

Latvijas Lauksaimniecības universitāte
Latvia University of Life Sciences and Technologies

Veterinārmedicīnas fakultāte
Faculty of Veterinary medicine



Ilze Rutkovska

**SMOLTIFIKĀCIJAS IZPAUSMES AUDZĒTIEM VIENU
GADU VECIEM TAIMIŅIEM (*SALMO TRUTTA L.*)**

***EXPRESSION OF SMOLTIFICATION IN REARED
YEARLING SEA TROUT (*SALMO TRUTTA L.*)***

Promocijas darba KOPSAVILKUMS
Dr. med. vet. zinātniskā grāda iegūšanai

SUMMARY
of the Doctoral thesis for the scientific degree of Dr.med.vet.

Jelgava
2020

Promocijas darbs izstrādāts:

- Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Pārtikas un vides higiēnas institūtā;
- Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta “BIOR” Zivju resursu pētniecības departamenta Iekšējo ūdeņu un zivju resursu atražošanas nodaļā;
- Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta “BIOR” zivju audzētavas “Tome” Akvakultūras pētniecības un izglītības centrā.

Research has been carried out at the:

- *Latvia University of Life Sciences and Technologies, Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Food and Environmental Hygiene;*
- *Institute of Food Safety, Animal Health and Environment “BIOR”, Fish Resource Research Department’s Division of Inland Waters and Fish Restocking;*
- *Fish farm “Tome” Aquaculture Research and Education Centre.*

Promocijas darba zinātniskais vadītājs:

Scientific supervisor:

LLU docente Dr. med.vet. **Ruta Medne**

Oficiālie recenzenti:

Official reviewers:

- Dr.med.vet., LLU profesors **Ilmārs Dūrītis** (Latvijas Lauksaimniecības universitāte/ *Latvia University of Life Sciences and Technologies*)
- Dr.biol. **Dina Cīrule** (Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts “BIOR”/ *Institute of Food Safety, Animal Health and Environment “BIOR”*)
- Dr. **Saulius Stakenas** (Ekoloģijas institūts, Dabas pētniecības centrs/ *Institute of Ecology, Nature Research Center*)

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2020.gada 28. februārī plkst 11:00, LLU Veterinārmedicīnas fakultātē, Jelgavā, K. Helmaņa ielā 8, A 300 auditorijā.

The defense of this thesis will take place at Latvia University of Life Sciences and Technologies Faculty of Veterinary Medicine, Jelgava, K. Helmaņa Street 8, auditorium A300 on 28th of February 2020, at 11:00 a.m.

Ar promocijas darbu var iepazīties Latvijas Lauksaimniecības universitātes Fundamentālajā bibliotēkā, Jelgavā, Lielajā ielā 2.

The thesis is available at the Fundamental Library of Latvia University of Life Sciences and Technologies, Lielā Street 2, Jelgava.

SATURS/CONTENT

SATURS/CONTENT	4
IEVADS	7
Darba aktualitāte	7
Darba hipotēze	8
Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes	8
Darba mērķis	8
Darba uzdevumi	8
Darba zinātniskā aktualitāte	8
Personīgais ieguldījums	9
Pētījuma rezultātu aprobācija/ <i>Approbation of the research results</i>	9
Promocijas darba apjoms un struktūra	11
MATERIĀLS UN METODES	12
Pētījuma vietas, laika un objekta raksturojums	12
Pētījuma shēma	13
Taimiņu morfoloģiskā novērtēšana	14
Asins paraugu iegūšana	16
Taimiņu sekcijas veikšana un somatisko indeksu aprēķināšana	16
Eritrocītu skaita noteikšana	17
Hemoglobīna koncentrācijas noteikšana	17
Hematokrīta noteikšana	18
Leikocitārās formulas noteikšana	18
Vairogdziedzera hormonu līmeņa noteikšana asins plazmā	19
Sālsūdens tolerances tests	19
Parazitoloģiskā izmeklēšana	19
Datu statistiskā apstrāde	20
PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA	21

Taimiņu morfoloģiskais novērtējums	21
Hematoloģiskie rādītāji	25
Tiroksīna un trijodtironīna koncentrācija asins plazmā	28
Sālsūdens tolerance	32
Parazitoloģiskās izmeklēšanas rezultāti	39
SECINĀJUMI	40
IETEIKUMI PRAKSEI	42
INTRODUCTION	44
Topicality of the work.....	44
Hypothesis of the research	45
Research theses	45
The aim of the research	45
The objectives of the doctoral thesis	45
Scientific novelty of the research.....	46
Personal contribution	46
Structure and volume of doctoral thesis	46
MATERIAL AND METHODS	47
Place, time and object of the research	47
Scheme of the research	48
Morphological assessment of sea trout	49
Blood sampling	50
Sea trout section and calculation of somatic indices	50
Determination of red blood cell count	51
Determination of hemoglobin level	51
Determination of haematocrit	52
Determination of leukocyte formula	52
Determination of thyroid hormone level in plasma	53
Sea water tolerance test.....	53

Parasitological examination	53
Statistical processing of the data	54
RESULTS OF THE RESEARCH AND DISCUSSION	55
Morphological assessment of sea trout	55
Haematological parameters	57
Thyroxine and triiodothyronine concentration in plasma	60
Seawater tolerance	62
Results of parasitological examination	64
CONCLUSIONS	65
RECOMENDATIONS FOR PRACTICE	67

IEVADS

Darba aktualitāte

Taimiņu (*Salmo trutta* L.) dabīgo resursu atražošanas mērķis Latvijā ir lašveidīgo zivju resursu papildināšana, galvenokārt, lai kompensētu Daugavas hidroelektrostaciju kaskādes un citu antropogēno faktoru - upju gultnes iztaisnošanas, nārsta vietu zudumu saimnieciskās darbības rezultātā, kā arī piesārņojuma radīto negatīvo ietekmi uz zivju krājumiem. Taimiņu atražošana tiek īstenota, papildinot Latvijas ūdenskrātuves ar zivju audzētavās izaudzētiem dažāda vecuma taimiņu mazuļiem.

Taimiņu ataudzēšanai vaislas materiāls tiek iegūts no upju grīvās nozvejotiem taimiņu vaisliniekiem, kas no Baltijas jūras atgriežas dzimtajās upēs uz nārstu. Ikri tiek inkubēti optimālos apstākļos, līdz no tiem nakamajā pavasarī izšķīļas kāpuri. Tālāk mazuļi tiek audzēti speciālos baseinos, līdz beidzot 1 - 2 gadu vecumā mazie taimiņi tiek izlaisti upēs un upju grīvās, lai migrētu un turpmāk dzīvotu jūrā, bet, sasnieguši briedumu, atkal atgrieztos dzimtajā upē uz nārstu.

Lai sasniegtu pēc iespējas augstāku taimiņu resursu atražošanas efektivitāti, ir svarīgi, lai pēc izlaišanas upēs izdzīvotu un briedumu sasniegtu pēc iespējas vairāk audzēto taimiņu. Taimiņu izdzīvošanas spēja pēc izlaišanas ir atkarīga no daudziem faktoriem, bet kā galvenais faktors ir jāmin taimiņa attīstības pakāpe. Izlaižot taimiņu kāpurus, jāreķinās, ka izdzīvos tikai maza daļa no visiem izlaistajiem taimiņiem. Attiecīgi, jo attīstītāka zivs būs izlaišanas brīdī, jo lielāka iespēja, ka tā izdzīvos un atražošanas mērķis tiks sasniegts. Visaugstāko atražošanas efektivitāti var sasniegt dabīgajos ūdeņos izlaižot taimiņu smoltus.

Smolti ir lašu dzimtas zivju mazuļi, kas ir fizioloģiski gatavi migrācijai uz jūru un pielāgojušies dzīvei sāļā ūdenī. Savukārt smoltifikācija ir fizioloģisks process, kura laikā jauno lašu dzimtas zivju organismā notiek fizioloģiskas, morfoloģiskas un uzvedības pārmaiņas, lai nodrošinātu zivju spēju izdzīvot sāļajā jūras ūdenī. Daudzām zivju sugām smoltifikācija notiek pavasarī un to regulē fotoperiods un ūdens temperatūra, bet, lai tā sāktos, zivīm ir jāsasniedz noteikts izmērs un attīstības pakāpe (McCormick, 2013).

Latvijā tiek pieņemts, ka audzētie taimiņi smoltificējas viena gada vecumā un kā smoltu izlaišanas kritērijs tiek izmantots taimiņu svars. Jāatzīst, ka taimiņu smoltifikācijas pētījumi Latvijā nav dokumentēti, turklāt zivju svars kā smoltifikācijas kritērijs citās valstīs netiek pielietots un zinātniskās publikācijās netiek minēts pie smoltifikācijai būtiskiem parametriem. Tas rada šaubas par šī kritērija nozīmību un praktisko pielietojamību smoltu noteikšanā. Dati liecina, ka arvien samazinās Latvijas upēs nārstojošo taimiņu skaits, kas liek apšaubīt taimiņu resursu atražošanas efektivitāti.

Darba hipotēze

Vienu gadu veci audzēti taimiņi nesasniedz smolta stadiju un nav gatavi lejumigrācijai audzēšanas apstākļu un parazīta *Gyrodactylus spp.* invāzijas dēļ.

Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes

1. Audzēšanas apstākļi ietekmē taimiņu smoltifikācijas procesu.
2. Tikai neliela daļa audzētu taimiņu gada vecumā sasniedz smolta stadiju.
3. Svārs nav izmantojams kā smoltu izlaišanas kritērijs.

Darba mērķis

Promocijas darba mērķis ir noteikt audzēto vienu gadu vecu taimiņu smoltifikācijas rādītājus, parazītu invāziju ietekmi uz smoltifikācijas procesu un izstrādāt ieteikumus taimiņu izlaišanai zivju resursu atražošanas plāna īstenošanai.

Darba uzdevumi

Mērķa sasniegšanai izvirzīti sekojoši darba uzdevumi:

1. Noteikt taimiņu morfoloģiskās izmaiņas pirmajā dzīves gadā, atkarībā no audzēšanas biotehnoloģijas.
2. Noteikt asins morfoloģiskos un bioķīmiskos rādītāju dinamiku pēdējos mēnešos pirms taimiņu ielaišanas dabiskos ūdeņos.
3. Novērtēt taimiņu hipo-osmoregulācijas spēju pirmssmoltifikācijas un smoltifikācijas laikā.
4. Noteikt parazītu klātbūtni un ietekmi uz smoltifikācijas rādītājiem.
5. Izstrādāt ieteikumus taimiņu mazuļu izlaišanai zivju resursu atražošanas plāna īstenošanai.

Darba zinātniskā aktualitāte

1. Pirmo reizi Latvijā veikti pētījumi par taimiņu smoltifikācijas norisi.
2. Noskaidrots aptuvenais taimiņu daudzums, kas smoltificējas viena gada vecumā.

3. Izanalizēta taimiņu smoltifikācijas norise caurteces un recirkulācijas audzēšanas sistēmās.
4. Izstrādāti ieteikumi taimiņu izlaišanai Latvijas valsts zivju resursu atražošanas plāna īstenošanai.
5. Izstrādāts pamats turpmākiem pētījumiem par taimiņu smoltifikāciju Latvijas klimatiskajos apstākļos.

Personīgais ieguldījums

1. Paraugu ņemšanas plāna sastādīšana.
2. Pētījumā izmantoto taimiņu atlase.
3. Taimiņu morfoloģiskā novērtēšana (mērīšana, svēršana, sudrabošanās līmeņa noteikšana), daļējas sekcijas veikšana, somatisko indeksu aprēķināšana.
4. Taimiņu asins paraugu iegūšana.
5. Hematoloģisko rādītāju (eritrocītu skaita, hemoglobīna līmeņa, hematokrīta, leikocītārās formulas) noteikšana taimiņu asins paraugos, eritrocītu indeksu aprēķināšana.
6. Sālsūdens tolerances testa veikšana, taimiņu hipo-osmoregulācijas spējas novērtēšana.
7. Morfoloģiskās, hematoloģiskās un hormonālās izmeklēšanas rezultātu apkopošana, analīze un statistiskā apstrāde.

Pētījuma rezultātu aprobācija/ *Approbation of the research results*

Zinātniskās publikācijas un tēzes/ *Scientific publications and theses:*

1. Rutkovska, I., Medne, R. (2012). Hematological parameters of one year old Sea Trout (*Salmo trutta*) in spring. Starptautiskās konferences “Veterinārmedicīnas zinātnes un prakses aktualitātes” Raksti, Jelgava, 131. -135. lpp.
2. Rutkovska, I., Medne, R. (2015). Morphological changes in artificially reared one year old sea trout (*Salmo trutta* L.) during spring. Annual 21st International Scientific Conference Proceedings. Research for Rural Development, Jelgava, 89. -193. lpp.

3. Rutkovska, I., Medne, R. (2018). Triiodothyronine and thyroxine changes in yearling sea trout (*Salmo trutta* L.) during spring. *Fisheries and Aquatic Life*, 26, 101-109.
4. Rutkovska, I., Medne, R., Purvina, S. (2019). Seawater tolerance and morphological assessment of yearling sea trout (*Salmo trutta* L.). *International Aquatic Research*, 11(3), 295-302.

Pētījuma rezultāti ziņoti šādās starptautiskās zinātniskās konferencēs/ *The results of the research have been presented at the following international scientific conferences:*

1. Starptautiskā veterinārmedicīnas studentu zinātniskā konference. Jelgava, Latvija 11.04.2012. Rutkovska I. Hematological parameters of sea trout (*Salmo trutta*) (mutisks ziņojums).
2. Starptautiskā zinātniskā konference “Veterinārmedicīnas zinātnes un prakses aktualitātes”. Jelgava, Latvija. 22.-23.11.2012. Rutkovska I., Medne R. Hematological parameters of one year old Sea Trout (*Salmo trutta*) in spring (stenda ziņojums).
3. Starptautiskā zinātniskā konference "Zinātne lauku attīstībai 2015". Jelgava, Latvija. 13.-15.05.2015. Rutkovska I., Medne R. Morphological changes in artificially reared one year old sea trout (*Salmo trutta* L.) during spring (mutisks ziņojums).
4. Starptautiskā zinātniskā konference “ICES Annual Science Conference”, Rīga, Latvija. 19.09.2016.-23.09.2016. Rutkovska I., Medne R. Sea trout (*Salmo trutta* L.) restocking in Latvia (stenda ziņojums).
5. Starptautiskā zinātniskā konference “ICES Annual Science Conference”, Rīga, Latvija. 19.09.2016.-23.09.2016. Medne R., Rutkovska I. Smoltification hormone level changes in Salmons subjected for restocking in Latvia (stenda ziņojums).

Promocijas darba apjoms un struktūra

Promocijas darbs noformēts uz 107 lappusēm ar 38 attēliem un 20 tabulām. Promocijas darbs izkārtots astoņās nodaļās: ievads, literatūras apskats, materiāls un metodes, rezultāti, diskusija, secinājumi, aizstāvēšanai izvirzītās tēzes, ieteikumi praksei, informācijas avotu saraksts (168 informācijas avoti).

MATERIĀLS UN METODES

Pētījuma vietas, laika un objekta raksturojums

Darba pētījuma daļa izstrādāta no 2012. līdz 2015. gadam Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Pārtikas un vides higiēnas institūtā un Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta “BIOR” laboratorijās un specializētajās taimiņu audzētavās.

Pētījumā izmantotie taimiņu mazuļi tika iegūti no trīs valsts zivju audzētavām - Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta “BIOR” zivju audzētavas „Tome” (Daugavas baseins), filiāles „Pelči” (Ventas baseins) un filiāles „Brasla” (Gaujas baseins). Tās ir zivju audzētavas, kurās saskaņā ar Zivju resursu mākslīgās atražošanas plānu 2017.-2020. gadam tiek audzēti taimiņi dabīgo resursu papildināšanai.

Pētījuma priekšizpētes gadā, papildus audzētajiem taimiņiem tika pētīti arī dabiskie taimiņu smolti Salacas upē, lai noskaidrotu to smoltifikācijas pazīmes.

Ikri, no kuriem izšķīlās pētījumā izmantotie audzētie taimiņi, tika iegūti no savvaļas vaisliniekiem, kas tika nozvejoti katrai audzētavai atbilstošajā upē. Visās trīs zivju audzētavās taimiņi tika audzēti caurteces sistēmās, bet zivju audzētavā “Tome” papildus arī recirkulācijas sistēmā. Zivis tika audzētas ārējās vides temperatūras upes ūdenī, baseinos ar 1.5 m diametru dabīgā apgaismojumā. Ūdens straumes ātrums bija 0.16 – 0.18 m sec⁻¹. Audzēšanas blīvums visās audzētavās pētījuma laikā bija aptuveni 30 kg m⁻³. Zivis tika barotas ar atbilstoša izmēra komerciālo granulēto barību “Aller Futura” atbilstoši ražotāja rekomendācijām (www.aller-aqua.com). Skābekļa līmenis ūdenī un ūdens temperatūra tika mērīti trīs reizes dienā (plkst. 8:00, 14:00, 20:00), izmantojot audzētavās pieejamos oksimētrus un termometrus. Skābekļa līmenis ūdenī visu audzēšanas laiku tika uzturēts 7-10 mg L⁻¹, nepieciešamības gadījumā veicot mākslīgo aerāciju vai oksigenāciju.

Ūdens temperatūras dati tika iegūti no audzētavās veiktajiem mērījumiem, ko katru dienu veica audzētavu darbinieki.

Kopumā pētījumā izmantoti 1850 vienu gadu veci taimiņu mazuļi, no tiem 90 taimiņi pētīti priekšizpētes gadā, 1560 taimiņi izmantoti detalizētajā pētījumā pētījuma otrajā gadā, bet pētījuma trešajā gadā morfoloģiski novērtēti 200 taimiņi.

Asins paraugi hematoloģisko rādītāju un vairogdziedzera hormonu noteikšanai tika ņemti uz vietas audzētavā, ievietoti portatīvajā ledusskapī un nekavējoties nogādāti izmeklēšanai laboratorijā. Lai varētu veikt taimiņu sekciju, pēc asins paraugu paņemšanas taimiņi tika nonāvēti izdarot sitienu ar trulu priekšmetu pa zivs galvu un pēc tam traumējot mugurkaulu, izdarot griezienu ar skalpeli kaudāli no zivs galvas.

Asins paraugu hematoloģiskā izmeklēšana un zivju daļēja sekcija tika veikta Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta "BIOR" Zivju resursu pētniecības departamenta Iekšējo ūdeņu un zivju resursu atražošanas nodaļā, vairogdziedzera hormonu līmenis asins plazmā tika noteikts SIA "E. Gulbja Laboratorija", savukārt sālsūdens tolerances tests tika veikts zivju audzētavas "Tome" Akvakultūras pētniecības un izglītības centrā un hlora jonu koncentrācija asins plazmā noteikta Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta "BIOR" Dzīvnieku slimību diagnostikas laboratorijas Patoloģijas nodaļā.

Rezultātu analīze un interpretācija veikta Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta "BIOR" Zivju resursu pētniecības departamenta Iekšējo ūdeņu un zivju resursu atražošanas nodaļā.

Pētījuma shēma

Pētījums tika veikts trīs posmos:

1. posms (1. pētījuma gads) – priekšizpēte, kuras laikā tika iegūts vispārējs priekšstats par vienu gadu vecu taimiņu fizioloģiskajiem rādītājiem;

2. posms (2. pētījuma gads) – detalizēts pētījums, kurā veikta morfoloģiska taimiņu novērtēšana, parazitoloģiskā taimiņu izmeklēšana, hematoloģisko, hormonālo un bioķīmisko rādītāju analīze;

3. posms (3. pētījuma gads) – taimiņu morfoloģiska novērtēšana.

Pirmais pētījuma gads

Lai iegūtu priekšstatu par vienu gadu vecu taimiņu hematoloģiskajiem un vairogdziedzera hormonu rādītājiem, veicām pētījuma priekšizpēti. Analīzēm taimiņi tika izvēlēti no visām trijām audzētavām – zivju audzētavām "Tome", "Pelči" un "Brasla". Gan aprīlī, gan maijā no katras audzētavas tika nejauši atlasīti 10 vienu gadu veci taimiņi, no kuriem tika paņemti asins paraugi hematoloģiskai un hormonālai izmeklēšanai, kā arī veikts taimiņu morfoloģiskais novērtējums. Tāpat arī priekšizpētes gadā tika iegūti 10 migrējoši taimiņu smolti Salacas upes lejtecē, lai gūtu priekšstatu par dabīgo taimiņu smoltu hematoloģiskajiem un hormonālajiem rādītājiem migrācijas laikā.

Dabīgo taimiņu smoltu vecums netika noteikts. Pētījuma beigās veikta datu analīze, lai saplānotu detalizētu pētījumu nākamajam periodam.

Otrais pētījuma gads

Lai varētu salīdzināt morfoloģisko rādītāju, hematoloģisko rādītāju, vairogdziedzera hormonu un hlora jonu koncentrācijas dinamiku pavasara laikā, kad taimiņiem parasti notiek smoltifikācija, laika posmā no janvāra sākuma līdz februāra beigām, reizi divās nedēļās un laika posmā no marta sākuma līdz maija vidum reizi nedēļā tika apmeklētas audzētavas un atlasīti taimiņi pētījumam.

Ņemot vērā to, ka gadu veci taimiņi ir salīdzinoši neliela izmēra, no viena indivīda nav iespējams paņemt vairākus asins paraugus, lai varētu veikt dažāda veida analīzes. Tādēļ taimiņi tika iedalīti trīs pētījuma grupās:

- 1) hematoloģisko rādītāju noteikšanai un salīdzināšanai;
- 2) vairogdziedzera hormonu līmeņa noteikšanai un salīdzināšanai;
- 3) sālsūdens tolerances testa veikšanai.

Katrā audzētavu apmeklējuma reizē katrai pētījuma grupai tika nejauši izvēlēti 10 dažāda izmēra (4.9 – 43.6 g) gadu veci taimiņi. Apzināti tika izvēlētas ļoti atšķirīga izmēra zivis, jo tās visas attiecīgā gada aprīļa beigās vai maija sākumā tika izlaistas dabīgajos ūdeņos. Zivju audzētavā “Tome” pētījumu grupām zivis tika ņemtas gan no caurteces sistēmas, gan recirkulācijas sistēmas. Visas zivis tika morfoloģiski novērtētas.

Trešais pētījuma gads

Lai varētu pārliicināties par taimiņu morfoloģisko rādītāju nemainību gadu gaitā, trešajā pētījuma gadā tika veikta neinvazīva taimiņu morfoloģiska novērtēšana, kuras laikā tika noteikts taimiņu svars, garums, sudrabošanās līmenis un aprēķināts kondīcijas faktors.

Taimiņu morfoloģiskā novērtēšana

Visi taimiņi vispirms tika morfoloģiski novērtēti. Mēs novērtējām taimiņu sudrabošanās līmeni skalā no 0 līdz 4 (Birt & Green, 1986, (modificēts ar Rutkovska & Medne, 2015) (1. tabula).

Sudrabošānās līmeņa novērtējums/ Assessment of silvering level

Sudrabošānās līmenis/ <i>Silvering level</i>	Apraksts/ <i>Description</i>
0	Mazulis. Nav sudrabošānās pazīmju, skaidri izteiktas mazuļa pazīmes./ <i>Parr. No silvering signs, clearly visible parr marks.</i>
1	Mazulis. Viegli sudrabaina krāsa. Redzamas mazuļa pazīmes./ <i>Parr. Slightly silvering color. Visible parr marks.</i>
2	Smoltam līdzīgs mazulis. (50% sudrabojums). Sudrabaina krāsa, bet redzamas mazuļa pazīmes./ <i>Smolt like parr. (50% silvering). Silvery color, but still visible parr marks.</i>
3	Smoltam līdzīgs mazulis. (75% sudrabojums). Sudrabaina krāsa un redzamas neizteiktas mazuļa pazīmes./ <i>Smolt like parr. (75% silvering). Silvery color and slightly visible parr marks.</i>
4	Smolts. Sudrabaina krāsa, melnas spuru malas. Nav redzamas mazuļa pazīmes./ <i>Smolt. Silvery color, dark fin margins. No visible parr signs.</i>

Katrs taimiņš tika nosvērts un nomērīts taimiņa ķermeņa garumu (Ls) (garums no zivs purna līdz astes spuras vidus daļai).

Pēc mērījumu veikšanas, tika izrēķināts kondīcijas faktors (KF), izmantojot sekojošo formulu (Formula 1) (Berrill, Porter & Bromage, 2006):

$$KF = \frac{W}{Ls^3} \times 100 \quad (1),$$

kur

KF - kondīcijas faktors;

W - zivs svars, g;

Ls - zivs garums, cm.

Sudrabošānās indeksi tika aprēķināti pēc sekojošas formulas (Formula 2) (Medne, 2011):

$$Is = N^{-1} \sum_{n=0}^5 n \cdot S \quad (2),$$

kur

Is - zivju grupas sudrabošānās indekss;

N - kopējais pētāmo zivju skaits;

n - zivju skaits katrā grupā;

S - sudrabošānās līmenis saskaņā ar skalu (1. tabula).

Asins paraugu iegūšana

Asins paraugs tika noņemts uzreiz pēc zivs noķeršanas uz vietas audzētavā, jo asins ainu var izmainīt stress, kā arī zivs īslaicīga turēšana ūdenī ar zemu skābekļa daudzumu (Noga, 1996). Asinis tika iegūtas no astes vēnas, izmantojot ventrālo pieeju.

Hematoloģisko analīžu veikšanai asinis tika ievadītas stobriņos ar stabilizatoru (EDTA), bet bioķīmiskajai izmeklēšanai asinis tika ievadītas stobriņos bez stabilizatora. No katras zivs tika paņemts < 200 μL asiņu. Asins paraugus ievietoja portatīvajā ledusskapī 4 °C temperatūrā un nogādāja laboratorijā 1-2 stundu laikā. Asins paraugi vairogdziedzera hormonu līmeņa noteikšanai tika nogādāti SIA "E. Gulbja Laboratorija", bet asins paraugi hematoloģiskai izmeklēšanai tikai nogādāti Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta "BIOR" Zivju resursu pētniecības departamenta Iekšējo ūdeņu un zivju resursu atražošanas nodaļā.

Taimiņu sekcijas veikšana un somatisko indeksu aprēķināšana

Pētījumā izmantotie taimiņi tika nogalināti, izdarot sitienu ar trulu priekšmetu pa galvu, pēc tam ar skalpeli tika izdarīts grieziens aiz zivs galvas ar mērķi izraisīt mugurkaula bojājumu. Taimiņiem tika veikta daļēja sekcija.

Lai varētu aprēķināt aknu un liesas indeksus, nosvērām taimiņu aknas un liesu. Aknu indekss (AI) tika aprēķināts pēc sekojošas formulas (Formula 3) (Nikolsky, 1963):

$$AI = \frac{W_L}{W} \cdot 100 \quad (3),$$

kur

AI - aknu indekss;

W_L - aknu masa, g;

W - zivs masa, g.

Liesas indekss (LI) tika aprēķināts pēc sekojošas formulas (Formula 4) (Nikolsky, 1963):

$$LI = \frac{W_S}{W_F} \cdot 100 \quad (4),$$

kur

LI - liesas indekss;

W_S - liesas masa, g;

W_F - zivs masa, g.

Eritrocītu skaita noteikšana

Eritrocītu skaits tika noteikts, izmantojot fotoelektrokolorimetru (FEK) MP+ 25. Kivetē tika ielieti 2.5 mL Govera šķīduma (DR LANGE), tam pievienoti 5 μ L asiņu. Kivetes saturs rūpīgi samaisīts. Kā etalons tika izmantots tīrs Govera šķīdums bez asins piejaukuma. Refrakcijas skaitlis tika noteikts, izmantojot viļņa garumu 546 nm.

Lai noskaidrotu eritrocītu skaitu, vairāki paraugi tika izmeklēti gan ar FEK, gan izmantojot Gorjajeva skaitīšanas kameru. Tika aprēķināta sakarība starp abiem rādītājiem un izteikta formulas veidā, kuru izmantojām eritrocītu skaita aprēķināšanai (Formula 5):

$$RBC = 2.3409 \times RS - 0.1519 \quad (5),$$

kur

RBC - eritrocītu skaits, milj. mm^{-3} ;

RS - refrakcijas skaitlis pēc FEK.

Hemoglobīna koncentrācijas noteikšana

Lai noteiktu hemoglobīna koncentrāciju asinīs, tika izmantota ciānmethemoglobīna metode. Tīrā un sausā kivetē tika ielieti 2.5 mL transformācijas šķīduma LCN 043, kam tika pievienoti 5 μ L asiņu, kivetes saturs rūpīgi samaisīts un atstāts uz 10 minūtēm. Izmantojot FEK MP+ 25, tika noteikts optiskais blīvums pie viļņa garuma 546 nm, par etalonu izmantojot transformācijas šķīdumu.

Salīdzinājumam tika veikti izmeklējumi, izmantojot Sali hemometru. Pēc tam aprēķināta sakarība starp abiem rādītājiem un izteikta formulas veidā, kuru izmantojām hemoglobīna koncentrācijas aprēķināšanai (Formula 6):

$$Hgb = (1.058 \times RS + 3.391) \times 10 \quad (6),$$

kur

Hgb - hemoglobīna koncentrācija, g L^{-1} ;

RS - refrakcijas skaitlis.

Hematokrīta noteikšana

Hematokrīts tika noteikts, izmantojot mikrohematokrīta metodi. Aptuveni 2/3 no mikrohematokrīta stobriņa tika piepildītas ar stabilizētām asinīm, viens gals stobriņam tika cieši noslēgts ar māliem. Stobriņi tika centrifugēti 5 minūtes pie 6000 apgriezieniem, izmantojot centrifūgu NF 048. Eritrocītu procentuālais daudzums tika noteikts, izmantojot centrifūgai pievienoto lineālu, vai gadījumos, ja asiņu daudzums bija ierobežots, un stobriņš tika piepildīts manāk nekā līdz 2/3, izmērot stobriņa daļu, ko aizpildīja eritrocīti un izdalot ar kopējo asinīm pildītās stobriņa daļas garumu.

Aprēķinājām eritrocītu indeksus (Formula 7, Formula 8, Formula 9):

$$MCV = \frac{PCV}{RBC} \times 10 \quad (7),$$

$$MCH = \frac{Hgb}{RBC} \quad (8),$$

$$MCHC = \frac{Hgb}{PCV} \times 100 \quad (9),$$

kur

MCV - vidējais eritrocīta tilpums, fL;

PCV - hematokrīts, %;

RBC - eritrocītu skaits, 10^{12} L^{-1} ;

MCH - vidējais hemoglobīna saturs eritrocītā, pg;

Hgb - hemoglobīna saturs, g L^{-1} ;

MCHC - vidējā hemoglobīna koncentrācija eritrocītos, g L^{-1} (Jemeljanovs, Manevičs & Dūrītis, 2007).

Leikocitārās formulas noteikšana

Lai noteiktu leikocitāro formulu, tika pagatavota asins uztriepe. Asins uztriepes nožāvējām gaisā un krāsojām ar JorVet krāsu komplektu DipQuick Stain Kit. Krāsošanu veicām, 5-6 reizes iemērcot uztriepi fiksējošā šķīdumā, pēc tam 5 - 6 reizes krāsojošā šķīdumā Nr. 1 un Nr. 2. Leikocitāro formulu noteicām, asins uztriepes mikroskopējot gaismas mikroskopā Leica DME 400 (10x40) reižu palielinājumā un saskaitot 100 leikocītus (Stoskopf, 1993).

Vairogdziedzera hormonu līmeņa noteikšana asins plazmā

Vairogdziedzera hormonu, tiroksīna un trijodtironīna koncentrācija asins plazmā tika noteikta SIA “E.Gulbja Laboratorija” laboratorijā, izmantojot imunoloģisko luminiscences metodi. Tika izmantots analizators ADVIA Centaur XP Siemens Healthcare Diagnostics Immunoassay System (reaģenti – ADVIA Centaur T4, T3/T4/VB12 Ancillary Reagent, T4 Diluent and ADVIA Centaur T3, T3/T4/VB12 Ancillary Reagent, T3 Diluent).

Sālsūdens tolerances tests

Zivis no audzētavām “Brasla” un “Pelči” uz zivju audzētavas “Tome” Akvakultūras pētniecības un izglītības centru tika transportētas plastmasas maisos, kur 1/3 bija pildīta ar audzētavas ūdeni, bet 2/3 ar skābekli, maiši tika novietoti uz ledus. Pēc 2 – 3 h ilga brauciena taimiņi Akvakultūras pētniecības un izglītības centrā tika ievietoti baseinos ar tilpumu 50 L, kuros ūdens temperatūra tika uzturēta atbilstoši ūdens temperatūrai audzētavā, nodrošinot dabīgu fotoperiodu. Zivis pirms sālsūdens tolerance testa veikšanas 48 h tika aklimatizētas. Eksperimenta laikā taimiņu grupa netika barota.

Sālsūdens tolerance tika pārbaudīta, izmantojot 24 h sālsūdens tolerances testu (sāļums = 30 ppt). Pēc 24 h asins paraugs tika paņemts no zivs kaudālās vēnas un ievietots portatīvajā ledusskapī 4°C temperatūrā un nekavējoties nogādāts Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta “BIOR” Dzīvnieku slimību diagnostikas laboratorijas Patoloģijas nodaļā, lai noteiktu hlora jonu koncentrāciju, izmantojot kolorimetrisko metodi ar analizatoru Daytona Randox (reaģents – Chloride (Thiocyanate Reagent)). Sālsūdens tolerances tests tika veikts atbilstoši Blackburn & Clarke (1987) izstrādātajai metodikai.

Parazitoloģiskā izmeklēšana

Visiem pētījumā izmantotajiem taimiņiem tika veikta ķermeņa gļotu uztriepes izmeklēšana, lai noskaidrotu parazītu, galvenokārt *Gyrodactylus spp.* klātbūtni. Uztriepes tika mikroskopētas ar gaismas mikroskopu Leica DME. Invāzijas ekstensitāte (IE) tika aprēķināta pēc sekojošas formulas (Formula 10):

$$IE = \left(\frac{X_i}{X_k}\right) \times 100 \quad (10),$$

kur

IE - invāzijas ekstensitāte;

Xi - invadēto taimiņu skaits;
Xk - kopējais izmeklēto taimiņu skaits.

Invāzijas intensitāte tika aprēķināta pēc sekojošas formulas (Formula 11):

$$II = \frac{n}{N} \quad (11),$$

kur

II - invāzijas intensitāte;
n - parazitū skaits vienā paraugā;
N – pozitīvo paraugu skaits.

Datu statistiskā apstrāde

Visiem iegūtajiem kvantitatīvajiem datiem veikta aprakstošās statistikas aprēķināšana – vidējā vērtība, minimālā un maksimālā vērtība, standartnovirze. Pētījumā iegūta daudzdimensiju statistiskā kopa, kuras kvantitatīvās pazīmes analizētas, izmantojot korelācijas analīzi, lai noteiktu dažādu parametru sakarību vienam ar otru (Sokal & Rohlf, 2000).

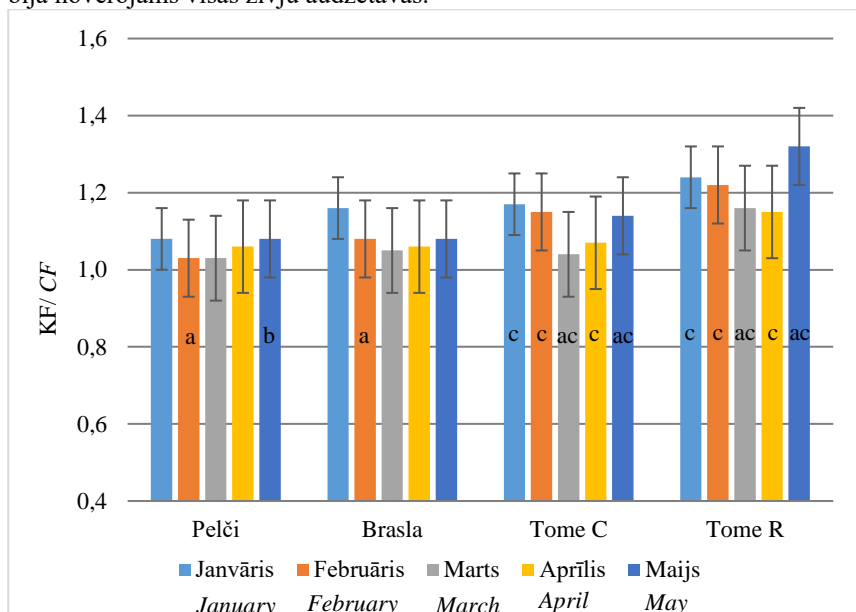
Lai noteiktu, vai starp divu izlašu aritmētiskajiem vidējiem lielumiem pastāv statistiski būtiskas atšķirības, izmantojām Stjūdenta testu (t-tests). T-testu pielietojām, lai noteiktu morfoloģisko rādītāju un aprēķināto indeksu (kondīcijas faktors, sudrabošanās līmenis, AI, LI), hematoloģisko rādītāju un aprēķināto indeksu (eritrocītu skaits, hemoglobīna koncentrācija asinīs, hematokrīts, leukocitārā formula, MCV, MCH, MCHC), hormonālo rādītāju (T3 un T4) un hlora koncentrācijas asinīs statistiskās atšķirības starp pētījuma mēnešiem, audzētavām, audzēšanas sistēmām. Atšķirības uzskatītas par būtiskām, ja būtiskuma līmenis bija mazāks par 0.05 un 0.01 ($p < 0.05$ un $p < 0.01$) (Sokal & Rohlf, 2000).

PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Taimiņu morfoloģiskais novērtējums

Audzētu gadu vecu taimiņu svars un garums ir ļoti variabls. Ir redzamas būtiskas atšķirības taimiņu morfoloģiskajos rādītājos taimiņiem no caurteces un recirkulācijas sistēmas.

Analizējot rezultātus, ko ieguvām aprēķinot taimiņu kondīcijas faktoru, konstatējām, ka KF atšķirās starp zivju audzētavām un mēnešiem (1. attēls). Sākot ar janvāri visu pētījumā izmantoto taimiņu vidējais KF pakāpeniski samazinājās, zemāko līmeni sasniedzot martā, un tad atkal sāka palielināties. Tas bija novērojams visās zivju audzētavās.



1. att. Gadu vecu taimiņu kondīcijas faktors (KF) pavasarī (n = 1560)/

Fig 1. Yearling sea trout condition factor (CF) in spring (n = 1560)

Tome C – Tome caurteces sistēma; Tome R – Tome recirkulācijas sistēma/
Tome C – Tome flow-through system; Tome R – Tome recirculating system

^a būtiska atšķirība $p < 0.01$ salīdzinot ar iepriekšējo mēnesi; ^b būtiska atšķirība $p < 0.05$ salīdzinot ar iepriekšējo mēnesi; ^c būtiska atšķirība $p < 0.01$ starp zivju audzētavas “Tome” audzēšanas sistēmām/

^a significant difference $p < 0.01$ compared to the previous month; ^b significant difference $p < 0.05$ compared to the previous month; ^c significant difference $p < 0.01$ between fish farm's “Tome” rearing systems

Zivīm, kas bija audzētas recirkulācijas sistēmā, KF visu pētījuma laiku bija būtiski augstāks nekā zivīm no caurteces sistēmas. Ja caurteces sistēmā zivīm janvārī vidējais KF bija no 1.08 līdz 1.17, tad recirkulācijas sistēmā tas bija 1.24. Tomēr arī recirkulācijas sistēmā augušajām zivīm varēja novērot KF nelielu samazināšanos līdz pat aprīlim, kad vidējais KF samazinājās līdz 1.16, kam sekoja straujš pieaugums maijā, vidējam KF palielinoties līdz pat 1.32.

Analizējot KF rādītājus mūsu pētījuma laikā, varēja novērot, ka KF laikā no janvāra līdz martam visās audzētavās un abās audzēšanas sistēmās samazinājās. Tas ir izskaidrojams ar ūdens temperatūras izmaiņām ziemā. Vasarā un rudenī, kad ūdens temperatūra audzētavās ir augsta (caurteces sistēmās atbilstoši ūdens temperatūrai attiecīgajā upē vai recirkulācijas sistēmā atbilstoši apkārtējās vides temperatūrai) zivis labi barojas, aug un uzkrāj tauku rezerves, kas izpaužas ar KF pieaugumu.

Tā kā mūsu pētījumā KF taimiņiem pavasarī pieauga nevis samazinājās, neanalizējot citus rādītājus, ir grūti spriest, vai šis pieaugums bija mazuliem raksturīgais pavasara KF pieaugums vai arī taimiņu smoltiem raksturīgais KF pieaugums. Ir jāņem vērā arī citi parametri, lai varētu izdarīt kādus secinājumus par Latvijas zivju audzētavās audzēto taimiņu KF izmaiņām pētījuma laikā. Tajā pašā laikā pētījumā izmantotiem savvaļas smoltiem KF bija būtiski zemāks ($p < 0.05$) nekā audzēto taimiņu KF.

Recirkulācijas sistēmā augušo taimiņu svars, garums un kondīcijas faktors visu pētījuma laiku bija būtiski lielāks nekā taimiņiem no caurteces sistēmām ($p < 0.01$). Tas ir izskaidrojams ar ievērojami augstāku ūdens temperatūru recirkulācijas sistēmā ziemas un pavasara mēnešos. Caurteces sistēmās ūdens temperatūra sasniedza recirkulācijas sistēmas ūdens temperatūras līmeni tikai maija sākumā. Līdz ar to var teikt, ka visu pētījuma laiku ūdens temperatūra recirkulācijas sistēmā bija augstāka nekā caurteces sistēmā, kas ietekmēja zivju barošanos un augšanu. Zemās ūdens temperatūrās, kādas ziemā ir novērojamas caurteces sistēmās, zivju vielmaiņa ir palēnināta, zivis ēd mazāk, līdz ar to aug lēni vai pat vispār neaug.

Iepriekšējo pētījumu rezultāti ar Atlantijas lašiem ir pierādījuši, ka lielākiem smoltiem ir labākas izredzes izdzīvot pēc izlaišanas un tie spēj veiksmīgāk migrēt uz jūru. Tikai atšķirībā no Latvijā noteiktā smoltifikācijas kritērija, lielākajā daļā citu valstu, kā būtisku izmēra rādītāju uzskata zivs garumu (Ls) (McCormick, 2014). Veiktie pētījumi apliecina, ka Atlantijas lašu smoltu garums (Ls) pirms izlaišanas maijā ir vismaz 14 cm, turklāt iepriekšējā oktobrī un novembrī nākamo smoltu garums (Ls) ir vismaz 11.5 cm (McCormick, 2014).

Atbilstoši darba izvirzītajai hipotēzei, pētījuma laikā iegūtie taimiņu garuma rādītāji un iepriekšējo pētījumu rezultāti liecina, ka Latvijā vienu gadu audzētie taimiņi ir pārāk mazi un gada vecumā nesasniedz smoltiem raksturīgos izmērus.

Apkopojot taimiņu aknu indeksa (AI) rādītājus, nevarēja saskatīt kopīgas tendences vai sakarības. Katrā zivju audzētavā varēja novērot atšķirīgas AI izmaiņu tendences. Zivju audzētavā “Pelči” AI samazinājās no janvāra (1.68) līdz aprīlim (1.30) un tad būtiski ($p < 0.01$) palielinājās maijā, sasniedzot 1.63. Zivju audzētavā “Brasla” AI bija vairāk vai mazāk stabils (1.61 līdz 1.65), neuzrādot būtiskas atšķirības starp mēnešiem, līdz tas būtiski ($p < 0.01$) samazinājās maijā, sasniedzot 1.38. Zivju audzētavā “Tome” AI samazinājās no janvāra līdz maijam, turklāt samazinājums bija statistiski būtisks ($p < 0.01$) un bija novērojams abās zivju audzēšanas sistēmās. Caurteces sistēmā tas samazinājās no 2.08 (janvārī) līdz 1.37 (maijā), savukārt recirkulācijas sistēmā tas samazinājās no 1.66 (janvārī) līdz 1.27 (maijā).

Liesas indeksa (LI) rādītāji pētījuma laikā bija salīdzinoši stabili. LI pētījuma laikā visās zivju audzētavās svārstījās no 0.13 līdz 0.21. Zivju audzētavā “Brasla” un zivju audzētavas “Tome” recirkulācijas sistēmā augušajām zivīm LI pētījuma laikā būtiski nemainījās ($p > 0.05$). Zivju audzētavā “Brasla” taimiņu LI svārstījās no 0.19 līdz 0.21, bet zivju audzētavas “Tome” recirkulācijas sistēmā augušajiem taimiņiem LI svārstījās no 0.15 līdz 0.17. Būtiskas LI izmaiņas bija novērojamas zivju audzētavā “Pelči” februārī (0.17) un martā (0.14) ($p < 0.01$) un zivju audzētavas “Tome” caurteces sistēmā februārī (0.16) un martā (0.14) ($p < 0.01$).

Taimiņu sudrabošanās līmenis visās audzētavās pakāpeniski pieauga visu pētījuma laiku. Zemākais tas bija janvārī: no 1.36 līdz 1.55 taimiņiem, kuri audzēti caurteces sistēmā un 1.96 taimiņiem, kuri audzēti recirkulācijas sistēmā, bet augstākais pēdējā pētījuma mēnesī, maijā (2.67 līdz 2.96 taimiņiem no caurteces sistēmas un 2.95 taimiņiem recirkulācijas sistēmā). Janvārī recirkulācijas sistēmā audzētajiem taimiņiem sudrabošanās līmenis bija būtiski augstāks nekā caurteces sistēmā audzētajām zivīm ($p < 0.05$), bet ar katru nākamo mēnesi atšķirība starp audzēšanas sistēmām arvien saruka. Lai arī sudrabošanās līmeņa pieaugums bija stabils, tomēr augstāko ceturto sudrabošanās līmeni sasniedza vien atsevišķi indivīdi no recirkulācijas sistēmas. Savukārt vidējais sudrabošanās līmenis nepārsniedza pat 3 (2. tabula).

**Gadu vecu taimiņu vidējais sudrabošanās līmenis pavasarī (n = 1560)/
Mean silvering level of yearling sea trout (n = 1560)**

Zivju audzētava/ audzēšanas sistēma/ <i>Fish farm/ fish rearing system</i>	Mēnesis/ Month				
	Janvāris/ <i>January</i>	Februāris/ <i>February</i>	Marts/ <i>March</i>	Aprīlis/ <i>April</i>	Maijs/ <i>May</i>
Pelči/ caurteces sistēma/ <i>Pelči/ flow- through system</i>	1.55	2.11	2.56	2.70	2.67
Brasla/ caurteces sistēma/ <i>Brasla/ flow- through system</i>	1.36	1.68	2.35	2.60	2.70
Tome/ caurteces sistēma/ <i>Tome/ flow- through system</i>	1.54	2.14	2.37	2.64	2.96
Tome/ recirkulācijas sistēma/ <i>Tome/recirculating system</i>	1.96 ^a	2.36	2.79	2.74	2.95

^a būtiska atšķirība $p < 0.01$ starp audzēšanas sistēmām/

^a significant difference $p < 0.01$ between rearing systems

Soivo, Muona & Virtanen (1989) un Debowski et al. (1999) pētījumu rezultāti liecina, ka taimiņu smoltiem nav raksturīgas tik izteiktas smoltifikācijas vizuālās pazīmes, kā tas ir lašiem. Tomēr jāņem arī vērā, lai arī sudrabošanos uzskata par smoltifikācijas indikatoru, sudrabošanos bieži var novērot arī audzētiem mazuļiem, lai gan citu, ar smoltifikāciju saistītu, pazīmju tiem nav (Wedemeyer, Saunders & Clarke, 1980). Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka taimiņu ādas krāsa ir sasniegusi gan trešo, gan ceturto sudrabošanās līmeni.

Apkopojot visus pētījuma laikā iegūtos morfoloģisko rādītāju rezultātus, redzams, ka šie rādītāji vairāk liecina par to, ka gadu veci taimiņi nesasniedz smolta stadiju, kas atbilst mūsu izvirzītajai hipotēzei. Par to liecina taimiņu mazais izmērs, stablais KF un LI, kā arī neizteiksmīgā ķermeņa sudrabošanās.

Hematoloģiskie rādītāji

Analizējot taimiņu eritrocītu skaitu pirmssmoltifikācijas periodā - laikā no janvāra līdz maijam, redzams, ka taimiņiem no visām audzētavām, kā arī abām audzēšanas sistēmām, eritrocītu skaits laikā no janvāra līdz martam palielinās. Caurteces sistēmās augušajiem taimiņiem janvārī vidējais eritrocītu skaits variēja no 1.19 līdz $1.26 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. Recirkulācijas sistēmā augušajiem taimiņiem eritrocītu skaits janvārī būtiski neatšķirās no taimiņiem, kas auguši caurteces sistēmās, un tas bija $1.20 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. Taimiņiem no zivju audzētavas "Pelči" eritrocītu skaits martā bija visaugstākais un sasniedza attiecīgi $1.38 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. Tāpat arī recirkulācijas sistēmā augušajiem taimiņiem martā eritrocītu skaits bija visaugstākais un sasniedza $1.49 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. Savukārt zivju audzētavas "Tome" caurteces sistēmā audzētajiem taimiņiem vidējais eritrocītu skaits visaugstākais bija februārī un martā – $1.38 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$, bet taimiņiem no zivju audzētavas "Brasla" eritrocītu skaits visaugstākais bija aprīlī - $1.48 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. Maijā zivīm eritrocītu skaits sāka samazināties visās audzētavās caurteces sistēmās, izņemot audzētavas "Tome" recirkulācijas sistēmu, kur eritrocītu skaits maijā salīdzinot ar aprīli būtiski nemainījās ($p > 0.05$). Maijā taimiņiem no caurteces sistēmām vidējais eritrocītu skaits būtiski samazinājās ($p < 0.01$) un svārstījās no 1.16 līdz $1.26 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$, bet taimiņiem no recirkulācijas sistēmas eritrocītu skaits maijā bija $1.31 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$.

Kopumā pētījuma laikā eritrocītu skaits starp taimiņiem no abām audzēšanas sistēmām būtiski neatšķirās ($p > 0.05$) laikā no janvāra līdz martam, bet aprīlī eritrocītu skaits taimiņiem no caurteces sistēmas bija būtiski augstāks nekā taimiņiem no recirkulācijas sistēmas ($p < 0.01$). Savukārt maijā eritrocītu skaits būtiski augstāks ($p < 0.01$) bija taimiņiem no recirkulācijas sistēmas.

Visu audzētavu taimiņiem eritrocītu skaits pētījuma laikā no janvāra līdz martam paaugstinājās, kam sekoja eritrocītu skaita samazinājums. Pēc iepriekšējo pētījumu datiem eritrocītu skaits ziemā ir zems, jo aukstā ūdens dēļ ir kavēta eritropoēze, bet pavasarī eritrocītu skaits pieaug (Глаголева, 1989). Tāpat arī smoltifikācijas laikā stresa un liesas kontrakciju dēļ eritrocītu skaits lašu dzimtas zivīm pieaug (Hammenstig et al., 2014). Tomēr mūsu pētījumā šāda aina nebija novērojama. Aprīlī un maijā, kad būtu sagaidāma eritrocītu skaita palielināšanās, eritrocītu skaits tomēr samazinājās.

Apskatot rezultātus, kas iegūti aprēķinot hemoglobīna saturu taimiņu asinīs, redzams, ka kopumā aina ir līdzīga eritrocītu skaita izmaiņām. Taimiņiem, kas auguši caurteces sistēmās, vidējais hemoglobīna saturs asinīs no janvāra, kad tas bija 87.4 g L^{-1} , pakāpeniski palielinājās, augstāko līmeni sasniedzot martā – 92.3 g L^{-1} , kam atkal sekoja hemoglobīna satura samazināšanās, līdz maijā tas bija noslīdējis līdz 87.2 g L^{-1} .

Recirkulācijas sistēmā audzētajiem taimiņiem vidējais hemoglobīna saturs asinīs februārī būtiski pieauga ($p < 0.01$), sasniedzot 94.2 g L^{-1} , kam sekoja hemoglobīna satura samazināšanās turpmākajos mēnešos, maijā samazinoties līdz 86.8 g L^{-1} . Salīdzinot hemoglobīna koncentrāciju starp abās audzēšanas sistēmās augušiem taimiņiem, būtiskas atšķirības varēja novērot tikai janvārī, kad Hgb koncentrācija taimiņiem no recirkulācijas sistēmas bija būtiski zemāka ($p < 0.05$) nekā taimiņiem no caurteces sistēmas.

Iepriekšējo pētījumu rezultāti liecina, ka hemoglobīna koncentrācijai, tāpat kā eritrocītu skaitam pavasarī, vajadzētu palielināties, turklāt smoltifikācijas laikā hemoglobīna koncentrācija Atlantijas lasim var sasniegt pat $110 - 120 \text{ g L}^{-1}$ (Глаголева, 1989).

Eritrocītu skaita un hemoglobīna līmeņa samazinājums pētījuma beigās liecina, ka pētījumā izmantotiem taimiņiem smoltifikācija vēl nebija sākusies, līdz ar to sagaidāms, ka tā būtu sākusies tikai nākamajā pavasarī, kas apstiprina mūsu izvirzīto hipotēzi.

Analizējot taimiņu hematokrīta rādītājus pavasarī, var novērot, ka caurteces sistēmās augušajiem taimiņiem vidējie hematokrīta rādītāji bija stabili, svārstoties no 35.32 līdz 36.72%. Apskatot hematokrīta rādītājus atsevišķās audzētavās, var novērot lielākas svārstības starp mēnešiem, tomēr kopējas izmaiņu tendences nav saskatāmas.

Arī recirkulācijas sistēmā augušajiem taimiņiem hematokrīts janvārī un februārī būtiski neatšķīrās no vidējā hematokrīta taimiņiem no caurteces sistēmām, savukārt martā tas būtiski palielinājās līdz 41.47% ($p < 0.05$). Hematokrīta palielināšanās taimiņiem recirkulācijas sistēmās turpinājās līdz pat maijam, kad vidējais hematokrīts sasniedza 47.50%. Martā, aprīlī un maijā taimiņiem recirkulācijas sistēmā hematokrīts bija būtiski augstāks nekā taimiņiem caurteces sistēmās ($p < 0.01$).

Ņemot vērā apstākli, ka eritrocītu skaits kopumā taimiņiem pēdējos pētījuma mēnešos samazinājās, hematokrīta nemainīgumu caurteces sistēmās vai pieaugumu recirkulācijas sistēmās acīmredzot nodrošināja eritrocītu izmēra palielināšanās. Par to liecina MCV izmaiņas taimiņiem, taimiņu eritrocītu tilpums pētījuma noslēgumā būtiski pieauga, it īpaši recirkulācijas sistēmā audzētajiem taimiņiem. Tas norāda, ka asinsritē cirkulēja nobrieduši eritrocīti (Hrubec & Smith, 2010).

Ņemot vērā to, ka caurteces sistēmās augušu taimiņu hematokrīta rādītāji bija salīdzinoši stabili, bet eritrocītu skaits svārstījās, no janvāra līdz martam palielinoties, kam sekoja eritrocītu skaita samazinājums līdz maijam, vidējais eritrocītu tilpums mainījās apgriezti proporcionāli eritrocītu skaitam. Caurteces sistēmās augušu taimiņu vidējais eritrocītu tilpums no janvāra samazinājās, martā sasniedzot 262.33 fL. Maijā tas atkal palielinājās līdz 306.48 fL.

Recirkulācijas sistēmā augušo taimiņu MCV periodā no janvāra līdz februārim būtiski samazinājās no 336.03 fL līdz 278.60 fL ($p < 0.01$). Turpmākajos mēnešos taimiņu MCV recirkulācijas sistēmā pakāpeniski pieauga līdz 365.78 fL. Aprīlī un maijā MCV taimiņiem recirkulācijas sistēmā bija būtiski augstāks nekā taimiņiem caurteces sistēmās ($p < 0.01$).

Vidējais hemoglobīna saturs eritrocītā kopumā caurteces sistēmās augušajiem taimiņiem laikā no janvāra līdz aprīlim samazinājās no 74.34 pg līdz 66.83 pg, bet maijā atkal pieauga līdz 72.73 pg, tomēr izmaiņas starp mēnešiem bija pakāpeniskas un lielas svārstības hemoglobīna saturā eritrocītos nevarēja novērot ($p > 0.05$).

Taimiņiem no recirkulācijas sistēmas vidējais MCH martā būtiski samazinājās līdz 60.92 pg ($p < 0.01$), bet aprīlī atkal strauji pieauga līdz 72.03 pg ($p < 0.01$).

Kopumā vidējā hemoglobīna koncentrācija eritrocītos caurteces sistēmās augušajiem taimiņiem starp mēnešiem būtiski neatšķīrās, svārstoties robežās no 241.26 g L⁻¹ līdz 269.80 g L⁻¹.

Arī recirkulācijas sistēmā augušajiem taimiņiem MCHC janvārī bija salīdzinoši zems – 214.89 g L⁻¹, kam sekoja būtisks pieaugums februārī ($p < 0.05$), pakāpjoties līdz 273.91 g L⁻¹, un tad atkal būtisks samazinājums martā ($p < 0.01$) līdz 222.65 g L⁻¹. Taimiņiem no recirkulācijas sistēmas MCHC viszemāko līmeni sasniedza maijā ($p < 0.05$), noslīdot līdz 185.83 g L⁻¹, un tā bija būtiski zemāka nekā taimiņiem no caurteces sistēmas ($p < 0.01$).

Caurteces sistēmās augušajiem taimiņiem leukocitārajā formulā varēja novērot pakāpenisku limfocītu skaita palielināšanos. No janvāra līdz martam vidējais limfocītu īpatsvars bija salīdzinoši neliels (66.47% līdz 68.11%), bet aprīlī tas būtiski pieauga ($p < 0.01$) līdz 82.00%, maijā sasniedzot pat 86.23%. Pretējais bija novērojams ar otru lielāko leukocītu grupu – neitrofilēm. Neitrofilu īpatsvars martā vidēji bija 31.55%, bet jau arpīlī būtiski samazinājās ($p < 0.01$) līdz 17.89%, maijā noslīdot līdz 13.21%.

Arī monocītu īpatsvaram caurteces sistēmās augušiem taimiņiem bija tendence samazināties. Janvārī monocītu īpatsvars taimiņiem no caurteces sistēmām bija 3.78%, bet maijā vairs tikai 0.46%. Eozinofilie leukocīti bija novērojami vien atsevišķām zivīm, līdz ar to, to īpatsvars svārstījās no 0.00 līdz 0.10%.

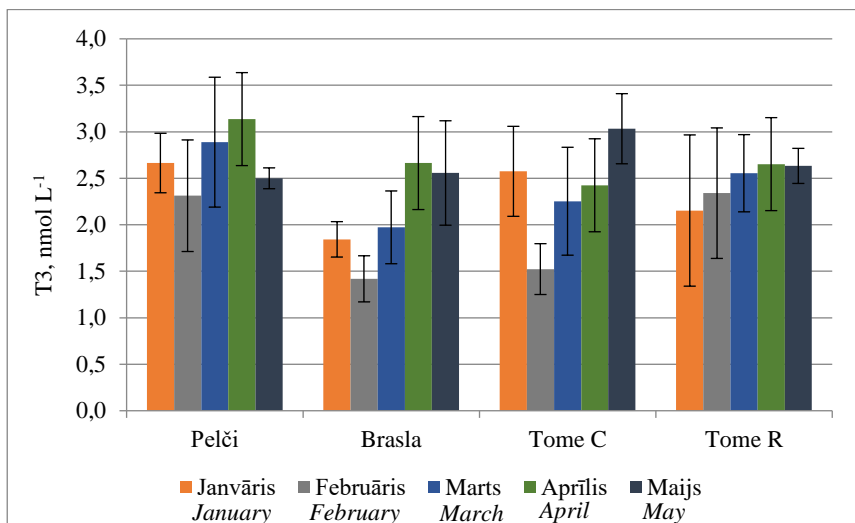
Savukārt recirkulācijas sistēmās augušiem taimiņiem limfocītu īpatsvars jau janvārī bija būtiski augstāks nekā taimiņiem no caurteces sistēmas – 86.05% ($p < 0.05$). Limfocītu īpatsvars pakāpeniski pieauga un maijā sasniedza 92.78%. Atbilstoši arī neitrofilo īpatsvars recirkulācijas sistēmā augušiem taimiņiem bija salīdzinoši zemāks nekā caurteces sistēmās – 13.15% ($p < 0.05$), turklāt līdz maijam tas bija sarucis līdz 6.62%. Monocītu īpatsvars visu pētījuma laiku taimiņiem no recirkulācijas sistēmas bija zems, svārstoties no 0.37 līdz 0.86%.

Tāpat kā taimiņiem no caurteces sistēmām, taimiņiem recirkulācijas sistēmās eozinofili bija ļoti reti novērojami vien atsevišķām zivīm, tādēļ to īpatsvars svārstījās no 0.00 līdz 0.06%.

Leikocitārās formulas izmaiņas atbilst iepriekšējos pētījumos konstatētajām, apstiprinot, ka leikocītu sastāvs mainās atbilstoši ūdens temperatūrai un gadalaikam – limfocītu skaits pavasarī pieaug, bet neitrofilo leikocītu un monocītu skaits pavasarī samazinās (Noga, 1996). Eozinofilo leikocītu skaita pieaugums liecina par parazitū ietekmi, taču pētījumā arī eozinofilo leikocītu skaits nepaaugstinājās, un tas liek domāt, ka *Gyrodactylus spp.* ietekme bija nenozīmīga. Savukārt bazofilo leikocītu iztrūkums varētu liecināt, ka to skaits taimiņu asinīs ir ļoti zems.

Tiroksīna un trijodtironīna koncentrācija asins plazmā

Visās trīs audzētavās taimiņiem, kuri bija audzēti caurteces sistēmā, T3 līmenis pazeminājās no janvāra līdz februārim un tad sāka palielināties (2. attēls). Augstākais T3 līmenis zivju audzētavā “Pelči” un zivju audzētavā “Brasla” bija aprīlī, attiecīgi 3.14 un 2.66 nmol L⁻¹, bet zivju audzētavā “Tome” augstākā T3 koncentrācija asins plazmā tika novērota maijā - 3.03 nmol L⁻¹. Savukārt taimiņiem no recirkulācijas sistēmas T3 līmenis pakāpeniski un stabili paaugstinājās no janvāra līdz pat aprīlim, sasniedzot 2.65 nmol L⁻¹ un palika šādā līmenī arī maijā (2.63 nmol L⁻¹). Starp T3 koncentrāciju asins plazmā un zivs svaru, garumu un kondīcijas faktoru bija vērojama pozitīva korelācija (3. tabula).



2. att. T3 izmaiņas taimiņu asins plazmā, nmol L⁻¹ (n = 520)/

Fig 2. Changes of T3 in sea trout plasma, nmol L⁻¹ (n = 520)

Tome C – Tome caurteces sistēma; Tome R – Tome recirkulācijas sistēma/
Tome C – Tome flow-through system; Tome R – Tome recirculating system

3.tabula/ Table 3

Korelācija starp parametriem (n = 520)

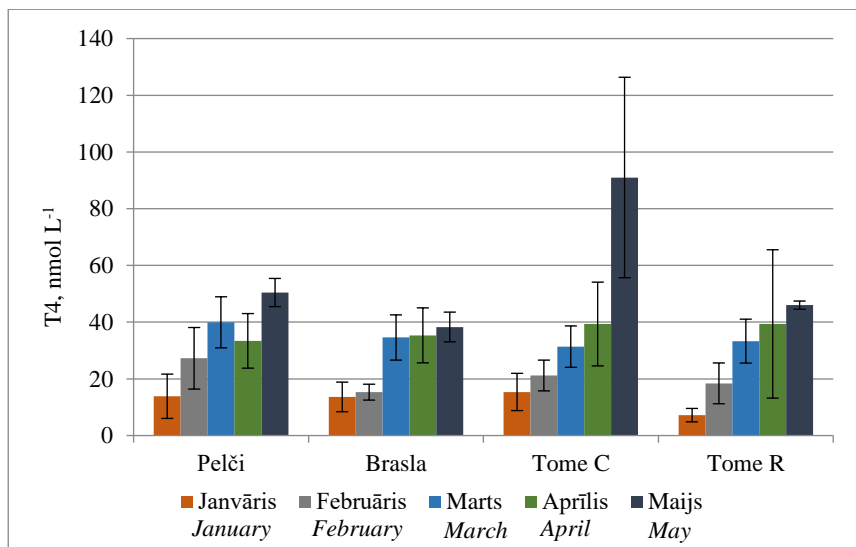
Correlation between parameters (n = 520)

	Svars/ Weight	Garums/ Length	KF/ CF	Sudrabošanās līmenis/ Silvering level	T3	T4
Svars/ Weight	1					
Garums/ Length	0.936*	1				
KF/ CF	0.180*	-0.132	1			
Sudrabošanās līmenis/ Silvering level	0.398*	0.427*	-0.038 0.157	1		
T3	0.311*	0.268*	*	0.440*	1	
T4	0.061	0.062	-0.010	0.448*	0.305*	1

* korelācija pie $\alpha = 0.05$

* correlation at $\alpha = 0.05$

No janvāra līdz maijam taimiņiem no visām trīs audzētavām varēja novērot stabilu T4 koncentrācijas pieaugumu (3. attēls). T4 līmeņa pieaugums bija novērojams dažādu izmēru zivīm no abām audzēšanas sistēmām. Zivju audzētavā “Pelči” no marta līdz aprīlim T4 līmenis nedaudz samazinājās, bet, neskatoties uz to, augstākais T4 līmenis tika sasniegts maijā. T4 līmenis janvārī taimiņiem no visām audzētavām bija salīdzinoši zems (7.20 – 15.37 nmol L⁻¹), bet maijā tas sasniedza 38.29 – 50.44 nmol L⁻¹ un pat 90.87 nmol L⁻¹ zivju audzētavas “Tome” caurteces sistēmas taimiņiem. Starp T4 koncentrāciju un zivs masu, garumu un KF korelācija netika novērota.



3. att. T4 koncentrācijas izmaiņas taimiņu asins plazmā, nmol L⁻¹ (n = 520)

Fig 3. Changes of T4 in sea trout plasma, nmol L⁻¹ (n = 520)

Tome C – Tome caurteces sistēma; Tome R – Tome recirkulācijas sistēma/

Tome C – Tome flow-through system; Tome R – Tome recirculating system

Caurteces sistēmā KF visiem sudrabošanās līmeņiem bija gandrīz vienāds (1.10 – 1.12). Savukārt citu parametru vērtības pieauga līdz ar sudrabošanās līmeni: masa no 9.03 g līmenim “0” līdz 17.43 g līmenim “3”, garums no 9.25 cm līmenim “0” līdz 11.57 cm līmenim “3”, T3 koncentrācija asins plazmā no 1.70 nmol L⁻¹ līmenim “0” līdz 2.77 nmol L⁻¹ līmenim “3” un T4 koncentrācija asins plazmā no 13.00 nmol L⁻¹ līmenim “0” līdz 35.63 nmol L⁻¹ līmenim “3”.

Recirkulācijas sistēmā pētījuma laikā pētījuma grupā, kurai tika noteikts vairogdziedzera hormonu līmenis asins plazmā, nebija taimiņu, kam sudrabošanās līmenis būtu bijis “0” vai “1”. Šajā sistēmā audzētajiem taimiņiem

vidējais KF visiem sudrabošanās līmeņiem bija gandrīz vienāds (1.23 – 1.26), bet citu parametru vidējās vērtības pieauga līdz ar sudrabošanās līmeņa pieaugumu tāpat kā caurteces sistēmā: svars no 23.18 g līmenim “2” līdz 34.26 g līmenim “4”, garums no 12.29 cm līmenim “2” līdz 14.10 cm līmenim “4”, T3 koncentrācija no 2.17 nmol L⁻¹ līmenim “2” līdz 3.01 nmol L⁻¹ līmenim “4”, T4 koncentrācija no 16.45 nmol L⁻¹ līmenim “2” līdz 45.03 nmol L⁻¹ līmenim “4”. Apkopojot datus, bija redzams, ka sudrabošanās līmenis bija atkarīgs no taimiņa garuma ($r^2 = 0.427$, $p < 0.05$), T3 koncentrācijas asins plazmā ($r^2 = 0.440$, $p < 0.05$) un T4 koncentrācijas asins plazmā ($r^2 = 0.448$, $p < 0.05$), bet tas nebija atkarīgs no KF ($r^2 = -0.038$, $p < 0.05$).

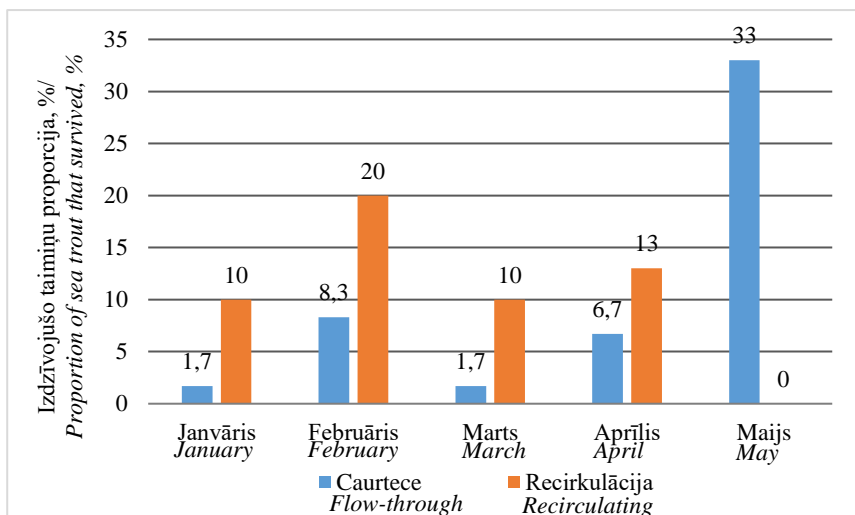
Tā kā vairogdziedzera hormonu līmenis paaugstinās smoltifikācijas laikā, bet iepriekšējie pētījumi ir parādījuši, ka smoltifikācijai būtisks ir zivs izmērs (McCormick et al., 2014), varam secināt, ka T3 izmaiņas atbilst šim nosacījumam un tā līmenis ir augstāks lielākām zivīm (iespējamiem smoltiem), savukārt T4 līmeņa izmaiņas nav sasaistāmas ar zivs izmēru. Quigley et al. (2006) pētījumi ar divgadīgiem taimiņiem parādīja, ka T4 līmenis smoltiem pavasarī sasniedz pat 93 nmol L⁻¹ (37 ng mL⁻¹). Jāatgādina, ka mūsu pētījumā T4 līmenis maijā sasniedza 38.29 – 50.44 nmol L⁻¹ un vienīgi zivju audzētavas “Tome” caurteces sistēmas taimiņiem tas bija 90.87 nmol L⁻¹. Ņemot vērā iepriekš minēto, pētījuma rezultāti liecina, ka vairogdziedzera hormonu līmenis pavasarī pieaug visiem taimiņiem neatkarīgi no to izmēra, bet tas lielākajā daļā audzētavu nesasniedz tik augstu līmeni, kāds ir raksturīgs savvaļas taimiņu smoltiem (73.7 nmol L⁻¹).

Analizējot taimiņu hormonālos rādītājus kopā ar morfoloģiskajiem rādītājiem, var redzēt, ka abās audzēšanas sistēmās starp sudrabošanās līmeni un taimiņu garumu, T3 un T4 līmeni ir pozitīva korelācija. Šie rezultāti saskan ar iepriekšējiem pētījumiem, kas parādījuši, ka vairogdziedzera hormoni ietekmē ādas pigmentāciju – vairogdziedzera hormonu līmeņa paaugstināšanās izraisa ādas melanīna izžušanu un guanīna un hipoksantīna izgulsnēšanos (Hoar 1988). Tāpat arī iegūtie rezultāti parāda, ka garumam ir zināma nozīme, nosakot smoltifikācijas iestāšanos, atbilstoši iepriekšējiem pētījumiem ar Atlantijas lašiem (McCormick et al., 2014).

Arī vairogdziedzera hormonu līmeņa analīze parādīja, ka, lai arī recirkulācijas sistēmā taimiņi bija lielāki, tas nekādā mērā neveicināja smoltifikāciju. Pat vairāk, taimiņi no caurteces sistēmas uzrādīja labākus smoltifikācijas hormonālos rādītājus nekā taimiņi no recirkulācijas sistēmas, jo recirkulācijas sistēmā taimiņiem tiek izjaukts dabiskais gadalaika cikls paaugstinātās ūdens temperatūras dēļ.

Sālsūdens tolerance

Sālsūdens tolerances tests parāda anadromo zivju spēju adaptēties sāļajam jūras ūdenim. Zivīm, kas sasniegušas smolta stadiju, ir attīstīta hiposmoregulācijas spēja, kas nodrošina spēju mainīt dzīves vidi no saldūdens upēs uz sālsūdeni jūrā. Sālsūdens tolerances testā gadu veciem taimiņiem bija novērojama augsta mirstība. It īpaši laikā no janvāra līdz aprīlim varēja novērot tikai atsevišķus gadījumus, kad zivis izdzīvoja. Šāda aina bija novērojama visās audzētavās un abās audzēšanas sistēmās, bet jo īpaši caurteces sistēmā, kur izdzīvotības rādītāji svārstījās no 1.7 līdz 8.3%. Recirkulācijas sistēmā audzētie taimiņi pirmājo pētījuma mēnešos uzrādīja labākus rezultātus un izdzīvotības vidējie rādītāji svārstījās no 10 līdz 20%. Savukārt visi taimiņi, kas bija auguši recirkulācijas sistēmā, maijā sālsūdens tolerances testa laikā gāja bojā (4. attēls).



4. att. Pēc sālsūdens tolerances testa izdzīvojušo taimiņu proporcija abās audzēšanas sistēmās, % (n = 520)

Fig 4. *Proportion of sea trout survived during saltwater challenge test, % (n = 520)*

Rezultāti parādīja, ka lielākā daļa zivju no abām audzēšanas sistēmām nebija gatava migrācijai uz jūru un dzīvei sālsūdenī. Lai arī taimiņi no recirkulācijas sistēmas sākotnēji uzrādīja augstākus izdzīvotības rādītājus (pat laikā, kad vēl tas netika gaidīts - janvārī un februārī), ņemot vērā savvaļas

taimiņu tradicionālo smoltifikācijas laiku maijā, taimiņi no caurteces audzēšanas sistēmas, pētījuma laikā uzrādīja stabilu hipo-osmoregulācijas spējas pieaugumu.

Vidējā hlora koncentrācija asins plazmā taimiņiem no caurteces sistēmas janvārī un februārī pārsniedza 177 mmol L⁻¹. Sākot ar martu, hlora koncentrācija pamazām samazinājās, sasniedzot 162 mmol L⁻¹. Turpretī taimiņiem no recirkulācijas sistēmas vidējā hlora koncentrācija asins plazmā mēnesi no mēneša bija vairāk vai mazāk stabila. Tā kā sālsūdens tolerances testa laikā maijā neizdzīvoja neviens taimiņš no recirkulācijas sistēmas, mums nav datu par hlora koncentrāciju asins plazmā maijā šīs audzēšanas sistēmas zivīm (4. tabula).

4. tabula/ *Table 4*

**Vidējā hlora koncentrācija asins plazmā, mmol L⁻¹ (n = 41)/
Mean plasma chloride concentration, mmol L⁻¹ (n = 41)**

Audzēšanas sistēma/ <i>Rearing system</i>	Janvāris/ <i>January</i>	Februāris/ <i>February</i>	Marts/ <i>March</i>	Aprīlis/ <i>April</i>	Maijs/ <i>May</i>
Caurteces sistēma/ <i>Flow-through system</i>	>177.00	>177.00	172.39	162.81	162.00
Recirkulācijas sistēma/ <i>Recirculating system</i>	165.91	164.92	168.99	158.67	nd*

*nav datu saistībā ar taimiņu bojāeju/

*no data due to death of all the sea trout examined

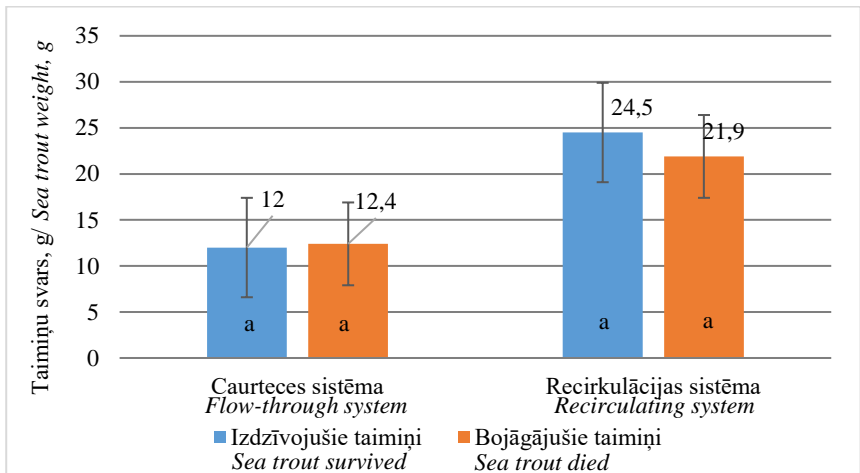
Pētījuma sākumā caurteces sistēmas taimiņu izdzīvotības rādītāji bija ļoti zemi (1.7%) un izdzīvojušo zivju hlora koncentrācija asinīs bija ļoti augsta (>177.0 mmol L⁻¹), kas liecina, ka hipo-osmoregulācijas spēja bija vēl nepietiekama. Urke et al. (2014) pētījumā tika konstatēts, ka Atlantijas laša smolliem hlora koncentrācija asinīs pēc sālsūdens tolerances testa iekļaujas robežās no 137 līdz 143 mmol L⁻¹. Tomēr pētījuma laikā sālsūdens tolerance taimiņiem no caurteces sistēmas pamazām uzlabojās un pētījuma beigās (majā) izdzīvotības līmenis sasniedza 33.0% un vidējā hlora koncentrācija asinīs samazinājās līdz 162.0 mmol L⁻¹. Lai arī hlora jonu koncentrācija asinīs šiem taimiņiem bija augstāka nekā iepriekš minētajā Urke et al. (2014) pētījumā lašiem, ir pamats uzskatīt, ka 33% no caurteces sistēmā audzētajiem taimiņiem smoltificējās. Tā kā pēdējie taimiņi no audzētavām tika izlaisti maija otrajā nedēļā, mums nebija iespēju turpināt pētījumu. Iespējams, ka nākamajās nedēļās taimiņu hipo-osmoregulācijas spēja būtu vēl vairāk uzlabojusies un hlora koncentrācija asinīs vēl samazinātos. Savukārt visi pārējie taimiņi, kas sastādīja 67% no caurteces sistēmā audzētajiem taimiņiem, attiecīgajā pavasarī nesmoltificējās, līdz ar to tiem bija jāgaida vēl viens gads, lai kļūtu par smolliem un migrētu uz jūru.

Ar recirkulācijas sistēmā audzētiem taimiņiem situācija bija pavisam savādāka. Lai gan taimiņi no recirkulācijas sistēmas pirmos četrus pētījuma

mēnešus uzrādīja labāku hipo-osmoregulācijas spēju (augstāka izdzīvotība 10 – 20% un stabila hlora koncentrācija asinīs 158.67 – 168.99 mmol L⁻¹), maijā pēkšņi hipo-osmoregulācijas spēja strauji samazinājās un sālsūdens tolerances testa laikā visas zivis gāja bojā. Caurteces sistēmā audzētiem taimiņiem hipo-osmoregulācijas spēja attīstījās atbilstoši savvaļas taimiņu hipo-osmoregulācijas spējai, augstāko līmeni sasniedzot maijā. Turpretī hipo-osmoregulācijas spēja taimiņiem no recirkulācijas sistēmas mainījās neatbilstoši gaidītajam – labākie rezultāti tika uzrādīti ziemā un agrā pavasarī nevis laikā, kad smoltifikācija taimiņiem ir raksturīga (no aprīļa beigām līdz maija vidum (Naslund, Sundstrom & Johnsson, 2017). Galvenais ietekmējošais faktors, kas varēja izjaukt taimiņu dabīgo bioritmu, varēja būt ūdens temperatūra. Caurteces sistēmā ūdens temperatūra pirmos trīs pētījuma mēnešus bija tikai nedaudz virs 0 °C, recirkulācijas sistēmā tā bija apmēram 8 °C, kas veicināja zivju augšanu. Pētījumi ir parādījuši, ka audzēšanas ūdens temperatūrai ir ietekme uz lašu dzimtas zivju hipo-osmoregulācijas spēju. Atsevišķām sugām ūdens temperatūras paaugstināšana var ierosināt ne tikai ātrāku smoltifikācijas iestāšanos, bet arī ātrāku desmoltifikācijas sākšanos (Zaug & McLain, 1976).

Analizējot morfoloģiskos parametrus starp sālsūdens tolerances testa laikā caurteces sistēmā izdzīvojušiem un bojāgājušiem taimiņiem, ir redzams, ka starp zivju svaru un garumu (Ls) abās grupās nebija novērojama būtiska atšķirība ($p > 0.05$). Savukārt recirkulācijas sistēmā izdzīvojušie taimiņi bija būtiski garāki nekā bojāgājušie taimiņi ($p < 0.05$) (5. un 6. attēls).

Turpretī caurteces sistēmā audzētajām izdzīvojušām zivīm KF bija būtiski zemāks nekā bojāgājušām zivīm ($p < 0.01$), kā arī vidējais sudrabošanās līmenis izdzīvojušajām zivīm bija būtiski augstāks nekā bojāgājušajām ($p < 0.05$) (7. un 8. attēls).

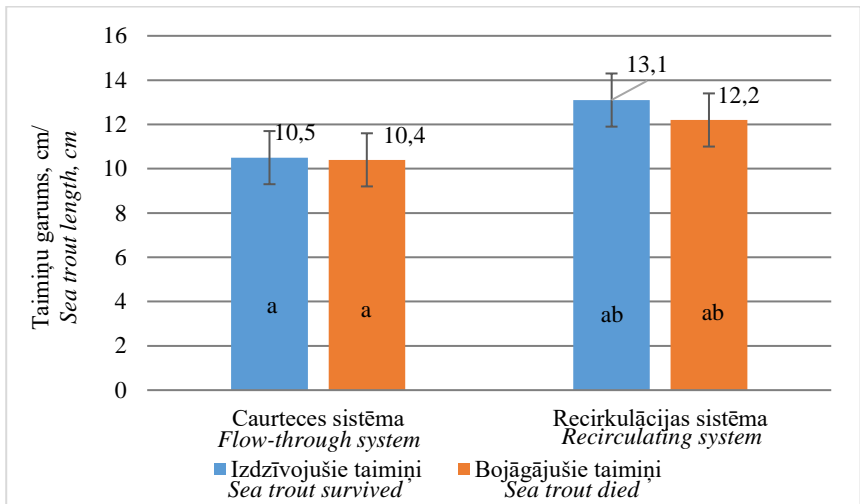


5. att. Sālsūdens tolerances testā izdzīvojušo un bojāgājušo taimiņu svars, g (n = 520)

Fig 5. Weight of sea trout survived and sea trout died during saltwater challenge test, g (n = 520)

^a būtiska atšķirība $p < 0.01$ starp audzēšanas sistēmām

^a significant difference $p < 0.01$ between rearing systems

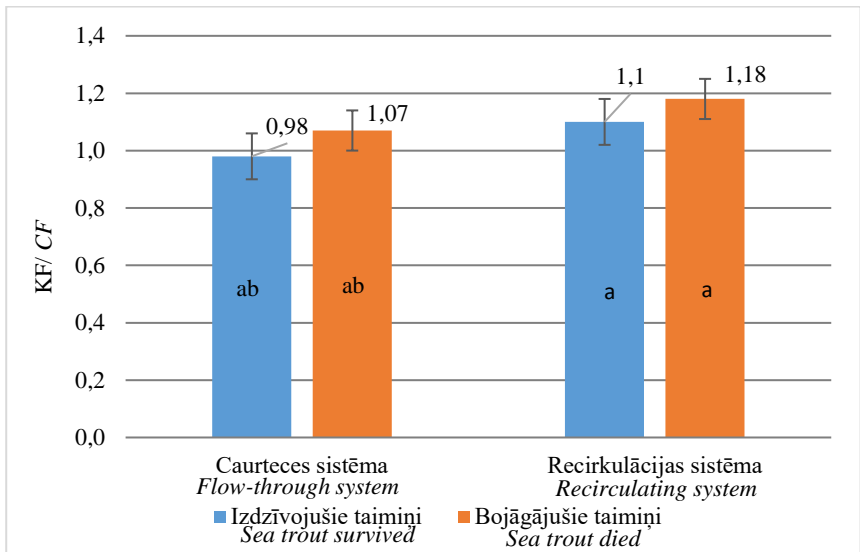


6. att. Sālsūdens tolerances testā izdzīvojušo un bojāgājušo taimiņu garums, cm (n = 520)

Fig 6. Length of sea trout survived and sea trout died during saltwater challenge test, cm (n = 520)

^a būtiska atšķirība $p < 0.01$ starp audzēšanas sistēmām; ^b būtiska atšķirība $p < 0.05$ starp izdzīvojušiem un bojāgājušiem taimiņiem konkrētā audzēšanas sistēmā

^a significant difference $p < 0.01$ between rearing systems; ^b significant difference $p < 0.05$ between sea trout survived and sea trout died in specific rearing system

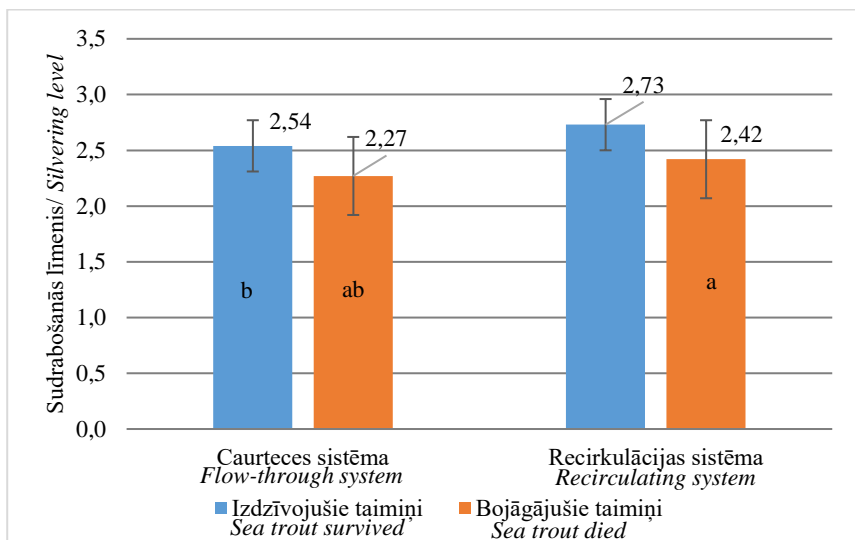


7. att. Sālsūdens tolerances testā izdzīvojušo un bojāgājušo taimiņu kondīcijas faktors (KF) (n = 520)

Fig 7. Condition factor (CF) of sea trout survived and sea trout died during saltwater challenge test (n = 520)

^a būtiska atšķirība $p < 0.01$ starp audzēšanas sistēmām; ^b būtiska atšķirība $p < 0.01$ starp izdzīvojušiem un bojāgājušiem taimiņiem konkrētā audzēšanas sistēmā

^a significant difference $p < 0.01$ between rearing systems; ^b significant difference $p < 0.01$ between sea trout survived and sea trout died in specific rearing system



8. att. Sālsūdens tolerances testā izdzīvojušo un bojāgājušo taimiņu sudrabošanās līmenis (n = 520)

Fig 8. *Silvering level of sea trout survived and sea trout died during saltwater challenge test (n = 520)*

^a būtiska atšķirība $p < 0.05$ starp audzēšanas sistēmām; ^b būtiska atšķirība $p < 0.05$ starp izdzīvojušiem un bojāgājušiem taimiņiem konkrētā audzēšanas sistēmā

^a significant difference $p < 0.05$ between rearing systems; ^b significant difference $p < 0.05$ between sea trout survived and sea trout died in specific rearing system

Analizējot sālsūdens tolerances testa laikā izdzīvojušo un bojāgājušo taimiņu morfoloģiskos parametrus, varam secināt, ka labāku hiposmoregulācijas spēju uzrāda taimiņi ar lielāku garumu, izteiktu sudrabošanos un zemu KF.

Sālsūdens tolerances testa laikā iegūtie rezultāti apstiprina izvirzīto hipotēzi, ka vienu gadu veci audzēti taimiņi nerasniedz smolta stadiju. Nav šaubu, ka lielākā daļa taimiņu Latvijas apstākļos ir jāaudzē divus nevis vienu gadu. Gada vecumā varētu izlaist tikai daļu taimiņu, kam būtu attīstīta hiposmoregulācijas spēja. Diemžēl sālsūdens tolerances testu, kas visprecīzāk parāda hiposmoregulācijas spēju, nav iespējams veikt visiem izaudzētajiem taimiņiem, turklāt pētījuma laikā izdzīvojušiem taimiņiem nebija izteiktas morfoloģiskās pazīmes, pēc kurām varētu atlasīt taimiņu smoltus.

Parazitoloģiskās izmeklēšanas rezultāti

Latvijā konstatēto zivju parazitū kontrolosarakstā (Kirjušina & Vismanis, 2007) taimiņiem ir konstatētas cestodes, nematodes un akantocēfaļi. Taču visas slimības konstatētas Daugavā nozvejotiem taimiņiem. Savukārt Ineses Briedes (2016) veiktajā pētījumā Latvijas zivju audzētavās konstatētas monogēnes *Gyrodactilus truttae* un *Gyrodactilus spp.*, miksosporidija *Cholomyxum truttae* un viēnsūnis *Apiosoma piscicolum*. Savukārt mūsu pētījumā ir konstatēti tikai *Gyrodactilus spp.* Domājams, ka tas saistīts ar sezonu, kurā veikti pētījumi. Mūsu pētījums veicst ziemā un pavasarī, kad parazitū invāzijas intensitāte ir zema. Papildus būtu jāatzīmē, ka zivju audzētavu speciālisti regulāri veic zivju pretparazitāro profilaksi.

Recirkulācijas sistēmā audzētiem taimiņiem pētījuma laikā parazitū invāzija netika konstatēta (IE = 0%), kas izskaidrojams ar audzēšanai izmantoto ūdeni, kas tiek iegūts no pazemes, tādējādi nevar tikt piesārņots ar savvaļā, dabīgajos ūdeņos sastopamajiem zivju parazitūtiem.

Caurteces sistēmā audzētiem taimiņiem janvārī un februārī girodaktiļu invāzija netika konstatēta (IE = 0%). Pirmie invāzijas gadījumi tika novēroti martā. Tāpat arī aprīlī un maijā invāzijas ekstensitāte saglabājās līdzīgā līmenī (16 – 17 %).

Pētot *Gyrodactilus spp.* ietekmi uz taimiņu smoltifikācijas parametru izpaušmēm, novērojām, ka parazitū klātbūtne būtiski neietekmē smoltifikāciju. Invāzijas intensitāte bija salīdzinoši zema (1 – 2 parazitūti uz zivi), iespējams, ka pie lielākas invāzijas intensitātes būtu izteiktākas saslimšanas klīniskās pazīmes un traucēta osmoregulācija (Schelkle et al., 2009). Pašreizējā situācija Latvijas taimiņu mazuļu audzētavās ļauj domāt, ka girodaktiloze neatstāj būtisku ietekmi uz taimiņu smoltifikāciju.

SECINĀJUMI

1. Latvijas zivaudzētavās pielietotās audzēšanas biotehnoloģijas ietekmē taimiņu morfoloģiskās īpašības: taimiņi, kas audzēti recirkulācijas sistēmā, bija būtiski lielāki, un tiem bija būtiski augstāks kondīcijas faktors, nekā caurteces sistēmā audzētiem taimiņiem ($p < 0.01$), kas neliecina par smolziem raksturīgo morfoloģisko īpašību (slaida plūdlīnijas forma) veidošanos.
2. Smolziem raksturīgā guanīna un hipoksantīna uzkrāšanās audos jeb sudrabošanās līmenis visiem taimiņiem pētījuma laikā pieauga, tomēr pilnīgu sudrabošanos sasniedza vien atsevišķi indivīdi no recirkulācijas sistēmas.
3. Hematoloģiskiem rādītājiem novērojamas sezonālās svārstības, taču tie neuzrādīja smoltifikācijai raksturīgās pazīmes ne recirkulācijas, ne caurteces audzēšanas sistēmā.
4. Vairogdziedzera hormonu (T3 un T4) līmenis asinīs taimiņiem pavasarī pakāpeniski palielinājās, augstāko līmeni sasniedzot maijā, kas tomēr bija zemāks nekā smolziem raksturīgais līmenis (dabīgajiem smolziem Salacas upē $T3 = 4.9 \text{ nmol L}^{-1}$; $T4 = 73.3 \text{ nmol L}^{-1}$).
5. Sālsūdens tolerances testa rezultāti parādīja, ka tikai aptuveni viena trešdaļa no taimiņiem, kas audzēti caurteces sistēmā, smoltificējas pirmā dzīves gada maijā. Tas nozīmē, ka lielākā daļa taimiņu būtu smoltificējušies divu gadu vecumā.
6. Sālsūdens tolerances tests pierādīja, ka recirkulācijas sistēmā taimiņiem tiek izjaukts dabiskais gadalaika cikls un viena piektdaļa no visiem taimiņiem, kas audzēti recirkulācijas sistēmā, smoltificējas pirmā dzīves gada februārī, kad āra ūdens temperatūra nav piemērota taimiņu izlaišanai. Savukārt maijā jau ir notikusi desmoltifikācija un, ja šajā laikā tie tiek izlaisti dabiskos ūdeņos, visdrīzāk tie uz jūru nemigrēs. Tas nozīmē, ka lielākā daļa taimiņu būtu smoltificējušies divu gadu vecumā. Sālsūdens tolerances tests parādīja, ka caurplūdes audzēšanas sistēma labvēlīgāk ietekmē smoltifikāciju.
7. Girodaktilozes ekstensitāte caurteces sistēmā audzētiem taimiņiem laikā no marta līdz maijam sastādīja 15 - 17%, savukārt invāzijas intensitāte bija zema – 1 – 2 parazīti uz īpatni. Parazītu klātbūtne uz smoltifikācijas parametriem būtisku ietekmi neatstāja ($p > 0.05$).

8. Visprecīzākais instruments taimiņu smoltifikācijas noteikšanai ir sālsūdens tolerances tests. Papildus kā smoltifikācijas indikatoru var izmantot vairogdziedzera hormonu noteikšanu un morfoloģisko rādītāju analīzi, piemēram, taimiņu garuma, kondīcijas faktora (KF) un sudrabošanās līmeņa noteikšanu.

IETEIKUMI PRAKSEI

1. Veikt taimiņu barošanas pētījumus, lai noskaidrotu, vai barības daudzuma regulācija var veicināt viena un divus gadus vecu taimiņu smoltifikāciju.
2. Veikt pētījumus, analizējot fotoperioda ietekmi uz taimiņu smoltifikācijas procesu.
3. Audzētavām izvērtēt iespēju iegādāties aprīkojumu, kas zivis ļautu sašķirot pēc garuma.
4. Izstrādājot Zivju resursu mākslīgās atražošanas plānu 2021. – 2025.gadam iekļaut sekojošus kritērijus taimiņu smoltifikācijas novērtēšanai.

Katru gadu veikt vienu gadu vecu taimiņu smoltifikācijas novērtēšanu:

1. Visprecīzākais smoltifikācijas indikators ir taimiņu hiposmoregulācijas spēja, ko iespējams noteikt, izmantojot sālsūdens tolerances testu, tāpēc tiek rekomendēta sekojoša smoltu novērtēšanas kārtība:
 - a. Līdz aprīļa vidum zivju audzētavu darbinieki zivis šķiro pēc svara, jo šobrīd pieejamais aprīkojums neļauj zivis sašķirot pēc garuma.
 - b. Zivju izlaišanas komisijas locekļi, kas ir norīkoti atbilstoši Ministru kabineta 2015.gada 31.marta noteikumiem Nr. 150 “Kārtība, kādā uzskaita un dabiskajās ūdenstilpēs ielaiž zivju resursu atražošanai un pavairošanai paredzētos zivju mazuļus, kā arī prasības attiecībā uz mākslīgai zivju pavairošanai pielāgotu privāto ezeru izmantošanu”, tiek apmācīti smoltifikācijas pazīmju atpazīšanā un kontrolē izlaisto taimiņu morfoloģiskos rādītājus (individuālo garumu, svaru, sudrabošanās līmeni) 1% zivju katrā svara grupā. Par smoltiem viengadniekiem uzskatīt taimiņus, kam:
 - $KF < 1.2$
 - Sudrabošanās līmenis no 3 līdz 4.

- Ja zivis atbilst iepriekš minētajiem kritērijiem, tad daļai zivju veikt sālsūdens tolerances testu. Mirstība sālsūdens tolerances testa laikā nedrīkst pārsniegt 10%.
- c. Izlaišanas vietas plānot atkarībā no viengadīgo taimiņu vai smoltu attīstības stadijas. Taimiņus, kas nav sasnieguši smolta stadiju, izlaist upju augštecēs, bet smoltus vidustecēs un lejtecēs. Tas ļautu taimiņiem, kuri vēl nav smoltificējušies, izvēlēties nemigrēt, bet uzturēties upēs dažas nedēļas vai pat vienu gadu, līdz migrācijas vecuma - smolta stadijas sasniegšanai. Divgadīgos taimiņus izlaist lejtecēs.
 2. Atražošanai paredzētos taimiņus audzēt caurteces sistēmās, jo tajās tiek piegādāts ūdens no dabiskām ūdenstilpēm un smoltifikācijas process norit saskaņā ar sezonālo klimatisko apstākļu izmaiņām.
 3. Taimiņus upju grīvās izlaist, kad ūdens temperatūra upēs ir piemērota migrācijas ierosināšanai, lai nodrošinātu strauju taimiņu lejupmigrāciju.

INTRODUCTION

Topicality of the work

The aim of the sea trout (*Salmo trutta* L.) restocking in Latvia is an improvement of salmonid fish resources mainly to compensate the negative effect of hydroelectric power stations cascade on the river Daugava and other anthropogenic factors - river bed straightening, loss of spawning areas due to economic activity, as well as negative effect of pollution on fish resources. Sea trout restocking is performed by supplementing Latvia's watercourses with sea trout parrs of different age reared in hatcheries.

The spawning material for sea trout restocking is obtained by catching sea trout spawners that return from the Baltic Sea to their native rivers to spawn; they are caught in rivers' mouths.

Eggs are incubated in optimal circumstances until larvae hatch in the next spring. Then parrs are reared in special tanks until, finally, sea trout fingerlings at one- or two-years age are released in rivers and rivers' mouths to migrate and further live in the sea, but after reaching maturity, to return to their native river to spawn.

It is important, that after release as many reared sea trout would survive and reach maturity as possible to gain the highest effect of sea trout restocking. Sea trout ability to survive after release is dependent on many factors, however, the most important factor is a degree of sea trout development. When releasing sea trout larvae, it should be considered that only a small part of all released sea trout will survive. Accordingly, the more developed the fish are at the release, the higher is possibility that they will survive, and the aim of restocking will be reached. The highest efficiency of restocking can be reached when sea trout smolts are released in natural watercourses.

Smolts are parrs of salmonid fish, that are physiologically ready for the migration to the sea and are adopted for living in salt-water. Smoltification is a physiological process when physiological, morphological and behavioral changes are taking place in young salmonids to ensure an ability to survive in salt marine water. For many fish species smoltification takes place in spring and it is regulated by photo-period and water temperature but at first fish must reach a certain size and degree of development (McCormick, 2013).

In Latvia it is considered, that reared sea trout smoltify at one-year age and fish weight is used as a criterion for sea trout release. It must be admitted that smoltification studies are not documented in Latvia, besides fish weight is not used as smoltification criterion in other countries and it is not mentioned as significant smoltification indicator in scientific publications. That raises doubts on the importance and practical applicability of this criterion for smolt determination. Data show, that an amount of spawning sea trout decreases from

year to year in rivers of Latvia, it calls into question the efficiency of sea trout restocking.

Hypothesis of the research

Reared yearling sea trout do not reach a smolt status and are not ready for down-stream migration due to rearing circumstances and invasion of parasite *Gyrodactylus spp.*

Research theses

1. Smoltification is affected by sea trout rearing circumstances.
2. Only a small portion of reared sea trout reach a smolt status at one-year age.
3. Weight is not applicable as smolts release criterion.

The aim of the research

The aim of the research is to define the smoltification indicators for reared yearling sea trout, to evaluate the effect of parasite infections on smoltification and to develop recommendations for sea trout release to implement the fish restocking plan.

The objectives of the doctoral thesis

1. Determine morphological changes in sea trout during the first year of life in relation to rearing bio-technology.
2. Determine the dynamics of blood morphological and biochemical parameters in the last five months before sea trout release in natural watercourses.
3. Evaluate hypo-osmoregulatory ability of sea trout before and during smoltification.
4. Determine parasite infections and their effect on smoltification parameters.
5. Develop suggestions for sea trout parr release for implementation of the fish resources restocking plan.

Scientific novelty of the research

1. For the first time in Latvia a research on sea trout smoltification has been performed.
2. The approximate amount of sea trout that smoltifies at one-year age has been found.
3. The smoltification process has been studied in flow-through and recirculating rearing systems.
4. Suggestions have been made for sea trout release for implementation of the fish resources restocking plan.
5. The foundation has been made for future sea trout smoltification research in climatic conditions common in Latvia.

Personal contribution

1. Preparation of a sampling plan.
2. Sea trout selection for the research.
3. Sea trout morphological assessment (measurement, weighing, evaluation of silvering level), performance of partial section, calculation of somatic indices.
4. Obtaining of sea trout blood samples.
5. Determination of hematological parameters (red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, leukocyte formula) in sea trout blood samples, calculation of erythrocyte indices.
6. Performance of sea water tolerance test, assessment of sea trout hypo-osmoregulatory ability.
7. Compilation, analysis and statistical processing of the results of morphological, hematological and hormonal investigation.

Structure and volume of doctoral thesis

The doctoral thesis is summarized on 107 pages including 38 Figures and 20 Tables. It consists of annotation, introduction, literature review, material and methods, research results, discussion, 8 conclusions, theses for defense, recommendations for practice and list of references (168 sources).

MATERIAL AND METHODS

Place, time and object of the research

Practical part of the research was performed from 2012 until 2015 in the Latvia University of Life Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Food and Environment Hygiene and laboratories of the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment BIOR and special sea trout hatcheries.

Sea trout parrs used in the research were obtained from three state fish farms of the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment BIOR – fish farm “Tome” (river Daugava basin), it’s affiliate “Pelci” (river Venta basin) and affiliate “Brasla” (river Gauja basin). These are fish farms in which, according to the Fish resources restocking plan for 2017 – 2020, sea trout are reared for improvement of natural fish resources.

In the year of pre-study natural sea trout smolts were examined in the river Salaca as well as reared sea trout parrs, to determine their smoltification parameters.

Eggs for sea trout rearing were obtained from natural spawners, which were caught in the corresponding river of each hatchery. In all three hatcheries, sea trout were reared in flow-through systems, only in the fish farm “Tome” sea trout were reared in recirculating system as well. Fish were reared in tanks with 1.5 m diameter in ambient river water and natural photoperiod. Water flow was 0.16 – 0.18 m sec⁻¹. Rearing density in all three fish farms was approximately 30 kg m⁻³. Fish were fed with commercial feed “Aller Futura” of appropriate size in accordance with recommendations of manufacturer (www.aller-aqua.com). Water oxygen level was measured three times a day (8:00, 14:00, and 20:00) with equipment available at fish farms. Water oxygen level was maintained at level of 7-10 mg L⁻¹, artificial aeration or oxygenation was performed if needed. Data of water temperature were obtained from daily measurements done by fish farms’ employees.

A number of yearling sea trout used in the research was 1850, 90 of them were researched in the year of pre-study, 1560 sea trout were used for detailed research in the second year of the study and 200 sea trout were morphologically assessed in the third year of the study.

Blood samples for haematological and thyroid hormone analysis were obtained on the spot in fish farms, placed in portable refrigerator and immediately transported to laboratory for examination. After blood sampling sea trout were killed by a blow to the fish head and their spine was traumatized by a cut made with scalpel caudally from their head.

Haematological analysis of the blood samples and fish partial section was performed at the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment BIOR, Fish Resources Research Department, Division of Inland Waters and Fish Restocking. Level of thyroid hormones was determined in the laboratory "E. Gulbja Laboratorija" Ltd. However, sea water tolerance test was performed in the fish farm's "Tome" Aquaculture Research and Education Center and concentration of chlorid ions in plasma was determined in the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment BIOR, Laboratory of Diagnostics of Animal Disease, Division of Pathology.

Analysis and interpretation of the results was performed at Institute of Food Safety, Animal Health and Environment BIOR, Fish Resources Research Department, Division of Inland Waters and Fish Restocking.

Scheme of the research

Research was performed in three sections:

1.section (1st year of the research) – pre-study, when general view on physiological parameters of yearling sea trout was obtained;

2.section (2nd year of the research) – detailed study, sea trout morphological assessment, parasitological investigation, analysis of haematological, hormonal and biochemical parameters;

3.section (3rd year of the research) – sea trout morphological assessment.

The first year of study

To obtain a general view on sea trout haematological and thyroid hormone parameters, the pre-study was performed. Sea trout were obtained from all the tree fish farms – "Tome", "Pelci" and "Brasla", for the research. In April and May 10 yearling sea trout were studied from each fish farm. Blood samples were taken for haematological and hormonal research, as well as morphological assessment of sea trout was carried out. Besides 10 migratory sea trout smolts were caught in river Salaca in the pre-study, to determine haematological and hormonal parameters of natural sea trout smolts during migration. The age of natural smolts was not determined. At the end of pre-study data analysis was performed to plan a detailed study in the next year.

The second year of study

Once every two weeks from January to February and once a week in March and April and one time in May a group of sea trout from each hatchery was selected to analyse the dynamics of morphological, haematological, thyroid hormone parameters and chloride ion concentration during spring.

Yearling sea trout are quite a small in size; therefore, it is not possible to gain several blood sample from one individual to perform different analyses. Due to that, sea trout were divided into three study groups:

- 1) for determination of haematological parameters;
- 2) for determination of thyroid hormone level;
- 3) for performance of sea water tolerance test.

During each fish farm visit, 10 yearling sea trout of different sizes were randomly selected for each study group. Fish of different sizes were selected because they all were planned to be released in natural waters in the end of April or beginning of May of that year. In the fish farm “Tome” fish were selected from flow-through system as well as from recirculating system. All fish were morphologically assessed.

The third year of the study

During the third year of study a non-invasive sea trout morphological assessment was performed to make sure morphological parameters are consistent form year to year. During assessment a weight, length, silvering level of sea trout was determined and condition factor was calculated.

Morphological assessment of sea trout

All sea trout were morphologically assessed at first. Sea trout silvering level was evaluated using scale from 0 to 4 (Birt & Green, 1986, (modified by Rutkovska & Medne, 2015) (Table 1).

Every sea trout was weighed and its’ fork length (Ls) was measured.

After measurement condition factor (KF) was calculated by following formula (Formula 1) (Berrill, Porter & Bromage, 2006):

$$CF = \frac{W}{Ls^3} \times 100 \quad (1),$$

where

CF – condition factor;

W – fish weight, g;

Ls - fish length, cm.

Silvering indices were calculated by following formula (Formula 2) (Medne, 2011):

$$Is = N^{-1} \sum_{n=0}^5 n \cdot S \quad (2),$$

where

Is – silvering index of fish group;

N – total number of fish investigated;

n – number of fish in each group;
S – silvering level in accordance with scale (Table 1).

Blood sampling

Blood samples were taken immediately after fish were caught in fish farm because blood composition can be affected by stress and low water oxygen level (Noga, 1996). Blood was taken from caudal vein using ventral approach.

For hematological analysis blood was collected in blood sample tubes with anticoagulant (EDTA) but for biochemical analysis blood was sampled in tubes without anticoagulant. Approximately < 200 μ L of blood was collected from each fish. Blood samples were placed in portable refrigerator at temperature of 4 °C and transported to laboratory within 1 – 2 hours. Blood samples for analysis of thyroid hormones were transported to "E. Gulbja Laboratorija" LTD. however blood samples for hematological analysis were transported to Institute of Food Safety, Animal Health and Environment BIOR, Fish Resources Research Department, Division of Inland Waters and Fish Restocking.

Sea trout section and calculation of somatic indices

Sea trout were killed by a blow to the fish head and their spine was traumatized by cut with scalpel caudally from their head. A partial sea trout section was performed.

To calculate hepatosomatic and spleen somatic indices, sea trout liver and spleen was weighed. Hepatosomatic index was calculated by following formula (Formula 3) (Nikolsky, 1963):

$$AI = \frac{W_L}{W} \cdot 100 \quad (3),$$

where

AI – hepatosomatic index;

W_L – liver weight, g;

W – fish weight, g.

Spleen somatic index (LI) was calculated by following formula (Formula 4) (Nikolsky, 1963):

$$LI = \frac{W_S}{W_F} \cdot 100 \quad (4),$$

where

LI – spleen somatic index;
W_S – spleen weight, g;
W_F – fish weight, g.

Determination of red blood cell count

Red blood cell count was determined using photoelectric colorimeter (FEK) MP+ 25. 2.5 mL of Gower's solution (DR LANGE) were poured in a cuvette and 5 µL of blood were added. Content of the cuvette was thoroughly mixed. Clear Gower's solution without added blood was used as benchmark. Refractive index was determined with wave length of 546 nm.

To determine red blood cell count several blood samples were investigated using FEK and counting chamber as well. Coherence between both parameters was calculated and expressed as formula used for calculating the number of erythrocytes (Formula 5):

$$RBC = 2.3409 \times RS - 0.1519 \quad (5),$$

where

RBC – number of erythrocytes, M mm⁻³;

RS – refractive index by FEK.

Determination of hemoglobin level

Cyan - methemoglobin method was used to determine hemoglobin concentration in blood. 2.5 mL of transformation's solution LCN 043 were poured in cuvette, after 5 µL of blood were added and content of cuvette was thoroughly mixed and left for 10 minutes. Optical density was determined using FEK MP+ 25 with wave length of 546 nm. Transformation's solution was used as benchmark.

Additional investigations were made with Sahli's hemoglobinometer. The relation between both parameters was calculated and expressed as a formula which was used for calculating of hemoglobin concentration (Formula 6):

$$Hgb = (1.058 \times RS + 3.391) \times 10 \quad (6),$$

where

Hgb – hemoglobin concentration, g L⁻¹;

RS – refractive index.

Determination of haematocrit

Haematocrit was determined by microhematocrit method. Approximately 2/3 of microhematocrit tube were filled with stabilized blood; one end of the tube was toughly closed with clay. Tubes were centrifuged for 5 minutes at 6000 rpm using centrifuge NF 048. The proportion of erythrocytes was determined by graphic reading device or by calculating the ratio of the column of packed erythrocytes to the total length of the sample in the capillary tube when amount of blood was limited and capillary tube was filled less than for 2/3.

Erythrocytes indices were calculated (Formula 7, Formula 8, Formula 9):

$$MCV = \frac{PCV}{RBC} \times 10 \quad (7),$$

$$MCH = \frac{Hgb}{RBC} \quad (8),$$

$$MCHC = \frac{Hgb}{PCV} \times 100 \quad (9),$$

where

MCV - mean corpuscular volume, fL;

PCV - haematocrit, %;

RBC – red blood cell count, 10^{12} L^{-1} ;

MCH - mean corpuscular haemoglobin, pg;

Hgb - haemoglobin concentration, g L^{-1} ;

MCHC - mean corpuscular haemoglobin concentration, g L^{-1} (Jemeljanovs, Manevičs & Dūrītis, 2007).

Determination of leukocyte formula

Blood smears were prepared to determine leukocyte formula. Blood smears were dried and stained with JorVet stain set DipQuick Stain Kit. Staining was performed by immersing smears in fixing solution 5-6 times, and then immersing smears in stain solution No. 1 and No. 2 for the same number of times. Leukocyte formula was determined by light microscopy with microscope Leica DME at 400 (10x40) and by counting of 100 leukocytes (Stoskopf, 1993).

Determination of thyroid hormone level in plasma

Concentration of thyroid hormones thyroxine and triiodothyronine was determined in laboratory of LTD “E.Gulbja Laboratorija” by immunochemical luminescence method. Analyser ADVIA Centaur XP Siemens Healthcare Diagnostics Immunoassay System was used (reagents – ADVIA Centaur T4, T3/T4/VB12 Ancillary Reagent, T4 Diluent and ADVIA Centaur T3, T3/T4/VB12 Ancillary Reagent, T3 Diluent).

Sea water tolerance test

Fish from fish farms “Brasla” and “Pelči” were transported in plastic bags to fish farm’s “Tome” Aquaculture Research and Education Centre. 1/3 of each bag was filled with water and 2/3 with oxygen, bags were placed on ice during transportation that took approximately 2 – 3 h. Sea trout were placed in 50 L tanks when Aquaculture Research and Education Centre was reached. Water temperature in tanks was maintained at the level of water temperature in corresponding fish farm where fish were reared. Natural photoperiod was ensured for sea trout. Fish were acclimatized for 48 h before performing seawater tolerance test. During the test, sea trout were not fed.

Seawater tolerance was verified by 24 h seawater tolerance test (salinity = 30 ppt). After 24 h blood samples were taken from fish caudal vein and placed in a portative refrigerator at 4°C temperature. Blood samples were immediately transported to Institute of Food Safety, Animal Health and Environment “BIOR” Laboratory of Animal Disease, Division of Pathology, to estimate a concentration of chloride ions by colorimetric method using analyser Daytona Randox (reagent – Chloride (Thiocyanate Reagent)). Seawater tolerance test was performed in accordance with methodology developed by Blackburn & Clarke (1987).

Parasitological examination

Mucus smear of a body for all the sea trout was examined to determine a presence of parasites *Gyrodactylus spp.* Blood smears were examined by light microscope Leica DME. Invasion extensity (IE) was calculated by the following formula (Formula 10):

$$IE = \left(\frac{Xl}{Xk} \right) \times 100 \quad (10),$$

where

IE - invasion extensity;

Xi – number of sea trout invaded;

Xk – total amount of sea trout examined.

Invasion intensity was calculated by following formula (Formula 11):

$$II = \frac{n}{N} \quad (11),$$

where

II – invasion intensity;

n – number of parasites in one sample;

N – number of positive samples.

Statistical processing of the data

Calculation of descriptive statistics was done for all the quantitative data obtained - mean value, minimal and maximal value, standard deviation. Multidimensional statistical set was obtained during research. Quantitative parameters were analysed using correlation analysis to determine relation between different parameters (Sokal & Rohlf, 2000).

Student's test (t test) was used to determine statistically significant differences between mean values of two samples. T-test was used to determine statistical differences of morphological parameters and indices calculated (conditions factor, silvering level, AI, LI), haematological parameters and indices calculated (RBC, concentration of haemoglobin, haematocrit, leukocyte formula, MCV, MCH, MCHC), hormonal parameters (T3 and T4) and chloride concentration between months, fish farms, rearing systems. Differences were considered as significant when level of significance was lower than 0.05 and 0.01 ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) (Sokal & Rohlf, 2000).

RESULTS OF THE RESEARCH AND DISCUSSION

Morphological assessment of sea trout

Weight and length of reared yearling sea trout is very variable. Significant differences can be seen between morphological parameters of sea trout from flow-through and recirculating systems.

When analysing results obtained by calculating a condition factor, we found that CF differed between fish farms and months of the research (Figure 1). Mean CF of all sea trout investigated gradually decreased starting from January. The lowest CF was reached in March and then it started to increase. It could be seen in all the fish farms.

During the research, CF was significantly higher for fish reared in recirculating system than for fish from flow-through system. CF was from 1.08 to 1.17 for fish reared in flow-through system in January, but in recirculating system CF was 1.24. However, slight decrease of CF could be seen until April in recirculating system as well, when CF lowered to 1.16, which was followed by rapid increase of CF reaching 1.32.

When analysing CF values during the research, it could be seen that CF in all fish farms and both rearing systems decreased from January until March. It could be caused by changes of water temperature in winter. In summer and autumn when water temperature in fish farms is high (accordingly to rivers' water temperature in flow-through system and to surrounding temperature in recirculating system) fish feed properly, grow and accumulate lipid reserves, that can be seen by raise of CF.

CF for sea trout of our research increased in spring. Other parameters must be taken into account as well to make conclusions on changes of CF of sea trout reared in Latvia's fish farms. At the same time, natural smolts, examined in the research, had significantly lower CF ($p < 0.05$) than reared sea trout.

The weight, length and condition factor for sea trout reared in recirculating system was significantly higher ($p < 0.01$) than for sea trout reared in flow-through system during all the research. It can be explained by significantly higher water temperature in recirculating system during winter and early spring. Water temperature in flow through system reached the level of water temperature in recirculating system only in May. Therefore we can say that water temperature in recirculating system was higher than in flow-through system during all the research, and that affected fish feeding and growth. At low water temperatures, that are common in flow-through systems in winter, fish metabolism is slowed down; fish feed less and grow slowly or do not grow at all.

Results of previous research of Atlantic salmon have shown that bigger smolts have higher possibility to survive after release and they migrate to the sea more successfully than smaller individuals do. However, not the fish weight but

the length (Ls) is used as a significant size parameter in other countries unlike in Latvia where the weight is used as smoltification criterion (McCormick, 2014). Previous research done indicates that fork length of Atlantic salmon smolts reaches at least 14 cm before release in May. Besides a fork length (Ls) of smolts is at least 11.5 cm in October and November of the previous year (McCormick, 2014).

In accordance with the hypothesis of the research, length parameters obtained in the research and results of previous research indicate that yearling sea trout reared in Latvia are too small and do not reach a size characteristic for smolts.

Common tendencies or relations could not be seen when summarizing parameters of sea trout hepatosomatic indices (AI). Different AI tendencies could be seen in each fish farm. AI decreased from January (1.68) until April (1.30) in fish farm "Pelči" and then significantly increased in May reaching 1.63. In fish farm "Brasla" AI was more or less stable (from 1.61 to 1.65) and did not show significant differences between months until rapid decrease to 1.38 in May. In fish farm "Tome" AI decreased from January until May, besides decrease was statistically significant ($p < 0.01$) and it could be seen in both rearing systems. AI decreased from 2.08 (in January) to 1.37 (in May) in flow-through system, however, in recirculating system AI decreased from 1.66 (in January) to 1.27 (in May).

Results of spleen somatic index (LI) were quite stable during the research. LI fluctuated from 0.13 to 0.21 in all the fish farms during the research. LI did not differ significantly for sea trout reared in fish farm "Brasla" and fish farm's "Tome" recirculating system during the research ($p > 0.05$). LI fluctuated from 0.19 to 0.21 for sea trout reared in fish farm "Brasla" and from 0.15 to 0.17 for sea trout reared in recirculating system of fish farm "Tome". Significant differences of LI could be seen in fish farm "Pelči" in February (0.17) and in March (0.14) ($p < 0.01$).

Silvering level of sea trout gradually increased during the research in all the fish farms. The lowest silvering level was in January: from 1.36 to 1.55 for sea trout reared in flow-through system and 1.96 to sea trout reared in recirculating system. The highest silvering level was in the last month of the research, in May (2.67 to 2.96 for sea trout reared in flow-through system and 2.95 for sea trout reared in recirculating system). Silvering level was significantly higher for sea trout reared in recirculating system than for sea trout reared in flow-through system in January ($p < 0.05$). However, the difference between rearing systems decreased from month to month. In spite of a stable increase of silvering level, the highest 4 level was reached only by several individuals from recirculating system. Furthermore, mean silvering level did not reach even 3 (Table 2).

Results of the research done by Soivo, Muona & Virtanen (1989) and Debowski et al. (1999) indicates that sea trout smolts do not show as visible smoltification signs as Atlantic salmon smolts do. However, it must be considered, that despite silvering is known as a sign of smoltification, silvering can often be seen for reared parrs without any other signs of smoltification (Wedemeyer, Saunders & Clarke, 1980). Results of our study show that sea trout body colour had reached both, third and fourth level.

When summarizing all the results of morphological assessment obtained in our study, they show that more likely yearling sea trout do not reach smolt status and it corresponds to our hypothesis. It is indicated by the little size, stable CF and LI as well as unconvincing body silvering of sea trout.

Haematological parameters

When analysing sea trout RBC count during pre-smoltification period (from January to May), it can be seen that RBC count for sea trout from all the fish farms and both rearing systems increases from January to March. The mean RBC count for sea trout reared in flow-through system varied from 1.19 to $1.26 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. The mean RBC count for sea trout from recirculating system was $1.20 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$ in January and it did not differ significantly from RBC count of sea trout reared in flow-through system.

RBC count for sea trout from fish farm “Pelči” reached the highest level in March and it was $1.38 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. As well as RBC count for sea trout from recirculating system reached the highest level in March and it was $1.49 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. However, RBC count for sea trout reared in fish farm “Tome” reached the highest level in February and March and it was $1.38 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. For sea trout from fish farm “Brašla” RBC count reached the highest level in April - $1.48 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$.

RBC count of sea trout decreased significantly ($p < 0.01$) in all fish farms in May and it was from 1.16 to $1.26 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$. However, in recirculating system of fish farm “Tome” RBC count did not change significantly in comparison with April ($p > 0.05$) and it was $1.31 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$.

In summary, RBC count did not differ significantly between sea trout from both rearing systems ($p > 0.05$) from January until March. However, RBC count for sea trout from flow-through system was significantly higher than for sea trout from recirculating system ($p < 0.01$). Nevertheless, in May RBC count was significantly higher for sea trout from recirculating system ($p < 0.01$).

RBC count for sea trout from all fish farms increased during the research from January until March, which was followed by decrease of RBC count. Due to results of previous research done by Глаголева (1989), RBC count in winter is low because of cold water that suppresses erythropoiesis, however in spring RBC count increases. Moreover, stress and spleen contractions during smoltification cause an increase in RBC count (Hammenstig et al., 2014). However, in our research such changes in RBC count could not be seen. In April and May, when an increase of RBC count should be expected, RBC count actually decreased.

When analysing results of haemoglobin concentration, it can be seen that results change similarly to results of RBC count. For sea trout reared in flow through system mean haemoglobin level gradually increased starting from January (87.4 g L^{-1}). After reaching the highest level in March (92.3 g L^{-1}) level of haemoglobin started to decrease until it lowered to 87.2 g L^{-1} in May.

Mean haemoglobin level for sea trout reared in recirculating system significantly increased in February ($p < 0.01$) and reached 94.2 g L^{-1} . In the next few months haemoglobin level decreased and lowered to 86.8 g L^{-1} in May. When comparing level of haemoglobin between both rearing systems, it can be seen that significant difference appeared only in January, when concentration of haemoglobin for sea trout from recirculating system was significantly lower than for sea trout from flow-through system ($p < 0.05$).

Results of previous studies show that haemoglobin concentration as well as RBC count, should increase in spring, besides haemoglobin concentration for Atlantic salmon during smoltification can reach even $110 - 120 \text{ g L}^{-1}$ (Глаголева, 1989).

The decrease of RBC count and haemoglobin concentration in the end of research indicates that sea trout studied had not begun to smoltify by that time. Taking into account these results, it could be expected that smoltification would appear only in the next spring. These results coincide with our hypothesis.

When analysing results of sea trout haematocrit in spring, it could be seen that haematocrit was stable for sea trout reared in flow-through system (from 35.32 to 36.72%). There were more visible changes of haematocrit between months of research, however, common trends in changes could not be seen.

In January and February, haematocrit did not differ significantly between sea trout of both rearing systems. However, haematocrit for sea trout from recirculating system significantly increased in March and reached 41.47% ($p < 0.05$). Haematocrit for sea trout from recirculating system continued to increase until May when it reached 47.50%. In March, April and May haematocrit for sea trout from recirculating system was significantly higher than for sea trout from flow-through system ($p < 0.01$).

Taking into account that RBC count for sea trout decreased during the last months of the research, a stability of haematocrit in flow through system and

increase in recirculating system must be ensured by increase of RBC size. Besides, it is proved by changes of MCV, which increased significantly in the end of the research especially for sea trout reared in recirculating system. It means that there were mature erythrocytes in circulating blood (Hrubec & Smith, 2010).

MCV changed inversely proportionally to RBC count as the haematocrit was more or less stable. For sea trout from flow-through system MCV decreased from January until March when it was 262.33 fL. However, after that MCV increased again and reached 306.48 fL in May.

MCV for sea trout from recirculating system significantly decreased from 336.03 fL in January to 278.60 fL in February ($p < 0.01$). During the next months MCV gradually increased in recirculating system and reached 365.78 fL in May. In April and May, MCV was significantly higher for sea trout from recirculating system than for sea trout from flow-through system ($p < 0.01$).

For sea trout reared in flow-through system MCH decreased from 74.34 pg in January to 66.83 pg in April and then increased to 72.73 pg in May. Nevertheless, changes between months were gradual and shift changes in MCH were not common ($p > 0.05$).

MCH for sea trout from recirculating system significantly decreased to 60.92 pg ($p < 0.01$) in March, but in April it sharply increased again to 72.03 pg ($p < 0.01$).

MCHC did not differ significantly between months for sea trout from flow-through system and fluctuated from 241.26 g L⁻¹ to 269.80 g L⁻¹.

MCHC for sea trout reared in recirculating system was quite low in January - 214.89 g L⁻¹. However, in February it significantly increased ($p < 0.05$) to 273.91 g L⁻¹, and then decreased again to 222.65 g L⁻¹ in March ($p < 0.01$). The lowest level of MCHC for sea trout from recirculating system was reached in May, when it dropped to 185.83 g L⁻¹, and it was significantly lower than for sea trout from flow-through system ($p < 0.01$).

Gradual increase of lymphocyte amount could be seen in leukocyte formula for sea trout reared in flow-through systems. From January until March the mean proportion of lymphocytes was relatively low (66.47% to 68.11%), however, in April it significantly increased ($p < 0.01$) to 82.00% and in May it reached even 86.23%. The other major group of leukocytes – neutrophils, showed the opposite. Proportion of neutrophils was 31.55% in March, however, in April it significantly decreased ($p < 0.01$) to 17.89% and to 13.21% in May.

A proportion of monocytes for sea trout reared in flow-through systems tend to decrease as well. In January, proportion of monocytes was 3.78% but in May, it was only 0.46%. Eosinophils was seen only for several sea trout, therefore proportion of eosinophils fluctuated from 0.00 to 0.10%.

However, sea trout reared in recirculating system had significantly higher lymphocyte proportion than sea trout reared in flow-through system already in

January ($p < 0.05$). The proportion of lymphocytes gradually increased and reached 92.78% in May. Respectively, the proportion of neutrophils for sea trout from recirculating system was significantly lower than for sea trout from flow-through system – 13.15% ($p < 0.05$). Hereafter it decreased to 6.62% in May. Proportion of monocytes for sea trout from recirculating system was low during all the research and fluctuated from 0.37 to 0.86%.

Eosinophils were very rarely common for only several sea trout from recirculating system as well as from flow-through system. Proportion of eosinophils fluctuated from 0.00 to 0.06%.

Changes in leukocyte formula refers to previous research and confirms that composition of leukocytes changes according to water temperature and season – the amount of lymphocytes increases in spring but the amount of neutrophils and monocytes decreases in spring (Noga, 1996). An increase of eosinophils indicates parasite invasions. However, in our study, an amount of eosinophils did not increase and it indicates that an influence of *Gyrodactylus spp.* was insignificant. While absence of basophils indicates that basophils are not or are very rarely common in sea trout blood

Thyroxine and triiodothyronine concentration in plasma

For all sea trout reared in flow-through systems T3 level decreased from January until February and then started to increase (Figure 2). The highest level of T3 was reached in April for sea trout from fish farm “Pelči” and fish farm “Brasla”, accordingly 3.14 and 2.66 nmol L⁻¹, however, in fish farm “Tome” the highest T3 concentration was reached in May - 3.03 nmol L⁻¹. Nevertheless, T3 level for sea trout from recirculating system gradually increased from January until April and reached 2.65 nmol L⁻¹ and remained at that level also in May (2.63 nmol L⁻¹). Positive correlation was seen between T3 concentration and fish weight, length and condition factor (Table 3).

Starting from January until May a stable increase of T4 level could be seen for sea trout from all three fish farms (Figure 3). The increase of T4 level was common for fish of different sizes from both rearing systems. In fish farm “Pelči” T4 level slightly decreased from March to April, but in spite of that, the highest level of T4 was reached in May. In January T4 level for sea trout from all fish farms was relatively low (7.20 – 15.37 nmol L⁻¹), while in May it reached 38.29 – 50.44 nmol L⁻¹ and even 90.87 nmol L⁻¹ for sea trout from fish farm’s “Tome” flow-through system. Correlation between T4 concentration and fish weight, length and condition factor could not be seen.

In flow-through system, CF for all the silvering levels was almost equal (1.10 – 1.12). While values of other parameters increased along with a silvering

level: weight from 9.03 g for level “0” to 17.43 g for level “3”. length from 9.25 cm for level “0” to 11.57 cm for level “3”, T3 concentration in plasma from 1.70 nmol L⁻¹ for level “0” to 2.77 nmol L⁻¹ for level “3” and T4 concentration in plasma from 13.00 nmol L⁻¹ for level “0” to 35.63 nmol L⁻¹ for level “3”.

There were no sea trout from recirculating system with silvering level 0 or 1 in the research group, where level of thyroid hormones was established. For sea trout reared in this rearing system the mean CF was almost equal for all silvering levels (1.12 – 1.26), while values of other parameters increased along with a silvering level, as it was for sea trout from flow-through system: weight from 23.18 g for level “2” to 34.26 g for level “4”, length from 12.29 cm for level “2” to 14.10 cm for level “4”, T3 concentration in plasma from 2.17 nmol L⁻¹ for level “2” to 3.01 nmol L⁻¹ for level “4” and T4 concentration in plasma from 16.45 nmol L⁻¹ for level “2” to 45.03 nmol L⁻¹ for level “4”. When summarising data it could be seen that silvering level was dependent on sea trout length ($r^2 = 0.427$, $p < 0.05$), T3 concentration in plasma ($r^2 = 0.440$, $p < 0.05$) and T4 concentration in plasma ($r^2 = 0.448$, $p < 0.05$), but it was not dependent on CF ($r^2 = -0.038$, $p < 0.05$).

As the level of thyroid hormones increases during smoltification but previous research has shown that fish size is important for smoltification (McCormick et al., 2014), we can observe that changes in T3 level coincides with this condition and T3 level is higher for larger fish (potential smolts). However, changes of T4 level are not connected with sea trout size.

Research done by Quigley et al. (2006) with two-year old sea trout showed that T4 level reaches even 93 nmol L⁻¹ (37 ng mL⁻¹) for smolts. It should be reminded that in our research T4 level reached 38.29 – 50.44 nmol L⁻¹ in May and only for sea trout from fish farms “Tome” flow-through system T4 level was 90.87 nmol L⁻¹. Taking into account the above mentioned, results of the research indicate that level of thyroid hormones increases for all sea trout in spring regardless of fish size. However, in most part of fish farms it does not reach as high level as for natural as trout smolts (73.7 nmol L⁻¹).

When analysing sea trout hormonal parameters together with morphological parameters, a positive correlation between silvering level and length, T3 and T4 level can be seen for sea trout from both rearing systems. These results coincide with previous research, which has showed that thyroid hormones affect pigmentation of a salmonid body – an increase of thyroid hormones level cause disappearance of melanin and deposition of guanine and hypoxanthine in skin (Hoar 1988). Besides results gained show that sea trout length plays a role in initiation of smoltification, as it was previously found for Atlantic salmon (McCormick et al., 2014).

Furthermore, analysis of thyroid hormones level showed that, in spite of larger size of sea trout reared in recirculating system, it did not promote smoltification. Even more, sea trout from flow-through system showed better

smoltification's hormonal parameters than sea trout from recirculating system. Natural seasonal cycle for sea trout has been disrupted in recirculating system due to evaluated water temperature.

Seawater tolerance

Seawater tolerance test shows the ability of anadromous fish to adapt to salt seawater. Hypo-osmoregulatory ability is developed for fish that have reached a smolt stage. Developed hypo-osmoregulation ensures the ability to adapt to environment change from fresh water in rivers to salt water in the sea. In our study, a high mortality appeared for yearling sea trout during seawater tolerance test. Especially from January until April only individual cases were seen when sea trout survived. This situation was common in all fish farms and both rearing systems but especially in flow through system, where survival rate fluctuated from 1.7 to 8.3%. Sea trout reared in recirculating system showed better survival rates – from 10 to 20%. However, all sea trout reared in this system died during seawater tolerance test in May (Figure 4).

Results showed that the most part of fish from both rearing systems was not ready for migration to the sea and living in salt water. Despite sea trout from recirculating system initially showed better survival rates (even when it was not expected yet – in January and February), sea trout from flow-through system showed stable increase in hypo-osmoregulatory ability during the research.

Mean chloride concentration in plasma exceeded 177 mmol L⁻¹ for sea trout from flow-through system in January and February. Starting from March, chloride concentration slightly decreased to 162 mmol L⁻¹. While plasma chloride concentration for sea trout from recirculating system was stable from month to month. Taking into account that no sea trout from recirculating system survived during seawater tolerance test in May, we have no data on plasma chloride concentration for fish from this rearing system in May (Table 4).

Survival rates for sea trout from flow-through system was very low (1.7%) in the beginning of the research and plasma chloride concentration of fish survived was very high (>177.0 mmol L⁻¹). It means, that sea trout hypo-osmoregulatory ability was still insufficient. Urke et al. (2014) found out that plasma chloride concentration for Atlantic salmon smolts after seawater tolerance test was from 137 to 143 mmol L⁻¹. However, seawater tolerance for sea trout from flow-through system gradually improved and at the end of the research survival rate reached 33.0% and mean plasma chloride concentration decreased to 162.0 mmol L⁻¹. Although plasma chloride concentration for sea trout was higher than for Atlantic salmon in the research of Urke et al. (2014), it is reasonable to consider that 33% of sea trout reared in flow-through system smoltified. Since the last sea trout were released from fish farms in the second

week of May, there was no possibility to continue the research. It is possible, that in the next few weeks sea trout hypo-osmoregulatory ability would improve even more and plasma chloride concentration would decrease. However, all other sea trout that composed 67% of sea trout reared in flow-through system, did not smoltify in the corresponding spring. Thereby they should have waited for one more year to become smolts and to migrate to the sea.

Situation with sea trout reared in recirculating system was completely different. Although sea trout from recirculating system showed better hypo-osmoregulatory ability during the first four months of the research (higher survival rate 10 – 20% and stable plasma chloride concentration 158.67 – 168.99 mmol L⁻¹), hypo-osmoregulatory ability suddenly decreased in May and all fish died during seawater tolerance test. Hypo-osmoregulatory ability for sea trout from flow-through system developed like hypo-osmoregulatory ability for natural sea trout, by reaching the highest level in May. While hypo-osmoregulatory ability for sea trout from recirculating system changed not as expected – better results were obtained in winter and early spring and not at the time when smoltification is common for sea trout (from the end of April until the middle May) (Naslund, Sundstrom & Johnsson, 2017). The most affecting factor, which could disrupt a natural sea trout biorhythm, was water temperature. In the flow-through system water temperature was a little above 0 °C during the first three months of the research. In the recirculating system water temperature at the same time was approximately 8 °C, and it promoted fish growth. Studies have shown that water temperature has an impact on hypo-osmoregulatory ability of salmonids. For several species a raise of water temperature can promote not only earlier occurrence of smoltification but also an earlier beginning of desmoltification (Zaug & McLain, 1976).

When analysing morphological parameters of sea trout reared in flow-through system that survived and those that did not during the seawater tolerance test, there was no significant difference in fish weight and fork length between both groups ($p > 0.05$). However, survived sea trout from recirculating system were significantly longer than sea trout that did not survive ($p < 0.05$) (Figure 5 and 6).

While surviving sea trout from flow-through system had significantly lower CF than sea trout that did not survive ($p < 0.01$), as well as mean silvering level for sea trout that survived was significantly higher than for those that died ($p < 0.07$) (Figure 7 and 8).

When analysing morphological parameters of sea trout that survived and those that did not during the seawater tolerance test, a conclusion can be made, that the longer sea trout with lower CF and pronounced silvering have better hypo-osmoregulatory ability than others.

The results obtained during the seawater tolerance test confirm our hypothesis, that yearling sea trout do not reach the smolt phase. There is no

doubt, that the most part of sea trout must be reared for two years and not one year in environmental circumstances common in Latvia. At one-year age only a part of sea trout, that would have a developed hypo-osmoregulatory ability, could be released. Unfortunately, seawater tolerance test, which most precisely shows a hypo-osmoregulatory ability, can not be performed for all the sea trout. Besides, sea trout that survived during seawater tolerance test did not show clear visible morphological signs by which sea trout smolts could be detected.

Results of parasitological examination

In the Checklist of the parasites of fishes of Latvia (Kirjušina & Vismanis, 2007) there are cestodes, nematodes and acanthocephalans registered for sea trout. However, all these parasites are reported for sea trout caught in river Daugava. While in the research done by Briede (2016) monogeneans *Gyrodactilus truttae* and *Gyrodactilus spp.*, mixosporidian *Cholomyxum truttae* and protozoa *Apiosoma piscicolum* were found for sea trout of fish farms. However, in our research only *Gyrodactilus spp.* have been found. These results could be related to a season when the study was performed. Our research was carried out in winter and spring, when an invasion's intensity is low. Besides, fish farms' specialists regularly perform preventive measures to avoid parasitosis.

Parasite invasion was not detected for sea trout from recirculating system (IE = 0%), that could be explained by water used for fish rearing, which was obtained from underground source and therefore could not be contaminated by fish parasites common in the wild and natural waters.

In January and February *Gyrodactilus spp.* invasion was not observed for sea trout from flow-through system (IE = 0%). The first cases of invasion were detected in March. As well as in April and May invasion extensity remained at the same level (16 – 17 %).

When analysing *Gyrodactilus spp.* influence on sea trout smoltification parameters, we realised that presence of parasites does not significantly affect smoltification. Invasion intensity was relatively low (1 – 2 parasites for one fish). It is possible that a higher invasion intensity would cause visible clinical signs and disrupted osmoregulation (Schelkle et al., 2009). The current situation in Latvia's fish farms indicates, that gyrodactilosis does not significantly affect sea trout smoltification.

CONCLUSIONS

1. The biotechnologies used in Latvia's fish farms affect sea trout morphological characteristics: sea trout reared in recirculating system were significantly larger and with significantly higher condition factor than sea trout reared in flow-through system ($p < 0.01$), that does not indicate a development of smolt-specific morphological signs (streamlined body shape).
2. Deposition of guanine and hypoxanthine or silvering level, which is characteristic of smolts, increased during the research for all sea trout, however, full silvering was reached only by several individuals from recirculating system.
3. Seasonal changes can be seen for haematological parameters; however, they did not show signs of smoltification neither in recirculating nor in flow-through system.
4. The level of plasma thyroid hormones (T3 un T4) slightly increased for sea trout during spring. The highest thyroid hormones level was reached in May, which, however, was lower than that of smolts (for wild smolts in river Salaca T3 = 4.9 nmol L⁻¹; T4 = 73.3 nmol L⁻¹).
5. The results of seawater tolerance test showed that only one third of all the sea trout reared in flow-through system smoltifies in May of the first year of life. It means that the most part of sea trout would have smoltified at two-years age.
6. The seawater tolerance test proved that natural seasonal cycle has been disrupted for sea trout in recirculating system and one fifth of all the sea trout, which are reared in recirculating system, smoltifies in February of the first year of life, when ambient water temperature is not suitable for sea trout release. While in May desmoltification has already occurred. And if sea trout would be released at that time, more likely they would not migrate to the sea. It means, that the most part of sea trout would smoltify in the two-years age. Seawater tolerance test showed that flow-through rearing system more favourably affect smoltification.
7. Extensity of gyrodactilosis composed 15 - 17% from March until May for sea trout reared in flow-through system. While invasion intensity

was low – 1 – 2 parasites per an individual. The presence of parasites did not significantly affect smoltifications parameters ($p>0.05$).

8. The most precise tool for determination of sea trout smoltification is seawater tolerance test. In addition, determination of plasma thyroid hormone level and analysis of morphological parameters, such as length, condition factor and silvering level, can be used as smoltification indicator.

RECOMENDATIONS FOR PRACTICE

1. We suggest performing sea trout feeding studies, to determine, whether regulation of available feed could promote smoltification of yearling and two-years old sea trout.
2. We suggest performing studies to analyse effect of photoperiod on sea trout smoltification.
3. We suggest fish farms to consider purchasing of equipment that would allow to sort fish by their length.
4. When developing the Fish resources restocking plan for 2021 – 2025, the following criteria for sea trout smoltification’s evaluation should be included.

Evaluation of yearling sea trout smoltification should be performed annually:

1. The most precise indicator of smoltification is hypo-osmoregulatory ability, which can be evaluated using seawater tolerance test. Therefore, a following evaluation procedure of smolts is suggested:
 - a. Till the middle April employees of fish farms sort sea trout by weight, as the available equipment does not allow to sort fish by length.
 - b. Members of the Fish release commission, who are delegated in accordance with Cabinet Regulation No 150 “Procedure by which fish fingerlings intended for fish resources restocking are being listed and released in natural watercourses, and requirements for using of private lakes adopted for artificial fish propagation”, are trained for recognition of smoltification signs and control morphological parameters for 1% of released sea trout (individual length, weight, silvering level) in each group of certain weight. Yearling sea trout can be considered as smolts, if:
 - $CF < 1.2$;
 - silvering level is from 3 to 4;
 - if sea trout correspond to the above mentioned criteria, seawater tolerance test is performed for a part of these fish. Mortality during seawater tolerance test should not exceed 10%.

- c. The areas for release should be planned considering the stage of development of yearling sea trout. Sea trout, which have not reached a smolt stage, should be released in upstreams. Smolts should be released in middle or downstream river. That would allow sea trout, which have not smoltified, not to migrate but stay in rivers for some more weeks or even for one more year, until reaching a smolt status. Two-years old sea trout should be released in downstream river.
2. Sea trout intended for restocking should be reared in flow-through systems, due to water gained from natural watercourses and smoltification developing in accordance with changes of seasonal climatic circumstances.
3. In river mouth sea trout should be released when a water temperature in rivers is suitable for initiation of migration, to ensure sea trout downstream migration.