

Pro gradu -tutkielma

**Kirjolohen, *Oncorhynchus mykiss*, siirto eri  
kiertovesiympäristöistä makean ja suolaisen veden  
olosuhteisiin**

**Jonna Hänninen**



**Jyväskylän yliopisto**

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

15.05.2023

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Akvaattisten tieteiden maisteriohjelma

Hänninen, Jonna P.: Kirjolohen, *Oncorhynchus mykiss*, siirto eri kiertovesi-ympäristöistä makean ja suolaisen veden olosuhteisiin

Pro gradu tutkielma: 29 s.

Työn ohjaajat: FT Juhani Pirhonen ja FT Jani Pulkkinen (Luke)

Tarkastajat: Juha Karjalainen ja Juhani Pirhonen

Toukokuu 2023

---

Hakusanat: ionisäätely, kalankasvatus, kasvunopeus, kiertovesilaitos, osittaiskiertovesilaitos, osmoottinen säätely, stressi

Kotimaan kalankasvatuksella ei pystytä tyydyttämään jatkuvasti kasvavaa kalan kysyntää. Tuotannon lisääminen perinteisin läpivirtausmenetelmin on kuitenkin ongelmallista mm. ympäristövaikutusten vuoksi. Potentiaalinen vaihtoehto lisätä tuotantoa olisi kiertovesikasvatus, jossa käytettävää vettä kierrätetään kasvualtaiden ja puhdistuslaitteiston välillä. Kasvatukseen käytettävän veden määrä on näin pienempi ja ravinteiden poisto helpompaa kuin läpivirtauskasvatuksessa. Yhdistetyssä kiertovesi- ja merikasvatuksessa kalat kasvatetaan ensin kiertovedessä, minkä jälkeen ne siirretään mereen jatkokasvatukseen. Menetelmän avulla on mm. mahdollista nopeuttaa tuotantokiertoa. Sen soveltuvuutta Suomen olosuhteisiin ei juurikaan ole tutkittu. Lisäksi kiertovesikasvatetun kalan kasvusta merellä on toistaiseksi vain vähän tietoa ja kokemuksia, minkä vuoksi aihe vaatii vielä lisätutkimuksia. Tämän tutkielman tavoitteena oli selvittää, eroaako kierto- ja osittaiskiertovedessä kasvatettujen kirjolohien (*Oncorhynchus mykiss*) kasvuun lähtö makean ja suolaisen veden olosuhteisiin siirtämisen jälkeen. Tavoitteena oli myös selvittää kirjolohen koon vaikutusta kasvuun lähtöön siirtämisen jälkeen. Kirjolohenpoikasia kasvatettiin kierto- ja osittaiskiertovedessä, joista poikasia siirrettiin makeaan ja suolaiseen veteen. Siirroista ensimmäinen toteutettiin kesäkuussa ja toinen syyskuussa. Alkunäytteenotto suoritettiin ennen siirtoja ja loppunäytteenotto viiden viikon kuluttua siirrosta. Poikasten kasvua seurattiin mittaamalla ja punnitsemalla poikasia ja lisäksi niiden fysiologisia vasteita siirtoihin selvitettiin verinäytteistä otettujen mittausten (hematokriitti, osmolaliteetti, kloridi- ja kortisolipitoisuus) perusteella. Kesäkuussa suoritetussa siirrosta osittaiskiertovedessä kasvatetut kirjolohet kasvoivat makeassa vedessä merkitsevästi paremmin kuin suolaisessa vedessä, mutta kiertovedessä kasvatetuilla kirjolohilla eroa kasvussa ei havaittu. Syyskuussa suoritetussa siirrosta sekä kierto- että osittaiskiertovedessä kasvatetut kirjolohet kasvoivat makeassa vedessä merkitsevästi paremmin kuin suolaisessa vedessä. Kirjolohien fysiologisissa vasteissa siirtoon ei juurikaan havaittu merkitseviä eroja. Näin ollen stressi ei näyttäisi selittävän eroja kirjolohen kasvuun lähdössä. Tämän tutkielman perusteella eri kiertovesiolosuhteissa kasvatettu kirjolohi kasvaa suolaisessa vedessä heikommin kuin makeassa vedessä. Syyt tähän täytyisi selvittää, jotta yhdistettyä kiertovesi- ja merikasvatusta voitaisiin tulevaisuudessa hyödyntää.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Mathematics and Science  
Department of Biological and Environmental Science  
Master's Degree Programme in Aquatic Sciences

Hänninen, Jonna P.: Transfer of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, from different recirculating aquaculture systems to fresh and salt water

MSci thesis: 29 p.

Supervisors: PhD Juhani Pirhonen and PhD Jani Pulkkinen

Inspectors: Juha Karjalainen and Juhani Pirhonen

May 2023

---

Keywords: fish farming, growth rate, ion regulation, osmotic regulation, partial recirculating aquaculture system, recirculating aquaculture system, stress

Finnish fish farming cannot satisfy the increasing demand for fish. However, increasing production is problematic because of environmental effects of fish farming. Potential alternative to increase production would be recirculating aquaculture system (RAS). It is a fish farming method in which water is recycled between fish tanks and water treatment system. The amount of water used for farming is thus smaller and the removal of nutrients is easier than in flow-through system. In combined land and sea cages farming, fish are first farmed in RAS and then transferred to sea cages for further farming. The method makes it possible to speed up the production cycle. However, suitability of the method to Finnish conditions has not been studied. So far, there is little information and experience about the growth of RAS-farmed fish in the sea, which is why the topic still requires further research. The aim of the thesis was to find out whether the growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farmed in RAS and PRAS (partial RAS) differs after transfer to fresh and salt water. The aim was also to study the effect of rainbow trout size on growth after transfers. In this study, juvenile rainbow trout were farmed in RAS and PRAS. The first transfer in which the juveniles were transferred to fresh and salt water happened in June. Another similar transfer happened in September. Samples were taken before transfer and five weeks after transfer. Growth of juvenile rainbow trout was followed by measuring and weighing the juveniles. Their physiological responses to transfer were examined using blood samples (hematocrit, osmolality, chloride, and cortisol). In the first transfer, PRAS-farmed rainbow trout juveniles grew significantly better in fresh water than in salt water. There was no significant difference in RAS-farmed juveniles. In the second transfer, RAS- and PRAS-farmed juveniles grew significantly better in fresh water than in salt water. No significant differences were observed in the physiological responses of juveniles to the transfers. Thus, stress does not seem to explain the differences in the growth of juvenile rainbow trout. Based on this thesis, RAS- and PRAS-farmed rainbow trout grow worse in salt water than in fresh water. The reasons for this should be found out, so that combined land and sea cages farming could be utilized in the future.

# SISÄLLYSLUETTELO

<b>1 JOHDANTO .....</b>	<b>1</b>
1.1 Kalankasvatus Suomessa .....	1
1.2 Kiertovesikasvatus .....	2
1.2.1 Kiertovesilaitoksen toimintaperiaate.....	2
1.2.2 Kiertovesikasvatuksen hyödyt ja haasteet.....	5
1.3 Kasvatusmenetelmistä.....	7
1.3.1 Kirjoloheen nykyinen tuotantokierto .....	7
1.3.2 Yhdistetty kiertovesi- ja merikasvatus .....	7
1.4 Tutkimuskysymykset ja -hypoteesit.....	8
<b>2 AINEISTO JA MENETELMÄT .....</b>	<b>9</b>
2.1 Tutkimuslaji.....	9
2.2 Kokeen toteuttaminen.....	10
2.2.1 Altaat ja kasvatusolosuhteet .....	10
2.2.2 Koeasetelma .....	11
2.2.3 Siirtojen toteuttaminen .....	12
2.2.4 Ruokinta.....	13
2.3 Näytteenotto.....	13
2.3.1 Mittaukset.....	14
2.3.2 Verinäytteet .....	14
2.3.3 Kehonkoostumusmittaukset.....	15
2.4 Suola-altistustesti.....	15
2.5 Aineiston käsittely ja tilastolliset menetelmät.....	16
<b>3 TULOKSET .....</b>	<b>16</b>
3.1 Ensimmäinen koejakso .....	16
3.2 Toinen koejakso .....	20
3.3 Suola-altistustesti.....	23
<b>4 TULOSTEN TARKASTELU JA JOHTOPÄÄTÖKSET .....</b>	<b>25</b>
<b>KIITOKSET .....</b>	<b>27</b>
<b>KIRJALLISUUS .....</b>	<b>27</b>

# 1 JOHDANTO

Vesiviljely on maailman nopeimmin kasvava ruuantuotantoala (FAO 2020). Sen osuus maailman kalatuotannosta vuonna 2000 oli 25,7 %, kun vuosina 2016–2018 se oli jo 46,0 % (FAO 2020). Sitä voidaankin pitää yhtenä potentiaalisimmista ja kestävimmistä tavoista tuottaa ruokaa jatkuvasti kasvavalle väestölle (Ympäristöministeriö 2020).

## 1.1 Kalankasvatus Suomessa

Suomessa toimi vuonna 2021 yhteensä 237 kalankasvatusyritystä (Suomen virallinen tilasto 2022). Sisämaassa toimi 49 ruokakalalaitosta ja 75 poikaslaitosta (Suomen virallinen tilasto 2022). Näistä laitoksista suurin osa on niin sanotusti perinteisiä läpivirtauslaitoksia, joissa ruokakalaa kasvatetaan maapohjaisissa altaissa ja poikasia enimmäkseen keinoaltaissa (Ympäristöministeriö 2020). Merialueella toimi 98 ruokakalalaitosta ja 29 poikaslaitosta (Suomen virallinen tilasto 2022). Siellä kalankasvatus puolestaan tapahtuu verkkokassialtaissa (Ympäristöministeriö 2020).

Vesiviljelyn kasvatusmäärä on Suomessa pysynyt viime vuosina kohtalaisen vakaana (Ympäristöministeriö 2020). Ruokakalaa kasvatettiin vuonna 2021 yhteensä 14,4 miljoonaa kg, josta 13,5 miljoonaa kg oli kirjolohta (*Oncorhynchus mykiss*) (Suomen virallinen tilasto 2022). Tämän lisäksi vuonna 2021 tuotettiin noin 50 miljoonaa kalanpoikasta istutuksiin ja jatkokasvatukseen (Suomen virallinen tilasto 2022). Tästä poikastuotannosta noin 40 % oli jatkokasvatukseen päätyvää kirjolohta (Suomen virallinen tilasto 2022).

Kotimaan tuotannolla ei pystytä tyydyttämään jatkuvasti kasvavaa kalan kysyntää, minkä vuoksi kalaa täytyy tuoda yhä enemmän ulkomailta (Ympäristöministeriö 2020). Suomalaisten syömästä kalasta lähes 70 % onkin ulkomailta tuotua (Ympäristöministeriö 2020). Tuonnin luoma kilpailupaine puolestaan vaikuttaa kotimaisen tuotannon arvoon (Ympäristöministeriö 2020). Tuotannon lisääminen perinteisin läpivirtausmenetelmin on kuitenkin ongelmallista muun muassa kalankasvatuksen ympäristövaikutuksien vuoksi (Ympäristöministeriö 2020).

Kalankasvatuksen merkittävin ympäristövaikutus liittyy vesistöjä kuormittaviin typpi- ja fosforipäästöihin (Ympäristöministeriö 2020). Nämä ravinnepäästöt ovat enimmäkseen peräisin kalanrehusta, minkä vuoksi kuormitus keskittyy kalojen kasvukauteen, jolloin ruokinta on suurinta (Ympäristöministeriö 2020). Suomen Itämeren kokonaiskuormituksesta kalankasvatuksen typpi- ja fosforikuormituksen osuus on vain vähäinen, 1 % ja 2 %, mutta paikallisesti kalankasvatuksen kuormituksella voi olla suuri merkitys (Ympäristöministeriö 2020). Muita kalankasvatuksen ympäristövaikutuksia aiheutuu muun muassa

kylvetyskemikaaleista ja antibiooteista sekä kalankasvatustiluksilta karkaavista yksilöistä (Ympäristöministeriö 2020).

Kalankasvatus on luvanvaraista toimintaa muun muassa ympäristövaikutusten vuoksi (Ympäristöministeriö 2020). Lupia myönnetään kuitenkin niukasti, sillä viime vuosina vain muutama kalankasvatustila on saanut ympäristöluvan (Ympäristöministeriö 2020). Ympäristövaikutusten näkökulmasta kiertovesikasvatus olisikin potentiaalinen vaihtoehto lisätä kotimaan tuotantoa (Ympäristöministeriö 2020).

## 1.2 Kiertovesikasvatus

Kiertovesikasvatus eli RAS (*Recirculating Aquaculture System*) -kasvatus on kasvatusmuoto, jossa kasvatuksessa käytettävä vesi kierrätetään kasvatusaltaista puhdistuslaitteiston kautta takaisin altaisiin (Timmons ym. 2018). Sillä pyritään kustannustehokkaaseen ja taloudellisesti kannattavaan tuotantoon samalla minimoiden tuotannon negatiiviset ympäristövaikutukset (Dalsgaard ym. 2013). Pohjoismaissa on kaupallisesti kiertovesikasvatettu muun muassa lohta (*Salmo salar*), kirjolohta, ankeriasta (*Anguilla anguilla*), kuhaa (*Sander lucioperca*) ja eri sampilajeja (*Acipenseriformes*) (Dalsgaard ym. 2013). Näistä lajeista lohien ja kirjolohien kaupallinen tuotanto on ollut tähän asti menestyksekkäintä (Dalsgaard ym. 2013).

Pohjoismaissa on viimeisten 20–30 vuoden aikana kertynyt runsaasti käytännön kokemusta kiertovesilaitosten suunnittelusta, rakentamisesta ja käytöstä (Dalsgaard ym. 2013). Suomessa oli vuonna 2018 kahdeksan toiminnassa olevaa kiertovesilaitosta (Ympäristöministeriö 2020). Kiertovesilaitoksia voidaan luokitella sen mukaan, kuinka paljon niiden täytyy ottaa uutta vettä järjestelmäänsä syötettyä rehukiloa kohti (Sinisalo ym. 2020). Kiertovesilaitostyyppinä ovat muun muassa osittaiskiertovesilaitos eli PRAS (korvausvettä 10000–25000 l/kg rehua, kiertoaste 60 %), ”Danish model farm” -laitos (korvausvettä 5000–10000 l/kg rehua, kiertoaste 90 %), tyypillinen kiertovesilaitos (korvausvettä 400–1000 l/kg rehua, kiertoaste 99 %) ja intensiivinen kiertovesilaitos (korvausvettä 50–400 l/kg rehua, kiertoaste 99,9 %). Mitä vähemmän järjestelmään otetaan uutta vettä, sitä enemmän vettä pitää käsitellä (Sinisalo ym. 2020). Kun veden kierrätysaste kasvaa, tarvitaan useita vedenkäsittelytekniikoita, jotta vedenlaatu pysyisi edelleen korkeana (Sinisalo ym. 2020). Vettä puhdistetaan sekä mekaanisesti että biologisesti, mutta myös kemiallinen vedenpuhdistus voi toisinaan olla tarpeen (Lekang 2020).

### 1.2.1 Kiertovesilaitoksen toimintaperiaate

Kiertovesikasvatuksessa kasvatusympäristö ja tärkeät vedenlaatuparametrit voidaan pitää kalojen terveyden ja kasvunopeuden kannalta optimaalisina (Timmons ym. 2018). Näitä tärkeitä vedenlaatuparametreja ovat muun muassa lämpötila, pH, happi-, hiilidioksidi-, ammonium-, nitriitti- ja nitraattipitoisuus sekä kiintoaineen määrä (Timmons ym. 2018). Jokainen vedenlaatu parametri vaikuttaa

muihin vedenlaatuparametreihin ja minkä tahansa parametrin pitoisuus voi toisinaan olla täysin harmiton ja toisinaan taas tappava (Timmons ym. 2018).

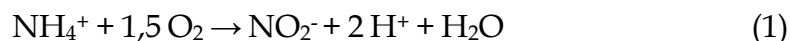
Kalat ovat vaihtolämpöisiä eläimiä, jolloin niiden ruumiinlämpö vastaa suunnilleen ympäristön lämpötilaa (Timmons ym. 2018). Niillä ei siis ole keinoja hallita ruumiinlämpöään tai ylläpitää sitä (Timmons ym. 2018). Veden lämpötila vaikuttaa muun muassa kalojen käyttäytymiseen, ruokailuun, fysiologisiin prosesseihin, lisääntymiseen ja immuunijärjestelmän toimintaan (Timmons ym. 2018, Sinisalo ym. 2020). Veden lämpötilan noustessa kalat esimerkiksi muuttuvat aktiivisemmiksi ja kuluttavat enemmän happea sekä tuottavat enemmän hiilidioksidiä ja muita erityistuotteita, kuten ammoniumia (Timmons ym. 2018). Veden lämpötila vaikuttaa myös hapen veteen liukenemiseen (Timmons ym. 2018). Mitä korkeampi lämpötila, sitä huonommin happea liukenee veteen (Timmons ym. 2018). Näiden seikkojen vuoksi optimaalisen lämpötilan ylläpitäminen onkin tärkeää. Suositeltava lämpötila lohille ja taimenille on 10–18 °C (Timmons ym. 2018).

Kiertovesikasvatuksessa kalojen kasvua alkaa ensimmäisenä rajoittaa veteen liuenneen hapen määrä (Lekang 2020). Järjestelmään otettavan uuden veden happipitoisuus ei riitä kattamaan kalojen ja biologisen suodattimen bakteeriston hapenkulutusta, jolloin veteen täytyy liuottaa ylimääräistä happea (Ympäristöministeriö 2020). Mikäli veteen ei liuoteta ylimääräistä happea, kalat alkavat kuolla (Lekang 2020). Letaali happipitoisuus vaihtelee eri kalalajien välillä (Lekang 2020). Lohille ja taimenille suositeltava happipitoisuus on 6–8 mg/l (Timmons ym. 2018). Ylimääräistä happea voidaan lisätä veteen joko ilmastamalla tai hapettamalla vettä (Lekang 2020).

Veden kierrätysasteen kasvaessa kalojen kasvua alkaa rajoittaa myös kalojen ja bakteeriston erittämä hiilidioksidi (Lekang 2020, Ympäristöministeriö 2020). Veteen liuenut hiilidioksidi on korkeina pitoisuuksina myrkyllistä kaloille (Ympäristöministeriö 2020). Se muun muassa vähentää hiilidioksidin erittymistä kalojen kiduksista, minkä vuoksi veren hiilidioksidipitoisuus nousee ja veriplasman pH laskee (Timmons ym. 2018). Kyseistä tilaa kutsutaan respiratoriseksi asidoosiksi (Timmons ym. 2018). Suositeltava veden hiilidioksidipitoisuus lohille ja taimenille on enintään 15–20 mg/l (Timmons ym. 2018). Veden hiilidioksidipitoisuutta voidaan laskea ilmastamalla vettä (Lekang 2020).

Seuraavaksi kalojen kasvua alkaa rajoittaa kiintoaineen määrä (Lekang 2020). Kiintoaine koostuu kalojen ulosteista, kuolleista ja elävistä bakteereista sekä syömättömästä rehusta (Timmons ym. 2018). Lohille ja taimenille suositeltava veden kiintoainepitoisuus on enintään 10–15 mg/l (Timmons ym. 2018). Kiintoaineen poistoa on mahdollista tehostaa valitsemalla pyöreitä altaita, jotka toimivat pyörreselkeyttimen tavoin keräten kiintoaineen altaan keskelle (Ympäristöministeriö 2020). Lisäksi järjestelmään voidaan liittää esimerkiksi rumpu-, kiekko- tai nauhasuodattimia, jotka poistavat vedestä melko pienenkin kiintoaineen (Timmons ym. 2018). Rumpusuodatin on näistä yleisimmin käytetty (Bregnballe 2015).

Kaikkea orgaanista ainetta, kuten typpeä, ei kuitenkaan saada poistettua mekaanisella suodatuksella (Bregnballe 2015). Seuraavaksi ongelmia alkaakin aiheuttaa kaloista veteen liuennut ammoniumtyppi (Lekang 2020, Ympäristöministeriö 2020). Kokonaisammoniumtyppi (TAN, *Total Ammonia Nitrogen*) koostuu ammoniakista (NH<sub>3</sub>) ja ammoniumioneista (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (Timmons ym. 2018). Ammoniakki on kaloille myrkyllistä, sillä se pystyy läpäisemään solukalvoja (Timmons ym. 2018). Kun kokonaisammoniumtyypen määrä vedessä kasvaa, myös myrkyllisen ammoniakkin määrä vedessä kasvaa veden pH:n ollessa yli 7 (Timmons ym. 2018). Ammoniakkia voidaan poistaa vedestä biologisen suodattimen avulla (Ympäristöministeriö 2020). Vettä johdetaan niin sanottuun kantoaineeseen, kuten muovikappaleisiin tai -kennostoihin, joiden pinnalle kehittyy bakteeristo (Ympäristöministeriö 2020). Ensin ammoniumia hapettavat bakteerit (AOB, *Ammonia-Oxidizing Bacteria*), kuten *Nitrosomonas*-bakteerit, hapettavat ammoniumin nitriitiksi (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) (1) (Timmons ym. 2018). Sitten nitriittiä hapettavat bakteerit (NOB, *Nitrite-Oxidizing Bacteria*), kuten *Nitrobacter*-bakteerit, hapettavat nitriitin edelleen nitraatiksi (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), joka on kaloille vähemmän haitallista (2) (Timmons ym. 2018). Tätä koko prosessia kutsutaan nitrifikaatioksi (Timmons ym. 2018). Lohille ja taimenille suositeltavat tyyppiyhdistepitoisuudet ovat: kokonaisammoniumtyppi alle 1 mg/l, nitriitti alle 0,1 mg/l ja nitraatti alle 75 mg/l (Timmons ym. 2018).

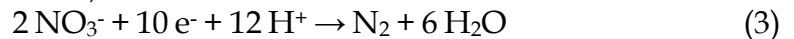


Mikäli nitrifikaatiossa on ongelmia, voi veden nitriittipitoisuus nousta (Timmons ym. 2018). Myös nitriitti on kaloille myrkyllistä (Timmons ym. 2018). Kun nitriittiä pääsee kalan verenkiertoon, se hapettaa hemoglobiinimolekyylin kahdenarvoisen rautaionin (Fe<sup>2+</sup>) kolmiarvoiseksi rautaioniksi (Fe<sup>3+</sup>) (Timmons ym. 2018). Tätä hemoglobiinin muotoa kutsutaan methemoglobiiniksi (Timmons ym. 2018). Methemoglobiini ei voi kuljettaa happea hemoglobiinin tavoin (Timmons ym. 2018). Lisäksi se värjää veren ruskeaksi, minkä vuoksi tilaa kutsutaan nimellä *brown blood disease* (Timmons ym. 2018). Nitriittimyrkytystä voidaan ehkäistä ja hoitaa veden kloridipitoisuutta säätelämällä, sillä verenkiertoon pääsevän nitriitin määrä riippuu kloridin ja nitriitin suhteesta (Timmons ym. 2018). Suositeltava kloridi-nitriittisuhde esimerkiksi kirjolohelle on 20:1 (Timmons ym. 2018). Veden kloridipitoisuutta voidaan nostaa lisäämällä veteen esimerkiksi natriumkloridia (NaCl) tai kalsiumkloridia (CaCl<sub>2</sub>) (Timmons ym. 2018).

Perinteisesti nitraattipitoisuudet eivät ole olleet suuri huolenaihe kiertovesikasvatuksessa (Timmons ym. 2018). Nitraattipitoisuudet voivat kuitenkin nousta vaarallisen korkealle tasolle sellaisissa kiertovesijärjestelmissä, joissa kiertoaste on yli 99 % ja kalatiheydet ovat korkeita (Lekang 2020). Kohonneet nitraattipitoisuudet voivat muun muassa heikentää kalojen immuunivastetta ja kasvua, aiheuttaa hematologisia ja biokemiallisia muutoksia sekä lisätä kuolleisuutta (Timmons ym. 2018). Nitraattia voidaan poistaa vedestä denitrifikaation avulla (Ympäristöministeriö 2020). Denitrifikaatiossa denitrifikaatiobakteerit pelkistävät nitraattia typpikaasuksi (N<sub>2</sub>), joka voidaan



poistaa vedestä ilmastuksen avulla (3) (Lekang 2020). Lopulta typpikaasu vapautuu ilmaan (Ympäristöministeriö 2020).



Nitrifikaatio ja veteen liuennut hiilidioksidi laskevat veden pH:ta (Lekang 2020). Veden pH vaikuttaa muun muassa nitrifikaatiotehokkuuteen ja ammoniakkin määrään vedessä (Bregnballe 2015). pH:n olisi oltava yli 7, jotta saavutetaan riittävän korkea nitrifikaatiotehokkuus (Bregnballe 2015). Toisaalta pH:n noustessa myös kaloille myrkyllisen ammoniakkin määrä vedessä kasvaa (Bregnballe 2015). Tasapainon löytyminen onkin erityisen tärkeää. pH:ta voidaan säädellä lisäämällä veteen kalkkiyhdisteitä (Ympäristöministeriö 2020). Suositeltava pH-taso on 7,0–7,5 (Bregnballe 2015).

Veden korkea kiertoaste nostaa bakteerien määrää järjestelmässä ja jotkin näistä bakteereista voivat aiheuttaa erilaisia kalatauteja (Lekang 2020). Koska bakteri- ja virustaudit ovat vakava uhka vesiviljelylle, kasvatuksessa käytettävää vettä voidaan desinfioida (Timmons ym. 20218). Desinfointiin voidaan käyttää esimerkiksi UV-säteilyä ja otsonointia, jolloin puhdistettuun veteen ei jää jämiä myrkyllisistä desinfiointikemikaaleista (Timmons ym. 2018).

### 1.2.2 Kiertovesikasvatuksen hyödyt ja haasteet

Kiertovesikasvatuksessa on paljon potentiaalia. Se on esimerkiksi ympäristön kannalta kestävä tapa kasvattaa kalaa (Timmons ym. 2018). Monilla alueilla vedestä on tullut rajallinen luonnonvara (Bregnballe 2015). Kiertovesikasvatuksessa kasvatukseen käytettävän veden määrä on pienempi kuin perinteisessä läpivirtauskasvatuksessa (Lekang 2020). Se siis antaa mahdollisuuden kasvattaa kalaa myös sellaisissa paikoissa, joissa läpivirtauskasvatus ei ole veden riittämättömyyden vuoksi mahdollista (Ympäristöministeriö 2020). Lisäksi veden vähäinen käyttö tekee ravinteiden poistamisen vedestä sekä helpommaksi että halvemmaksi, koska järjestelmästä poistuvan veden määrä on huomattavasti pienempi kuin läpivirtauslaitoksilla (Bregnballe 2015). Kiertovesikasvatuksesta saatavia ravinteita voidaan käyttää esimerkiksi mikrolevä- (Stevčić ym. 2019) ja *aquaponics*-kasvatukseen (Goddek ym. 2019) sekä viljelysmaiden lannoittamiseen ja biokaasun tuotantoon (Bregnballe 2015).

Kuten aiemmin kävi jo ilmi, kierto-vesikasvatus mahdollistaa kasvatusolosuhteiden vakioimisen kalojen terveyden ja kasvunopeuden kannalta optimaaliselle tasolle (Timmons ym. 2018, Ympäristöministeriö 2020). Se tarjoaa suojaa esimerkiksi sairauksia, saasteita ja luonnonkatastrofeja vastaan (Timmons ym. 2018). Kasvatuksessa käytettävän tekniikan avulla myös kalojen kasvukausi saadaan pidennettyä koko vuoden mittaiseksi (Ympäristöministeriö 2020). Myös veden viilentämistä tai lämmittämistä vaativien lajien kasvattaminen on mahdollista kierto-vesilaitoksissa (Lekang 2020, Ympäristöministeriö 2020). Se esimerkiksi mahdollistaa lämpimän veden lajien kasvattamisen korkeilla leveysasteilla (Lekang 2020).

Kuluttajat ovat enenevässä määrin huolissaan ruuan turvallisuudesta (Timmons ym. 2018). Kiertovesikasvatus on luultavasti ainoa menetelmä, jolla

voidaan varmistaa esimerkiksi kemikaalien ja raskasmetallien kannalta täysin turvallinen merenelävien kasvattaminen (Timmons ym. 2018). Parhaimmillaan kiertovesikasvatus voikin tarjota ympäristöystävällistä, tuoretta, turvallista ja paikallista ravintoa kuluttajille (Timmons ym. 2018).

Kiertovesikasvatuksen kanssa on kuitenkin vielä paljon haasteita. Haasteet liittyvät talouteen, tekniikkaan, tuotantoon ja tietoon (Sinisalo ym. 2020). Talouteen liittyviä haasteita ovat muun muassa korkeat investointi- ja käyttökustannukset (Lekang 2020). Investointikustannukset sisältävät muun muassa lupamaksut, ympäristövaikutusten arvioinnin, laitossuunnittelun, projektinjohdon, rakentamisen, tontin, laitteiston, vedensaannin järjestämisen, infrastruktuurin ja markkinoinnin (Bjørndal ja Tusvik 2017, Sinisalo ym. 2020). Käyttökustannukset puolestaan sisältävät mädin ja/tai poikasten hinnan, rehut, hapen ja muut kemikaalit, sähkön, laitteiden huollon sekä muut henkilöstökulut (Sinisalo ym. 2020). Muita talouteen liittyviä haasteita ovat ylioptimistiset tuotantoennusteet, rahoitusten turvaaminen sekä investointien pitkät takaisinmaksuajat (Sinisalo ym. 2020). Kiertovesikasvatuksesta onkin vaikeaa tehdä taloudellisesti kannattavaa (Badiola ym. 2012).

Koska kiertovesikasvatukseen liittyy niin paljon tekniikkaa, se vaatii myös paljon energiaa, mikä puolestaan nostaa edellä mainittuja käyttökustannuksia (Sinisalo ym. 2020). Teknisyytensä vuoksi kiertovesijärjestelmät ovat alttiita myös teknisille vioille (Lekang 2020). Vian ilmetessä siihen tulisi reagoida mahdollisimman nopeasti, minkä vuoksi henkilökunnan olisi oltava jatkuvasti valmiustilassa (Lekang 2020). Mikäli laitoksen tilaajan ja toimittajan välinen kommunikaatio on heikkoa, lopputuloksena voi olla kaiken kaikkiaan huonosti toimiva kiertovesilaitos (Badiola ym. 2012).

Tuotannon haasteet liittyvät muun muassa kiertovesikasvatetussa kalassa esiintyviin makuvirheisiin (Sinisalo ym. 2020). Nämä makuvirheet voivat heikentää kalan myyntiä (Houle ym. 2011). Niin sanottua ”mudan makua” aiheuttavat esimerkiksi biologisen suodattimen bakteerien metaboliatuotteena muodostuvat geosmiini (GSM) ja 2-metyyli-isoborneoli (MIB) (Lloyd ja Grimm 1999). Geosmiinin ja 2-metyyli-isoborneolin kontrolloimiseksi on kokeiltu useita eri menetelmiä, kuten niiden poistamista, vähentämistä ja peittämistä (Lindholm-Lehto ja Vielma 2019, Atique ym. 2022). Toistaiseksi makuvirheiden poistaminen perustuu raikastukseen, jossa kalat siirretään raikastusaltaisiin, joihin johdetaan läpivirtausperiaatteella raikasta vettä (Lindholm-Lehto ja Vielma 2019). Raikastus voi kestää muutamista päivästä viikkoihin (Lindholm-Lehto ja Vielma 2019).

Kiertovesikasvatus on Suomessa melko uusi tuotantoala, sillä Suomen ensimmäinen kaupallinen kiertovesilaitos valmistui 20 vuotta sitten Huutokoskelle (Saimaan tuore 2018). Alan koulutusmahdollisuudet ovat toistaiseksi melko vähäiset, minkä vuoksi kiertovesilaitoksille on erittäin vaikea saada osaavaa henkilökuntaa (Sinisalo ym. 2020). Lisäksi alalla työskentelevät ihmiset ovat usein haluttomia jakamaan tietoaan (Sinisalo ym. 2020). Syynä tähän voi olla esimerkiksi tiedon hankkiminen niin sanotusti yrityksen ja erehdyksen kautta, minkä vuoksi tietoa ei haluta jakaa eteenpäin heppoisin perustein (Sinisalo ym. 2020). Järjestelmät

ovat monimutkaisia, minkä vuoksi niiden hallitseminen on haastavaa ja oppiminen vie aikaa (Badiola ym. 2012).

Vaikka haasteita vielä on, kiertovesikasvatus kehittyy koko ajan (Badiola ym. 2012). Alansisäisen kommunikaation parantaminen helpottaisi näiden haasteiden ratkaisemista (Badiola ym. 2012).

## **1.3 Kasvatusmenetelmistä**

### **1.3.1 Kirjolohen nykyinen tuotantokierto**

Kirjolohi kutee keväällä (Saura ja Varjo 2009). Kutuaikaa voidaan kuitenkin manipuloida valinnan ja valojaksojen säätelyn kautta (Hardy 2002). Tuotantokierto alkaa emokalalaitoksella, jossa emokalat lypsetään (Kankainen ym. 2020). Tämän jälkeen hedelmöitetty mäti siirretään hautomoon (Naukkarinen 1981). Haudonta suoritetaan makeassa vedessä haudontasaaveissa, -kaukaloissa tai -suppiloissa (Evara 2016). Haudonnan lähestyessä loppuaan mäti siirretään poikasaltaiisiin kuoriutumaa (Silvenius 2000). Kirjolohen mädin haudonta kestää 370–400 päiväastetta (Sinisalo ym. 2020). Ruskuaispussivaihe, jossa poikanen käyttää ravinnokseen ruskuaispussin sisältöä, kestää noin 150 päiväastetta (Sinisalo ym. 2020). Päiväasteilla tarkoitetaan päivittäisten veden keskilämpötilojen summaa (Naukkarinen 1981). Poikasten oppiessa syömään itsenäisesti ne siirretään isompiin altaiisiin (Silvenius 2000). Poikaset rokotetaan furunkuloosia ja vibrioosia vastaan ennen kuin ne voidaan siirtää jatkokasvatukseen merelle (Rahkonen ym. 2012).

Noin 20 g kokoinen poikanen siirretään merellä sijaitsevalle verkkokassilaitokselle (Kankainen ym. 2020). Ensimmäisen kasvukauden lopulla poikaset ovat noin 400 g kokoisia (Kankainen ym. 2020). Talven ajaksi kalat siirretään niin sanottuun talvivarastointipaikkaan (Kankainen ja Niukko 2014). Seuraavan kasvukauden alkaessa kalat siirretään jatkokasvatusalueille, jossa ne kasvatetaan teuraskokoisiksi (Setälä ym. 2014). Toisen kasvukauden lopulla kalat ovat 1,5–3 kg kokoisia (Kankainen ym. 2020). Kalat siirretään rantaan ja teuraskalat viedään perattavaksi (Kankainen ja Niukko 2014).

### **1.3.2 Yhdistetty kiertovesi- ja merikasvatus**

Yhdistetty kiertovesi- ja merikasvatus tarkoittaa kasvatusmenetelmää, jossa kalat kasvatetaan ensin kiertovedessä, minkä jälkeen ne siirretään mereen jatkokasvatukseen (Koskela ym. 2019). Kasvattamalla kalat kiertovedessä aiempaa suuremmiksi voidaan merikasvatuksen tuotantotehokkuutta parantaa (Koskela ym. 2019). Menettelyn avulla voidaan jopa puolittaa merikasvatusvaihe (Koskela ym. 2019). Lyhyempi merikasvatusvaihe puolestaan pienentää kalojen riskiä altistua kalataudeille (Bjørndal ja Tusvik 2017). Lisäksi menettelyn avulla olisi mahdollista välttää kalojen talvivarastointiin liittyviä riskejä (Koskela ym. 2019).

Kiertovesi- ja merikasvatus ovat kuitenkin toisistaan poikkeavia tuotantomenetelmiä, joiden yhteensovittaminen vaatii paljon suunnittelua (Sinisalo ym.

2020). Yhteensovittamista on mahdollista helpottaa muuttamalla esimerkiksi tuotantorytmiikkaa (Sinisalo ym. 2020).

## 1.4 Tutkimuskysymykset ja -hypoteesit

Yhdistettyä kiertovesi- ja merikasvatusta koskevia tutkimuksia on julkaistu melko vähän (Sinisalo ym. 2020). Sen soveltuvuutta Suomen olosuhteisiin ei myöskään ole tutkittu riittävästi (Sinisalo ym. 2020). Kirjolohenpoikasella suora siirto makeasta vedestä meriveteen onnistuu noin 26 % suolapitoisuuteen asti ilman näkyviä merkkejä stressistä (Finstad ym. 1988). Kirjolohenpoikasen siirtämisen makeasta kiertovedestä merelle pitäisi siis onnistua Suomessakin ilman erillistä sopeuttamisjaksoa, sillä Itämeren suolapitoisuus on keskimäärin noin 7 ‰ (Meier ja Kauker 2003). Ennen merikasvatusta tapahtuva kiertovesikasvatetun kalan sopeuttaminen suolaiseen veteen on kuitenkin herättänyt keskustelua suomalaisten kalankasvattajien keskuudessa (Sinisalo ym. 2020). Sopeuttamisjaksolla pyritään takaamaan hyvä kalan kasvu merikasvatuksessa (Sinisalo ym. 2020). Ilman sopeuttamisjaksoa kala ei välttämättä lähde syömään merikasvatuksessa halutulla tavalla, minkä vuoksi kasvu voi jäädä suunniteltua vähäisemmäksi (Sinisalo ym. 2020). Suomalaiset kalankasvattajat ovat myös kertoneet, etteivät kiertovedessä kasvatetut kalat kasvaisi yhtä hyvin kuin vastaavan kokoiset luonnonlämpötilarytmissä kasvatetut kalat (Koskela ym. 2019). Kiertovesikasvatetun kirjolohenpoikasen kasvusta merellä on kertynyt toistaiseksi vähän tietoa ja kokemuksia, minkä vuoksi aihe vaatii vielä lisätutkimuksia (Sinisalo ym. 2020).

Tässä pro gradu -tutkielmassa tutkin, eroaako kiertovedessä ja osittaiskiertovedessä kasvatettujen kirjolohien kasvuun lähtö makean ja suolaisen veden olosuhteisiin siirtämisen jälkeen. Kahden eri alkukasvatusjärjestelmän avulla pyrin selvittämään, onko alkukasvatusjärjestelmän vedenlaadulla vaikutusta siirtojen onnistumiseen. Lisäksi tutkin kirjolohen koon vaikutusta kasvuun lähtöön sekä kirjolohen fysiologisia vasteita siirtoihin.

Kirjolohen kasvua seurattiin mittausten ja punnitusten avulla. Fysiologisia vasteita selvitettiin puolestaan veri- ja veriplasmanäytteiden avulla. Verinäytteistä määritettiin hematokriitti, joka tarkoittaa punasolujen suhteellista osuutta veressä. Esimerkiksi stressi voi lisätä veren punasolujen määrää. Veriplasmanäytteistä määritettiin osmolaliteetti sekä kloridi- ja kortisolipitoisuus. Osmolaliteetti kuvaa liuenneiden molekyylien ja ionien lukumäärää liuotinkilossa. Yhdessä kloridipitoisuuden kanssa ne kuvaavat kirjolohen sopeutumista uuteen kasvatusympäristöön. Kortisoli puolestaan tunnetaan stressihormonina, jonka tuotanto lisääntyy stressin voimistuessa.

Tämän pro gradu -tutkielman tutkimuskysymykset olivat:

- 1) Eroaako kiertovedessä ja osittaiskiertovedessä kasvatettujen kirjolohien kasvuun lähtö makean ja suolaisen veden olosuhteisiin siirtämisen jälkeen?
- 2) Mikä on kirjolohen koon vaikutus kasvuun lähtöön?

Ensimmäisen tutkimuskysymyksen hypoteesina oli, että kiertovesi- ja osittaiskiertovesikasvatetut kirjolohet kasvaisivat paremmin suolaisessa vedessä kuin makeassa vedessä. Itämeren suolapitoisuus (keskimäärin noin 7 ‰ (Meier ja Kauker 2003)) on melko lähellä kirjolohen omaa fysiologista suolapitoisuutta (noin 9 ‰), joten elinympäristön voisi kuvitella sopivan kirjolohelle hyvin. Toisen tutkimuskysymyksen hypoteesina oli, että pienemmän kalan kasvuun lähtö on heikompaa kuin suuremman kalan kasvuun lähtö. Tutkimusten mukaan kalan koko vaikuttaa ympäristöolojen muutoksien sietokykyyn (Sinisalo ym. 2020). Mitä pienempi poikanen on kyseessä sitä herkempi se on ympäristöolojen muutoksille.

## 2 AINEISTO JA MENETELMÄT

### 2.1 Tutkimuslaji

Kirjolohi kuuluu sukuun tyynenmerenlohiet (*Oncorhynchus*) ja se on alun perin kotoisin Pohjois-Amerikasta (Hardy 2002, Saura ja Varjo 2009). Sitä on kasvatettu jo satoja vuosia (Hardy 2002). Kirjolohi vakinaisti paikkansa Suomen kalataloudessa 1960-luvulla, kun sen kasvatusta ruokakalaksi ja ongittavaksi aloitettiin (Saura ja Varjo 2009). Suomen kalataloudessa sen rooli onkin ollut merkittävämpi kuin minkään muun lajin (Saura ja Varjo 2009).

Kirjolohella on useita ominaisuuksia, jotka ovat tehneet siitä suosittua lajia kasvattaa (Hardy 2002). Ensinnäkin kirjolohi on helppo saada kutemaan ja kutuaikaa voidaan manipuloida valinnan ja valojaksojen säätelyn kautta, jolloin mätiä on saatavilla vuoden ympäri (Hardy 2002). Näin kalankasvatustilat pystyvät koko ajan tuottamaan uutta kirjolohta markkinoille (Hardy 2002). Toiseksi kirjolohen poikaset ovat jo kuoriutuessaan isoja verrattuna useimpiin makean veden lajeihin, minkä vuoksi niille voidaan syöttää valmisrehua ruokinnan aloittamisesta lähtien (Hardy 2002). Kolmanneksi kirjolohi kasvaa nopeasti ja sille on kysyntää ruokakalana (Hardy 2002). Viimeisenä kirjolohi sietää korkeampia lämpötiloja sekä huonompaa vedenlaatua kuin useat muut lohikalat (Saura ja Varjo 2009).

Tässä kokeessa käytettiin tammikuussa 2022 kuoriutuneita kirjolohenpoikasia (mäti Hanka-Taimen Oy). Poikaset rokotettiin furunkuloosia ja vibrioosia vastaan (Alpha ject 3000, PHARMAQ AS, Overhalla, Norja) noin 20 g kokoisina toukokuun puolivälissä.

## 2.2 Kokeen toteuttaminen

### 2.2.1 Altaat ja kasvatusolosuhteet

Koe toteutettiin 26.4.2022-20.10.2022 Luonnonvarakeskuksen Laukaan kalanviljelylaitoksella. Kokeessa käytettiin kiertovesiympäristöä, joka koostui kolmesta kiertovesialtaasta (RAS) ja kolmesta osittaiskiertovesialtaasta (PRAS)

Kiertovesialtaina käytettiin 600 l pohjapoistoisia altaita, joiden vesitilavuus oli 500 l. Altaat toimivat pyörreselkeyttimen tavoin keräten kiintoaineen altaan keskelle. Kiintoaine ja poistuva vesi johdettiin altaiden pohjassa olevien poistoputkien kautta pois altaista. Poistoputkiin oli liitetty *radial flow settler*-lietesuppilot, joiden avulla vedestä poistettiin kiintoainetta. Kokeen alussa järjestelmään oli liitetty myös kiintoainetta poistava rumpusuodatin, mutta rumpusuodattimeen liittyvien ongelmien vuoksi se otettiin kokeen edetessä pois käytöstä. Altaiden vesi ilmastettiin mammuttipumpuilla. Ilma syötettiin näihin kaikkiin mammuttipumppuihin yhdellä sivukanavapuhaltimella. Ilmastuksen avulla vesi saatiin myös virtaamaan altaissa. Järjestelmään oli liitetty kaksi liikkuvapeti-suodatinta (MBBR, *Moving Bed Bioreactor*), joiden kokonaistilavuus oli 1200 l. Liikkuvapeti-suodatinten kantoaineena toimi 600 l muovikappaleita (RK-Bioelements, pinta-ala 750 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>). Peurunkajärvestä (62°26'56"N, 25°51'07"E) peräisin oleva korvausvesi johdettiin toiseen liikkuvapeti-suodattimeen. Korvausveden määrä oli kokeen alussa 500 l syötettyä rehukiloa kohti. Korvausveden määrä jouduttiin kuitenkin nostamaan 750 l:aan rumpusuodattimeen liittyvien ongelmien vuoksi. Liikkuvapeti-suodattimilta vesi johdettiin takaisin kiertovesialtaisiin.

Osittaiskiertovesialtaina käytettiin samanlaisia 600 l pohjapoistoisia altaita, joiden vesitilavuus oli 500 l. Altaat toimivat pyörreselkeyttimen tavoin keräten kiintoaineen altaan keskelle. Kiintoaine ja poistuva vesi johdettiin altaiden pohjassa olevien poistoputkien kautta pois altaista. Poistoputkiin oli liitetty *radial flow settler*-lietesuppilot, joiden avulla vedestä poistettiin kiintoainetta. Altaiden vesi ilmastettiin mammuttipumpuilla. Ilma syötettiin mammuttipumppuihin samalla sivukanavapuhaltimella kuin kiertovesialtaiden mammuttipumppuihin. Ilmastuksen avulla vesi saatiin virtaamaan altaissa. Korvausvesi johdettiin suoraan altaisiin. Korvausveden määrä oli koko kokeen ajan 10000 l syötettyä rehukiloa kohti.

Kiertovesi- ja osittaiskiertovesialtaissa kasvatusolosuhteet ja vedenlaatutekijät pyrittiin pitämään mahdollisimman tasaisina. Valaistus pidettiin jatkuvana. Vedenlaatutekijöitä (lämpötila, happipitoisuus, hiilidioksidipitoisuus, pH ja typpiyhdistepitoisuudet) seurattiin säännöllisesti erilaisten antureiden ja vesinäytteiden avulla (taulukko 1).

Kokeen edetessä RAS- ja PRAS-altaista siirrettiin kirjolohia Laukaassa sijaitseviin perinteisiin makean veden läpivirtausaltaisiin sekä Rymättylään merellä sijaitseviin verkkokassialtaisiin. Sekä RAS- että PRAS-altaista siirrettäville kirjolohille oli varattu kolme läpivirtaus- ja kolme verkkokassiallasta. Käytössä oli

siis kolmen RAS- ja kolmen PRAS-altaan lisäksi yhteensä kuusi läpivirtaus- ja kuusi verkkokassiallasta.

Läpivirtausaltaat noudattivat luonnon valorytmiä. Läpivirtausveden lämpötilaa ja happipitoisuutta seurattiin säännöllisesti. Läpivirtausveden lämpötila oli ensimmäisen koejakson aikana  $15,6 \pm 1,9$  °C ja toisen koejakson aikana  $10,5 \pm 1,6$  °C. Happipitoisuus oli ensimmäisen koejakson aikana  $8,05 \pm 0,81$  mg/l ja toisen koejakson aikana  $9,45 \pm 0,55$  mg/l.

Myös verkkokassialtaat noudattivat luonnon valorytmiä. Meriveden lämpötilaa seurattiin säännöllisesti. Meriveden lämpötila oli ensimmäisen koejakson aikana  $18,5 \pm 1,9$  °C ja toisen koejakson aikana  $12,9 \pm 1,3$  °C.

Taulukko 1. Eri vedenlaatutekijöiden arvot (keskiarvo  $\pm$  keskihajonta) kierto- (RAS) ja osittaiskiertovesialtaissa (PRAS) kokeen aikana.

Vedenlaatutekijä	RAS (keskiarvo)	RAS (keskihajonta)	PRAS (keskiarvo)	PRAS (keskihajonta)
Lämpötila	14,1 °C	1,4 °C	14,1 °C	1,2 °C
Happipitoisuus	9,20 mg/l	4,90 mg/l	8,45 mg/l	0,79 mg/l
Hiilidioksidipitoisuus	7,5 mg/l	2,0 mg/l	9,3 mg/l	2,2 mg/l
pH	6,91	0,51	6,74	0,27
TAN-pitoisuus	1,74 mg/l	1,40 mg/l	1,58 mg/l	0,54 mg/l
Nitriittipitoisuus	0,371 mg/l	0,885 mg/l	0,045 mg/l	0,018 mg/l
Nitraattipitoisuus	38,8 mg/l	14,2 mg/l	0,738 mg/l	0,389 mg/l

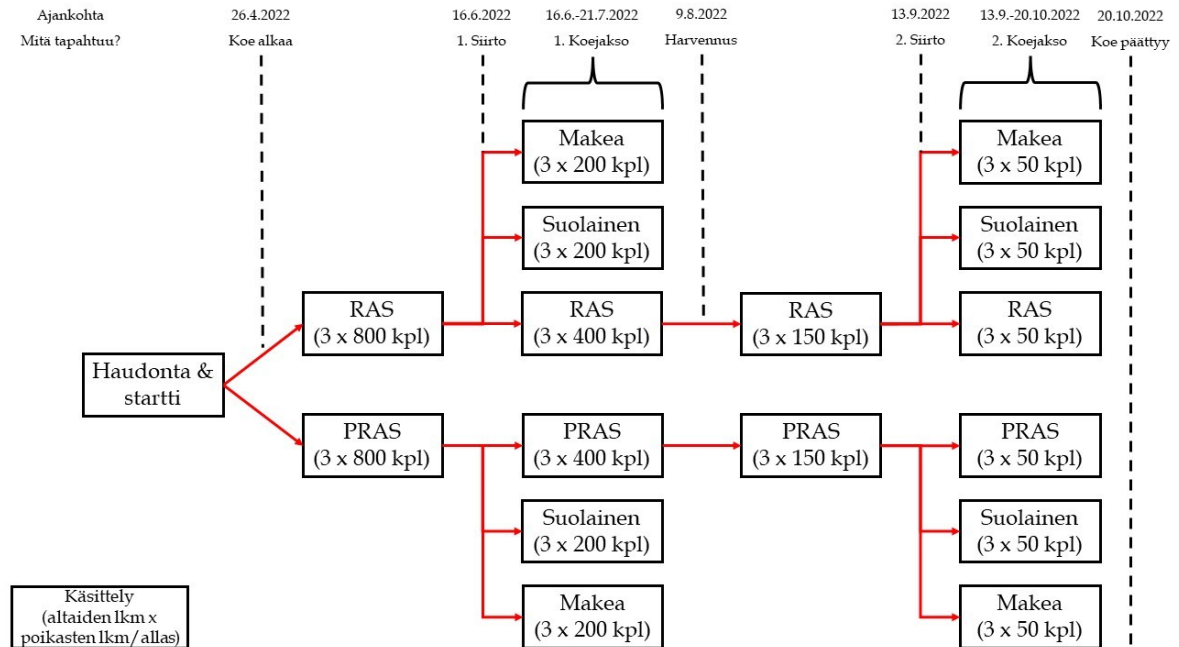
### 2.2.2 Koeasetelma

Mädin haudonta ja poikasten kasvatus tapahtui aluksi erillisessä kiertovesijärjestelmässä. Poikaset siirrettiin kokeen varsinaisiin kasvatusolosuhteisiin huhtikuun loppupuolella (Kuva 1). Poikasista puolet (noin 2400 kpl) siirrettiin RAS-kasvatukseen ja puolet PRAS-kasvatukseen. Jokaiseen RAS- ja PRAS-altaaseen tuli noin 800 poikasta.

Kesäkuun puolivälissä tapahtui ensimmäinen siirto, jossa molemmista ryhmistä (RAS ja PRAS) siirrettiin noin 600 poikasta sekä makeaan että suolaiseen veteen (200 poikasta kuhunkin altaaseen). Loput poikaset jätettiin kasvamaan RAS- ja PRAS-altaisiin. Ensimmäisen siirron jälkeen siirrettyjä poikasia pidettiin makeassa ja suolaisessa vedessä noin viisi viikkoa (ensimmäinen koejakso).

Elokuun alkupuolella RAS- ja PRAS-altaiden allaskohtaiset biomassat ylittivät altaiden kantokyvyn, minkä vuoksi kaloja täytyi harventaa. Harvennuksen jälkeen RAS- ja PRAS-kasvatukseen jäi 150 kalaa allasta kohden.

Syyskuun puolessa välissä tapahtui toinen siirto, jossa molemmista ryhmistä (RAS ja PRAS) siirrettiin noin 150 kalaa sekä makeaan että suolaiseen veteen (50 kalaa kuhunkin altaaseen). Loput kalat jätettiin kasvamaan RAS- ja PRAS-altaisiin. Toisen siirron jälkeen siirrettyjä kaloja pidettiin makeassa ja suolaisessa vedessä noin viisi viikkoa (toinen koejakso).



Kuva 1. Koeasetelma. Mädin haudonta ja poikasten kasvatus tapahtui aluksi erillisessä kierto-vesijärjestelmässä. Koe alkoi 26.4.2022, kun kirjolohen poikaset siirrettiin kokeen varsinaisiin kasvatusolosuhteisiin. Puolet poikasista siirrettiin RAS-kasvatukseen ja puolet PRAS-kasvatukseen. Ensimmäinen siirto, jossa poikasista siirrettiin molemmista ryhmistä (RAS ja PRAS) sekä makeaan että suolaiseen veteen, tapahtui 16.6.2022. Loput poikaset jätettiin kasvamaan RAS- ja PRAS-altaisiin. Ensimmäinen koejakso kesti noin viisi viikkoa. RAS- ja PRAS-altaiden korkeiden biomassojen vuoksi kaloja täytyi harventaa elokuun alkupuolella. Toinen siirto, jossa kaloja siirrettiin molemmista ryhmistä (RAS ja PRAS) sekä makeaan että suolaiseen veteen, tapahtui 13.9.2022. Loput kalat jätettiin kasvamaan RAS- ja PRAS-altaisiin. Toinen koejakso kesti noin viisi viikkoa. Koko koe päättyi toisen koejakson loputtua.

### 2.2.3 Siirtojen toteuttaminen

Kirjolohien siirto RAS- ja PRAS-kasvatuksesta makean veden läpivirtausaltaisiin toteutettiin Laukaan kalanviljelylaitoksen sisäisenä siirtona. Jokaisesta altaasta haavittiin tietty määrä (ensimmäinen siirto: 200 kpl ja toinen siirto: 50 kpl) kaloja saaveihin ja saavit tyhjennettiin traktorin kauhan kahteen hapetettuun kuljetussäiliöön. RAS- ja PRAS-kasvatetut kalat pidettiin näin toisistaan erillään,



mutta rinnakkaisten altaiden kalat menivät kuljetuksessa sekaisin. Kaloja ajelutettiin traktorilla noin neljän tunnin ajan, jotta makean veden läpivirtausaltaisiin siirtyvät kalat kokisivat samankaltaisen siirtostressin kuin suolaiseen veteen siirtyvät kalat. Kuljetusveden lämpötilaa ja happipitoisuutta seurattiin säännöllisesti. Neljän tunnin ajelutuksen jälkeen kalat siirrettiin makean veden läpivirtausaltaisiin. Jokaiseen altaaseen tuli ensimmäisessä siirrossa noin 200 kalaa ja toisessa siirrossa noin 50 kalaa.

Laukaan kalanviljelylaitokselta RAS- ja PRAS-kasvatettuja kaloja siirrettiin myös suolaiseen veteen merelle Rymättylään. Jokaisesta altaasta haavittiin tietty määrä (ensimmäinen siirto: 200 kpl ja toinen siirto: 50 kpl) kaloja saaveihin ja saavit tyhjennettiin kuljetusauton kahteen hapetettuun ja ilmastettuun kuljetussäiliöön. RAS- ja PRAS-kasvatetut kalat pidettiin näin toisistaan erillään, mutta rinnakkaisten altaiden kalat menivät kuljetuksessa sekaisin. Rymättylässä kalat siirrettiin meressä oleviin verkkokassialtaisiin. Jokaiseen verkkokassialtaaseen tuli ensimmäisessä siirrossa noin 200 kalaa ja toisessa siirrossa noin 50 kalaa.

## 2.2.4 Ruokinta

Kalojen ruokinnassa käytettiin kaupallista BioMarin ORBIT 9030 -kalanrehua. Kaloja ruokittiin ruokahalun mukaan koko kasvupotentiaalin hyödyntämiseksi. Yliruokintaa pyrittiin kuitenkin välttämään. Ruokinta toteutettiin allaskohtaisilla ruokinta-automaateilla (Arvo-Tec T Drum 2000, Arvo-Tec Oy, Huutokoski, Suomi). Ruokintaa tarkkailtiin päivittäin ruokinnan tarkkailujaksojen aikana ja säädettiin tarpeen mukaan.

Ruokintarytmit vaihtelivat RAS-, PRAS-, makean veden läpivirtaus- ja suolaisen veden verkkokassialtaiden välillä. RAS- ja PRAS-altaat noudattivat enimmäkseen ruokintarytmiä, jossa klo 00:00-12:00 automaattit ruokkivat 45 % päiväruokinnasta, klo 12:01-12:15 automaattit ruokkivat 10 % päiväruokinnasta (ruokinnan tarkkailujakso) ja klo 12:16-23:59 automaattit ruokkivat 45 % päiväruokinnasta. Läpivirtausaltaat noudattivat enimmäkseen ruokintarytmiä, jossa klo 07:00-12:15 automaattit ruokkivat 45 % päiväruokinnasta, klo 12:16-12:30 automaattit ruokkivat 10 % päiväruokinnasta (ruokinnan tarkkailujakso) ja klo 12:31-22:00 automaattit ruokkivat 45 % päiväruokinnasta. Syyskuun alussa RAS- ja PRAS-altaiden sekä läpivirtausaltaiden ruokintarytmiä muutettiin siten, että tarkkailujakson aikana automaatti ruokki 10 % sijaan 20 % päiväruokinnasta. Verkkokassialtaat noudattivat puolestaan ruokintarytmiä, jossa klo 06:00-06:20 automaattit ruokkivat 25 % päiväruokinnasta, klo 08:00-08:20 automaattit ruokkivat 25 % päiväruokinnasta ja klo 11:00-11:20 automaattit ruokkivat 50 % päiväruokinnasta. Ennen siirtoja ja näytteenottoja kalojen ruokinnasta pidettiin kahden vuorokauden mittainen tauko.

## 2.3 Näytteenotto

Kaloista otettiin näytteitä sekä ennen koejaksojen alkua että koejaksojen päätyttyä. Koejakson alkunäytteet otettiin RAS- ja PRAS-kasvatetuista kaloista. Näytteitä

otettiin viidestä kalasta per allas eli alkunäytteet otettiin 30 kalasta. Koejakson loppunäytteet otettiin sekä RAS- ja PRAS-kasvatetuista kaloista että makeaan ja suolaiseen veteen siirretyistä kaloista. Näytteitä otettiin viidestä kalasta per allas eli loppunäytteet otettiin 90 kalasta. Näytekaloja kertyi kummankin koejakson aikana 120 kpl eli koko kokeen aikana 240 kpl.

Kalat lopetettiin ennen näytteenottoa nukutusaineen (Tricaine Pharmaq 1000 mg/g, PHARMAQ Ltd., Fordinbridge, Hampshire, Yhdistynyt kuningaskunta) yliannostuksella. Nukutusaineesta tehtiin ensin 2 % varastoliuos sekoittamalla 20 g nukutusainetta litraan vettä. Tämän jälkeen varastoliuos puskuroitiin (pH 7) natriumvetykarbonaatilla ( $\text{NaHCO}_3$ ). Suolaisessa vedessä olleita näytekaloja lopetettaessa varastoliuosta ei puskuroitu, sillä suolainen vesi puskuroi itsessään riittävästi. Kalojen lopettamista varten 360 ml nukutusaineen 2 % varastoliuosta sekoitettiin 30 l:aan vettä.

### 2.3.1 Mittaukset

Mitattavia kasvuparametreja olivat pituus, paino ja perattu paino. Pituus mitattiin millimetrin tarkkuudella. Paino ja perattu paino (g) mitattiin yhden desimaalin tarkkuudella. Kasvuparametrien lisäksi kalojen sydän ja maksa punnittiin (g) analyysivaa'alla neljän desimaalin tarkkuudella mahdollisten patologisten erojen tutkimiseksi.

### 2.3.2 Verinäytteet

Aluksi verinäytteenotossa käytettävät Eppendorf-putket numeroitiin juoksevasti. Sekä verinäytteille että verinäytteistä erotettavalle plasmalle oli omat numeroidut Eppendorf-putkensa. Verinäytteiden ottamisessa käytettäviin ruiskuihin lisättiin hepariinia, mikä esti veren hyytymisen. Hepariinin lisäämisen jälkeen ruiskuun kiinnitettiin neula. Verinäytteet otettiin ruiskulla lopetetun kalan pyrstösuonista. Kun verinäyte oli ruiskussa, se tyhjennettiin tyhjään Eppendorf-putkeen. Tästä putkesta otettiin näyte myös hematokriittiputkeen. Verinäytteen sisältävä Eppendorf-putki laitettiin jäähauteeseen odottamaan ja hematokriittiputki hematokriittivahaan. Kun verinäytteet oli otettu, verinäytteestä erotettiin plasma sentrifugoimalla (9200 rpm) kuusi minuuttia. Plasma pipetoitiin puhtaaseen Eppendorf-putkeen ja putket pakastettiin odottamaan määrittystä. Veriplasman osmolaliteetti (mOsmol/kg) määritettiin osmometrillä (K-7400S Semi-Micro Osmometer, Knauer, Berliini, Saksa), kloridipitoisuus (mmol/l) kloridititraattorilla (Chloride Analyser 926 S, Sherwood, Cambridge, Yhdistynyt kuningaskunta) ja kortisolipitoisuus (ng/ml) kaupallisella EIA-kitillä (Cortisol ELISA kit, Enzo Life Sciences Inc., New York, Yhdysvallat). Myös hematokriittiputkia sentrifugoitettiin (10,0 x G rpm) viisi minuuttia, minkä jälkeen hematokriitti (%) luettiin niin sanotulla lukulevyllä.

### 2.3.3 Kehonkoostumusmittaukset

Kun kaikki edellä mainitut näytteet oli otettu, näytekalat pakastettiin (-20 °C) odottamaan jatkokäsittelyä. Näytekalat jauhettiin ja kunkin altaan jauhetyt kalat yhdistettiin yhdeksi niin sanotuksi allasnäytteeksi. Jauhettu massa pakastekuivattiin ja jauhettiin uudelleen. Pakastekuivauksen yhteydessä määritettiin näytekalojen kosteuspitoisuus (%) altaittain. Tämän jälkeen näytekalat lähetettiin kaupalliseen laboratorioon (SGS Finland Oy), jossa määritettiin näytekalojen rasvapitoisuus (%) altaittain.

## 2.4 Suola-altistustesti

RAS- ja PRAS-kasvatetuille kirjolohille suoritettiin vielä erillinen suola-altistustesti 5.9.-9.9.2022. Suola-altistustestinä käytettiin hypo-osmoregulatorista testiä, jonka tarkoituksena oli altistaa RAS- ja PRAS-kasvatettuja kirjolohia vedelle, jonka suolapitoisuus oli 28 ‰.

Jokaisesta RAS- ja PRAS-altaasta siirrettiin viisi kalaa suola-altistukseen. RAS- ja PRAS-kasvatetuille kaloille oli omat ilmastetut 600 l suola-altistusaltaansa, joiden laskennallinen suolapitoisuus oli 28 ‰. Suolana käytettiin balansoitua merisuolaa (Instant Ocean Synthetic Sea Salt, Aquarium Systems, Atlanta, Georgia, Yhdysvallat). Altaaseen otettiin uutta vettä 0,1 l/min. Suolapitoisuuden ylläpitämiseksi altaaseen lisättiin säännöllisesti suolaa (4 kg/vrk). Kaloja pidettiin suola-altistusaltaissa neljä vuorokautta.

Kaloista otettiin näytteitä ennen suola-altistustestin alkua ja suola-altistustestin päätyttyä. Alkunäytteet otettiin viideltä RAS- ja viideltä PRAS-kasvatetulta kalalta. Loppunäytteet otettiin kaikilta suola-altistuksessa olleilta 14 RAS- ja 15 PRAS-kasvatetulta kalalta. Suola-altistustestin 15 RAS-kasvatetusta kalasta yksi kuoli testin aikana.

Kalat lopetettiin ennen näytteenottoa nukutusaineen yliannostuksella 2.3 Näytteenotto -kohdassa kuvatulla tavalla. Kaloista otettiin verinäytteitä 2.3.2 Verinäytteet -kohdassa kuvatulla tavalla. Verinäytteistä määritettiin veren hematokriitti (%). Verinäytteistä erotetuista veriplasmanäytteistä määritettiin puolestaan veriplasman osmolaliteetti (mOsmol/kg) sekä kloridi- (mmol/l) ja kortisolipitoisuus (ng/ml). Veri- ja veriplasmanäytteiden lisäksi kaloista määritettiin lihaksen kosteuspitoisuus (%). Lihaksen kosteuspitoisuuden määrittämiseksi kalan kyljestä leikattiin pala lihasta, joka laitettiin esipunnittuun Eppendorf-putkeen. Eppendorf-putki ja lihaspala punnittiin, minkä jälkeen niitä pakastekuivattiin noin kaksi vuorokautta. Lopuksi punnittiin Eppendorf-putken ja lihaspalan kuivapaino. Suola-altistustestillä oli hankelupalautakunnan (ELLA) myöntämä hankelupa (ESAVI/27149/2022).

## 2.5 Aineiston käsittely ja tilastolliset menetelmät

Kalojen kasvusta saadun datan perusteella laskettiin rehukerroin, kuntokerroin sekä kasvukertoimet SGR ja TGC. Rehukerroin (FCR, *feed conversion ratio*) laskettiin kaavalla  $FCR = \text{annetun rehun määrä (g) / saavutettu kalan lisäkasvu (g)}$ . Kuntokerroin (K) laskettiin kaavalla  $K = (W/L^3) * 100$ , jossa W on kalan paino grammoina ja L kalan pituus senttimetreinä. Kasvukerroin (SGR, *specific growth rate*) laskettiin kaavalla  $SGR = ((\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)) * 100$ , jossa W on kalan paino grammoina ja t aika vuorokausina ajankohdissa 1 ja 2. Lämpötilariippuvainen kasvukerroin (TGC, *thermal-unit growth coefficient*) laskettiin kaavalla  $TGC = ((W_2^{0,333} - W_1^{0,333}) / (T^{\circ}C * (t_2 - t_1))) * 1000$ , jossa W on kalan paino grammoina ajankohdissa 1 ja 2, T°C celsiusasteiden lämpösumma ja t aika vuorokausina ajankohdissa 1 ja 2.

Aineiston tilastollinen käsittely suoritettiin R Commander (versio 2.7-2) ohjelmalla. Aineiston analysoinnissa käytettiin kaksisuunaista varianssianalyysia. Selittäviä muuttujia ensimmäisellä ja toisella koejaksoilla olivat kirjolohien alkuperä (RAS tai PRAS) sekä siirtopaikka (kiertovesiympäristö, makean veden läpivirtausaltaat tai suolaisen veden verkkokassialtaat). Selitettäviä muuttujia olivat rehukerroin, kuntokerroin, kasvukertoimet SGR ja TGC (%), maksan ja sydämen suhteellinen osuus kalan kokonaispainosta (%), kalan rasva- ja kosteuspitoisuus (%), veren hematokriitti (%) sekä veriplasman osmolaliteetti (mOsmol/kg), kloridipitoisuus (mmol/l) ja kortisolipitoisuus (ng/ml). Tilastollisissa analyyseissä käytettiin vain koejaksojen loppunäytteenotoista saatua dataa. Parittaiset vertailut tehtiin Tukeyn testillä. Tilastollisen merkitsevyyden raja-arvona pidettiin 0,05. Kuvaajat piirrettiin Microsoft Excel (versio 2303) ohjelmalla.

Suola-altistustestissä selittävänä muuttujana oli puolestaan kirjolohien alkuperä (RAS tai PRAS). Selitettäviä muuttujia olivat veren hematokriitti (%), veriplasman osmolaliteetti (mOsmol/kg), kloridi- (mmol/l) ja kortisolipitoisuus (ng/ml) sekä lihaksen kosteuspitoisuus (%). Tilastollisissa analyyseissä käytettiin vain suola-altistustestin loppunäytteenotoista saatua dataa.

## 3 TULOKSET

### 3.1 Ensimmäinen koejakso

Ensimmäisen koejakson loppunäytteenotoista saatiin RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien kasvuun, koostumukseen, sisäelinten kokoon sekä veriarvoihin liittyviä tuloksia. Kiinnostuksen kohteena oli kirjolohien alkuperän ja siirtopaikan yhdysvaikutus näihin edellä mainittuihin tuloksiin.

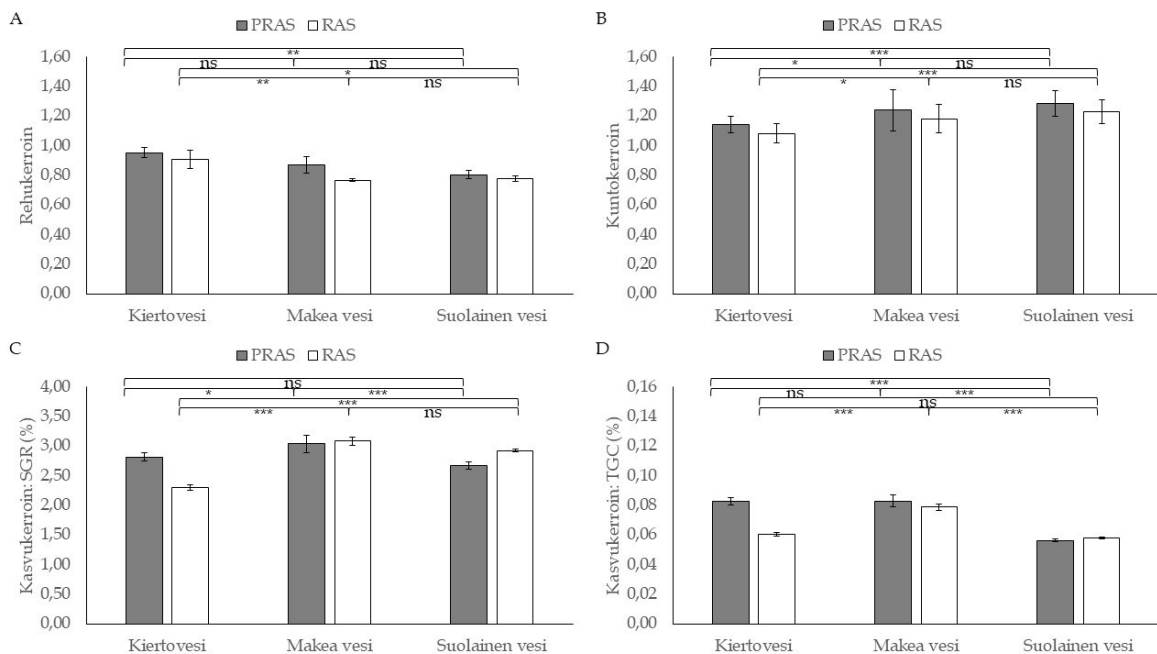
RAS-kasvatettujen kirjolohien rehukerroin oli makeassa vedessä  $0,77 \pm 0,01$  ja suolaisessa vedessä  $0,78 \pm 0,02$  (kuva 2). PRAS-kasvatettujen kirjolohien rehukerroin oli puolestaan makeassa vedessä  $0,87 \pm 0,06$  ja suolaisessa vedessä  $0,80 \pm 0,03$ . RAS-kasvatettujen kirjolohien rehukertoimessa ei täten ollut

tilastollisesti merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,9995$ ). Myöskään PRAS-kasvatettujen kirjolohien rehukertoimessa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,3906$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien kuntokerroin oli makeassa vedessä  $1,18 \pm 0,09$  ja suolaisessa vedessä  $1,23 \pm 0,08$ . PRAS-kasvatettujen kirjolohien kuntokerroin oli puolestaan makeassa vedessä  $1,24 \pm 0,14$  ja suolaisessa vedessä  $1,28 \pm 0,08$ . RAS-kasvatettujen kirjolohien kuntokertoimessa ei siis ollut merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,7234$ ). Myöskään PRAS-kasvatettujen kirjolohien kuntokertoimessa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,7486$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien kasvukerroin (SGR) oli makeassa vedessä  $3,08 \pm 0,07$  % ja suolaisessa vedessä  $2,92 \pm 0,03$  %. PRAS-kasvatettujen kirjolohien kasvukerroin oli puolestaan makeassa vedessä  $3,03 \pm 0,14$  % ja suolaisessa vedessä  $2,67 \pm 0,07$  %. Näin ollen PRAS-kasvatetut kirjolohet kasvoivat makeassa vedessä merkitsevästi paremmin kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0010$ ), mutta RAS-kasvatettujen kirjolohien kasvukertoimessa ei havaittu merkitsevää eroa ( $p = 0,1816$ ). Sekä RAS-että PRAS-kasvatettujen kirjolohien lämpötilariippuvainen kasvukerroin (TGC) oli makeassa vedessä  $0,08 \pm 0,00$  % ja suolaisessa vedessä  $0,06 \pm 0,00$  %. Näin ollen RAS-kasvatetut kirjolohet kasvoivat merkitsevästi paremmin makeassa vedessä kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,000$ ). Myös PRAS-kasvatetut kirjolohet kasvoivat makeassa vedessä merkitsevästi paremmin kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0000$ ).

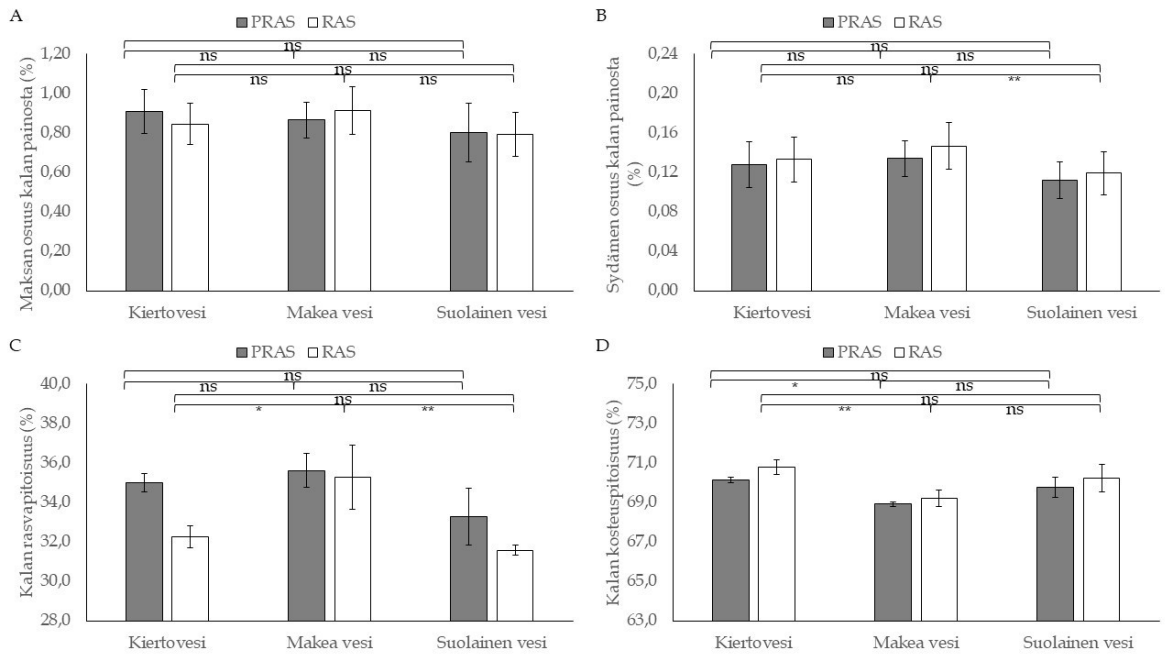
RAS-kasvatettujen kirjolohien maksat painoivat makeassa vedessä  $0,91 \pm 0,12$  % ja suolaisessa vedessä  $0,79 \pm 0,11$  % kirjolohien kokonaispainosta (kuva 3). PRAS-kasvatettujen kirjolohien maksat puolestaan painoivat makeassa vedessä  $0,86 \pm 0,009$  % ja suolaisessa vedessä  $0,80 \pm 0,15$  % kirjolohien kokonaispainosta. RAS-kasvatettujen kirjolohien maksan koossa ei siis ollut merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,0609$ ). Myöskään PRAS-kasvatettujen kirjolohien maksan koossa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,6343$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien sydämet painoivat makeassa vedessä  $0,15 \pm 0,02$  % ja suolaisessa vedessä  $0,12 \pm 0,02$  % kirjolohien kokonaispainosta. PRAS-kasvatettujen kirjolohien sydämet puolestaan painoivat makeassa vedessä  $0,13 \pm 0,02$  % ja suolaisessa vedessä  $0,11 \pm 0,02$  % kirjolohien kokonaispainosta. RAS-kasvatettujen kirjolohien sydämet olivat siis makeassa vedessä merkitsevästi suurempia kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0084$ ), mutta PRAS-kasvatettujen kirjolohien sydämen koossa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,0711$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien rasvapitoisuus oli makeassa vedessä  $35,5 \pm 1,6$  % ja suolaisessa vedessä  $31,6 \pm 0,03$  %. PRAS-kasvatettujen kirjolohien rasvapitoisuus oli puolestaan makeassa vedessä  $35,6 \pm 0,9$  % ja suolaisessa vedessä  $33,3 \pm 1,5$  %. Näin ollen RAS-kasvatetut kirjolohet olivat makeassa vedessä merkitsevästi rasvaisempia kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0072$ ), mutta PRAS-kasvatetuilla kirjolohilla merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ei havaittu ( $p = 0,1163$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien kosteuspitoisuus oli makeassa vedessä  $69,2 \pm 0,4$  % ja suolaisessa vedessä  $70,2 \pm 0,7$  %. PRAS-kasvatettujen kirjolohien kosteuspitoisuus oli puolestaan makeassa vedessä  $68,9 \pm 0,1$  % ja suolaisessa vedessä  $69,7 \pm 0,5$  %. RAS-kasvatettujen kirjolohien kosteuspitoisuudessa ei ollut merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä

( $p = 0,0937$ ). Myöskään PRAS-kasvatettujen kirjolohien kosteuspitoisuudessa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,2184$ ).

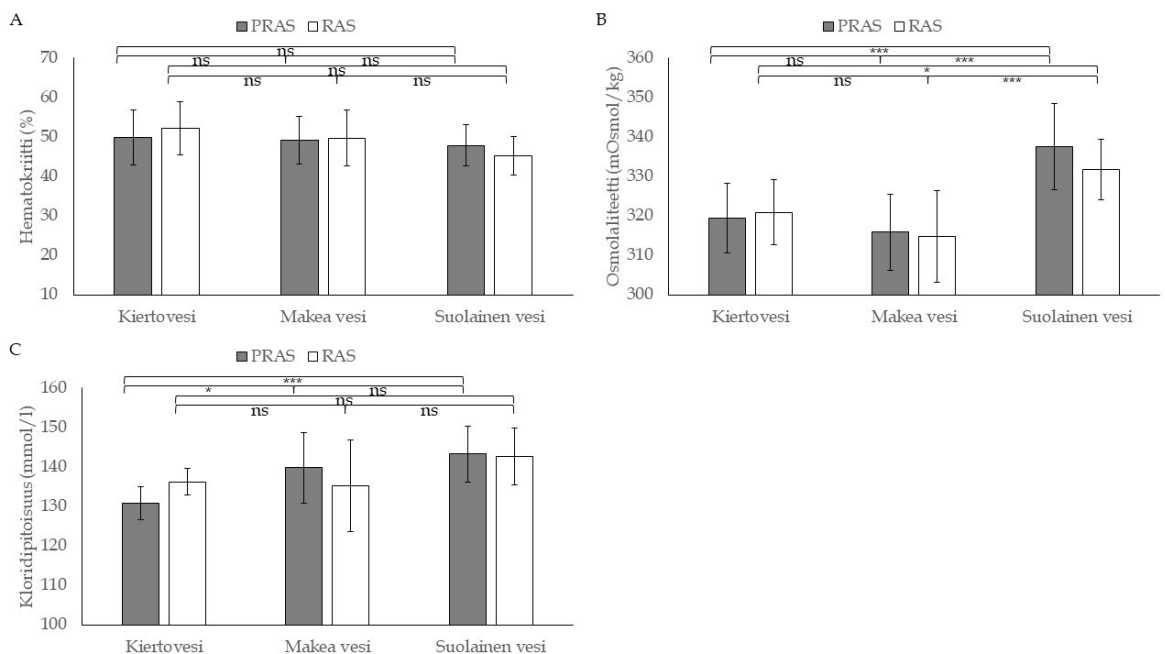
RAS-kasvatettujen kirjolohien veren hematokriitti oli makeassa vedessä  $50 \pm 7 \%$  ja suolaisessa vedessä  $45 \pm 5 \%$  (kuva 4). PRAS-kasvatettujen kirjolohien hematokriitti oli puolestaan makeassa vedessä  $49 \pm 6 \%$  ja suolaisessa vedessä  $48 \pm 5 \%$ . RAS-kasvatettujen kirjolohien veren hematokriitissa ei näin ollut merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,4265$ ). Myöskään PRAS-kasvatettujen kirjolohien hematokriitissa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,9923$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman osmolaliteetti oli makeassa vedessä  $315 \pm 11$  mOsmol/kg ja suolaisessa vedessä  $332 \pm 8$  mOsmol/kg. PRAS-kasvatettujen kirjolohien osmolaliteetti oli puolestaan makeassa vedessä  $316 \pm 10$  mOsmol/kg ja suolaisessa vedessä  $338 \pm 11$  mOsmol/kg. Näin ollen RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman osmolaliteetti oli suolaisessa vedessä merkitsevästi korkeampi kuin makeassa vedessä ( $p = 0,0001$ ). Myös PRAS-kasvatettujen kirjolohien osmolaliteetti oli suolaisessa vedessä merkitsevästi korkeampi kuin makeassa vedessä ( $p = 0,0000$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kloridipitoisuus oli makeassa vedessä  $135 \pm 12$  mmol/l ja suolaisessa vedessä  $143 \pm 7$  mmol/l. PRAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kloridipitoisuus oli puolestaan makeassa vedessä  $140 \pm 9$  mmol/l ja suolaisessa vedessä  $143 \pm 7$  mmol/l. RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kloridipitoisuudessa ei täten ollut merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,0849$ ). Myöskään PRAS-kasvatettujen kirjolohien kloridipitoisuudessa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p=0,8035$ ).



Kuva 2. Kiertovesi- (RAS) ja osittaiskiertovesikasvatettujen (PRAS) kirjolohien kasvusta kesällä kiertovesiympäristössä sekä makeassa ja suolaisessa vedessä kertovat A) rehukerroin, B) kuntokerroin, C) kasvukerroin SGR ja D) lämpötilariippuvainen kasvukerroin TGC. \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns = not significant



Kuva 3. Kiertovesi- (RAS) ja osittaiskiertovesikasvatettujen (PRAS) kirjolohien sisäelinten koosta ja kirjolohien koostumuksesta kesällä kiertovesiympäristössä sekä makeassa ja suolaisessa vedessä kertovat A) maksan ja B) sydämen koko (suhteellinen osuus kirjolohien kokonaispainosta (%)) sekä C) rasva- ja D) kosteuspitoisuus (%). \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns = not significant



Kuva 4. Kiertovesi- (RAS) ja osittaiskiertovesikasvatettujen (PRAS) kirjolohien veri-arvoista kesällä kiertovesiympäristössä sekä makeassa ja suolaisessa vedessä kertovat A) veren hematokriitti (%) sekä veriplasman B) osmolaliteetti (mOsmol/kg) ja C) kloridipitoisuus (mmol/l). \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns = not significant

### 3.2 Toinen koejakso

Myös toisen koejakson loppunäytteenotoista saatiin RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien kasvuun, koostumukseen, sisäelinten kokoon sekä veriarvoihin liittyviä tuloksia. Kiinnostuksen kohteena oli edelleen kirjolohien alkuperän ja siirtopaikan yhdysvaikutus näihin edellä mainittuihin tuloksiin.

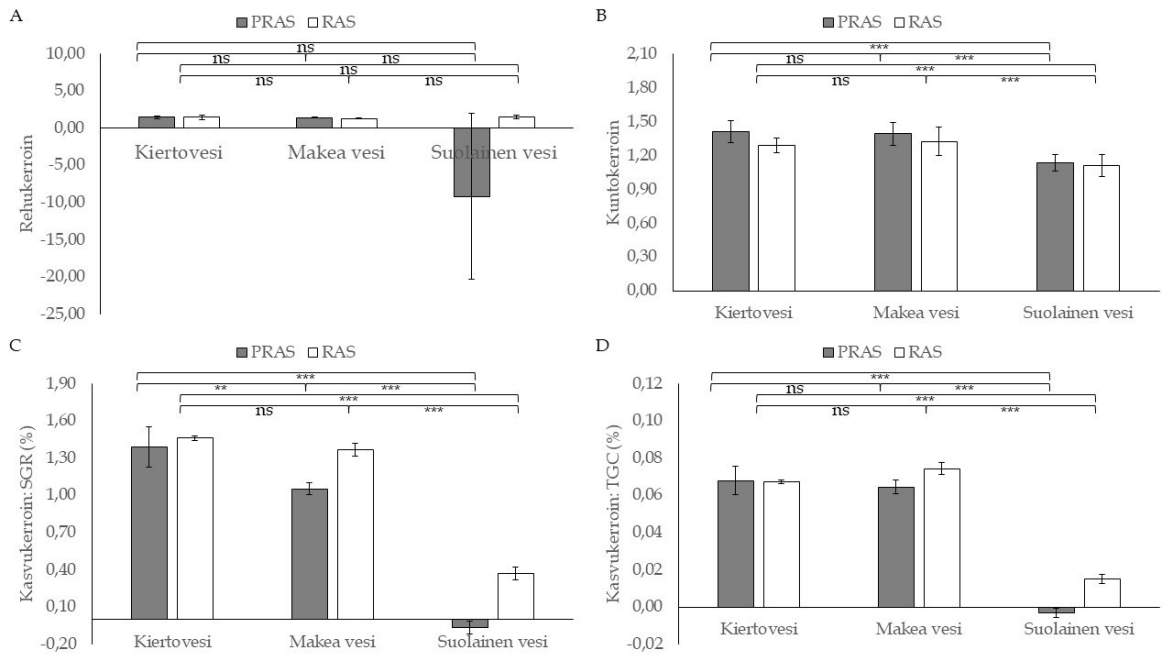
RAS-kasvatettujen kirjolohien rehukerroin oli makeassa vedessä  $1,28 \pm 0,03$  ja suolaisessa vedessä  $1,46 \pm 0,22$  (kuva 5). PRAS-kasvatettujen kirjolohien rehukerroin oli puolestaan makeassa vedessä  $1,41 \pm 0,10$  ja suolaisessa vedessä  $-9,19 \pm 11,15$ . RAS-kasvatettujen kirjolohien rehukertoimessa ei siis ollut tilastollisesti merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 1,0000$ ). Myöskään PRAS-kasvatettujen kirjolohien rehukertoimessa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,1159$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien kuntokerroin oli makeassa vedessä  $1,32 \pm 0,13$  ja suolaisessa vedessä  $1,11 \pm 0,10$ . PRAS-kasvatettujen kirjolohien kuntokerroin oli puolestaan makeassa vedessä  $1,39 \pm 0,10$  ja suolaisessa vedessä  $1,13 \pm 0,07$ . RAS-kasvatettujen kirjolohien kuntokerroin oli makeassa vedessä merkitsevästi suurempi kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0000$ ). Myös PRAS-kasvatettujen kirjolohien kuntokerroin oli makeassa vedessä merkitsevästi suurempi kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0000$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien kasvukerroin (SGR) oli makeassa vedessä  $1,37 \pm 0,05$  % ja suolaisessa vedessä  $0,37 \pm 0,05$  %. PRAS-kasvatettujen kirjolohien kasvukerroin oli puolestaan makeassa vedessä  $1,05 \pm 0,05$  % ja suolaisessa vedessä  $-0,07 \pm 0,05$  %. RAS-kasvatetut kirjolohet kasvoivat siis makeassa vedessä merkitsevästi paremmin kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0000$ ). Myös PRAS-kasvatetut kirjolohet kasvoivat makeassa vedessä merkitsevästi paremmin kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0000$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien lämpötilariippuvainen kasvukerroin (TGC) oli makeassa vedessä  $0,07 \pm 0,00$  % ja suolaisessa vedessä  $0,02 \pm 0,00$  %. PRAS-kasvatettujen kirjolohien lämpötilariippuvainen kasvukerroin oli puolestaan makeassa vedessä  $0,06 \pm 0,00$  % ja suolaisessa vedessä  $0,00 \pm 0,00$  %. RAS-kasvatetut kirjolohet kasvoivat näin ollen merkitsevästi paremmin makeassa kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0000$ ). Myös PRAS-kasvatetut kirjolohet kasvoivat merkitsevästi paremmin makeassa kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0000$ ).

RAS-kasvatettujen kirjolohien maksat painoivat makeassa vedessä  $1,02 \pm 0,10$  % ja suolaisessa vedessä  $0,82 \pm 0,09$  % kirjolohien kokonaispainosta (kuva 6). PRAS-kasvatettujen kirjolohien maksat painoivat puolestaan makeassa vedessä  $0,97 \pm 0,11$  % ja suolaisessa vedessä  $0,73 \pm 0,11$  % kirjolohien kokonaispainosta. Näin ollen RAS-kasvatettujen kirjolohien maksat olivat makeassa vedessä merkitsevästi suurempia kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0001$ ). Myös PRAS-kasvatettujen kirjolohien maksat olivat makeassa vedessä merkitsevästi suurempia kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0000$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien sydämet painoivat makeassa vedessä  $0,13 \pm 0,01$  % ja suolaisessa vedessä  $0,12 \pm 0,01$  % kirjolohien kokonaispainosta. PRAS-kasvatettujen kirjolohien sydämet painoivat puolestaan makeassa vedessä  $0,13 \pm 0,01$  % ja suolaisessa vedessä  $0,11 \pm 0,01$  % kirjolohien kokonaispainosta. Täten RAS-kasvatettujen kirjolohien sydämet olivat

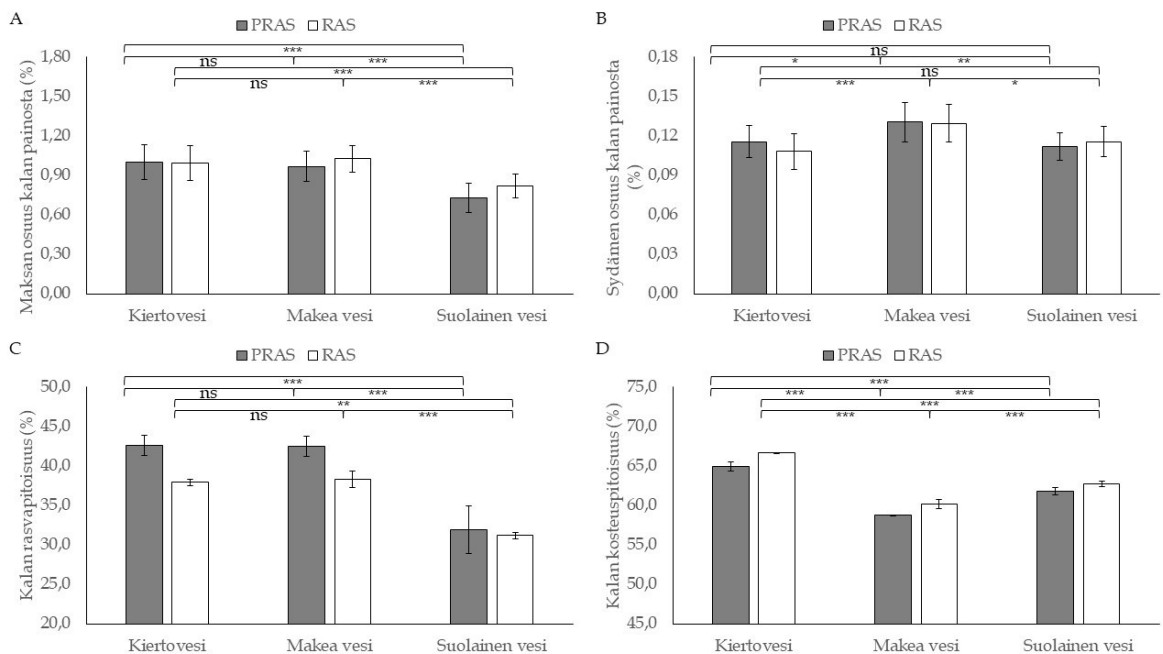


merkitsevästi suurempia makeassa kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0479$ ). Myös PRAS-kasvatettujen kirjolohien sydämet olivat makeassa vedessä merkitsevästi suurempia kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0024$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien rasvapitoisuus oli makeassa vedessä  $38,3 \pm 1,1$  % ja suolaisessa vedessä  $31,2 \pm 0,4$  %. PRAS-kasvatettujen kirjolohien rasvapitoisuus oli puolestaan makeassa vedessä  $42,5 \pm 1,3$  % ja suolaisessa vedessä  $31,9 \pm 3,0$  %. RAS-kasvatetut kirjolohet olivat siis merkitsevästi rasvaisempia makeassa kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0009$ ). Myös PRAS-kasvatetut kirjolohet olivat makeassa vedessä merkitsevästi rasvaisempia kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0000$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien kosteuspitoisuus oli makeassa vedessä  $60,1 \pm 0,5$  % ja suolaisessa vedessä  $62,7 \pm 0,3$  %. PRAS-kasvatettujen kirjolohien kosteuspitoisuus oli makeassa vedessä  $58,8 \pm 0,0$  % ja suolaisessa vedessä  $61,7 \pm 0,5$  %. RAS-kasvatettujen kirjolohien kosteuspitoisuus oli siis suolaisessa vedessä merkitsevästi suurempi kuin makeassa vedessä ( $p = 0,0001$ ). Myös PRAS-kasvatettujen kirjolohien kosteuspitoisuus oli suolaisessa vedessä merkitsevästi suurempi kuin makeassa vedessä ( $p = 0,0000$ ).

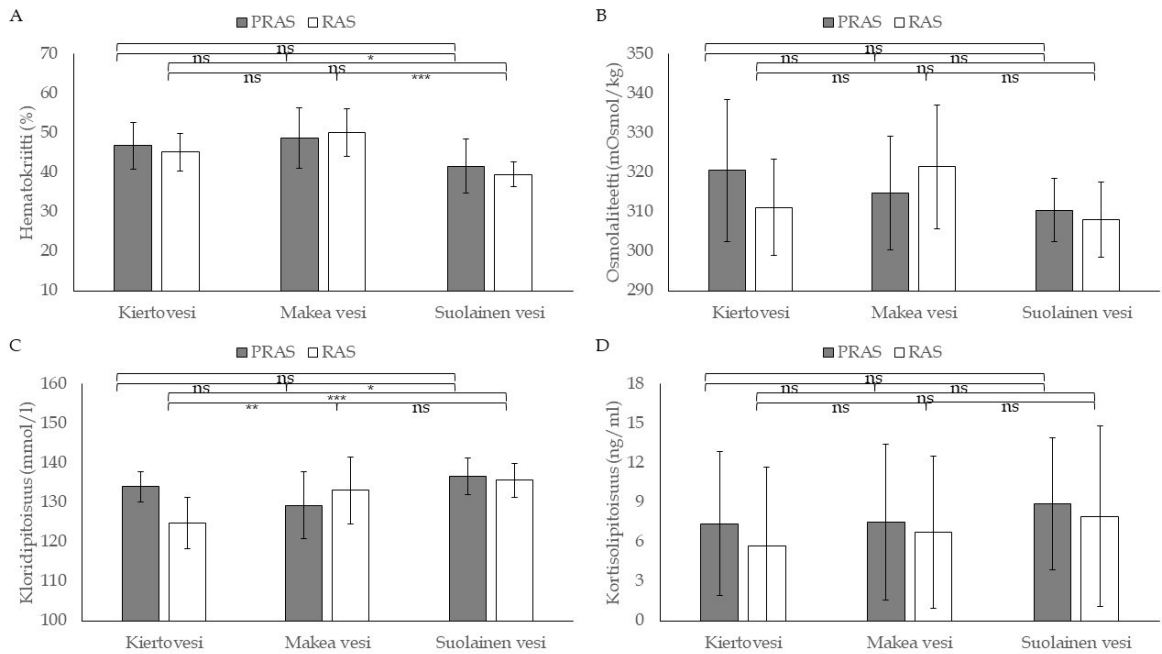
RAS-kasvatettujen kirjolohien veren hematokriitti oli makeassa vedessä  $50 \pm 6$  % ja suolaisessa vedessä  $39 \pm 3$  % (kuva 7). PRAS-kasvatettujen kirjolohien hematokriitti oli puolestaan makeassa vedessä  $49 \pm 8$  % ja suolaisessa vedessä  $41 \pm 7$  %. RAS-kasvatettujen kirjolohien veren hematokriitti oli makeassa vedessä merkitsevästi korkeampi kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0001$ ). Myös PRAS-kasvatettujen kirjolohien hematokriitti oli makeassa vedessä merkitsevästi korkeampi kuin suolaisessa vedessä ( $p = 0,0152$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman osmolaliteetti oli makeassa vedessä  $321 \pm 16$  mOsmol/kg ja suolaisessa vedessä  $308 \pm 10$  mOsmol/kg. PRAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman osmolaliteetti oli puolestaan makeassa vedessä  $315 \pm 14$  mOsmol/kg ja suolaisessa vedessä  $310 \pm 8$  mOsmol/kg. RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman osmolaliteetissa ei siis ollut merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,0812$ ). Myöskään PRAS-kasvatettujen kirjolohien osmolaliteetissa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,9441$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kloridipitoisuus oli makeassa vedessä  $133 \pm 8$  mmol/l ja suolaisessa vedessä  $136 \pm 4$  mmol/l. PRAS-kasvatettujen kirjolohien kloridipitoisuus oli puolestaan makeassa vedessä  $129 \pm 8$  mmol/l ja suolaisessa vedessä  $136 \pm 5$  mmol/l. Näin ollen PRAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kloridipitoisuus oli suolaisessa vedessä merkitsevästi korkeampi kuin makeassa vedessä ( $p = 0,0280$ ), mutta RAS-kasvatetuilla kirjolohilla merkitsevää eroa ei havaittu ( $p = 0,8653$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kortisolipitoisuus oli makeassa vedessä  $7 \pm 6$  ng/ml ja suolaisessa vedessä  $8 \pm 7$  ng/ml. PRAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kortisolipitoisuus oli puolestaan makeassa vedessä  $7 \pm 6$  ng/ml ja suolaisessa vedessä  $9 \pm 5$  ng/ml. RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kortisolipitoisuudessa ei täten ollut merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,9970$ ). Myöskään PRAS-kasvatettujen kirjolohien kortisolipitoisuudessa ei havaittu merkitsevää eroa makean ja suolaisen veden välillä ( $p = 0,9965$ ).



Kuva 5. Kiertovesi- (RAS) ja osittaiskiertovesikasvatettujen (PRAS) kirjolohien kasvusta syksyllä kiertovesiympäristössä sekä makeassa ja suolaisessa vedessä kertovat A) rehukerroin, B) kuntokerroin, C) kasvukerroin SGR ja D) lämpötilariippuvainen kasvukerroin TGC. \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns = *not significant*



Kuva 6. Kiertovesi- (RAS) ja osittaiskiertovesikasvatettujen (PRAS) kirjolohien sisäelinten koosta ja kirjolohien koostumuksesta syksyllä kiertovesiympäristössä sekä makeassa ja suolaisessa vedessä kertovat A) maksan ja B) sydämen koko (suhteellinen osuus kirjolohien kokonaispainosta (%)) sekä C) rasva- ja D) kosteuspitoisuus (%). \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns = *not significant*

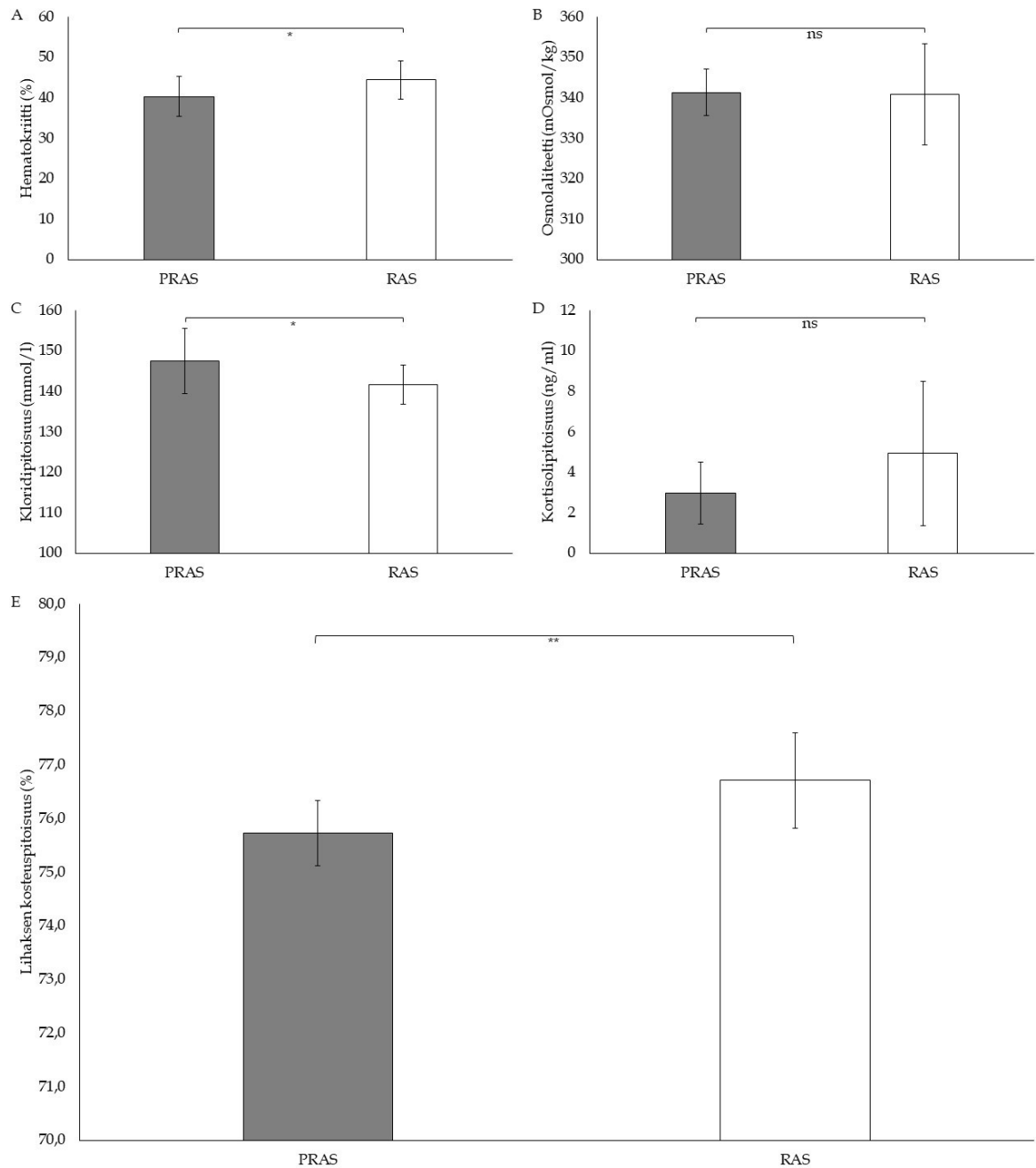


Kuva 7. Kiertovesi- (RAS) ja osittaiskiertovesikasvatettujen (PRAS) kirjolohien veriarvoista syksyllä kiertovesiympäristössä sekä makeassa ja suolaisessa vedessä kertovat A) veren hematokriitti (%) sekä veriplasman B) osmolaliteetti (mOsmol/kg), C) kloridipitoisuus (mmol/l) ja kortisolipitoisuus (ng/ml). \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns = not significant

### 3.3 Suola-altistustesti

Erillisen suola-altistustestin loppunäytteenotoista saatiin RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien veriarvoista ja kosteuspitoisuudesta kertovia tuloksia (kuva 8). RAS-kasvatettujen kirjolohien veren hematokriitti oli  $44 \pm 5$  % ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien  $40 \pm 5$  %. Näin ollen RAS-kasvatettujen kirjolohien veren hematokriitti oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kuin PRAS-kasvatettujen kirjolohien hematokriitti ( $p = 0,0311$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman osmolaliteetti oli  $341 \pm 13$  mOsmol/kg ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien  $341 \pm 6$  mOsmol/kg. RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman osmolaliteetissa ei siis ollut merkitsevää eroa ( $p = 0,8860$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kloridipitoisuus oli  $142 \pm 5$  mmol/l ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien  $147 \pm 8$  mmol/l. PRAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kloridipitoisuus oli näin merkitsevästi korkeampi kuin RAS-kasvatettujen kirjolohien kloridipitoisuus ( $p = 0,0275$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kortisolipitoisuus oli  $5 \pm 4$  ng/ml ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien  $3 \pm 2$  ng/ml. Näin ollen RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien veriplasman kortisolipitoisuudessa ei havaittu merkitsevää eroa ( $p = 0,0651$ ). RAS-kasvatettujen kirjolohien lihaksen kosteuspitoisuus oli  $76,7 \pm 0,9$  % ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien  $75,7 \pm 0,6$  %. RAS-kasvatettujen kirjolohien lihaksen kosteuspitoisuus oli

täten merkitsevästi suurempi kuin PRAS-kasvatettujen kirjolohien lihaksen kosteuspitoisuus ( $p = 0,0017$ ).



Kuva 8. Suola-altistustestissä (veden suolapitoisuus 28 ‰) olleiden kiertovesi- (RAS) ja osittaiskiertovesikasvatettujen (PRAS) kirjolohien veriarvoista ja koostumuksesta kertovat A) veren hematokriitti (%), veriplasman B) osmolaliiteetti (mOsmol/kg), C) kloridipitoisuus (mmol/l) ja D) kortisolipitoisuus (ng/ml) sekä E) lihaksen kosteuspitoisuus (%). \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ , ns = *not significant*

## 4 TULOSTEN TARKASTELU JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Tutkimuksen kasvatuskokeet onnistuivat hyvin, sillä kokeissa pääsääntöisesti havaitut rehu- ja kasvukertoimet ovat tyypillisiä tämän kokoisille kirjolohille (Austreng ym. 1987, Ympäristöministeriö 2013). Poikkeuksen tähän tekee toisella koejaksolla havaittu PRAS-kasvatettujen kirjolohien negatiivinen rehukerroin suolaisessa vedessä. Kyseisille kirjolohille yritettiin syöttää rehua, mutta ne eivät syöneet sitä, minkä seurauksena ne laihtuivat. Negatiivisen rehukertoimen selittää siis kyseisille kirjolohille annetun rehun määrä sekä syömättömyydestä johtuva kyseisten kirjolohien laihtuminen. Myös kiertovesialtaiden vedenlaatu pysyi kiertovesikasvatukselle tyypillisenä lukuun ottamatta korkeita kiintoainepitoisuuksia (Pulkkinen ym. 2019).

Ensimmäisen ja toisen koejakson perusteella voidaan sanoa, että RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien kasvuun lähtö eroaa makean ja suolaisen veden olosuhteisiin siirtämisen jälkeen. Kirjoloheet näyttäisivät kasvavan makeassa vedessä selvästi paremmin kuin suolaisessa vedessä. Suuremman kalan kasvuun lähtö näyttäisi puolestaan olevan heikompaa kuin pienemmän kalan kasvuun lähtö.

Pääosin voidaan olettaa, että alkukasvatuksella (RAS vai PRAS) ei ollut vaikutusta siirtojen onnistumiseen. Toisella koejaksolla myös RAS-kasvatetuilla kirjolohilla havaittiin heikentynyt kasvuun lähtö, vaikkakin ero PRAS-kasvatettuihin kirjolohiin oli erittäin selkeä. Tämä ero saattoi johtua RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien kokoeroista siirtovaiheessa, sillä RAS-kasvatetuilla kirjolohilla esiintyi siirron jälkeen kompensoivaa kasvua. Tulosten perusteella voidaankin olettaa, että kasvatusympäristö ja vedenlaatu eivät itsessään vaikuta siirtojen onnistumiseen vaan enemmän siihen vaikuttavat muun muassa jatkuva valaistus, ruokinta sekä kasvu.

Itämeren suolapitoisuus on keskimäärin noin 7 ‰ (Meier ja Kauker 2003), mikä on melko lähellä kirjolohen omaa fysiologista suolapitoisuutta (noin 9 ‰). Esimerkiksi Morgan ja Iwama (1991) ovat todenneet, että kirjolohi kasvaa makeassa vedessä ja suolapitoisuudeltaan 9 ‰ vedessä samalla tavalla. Kokeen suolaisen veden olosuhteiden olisi täten voinut kuvitella sopivan kokeessa käytetyille kirjolohille. RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien fysiologisissa vasteissa siirtoihin ei juurikaan havaittu merkitseviä eroja makean ja suolaisen veden välillä, joten stressi ei näyttäisi selittävän edellä mainittuja eroja kirjolohien kasvuun lähdössä makean ja suolaisen veden välillä. Mahdollisia selittäviä tekijöitä voisivat olla erot valon määrässä makean veden läpivirtausaltaiden ja suolaisen veden verkkokassialtaiden välillä, kalojen siirtäminen lyhenevään päivään sekä kalojen mahdollinen talveen valmistautuminen.

Kirjolohenpoikasella suora siirto makeasta vedestä meriveteen pitäisi onnistua noin 26 ‰ suolapitoisuuteen asti ilman näkyviä merkkejä stressistä (Finstad ym. 1988). Muissakin tutkimuksissa on kuitenkin havaittu, ettei kirjolohi kasva suolaisessa vedessä aina halutulla tavalla. Esimerkiksi Morgan ja Iwama (1991) havaitsivat, että kirjolohi kasvaa makeassa vedessä ja suolapitoisuudeltaan 9 ‰ vedessä samalla tavalla, mutta suolapitoisuuden noustessa 18 ‰:een kirjolohen kasvu hidastuu merkittävästi. Myös Morro ym. (2019) havaitsivat, että

meriveteen siirretyistä kirjolohista noin 14 % kasvoi vain vähän tai ei lainkaan kesäkuun ja syyskuun välisenä aikana. Nämä merivedessä huonosti menestyneet yksilöt olivat todennäköisesti meriveteen vaeltavan fenotyypin sijaan makean veden fenotyyppejä (Morro ym. 2019). Tsintsadze (1991) puolestaan havaitsi, että kirjolohen kasvu oli nopeinta suolapitoisuudeltaan 15–18 % (korkein kokeessa tutkittu suolapitoisuus) vedessä ja hidastui merkitsevästi suolapitoisuuden laskiessa. On siis jokseenkin yleinen ilmiö, ettei kirjolohta saada kasvamaan suolaisessa vedessä aina halutulla tavalla. Syyt tämän ilmiön taustalla eivät ole aina yksiselitteisiä, vaan taustalla voi olla useita eri tekijöitä.

Kalan koko vaikuttaa ympäristöolojen muutoksien sietokykyyn (Sinisalo ym. 2020). Esimerkiksi kirjolohen kyky sietää suolaista vettä paranee kirjolohen kasvaessa (Parry 1958). Pienemmän kalan kasvuun lähdön pitäisi periaatteessa olla uudessa ympäristössä heikompa, sillä pienempi kala on herkempi ympäristöolojen muutoksille. Tässä tutkimuksessa tulos oli kuitenkin päinvastainen. Suuremmat kirjolohet olivat eläneet kiertovesiolosuhteiden jatkuvassa valaistuksessa ja tasaisessa lämpötilassa pidempään kuin pienemmät kirjolohet. Mahdollisesti tämän vuoksi suurempien kirjolohien on vaikeampi sopeutua muuttuvaan elinympäristöön.

Vastaavanlainen ilmiö on havaittavissa myös muilla lajeilla. Esimerkiksi 100 g ja 200 g kokoiset lohen smoltit kasvoivat kiertovedestä siirtämisen jälkeen paremmin merivedessä kuin 600 g kokoiset lohen smoltit (Nofima 2018). Kiertovedessä onnistunut kasvu ja saavutettu koko eivät siis automaattisesti takaa hyvää kasvua merellä.

Kontrolloidulla suola-altistustestillä haluttiin selvittää RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien mahdollista suolaiseen veteen sopeutumista. Suola-altistustestissä ei kuitenkaan havaittu suuria eroja kirjolohien fysiologisissa vasteissa ja lihaksen kosteuspitoisuudessa RAS- ja PRAS-kasvatettujen kirjolohien välillä. Näin ollen ei voida sanoa, kumpi ryhmä loppujen lopuksi sopeutuisi suolaiseen veteen paremmin.

Vaikka tutkimuksen tutkimuskysymyksiin saatiin selkeitä vastauksia, syyt näiden vastausten takana jäivät vielä avoimiksi. Miksi eri kiertovesiolosuhteissa kasvatetut kirjolohet kasvavat huonommin suolaisessa vedessä kuin makeassa vedessä? Miksi suuremman kalan kasvuun lähtö on heikompa kuin pienemmän kalan kasvuun lähtö? Nämä syyt olisi hyvä pyrkiä selvittämään, jotta yhdistettyä kiertovesi- ja merikasvatusta voitaisiin tulevaisuudessa hyödyntää entistä paremmin. Ymmärtämällä syyt näiden nykyisten ongelmien taustalla olisi myös mahdollista kehittää uusia, entistä tehokkaampia ja erilaisiin tarpeisiin sopivia tuotantokiertoja ja -strategioita. Kehittämällä uusia tuotantokiertoja ja -strategioita voitaisiin mahdollisesti lisätä myös kotimaan kalatuotantoa.

## KIITOKSET

Tämä pro gradu -tutkielma on rahoitettu Euroopan meri- ja kalatalousrahaston vesiviljelyn innovaatio-ohjelman kautta. Kiitos puitteista ja taloudellisesta tuesta Luonnonvarakeskukselle ja Jyväskylän yliopiston bio- ja ympäristötieteiden laitokselle. Kiitos myös Luonnonvarakeskuksen Laukaan kalanviljelylaitoksen henkilökunnalle kaikesta opastuksesta ja avusta. Lopuksi haluan kiittää vielä ohjaajiani Juhani Pirhosta ja Jani Pulkkista tuesta, neuvoista ja kommentteista.

Jyväskylässä 15.05.2023  
Jonna Hänninen

## KIRJALLISUUS

- Atique F., Lindholm-Lehto P. & Pirhonen J. 2022. Is aquaponics beneficial in terms of fish and plant growth and water quality in comparison to separate recirculating aquaculture and hydroponic systems? *Water* 14: 1447.
- Austreng E., Storebakken T. & Åsgård T. 1987. Growth rate estimates for cultured Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture* 60: 157-160.
- Badiola M., Mendiola D. & Bostock J. 2012. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering* 51: 26-35.
- Bjørndal T. & Tusvik A. 2017. *Land based farming of salmon: economic analysis*. Working paper series No. 1/2017, saatavissa <http://hdl.handle.net/11250/2465608>
- Bregnballe J. 2015. *A Guide to Recirculation Aquaculture: An introduction to the new environmentally friendly and highly productive closed fish farming systems*. FAO & Eurofish International Organisation, Budapest & Copenhagen.
- Dalsgaard J., Lund I., Thorarinsdottir R., Drengstig A., Arvonen K. & Pedersen P. B. 2013. Farming different species in RAS in Nordic countries: Current status and future perspectives. *Aquaculture Engineering* 53 (2013): 2-13.
- Evira. 2016. *Tarkastus ja näytteenotto-ohje vesiviljelylaitoksia valvoville eläinlääkäreille*. Vesiviljelylaitosten valvontaopas 15303/6.
- FAO 2020: *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. FAO, Rome.
- Finstad B., Staurnes M. & Reite O. B. 1988. Effect of low temperature on sea-water tolerance in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture* 72: 319-328.
- Goddek S., Joyce A., Kotzen B. & Burnell G. M. 2019. *Aquaponics Food Production Systems. Combined Aquaculture and Hydroponic Production Technologies for the Future*. Springer Nature Switzerland AG, Cham
- Hardy R. W. 2002. Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Teoksessa: Webster C. D. & Lim C. (toim.), *Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture*, CAB International, Wallingford, 184-202 s.

- Houle S., Schrader K. K., Le François N. R., Comeau Y., Kharoune M., Summerfelt S. T., Savoie A. & Vandenberg G. W. 2011. Geosmin causes off-flavour in arctic charr in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture Research* 42: 360–365.
- Kankainen M. & Niukko J. 2014. *Kalankasvatuksen tuotanto-olosuhteet Suomen rannikolla*. Riista- ja kalatalous: Tutkimuksia ja selvityksiä 8/2014. Saatavissa <http://jukuri.luke.fi/handle/10024/519800>
- Kankainen M., Vielma J., Koskela J., Niukko J. & Niskanen L. 2020. *Olosuhteiden vaikutus kirjolohen kasvatuksen tehokkuuteen Suomen merialueilla*. Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 28/2020. Saatavissa <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-326-957-6>
- Koskela J., Vielma J., Vehviläinen H., Riihimäki J., Pellinen M., Bomberg J. & Kytömaa L. 2019. *Kirjolohen yhdistetty kiertovesi- ja merikasvatus*. Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 28/2019. Saatavissa <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-326-751-0>
- Lekang O.-I. 2020. *Aquaculture Engineering*. John Wiley & Sons, Incorporated, Hoboken.
- Lindholm-Lehto P. C. & Vielma J. 2019. Controlling of geosmin and 2-methylisoborneol induced off-flavours in recirculating aquaculture system farmed fish - A review. *Aquaculture Research* 50: 9–28.
- Lloyd S. W. & Grimm C. C. 1999. Analysis of 2-methylisoborneol and geosmin in catfish by microwave distillation-solid-phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 164–169.
- Meier H. E. M. & Kauker F. 2003. Modelling decadal variability of the Baltic Sea: 2. Role of freshwater inflow and large-scale atmospheric circulation for salinity. *Journal of Geophysical Research* 108: C11.
- Morgan J. D. & Iwama G. K. 1991. Effects of salinity on growth, metabolism and ion regulation in juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fall chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48: 2038–2094.
- Morro B., Balseiro P., Albalat A., Pedrosa C., Mackenzie S., Nakamura S., Shimizu M., Nilsen T. O., Sveier H., Ebbesson L. O. & Handeland S. O. 2019. Effects of different photoperiod regimes on the smoltification and seawater adaptation of seawater-farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Insights from Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity and transcription of osmoregulation and growth regulation genes. *Aquaculture* 507: 282–292.
- Naukkarinen M. 1981. *Kalanviljelystä ja kalanviljelylaitoksen vesityksen suunnittelusta*. Vesihallituksen monistesarja 87/1981. Saatavissa <http://hdl.handle.net/10138/300900>
- Nofima 2018. Large smolt not always best. <https://nofima.com/results/large-smolt-not-always-best/> (luettu 28.4.2023).
- Parry G. 1958. Size and osmoregulation in salmonid fishes. *Nature* 181: 1218–1219.
- Pulkkinen J. T., Eriksson-Kallio A. M., Aalto S. L., Tirola M., Koskela J., Kiuru T. & Vielma J. 2019. The effects of different combinations of fixed and moving bed bioreactors on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth and health, water



- quality and nitrification in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 85: 98–105.
- Rahkonen R., Vennerström P., Rintamäki P. & Kannel R. 2012. *Terve kala: Tautien ennaltaehkäisy, tunnistus ja hoito*. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, Helsinki.
- Saimaan tuore 2018. Suomalaista pioneerityötä. <https://www.saimaantuore.fi/yritys/> (luettu 9.5.2023).
- Saura A. & Varjo M. 2009. *Kalat Suomen luonnossa*. Kustannusosakeyhtiö Otava, Helsinki.
- Setälä J., Kankainen M., Suomela J., Vielma J. & Tarkki V. 2014. *Vesiviljelyn sijainninohjaussuunnitelman ympäristöselostus*. RKTL:n työraportteja 24/2014. Saatavissa <http://jukuri.luke.fi/handle/10024/519946>
- Silvenius F. 2000. *Kalankasvatus ja ympäristö. Kalankasvatuksen prosessikuvaus*. Kala- ja riistaraportteja 198. Saatavissa <http://urn.fi/URN:ISBN:951-776-291-7>
- Sinisalo K., Salminen R., Kankainen M. & Vielma J. 2020. *RantaRAS – Selvitys rantaan sijoitettavan kiertovesilaitoksen ja kalojen talvivarastoinnin mahdollisuuksista Suomen rannikolla*. Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 50/2020, saatavissa <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-380-008-3>
- Stevčić Č., Pulkkinen K. & Pirhonen J. 2019. Screening of microalgae and LED grow light spectra for effective removal of dissolved nutrients from cold-water recirculating aquaculture system (RAS) wastewater. *Algal Research* 44: 101681.
- Suomen virallinen tilasto 2022. Vesiviljely 2021. <https://www.luke.fi/fi/tilastot/vesiviljely> (luettu 2.8.2022).
- Timmons M. B., Guerdat T. & Vinci B. J. 2018 *Recirculating aquaculture*. Ithaca Publishing Company LLC, Ithaca.
- Tsintsadze Z. A. 1991. Adaptational capabilities of various size-age groups of rainbow trout in relation to gradual changes of salinity. *Journal of ichthyology* 31 (3): 31–38.
- Ympäristöministeriö 2013. *Kalankasvatuksen ympäristönsuojeluohje*. Ympäristöhallinnon ohjeita 2013:1, saatavissa <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-11-4194-2>
- Ympäristöministeriö 2020. *Kalankasvatuksen ympäristönsuojeluohje*. Ympäristöministeriön julkaisuja 2020:22, saatavissa <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-361-252-5>