EUROOPA KALANDUSFOND
JÄTKUSUUTLIKU KALANDUSE HEAKS

Toetab Euroopa Liit

EESTI MAAÜLIKOOL
Põllumajandus- ja keskkonnainstituut
Limnoloogiakeskus

CENTRE FOR LIMNOLOGY
LIMNOLOOGIAKESKUS

Angerja keemiline märgistamine

ARUANNE

Koostajad: Maidu Silm
Ain Järvalt
Aile Mäe

Tartu 2015

www.emu.ee
Eesti Maaülikool
EMU Estonian University of Life Sciences
Põllumajandus- ja keskkonnainstituut
Institute of Agricultural and Environmental Sciences

Sisukord

1 Sissejuhatus 3
2 Metoodika 4
2.1 Otoliitide ettevalmistus 4
2.2 Otoliitide Analüüs 4
2.2.1 Fluorestsentsmikroskoop 4
2.2.2 Skaneeriv elektronmikroskoop (SEM) 5
2.2.3 LA-ICP-MS 7
3 Tulemused 9
3.1 Klaasangerja märgistamine 2014 aasta kevad 9
3.2 Ettekasvatatud angerja märgistamine 2014 aasta suvi 10
3.3 Klaasangerja märgistamine 2015 aasta kevad 14
4 Töö edasiarendused 16
4.1 Edasised massmärgistamised 16
4.2 Praktiline väärtus 16
5 Kokkuvõte 17
6 Kasutatud kirjandus 19
Lisad 21

1 Sissejuhatus

Lähtuvalt Euroopa Komisjoni määrusest (Council Regulation (EC) No 1100/2007) ja Eesti angerjamajanduse tegevuskavast (EMP) (Järvalt, 2008), tuleb hinnata angerja looduslikku rännet siseveekogudesse ja rändangerjate väljapääsu võimalusi, sh veekogudest, kuhu neid on asustatud. Samuti tuleb Euroopa Komisjoni määrusest (Council Regulation (EC) No 1639/2001) tulenevalt täiustada andmekogumise metoodikat. Keemilist märgistamist, mille põhjal oleks eristatavad kõik asustatud isendid looduslikult meie vetesse jõudnutest, on soovitanud ka EIFAAC/ICES angerja töögrupp (2011).

Kalade märgistamisega saadud informatsioon (kasvukiirus, ränded, varude hinnang jne.) on üks põhiline meetod kalavarude teaduspõhiseks haldamiseks. Keemiliselt e. massiliselt märgistades saab märgistada suurt hulka kalu korraga ja mis kõige tähtsam – kala elu pole sellest kuidagi pärsitud ning see ei mõjuta kala söödavust. Käesoleva projekti eesmärk oli märgistada kõik 2014 asustatavad ettekasvatatud isendid ning 2015 aasta asustatavad klaasangerjad. 2014 aastal märgistati ka väikejärvedesse asustatud klaasangerjaid.

Eestis ei ole selliselt vannitamise meetodil kalu varasemalt massmärgistatud. Märgistamisel kasutati levinumaid märgistamise aineid nagu Alizariin Red S (ARS) ja strontsiumkloriidi ($SrCl_2$). 2015 aastal kasutati klaasangerja massmärgistamiseks stabiilset isotoopi (Baarium 137), mida teadaolevalt pole angerjate märgistamiseks varem kasutatud.

Käesoleva projekti toel kaitsti magistrikraad Aile Mäe poolt: „Angerja keemiline märgistamine“ (2015), milles käsitleti 2014 aasta angerja massmärgistamist ja selle tulemusi.

Täname TÜ geolooge Kalle Kirsimäe’d ja Päärn Paiste’t, kes aitasid teostada otoliitide mikrokeemilisi analüüse SEM EDS ja LA-ICP-MS meetodil. Samuti TTÜ’st Valdek Mikli’t SEM EDS analüüside eest. Uurimisrühm tänab TÜ Mereinstituuti otoliitide lihvmasina kasutamise eest. Oleme väga tänulikud Raivo Puuritsale, kelle kasvandust saime kasutada klaasangerjate märgistamiseks ja väärtuslike kalakasvanduslike õpetuste eest. Viiratsis asuvast BM Trade OÜ angerjafarmist saime katseks klaasangerjaid ja neile ka vastava toidu. Samuti täname kalureid ning vabatahtlike, kes abistasid kalade pakendamisel ja asustamisel järvedesse.

2 Metoodika

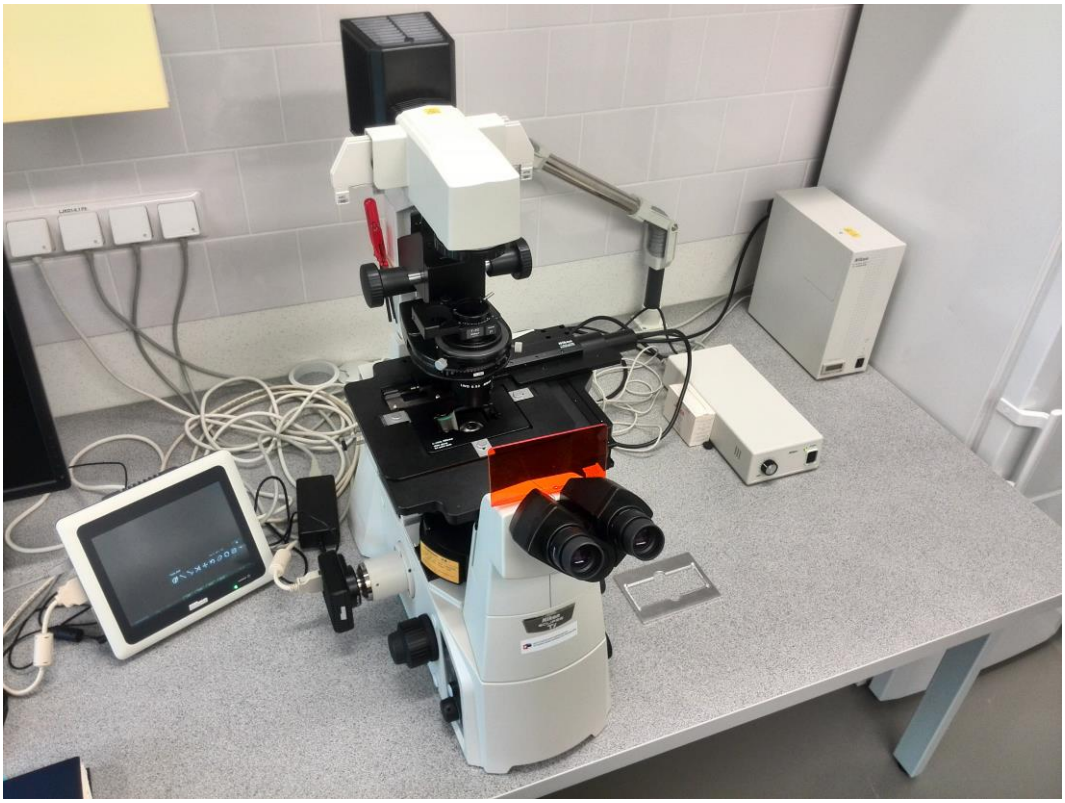
2.1 Otoliitide ettevalmistus

Otoliidid opereeriti eelnevalt sügavkülmutatud angerja peast stereomikroskoobis 10x suurendusega. Otoliidid puhastati suuremast mustusest paberrätikuga ning pandi seejärel ultraheli masinasse (vgt-800), mis eemaldas ülejäänud suurema mustuse. Otoliite hoiustati mikrotiiter alustel. Puhastatud otoliidid liimiti silikoonalustele, igasse auku üks otoliit. Liimimiseks kasutati Buehler EpoThin ™ 2 liimi. Pärast liimi kuivamist lihviti liimis olevad otoliidid tuumani siledaks, kasutades selleks lihvimismasinat MetaServ 250 Buehler. Lihvimiseks kinnitati otoliidiga liimitükk kiirliimiga Petri tassi põhjale ning hoiti lihvimispaberil. Masina pöördekiirus oli 250-400 pööret minutis. Lihvimist alustati kasutades lihvimispaberit astmega 400, suuremate kriimustuste eemaldamiseks lihviti järgmisena 2500 paberiga ning läikiva sileda pinna saamiseks lõpetati lihv vesiliivapaberiga astmega 4000. Liimitükk otoliidiga võeti petri tassi küljest lahti ning puhastati MilliQ destilleeritud veega ultraheli masinas. Seejärel lasti otoliitidel laminaarkapis kuivada. Kui otoliidid olid kuivanud kinnitati need alusklaasidele. Oluline oli saada poleeritud pinnad ühte tasapinda. Alusklaasid pesti veelkord üle MilliQ destilleeritud veega, et otoliidid oleksid võimalikult puhtad ning lasti viimast korda laminaarkapi all kuivada. Pärast kuivamist pandi alusklaasid otoliitidega tolmu- ja valguskindlatesse karpidesse. Kõik otoliidiga seotud andmed: märgis, kala pikkus ja kaal olid tagasiulatuvalt tuvastatavad ja hiljem sai vastava otoliidi seostada kindla kalaga.

2.2 Otoliitide Analüüs

2.2.1 Fluorestsentsmikroskoop

Alizariin märgise tuvastamiseks kasutati fluorestsentsmikroskoopi (Nikon Eclipse Ti-S) (joonis 1). Märgise tuvastamiseks kasutatava filtrit lainepikkusega 500 – 700 nm. Pildistamiseks kasutati arvutiprogrami NIS-Elements D.

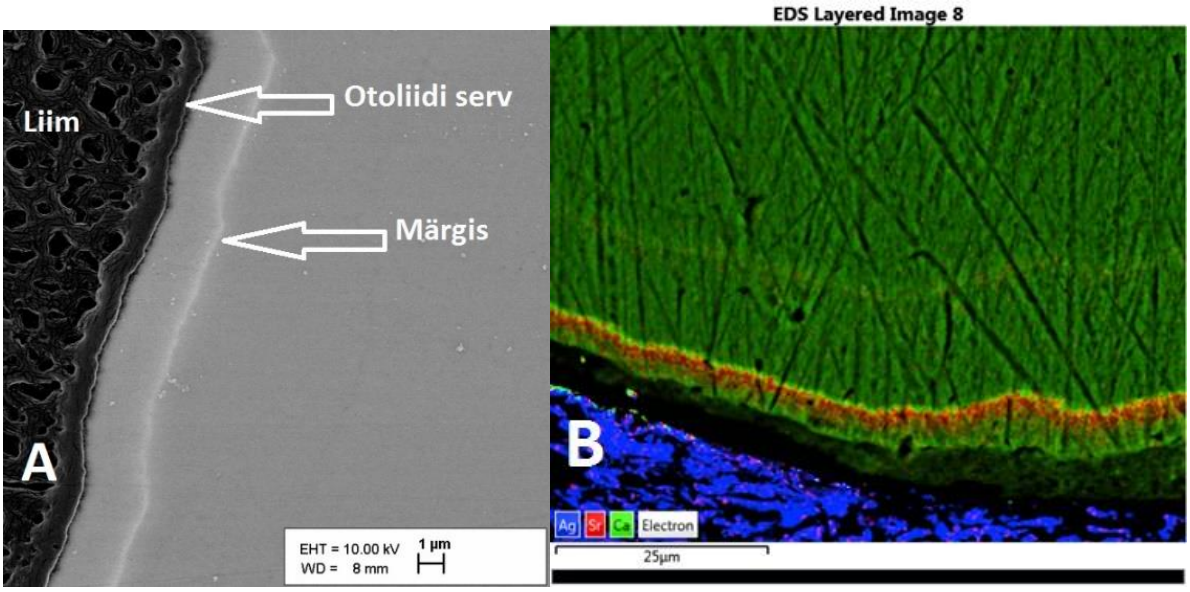


Joonis 1. Fluorestsentsmikroskoop Nikon Eclipse Ti-S Eesti Maaülikooli põllumajandus- ja keskkonnainstituudis.

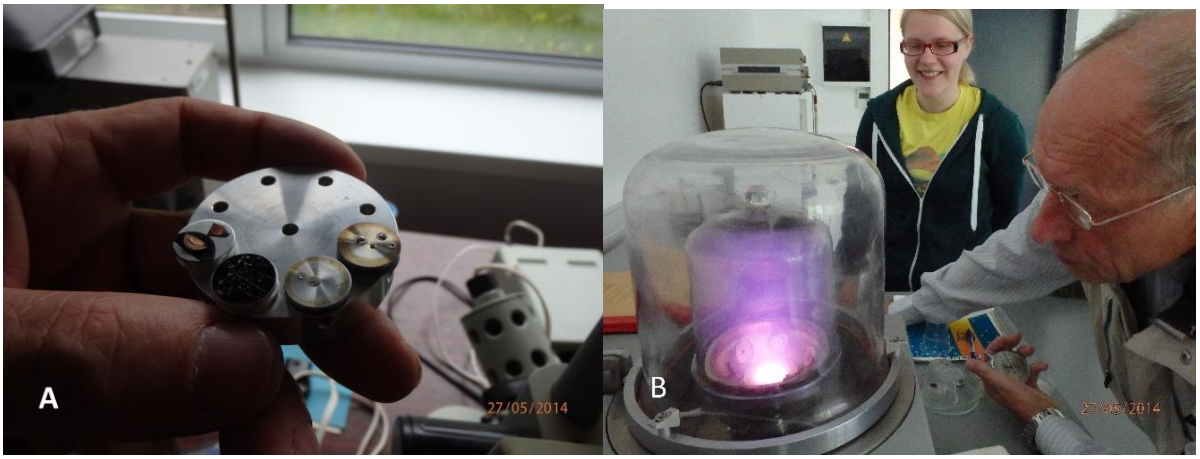
2.2.2 Skaneeriv elektronmikroskoop (SEM)

Skaneeriva elektronmikroskoobi (SEM) abil tuvastati otoliitidelt baarium ja strontsium märgiseid (joonis 2). Kasutati BSD (backscatter mode) režiimi, millega oli otoliidilt eristatav kõrgema aatomituumaga element (joonis 3 A). SEM EDS (Energy-dispersive X-ray spectroscopy) režiimis oli võimalik tuvastada ka elemendid (joonis 2 B). SEM meetodil analüüsimiseks pidi otoliit olema võimalikult sile, puhas ning tagatud elektriline kontakt. Elektrilise kontakti loomiseks kasutati elektrit juhtivat hõbe liimi, vask või süsinik teipi (joonis 4 A). Viimaks kaeti proovid õhukese kulla või süsiniku kihiga (joonis 4 B).

Joonis 2. Skaneeriv elektronmikroskoop TTÜ Materjaliteaduse instituudis, millega oli võimalik otoliite analüüsida nii BSD, kui ka EDS režiimil.



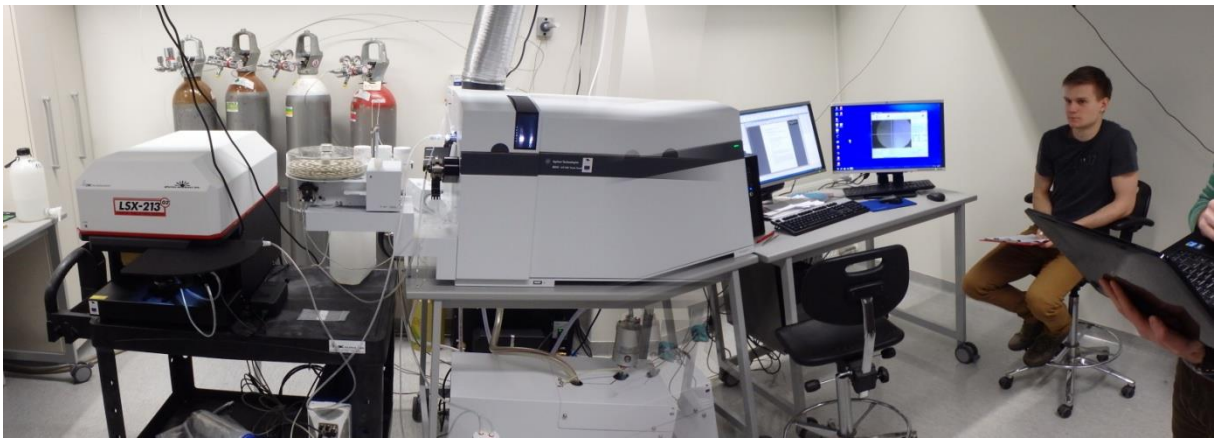
Joonis 3 A, B. A – SEM BSD režiimis on näha strontsium märgistamisest tekkinud kõrgema aatomituumaga joon. B – Angerja otoliit SEM EDS režiimis kaardistatult.



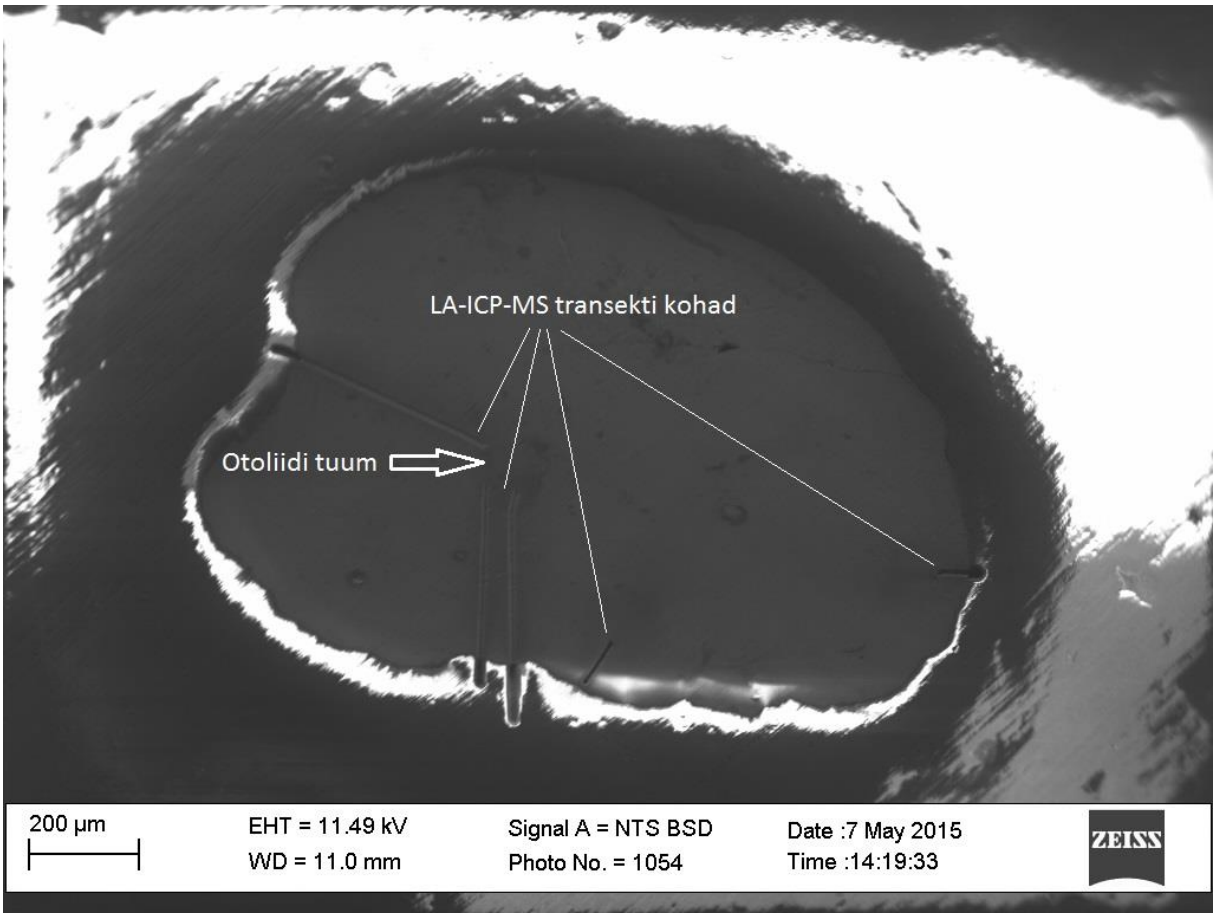
Joonis 4 A, B. A – SEM analüüsiks ettevalmistatud otoliidi. B – Proovide katmine õhukese kulla kihiga Eesti Maaülikooli põllumajandus- ja keskkonnainstituudis.

2.2.3 LA-ICP-MS

Otoliidi mikrokeemilise koostise hindamiseks kasutati Cetac LSX-213 G2+laserablatsioonisüsteemi koos HelEx proovikambriga, mis oli ühendatud induktiivsidestatud plasma mass-spektromeetri Agilent 8800 QQQ ICP-MS-iga (joonis 5). Igat massi koguti ajaliselt enamasti 20 ms (olenevalt analüüsitavate elementide hulgast). Laseri sirgel trajektooril liikumisel valiti enamasti kiiruseks 1 µm/s. Laserkiire punkti diameeter oli 10 kuni 150 µm, olenevalt proovi iseloomust. Laseri lainepikkus oli 213 µm, impulsi pikkus valdavalt 5 ns ning pulsi sagedus 10 Hz. Plasmagaasina kasutati segu puhtast argoonist (0,55 ml/min) ning heeliumist (0,7 ml/min). Gaase kasutati proovimaterjalide plasmasse kandmiseks. Laser tekitas otoliidile tugevad jäljed (joonis 6).



Joonis 5. LA-ICP-MS ehk laserablatsiooniga induktiiv-sidestatud plasma mass-spektromeeter TÜ Ökoloogia- ja Maateaduste Instituudis.



Joonis 6. SEM-is pildistatud otoliit, kus on näha LA-ICP-MS analüüsi tekitatud söövitusjäljed.

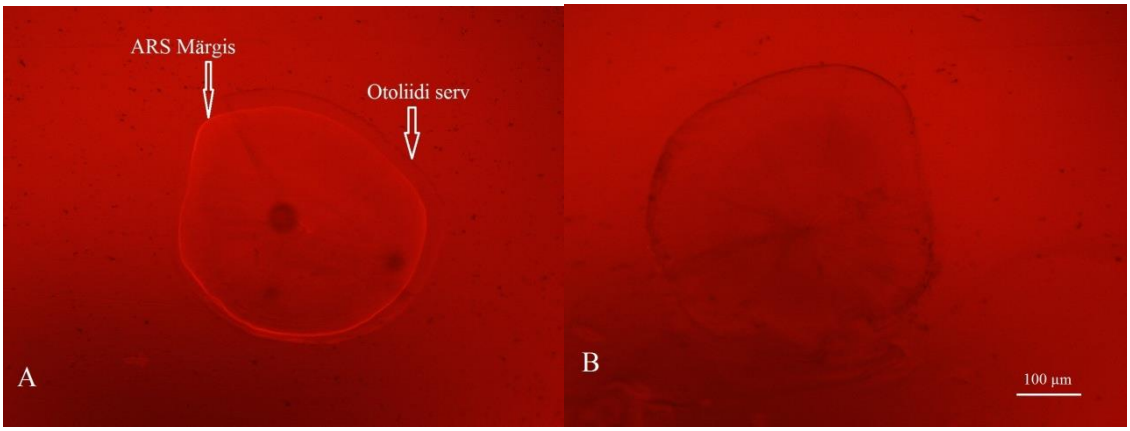
3 Tulemused

3.1 Klaasangerja märgistamine 2014 aasta kevad

Kokku saabus Prantsusmaalt klaasangerjaid 900 kg, millest 760 kg asustati otse Võrtsjärve. Märgistati osaliselt väikejärvedesse asustatavad klaasangerjad ajavahemikul 8 – 13 aprill 2014. Vooremaa järvedesse asustatavatest klaasangerjatest märgistati alisariiniga (ARS) (kontsentratsioon 0,15g/L) temperatuuril 15 C kraadi kokku 45 kg (tabel 1). ARS märgis oli selgelt tuvastatav fluorestsentsmikroskoobis 34-st kalast 32-l (joonis 7 A,B), mis annab märgistamise edukuseks 94%. Vagula järve asustatud klaasangerjad märgistati 0,25 g/L $SrCl_2$ lahuses. Kahjuks SEM EDS meetodil Vagula järve isendite märgist tuvastada ei õnnestunud. Otoliidid on valmis analüüsimiseks uuema ja täpsema LA-ICP-MS meetodiga. Joonisel 8 on toodud mõned pildid kevadisest märgistamisest.

Tabel 1. 2014 aasta kevadel märgistatud klaasangerja kogused järvede kaupa.

VEEKOGU	Kokku (kg)	Märgiseta (kg)	ARS märgis (kg)	Sr märgis (kg)	märgistatud %
Saadjärv	54,72	42,22	12,5		22,8
Kaiavere jv	32,94	12,74	20,2		61,3
Kuremaa jv	24,66	12,36	12,3		49,9
Vagula jv	27,09			27,09 (?)	100,0 (?)
Kokku	**139,41**	**54,58**	**45**	**27,09**	



Joonis 7 A, B. A – Märgistatud angerja otoliit UV - valguses. B – Märgistamata kala otoliit samades tingimustes.

Joonis 8. Alizariiniga märgistamine 2014 aasta kevadel.

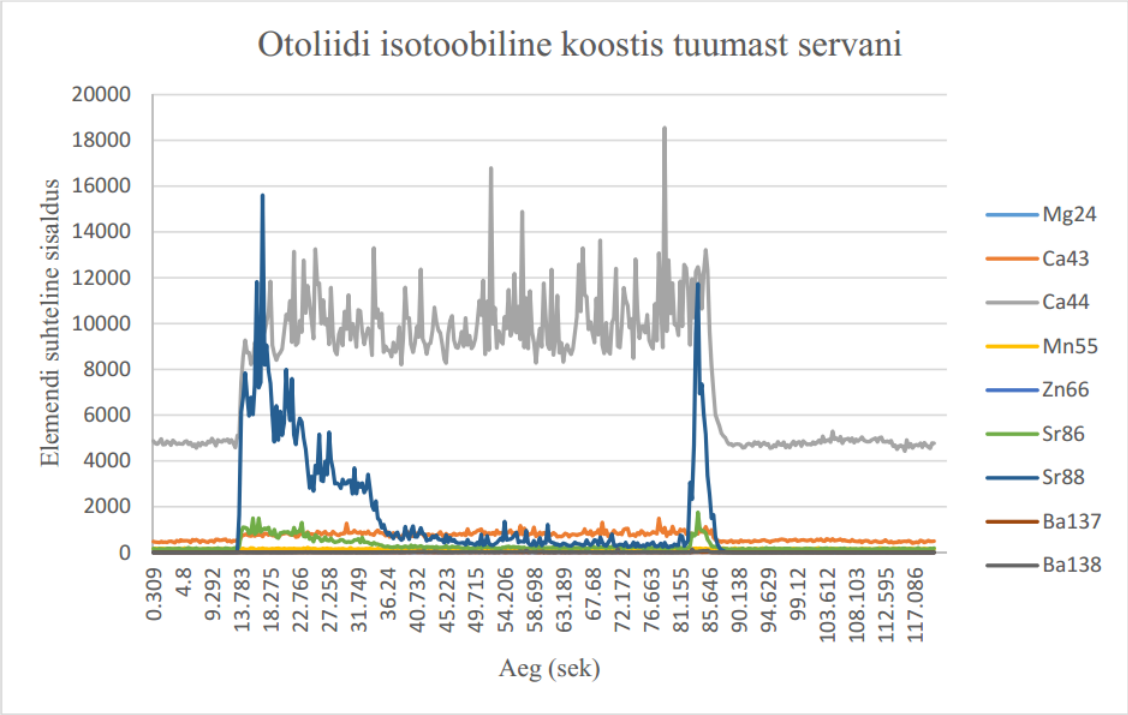
3.2 Ettekasvatatud angerja märgistamine 2014 aasta suvi

Ettekasvatatud angerjad märgistati kõik AS Triton PR angerjakasvanduses. Otse kasvanduses märgistamisel oli tagatud hea hapnikuga varustatus, veeringlus ning stabiilne keskkond. Kokku märgistati 193 636 isendit. Osa ettekasvatatud asustusmaterjali (14 409 tk) toodi juurde Viiratsi angerjafarmist. Väikejärvede puhul kasutati põhimärgise, strontsiumi (Sr) kõrval lisaks veel alizariini märgist (ARS) (tabel 2).

Tabel 2. Ettekasvatatud angerjate märgistamine.

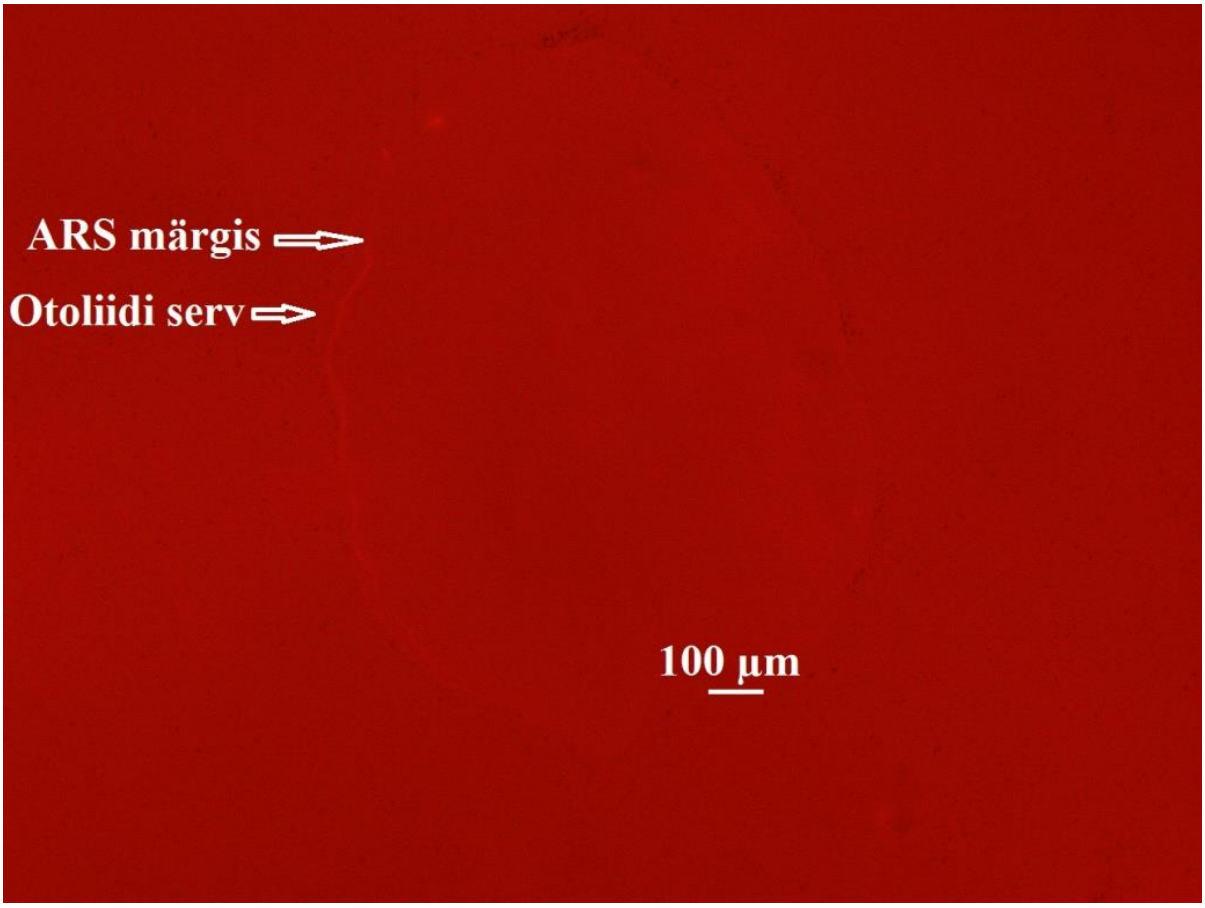
VEEKOGU	Isendit (tk)	Sr märgis	ARS	Märgistatud
Võrtsjärv I	151261	5 päeva kuni 1g/L		100%
Võrtsjärv II	14409	42 tundi 3g/L		100%
Saadjärv	11900	5 päeva kuni 1g/L	ARS lisamärgis	100%
Kaiavere jv	7087	5 päeva kuni 1g/L	ARS lisamärgis	100%
Kuremaa jv	5380	5 päeva kuni 1g/L	ARS lisamärgis	100%
Vagula jv	6200	5 päeva kuni 1g/L	ARS lisamärgis	100%

Rootslaste kogemused on näidanud, et angerja märgistamiseks piisab kui kalu vannitada $SrCl_2$ lahuses (1g/L) temperatuuril ca 22 kraadi 24 tundi (Wickström & Sjöberg, 2014). Eesti angerjaid hoiti oluliselt kauem $SrCl_2$ märgisega lahuses, millega loodeti saavutada ainuomane ja teistest eristatav märgis. Kolmandal märgistamise päeval tekitati keedusoola lisamisega veesüsteemis lühiajaline soolsuse tõus 15 ‰-ni. Sellega tekitati kalades kerge osmootne šokk, misläbi strontsium jõuab paremini läbi kala lõpuste organismi. Merevees on ka looduslikult suurem kogus strontsiumi kui magevees (Rohtla et al. 2014). Strontsiumi tuvastamiseks otoliidilt kasutati LA-ICP-MS meetodit. Analüüsiti 30 Sr märgistatud kala, kellel tuvastati selge märgis (joonis 9). Sama meetodiga analüüsiti 34 Rootsis märgistatud angerja otoliiti. Rootsi ülikooliga koostöös analüüsitakse saadud andmeid, et selgitada välja massmärgistamisest tekkinud unikaalset märgist. Tuleval aastal plaanib Saksamaa alustada samuti angerjate ulatusliku märgistamisega. Valdavalt alizariini ja strontsiumkloriidiga.



Joonis 9. Sr märgisega otoliidi mikrokeemia tuumast servani – Ookeaniline elufaas 13 – 36 sekund; 36 – 80 sekund peegeldub kalakasvanduse periood; umbes 82. sekundil on näha kõrget Sr piiki, mis tekkis kalale märgistamisest. Laseri liikumise kiirus oli 1 µm/s.

Väikejärvedesse asustatud angerjatele anti lisamärgis alizariini näol (joonis 10). Neljakümnest analüüsitud otoliidist tuvastati ARS märgis kolmekümnel ehk 75 % kaladel. Sellist kombinatsiooni pole varasemalt angerjatel rakendatud. Seega on need topeltmärgisega kalad Läänemerre jõudes kindlasti ainulaadse märgisega. Lühikese ajavahega märgistamisel võib tekkida kala otoliidis piltlikult öelda konkurents, ning kõik ained ei pruugi ettenähtult ladestuda (Warren-Myers, suulised andmed). Seetõttu võis ARS lisamärgisena olla oodatust vähem edukas. Suvisest märgistamisest on pildid joonisel 11. Joonisel 12 on Aimar Rakko pilt Saadjärve asustatavatest angerjatest.



Joonis 10. Väikejärvedesse asustatud ettekasvatatud angerjatel on otoliidil lisamärgisena alizariin.

Joonis 11. Väikejärvedesse asustatavad angerjad said alizariini näol topeltmärgise.

Joonis 12. Saadjärve asustatavad Sr ja ARS märgistatud angerjad (Foto: A. Rakko).

3.3 Klaasangerja märgistamine 2015 aasta kevad

Üha rohkem kalade otoliite analüüsitakse mikrokeemiliselt LA-ICP-MS ja sarnastel meetoditel, mistõttu on tõenäoline, et 2015 aastal märgistatud klaasangerjatest mõni ca kümne aasta pärast Läänemerest püütakse ja mikrokeemiliselt analüüsitakse. Märgistamisel otsustati kasutada parimat võimalikku lahendust, mis tekitaks kalale minimaalselt stressi ning oleks mikrokeemilisel analüüsil hästi tuvastatav. Sellised keemilised märgised on rikastatud stabiilsed isotoobid. Rikastatud stabiilsete isotoopidega massmärgistamine on väga uudne metoodika ja angerjate peal pole seda varem rakendatud. Looduslikult esinevad elemendid koosnevad mitmetest isotoopidest. Näiteks baarium koosneb looduslikult seitsmest isotoobist: 130 (0,11%), 132 (0,10%), 134 (2,42%), 135 (6,59%), 136 (7,85%), 137 (11,23%), 138 (71,7%) (Agilent…, 2002). Märgistamisprotsessi käigus oli eesmärgiks paigast nihutada vee looduslik baariumi isotoopide vahekord, mis hiljem kajastuks ka otoliitidel. See tagaks ka unikaalse märgisega angerjad Läänemeres. Mitmete teiste kalade näitel on stabiilsete isotoopidega märgistamine olnud edukas (Thorrold et al., 2006; Munro et al., 2009; Smith &

Whitledge, 2011; Huelga-Suarezet al., 2012; de Braux et al. 2014). Hiljuti paigaldati Eestisse ka teine LA-ICP-MS aparaat, mis sellist märki suudab tuvastada. Sarnaste mass-spektromeetritega on võimalik tuvastada otoliidilt ainet väga väikestes kogustes.

Katse märgistamisel 24 tundi baarium 137 isotoobiga tuvastati kaladel nõrk märgis. Analüüsiks kasutati Eestis olevat LA-ICP-MS, mille täpsem laseri mudel on Cetac LSX-213 nm. Dr. Warren-Myers'iga arutati eelnevalt väga põhjalikult, kas märgistada 2015 aasta saabuvaid klaasangerjaid eeltoodud meetodil. Dr. Warren-Myers olles palju stabiilsete isotoopidega märgistanud kalu, leidis, et pikem aeg ja kõrgem temperatuur annavad kindlasti soovitud tulemuse. Pealegi analüüsiti märgist 2 nädalat pärast märgistamist, kuigi otoliidi looduslik isotoobiline foon ühtlustub kuni 6 nädala möödudes. Samuti on märgis paremini tuvastatav täpsema Cetac LSX-193 nm laseriga. Seejärel otsustati klaasangerjaid sel meetodil märgistada.

Massmärgistamine toimus PR Triton AS angerjakasvanduses kokku 5 päeva. Suure koguse kala märgistamine tünni meetodil ei oleks olnud võimalik. Kokku märgistati 562,4 kg klaasangerjaid suletud veeringluses baarium 137 stabiilse isotoobiga kontsentratsioonil ~ 93 µg/L kokku 3 päeva. Kalade keskmine kaal oli 0,25 grammi, mis teeb kokku ca 2,25 milj klaasangerjat.

Tänaseks on neist analüüsitud Eestis 10 märgistatud isendit. Neil on tuvastatud kõrgem baariumi sisaldus otoliidi serval, mis on väga suure tõenäosusega tekkinud märgistamisest. Lisaks suuremale baariumi sisaldusele märgatavat isotoobilist nihet Eestis tehtud analüüsil ei tähendatud.

Tänaseks on analüüsitud 5 märgistatud klaasangerja otoliiti ka Melbourne ülikoolis LA-ICP-MS meetodil oluliselt täpsema 193nm laseriga. Proovides oli näha sarnast kõrget baariumi olemasolu, kuid tähendati ka ebatavalist baariumi ja kaltsiumi vahekorda otoliidis. Lisas on toodud baarium 137/138 suhe, mille põhjal isotoobi nihkest lõplike järeldusi teha ei saaks. Vajalikud on kontroll kala otoliitide analüüsid selle kinnituseks.

2015 aasta märgistatud klaasangerjate unikaalse märgise tuvastamiseks on jõudnud lisa 20 otoliiti Austraaliasse Melbourne ülikooli. Esimesel võimalusel analüüsitakse väikseid otoliite täpsema laseriga. Hetkel otsene rahastus selleks puudub.

Suuretõenäosusega saab kõrgemat baariumi sisaldust ja ebatavalist Ba/Ca suhet vaadelda ka kui unikaalset märgist, kuid selle kinnituseks on vajalikud kontrollgrupi kalade analüüsid.

4 Töö edasiarendused

Esmatähtis on teostada täiendavad otoliidi analüüsid, mis koguti 2014 ja 2015 märgistatud klaasangerjatelt. Selgitada tuleb võimalikud baariumi ladestumise vormid, millele teised sarnased massmärgistamise uurimused pole viidanud.

4.1 Edasised massmärgistamised

Rootsis asustatakse ainult ettekasvatatud angerjaid (keskmine kaal 1 g), kes kõik märgistatakse Scandinavian Silver Eel Ltd poolt teadlastega koostöös. Angerjafarmi juhataja Richard Fordman'i sõnul läheb umbes 70% kogu materjalist asutamisele ning 30% kasvatatakse kaubakalaks. Edaspidised võimalikud massmärgistamised kaladega on mõistlik täies ulatuses osta näiteks kalakasvanduse ettevõttelt, kus ettevõte müüb ettenähtud hulga eelnevalt märgistatud kalu. Kalu, keda kunstlikes tingimustes paljundatakse oleks võrdlemisi lihtne massmärgistada enne loodusesse asustamist.

4.2 Praktiline väärtus

Eestis ei ole selliselt vannitamise meetodil kalu varasemalt massmärgistatud. Esimesi tulemusi angerja rännetest ja kasvukiirustest oleks võimalik saada lähiaastatel elektriagregaadiga püüdes. Esimesi kiiremini kasvavaid märgistatud kalu võib oodata mõrrapüüki alates 2018-2019 aastast. Rändangerjate edukust veekoguti oleks võimalik alates 2022 aastast hinnata Emajõe ja Võhandu jõe suudmetest. Sellest ajast alates oleks otstarbekam rohkem angerja otoliite analüüsida ka Eesti rannikualadelt kuna siis on lootust, et esimesed Eestis märgistatud angerjad tabatakse Läänemerest. Ettekasvatatud ja klaasangerjad märgistati erineva „mustriga", millega oleks võimalik eristada asustatud põlvkondade looduslikku suremust, väljarännet ja kasvukiirust erinevates järvedes. Täiustatud angerja andmete kogumine on ka kohustuslik Euroopa Komisjoni määrusest (Council Regulation (EC) No 1100/2007) ja Eesti angerjamajanduse tegevuskavast (EMP) tulenevalt (Järvalt, 2008).

Käesolev projekt annab tulevikus loodetavasti uusi teadmisi, mis aitaks kaasa angerja, kui liigi, jätkusuutlikkusele. Seda nii väikse Eesti, kui Euroopa mõistes.

5 Kokkuvõte

Kalade märgistamisest tagasi saadav informatsioon on üks põhiline meetod kalavarude teaduspõhiseks haldamiseks. Keemiliselt e. massmärgistades saab märgistada suurt hulka kalu korraga ja mis kõige tähtsam – kala kasv pole sellest kuidagi pärsitud ning see ei mõjuta kala söödavust. Rakendati projekt, mille eesmärk oli märgistada kõik 2014 asustatavad ettekasvatatud isendid ning 2015 aasta asustatavad klaasangerjad.

Aastal 2014 märgistati kokku 45 kilo Vooremaa järvede klaasangerjaid punase fluorestsents ainega Alizariin Red S. Märgis ladestus 94 %'il kaladest otoliidile edukalt.

Kokku asustati aastal 2014 pisut alla 200 000 ettekasvatatud isendi, kes kõik said otoliidile vastava märgise. Kõik ettekasvatatud angerjad vannitati strontsiumkloriidi lahuses. Strontsium oli selge piigina ladestunud 100% analüüsitud 30'el kalal. Saadjärve, Kuremaa, Kaiavere ja Vagula järve isendid märgistati lisaks strontsium märgisele veel Alizariiniga, mille edukus oli 75%.

Aastal 2015 kasutati märgistamiseks uudsemat rikastatud stabiilse isotoobiga märgistamist. Kõik 562,4 kg klaasangerjat läbisid kolme päevase märgistamise perioodi kuid täiendavad analüüsid on vajalikud usaldusväärsete andmete saamiseks.

Summary

The project aim was to massmark restocked eels in year of 2014 and 2015. In spring of 2014 an alizarin Red S (ARS) marking was carryed out with french origin glass eels. For lake Saadjärv we marked 12,5 kg out of 54,72 kg, Lake Kuremaa 12,3 kg out of 24,66 kg and lake Kaiavere 20,2 kg out of 32,94 kg glass eels. The ARS marking success was 94% out of 34

fish otoliths analyzed. For 27,09 kg lake Vagula glass eels we used 0,25 g / L strontsium chloride. This mark was not observed in otolith with SEM EDS.

In summer of 2014 we massmarked bit less than 200 000 pre grown eels with strontsium chloride. They were restocked into 5 main eel lakes in Estonia – lake Saadjärv (11 900 invidivuals), lake Kuremaa (5 380), lake Kaiavere (7 087), lake Vagula (6 200) and lake Võrtsjärv (165 670). The strontsium mark was very well observed with LA-ICP-MS. Durning the 5 day marking periood we did second ARS mark to the 4 first smaller lakes. The ARS succsses as second mark was 75%.

In spring of 2015 we used enriched stable Barium 137 isotope to mark 562,4 kg glass eels at 93 μg/L for 3 days. Futher analyzes are needed to conclude marking success.

6 Kasutatud kirjandus

Agilent Technologies[tm] . (2002). Relative Isotopic Abundance Table. Printed in Japan G3280-90035.

de Braux, E., Warren-Myers, F., Dempster, T., Fjelldal, PG., Hansen, T., Swearer, SE. (2014). Osmotic induction improves batch marking of larval fish otoliths with enriched stable isotopes. ICES *J Mar Sci*. 71: 2530 – 2538.

Huelga-Suarez, G., Moldovan, M., Garcia-Valiente, A., Garcia-Vazquez, E., and Garcia Alonso, J. I. G. (2012). Individual-specific transgenerational marking of fish populations based on a barium dual-isotope procedure. *Analytical Chemistry*. 84: 127– 133.

ICES. (2011). Report of the 2011 Session of the Joint EIFAAC/ICES Working Group on Eels Lisbon, Portugal, 5 – 9 September 2011. ICES CM 2011/ACOM: 18, 244 p.

Järvalt, A. 2008. Eel management plan. 26 pp.

Munro, A. R., Gillanders, B. M., Thurstant, S., Crook, D. A., and Sanger, A. C. (2009). Transgenerational marking of freshwater fishes with enriched stable isotopes: a tool for fisheries management and research. *Journal of Fish Biology*. 75: 668– 684.

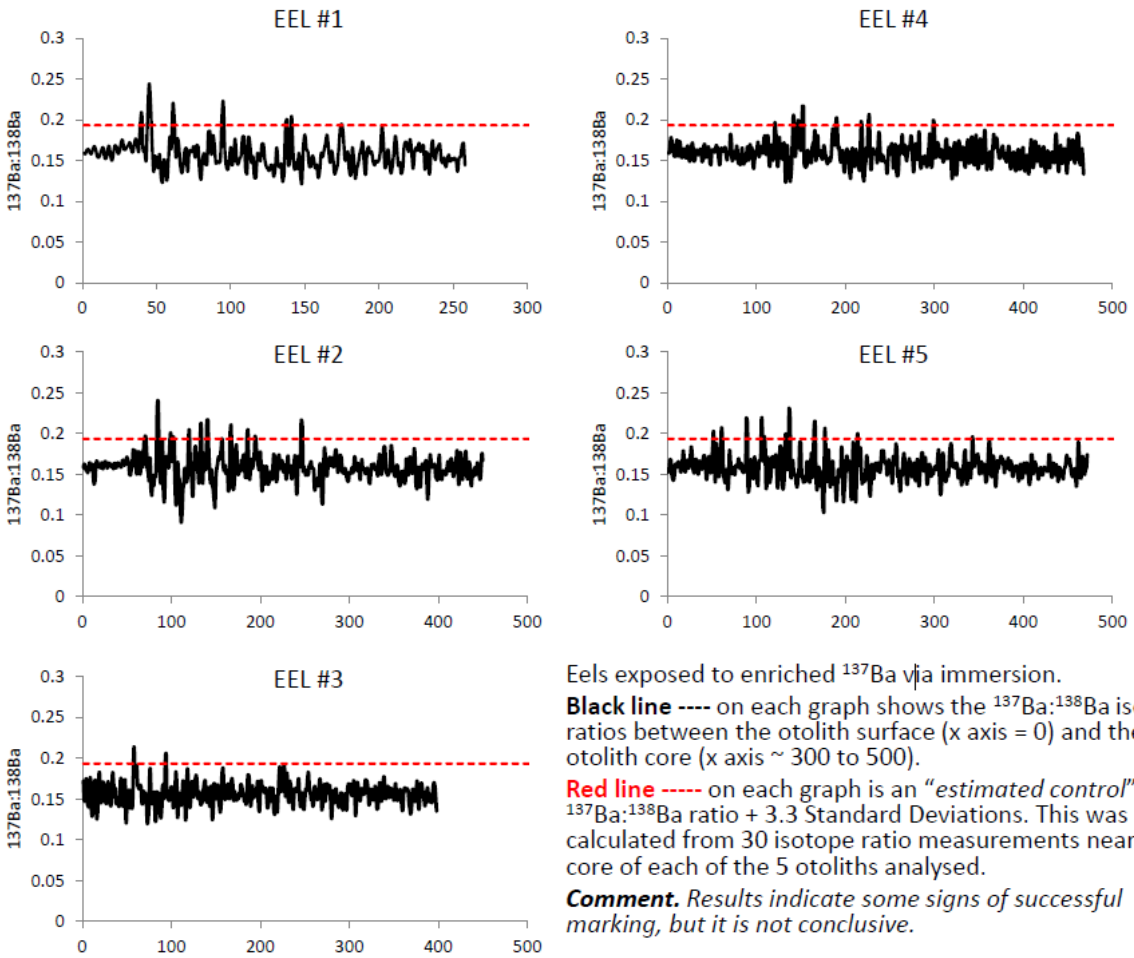
Rohtla, M., Vetemaa, M., Taal, I., Svirgsden, R., Urtson, K., Saks, L., Verliin, A., Kesler, M., Saat, T. (2014). Life history of anadromous burbot (Lota lota, Linneaus) in the brackish Baltic Sea inferred from otolith microchemistry. *Ecology of Freshwater Fish*.Vol. 23, No. 2: 141–148.

Smith, K. T., and Whitledge, G. W. (2011). Evaluation of a stable-isotope labelling technique for mass marking fin rays of age-0 lake sturgeon. *Fisheries Management and Ecology*. 18: 168– 175.

Thorrold, S. R., Jones, G. P., Planes, S., and Hare, J. A. (2006). Transgenerational marking of embryonic otoliths in marine fishes using barium stable isotopes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 63: 1193– 1197.

Wickström, H. & Sjöberg, N.B., (2014). Traceability of stocked eels - the Swedish approach. *Ecology of Freshwater Fish*, 23, No. 1: 33–39.

Lisad



Eels exposed to enriched ^{137}Ba via immersion.

Black line ---- on each graph shows the ^{137}Ba:^{138}Ba isotope ratios between the otolith surface (x axis = 0) and the otolith core (x axis ~ 300 to 500).

Red line ----- on each graph is an "*estimated control*" ^{137}Ba:^{138}Ba ratio + 3.3 Standard Deviations. This was calculated from 30 isotope ratio measurements near the core of each of the 5 otoliths analysed.

Comment. *Results indicate some signs of successful marking, but it is not conclusive.*