

OPPIMATERIAALEJA

PUHEENVUOROJA

RAPORTEJA 152

TUTKIMUKSIA

Sami Skyttä & Raisa Kääriä

VESIHOMEEN EHKÄISY MÄDINHAUDONNASSA

Tutkimusraportti kuparikuidun ja
kuparisulfaatin mahdollisuuksista



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

OPPIMATERIAALEJA
PUHEENVUOROJA
RAPORTTEJA 152
TUTKIMUKSIA

Sami Skyttä & Raisa Kääriä

VESIHOMEEN EHKÄISY MÄDINHAUDONNASSA

Tutkimusraportti kuparikuidun ja
kuparisulfaatin mahdollisuuksista



EU investoi kestävään
kalatalouteen!



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES



Suomen elinkeinokalatalouden
toimintaohjelma
2007-2013

TURUN AMMATTIKORKEAKOULUN
RAPORTTEJA 152

Turun ammattikorkeakoulu
Turku 2013

ISBN 978-952-216-343-1 (painettu)

ISSN 1457-7925 (painettu)

Painopaikka: Suomen Yliopistopaino – Juvenes Print Oy, Tampere 2013

ISBN 978-952-216-344-8 (PDF)

ISSN 1459-7764 (elektroninen)

<http://julkaisut.turkuamk.fi/isbn9789522163448.pdf>



ENGLISH SUMMARY

PREVENTING WATER MOLD IN HATCHING RAINBOW TROUT EGGS – A REPORT CONCERNING THE POSSIBILITIES OF COPPER FIBER AND COPPER SULFATE

Water molds infect fish eggs during hatching but also grown fish, especially if their immunity is weakened. The most common strain of water mold found in Finnish waters is *Saprolegnia* sp. Malachite green was commonly used to prevent water mold, but it has not been allowed for use after 2001.

In this study, we made experiments by using copper fiber and copper sulfate to prevent water mold infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs during hatching. The main purpose was to examine how much copper is needed to prevent eggs from getting infected with water mold.

The experiments were made in the spring of 2011 (copper fiber) and in the spring of 2012 (copper sulfate) on a fish farm of Huutokosken Arvo-Kala in Hatsina, Finland. The farm uses groundwater.

It was discovered that 300 g of copper fiber was required to prevent water mold infection, with an average flow rate of 3.4 liters/minute. The hatching percentage was 42%, which was partly due to low quality of the eggs used in the study, since farming conditions were poor in the spring of 2011 when the study was carried out. It was also discovered in the analysis conducted by Evira (Finnish Food Safety Authority) that in the hatched fish the copper concentrations measured from fresh weight of the fish were 0.39–3.6 mg/kg.

In the copper sulfate experiment a manger made of clear plastic was used. It consisted of six sections of 6.5 liters water volume in each. The water flow was 1 l/min and in each section there were 2 dl rainbow trout's eggs. The eggs were treated daily with 40 ml of copper sulfate solution (10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l and 50 mg/l were used.) Any mold observed was taken down (0 = no mold, 1 = a little mold, 2 = very much mold).

On the eggs that were treated with 30 mg/l and 50 mg/l copper sulfate solution, no water mold was observed. On the treatments of 10 mg/l and 20 mg/l a little water mold was observed and in the control samples (no copper treatment) very much mold was observed. The hatching percent was 64–77%, but 0% in the control samples. The copper concentration in the newly hatched larvae was high in the copper sulfate treatment: 161–184 mg/kg fresh weight.

According to the results of this study, copper fiber and copper sulfate could suit to be an option for other chemicals in preventing water mold. It should be noted that the same amounts of copper used in these experiments cannot be used elsewhere without additional consideration having to do with the water quality. In this case, the pH of the used water was around 7, the alkalinity 0.54 mmol/l and the solid substance under 2 mg/l. The fish must not be subjected to too much copper ions – especially for fish larvae this can have adverse effects.

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	6
2	AINEISTO JA MENETELMÄT	9
	2.1 Koepaikka	9
	2.2 Koeasetelma kuparikuitukokeessa	10
	2.3 Kuparisulfaattikoe	16
3	TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU	20
	3.1 Kuparikuitukoe	20
	3.2 Kuparisulfaattikoe	23
	3.3 Johtopäätökset	26
	LÄHTEET	27
	LIITTEET	29

I JOHDANTO

Vesihome on yleinen nimitys vedessä eläville sienille. Suomessa yleisin on Saprolegnia-lajiin kuuluva sieni. Se elää pääasiassa makeassa vedessä, mutta on sitä tavattu murtovedessäkin. Sienirihma elää vesistöissä johonkin kiinteään kiinnittyneenä (Eskelinen 2003).

Saprolegnia-sienen elinkierto on monimutkainen, ja siihen kuuluu useita eri vaiheita, joissa se voi lisääntyä. Sieni voi lisääntyä niin suvullisesti kuin suvuttomastikin. Suvuton on kuitenkin yleisempää (Noga 1993). Sekundäärisiä parveiluitiöitä pidetään pääasiallisena homesienien leviämistapana. Ne voivat elää vapaina useita päiviä tai asettua lepoitiöiksi, jotka alkavat kasvattaa sienirihmaa olosuhteiden tullessa sopiviksi.

Vedessä esiintyvät homesienet aiheuttavat kaloille tautitilan, joka näkyy vaaleana pumpulimaisena sienirihmakasvustona. Home näkyy parhaiten kalan ollessa vedessä – pinnalle nostaessa se muistuttaa lähinnä limaista kohoumaa kalan pinnalla.

Kalan mädin haudonnassa vesihometartunta on yleinen ongelma. Euroopassa yleinen käytettävä tapa oli kylvettä mäti malakiittivihreäkylvetyksillä. Euroopan unioni kielsi malakiittivihreän käytön vuonna 2001 (Makkonen & Pursiainen 2004, 1). Ennen kieltoa alettiin etsiä malakiittivihreälle korvaavia kemikaaleja ja vaihtoehtoja (Suomessa mm. Eskelinen ym. 2000, Rahkonen 2000, Pylkkö ja Eskelinen 2001, Eskelinen 2002 sekä Eskelinen 2003).

Kemikaalien lisäksi vesihomeen tartunnan estämiseksi on kokeiltu veden fyysikaalista desinfiointia UV-valolla. Yksi tällaisista laitteistoista on ainakin ruotsalaisen yrityksen kehittämä ”Ben Rad”. Laitteistoa on testattu mm. Norjassa, ja siitä on saatu lupaavia tuloksia; laitteisto on edullinen käyttää, mutta laitteiston hankintahinta on kallis. (Kaijser ym. 2001a ja 2001b). Myös Suomessa Ben Rad-laitteistoa on testattu Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksissa (Laukaa, Saimaa ja Taivalkoski). (Makkonen ja Pursiainen 2004).

Tällä hetkellä Suomessa käytetään vesihomeen torjunnassa kalan mädeissä pääsääntöisesti kahta kemikaalia (Pyceze ja Formaliini). Kemikaalien käytön tarkoitus on estää vesihomeen tarttuminen mätiin. Vesihome tarttuu erityisen helposti mätimuniin, jotka ovat kuolleita ja joissa sienirihmat muodostavat uusia sienitiöitä (Rahkonen ym. 2000). Suomessa mädin haudonnan aikana kuolleet mätimunat pyritään poistamaan elävien mätimunien joukosta poimimalla. Se on

kallista ja aikaa vievää käsityötä. Tämän vuoksi olisi hyvä löytää edullinen, tehokas ja ympäristöystävällinen hoitokeino mädelle vesihomeen estämiseksi. Kun kuollut mätimuna hajoaa veteen, se antaa ravintolisän vedessä oleville bakteereille ja sienille (Barker ym. 1989, Barnes ym. 1997).

Lohenkasvattajan oppaassa (Halme ja Orpana 1968) kerrotaan kuparisulfaatin käytöstä kalojen kylvetyksessä – lähinnä bakteeritautien ehkäisyssä ja kalan pinnalla elävien alkueläinten torjunnassa. Oppaassa mainitut pitoisuudet ovat huomattavasti suurempia kuin mitä tässä projektissa kokeiltiin.

Kuparikuitua alettiin käyttää kalojen mädin haudonnan yhteydessä ensi kertaa Japanissa 1998. (Miura M. ym 2011). Syynä oli tieto malakiittivihreä-kemikaalin tulevasta kieltämisestä kalanviljelyssä Japanissa 2001, minkä vuoksi muita vaihtoehtoja oli löydettävä vesihomesienien torjumiseksi. Malakiittivihreä oli todella tehokas ja edullinen hoitomuoto kalanviljelyssä, mutta sen todettiin olevan ihmisille vaarallinen ja sen oletettiin jopa aiheuttavan syöpää. (Miura 2011).

Japanilainen tutkimusryhmä Yamanashin prefektuurin kalankasvatusteknologiakasvatuksessa (YPFTC) kehitti vaihtoehdoisen keinon käyttämällä kuparikuituja. Japanissa jo yli 120 poikaslaitosta käyttää kuparikuitua vesihomeen torjunnassa. (Miura M. 2010). Myös Chilessä on alettu tutkia ja käyttää kuparikuitua kalankasvatuksen eri muodoissa. (Miura 2010).

Kuparisulfaattia (CuSO_4) on kokeiltu kalanviljelyssä mm. USA:ssa. Siellä on tutkittu, kuinka kuparisulfaatti soveltuu monnin (*Ictalurus punctatus*) mätimunien suojaamiseen vesihomeelta. Optimaalinen pitoisuus kokeissa oli 10 mg/l. Käytetyn kuparisulfaattijauheen on todettu olevan tehokkuutensa lisäksi myös edullisempaa kuin monet muut menetelmät. (Straus ym 2009 ja Straus D. ym. 2011). Kuparisulfaatti auttaa myös valkopilkkutautia aiheuttaviin loistartuntoihin (*Ichthyophthirius*) ja vesihomeeseen kasvatuslammikoissa, joissa on täysikasvuista kalaa. (MacMillan 1985; Tucker and Robinson 1990; Bly et al. 1992; Noga 1996).

Suomessa ei ole tiettävästi ennen kokeiltu kuparikuidun tai kuparisulfaatin käyttöä vesihomeen tartunnan estämiseksi mädin haudonnan aikana. Tässä tutkimuksessa selvitettiin Suomen olosuhteissa, onko kuparilla merkitystä vesihomeen torjunnassa kirjolohen mädissä haudonnan aikana sekä minkälaiset pitoisuudet vesihomeen estämiseksi tarvitaan. Ensimmäisessä kokeessa käytettiin kuparikuitua ja toisessa kuparisulfaattia.

KIITOKSET

Hankkeen rahoitukseen osallistuivat EU:n kalatalousrahasto (Suomen elinkeinokalatalouden toimintaohjelma) ja Biomar Oy. Elintarviketurvallisuusvirasto EVIRA suoritti kuoriutuneiden poikasten kuparipitoisuusmääritykset. Kalatalous- ja ympäristöopisto Livian lehtori FM Antti Forsman ja lehtori iktyonomi (AMK) Pasi Korvonen olivat mukana työn suunnittelussa ja ohjauksessa. Huutokosken Arvokala Oy antoi projektille käyttöön tarvittavat tilat. Käytännön toteutuksessa avustivat Hatsinan kalanviljelylaitoksen laitospäällikkö Perttu Pöllänen sekä Juho Anonen ja Saku Salonen.

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1 KOEPAIKKA

Kokeet tehtiin Hatsinan kalanviljelylaitoksella Hollolassa. Laitos on läpivirtauslaitos ja ns. pohjavesilaitos, jonka vesi on lähtöisin Sepänpurosta, johon vesi taas tulee läheisistä Kiikun lähteistä. Koepaikaksi laitos sopi erinomaisesti, koska vesi on laadullisesti hyvää ja kylmää. Haudontavedestä analysoitiin molempien kokeiden aikana kertaalleen veden happamuus (pH), väriluku, rauta (Fe), kupari (Cu), kiintoaine, alkaliteetti ja sähkönjohtavuus (Taulukko 1, Liite 2). Vedestä mitattiin myös kokeiden aikana veden lämpötilaa, happipitoisuutta ja sähkönjohtokykyä useita kertoja. Veden pH ja sähkönjohtavuus olivat hyvin tasaisia kokeiden ajan. Veden pH oli jatkuvasti neutraalin pH-arvon 7 tasolla. Myös sähkönjohtavuus pysyi tasaisena kokeiden ajan. Veden happipitoisuus oli 10–11 mg/litrassa ja myös sähkönjohtokyky oli hyvin alhainen. Veden lämpötila oli kuparikuitukokeessa 6–7,5 °C ja kuparisulfaattikokeessa 6–9 °C. Veden kokonaiskovuus (Ca+Mg) mitattiin 31.8.2012 ja se oli 0,41 mmol/l (pehmeää).

TAULUKKO 1. Veden laatu kokeiden aikana.

	24.05.2011	29.5.2012
Väriluku	< 5 mg Pt/l	< 5 mg Pt/l
pH	7	6,9
Sähkönjohtavuus	12 mS/m	11 mS/m
Alkaliteetti	0,53 mmol/l	0,54 mmol/l
Kiintoaine	< 2,0 mg/l	
Kupari (Cu)	< 1 µg/l	27 µg/l
Rauta (Fe)	< 1 µg/l	<10 µg/l
Lämpötila	+6,2 °C	
Happi	10,2 mg/l	

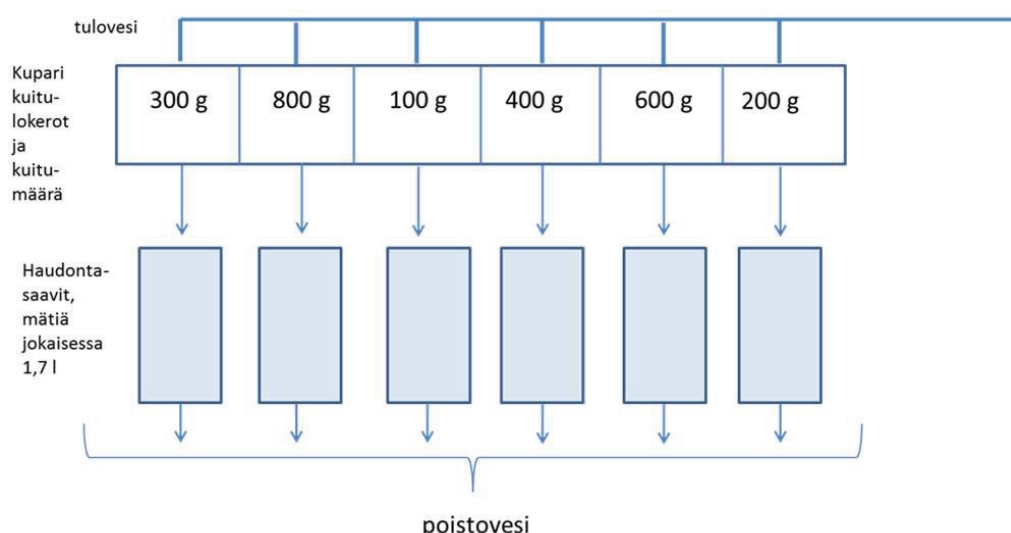
2.2 KOEASETELMA KUPARIKUITUKOKEESSA

2.2.1 Kuparikuitu

Kuparikuitu (copper fiber) tilattiin Japanista. Kuparikuitu on 99-prosenttisesti puhdasta kuparia. Kuitu oli 0,002 mm paksuista, pehmeää ja puuvillamaista. Kuparikuitua on saatavilla myös Euroopasta (Italiasta). Myös Intiasta on mahdollisuus tilata kuparikuitua, mikä tuli ilmi vasta kokeen ollessa jo käynnissä. Kuitua tilattiin 10 kiloa kustannusten ollessa Suomeen veroineen ja rahteineen noin 600 €.

Kokeessa käytettiin seuraavia kuparikuitumääriä: 100, 200, 300, 400, 600 ja 800 g. Kuidut vaihdettiin kertaalleen uusiin. Kuidun vaihto suoritettiin 10.6.2011, 26 vuorokautta kokeen aloituksesta. Kuitumäärät punnittiin milligramman tarkkuudella. Kuparikuitua leikattiin tavallisilla taloussaksilla ja käsitellessä käytettiin suojakäsineitä.

Kuparikuitu laitettiin ns. kuparikuitukaukaloon, jossa oli kuusi erillistä lokeroa. Kuitukaukalo oli valmistettu 1 mm:n paksuisesta galvanoidusta pellistä. Jokaisen lokeron tilavuus oli 12 litraa. Lokeroiden pohjassa oli läpiviennit, joista letkuilla johdettiin vesi eteenpäin haudontasaaveihin. Vesi johdettiin jokaiseen lokeriin erillisillä letkuilla, joissa oli säädettävät palloventtiilihanat. Vesi johdettiin laitoksen omasta runkovesilinjasta ja omalla paineellaan. Jokaiseen lokeroon johdettiin vettä 3,4 l/min. Lokeroihin arvottiin kuparikuidun määrä satunnaiseen järjestykseen siten, että lokerossa 1 oli kuitua 300 g, lokerossa 2 oli 800 g, lokerossa 3 oli 100 g, lokerossa 4 oli 400 g, lokerossa 5 oli 600 g ja lokerossa 6 oli 200 g. (Kuvat 1 ja 2.)



KUVA 1. Koeasetelma kuparikuitukokeessa.



KUVA 2. Kuparikuitukaukalo, jossa on kuusi erillistä allasta kuparivilloille sekä kaksi kontrollisaavia, joihin vesi tulee suoraan tulovedestä ilman kuparikäsittelyä.
Kuva: Raisa Kääriä.

Kuparikuidut olivat omissa lokeroissaan. Uusi kuitu asetettiin samaan paikkaan, jossa vanhakin kuitu oli ollut. (Kuva 3.)



KUVA 3. Kuparikuitu lokerossaan. Kuva: Sami Skyttä.

2.2.2 Haudontasaavit

Haudontasaavit valmistettiin muovista siten, että ne soveltuivat mädin haudontaan. Saaveja oli kaiken kaikkiaan kuusi. Vesi johdettiin kuparikuitukaukalosta letkuilla haudontasaavien alaosaan, joista vesi meni saaviin. Saavien sisällä oli kartionmalliset tiheät sihdit, jotka oli valmistettu ruostumattomasta teräsverkosta.

Mäti asetettiin sihtien päälle. Vesi poistui haudontasaavin yläosasta poistoletkun kautta kaivoon. Saavien sisätilan vetoisuus oli noin 10 litraa. Kokeessa mätiä laitettiin jokaiseen haudontasaaviin 1,7 litraa (Kuva 4.) Mätiä olisi laitettu enemmän, mutta ongelmana oli mädin saanti. Näin ollen tätä koetta ei voi verrata normaalituotantoon, jossa haudontasaaveissa olisi 10 litran mätimäärä.



KUVA 4. Kuusi haudontasaavia, joissa mäti haudottiin. Kuva: Sami Skyttä.

2.2.3 Kontrollit

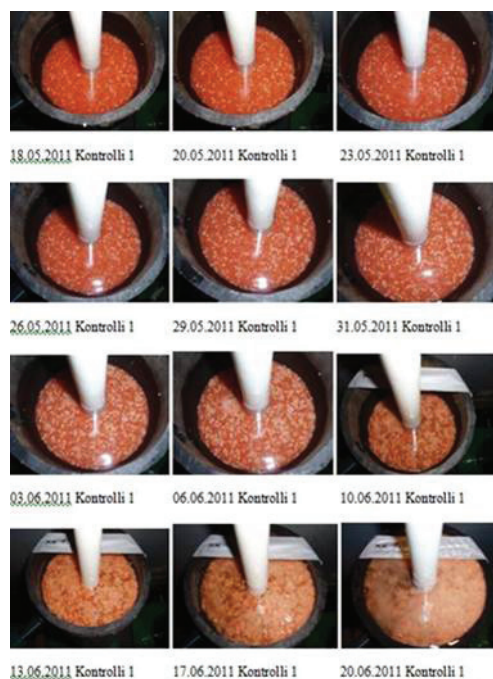
Kontrolliyksiköitä oli kaksi kappaletta. Niihin ei johdettu kupari-ionisoituvaa vettä, vaan niihin haudontavesi tuli suoraan laitoksen runkolinjastosta omalla paineellaan. Kontrolleihin johdettava haudontaveden määrä oli sama 3,4 l/min kuin haudontasaaveihinkin. Mätimäärä oli 1,7 l. (Kuva 5.)



KUVA 5. *Kaksi kontrolliyksikköä, joihin ei johdettu kupari-ionisoitua vettä. Kuva: Sami Skyttä.*

2.2.4 Vesihomeen esiintymisen arviointi

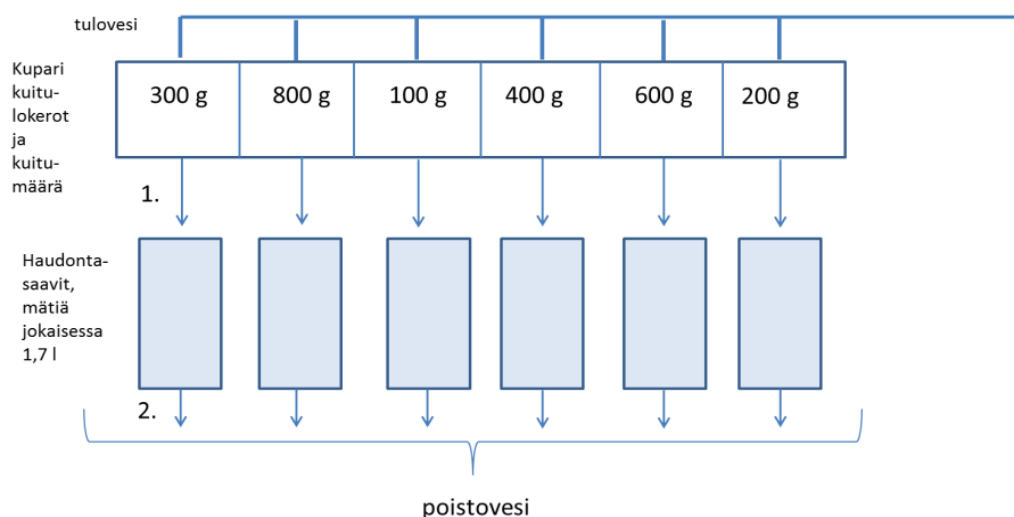
Vesihometta arvioitiin silmämääräisesti asteikolla 0–2. (0 = ei homeetta, 1 = homeetta, 2 = täysin homeessa). Homeen esiintyminen kirjattiin päiväkirjaan. Mädit kuvattiin kameralla useita kertoja ja niistä valmistettiin kuvakollaasit, joista pystyy myös seuraamaan vesihomeen kasvuston lisääntymisen mädissä. (Kuva 6).



KUVA 6. Vesihomeen kehitysasteet mädissä (kontrolli 1), esimerkki kuvakollaasista.

2.2.4 Kuparin liukeneminen haudontaveteen

Koejärjestelmästä otettiin vesinäytteitä heti kuparikuitultaan jälkeen sekä mäti-saavin jälkeen. Näin saatiin selville, kuinka paljon kuparikuidusta liukenee kuparia veteen ja mikä veden kuparipitoisuus on sen kuljettua mädin läpi (kuva 7).



Vesinäytteiden ottopaikat kohdista 1 ja 2 jokaisen lokeron ja saavin jälkeen.

KUVA 7. Vesinäytteiden ottopaikat kuparikuidusta veteen liukenevan kuparimäärän selvittämiseksi.

Vesinäytteet otettiin ja analysoitiin neljä kertaa:

- kuuden vuorokauden jälkeen kokeen käynnistämisestä
- 56 päiväasteen aikaan
- 182 päiväasteen aikaan
- kuparikuitujen vaihtamisen (203 päiväastetta) jälkeen 252 päiväasteen aikoihin.

Viidesti (56, 182, 203, 252 ja 274 päiväastetta) mitattiin myös kaikkien haudontasaavien yhteinen poistoveden kuparipitoisuus.

2.2.5 Mäti

Kokeessa käytetty mäti oli kirjolohen (*Oncorhynchus mykiss*) mätiä. Se oli lypsetty 4-vuotisista emokaloista 16.5.2011 Tervon RKTL:n laitoksella. Mäti oli hedelmöitetty, turvotettu, desinfioitu ja huuhdeltu ennen noutoa. Desifoinnissa oli käytetty Buffodine-merkkistä kemikaalia. Mäti kuljetettiin happipakkauksessa Hatsinan laitokseen. Kaiken kaikkiaan mätiä oli 13,8 l. Ennen haudontasaaveihin laittoa mädin lämpötilaa tasattiin 4 tuntia +12 °C asteesta +6 °C asteeseen. Mädin koko oli halkaisijaltaan 4,2 mm. 25 senttimetrin matkalla mätimunia oli 60 kpl. Mätimunia oli yhteensä noin 14 000 kpl/l.

2.2.6 Mädin lajittelu

Mäti lajiteltiin siilokohtaisesti, kun päiväasteita oli 352. Lajittelussa silmäpistevaiheessa olevasta mädistä poistettiin kuolleet mätimunat. Kone poisti alle 3,5 mm:n mätimunat. Lajitteluun käytettiin Winsorter WB9 -merkkistä lajittelukonetta. Kone siirtää sivuun kuolleen ja hedelmöittymättömän mätimunan. Mäti käsiteltiin koneella kahdesti peräkkäin. Puhdas ja terve mäti siirrettiin takaisin haudontasaaveihin.

2.2.7 Kalanäytteet

Mäti siirrettiin neljälle eri haudonta-asetille kuoriutumaan 400 päiväasteen jälkeen. Jokaisesta asetista otettiin ruskuaispussivaiheessa olevia yhden tai kahden sekä kahdeksan vuorokauden ikäisiä poikasia näytepurkkeihin noin 10 g. (Kuva 8). Purkki täytettiin vedellä siten, ettei sinne jäänyt ilmaa. Purkit säilöttiin pakastimessa -18 °C:een lämpötilassa. Sama menetelmä toistettiin viikon päästä kalojen kuoriutumisen.

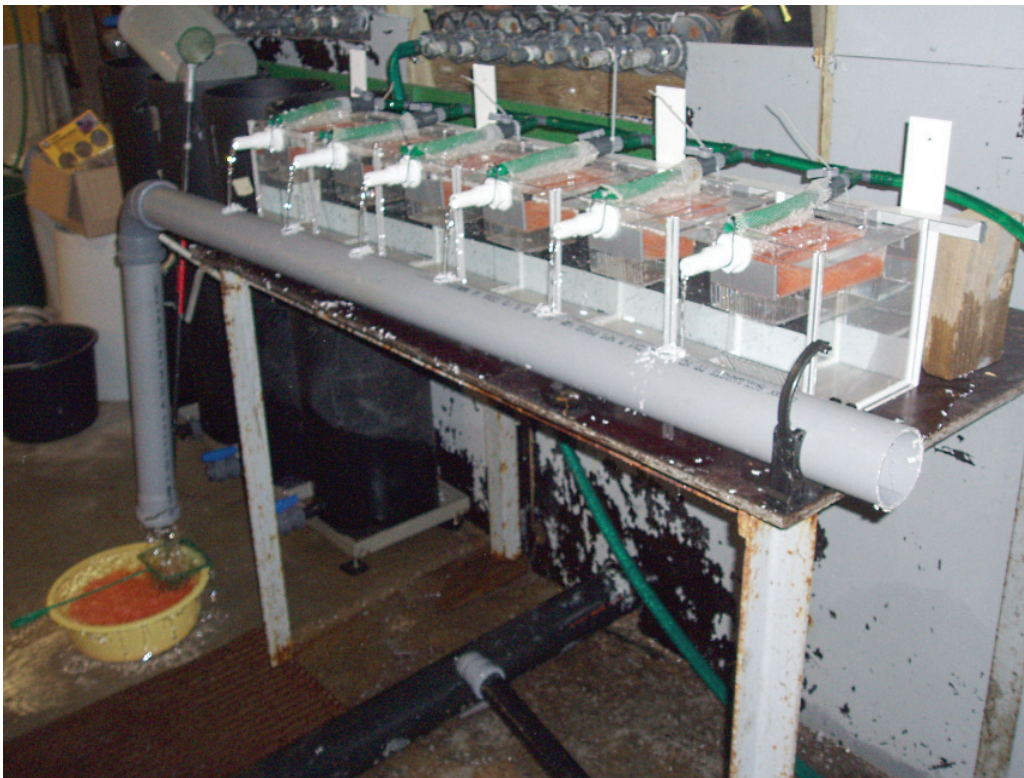
Näytteet lähetettiin pakastettuina ja kylmälaukkuun pakattuina Eviraan tutkitavaksi. Siellä näytteet sulatettiin ja poikaset jauhettiin massaksi, josta analysoitiin kuparipitoisuus (Cu). Kalanäytteet otettiin, kun päiväasteita oli 480 ja 576.



KUVA 8. Vuorokauden ikäisiä kirjolohen poikasia haudonta-asetilla. Kuva: Sami Skyttä.

2.3 KUPARISULFAATTIKOE

Haudontakokeessa käytettiin kirkkaasta akryylimuovista valmistettua kaukaloa, jossa oli kaiken kaikkiaan kuusi lokeroa. Kaukalon mitta oli pituudeltaan 120 cm, leveys 20 cm ja korkeus 20 cm. Vesitila oli kussakin lokerossa 6,5 litraa (Kuva 9).



KUVA 9. Mädin haudontakoeyksikkö. Kuva: Sami Skyttä.

Virtaama kokeessa oli 1 l / min. Jokaiseen lokeroon tuli oma vesitys yhteisestä runkovesiputkesta. Runkovesiputkesta tuli vesiletku, joissa oli t-liitoskappaleet, joista vesi johdettiin letkulla jokaiseen lokeroon. Ennen lokeroa olevassa letkussa oli palloventtiilihana, millä veden virtausta pystyttiin säätämään siten, että kuhunkin asetettiin saatiin sama veden virtaama. Jokaisessa lokerossa oli läpinäkyvä asetti. Lokerot numeroitiin numeroinnilla 1–6. Lokerot 1–4 olivat kuparisulfaattiosioita ja lokerot 5–6 toimivat kontrolleina. Jokaiseen asetettiin mitattiin 2 dl kirjolohen mätiä (Kuva 10).



KUVA 10. Yksittäinen mädin haudontalokero. Kuva: Sami Skyttä.

Tervon RKTL toimitti mädin, joka lypsettiin 25.4.2012 laitoksen omista emokaloista. Mäti hedelmöitettiin Hatsinan laitoksella siellä olleiden koiraiden maidilla. Maiti otettiin kahdesta eri koirasta. Mäti oli saavissa, johon maiti sotkettiin huolellisesti. Hetken odottelun jälkeen mäti huuhdeltiin ja sen jälkeen turvotettiin. Kun mäti oli turvonnut, se mitattiin niin, että jokaiseen asetettiin laitettiin mätiä 2 dl.

2.3.1 Kokeen tekeminen

Kokeeseen valmistettiin varastoliuos, jonka kuparisulfaattipitoisuus oli 65 mg/l. Kuparisulfaatti punnittiin vaa'alla, joka pystyi mittaamaan milligramman tarkkuudella. Kuparisulfaatti sekoitettiin tislattuun veteen, jonka lämpötila oli +20 °C. Varastoliuosta valmistettiin neljä litraa. Varastoliuksesta valmistettiin litran pulloihin liuoksia, joiden pitoisuudet olivat 10–50 mg/l. Varastoliuos säilöttiin tummassa lasipullossa viileässä ja suojassa auringolta.

Kokeessa aseteille 1–4 ruiskutettiin kerran vuorokaudessa 40 ml eri vahvuisia kuparisulfaattiliuoksia siten, että asetin 1. liuos oli 10 mg/l, asetin 2. liuos oli 20 mg/l, asetin 3. liuos oli 30 mg/l ja asetin 4. liuos oli 50 mg/l. Asetit 5 ja 6 olivat kontrolleja, joten näille ruiskutettiin vaan pelkkää tislattua vettä 40 ml/asetti.

2.3.2 Vesihomeen esiintyminen

Vesihomeen esiintymistä eri käsittelyissä seurattiin päivittäin. Homeen esiintymisessä käytettiin taulukon 2 mukaista karkeaa luokittelua.

TAULUKKO 2. *Vesihomeen esiintymisen seurannassa käytetty asteikko.*

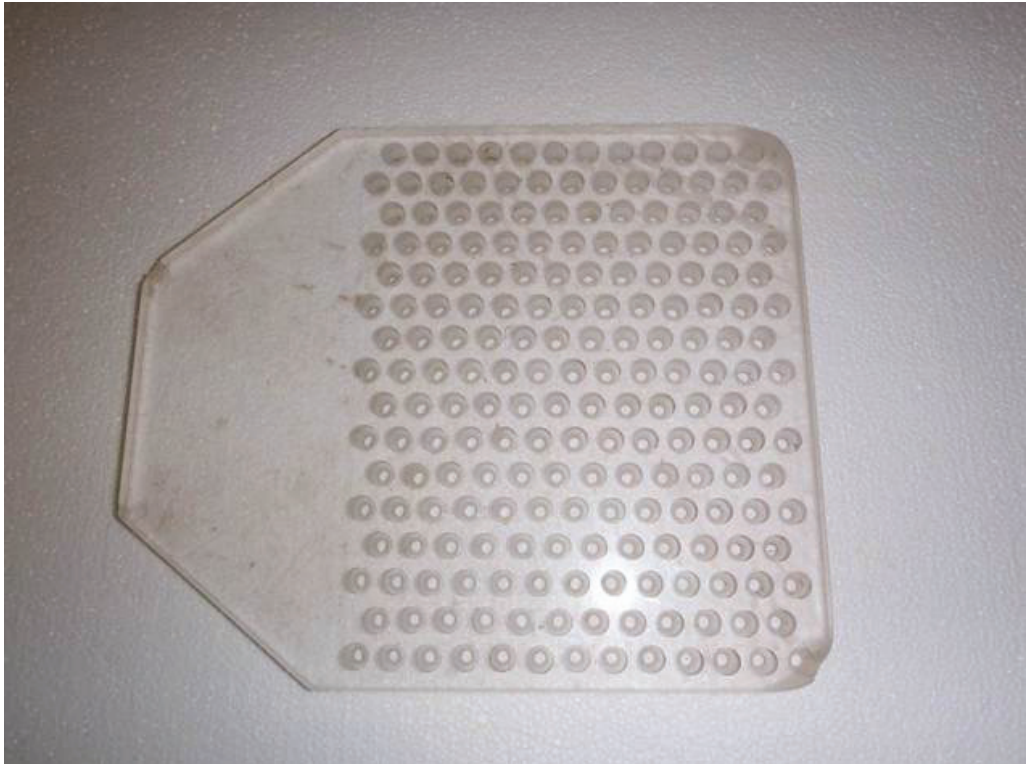
Homeaste		
0	Ei hometta	Hometta ei havaitse silmällä.
1	Hometta	Home näkyy mädin pinnalla selvästi.
2	Runsaasti hometta	Home on vallannut mädin täysin.

2.3.3 Mädin laatu

Mäti oli kolmevuotiaista kirjolohista Tervon RKTL:n jalostuslinjalta. Mätimunia ilmoitettiin olevan 13 000 kpl/l. Hedelmöityksen jälkeen hedelmöimättömiä mätimunia oli hyvin vähän, mikä kertoi siitä, että hedelmöitys onnistui hyvin.

2.3.4 Kuolleiden mätimunien poistaminen

Kun mäti oli silmäpisteasteella ja päiväasteita oli 319 kpl, mädistä poistettiin kuolleet mätimunat. Lajittelussa käytettiin omavalmisteista reikälevyä (Kuva 11). Levyllä mäti oli nopea ja helppo lajitella. Lajittelu tehtiin aseteille 1, 2, 3 ja 4. Kontrolliasetit 5 ja 6 olivat niin vesihomeen peitossa, että niitä ei enää lajiteltu. Kontrollista 5 saatiin laskettua vain hyvin pieni määrä eläviä mätimunia. Itse kuolleiden laskeminen oli mahdotonta mädin huonon kunnon takia.



KUVA 11. *Omavalmiste reikälevy mätimunien laskentaan. Kuva: Sami Skyttä.*

2.3.5 Kalanäytteiden ottaminen

Kalanäytteet otettiin poikasten kuparipitoisuuden analysointia varten, kun poikaset kuoriutuvat. Kalat laitettiin näytepurkkeihin siten, että jokaisen näytteen määrä oli 3 g. Näytteet lähetettiin Eviran laboratorioon analysoitaviksi jäätettyinä.

3 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

3.1 KUPARIKUITUKOE

3.1.1 Kuparikuidun määrä

Ensimmäiset vesihomehavainnot tehtiin jo kuuden vuorokauden jälkeen kokeen aloittamisesta. Hometta oli alkanut kertyä kumpaankin kontrollihaudontasaaviin. Selkeästi homeen muodostumisen huomasi 10–12 vuorokauden (62–76 päiväasteen) jälkeen. Tällöin myös haudontasaavissa 3, jossa kuparikuitua oli 100 g, huomasi mädin pinnalla pientä pumpulimaista vaaleaa vesihomerihmastoa. Toisaalta 300 g kuparikuitua riitti pitämään vesihomeen poissa mätimusta. (Taulukko 3). Haudonnan aikana selvisi, että vaikka kuparikuitua oli ylimääräistä (esimerkiksi 800 g 300 gramman sijasta), mädille ei aiheutunut silmämääräisesti mitään haittaa. Mädin kuolleisuus ei lisääntynyt, vaikka kuparivillaa oli 800 g. Sen sijaan 200 g oli liian vähän – mäti homehtui selvästi. Selvimmin mädin homehtumisen huomasi kontroллеissa, jotka eivät saaneet minkäänlaista kuparikäsittelyä. Mäti oli täysin homeessa jo 122 päiväasteen jälkeen.

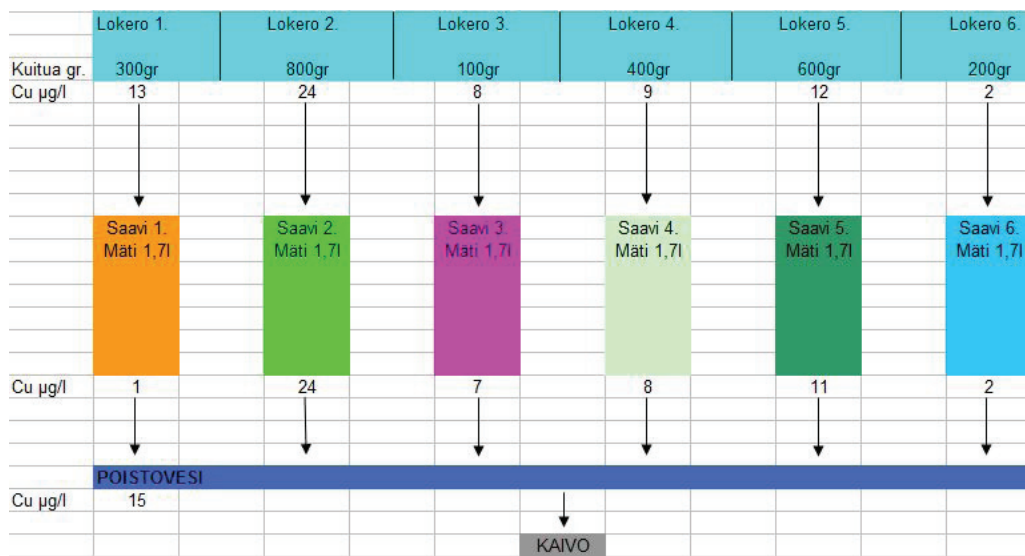
TAULUKKO 3. Mädin homehtumiskehitys kuparikuitukokeessa eri kuitupitoisuuksilla. 0 = ei hometta, 1 = vähän hometta, 2 = paljon hometta. Kuparikuitumäärät olivat 100 g, 200 g, 300 g, 400 g, 600 g ja 800 g. Lisäksi kaksi kontrollia, joissa vettä ei johdettu kuparikuidun läpi. Veden virtaama oli 3,8 l/minuutti jokaiseen kuitulokeroon ja kontroळेihin.

Päiväasteet	100 g	200 g	300 g	400 g	600 g	800 g	Kont. 1.	Kont. 2.
8	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	1	1
96	0	0	0	0	0	0	1	1
112	1	0	0	0	0	0	1	1
136	1	1	0	0	0	0	1	1
160	1	1	0	0	0	0	1	2
184	1	1	0	0	0	0	2	2
216	2	1	0	0	0	0	2	2
248	2	1	0	0	0	0	2	2
272	2	2	0	0	0	0	2	2

Kokeessa oli myös hyvin paljon kuolleita mätimunia, jotka eivät olleet jostakin syystä hedelmöittyneet tai jotka olivat kuolleet heikon mädin laadun vuoksi. Kotta ajatellen kuolleet mätimunat olivat eduksi, koska juuri näihin Saprolegnia tarttuu tehokkaasti.

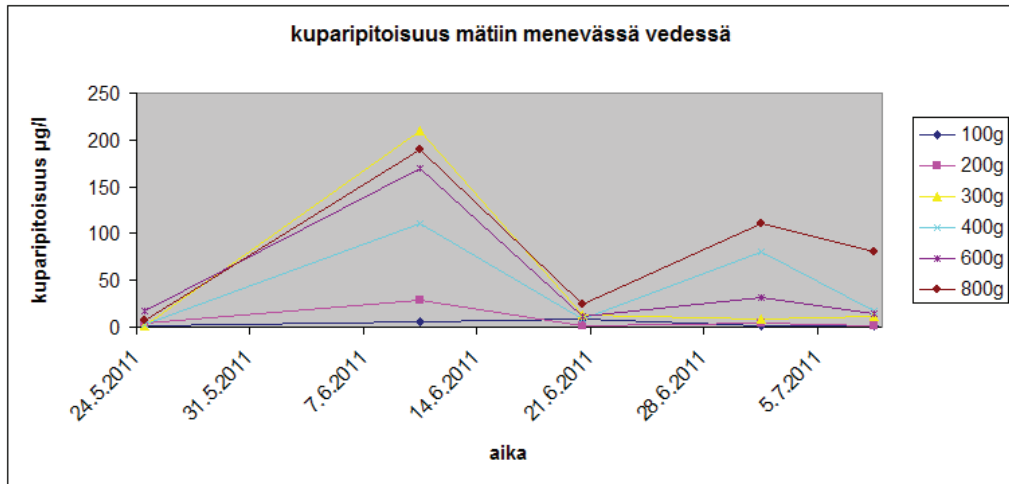
3.1.2 Kuparipitoisuus vedessä

Veden kuparipitoisuus kuparikuitualtaiden jälkeen oli <math><1 - 17 \mu\text{g}</math> välillä riippuen kuparin määrästä. Haudontasaavista poistuvassa vedessä kupari-arvot olivat <math><1 - 10 \mu\text{g}</math> välillä. Kuparipitoisuudet haudontasaavin jälkeen olivat yleensä pienempiä kuin ennen haudontasaavia (Kuva 12).

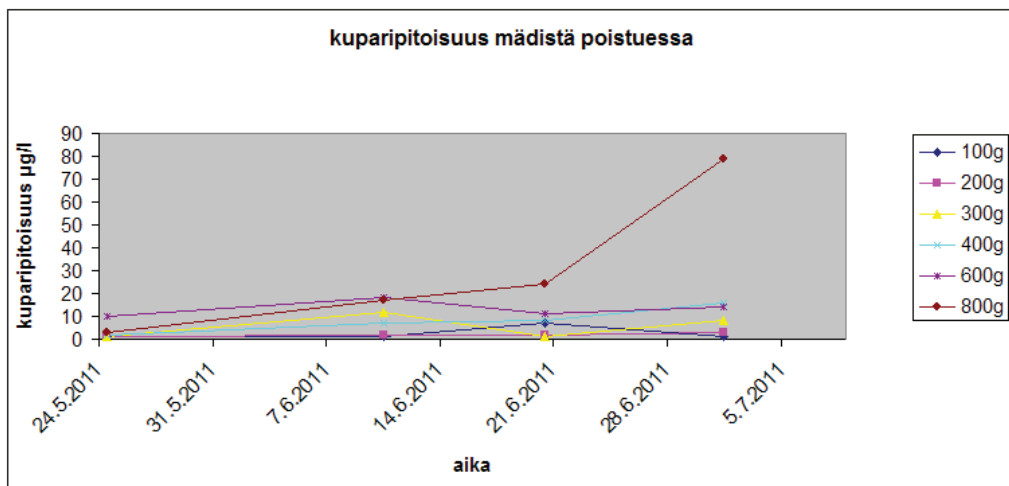


KUVA 12. Vesinäytetulokset Cu $\mu\text{g/l}$ kuparikuitualtaan ja mätisaavin välistä sekä mätisaavin jälkeen. 272 päiväastetta, näkyvillä myös koeasetelma.

Kuvasta 13 on nähtävissä, kuinka kaikista haudontasaaveista poistuvan veden kuparipitoisuus oli 15 $\mu\text{g/l}$.



KUVA 13. Kuparipitoisuus mätiin menevässä vedessä kuparikuitualtaiden jälkeen. Kuparikuidut vaihdettiin kertaalleen 10.6. Kuparipitoisuudet mitattiin 24.5., 10.6., 20.6., 1.7. ja 8.7.



KUVA 14. Kuparipitoisuus mätsaaveista poistuvassa vedessä. Kuparikuidut vaihdettiin kertaalleen 10.6. Kuparipitoisuudet mitattiin 24.5., 10.6., 20.6., 1.7. ja 8.7.

3.1.3 Kuoriutumisosuus

Mäti oli homeetonta haudontasaaveissa, joihin tuli vesi kuparikuitumääristä 300, 400, 600 ja 800 g. Näistä saaveista mäti siirrettiin haudontasaaveista haudonta-aseteille 400 päivästeen jälkeen. Poikaset alkoivat kuoriutua jo vuorokauden aseteille siirtämisen jälkeen. Kuoriutumisosuus laskettiin haudontaan laitetuista munien määrästä, josta oli vähennetty kuoriutumattomien munien määrä. Kuoriutumisosuus oli keskimäärin 36 % (Taulukko 3).

TAULUKKO 3. *Kuoriutumisprosentit aseteilta eri kuparimäärillä.*

300 g kuparikuitua	0,60 dl/17 dl = 0,35	35 %
800 g kuparikuitua	0,48 dl/17 dl = 0,28	28 %
400 g kuparikuitua	0,72 dl/17 dl = 0,42	42 %
600 g kuparikuitua	0,69 dl/17 dl = 0,40	40 %
keskiarvo		36,25 %

3.1.4 Kuoriutuneiden poikasten kuparipitoisuus

Kuoriutuneiden poikasten kuparipitoisuudet olivat 0,39–3,6 mg/l (Taulukko 4.)

TAULUKKO 4. *Kuoriutuneiden poikasten kuparipitoisuus 1–2 vrk ja 8 vrk kuluttua kuoriutumisesta. Kuitumäärä tarkoittaa mädin haudonnassa käytettyä kuparikuitumäärää. Yksikkö on mg/kg tuorepainoa.*

kuitumäärä	1–2 vrk kuoriutumisesta	8 vrk kuoriutumisesta
300 g	0,63	0,47
400 g	3,6	0,92
600 g	0,66	0,45
800 g	0,57	0,39

3.2 KUPARISULFAATTIKOE

3.2.1 Kuparisulfaattimäärät

Kahdessa laimeammilla liuoksilla (10 ja 20 mg/l) käsitellyssä mädeissä havaittiin pientä vesihomekasvustoa, joka oli tarttunut hedelmöittymättömiin mätimuniin. Kuitenkaan vesihome ei ollut tarttunut kaikkiin kuolleisiin mätimuniin, eikä vesihome ollut alkanut kasvattamaan rihmastoan munasta toiseen kuten sillä on yleensä tapana. Liuoksilla 30 ja 50 mg/l käsitellyssä mädissä ei vesihomekasvustoa havaittu. Kontrollit 1 ja 2 homeutuivat täysin, ja niissä kuolleisuusprosentti oli 100 %. (Taulukko 5 ja Liite 2)

TAULUKKO 5. *Mätimunien määrät eri kuparisulfaattipitoisuuksissa 319 päiväästeen jälkeen.*

kuparisulfaattipitoisuus	10 mg/l	20 mg/l	30 mg/l	50 mg/l	0 mg/l	0 mg/l
mätimunia kpl	2512	2622	2580	2599	*	*
homeiset mätimunat	701	551	386	266	*	*
homeettomat mätimunat	1811	2071	2194	2333	278	0

* = Mäti ko. saaveissa oli niin homeessa, ettei yksittäisiä mätimunia voinut laskea.

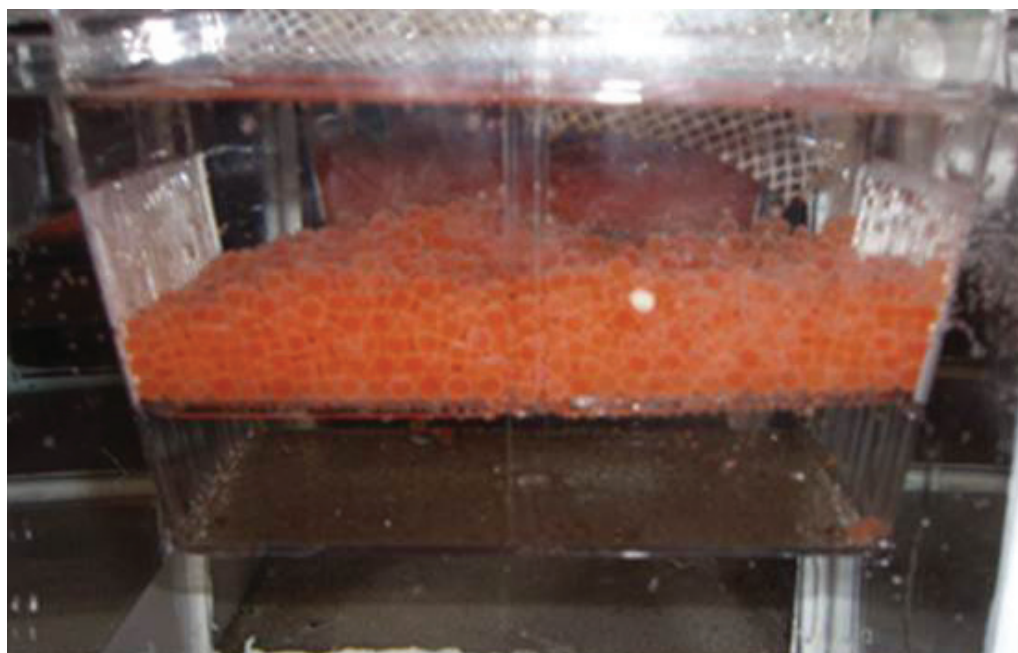
3.2.2 Mädin homehtuminen 10 mg/l kylvetyksellä

Kokeen aikana mätejä kuvattiin useita eri kertoja. Näin saatiin jonkinlainen käsitys homeen syntymisestä mädin pinnalle haudonnan aikana. Taulukosta 6 selviää, että mädin pinnalle alkoi kertyä pientä vesihomekasvustoa varsinkin kokeen loppupäässä. Tässä on käytetty 10 mg/l kuparisulfaattiliuosta, jota ruiskutettiin mädin päälle kerralla 40 ml/vrk.

TAULUKKO 6. Homehtumiskehitys eri kuparipitoisuuksissa (0 = ei hometta, 1 = hometta, 2 = runsaasti hometta).

Päiväasteita	hometaso 10 mg/l	hometaso 50 mg/l	hometaso kontrolli (ei kuparisulfaattia)
7,8	0	0	0
42,6	0	0	0
115,2	0	0	1
150	0	0	1
260,4	1	0	1
335,4	1	0	2
407, mätimunien kuoret	2	2	2
407, kuoriutuneet poikaset	0	0	2

Taulukosta 6 huomataan, että 260 päiväasteen aikana mätiin oli tullut osittain pientä vesihomekasvustoa. 407 päiväasteen kohdalla vesihomeaste nousi tasoon 2. Tällöin poikaset olivat kuoriutuneet ja siirtyneet asetin ritilän läpi asetin pohjalle. Asetin ritilälle olivat jääneet kuolleet mätimunat ja kuoriutuneet mätimunien kuoret. Kuvissa (15 ja 16) näkyy vesihomeen kasvu asetin sivusta.



KUVA 15. Mätiasetti 10 mg/l kuparisulfaattikylvetyksellä, 42,6 päiväastetta.



KUVA 16. Mätiasetti 10mg/l kuparisulfaattikylvetyksellä, 335,4 päiväästetta.

3.2.3 Mädin homehtuminen 50 mg/l kylvetyksellä

50 mg/litran kylvetyksillä vesihometartuntaa mätiin ei tullut ollenkaan, ja kuoriutumisprosentti oli selkeästi korkein – 84 % haudotuista munista. 50 mg/l liuoksella oli selvä suojaava vaikutus, joka esti vesihomeen muodostumisen vahvaksi kasvustoksi mädin pinnalle (Taulukko 6).

3.2.4 Kuoriutumisprosentti

Kuoriutumisprosentit selviävät taulukosta 7. Kuoriutuminen onnistui kaikissa aseissa, joihin annettiin vuorokausittain kuparisulfaattikylvetyksiä. Kontrollit 1 ja 2 altistuivat niin pahasti vesihometartunnalle, että niistä ei saatu kuoriutumisprosenttia lainkaan.

TAULUKKO 7. Kuoriutumisprosentit eri kuparisulfaattipitoisuuksilla.

Kuparisulfaatin pitoisuus	10mg/l	20mg/l	30mg/l	50mg/l	0mg/l	0mg/l
Kuoriutuneet poikaset	1596	1791	1974	2191	0	0
%	64	69	77	84	0	0

3.2.5 Poikasten kuparipitoisuudet

Poikasten kuparipitoisuudet olivat kuparisulfaattikokeessa huomattavasti suuremmat kuin kuparikuitukokeessa (Taulukko 8).

TAULUKKO 8. *Kuparipitoisuus kuoriutuneissa poikasissa mätimunien kuparisulfaattikylvetyksokokeessa.*

Kylvetyksen kuparisulfaattipitoisuus	kuparipitoisuus poikasissa (mg/kg tuorepainoa)
20 mg/l	161
30 mg/l	269
50 mg/l	284

3.3 JOHTOPÄÄTÖKSET

Kokeiden perusteella voidaan sekä kuparikuitua että kuparisulfaattia pitää varteenotettavana keinona estää vesihomeen kasvua mädin haudonnassa.

Kuparisulfaattikokeessa vastakuoriutuneiden poikasten kuparipitoisuudet olivat melko suuria. Jatkotutkimuksissa olisi hyvä kasvattaa poikasista vanhemmiksi ja ottaa näytteitä eri-ikäisistä poikasista, jotta saataisiin selville, miten nopeasti kuparipitoisuus poikasissa pienenee. Kuparikuitukokeessa poikasten kuparipitoisuus pieneni viikossa keskimäärin 40 %.

Erilainen veden kovuus ja pH saattavat vaikuttaa kuparin liukenevuuteen. Siksi näissä kokeissa hyväksi havaitut kuparikuidun ja kuparisulfaatin pitoisuudet eivät välttämättä päde, jos veden laatu poikkeaa kokeessa käytetyn veden laadusta.

LÄHTEET

Barker, G. A., Smith, S N, & N.R. 1989. The bacterial flora of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and brown trout, *Salmo trutta* L., eggs and its relationship to developmental success. *Journal of Fish Diseases* 12: 281-293.

Barnes, M. E., Cordes, R. J. & Sayler, W. A. 1997. Use of formalin during incubation of eyed eggs of inland fall chinook salmon. *The Progressive Fish-Culturist* 59: 303-307.

Eskelinen, P. 2002. Mädin kylvetys vesihomeen torjumiseksi - kokemuksia Pycezen käytöstä. Kalaterveyspäivä 13.03.2002. Eläinlääkintä- ja elintarviketutkimuslaitos. EELAn julkaisuja 01/2002: 6.

Eskelinen, P. 2003 (toim.). Vesihome kalanviljelyn vaivana. Onko taudin torjuntaan menetelmiä? Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. Kalatutkimuksia - Fiskundersökningar 188. 56 s.

Eskelinen, P., Pylkkö, P., Vennerström, P. 2000. Malakiittivihreälle on vaihtoehtoja. *Suomen Kalankasvattaja-Fiskodlaren* 29(5):41.

Halme, E. ja Orpana, V. 1968. Lohenkasvattaja opas. WSOY.

Kaijser, B., Törud, B. & Sörgaard, M. 2001a. Replacing malachite green. *Fish Farming International*. July 2001. *Aquanor Preview*: 25.

Kaijser, B., Törud, B. & Sörgaard, M. 2001b. En ny teknologi för att skydda fiskrom i kläckerier, från svampangrepp. *Moniste*. 3 s.

MacMillan, J.R. 1985. Infectious diseases. Pages 405–496 in C. S. Tucker, editor. *Channel catfish culture*. Elsevier, Amsterdam. Straus ym 2009 mukaan.

Makkonen, J. & Pursiainen, M. 2004. Malakiittivihreän jälkeen kalanviljelylaitoksien hautomoissa laitteiden ja menetelmien testit vertailussa. *RKTL – Kala- ja riistaraportteja nro. 300*.

Miura, M. 2010. Researchers in Japan and Chile demonstrate the anti-fungal effects of copper. *Hatchery International* July - August 26-27.

Miura, M. Oono, H. Tuchida, H. Hatai, K., Kiryu, T. 2011. Control of Water Mold Infection in Rainbow Trout Eggs by Using Copper Fiber. *Fish Pathology*, 40 (2).

Noga, E. J. 1996. *Fish disease diagnosis and treatment*. Mosby, St. Louis, Missouri. Straus ym 2009 mukaan.

Pylkkö, P., Eskelinen, P. 2001. Mädin haudontaa ilman malakiittia? *Suomen Kalankasvattaja - Fiskodlaren* 30(4):35-36.

Rahkonen, R., Vennerström, P., Rintamäki-Kinnunen, P. & Kannel, R. 2000. Terve kala – Tautien ennaltaehkäisy, tunnistus ja hoito. *Nykypaino*. Helsinki. 140 s.

Straus, D., Mitchell, A., Radomski, A., Carter, R. & Steeby, J. 2009. Laboratory Dose Confirmation of Copper Sulfate for Treating Fungus on Channel Catfish Eggs
North American Journal of Aquaculture 71: 333–338. American Fisheries Society.

Straus, D., Mitchell, A. & Carter, R. 2011. Hatch rate of channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque 1818) eggs treated with 100 mg L⁻¹ copper sulphate pentahydrate. Aquaculture Research Volume 43, 14-18.

Straus, D., Mitchell, A. & Carter, R. & Steeby, J. 2011. Dose-Confirmation of Copper Sulfate for Treating Fungus on Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*, Eggs at a Commercial Hatchery. Journal of applied aquaculture 23:3, 199-206.

Tucker, C.S. and E.H. Robinson. 1990. Channel catfish farming handbook. New York: Van Nostrand Reinhold. Straus ym 2009 mukaan.

LIITE I. HOMEHTUMISKEHITYS KUPARISULFAATTIKOKEESSA

kuparisulfaattipitoisuus	päiväasteet	mädin esiintyminen
10 mg/l	7,8	0
20 mg/l	7,8	0
30 mg/l	7,8	0
50 mg/l	7,8	0
0 mg/l	7,8	0
0 mg/l	7,8	0
10 mg/l	46,2	0
20 mg/l	46,2	0
30 mg/l	46,2	0
50 mg/l	46,2	0
0 mg/l	46,2	0
0 mg/l	46,2	0
10 mg/l	115,2	0
20 mg/l	115,2	0
30 mg/l	115,2	0
50 mg/l	115,2	0
0 mg/l	115,2	1
0 mg/l	115,2	1
10 mg/l	150	0
20 mg/l	150	0
30 mg/l	150	0
50 mg/l	150	0
0 mg/l	150	1
0 mg/l	150	1
10 mg/l	260,4	1
20 mg/l	260,4	0
30 mg/l	260,4	0
50 mg/l	260,4	0
0 mg/l	260,4	1
0 mg/l	260,4	1
10 mg/l	335,4	1
20 mg/l	335,4	1
30 mg/l	335,4	0
50 mg/l	335,4	0
0 mg/l	335,4	2
0 mg/l	335,4	2
10 mg/l	407	2

20 mg/l	407	1
30 mg/l	407	0
50 mg/l	407	0
0 mg/l	407	2
0 mg/l	407	2

LIITE 2.VEDEN LAATU KUPARIKUITUKOKEEN AIKANA

Päivä- asteet	pH	Sat.%	Happi mg/l	Lämpö °C	Rauta Fe µg/l	Kiintoaine mg/l	Väriluku mg Pt/l	Sähkön- johtavuus m S/m	Alkaliteetti mm ol/l
48	7	84	10,5	6,2	10	2	5	12	0,53
136	6,8	82	10,1	6,5	10	2	5	12	0,54
272	6,9	82	10	6,6	10	2	5	12	0,56