

LIETUVOS HIDROBIOLOGŲ DRAUGIJA

TVIRTINU:

Prezidentė

E. Milerienė

2008 m. lapkričio mėn. 26 d.

AKVAKULTŪROS PLĖTRA

**LAŠIŠŲ IR ŠLAKIŲ INDIVIDUALIŲ GENETINIŲ PARAMETRŲ ĮVERTINIMAS IR JŲ
TAIKYMO DIRBTINIAM ŽUVŲ VEISIMUI TYRIMAI**

2008 m. tarpinė ataskaita

Tyrimo vadovas

Dr. Egidijus Leliūna

Vilnius

2008

Vykdytojų sąrašas:

Dr. Egidijus Leliūna

Dr. Nijolė Kazlauskienė

Turiny

Įvadas ir problemos apžvalga.....	4
Tyrimo objektas ir metodai.....	8
Rezultatai ir jų aptarimas.....	10
Išoriniai žymekliai.....	10
PIT žymekliai.....	13
Išvados ir rekomendacijos.....	18
Literatūros sąrašas.....	19

Ivadas ir problemos apžvalga

Pastaruoju metu Lietuvos masinėse informavimo priemonėse dažnai pasirodo diskusijos, kuriose keliamas klausimas – kokia nauda iš ankstyvųjų stadijų žuvų jauniklių, išleidžiamų į natūralius vandens telkinius, t.y. ar verta išleisti žuvų lervutes arba mailių, nes jų išgyvenamumas abejotinas? Gaila, tačiau į šias diskusijas įnešama daug nekvalifikuotos informacijos, dažnai susijusios su praktiniu, vartotojišku požiūriu į šių žuvų bandų valdymą. Kalbant apie lašišų ar šlakių veisimą, tokiose diskusijose dažnai vadovaujama požiūriu, kuris labiau tinka naminių gyvulių auginimui, o ne natūralių išteklių atstatymui. Deja, tai kas tinka žemės ūkiui, ne visada taikytina, o neretai net žalinga laukinių gyvūnų populiacijų subalansuotam valdymui. Kaip ir auginant naminius gyvulius, kai kas mano, jog reikėtų skirti kuo daugiau dėmesio pradinės gyvūno masės didinimui, tam, kad jis būtų gyvybingesnis ir labiau prisitaikęs išgyventi, ypač gamtinėse sąlygose. Vienas iš būdų tam pasiekti – ilgesnis gyvūno, šiuo atveju žuvų, išlaikymas dirbtinėse auginimo priemonėse. Manoma, kad to pasekoje bus pasiektas kaip įmanoma didesnis organizmo išgyvenamumas vėlesnėse vystymosi stadijose. Iš dalies tai teisinga, ir kai kurių rūšių atveju tokia veisimo strategija pasiteisina. Kalbant apie žuvis, tinkamais tokios strategijos pavyzdžiais galėtų būti karpis, ungurys, ir kai kurios kitos akvakultūroje plačiai propaguojamos rūšys. Jau minėtos lašišinės žuvis taip pat plačiai auginamos ir tiekiamos į rinką kaip maisto produktas taikant tokią praktiką. Tačiau nederėtų pamiršti, kad dauguma šių rūšių, ar jų bandų yra ilgos atrankos, domestikavimo vaisius. Užtenka keleto dirbtinės atrankos kartų (generacijų) tam, kad iš bandos būtų eliminuoti greitam augimui nenaudingi organizmo požymiai (Handeland *et al.* 2003), tuo tarpu šių požymių nauda gamtinėse sąlygose tampa labai abejotina. Situaciją galima pavadinti savotišku vartotojiškų ir ekologinių prioritetų konfliktu. Kam bus suteiktas aukštesnis prioritetas, žinoma, priklauso nuo objekto, t.y. auginamos rūšies bandų/populiacijų paskirties. Jei auginamos žuvis yra skirtos gamtinių populiacijų atstatymui, prioritetas turi būti suteiktas maksimaliam organizmo pritaikymui prie būsimų gamtinių sąlygų. Egzistuoja specialūs terminai – intensyvi ir ekstensyvi akvakultūra. Pirmasis taikomas žuvivaisos priemonėms, nukreiptoms į prekybinę produkciją. Tokių priemonių pagrindinis matas – kuo didesnė produkcija kuo mažesnėmis sąnaudomis. Žuvis dideliais tankiais laikomos nedideliame vandens tūryje, kontroliuojant aplinkos parametrus taip, kad tankį būtų galima padidinti maksimaliai. Ekstensyvios akvakultūros atveju taikomas priešingas požiūris – gyvūnai laikomi optimaliais tankiais, naudojami natūralūs pašarai ir gamtinėms identiškos ar

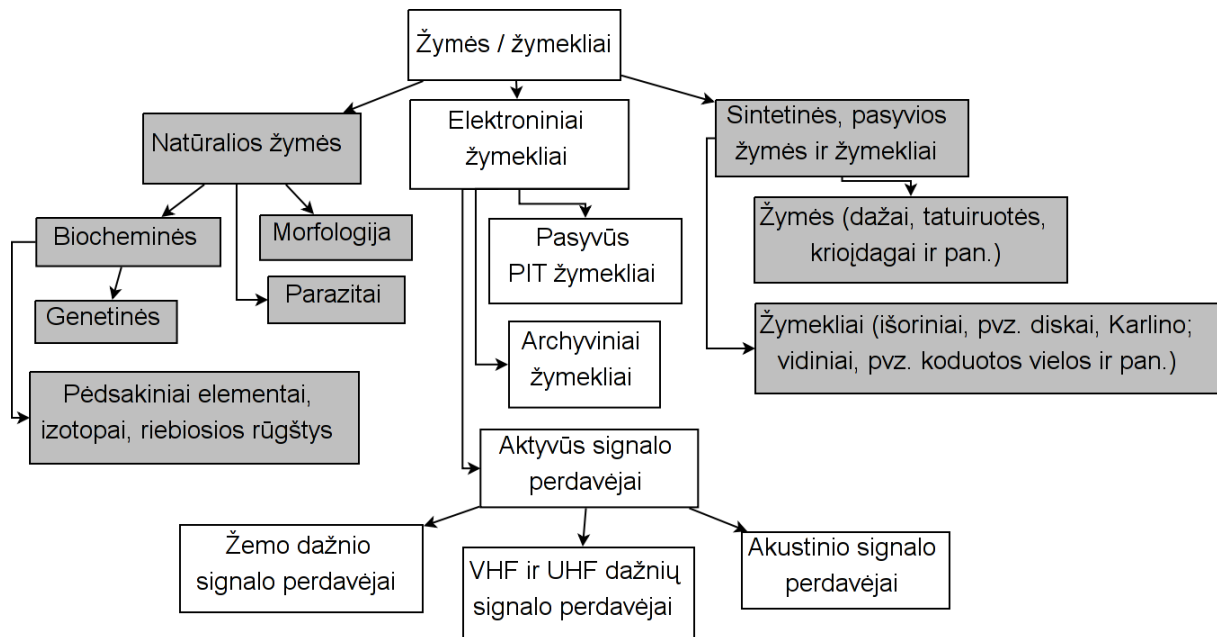
artimos aplinkos sąlygos. Pusiau intensyvi akvakultūra yra tarpinis šių dviejų strategijų darinys. Ekstensyvus žuvų veisimas yra naudingesnis siekiant padidinti organizmo išgyvenamumą natūraliomis sąlygomis. Tačiau, čia susiduriama su ekonominiais veiksniais – naudos ir kaštų santykiu, į kuriuos būtina atsižvelgti net taikant pastarąją strategiją. Ekonomiškai naudingiau yra taikyti intensyvumo siekiančias priemones, ypač tais atvejais, kai reikalingas skubus įsikišimas atstatant ar sustiprinant silpnas ir pažeidžiamas laukines populiacijas, ir kur tokios tradicinės priemonės kaip nerštaviečių apsauga ar dirbtinių nerštaviečių įrengimas neatneša pakankamai naudos. Intensyvios akvakultūros sinonimu jau yra tapusios uždaros cirkuliacijos sistemos žuvų veisime. Tokios sistemos pavyzdys – Žeimenos lašišinių žuvų veislynas. Jo produkcija – lašišos ir šlakiai, yra auginami išskirtinai gamtinių populiacijų atstatymui. Veislino praktikoje taip pat susiduriama su problemomis, būdingomis intensyviai produkcijai – didelis žuvų tankis, su tuo susijusi padidėjusi bakterinių epizootijų rizika, organizmo vystymosi sutrikimai nulemti aplinkos sąlygų ir pan. (Domagala *et al.* 2005, Kazlauskienė & Vosylienė 2006). Šie sunkumai ir yra veiksnys, apribojantis galimybes organizmui adaptuotis gamtinėse sąlygose. Nepaisant to, su turima technine baze įmanoma sėkmingai vesti lašišines žuvis natūralių populiacijų atstatymui, ką įrodo ir pastarųjų metų tyrimai (Kemsinas ir kt. 2008). Tuo tarpu minėtų problemų minimizavimui gali būti taikomos įvairios priemonės – natūralaus temperatūrinio ir apšvietimo režimo imitavimas, maistinių papildų maišymas į pašarus, tankio auginimo talpose mažinimas ir pan. Trumpas žuvų laikymas dirbtinėse sąlygose šiuo atveju tampa labai svarbi priemonė, stengiantis užauginti žuvį, savo biologiniais parametrais artimą laukinei. Kuo trumpesnis laikas, praleistas žuvivaisos įmonėje, tuo mažesnė tikimybė, kad organizme susikaups pažaidos, trukdančios jam adaptuotis po išleidimo į natūralius vandens telkinius. Išlaikymo žuvivaisos įmonėje laikas taip pat labai svarbus veiksnys houmingo susiformavimui lašišų bei šlakių jaunikliuose. Kuo vyresnio amžiaus jaunikliai išleidžiami į upes, tuo mažesnė tikimybė, kad jie sugrįš neršti į tas pačias upes, į kurias buvo išleisti (Tallman & Healey 1994).

Vis dėlto, viena iš pagrindinių sąlygų efektyviam lašišinių žuvų išteklių atstatymui modernioje akvakultūroje ir aplinkosaugoje yra veisiamų bandų genetinės informacijos panaudojimas. Ši informacija visų pirma reikalinga tam, kad įvertinti genetinės įvairovės pokyčius, vykstančius eilėje generacijų, ir tokiu būdu išvengti nepageidautinų poveikių laukinėms populiacijoms. Šie poveikiai dirbtinai veisiamose žuvyse fenotipiškai ir fiziologiškai pasireiškia kaip didesnis augimo ir metabolizmo tempas, padidėjęs agresyvumas,

pakitusi morfologija, elgsena, sąveika su laukinėmis žuvimis (Reisenbichler & McIntyre, 1976; Swain *et al.*, 1991; Petersson & Jarvi, 1995; Berejikian *et al.*, 1996; Fleming & Einum, 1997; Ferno & Jarvi, 1998; Thodesen *et al.*, 1999). Šiuo metu genetinė įvairovė yra tapatinama su biologine įvairove, kurios išsaugojimui yra teikiamas pagrindinis dėmesys. Šis aspektas ypač pabrėžiamas ir Lašišos Veiksmų Plane 1997 – 2010. Kertinis genetinės įvairovės išsaugojimo reikalavimas tiek šiame plane, tiek ir kitose rekomendacijose atstatant laukines populiacijas, yra vietinės medžiagos naudojimas veisimui, t.y. žuvis reprodukcijai turėtų būti imamos iš tos pačios upės, į kurią bus paleidžiami jų jaunikliai (COM 2002). Įgyvendinus pastarąją priemonę, būtų išvengta genetinės medžiagos maišymosi ir sumažinta rizika prarasti adaptacijas, svarbias išgyvenamumui specifinėse sąlygose. Skandinavijos šalyse, kuriose užauginama daug lašišinių žuvų, tokia praktika jau kurį laiką yra taikoma gana sėkmingai. Geros techninės sąlygos bei didelis reproduktorių kiekis leidžia vykdyti veisimo strategiją orientuotą į individualių upių laukinių populiacijų atstatymą. Tuo tarpu Lietuvoje susiduriama daugiausiai su techninio pobūdžio sunkumais. Reproduktorių trūkumo problema atskirų neršto sezonų metu taip pat būna aktuali. Techniniai apribojimai visų pirma pasireiškia baseinų reproduktorių atskyrimui trūkumu. Dėl tuo pat metu tose pačiose patalpose vykdomų kitų žuvivaisos darbų, neužtenka vietos atskirti reproduktorius, atgabentus iš skirtingų upių. Tai ypač aktualu šlakių atveju, kadangi dažnai jų kiekis būna pakankamas, kad būtų galima suskirstyti į grupes pagal intakus. Lašišų atveju, Žeimenos veislino praktikoje reproduktorių kiekis niekada nebuvo pakankamas tokiam suskirstymui. Kai kuriais atvejais, jei patelių skaičius iš vieno intako pasitaikydavo didesnis, reprodukcijai pritrūkdavo patinų, ir atvirkščiai. Suprantama, kad tokiu atveju reproduktorių grupavimas pagal upes netenka prasmės. Vis dėlto, ir šiuo atveju išlieka poreikis individų identifikacijai, kuri gali būti taikoma daugelyje sričių veislino praktikoje – nuo tėvystės nustatymo, specifinių kryžminimo schemų sudarymo, iki migracijos tyrimų po reproduktorių išleidimo atgal į natūralius vandens telkinius. Paėmus mėginius genetiniams tyrimams iš individo, ir vėliau, jau turint mus dominančią informaciją, kyla poreikis atpažinti tiriamą žuvį, išskirti ją iš bendros bandos, ypač jei žuvis laikomos bendroje talpoje. Tinkamiausias minėtų problemų sprendimas - žuvų žymėjimas.

Egzistuoja daug žymėjimo metodų ir žymių bei žymeklių tipų (šiam tyrimui žymėmis vadinami natūralūs arba dirbtinai suformuoti požymiai žuvies kūne, kurie dažnai nėra svetimkūniai, yra tapę neatskiriama organizmo dalimi, savaime sunkiai pašalinami;

žymekliais tuo tarpu vadinamos žymėjimo priemonės, apibūdinamos kaip svetimkūniai žymėtame organizme, kurie sąlyginai lengvai pašalinami iš organizmo), skirtų žuvims. Kiekvieno jų tinkamumas yra specifinis, atitinkantis įvairius mokslininkų, žuvivaisos įmonių darbuotojų, žvejų mėgėjų ir kt. poreikius (1 pav.). Kuris jų tinkamiausias Žeimenos lašišų veislyno praktikoje – vienas iš šiam tyrimui keltų uždavinių.

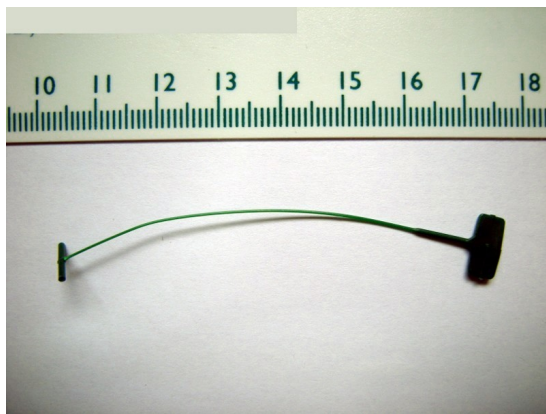


1 pav. Žuvims skirtų žymėjimo priemonių kategorizavimo principinė schema (pagal Lucas & Baras 2000).

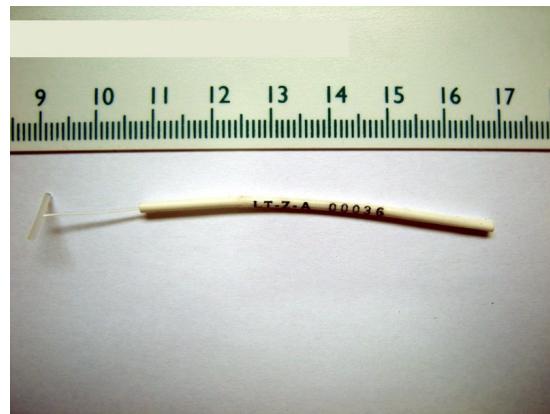
Šio tyrimo tikslas - panaudojant genetinius metodus nustatyti lašišų ir šlakių reproduktorių bandų Žeimenos lašišų veislyne genetinę struktūrą bei derinant šiuos metodus su žuvų žymėjimo priemonėmis įvertinti jų tinkamumą dirbtinio veisimo optimizavimui. Tikslui pasiekti 2008 metams buvo išskeltas uždavinys pritaikyti ir įvertinti žymėjimo metodikas bei jų tinkamumą individų atskyrimui bandose veislyno sąlygose.

Tyrimo objektas ir metodai

Tyrimai buvo atliekami LVŽŽTC Žeimenos filialo lašišų veislyne 2007 - 2008 m. lašišų ir šlakių neršto sezono metu – spalio ir lapkričio mėn. Tyrimams naudoti lašišų ir šlakių reproduktoriai. Žuvys buvo žymimos išoriniais nenumuotais Floy tag FD-67F ir numeruotais FD-68B inkariniais žymekliais (Floy Tag & Mfg., Inc, JAV) (2 pav.), bei vidiniais elektroniniais pasyviais PIT (Passive Integrated Transponder) 64 bitų kodavimo 12 x 2,12 mm žymekliais (Collinson RFID), atsakančiais į 128 / 134 kHz signalą (3 pav.).

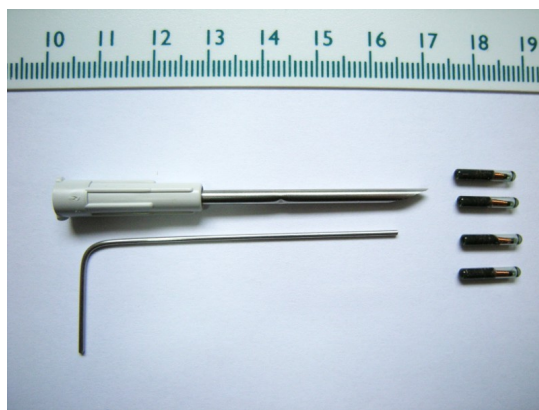


A



B

2 pav. Nenumuotas FD-67F (A) ir – numeruotas FD-68B žymekliai (B).



A



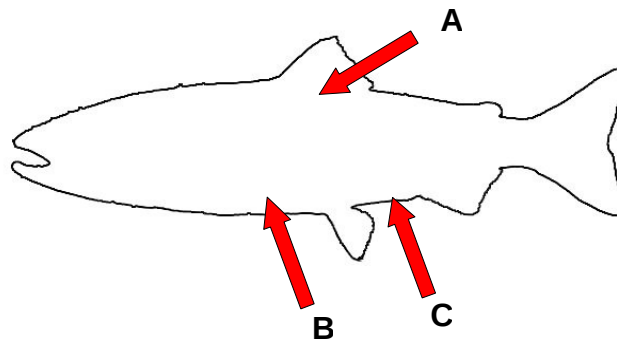
B

3 pav. Tyrime naudoti PIT žymekliai su implantavimui naudojama adata ir improvizuotu aplikatoriumi (A) bei Trovan LID500 skaitytuvas (B).

Floy Tag žymekliais žuvys buvo žymimos naudojant Mark III Regular Pistol Grip aplikatorių su standartine adata, žymeklį implantuojant į raumenis tarp šoninės linijos ir nugarinio peleko, tokiu būdu, kad žymeklio kojelės tvirtinimo elementas („inkaras“) patektų

tarp nugarinio peleko stipinų (4 pav.). Šiais žymekliais 2007 m. pažymėtos 4 lašišų patelės (numeruotais FD-68B), 2 patinai (nenumuotais FD-67F) bei 10 šlakių patelių (5 numeruotais ir 5 nenumuotais). Abiejų lyčių individai išoriniais žymekliais pažymėti prieš veisimo medžiagos paėmimą. Numeruoti žymekliai buvo identifikuojami pagal individualų ant jo išspausdintą kodą, nenumuoti – pagal spalva. Pastarieji naudoti žalios ir baltos spalvų.

PIT žymekliais žuvys pažymėtos naudojant komplekte su kiekvienu žymekliu esantį aplikatorių – 40 x 2,6 mm sterilizuotą adatą. Daliai žuvų žymekliai implantuoti tarp krūtininių ir pilvinių pelekų, kitai daliai – tarp pilvinių ir analinių pelekų į raumenis, arba į kūno ertmę (4 pav.). 2008 m. neršto sezono metu PIT žymekliais pažymėta 12 šlakių patelių bei 4 patinai. Patelės pažymėtos prieš paimant ikrus, patinai – prieš pienių paėmimą. Žuvys su PIT žymekliais buvo identifikuojamos nešiojamu Trovan LID500 (Trovan Ltd., Douglas, UK) 125 kHz skaitytuvu.



4 pav. Žymeklių implantavimo vietos: A – numeruoti ir nenumuoti Floy Tag žymekliai; B ir C – PIT žymekliai.

Visais atvejais prieš žymėjimą reproduktoriai buvo anestezuojami propiscino arba 2-fenoksi-etanolio tirpale (0,05 %). Pažymėtos žuvys buvo tikrinamos kas 2 paras iki neršto pabaigos vizualiai įvertinant išorinių žymeklių būklę – ar žymeklis nepamestas, pasislinkimą pradinės žymėjimo vietos atžvilgiu, pažeidimų lygį. Vidinių PIT žymeklių atveju buvo įvertinama, ar žymeklis tebėra implantuotas, implantavimo vietos būklė, t.y. ar nėra infekcijos požymių, ar žaizda sugijusi.

Rezultatai ir jų aptarimas

Išoriniai žymekliai

1 lentelėje pateikiami išoriniais žymekliais sužymėtų lašišų reproduktorių kūno masės ir ilgio duomenys. Vidutinė kūno masė buvo 8,95 kg, vidutinis kūno ilgis pagal Smitą siekė 100,77 cm, l – 93,93 cm. Šlakių atitinkamai šios vertės buvo 2,43 kg, 63,81 cm ir 59,25 cm.

1 lentelė. Išoriniais Floy Tag žymekliais sužymėtų lašišų reproduktorių kūno masė Q, kg, kūno ilgis pagal Smitą l_{Smitt} , cm ir kūno ilgis l, cm.

Eil. nr.	Q	l_{Smitt}	l
Lašišos			
1	7,20	95,7	88,8
2	7,75	98,6	90,2
3	11,07	110,5	101,9
4	9,49	100,3	94,2
5	7,18	95,2	91,3
6	10,98	104,3	97,2
Šlakiai			
1	3,36	72,2	66,3
2	1,76	59,2	54,4
3	3,26	71,3	66,2
4	2,34	63,8	59,6
5	2,13	63,4	59,1
6	2,58	66,4	62,1
7	2,08	58,7	54,5
8	2,44	66,3	61,5
9	2,39	61,2	56,3
10	1,73	55,6	52,5

Pasibaigus nerštui, įvertinta žymėtų žuvų bei žymeklių būklė. Nė viena iš dvejopais išorinių žymeklių tipais žymėtų lašišų nekrito. 2 šlakių patelės krito pasibaigus nerštui, tačiau tai sietina su blogomis perlaikymo sąlygomis bei bendru stresu, susijusiu su ikrų paėmimo procedūromis. Tai patvirtino ir kritusių žuvų apžiūra – žymeklių vietose nepastebėta

pažeidimų, galėjusių sąlygoti letalinius efektus – infekcijos požymių ar gyvybiškai svarbių vidaus organų sužalojimų.

Žymint abiejų tipų Floy Tag žymekliais, implantavimo vietoje visais atvejais likdavo nežymi žaizda, kuri neužgydavo per visą laikymo žuvivaisos įmonėje laikotarpį. Nors nė vienoje žuvyje nepastebėta infekcija šioje srityje, tačiau ilgalaikėje perspektyvoje neatmetama padidėjusi rizika infekcijai patekti į organizmą šiuo keliu. Kadangi išorinė žymeklio dalis pastoviai yra veikiamas mechaninių dirgiklių – srovės, kliūvančių vandens augalų ir kt., šie veiksniai labai lėtina žaizdos gijimą. Jau anksčiau įmonėje taikant šį žymėjimo būdą pastebėta, kad net ir praėjus kelių mėnesių laikotarpiui nuo pažymėjimo, didžioji dalis pažeidimų nespėja sugyti. Tai sąlygoja ne tik padidėjusią infekcijų tikimybę, bet ir padidėjusią galimybę žymeklį pamesti.

Abiejose rūšyse nepastebėta tolerancijos žymekliams priklausomybė nuo lyties ar morfologinių individų parametrų. Pagal preliminarius duomenis, galima teigti, kad žymeklio išlaikymo tikimybė priklausė nuo pačio žymeklio tipo bei jo implantavimo kokybės. Per visą tyrimo laiką buvo pamesti 7 žymekliai. 1 numeruotas FD-68B žymeklis buvo prarastas lašišos patelės, 2 tokie žymekliai prarasti šlakių patelėse. Abu nenumuoti, FD-67F žymekliai buvo pamesti lašišų patinų, taip pat du tokie žymekliai buvo prarasti žymėtose šlakių patelėse. Nors natūraliomis sąlygomis daugumos išorinių, tame tarpe ir šio tipo, žymeklių išlaikymo procentas nėra didelis (Lucas & Baras 2000), ypač žymeklio praradimo tikimybė padidėja laikymo dirbtinėse sąlygose atveju. Pagrindinė problema, su kuria susidurta šio tyrimo metu, ir kuri sąlygojo didžiąją dalį pameitimų, buvo susijusi su manipuliacijomis žuvis perkeliant tarp baseinų bei tikrinant jų subrendimą ir bendrą būklę. Pastebėta, kad išorėje esanti žymeklio dalis labai dažnai kliūva už tinklinio audinio, naudojamo žvejybos įrankiuose. Tai neleidžia sėkmingai atsistatyti žymėjimo metu padarytiems pažeidimams, kadangi žymeklis yra veikiamas mechaniškai, o kai kuriais atvejais visas arba išorėje esanti žymeklio dalis yra pašalinami iš organizmo jį ištraukiant. Nedidelis naudotas tyrimo objektų kiekis neleido atlikti išsamios statistinės analizės, tačiau preliminariai galima teigti, jog didesnė tikimybė yra FD-67F tipo nenumuotų žymeklių pameitimui. Tai greičiausiai sąlygota specifinės jų konstrukcijos – skersai laikančiąjai daliai išdėstyta išorinė etiketė dažniausiai kliūva naudojant įrankius žuvų perkėlimui. FD-68B žymekliuose ši tikimybė mažesnė, nors irgi yra aktuali – perėjimas tarp laikančio strypelio ir etiketės taip pat sukuria sąlygas užkliūti. Kitas, gana svarbus veiksnys žymeklio išlaikymo tikimybei padidinti yra jo spalva. Ryškių spalvų

etiketės paverčia žuvį matoma. Dirbtinėse sąlygose tai yra privalumas, tačiau natūralioje aplinkoje žuvis tampa pastebima konkurentams ir plėšrūnams. Kadangi renkantis žymeklius egzistuoja didelis spalvų pasirinkimas, ši problema yra palyginti lengvai apeinama. Vis dėlto, netgi ūkio sąlygomis, kur teikiama pirmenybė žymeklio pastebimumui, reikia vengti ypač ryškių spalvų. Kai kurios iš jų, pavyzdžiui raudona spalva, žuvims gali asocijuotis su mitybiniais objektais. Žuvis su tokia žyme, laikoma talpoje su dideliu kiekiu kitų žuvų, gali tapti savotišku taikiniu. Ši situacija pastebėta ankstesniuose tyrimuose su vaivorykštiniu upėtakiu (nepublikuoti duomenys).

Nepaisant su žymeklio išlaikymu organizme susijusiomis problemomis, naudoti inkariniai žymekliai turi ir nemažai privalumų, palyginti su kitais žymėjimo metodais, žymėmis ar žymekliais. Visų pirma reikia pabrėžti jų naudojimo patogumą, lengvą vizualinę atpažinimą, bei žymėjimo greitį. Naudojant tam skirtus žymėjimo prietaisus, per valandą šiais žymekliais galima sužymėti nuo 500 iki 1000 individų. Tai yra kur kas didesnis našumas lyginant su kitais plačiai naudojamais, pvz. Karlino žymekliais. Nors pastarieji pasižymi dideliu išlikimo organizme procentu, jų taikymas yra susijęs su didelėmis darbo sąnaudomis ir jų panaudojimas trumpalaikėse žymėjimo programose netenka prasmės. Tuo tarpu kiti greitai taikomi žymėjimo metodai, kaip riebalinių pelekų karpymas, yra neinformatyvūs ir netinkami individualiam reproduktorių atskyrimui.

Inkariniais žymekliais Žeimenos lašišų veislyne pastaruosius tris metus yra žymimi ir lašišų bei šlakių jaunikliai. Iš asmeninės autorių praktikos, reikia pastebėti, jog žymint pakankamai dideles žuvis (nuo 50 g kūno masės), jų išgyvenamumas yra artimas 100 % veislyno sąlygose. Žymeklio išlaikymas taip pat siekia apie 98 % per pirmąsias kelias dienas po pažymėjimo, kurios ir yra kritinės. Vėliau pažymėjimo vietoje audinių atsistatymas būna pakankamas, kad žymeklis įsitvirtintų, ypač jei žuvis nėra iš karto transportuojamos. Tyrimo autoriui taip pat teko dalyvauti lašišų jauniklių monitoringo programoje, ir stebėti Neris upėje 2008 m. rudenį sugautus žymėtus lašišų jauniklius, kurie į upę buvo išleisti tų pačių metų pavasarį. Jaunikliai buvo žymėti sumažinta numeruotą žymeklių versija FD-68B FF. Sugauti 2 žymėti individai buvo gyvybingi ir gerai išlaikę žymeklius. Tačiau tenka pastebėti, kad audiniai aplink pažymėjimo vietą nebuvo visiškai atsistatę. Tam greičiausiai įtakos turėjo pastovus mechaninis poveikis žymeklių išorinėms dalims, kuris susijęs su žuvies judėjimu apskritai, bei judėjimu per vandens augaliją, už kurios žymeklis gali kliūti. Taip pat Žeimenos veislyne 2006 m. teko stebėti lašišos patelę, pažymėtą to pačio tipo išoriniu Floy Tag

žymekliu. Žuvis buvo pažymėta Baltijos jūroje suomių mokslininkų. Žymeklis buvo labai gerai išsilaikęs, nepastebėta jokių negyjančių žaizdų aplinkui žymėjimo vietą, laikančioji dalis pilnai įaugusi į audinius.

Apibendrinant galima teigti, jog išoriniai inkariniai žymekliai yra tinkami reproduktorių žymėjimui ir atskyrimui Žeimenos lašišų veislyne. Naudojant šiuos žymeklius, visų pirma reikia atkreipti dėmesį į teisingą žymėjimo metodiką. Žymeklis turi būti implantuojamas tokiu būdu, kad minimaliai trukdytų žuviai judėti ir kaip galima mažiau trukdytų su reproduktoriais dirbančiam personalui, t.y. nekliūtų už žvejybos įrankių ar konstrukcinių baseinų elementų. Kiekvieno žymėjimo atveju privalomas aplikatorių sterilizavimas, siekiant išvengti infekavimo galimybės. Žuvys turi būti anestezuojamos tam, kad sumažinti su procedūra susijusio streso lygį. Rekomenduojama ir periodiška pažymėtų individų apžiūra. Pažeidimui žymėjimo vietoje blogai gyjant arba pablogėjus, jei įmanoma visas žymeklis, ir būtinai visa išorinė dalis turi būti pašalinami, žaizda dezinfekuojama tinkamomis priemonėmis. Trumpalaikiam žymėjimui, pavyzdžiui tuo atveju, jei jis reikalingas dirbant su reproduktoriais tik iki neršto pabaigos, nenumeruoti FD-67F tipo žymekliai naudotini tiems individams, kurie rečiau perkėlinėjami tarp baseinų. Tokiu būdu padidės žymeklio išlaikymo tikimybė, jam mažiau kontaktuojant su darbo įrankiais. Šie žymekliai taip pat gali būti naudojami tuomet, kai nėra poreikio atskirti konkrečią žuvį, o tik, pavyzdžiui, jų grupes. Tam gali būti taikomi skirtingų spalvų žymekliai. Numeruoti FD-68B tipo žymekliai yra labiau tinkami individualiam reproduktorių atskyrimui. Dėl savo konstrukcinių savybių jie mažiau trukdo žuviai judėti, todėl taip pat labiau tinkami ilgalaikėms žymėjimo programoms. Žymekliai pakankamai gerai matomi, ir tai yra pagrindinis jų privalumas prieš daugumą elektroninių žymeklių tipų, tame tarpe ir PIT, naudotų šiuose tyrimuose.

PIT žymekliai

2 lentelėje pateikiami PIT žymekliais sužymėtų šlakių reproduktorių pagrindiniai individualūs morfologiniai parametrai. Vidutiniškai tyrimams naudotų individų kūno masė siekė 2,77 kg, vidutinis l_{Smitt} buvo 64,96 cm, o l siekė 60,63 cm.

Nė viena iš PIT žymekliais žymėtų žuvų perlaikymo įmonėje metu nekrito. Periodiškai tikrinant patelių ir patinų subrendimą, buvo apžiūrimos žymėjimo metu paliktos žymės bei jų būklė. Skirtingai nuo pažymėtų Floy Tag žymekliais žuvų, pirmųjų grupėje nepastebėta

pradinio sužalojimo pablogėjimo. Infekcijų taip pat nenustatyta. Lytinių produktų subrendimo trukmei, lyginant su kontrolinėmis nežymėtomis žuvimis, procedūra taip pat neturėjo įtakos. Tiek vienos tiek kitos žuvys subrendo tuo pačiu metu.

2 lentelė. PIT žymekliais sužymėtų šlakių reproduktorių kūno masė Q, kg, kūno ilgis pagal Smitą l_{Smitt} , cm ir kūno ilgis l, cm.

Eil. nr.	Q	l_{Smitt}	l
1	2,43	61,5	57,7
2	1,63	56	52,1
3	2,4	60,5	56,4
4	4,14	75,8	70,8
5	2,71	62	58,5
6	3,05	72,7	68,1
7	1,52	57,5	53,2
8	2,6	64,5	59,9
9	3,05	69,4	65
10	2,26	60,4	55,8
11	3,85	72,1	67,3
12	3,56	67,1	62,7

Savaiminių PIT žymeklių pametimų žuvyse nenustatyta. Pagrindinė problema, su kuria susidurta naudojant šio tipo žymeklius – teisingos implantavimo vietos pasirinkimas bei pats implantavimas. Egzistuoja du pagrindiniai žymeklio įterpimo į organizmą būdai – vienas į raumenis arba jungiamąjį audinį (Bergensen *et al.* 1994), kitas – į kūno ertmę (Prentice *et al.* 1990; Baras *et al.* 2000). Taikant pirmąjį metodą, nė vienas žymeklis nebuvo pamestas tiek patinuose, tiek ir patelėse. Antruoju būdu implantuojant žymeklį į patelių kūno ertmę, pastebėta, kad šioms subrendus, ikrų paėmimo metu žymeklis pasišalindavo iš organizmo kartu su imamais ikras. Keturios iš tokiu būdu žymėtų patelių pametė žymeklius ikrų paėmimo metu. Tai greičiausiai sąlygota gonadų struktūros lašišinėse žuvyse. Čia patelių gonados yra atviro tipo, t.y. subrendus ikras, jų sienelės atsiveria, ir kiaušialąstės patenka į pilvo ertmę, iš kurios vėliau raumenų pagalba patenka į išorę per lytinę angą. Tokiu būdu, pastarasis metodas nėra tinkamas ilgalaikiam patelių žymėjimui. Tačiau, jei reikalinga žuvi

atskirti tik neršto manipuliacijų metu, šis būdas gali būti taikomas. Dalinai laisvas žymeklio judėjimas kūno ertmėje yra labiau toleruojamas daugelio rūšių, ne tik žuvų, nors pastebėta, kad pavyzdžiui *Siluridae* atstovai geba pašalinti žymeklį transintestinaliniu būdu (Baras & Westerloppe 1999), t.y. žarnų išoriniams audiniams apaugant svetimkūnį ir vėliau pašalinant jį iš virškinamojo trakto. Implantavimas į raumenis yra labiau komplikvuota procedūra, kadangi tenka nustatyti teisingą aplikatoriaus adatos injekcijos gylį. Tai ypač taikytina patelėms, jei implantas pageidautinas pilvo srityje. Pastaruoju atveju, padarius per gilią injekciją, PIT žymeklis patenka į kūno ertmę, iš kurios vėliau gali pasišalinti su ikrais. RFID pagrindu gaminamų žymeklių implantavimas į raumenis taip pat susijęs ir su kitomis rizikomis. Viena iš jų, apie kurią kol kas nėra gausu informacijos – vėžinių auglių susidarymas implanta supančiuose audiniuose (Tillmann *et al.* 1997; Le Calvez *et al.* 2006; Vascellari *et al.* 2006). Tačiau šis reiškinys žuvyse kol kas nėra išsamiai tyrinėtas. Patinų atveju intraperitoniniam žymėjimui turėtų būti teikiama pirmenybė. Pašalinimas per virškinimo ar lytinę sistemą lašišinių žuvų patinuose kol kas nėra stebėtas kitų autorių tyrimuose. Žymint šiuo būdu galima išvengti žymeklio pašalinimo jei šis implantuotas nepakankamai giliai į raumenis. Pilvaplėvės perdūrimas aplikatoriaus adata atliekant procedūrą yra jaučiamas gana gerai ir gali būti savotišku ženklų savalaikiam ir tinkamam PIT žymeklio injekcijos momentui.

Pagrindinis PIT žymeklių privalumas lyginant su šiame tyrime taip pat naudotais Floy Tag žymekliais yra jų nuskaitymo patogumas. Išorinių žymeklių atveju gana nemažai laiko užima numeruotų žymeklių identifikacinio kodo nuskaitymas. Jo metu žuvis arba turi būti anestezuojama, arba kitokiais būdais imobilizuota, o tam sugaištama nemažai laiko, ir žuviai sukliamas papildomas nereikalingas stresas. Naudojant PIT žymeklius, šios gaisaties išvengiama, kadangi implanto kodas nuskaitymas per atstumą. Tyrimo metu tam tikrais atvejais netgi buvo įmanoma kodą nuskaityti žuvies neišimant iš vandens – iš 15 – 20 cm atstumo. Naudojant specialią nuskaitymo įrangą, atsparią vandeniui, reproduktorių identifikacijos metu sukliamą stresą būtų galima sumažinti labai ženkliai. Nors išorinių ir PIT žymeklių pritaikymo laikas yra panašus, pastarieji daugiau sutaupo identifikuojant konkretų individą.

Kadangi PIT žymekliai dažnai yra naudojami migracijos tyrimuose, šio žymėjimo metodo taikymas Žeimenos lašišų veislyne įgautų kur kas platesnę prasmę. Šiuo metu Lietuvos upėse vykdomi telemetriniai laukinių lašišų ir šlakių migracijos tyrimai. Be aktyvių radijo žymeklių naudojamų tokiuose tyrimuose, diskutuojama ir apie PIT nuskaitymo antenų

įrengimą žuvų praėjimo takuose. Tai leistų dar labiau praplėsti žinias apie lašišinių žuvų migraciją. Iš Žeimenos lašišų veislyno po neršto paleistos žymėtos žuvys būtų labai tinkamas objektas tokiems tyrimams, tuo labiau, kad informacijos apie išneršusių (ypač dirbtinėse sąlygose) lašišų ir šlakių reproduktorių judėjimą upėse, jų atsistatymą, labai trūksta.



a



b



c



d



e



f

5 pav. Šlakių žymėjimas PIT žymekliais. Žymėjimo vietos nustatymas (a), žymeklio injekcija į kūno ertmę (b), aplikatoriaus pašalinimas (c). D – žymėjimo vieta yra sunkiai pastebima, pažeidimai greitai užgyjantys. E – riebalinio peleko audinio mėginio paėmimas genetiniams tyrimams. F – mėginių ir žymeklio kodo registravimas.

Rekomenduotume žymėjimą PIT žymekliais naudoti kaip standartinę priemonę reproduktorių žymėjimui veislyne. Ši priemonė taip pat būtų labai naudinga žuvų apskaitai. Kadangi neršto sezono metu lašišos ir šlakiai dažnai yra perkėlinėjami, transportuojami į įvairias talpas, neretai neišvengiama maišaties vykdant jų registravimą. Žymėjimo metodas nėra techniškai sudėtingas (5 pav.), bei yra gana nebrangus, todėl tinkamai instrukuotas veislyno personalas gali žymėti visus į veislyną atgabenamus reproduktorius, žymeklių informaciją įvedant į registracijos žurnalus. Žymekliai vėliau leistų sekti individualios žuvies judėjimą per visas manipuliacijų veislyne stadijas, priklausomai nuo naudojamos nuskaitymo įrangos, minimaliai sumažinant jai keliamą stresą.

Išvados ir rekomendacijos

Įvertinus dviejų žymėjimo metodų tinkamumą Žeimenos lašišų veislyne reproduktoriams atskirti, nustatyta, kad:

- dviejų konstrukcijos tipų inkariniai Floy Tag žymekliai yra tinkami žymėjimui, tačiau geresnius žymeklio išlaikymo rezultatus pademonstravo žuvys, žymėtos numeruotais FD-68B žymekliais;
- FD-67F nenumeruoti žymekliai tinkamesni trumpalaikiam žymėjimui be tikslaus identifikavimo poreikio;
- elektroniniai PIT žymekliai yra efektyvus būdas lašišinių žuvų žymėjimui, kuris gali būti taikomas Žeimenos veislyne lašišinių žuvų reproduktorių registracijai, apskaitai ir identifikacijai;
- PIT žymekliais žymint subrendusias lašišinių žuvų pateles, nerekomenduojama implantacija į kūno ertmę siekiant išvengti žymeklio pasišalinimo iš organizmo; siūloma žymėti į raumenis; patinai gali būti žymimi šiais žymekliais tiek į kūno ertmę, tiek į raumenis.

Literatūros sąrašas

- Domogala J., Kazlauskienė N., Virbickas T., Leliūna E. 2005. Characteristics of sexual maturation of wild and hatchery-reared Baltic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Acta Zoologica Lituanica* **15(4)**: 349-354.
- Baras, E. and Westerloppe, L. 1999. Transintestinal expulsion of surgically implanted tags in African catfishes *Heterobranchius longifilis* of different size and age. *Transactions of the American Fisheries Society* **128**: 737-746.
- Baras, E., Malbrouck, C., Houbart, M., Kestemont, P. and Melard, C. 2000. The effect of PIT tags on growth and some physiological factors of age-0 cultured Eurasian perch *Perca fluviatilis* of variable size. *Aquaculture* **185**: 159-173.
- Berejikian, B.A., Mathews, S.B., Quinn, T.P. 1996. Effects of hatchery and wild ancestry and rearing environments on the development of agonistic behaviour in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **53**: 2004 – 2014.
- Bergensen, E.P., Rogers, K.B. and Conger, L.V. 1994. A livestock hormone pellet injector for implanting PIT tags. *North American Journal of Fisheries Management* **14**: 224-225.
- Communication from The Commission to The Council and The European Parliament. A strategy for the sustainable development of European aquaculture. Brussels, 19.9.2002 COM(2002) 511 final.
- Ferno, A., Jarvi, T., 1998. Domestication genetically alters the anti-predator behaviour of anadromous brown trout (*Salmo trutta*)—a dummy predator experiment. *Nordic Journal of Freshwater Research* **74**: 95 – 100.
- Fleming, I.A., Einum, S. 1997. Experimental tests of genetic divergence of farmed and wild Atlantic salmon due to domestication. *ICES Journal of Marine Science* **54**: 1051 – 1063.
- Handeland, S.O., Bjornsson, B.Th., Arnesen, A.M., Stefansson, S.O. 2003. Seawater adaptation and growth of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) of wild and farmed strains. *Aquaculture* **220**: 367–384

- Kazlauskienė, N., Vosylienė, M.Z. 2006. Physiological state of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) juveniles grown in the Žeimena Salmon Hatchery depending on different feed. *Acta Zoologica Lituanica* **16** (4): 279-285
- Kesminas, V., Virbickas, T., Stakėnas, S., Steponėnas, A., Skrupskelis, K. 2008 Praeivių žuvų monitoringas Rytų Lietuvos upėse. Ataskaita. Moksliniai tyrimai pagal ūkiskaitinę sutartį su Aplinkos ministerija. Vilnius. 79p.
- Le Calvez, S., Perron-Lepage, M.-F., Burnett, R. 2006. Subcutaneous microchip-associated tumours in B6C3F1 mice: a retrospective study to attempt to determine their histogenesis. *Experimental and Toxicologic Pathology* **57**: 255-265.
- Lucas, M.C. & Baras, E. 2000. Methods for studying spatial behaviour of freshwater fishes in the natural environment. *Fish and Fisheries* **1**: 283-316.
- Petersson, E., Jarvi, T. 1995. Evolution of morphological traits in sea trout (*Salmo trutta*) parr (0+) through sea-ranching. *Nordic Journal of Freshwater Research* **70**: 62 – 67.
- Prentice, E.F., Flagg, T.A. and McCutcheon, C.S. 1990. Feasibility of using implantable passive integrated transponder (PIT) tags in salmonids. *American Fisheries Society Symposium* **7**: 317-322.
- Reisenbichler, R.R., McIntyre, J.D. 1976. Genetic differences in growth and survival of juvenile hatchery and wild steelhead trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of Fisheries Research Board Canada* **34**: 123 – 128.
- Swain, D.P., Riddell, B.E., Murray, C.B. 1991. Morphological differences between hatchery and wild populations of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): environmental versus genetic origin. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **48**: 1783 – 1791.
- Tallman, R.F., Healey, M.C. 1994. Homing, straying, and gene flow among seasonally separated populations of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **51**: 577–588.
- Thodesen, J., Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., Gjerde, B. 1999. Feed intake, growth and feed utilization of offspring from wild and selected Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* **180**: 237 – 246.

Tillmann, T., Kamino, K., Dasenbrock, C., Ernst, H., Kohler, M., Morawietz, G., Campo, E., Cardesa, A., Tomatis, L. and Mohr, U. 1997. Subcutaneous soft tissue tumours at the site of implantated microchips in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology* **49**: 197-200.

Vascellari, M., Melchiotti, E. and Mutinelli, F. 2006. Fibrosarcoma with typical features of postinjection sarcoma at site of microchip implant in a dog : histologic and immunohistochemical study. *Veterinary Pathology* **43**: 545-548.

SUDERINTA:

Žuvininkystės tyrimų priežiūros komisija
komisijos pirmininkas

Algirdas Rusakevičius

2008 m. mėn. d.