely 1	Käsittely 2	Käsittely 3
Hematokriitti				
29.5.	50,5 \pm 4,1	46,8 \pm 0,8	44,5 \pm 0,1	46,0 \pm 0,9
26.6.	44,5 \pm 1,8	42,6 \pm 1,5	44,1 \pm 1,4	40,6 \pm 0,4
Kloridi				
29.5.	122,4 \pm 4,4	121,3 \pm 5,4	122,0 \pm 4,8	126,3 \pm 5,9
26.6.	128,6 \pm 0,3	126,5 \pm 3,9	125,0 \pm 3,8	124,7 \pm 2,4

5. TULOSTEN TARKASTELU

5.1. Kasvu

Viitenä päivänä viikossa ruokitut kontrolliryhmän kalat kasvoivat parhaiten verrattuna muihin ryhmiin. Kokeen päätyttyä niiden painot ja pituudet olivat keskimäärin suurimmat. Ne eivät kuitenkaan poikenneet tilastollisesti merkitsevästi käsittelyn 1 vastaavista kokeen päätyttyä. Käsittelyt 2 ja 3 sen sijaan jäivät jälkeen sekä painon, että pituuden osalta kontrolliin verrattuna. Kaikki käsittelyt pystyivät jonkin verran kompensoimaan kasvuaan kokeen ensimmäisen jakson aikana, mutta ruokintarytmin

harventuessa edelleen kokeen toisen jakson aikana, käsittely 3 ei enää pystynyt kompensoimaan kasvuaan lainkaan, vaan ruokintarytmi kävi niille liian raskaaksi. Kokeen viimeisen jakson aikana, kun kaikkia ryhmiä ruokittiin samalla rytmillä, ainoastaan käsittely 1 pystyi hieman kompensoimaan kasvuaan verrattuna kontrolliin ryhmien 2 ja 3 pystymättä enää siihen (kuva 2).

Tian & Qin (2004) havaitsivat barramundilla (*Lates calcarifer*) tehdyissä kokeissa, että jos paastotettujen kalojen paino laskee liikaa suhteessa kontrollikaloihin, voidaan saavuttaa ainoastaan osittainen kompensatio. Vaikka käsittelyn 1 kirjolohien massat eivät kokeen päätyttyä poikenneet tilastollisesti merkitsevästi kontrollikaloiden massoista, ne kuitenkin poikkesivat ensimmäisen ja toisen jakson jälkeen. Vaikka käsittelyllä 2 oli kasvun osalta paras kompensatiokerroin ensimmäisessä ja toisessa jaksossa, ei se enää pystynyt kompensoimaan kontrolliin verrattuna ruokintarytmin olleessa sama kokeen viimeisessä vaiheessa. Käsittelyn 3 ruokintarytmi oli selvästi liian rankka sen pudotessa kyydistä. Käsittelyn 3 kirjolohien kompensatiokasvu jäi vain osittaiseksi tai jopa olemattomaksi kokeen aikana.

Nikki ym. (2004) suorittaman kokeen lopussa 80 päivän jälkeen 2, 4 ja 14 päivää paastotettujen kirjolohien massa ei eronnut kontrolliryhmästä. Paastotetut kalat olivat kompensoineet kasvunsa syömällä paaston jälkeen enemmän ja niiden kasvu nopeutui etenkin kokeen loppua kohden. Kirjolohet saattavatkin vaatia aikaa tottuakseen paastojaksoihin ja pystyäkseen kompensoimaan ravinnon puutetta. Kahden päivän paastoryhmässä ruokintajakso kesti usein juuri 5 päivää kuten nyt tehdyn kokeen kontrolliryhmällä. Tämä puoltaisi sitä, että tämän kokeen kontrollikaloiden kasvu ei olisi ollut parempaa, vaikka ne olisikin ruokittu joka päivä. Myös näytteenottopäiviä varten oli hyvä, että kalat olivat paastonneet edeltävän viikonlopun. Näin ravinnonotto voitiin maksimoida ennen näytteenottoa.

Quinton & Blake (1990) käyttivät ruokintarytmejä, joissa paasto- ja ruokintajaksojen pituudet olivat 1, 2 ja 3 viikkoa. Tässäkään kokeessa kirjolohien loppupainot eivät poikenneet merkitsevästi kontrolliryhmästä, joten lyhyillä paastojaksoilla ei aiemmin ole todettu olevan vaikutusta kirjolohien kasvuun.

Kasvukerroinprosentin (SGR) tiedetään pienenevän kalan kasvaessa (esim. Jobling 1994). Tämä voidaan selvästi havaita kaikilla käsittelyillä kokeen edetessä. Jos tarkastellaan kasvukerroinprosentteja koko kokeen ajalta, parhaan SGR:n saavutti käsittely 1. Kasvukerroinprosentit eivät kuitenkaan poikenneet toisistaan tilastollisesti merkitsevästi, mikä vahvistaa käsitystä pienempien kalojen suhteellisesti suuremmasta kasvusta. Kolmannen jakson jälkeen käsittelyn 3 SGR olikin selvästi muita suurempi ja poikkesi myös tilastollisesti merkitsevästi kontrollista sekä käsittelystä 1.

5.2. Rehunkulutus

Kirjolohien absoluuttinen rehun kulutus kokeen aikana riippui suoraan ruokintapäivien määrästä. Mitä enemmän ruokintapäiviä, sitä enemmän rehua kului. Koska ruokintarytmit olivat erilaisia eri käsittelyillä kokeen alusta asti harventuen jo kokeen ensimmäisen jakson aikana, erot absoluuttisessa rehunkulutuksessa näkyivät merkitsevinä jo ensimmäisen jakson jälkeen. Kirjolohet osoittivat lievää hyperfagiaa ja pystyivät kompensoimaan paastopäiviä syömällä ruokintapäivinä hieman enemmän kuin kontrollikalat kokeen ensimmäisen ja toisen jakson aikana (Kuvat 3 ja 4) rehunkulutuksen jäädessä kuitenkin selvästi kontrolliryhmää pienemmäksi niin absoluuttisesti kuin suhteellisestikin. Kokeen kolmannessa jaksossa, kun kaloja ruokittiin samalla rytmillä

neljä viikkoa, ei rehun kulutuksessa havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja ryhmien välillä. Toisaalta eri käsittelyryhmissä olleet kalat eivät kuitenkaan pystyneet syömään kontrolliryhmää enempää kompensaation jäädessä olemattomaksi.

Boujard ym. (2000) paastottivat kirjolohia ensin 1, 11 ja 21 päivää, jonka jälkeen kaloja ruokittiin 10 päivää. He totesivat paaston pituuden vaikuttavan myös ravinnonkäytön tehokkuuteen parantaen rehukerrointa. Jos tarkastellaan rehukertoimia kokeen eri jaksoissa, voidaan todeta, ettei ruokintarytmillä ollut vaikutusta ravinnonkäytön tehokkuuteen käsittelyillä 1 ja 2. Käsittelyllä kolme oli kokeen toisessa jaksossa selvästi heikompi rehukerroin. Jobling (1994) totesi rehukertoimen heikenevän kalojen ollessa aliravittuja mikä osaltaan kertoo käsittelyn 3 ruokintarytmin olleen liian harva etenkin toisen jakson aikana.

Nikki ym. (2004) päättelivät, että kirjolohi ei pysty syömään suuria määriä heti ensimmäisen paaston jälkeen. Ruuhonen ja Grove (1996) huomasivat omassa kokeessaan, että kirjolohen kyky hyperfagiaan lisääntyy vähitellen, kun ruokintatiheys harvenee. Kirjolohi tarvitsee siis todennäköisesti jonkin verran aikaa paastojaksoihin sopeutuakseen. Ruuhonen ja Grove (1996) totesivat kalan elimistön tarvitsevan fysiologisia muutoksia hyperfagian mahdollistamiseksi. Muutosten he totesivat koskevan ennen kaikkea ruoansulatuselimistöä. Kirjolohella näitä muutoksia alkaa tapahtumaan ensimmäisen neljän viikon aikana paastojakson tai paastojaksojen jatkuessa (Ruuhonen ja Grove 1996).

5.3. Mahat

Kalojen ruoansulatuselimistön on todettu kykenevän sopeutumaan ja muuntumaan erilaisiin ruokintarytmeihin ja näin mahdollistavan hyperfagian ja kompensaatiokasvun. Känkänen & Pirhonen (2009) ruokkivat siikoja eri rytmeillä (7, 5+2 ja 2+2) ja havaitsivat paastotettujen ryhmien mahojen painojen ja tilavuuksien olevan kontrolliryhmää suurempia. He huomasivat paastotettujen kalojen myös syövän mahansa huomattavasti täydemmiksi kuin kontrollikalat. Belanger ym. (2002) tekivät ruokintakokeita turskilla ja havaitsivat paastotettujen kalojen mahojen ja suolistojen painot kontrollikalajoja suuremmiksi, kun ne suhteutettiin ruumiin painoon. Mattila ym. (2009) totesivat kokeessaan kerran viikossa ruokittujen kuhien mahojen suhteellisen tilavuuden kasvaneen nelinkertaiseksi päivittäin ruokittuihin kontrollikaloihin verrattuna. Joka toinen päivä ruokittujen kuhien mahat eivät eronneet kooltaan kontrolliryhmästä, mutta ne pystyivät silti kompensoimaan paastopäivät täydellisesti.

Nyt kirjolohille tehdyssä kokeessa sen sijaan ei havaittu mahojen tilavuuksissa, painoissa tai sisällön määrässä tilastollisesti merkitseviä eroja eri ruokintarytmien välillä. Nikki ym. (2004) eivät myöskään havainneet eroja mahojen tilavuuksissa kirjolohilla tehdyssä kokeessa. Myös Nykänen (2006) tutki omassa Pro Gradu -tutkielmassaan kirjolohen kompensaatiokasvua eri lämpötiloissa käyttäen eri ruokintarytmejä, mutta tilastollisesti merkitseviä eroja mahojen tilavuuksissa tai painoissa ei havaittu. Ilmeisesti kirjolohella ei ilmene yhtä voimakasta kykyä sopeuttaa ruoansulatuselimistöään ruokintarytmin muutoksiin.

Jonkinlaisia muutoksia kuitenkin tapahtuu, sillä mahojen tilavuuksissa tai painoissa ei havaittu merkitseviä eroja kokeen eri jaksoissa, vaikka kalojen massat ja pituudet poikkesivat merkitsevästi toisistaan eri käsittelyiden välillä. Kokeen ensimmäisen jakson jälkeen kalan koon ja mahan tilavuuden välinen yhteys on merkitsevä ainoastaan kontrolliryhmällä. Tosin joukossa ollut poikkeava yksilö saattaa aiheuttaa merkitsevän korrelaation. Toisen jakson jälkeen tilanne on kääntynyt päinvastaiseksi. Voidaan ajatella, että käsittelyillä 1, 2 ja 3 mahan tilavuus olisi yhdeksän viikon aikana kasvanut hieman

enemmän suhteessa kalan kokoon kontrollikäsitteilyyn verrattuna. Kokeen lopussa ainoastaan käsittelyllä 3 kalan koon ja mahan tilavuuden välillä ei havaita merkitsevää yhteyttä.

Mahan tilavuuden ja painon välinen suhde poikkesi käsittelyiden välillä ainoastaan toisen jakson jälkeen merkitsevästi käsittelyllä kaksi suhdeluvun ollessa korkein. Ensimmäisen jakson jälkeen ainoastaan käsittelyn kolme kaloilla mahan painon ja tilavuuden välinen yhteys oli merkitsevä. Tässäkin tosin muista poikkeava yksilö saattoi aiheuttaa merkitsevän korrelaation. Vaikuttaa siltä, että käsittelyllä kolme mahan kasvaessa sekä tilavuus, että massa kasvoivat mahan siis myös hieman venyessä ensimmäisen vaiheen aikana muiden ryhmien kasvattaessa lähinnä mahojensa massoja. Toisen jakson jälkeen kaikilla ryhmillä kontrollia lukuun ottamatta oli mahan painon ja tilavuuden välillä merkitsevä yhteys. Kontrolliryhmän kaloilla ei ilmeisesti ollut tarvetta mahan tilavuuden kasvattamiseen (venyttämiseen) ravintoa ollessa tarjolla säännöllisesti. Sama trendi jatkui kokeen loppuun saakka.

Mahojen sisällön määrä oli sitä suurempi, mitä suurempi oli mahan tilavuus. Eli kalat vaikuttivat syövän sitä enemmän, mitä tilavampi oli niiden maha. Nyt käytettyä mahan tilavuuden mittaamenetelmää on käytetty jonkin verran myös aiemmin (esim. Nikki ym. 2004, Känkänen & Pirhonen 2009, Mattila ym. 2009). Tämänkaltainen mittaamenetelmä on työläs mutta luotettava. Koska nyt tehdyssä kokeessa mahan sisällön ja mahan tilavuuden välillä oli merkitsevä korrelaatio, voisi olla mahdollista estimoida mahan tilavuutta sisällön määrän perusteella. Kun kirjolohet vielä syötettiin kylläisiksi viikonloppupaaston jälkeen juuri ennen näytteenottoa, voidaan ravinnonoton olettaa olevan lähellä maksimia. Pirhonen & Koskela (2005) arvioivat omassa kokeessaan kirjolohen mahan tilavuutta läpivalaisulla. He syöttivät paastotetuille kirjolohille rehua, johon oli sekoitettu hyvin läpivalaisussa näkyviä partikkeleita. Läpivalaisussa näkyvien partikkeleiden avulla voitiin arvioida mahan tilavuutta. Myös he havaitsivat mahan sisällön määrän korreloivan mahan tilavuuden kanssa. Mahan tilavuuden arviointi, joka perustuu mahan täyteisyyteen voi olla helpompi ja aikaa säästävämpi tapa määrittää mahan tilavuus, mutta luotettavuudessa veden avulla tapahtuva mittaaminen on parempi, sillä se ei perustu arviointiin. Lisäksi kalan ruokintahistoria saattaa vaikuttaa arvioinnin luotettavuuteen.

5.4. Maksa ja suolistorasva

Kalat varastoivat rasvoja sisäelimiin (suolistorasva), maksaan ja lihakseen. Rasvan varastointitapa vaihtelee jonkin verran lajeittain (Jobling 1994). Wedemeyer (1996) toteaa maksan vesipitoisuuden olevan hyvä mittari kalan terveyttä tutkittaessa. Erot maksan vesipitoisuuksissa voivat ilmentää ongelmia kalan ravitsemuksessa. Mitä korkeampi maksan vesipitoisuus, sitä vähemmän glykogeneenia maksaan on varastoitunut. Tässä kokeessa ei havaittu merkitseviä eroja maksan vesipitoisuuksissa eri ryhmien välillä, mikä edelleen vahvistaa ajatusta siitä, että kirjolohi käyttää energiavarastoja ensisijaisesti muualta.

Maksojen painoissa havaittiin tilastollisesti merkitseviä eroja ainoastaan toisen jakson jälkeen 29.5., jolloin eri ryhmät olivat olleet erilaisilla ruokintarytmeillä yhdeksän viikkoa. Kuitenkaan hepatosomaattiset indeksit (% kalan painosta) eivät poikenneet toisistaan käsittelyiden välillä. Tästä voidaan päätellä, että maksan koko riippui enemmänkin kalan koosta kuin varsinaisesti ruokintarytmistä. Muutokset indeksissä kokeen edetessä olivat kuitenkin varsin pieniä.

Nikki ym. (2004) eivät huomanneet eroja maksojen koossa paastotettujen ja jatkuvasti ruokittujen kirjolohien välillä. Simpkins ym. (2003) totesivat kirjolohien

hepatosomaattisen indeksin pysyvän suhteellisen muuttumattomana kaloja paastotettaessa. He päättelivät tämän johtuvan siitä, että kirjolohi pyrkii käyttämään ensisijaisesti ruumiin muita energiavarastoja kuten suolistorasvaa.

Suolistorasvan osalta kontrolliryhmällä absoluuttinen suolistorasvan määrä oli suurin toisen jakson jälkeen sekä kokeen päätyttyä. Kun tarkasteltiin suolistorasvan massaa prosentteina kalan massasta, kontrolliryhmällä oli edelleen eniten suolistorasvaa, mutta erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä, vaikkakin erittäin lähellä 0,05 merkitsevyysrajaa. Nikki ym. 2004 eivät myöskään havainneet eroja kirjolohien suolistorasvan prosentiosuoksissa kalojen painosta paastotettujen ja jatkuvalla ruokinnalla olleiden kalojen välillä. Kuitenkin joissakin aiemmissä tutkimuksissa on havaittu kirjolohilla suolistorasvan vähenevän tai kokonaan häviävän paastojaksojen aikana (Weatherley & Gill 1981; Quinton & Blake 1990). Mattila ym. (2009) kokeessa jatkuvasti ruokituilla kuhilla oli huomattavasti enemmän suolistorasvaa paastotettuihin kuhiin verrattuna. Johansen ym. (2001) huomasivat myös lohien panostavan enemmän kasvuun kuin energiavarastojen keräämiseen kompensatiiovaiheen aikana. Jobling (1994) totesi turskien panostavan ensin lihaksien kasvuun ennen kuin ne alkavat varastoimaan energiaa muualle.

Nyt tehdyssä kokeessa suolistorasvan määrät suhteessa kalan painoon eivät poikenneet ryhmien välillä ja kompensatiokasvu jäi vaisuksi. Näillä seikoilla voi olla yhteys aikaisempien tutkimusten valossa. Tässä tutkielmassa ei tarkasteltu lihaksen koostumusta tai sen rasvapitoisuutta, vaan ainoastaan suolistorasvan määrää. Tiedetyn perusteella voisi olettaa, että lihasten koostumuksessa ei välttämättä olisi ollut kovin suuria eroja, sillä kirjolohi oletetusti käyttää energiavaroja ensin muualta kuten sisäelinten ympärillä olevaa helposti elimistön käyttöenergiaksi muunnettavaa rasvaa.

5.5. Verinäytteet

Verinäytteiden otto ja analysointi on havaittu hyväksi keinoksi tarkkailla viljelyolosuhteissa kasvavien kalojen terveyttä. Muutokset veriarvoissa voivat johtua ongelmista kalojen terveydessä tai toisaalta viljelyolosuhteissa (Wedemeyer 1996). Hematokriitin kohonnut ja plasman kloridipitoisuuden heikentyneet arvot voivat ilmentää esimerkiksi altistumista taudinaiheuttajille. Nyt tehdyssä kokeessa kirjolohien hematokriitti sekä plasman kloridipitoisuus eivät poikenneet tilastollisesti merkitsevästi eri käsittelyiden välillä. Hematokriitti vaihteli välillä 40,6-50,5 %. Wedemeyer (1996) esittää normaalien hematokriittiarvojen vaihtelevan välillä 24-43 %, mikä tarkoittaa kokeessa mitattujen arvojen olevan hieman koholla kaikilla ryhmillä. Plasman kloridipitoisuus sen sijaan oli normaalin rajoissa sen vaihdellessa välillä 121,3-128,6 mmol/l normaalin ollessa 84 – 132 mmol/l (Wedemeyer 1996). Myöskään plasman kloridipitoisuudet eivät poikenneet merkitsevästi käsittelyiden välillä.

6. JOHTOPÄÄTÖKSET

Monissa kompensatiokasvua koskevissa kasvatuskokeissa paastotetut kalat ovat kyenneet kompensoimaan paastopäiviä ja kasvamaan yhtä hyvin kuin jatkuvalla ruokinnalla olleet verrokkikalat. Joissakin tapauksissa myös ylikompensatiota on havaittu. Tässä kokeessa kompensatiokasvu jäi kuitenkin vähäiseksi. Ravinnonkäytön tehokkuudessa ei havaittu eroja eri käsittelyiden välillä ja esiintynyt hyperfagiakin jäi pieneksi. Kuten todettua, kompensatiokasvun mahdollistavien fysiologisten muutosten kehittyminen vie jonkin verran aikaa, mutta aiempien kokeiden valossa aikaa oli riittävästi.

Kirjolohta on viljelty Suomessa ja maailmalla jo kauan ja sitä on vuosien aikana jalostettu kasvamaan mahdollisimman nopeasti ja tehokkaasti. Tämä voi osaltaan vaikuttaa kalan kykyyn kompensoida kasvuaan paastojaksojen jälkeen, sillä luonnossa hyödyllinen ominaisuus on saattanut käydä vähemmän tarpeelliseksi pitkään viljelyssä olleelle lajille. Siika ja kuha ovat olleet ruokakalatuotannossa huomattavasti vähemmän aikaa ja niiden kyky kompensatiokasvuun vaikuttaisi tehtyjen kokeiden perusteella paremmalta.

Ruokinnan optimointiin kannattaa kuitenkin panostaa jo pelkästään taloudellisista syistä. Rehu on suuri kuluerä ja toisaalta esim. huonosti hyödynnettävää suolistorasvaa on turhaa kasvattaa. Ruoaksi kasvatettu kala myydään kuitenkin perattuna. Toinen syy on luonnollisesti ympäristön kuormitus. Varsinkin Suomessa järvet ja Itämeri ovat matalia ja kalan kasvatuksesta syntyvät ravinnepäästöt voivat vaikuttaa vesistöjen tilaan etenkin paikallisesti. Tästä syystä uusia lupia kassikasvatukseen ei Suomessa juurikaan myönnetä. Kuivalle maalle sijoitettavat kiertovesilaitokset ovatkin yleistymässä ja kiertovesitekniikkaa kehitetään kaiken aikaa. Kiertovesilaitoksissa on ruokinnan lisäksi mahdollista optimoida myös esimerkiksi veden lämpötilaa tai valaistusta. Myös veden muihin laatuominaisuuksiin pystytään vaikuttamaan.

Kaupallisessa ruokakalan kasvatuksessa paastojaksojen toteuttaminen voi olla haastavaa. Kalanviljelysektorin ja tutkijoiden yhteistyöhön kannattaisi kuitenkin panostaa ja olemassa olevaa tutkimustietoa voisi olla mahdollista hyödyntää entistä enemmän.

Kiitokset

Kiitän Juhani Pirhosta ohjauksesta, vinkeistä ja ylipäättään koko Graduprojektista. Kiitokset myös Andrés Salgadolle yhteistyöstä ja avusta.

Kirjallisuus

- Ali, M., Nicieza, A. & Wootton, R.J. 2003. Compensatory growth in fishes: a response to growthdepression. *Fish and Fisheries* 4: 147-190.
- Anonyymi 2016. Vesiviljely 2016. Luonnonvarakeskus. <http://stat.luke.fi/vesiviljely>. Hakupäivä 15.1.2018.
- Barreto, R.E., Moreira, P.S.A. & Carvalho, R.F. 2003. Sex-specific compensatory growth in fooddeprived Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 36: 477-483.
- Bélanger, F., Blier, P.U. & Dutil, J-D. 2002. Digestive capacity and compensatory growth in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish Physiology and Biochemistry* 26: 121-128.
- Bjornevik, M., Hansen, H., Roth, B., Foss, A., Vikingstad, E., Solberg, C. & Imsland, A.K, 2017. Effects of starvation, subsequent feeding and photoperiod on flesh quality in farmed cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture Nutrition* 23: 285-292.
- Boujard, T, Burel, C., Médale, F., Haylor, G. & Moisan, A. 2000. Effect of past nutritional history and fasting on feed intake and growth in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Living Resources* 13: 129-137.
- Bull, C.D. & Metcalfe, N.B. 1997. Regulation of hyperphagia in response to varying energy deficits in overwintering juvenile Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* 50: 498-510.
- Foss, A. & Imsland, A.K. 2002. Compensatory growth in the spotted wolffish *Anarhichas minor* (Olafsen) after a period of limited oxygen supply. *Aquaculture. Research* 33: 1097-1101.
- Houlihan D., Boujard T. & Jobling M. (2001). *Feed Intake in Fish*, Blackwell Scientific, Oxford

- Jobling, M. 1994. *Fish Bioenergetics*. Chapman & Hall, London.
- Johansen, S. J. S., Ekli, M., Stagnes, B. & Jobling, M. 2001. Weight gain and lipid deposition in Atlantic salmon, *Salmo salar*, during compensatory growth: evidence for lipostatic regulation? *Aquaculture Research* 32: 963-974.
- Johnsson, J.I. & Bohlin, T. 2006. The cost of catching up: increased winter mortality following structural growth compensation in the wild. *Proceedings of the Royal Society B* 273: 1281-1286.
- Känkänen, M. & Pirhonen, J. 2009. The effect of intermittent feeding on feed intake and compensatory growth of whitefish *Coregonus lavaretus* L. *Aquaculture* 288: 92-97
- Maclean, A. & Metcalfe, N.B. 2001. Social status, access to food, and compensatory growth in juvenile Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* 58: 1331-1346.
- Mattila, J. & Koskela, J. 2013. Ruokintarytmin vaikutus kasvatetun kuhan tuotanto-ominaisuuksiin. *RKTL Tutkimuksia ja selvityksiä* 10/2013: 11.
- Mattila, J., Koskela, J. & Pirhonen, J. 2009. The effect of the length of repeated feed deprivation between single meals on compensatory growth of pikeperch *Sander lucioperca*. *Aquaculture* 296: 65-70
- Miglav, I. & Jobling, M. 1989a. Effects of feeding regime on food consumption, growth rates and tissue nucleic acids in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, with particular respect to compensatory growth. *Journal of Fish Biology* 34: 947-957.
- Mortensen, A. & Damsgård, B. 1993. Compensatory growth and weight segregation following light and temperature manipulation of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture* 114: 261-272.
- Nicieza, A.G. & Metcalfe, N.B. 1997. Growth compensation in juvenile Atlantic salmon: responses to depressed temperature and food availability. *Ecology* 78: 2385-2400.
- Nikki, J., Pirhonen, J., Jobling, M. & Karjalainen, J. 2004. Compensatory growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), held individually. *Aquaculture* 235: 285-296.
- Nykänen, M. 2006. Effects of temperature and feeding regime on compensatory growth of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Pro gradu -tutkielma. Jyväskylän yliopisto, Bio- ja ympäristötieteiden laitos.
- Pirhonen, J. & Forsman, L. 1998. Effect of prolonged feed restriction on size variation, feed consumption, body composition, growth and smolting of brown trout, *Salmo trutta*. *Aquaculture* 162: 203-217.
- Pirhonen, J. & Koskela, J. 2005. Indirect estimation of stomach volume of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 36: 851-856.
- Quinton, J.C. & Blake, R.W. 1990. The effect of feed cycling and ration level on the compensatory growth response in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Biology* 37: 33-41.
- Reimers, E., Kjørrefjord, A.G. & Stavøstrand, S.M. 1993. Compensatory growth and reduced maturation in second sea winter farmed Atlantic salmon following starvation in February and March. *Journal of Fish Biology* 43: 805-810.
- Ruohonen, K. & Grove, D.J. 1996. Gastrointestinal responses of rainbow trout to dry pellet and low-fat herring diets. *Journal of Fish Biology* 49: 501-513.
- Russell, N.R. & Wootton, R.J. 1992. Appetite and growth compensation in the European minnow, *Phoxinus phoxinus* (Cyprinidae) following short term of food restriction. *Environmental Biology of Fishes* 34: 277-285.

- Savoie, A., Le François, N.R., Lamarre, S.G., Dupuis, F. & Blier, P.U. 2017. Preliminary investigations of the physiological adjustments associated with compensatory growth in juvenile brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Journal of Applied Aquaculture*:
- Simpkins, D.G., Hubert, W.A., Del Rio, C.M. & Rule, D.C. 2003. Physiological responses of juvenile rainbow trout to fasting and swimming activity: effects on body composition and condition indices. *Transactions of the American Fisheries Society* 132: 576-589.
- Tian, X. & Qin, J.G. 2004. Effects of previous ration restriction on compensatory growth in barramundi *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 235: 273-283.
- Weatherley, A.H. & Gill, H.S. 1981. Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Journal of Fish Biology* 18: 195-208.
- Wedemeyer G.A., 1996. *Physiology of Fish in Intensive Culture Systems*. Chapman & Hall, New York.