

**Pro gradu –tutkielma**

**Suomun vakaat isotoopit Itämeren lohen (*Salmo salar*  
L.) syönnösvaellustutkimuksessa**

**Jani Valkonen**



**Jyväskylän yliopisto**

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Akvaattiset tieteet

19.12.2014

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos  
Akvaattiset tieteetVALKONEN JANI, T.: Suomun vakaat isotoopit Itämeren lohen (*Salmo salar* L.) syönnösvaellustutkimuksessa

Pro gradu: 28s.

Työn ohjaajat: FT Mikko Kiljunen, FT Jyrki Torniainen

Tarkastajat: FT Mikko Kiljunen, FT Timo Ruokonen

Joulukuu 2014

---

Hakusanat: happohuuhtelu, hiili, isotooppianalyysi, lihas, typpi

## TIIVISTELMÄ

Lohella on tärkeä taloudellinen ja ekologinen merkitys Itämeressä. Aikaisemmin Itämeren lohen vaelluksia on tutkittu pääasiassa ryhmämerkinnöillä. Tässä tutkimuksessa selvitettiin, voidaanko lohen suomun vakaiden isotooppien arvoilla ( $\delta^{13}\text{C}$  ja  $\delta^{15}\text{N}$ ) selvittää lohen syönnösvaellusta, voiko suomulla korvata lihasnäytteet tutkimuksessa kaloja tappamatta sekä mikä on yleisesti kalojen suomujen isotooppitutkimuksessa käytetyn happohuuhtelun vaikutus hiilen ja typen isotooppiarvoihin. Suomuista leikattiin sisä- ja ulko-osat. Suomun ulko-osa kuvaa viimeistä merivuotta, joka heijastaa parhaiten lohen viimeistä syönnösvaellusaikaa Itämeressä. Leikattuja suomujen osia käsiteltiin 1,2 N suolahapolla (HCl) kaksi minuuttia. Happohuuhtelu poistaa vedestä tullutta epäorgaanista hiiltä ja parantaa ravinnosta tulleen orgaanisen hiilen havaitsemista. Happohuuhtelulla havaittiin tilastollisesti merkitsevä ero suomun käsittelemättömien ja happohuuhdeltujen sisä- ja ulko-osien välillä. Happohuuhtelu suurensi suomun ulko- ja sisäosan  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoja 1,1 ja 0,14 ‰-yksikköä. Vastaavasti happohuuhtelu suurensi suomun ulko-osan  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoa 1,0 ‰-yksikköä. Happohuuhtelulla osoitettiin merkitys myös ulko-osaan, jonka  $\delta^{15}\text{N}$ -arvo oli 1,1-yksikköä suurempi kuin happohuuhdellun sisäosan. Tämän tutkimuksen perusteella on suositeltavaa käyttää Itämeren lohien vaellustutkimuksissa suomun happohuuhdeltua ulko-osaa. Suomun happohuuhdellun ulko-osan perusteella 60–70 % Kemijoen lohista käytti viimeisen merivuoden syönnösalueenaan Itämeren pääallasta ja eteläistä Itämerta. Lohista 20 % jäi syönnökselle Selkämerelle ja 10–30 % vaelsi syönnökselle Suomenlahdelle. Suomun happohuuhdellun ulko-osan isotooppiarvojen ( $\delta^{13}\text{C}$  ja  $\delta^{15}\text{N}$ ) todettiin parhaiten korreloivan rasvakorjatun lihaksen kanssa. Tämän tutkimuksen perusteella suomuilla voidaan korvata lihasnäytteet. Tämän tutkimuksen perusteella parantamalla lihaksen ja happohuuhdellun suomun ulko-osan lineaarista riippuvuutta olisi mahdollista käyttää korjauskerrointa 1,1 ‰-yksikköä tarkentamaan tuloksia.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Science

Department of Biological and Environmental Science  
Aquatic Sciences

VALKONEN JANI, T.: Using scale stable isotopes to estimate salmon (*Salmo salar* L.) final feeding areas in the Baltic Sea.

Master of Science Thesis: 28p.

Supervisors: PhD Mikko Kiljunen, PhD Jyrki Torniaainen

Inspectors: PhD Mikko Kiljunen, PhD Timo Ruokonen

December 2014

---

Key Words: acidification, carbon, muscle, nitrogen, SIA

## ABSTRACT

Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) has important economic and ecological values in the Baltic Sea. Previously, Carlin tagging has been one of the most used methods in salmon migration studies. This study aims were to find out how useful tool is salmon scale stable isotope analysis (SIA) ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) in salmon migration studies, could scale replace muscle as a nonlethal research method in stable isotope analysis and what is the impact of widely used 1.2 N HCl pre-treatment in fish scale isotope studies on carbon and nitrogen isotope values. Acidifying removes the exogenous ambient water origin carbon attached in calcium carbonate. Therefore remaining carbon represents more of diet origin. Scales were cut in two sets representing inner and outer portion and acidified 1.2 N for two minutes. Outer acidified portion of scale was a good proxy for reflecting final feeding areas during salmon migration. When comparing scale acidified and unacidified portions ( $\delta^{13}\text{C}$ ) all cases were found statistically significant. The  $\delta^{13}\text{C}$ -values of acidified inner and outer portions (0.14 and 1.1 ‰) were greater than those of unacidified parts. Respectively  $\delta^{15}\text{N}$ -value of acidified portion was 1.0 ‰ greater than unacidified. Whereas outer acidified portion was 1.1 ‰ greater than outer unacidified portion. This study recommends using scales outer acidified part for migration studies. Acidified outer part of scale reflected migration routes of final feeding season. 60-70 % of Kemijoki origin salmon were occupying southern Baltic Proper and the Main area as a final feeding area. 20 % of salmon fed in Bothnian Sea and 10-30 % of salmon fed in Gulf of Finland. Comparing scale and lipid corrected muscle isotope values, strongest correlation was between muscle and outer acidified portion. In this study it is possible to use correction factor if the linear relationship between muscle and outer acidified portion of the scales can be enhanced.

## Sisältö

<b>1. JOHDANTO</b> .....	<b>5</b>
<b>3. AINEISTO JA MENETELMÄT</b> .....	<b>7</b>
3.1. Suomu- ja lihasaineisto .....	8
3.2. Suomujen esikäsittely .....	9
3.3. Vakaiden isotooppien analyysi .....	10
3.4. Tilastolliset testit .....	10
<b>4. TULOKSET</b> .....	<b>11</b>
4.1. Happokäsittelyn vaikutus suomun $\delta^{13}\text{C}$ - ja $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin .....	11
4.2. Lihaksen ja suomun isotooppisuhteiden $\delta^{13}\text{C}$ -arvojen vertailu .....	14
4.3. Lihaksen ja suomun isotooppisuhteiden $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen vertailu .....	16
4.4. Suomun ulko-osan $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ -arvot eri merialueilla .....	18
4.5. Kemijoen lohien viimeisimmän syönnösalueen arviointi .....	20
<b>5. TULOSTEN TARKASTELU</b> .....	<b>22</b>
5.1. Happohuuhtelun vaikutus suomun $\delta^{13}\text{C}$ - ja $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin .....	22
5.2. Suomu lihasnäytteiden korvaajana .....	23
5.3. Lohien levittäytyminen eri syönnösalueille .....	24
<b>Kiitokset</b> .....	<b>26</b>
<b>Kirjallisuus</b> .....	<b>26</b>

## 1. JOHDANTO

Atlantin lohi (*Salmo salar* L.) esiintyy Itämeressä miltei eristäytyneenä populaationa. Laji on Itämeressä taloudellisesti ja ekologisesti arvokas kalalaji. Lohella on suuri taloudellinen arvo muun muassa Lapin matkailuyrittäjille (Storhammar ym. 2011) ja Itämeren alueen ammattikalastajille. Lohikannan merkittävä pienentyminen merkitsisi haasteita Itämeren ympärillä asuville ihmisille sekä alueen ekologialle.

Atlantin lohi on anadrominen kalalaji, joka kutee joessa makeassa vedessä. Kutu tapahtuu syksyllä, jonka jälkeen mätimunat kehittyvät joen soraikossa talven yli. Kevällä lohien poikaset kuoriutuvat mätimunista ja viettävät joessa 2–3 vuotta. Tämän jälkeen lohien poikasessa tapahtuu fysiologisia muutoksia ja se valmistautuu merivaellukselle. Vaelluspoikasia kutsutaan smolteiksi, jotka uivat alavirtaan vaeltaakseen edelleen merelle syönnöstämään (Koli 2002). Merialueella lohi on yleensä 2–3 vuotta syönnöksellä, jolloin se saavuttaa sukukypsyyden. Lohi kasvaa nopeasti ja painoa voi kertyä yli 20 kg. Syönnösvaelluksellaan lohi saattaa vaeltaa pitkiäkin matkoja ennen paluuta takaisin syntymäjokeensa kudulle. Muutamat yksilöt voivat lähteä uudelle merivaellukselle kudun jälkeen, toisin kuin *Onchorhynchus*-suvun lohilajit, jotka kaikki kuolevat kudun jälkeen (Sandercock 1991). On havaittu, että lohet, jotka kutevat Perämereen laskeviin jokiin vaeltavat pääasiallisesti Itämeren pääaltaalle syönnökselle (Ikonen 2006, Jutila ym. 2009). Maalis-huhtikuussa Perämeren lohikantaa olevat lohet aloittavat kutuvaelluksen Itämeren pääaltaan alueilta Perämerelle, josta jatkavat kotijokeensa kesäkuun aikana (Koljonen 2005, Siira ym. 2009).

Vaelluskaloja tutkitaan monilla merkintätavoilla. Carlin-merkintä on yleisesti käytetty vaelluskalojen tutkimuksissa, jossa rauta- tai muovilankainen kalayksilökohtainen merkki lävistetään kalan selkälihakseen (Anonyymi 2014a). Merkkipalautukset ovat riippuvaisia kalastuksen määrästä ja jakautumisesta kalojen mahdollisille elinalueille. Carlin-merkintä ei välttämättä anna todellista kuvaa vaelluksista, koska vähemmän kalastettujen alueiden merkkejä ei välttämättä saada talteen (Ikonen 2006).

Kuonomerkintä on nopea ja melko edullinen tapa merkitä kaloja. Tässä menetelmässä kalan kuonoon laitetaan n. 1 mm pitkä teräslanka, jossa on numerokoodi. Menetelmän heikkoutena on huono tunnistettavuus ja merkin heikko palautusprosentti. Muun muassa Alapassi ym. (2003) totesivat vuosina 1998–1999 tehdyssä tutkimuksessa 1- ja 2-vuotiailla lohienpoikasilla kuonomerkkien palautusten olleen vain 1.6–4.9 %.

Radio- ja ultratelemetryn ovat tutkimusmenetelmiä, joita käytetään myös kalojen vaellustutkimuksissa ja liikkeiden seuraamisessa (Keskinen 2005). Telemetryn käyttö laajoilla alueilla on kuitenkin vaikeaa radiolähettimen pienen kantaman takia. Yleensä telemetryn käyttö rajoittuu pieniin järviin, merenlahtiin tai jokisuihin.

Satelliittipaikannusmenetelmässä (Pop-up satellite archival tag, PSATs) kalan selkään kiinnitetään lähetin, jolla voidaan seurata lohien vaellusreittiä erityisesti polaarisisillä alueilla. Lähetin kerää tietoa veden lämpötilasta, syvyydestä, ja valon määrästä. Menetelmän heikkoutena voidaan pitää lähettimen häviämistä tai hajoamista jolloin se ei lähetä tietoja satelliitille (Chittenden ym. 2013).

Edellä mainittujen tavanomaisten merkintätapojen lisäksi erilaiset kemialliset merkkiaineet ovat tuoneet lisämahdollisuuksia eri eläinlajien vaellusten selvittämiseen, kuten esimerkiksi vakaat isotoopit. Luonnosta kerätyistä näytteistä voidaan selvittää eri

alkuaineiden isotooppisuhteet massaspektrometrillä (Fry 2006). Alkuaineiden vakaiden isotooppien suhteet vaihtelevat ympäristössä. Kun eläimen kudoksiin jää alueelle tunnusomainen kemiallinen leima, voidaan eläinten vaelluksista, liikkeistä ja ravinnonkäytöstä saada lisäinformaatiota (Fry 1981, Doucett 1996).

Vakaiden isotooppien avulla tehdyissä tutkimuksissa on tärkeää selvittää tutkimuskysymyksen kannalta sopivin kudos. Kudoksen valintaan vaikuttaa mm. tutkimusajanjakson pituus. Lyhyen ajanjakson tutkimiseen sopivia kudoksia ovat esimerkiksi maksa ja veriplasma, joilla on lyhyt uusiutumisaika (Rubestein & Hobson 2004). Pidemmän ajanjakson tutkimiseen sopivia kudoksia ovat metabolisesti hitaasti reagoivat tai sen muodostumisen jälkeen kokonaan reagoimattomat kudokset kuten sulat, kynnet, karvat ja suomut (Rubestein & Hobson 2004). Näiden kudosten muodostuttua niihin jääneet vaakat isotooppisuhteet eivät enää muutu. Täten ne mahdollistavat pitkienkin vaellusreittien selvittämisen takautuvasti esimerkiksi linnuilla ja kaloilla (Rubestein & Hobson 2004, Sinnatamby ym 2008). Tässä tutkimuksessa kudoksenäyte tulisi valita niin, että eläimen liikkeistä saataisiin tietoa. Lohen suomuja on helppo kerätä ja reagoimattomuutensa vuoksi vanhoja, arkistoituja suomunäytteitä voidaan jälkepäin hyödyntää isotooppitutkimuksessa. Lisäksi suomun isotooppileimat kuvastavat pitkähköä ajanjaksoa vietetyssä elinympäristössä verrattuna muihin kudoksiin (Rubestein & Hobson 2004, Sinnatamby ym. 2008).

Vakaiden isotooppien käytöllä tutkimusmenetelmänä (stable isotope analysis, SIA) on mahdollista saada lisätietoa Itämeren lohen vaellusreiteistä ja syönnösalueista. Lohen vaeltaessa syntymäjoesta syönnösalueille jää suomun alueelle tunnusomainen isotooppileima. Jos eri alueilla on eroja isotooppikoostumuksessa, isotooppileimat mahdollistavat syntymäjokeen nousseen lohen vaelluksen selvittämisen syönnösalueelleen.

Vaelluksen tutkiminen suomun hiilen ja typen isotooppiarvojen ( $\delta^{13}\text{C}$  ja  $\delta^{15}\text{N}$ ) avulla mahdollistaa näytteiden keräämisen myös kaloja tappamatta tai vahingoittamatta. Suomun etuna on myös nopea ja helppo tapa kerätä näytteitä. Näytteiden ottamisen jälkeen lohen voi vapauttaa takaisin elinympäristöönsä. Tämä on erityisen tärkeää tutkittaessa uhanalaista villiä alkuperää olevia lohia. Aiemmissä tutkimuksissa on todettu, että suomun hiilen ja typen isotooppisuhteilla voidaan selvittää lohikalojen vaellusreittejä (Linnansaari ym. 2010, Ramsay ym. 2012, Tornainen ym. 2013).

Johtuen suomun rakenteesta, suomun hiilen ja typen isotoopeilla ( $\delta^{13}\text{C}$  ja  $\delta^{15}\text{N}$ ) voidaan tutkia kalojen vaellusreittejä. (Rubestein & Hobson 2004). Suomi koostuu pääosin kahdesta osasta, ylemmästä fosfaattimineraalikerroksesta sekä alemmasta kollageenikerroksesta (Fouda 1979, Zylberberg & Nicols 1982, Zylberberg 2004, Hutchinson & Trueman 2006). Suomun rakenteen vuoksi on käytetty happohuuhtelua, joka poistaa suomusta epäorgaanista hiiltä (mineraalit) vaikuttamatta orgaaniseen hiileen (kollageeni) (Bunn ym. 1995). Epäorgaanisen hiilen isotooppileima voi olla erilainen verrattuna suomun kollageenin vastaavaan (Perga & Gerdeaux 2003). Poistamalla epäorgaaninen hiili voidaan välttää sen aiheuttama virhe isotooppianalyyseissä.

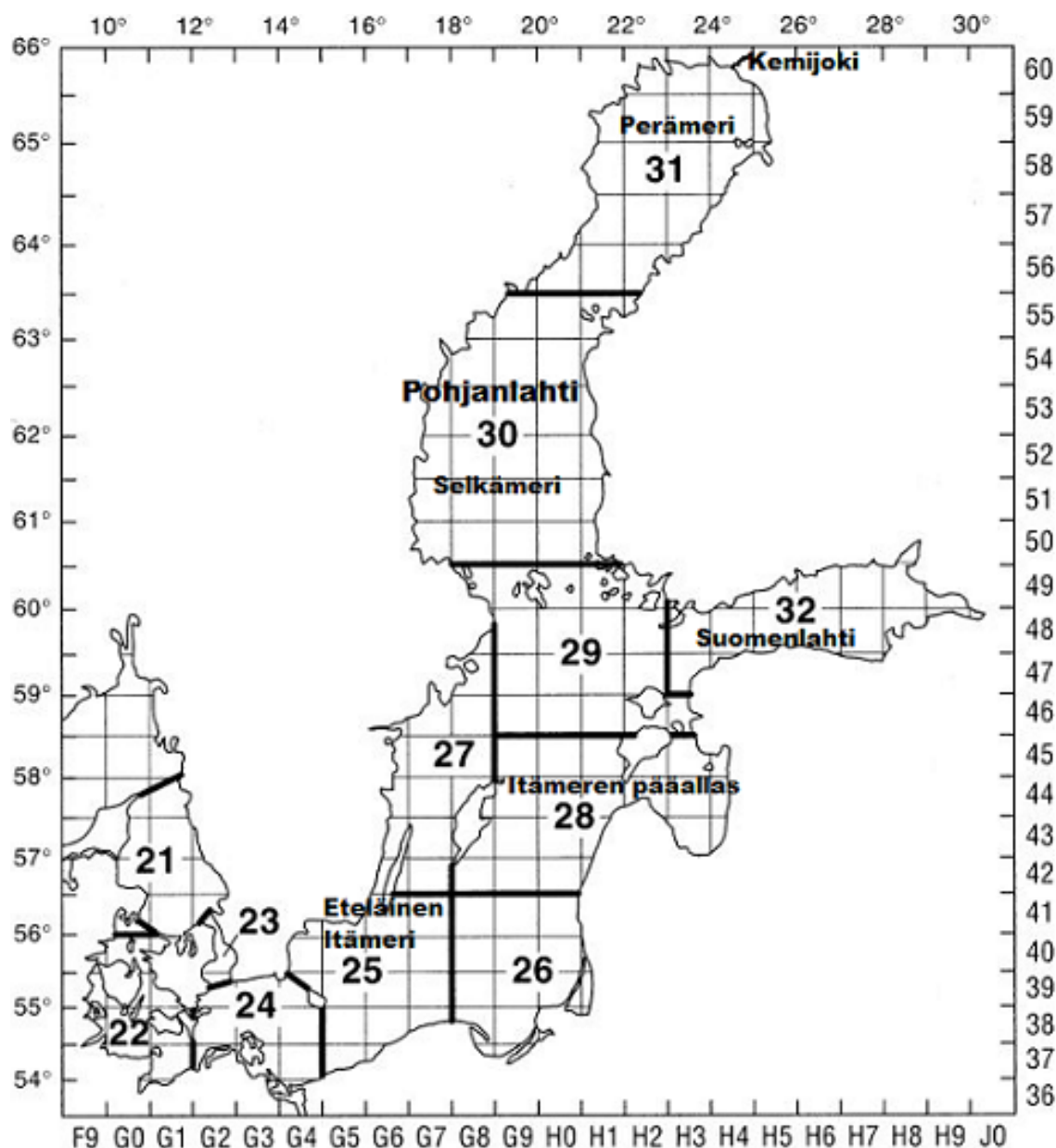
Tämän tutkimuksen tarkoitus on selvittää yleisesti suomujen isotooppianalyyseissä käytettävän suolahappohuuhtelun (1,2N HCl) vaikutusta lohen suomun  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin. Osana tutkimusta selvitetään, voidaanko suomun hiilen ja typen isotooppisuhteilla korvata lihasnäytteet isotooppitutkimuksessa. Lisäksi tämän tutkimuksen tarkoituksena on myös selvittää lohen suomun hiilen ja typen vakaiden isotooppisuhteiden analysoinnilla Kemijokeen nousseiden lohien viimeisiä syönnösalueita Itämeressä.

### 3. AINEISTO JA MENETELMÄT

Itämeri sijaitsee yhdeksän valtion ympäröimänä Euroopassa, jonka valuma-alueeseen kuuluu noin 80 jokea. Itämeri on yksi maailman suurimmista ja tutkituimmista murtovesialtaista (Lass & Matthäus 2008). Itämeren suolapitoisuus vaihtelee pohjois-etelä suunnassa noin yhdestä kymmeneen promillea, joka on yksi Itämeren tunnusomaisimpia piirteitä (Voipio 1981, Furman ym. 1998).

Itämeri on matala, keskisyvyyden ollessa vain 59 metriä. Itämeren syvimpiä kohtia ovat Landsortin (459 m) ja Gotlannin syvänteet (239 m). Itämeren pääaltaalla sijaitsevan Gotlannin syvänteen ravinteikas, mutta vähähappinen alusvesi vaihtuu keskimäärin vain kerran 15:sta vuodessa, kun Tanskan salmien läpi pääsee uutta hapekasta ja suolaista merivettä (Furman ym. 1998). Pohjanmeren suolaisella merivedellä on suuri vaikutus Itämeren eliöiden levinneisyyteen. Pohjoisessa Itämeren lajisto on sopeutunut elämään makeassa vedessä, kun taas etelässä lajisto saa enemmän merellisiä piirteitä. Yksi Itämeren erikoisuuksista muihin meriin nähden on talveksi muodostuva jääkansi. Varsinaisella Itämerellä jääkansi kestää noin kuukauden, kun Perämerellä jääkansi voi olla kuusi kuukautta (Furman 1998).

Itämeri on jaettu Kansainvälisen Merentutkimusneuvoston (International Council of Explorations of the Sea, ICES) mukaiseen aluejakoon, jotka ovat numeroitu 21–32. Tässä tutkimuksessa käytetään myös ICES -aluejakoa, koska Itämeren kaikki kalasaaliit tilastoidaan tämän jaon mukaisesti, niin myös lohet. Tutkimuksessa keskitytään alueisiin 25 (eteläinen Itämeri), 28 (Itämeren pääallas), 30 (Selkämeri) ja 32 (Suomenlahti), koska ne ovat Itämeren lohien merkittävimmät syönnösalueet (Ikonen 2006). Tutkimusjokena on Perämeren pohjukkaan laskeva, 550 km pitkä, mutta padottu Kemijoki. Joen patoamisen jälkeenkin lohet nousevat edelleen Kemijoen suulle, Isohaaran voimalapadon alle (Anonyymi 2014b) (Kuva 1).



Kuva 1. Itämeri Kansainvälisen Merentutkimusneuvoston aluejakona esitettynä sekä Kemijoki.

### 3.1. Suomu- ja lihasaineisto

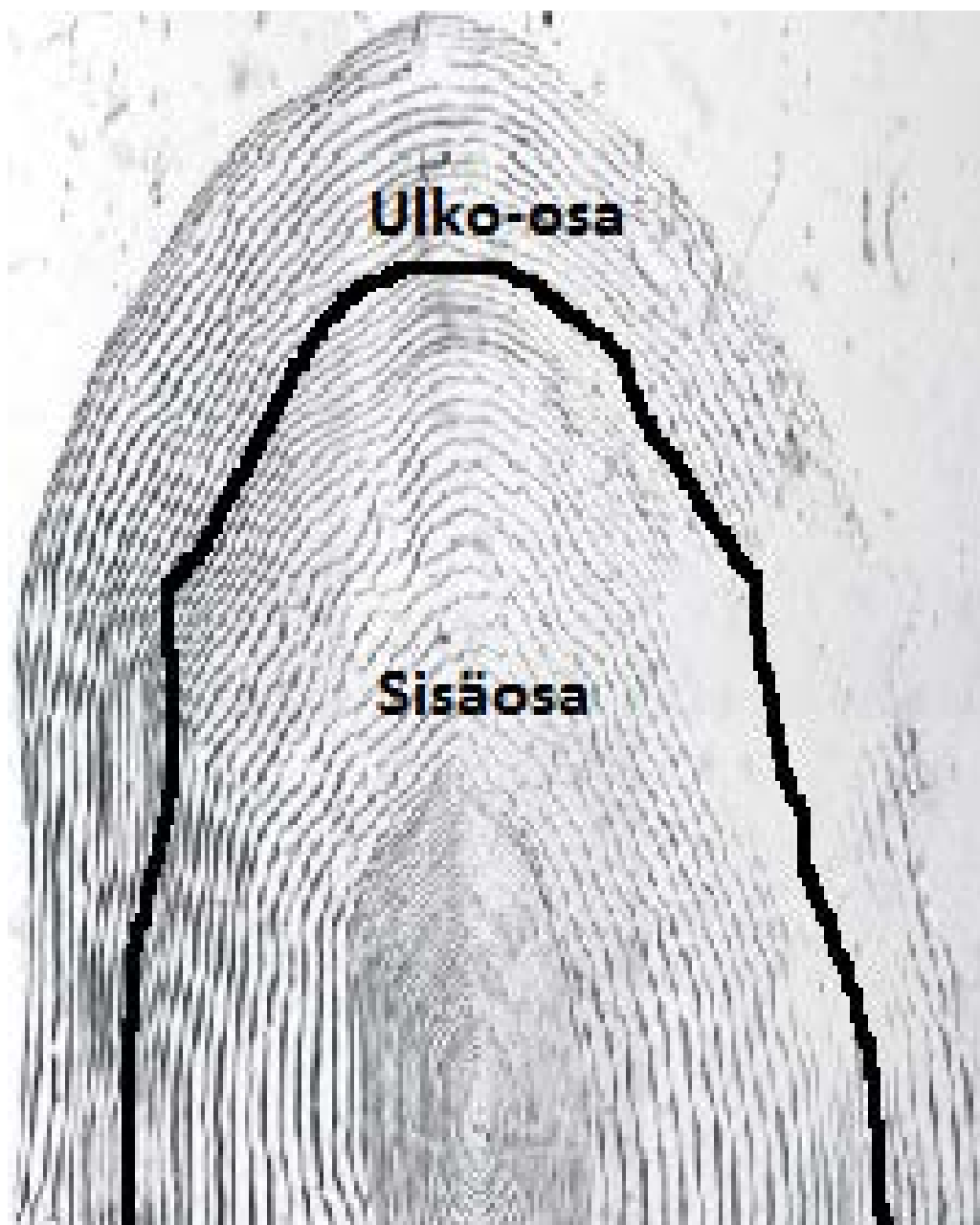
Kemijoen suulta pyydystettiin yksitoista nousulohta kesä- ja elokuussa vuonna 2004. Vertailuaineistoksi näiden lohien viimeisen syönnösalueen arvioimiseksi oli kerätty lohien suomuja Itämeren eri syönnösalueilta: eteläinen Itämeri (n=82), Itämeren pääallas (n=58), Suomenlahti (n=55) ja Selkämeri (n=31). Syönnösalueilta lohet on pyydetty marras-joulukuussa (2006 ja 2007) sekä maaliskuussa (2007 ja 2008). HappohuuhTELUN vaikutuksen selvittämiseksi suomun isotooppikoostumukseen käytettiin 34:n syönnösvaelluslohen ja Kemijoen lohien suomuja.

Tässä tutkimuksessa käytetyt lihaksen  $d^{13}C$  isotooppiarvot korjattiin matemaattisesti ajon jälkeen niiden sisältämien hiilen ja typen osuuksien perusteella (Kiljunen ym. 2006) vastaamaan rasvattoman kudoksen arvoja.



### 3.2. Suomujen esikäsittely

Kaikista suomuista määritettiin viimeisen merivuoden kasvuyöhyke (ulko-osa) mikrofilmin lukulaitteen avulla (Kuva 2). Tämän jälkeen somu laitettiin mikroskoopin alle preparointi- ja peitinlasin väliin. Suomun viimeisen merivuoden kasvuyöhykettä kuvaava ulko-osa leikattiin skalpellilla peitinlasin reunaan apuna käyttäen. Saman lohiesilön suomuja leikattiin 1–6 kpl, jotta suomunäytteen massa olisi happohuuhtelun jälkeen riittävä ( $> 0.2$  mg) tarvittavan tulostarkkuuden saavuttamiseksi isotooppianalyysissä. Jokaisen leikatun suomun jälkeen preparointilasi, peitinlasi ja skalpelli puhdistettiin liinalla, joka oli kostutettu 90 % etanolilla. Leikkauksen jälkeen suomun sisä- ja ulko-osa laitettiin erilleen numeroituihin Eppendorf -putkiin odottamaan jatkokäsittelyä.



Kuva 2. Lohen somu. Musta rajausta osoittaa rajaa, jota pitkin somu on leikattu kahteen eri osaan: ulko-osaan (viimeinen kasvuyöhyke) ja sisäosaan (aiemmat merivuodet sekä keskimmäisenä hitaan kasvun jokipoikasvaihe).

Suomun sisä- ja ulko-osa suolahappohuuhdeltiin (1,2N HCl) petrimaljoissa. Maljat asetettiin neljän riviin. Jokaisessa rivissä oli rinnakkain seitsemän petrimaljaa. Suomun sisä- ja ulko-osia happohuuhdeltiin 2 minuuttia jokaisen rivin ensimmäisessä maljassa. Tämän jälkeen suomun osat poimittiin pinseteillä ja laitettiin seuraavaan petrimaljaan, jossa oli ionivaihdettua vettä. Tämä tehtiin kuudessa eri petrimaljassa peräkkäin, jolloin suolahappo saatiin huuhdeltua pois. Jotta suomunäytteet eivät olisi sekoittuneet keskenään, tarkastettiin petrimaljat jokaisen huuhtelukerran jälkeen, että ne ovat tyhjästä suomuista. Ionivaihdettu vesi vaihdettiin petrimaljoissa, joka viidennen näytteen jälkeen. Huuhtelun jälkeen suomunäytteitä kuivattiin uunissa (60 °C) vuorokauden ajan.

Kuivauksen jälkeen lohien suomun sisä- ja ulko-osia punnittiin tinakuppeihin happohuuhdeltuina sekä käsittelemättöminä. Tinakupit taiteltiin pinseteillä pieniksi palloiksi isotooppianalyysia varten. Itämeren eri merialueilta pyydettyjen lohien happohuuhdeltujen suomujen ulko-osien kanssa toimittiin samoin.

### 3.3. Vakaiden isotooppien analyysi

Isotooppisuhteita kuvataan  $\delta$ -arvolla tuhannesosan (‰) erolla standardiin (esim.  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ).

$$\delta X = [(R_{\text{näyte}}/R_{\text{standardi}}) - 1] \times 10^3$$

, jossa

$$X = {}^{13}\text{C} \text{ tai } {}^{15}\text{N},$$

$$R = \delta^{12}\text{C}:\delta^{13}\text{C} \text{ tai } \delta^{14}\text{N}:\delta^{15}\text{N}$$

suuremmat  $\delta$ -arvot kuvaavat, että raskasta isotooppia on enemmän suhteessa kevyeen isotooppiin. Standardien arvot, joita vastaan näytteiden arvoja verrataan, ovat hiillelle Vienna PeeDee Belemniiitti (VPDB) ja typelle ilmakehän typpi ( $\text{N}_2$ ) (Fry 2006).

Työstandardina käytettiin hauen (*Esox lucius*) kuivatusta lihaksesta tehtyä homogenoitua jauhetta, jonka hiilen ja typen isotooppisuhteiden arvot tiedettiin. Standardit punnittiin viidessä eri painoryhmässä, jolla alkuaineanalyysointori korjasi ajon aikana tapahtunutta  $\delta$ -arvojen muutosta (0,2; 0,4; 0,6; 0,7 ja 1,0 mg). Standardien punnitustarkkuus vaihteli  $\pm 0,010$  mg. Vakaiden isotooppien analyysi suoritettiin Jyväskylän yliopiston Bio- ja ympäristötieteiden laitoksen isotooppilaboratoriossa. Isotooppien suhteet mitattiin Thermo Finnigan DELTA<sup>plus</sup> Advantage massaspektrometrillä yhdistettynä FlashEA 1112 alkuaineanalyysointoriin. Lisäksi isotooppiarvot korjattiin ajojen jälkeen näytemassan vaihtelun sekä analyysiajon aikana tapahtuvan muutoksen vuoksi. Isotooppiajojen standardien keskihajonnat olivat 0,19 ‰ hiilellä ja 0,15 ‰ typellä.

### 3.4. Tilastolliset testit

Kaikissa käsittelemättömien ja happohuuhdeltujen suomujen osien hiilen ja typen isotooppiarvojen vertailuissa käytettiin parametritonta Kruskal-Wallis -testiä, koska Shapiro-Wilk -testin mukaan aineistot eivät olleet jakautuneet normaalisti ja Levenen-testin mukaan varianssien yhtäsuuruus ei pätenyt. Myöskään muunnokset eivät tuottaneet parametrisen testin oletusvaatimuksia. Parivertailut tehtiin Bonferronikorjatulla Wilcoxon:n testillä, mikäli ryhmien välillä havaittiin tilastollisesti merkitseviä eroja. Vastaavilla testeillä testattiin myös lihaksen ja suomun välisiä eroja.

Käsitlemättömän ja happohuhdellun suomun osien  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen riippuvuutta toisiinsa tarkasteltiin lineaarisella regressiolla. Suomun eri osien ja lihaksen riippuvuutta tarkasteltiin myös lineaarisella regressiolla. Lihasnäytteen korvaamista suomulla tarkasteltiin eroaako regressiosuoran kulmakerroin yhdestä ja leikkauspiste nolasta 95 %:n luottamusvälillä.

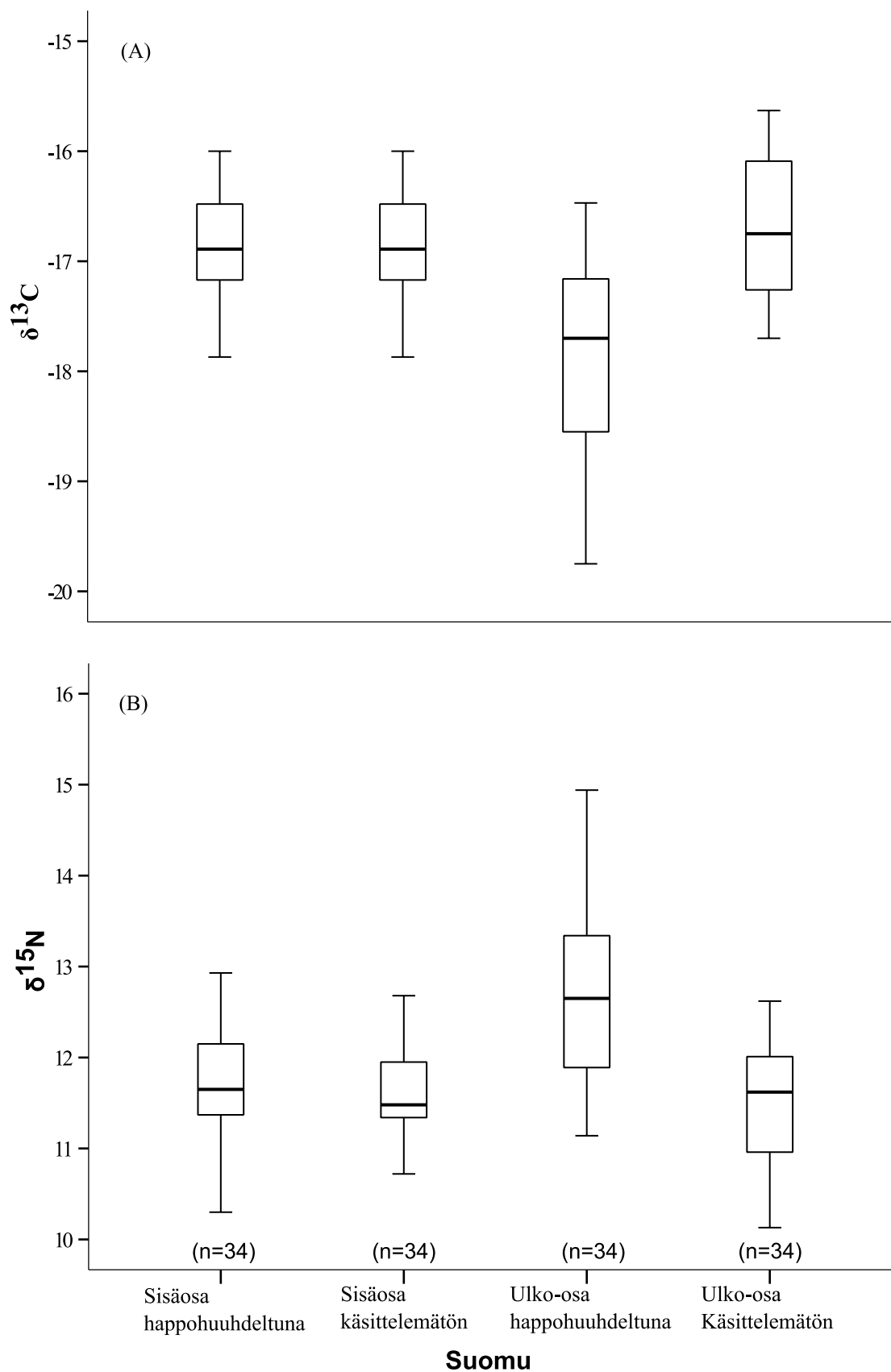
Tässä tutkimuksessa tarkasteltiin happohuhdeltujen lohien suomujen isotooppien eroja neljältä (ICES-alueet: 25, 28, 30 ja 30) syönnösalueelta vuosilta 2006 ja 2007. Shapiro-Wilk -testin mukaan aineisto ei ollut normaalisti jakautunut eikä Levenen testillä varianssien yhtäsuuruus toteutunut. Tämän takia vuosien välisiä eroja alueiden kesken tarkasteltiin parametrittömällä Kruskal-Wallis -testillä. Mikäli ryhmien välillä havaittiin tilastollisesti merkitseviä eroja, tehtiin parivertailut Bonferronikorjatulla Wilcoxon:n testillä. Kemijokeen nousseiden lohien ja syönnösalueilla olleiden lohien suomun happohuhdeltujen ulko-osien  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen perusteella tapahtuvaan viimeisen syönnösalueen arviointiin käytettiin erotteluanalyysiä. Kaikki tilastolliset testit suoritettiin Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS Statistics 20) -ohjelmalla (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## 4. TULOKSET

### 4.1. Happokäsittelyn vaikutus suomun $\delta^{13}\text{C}$ - ja $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin

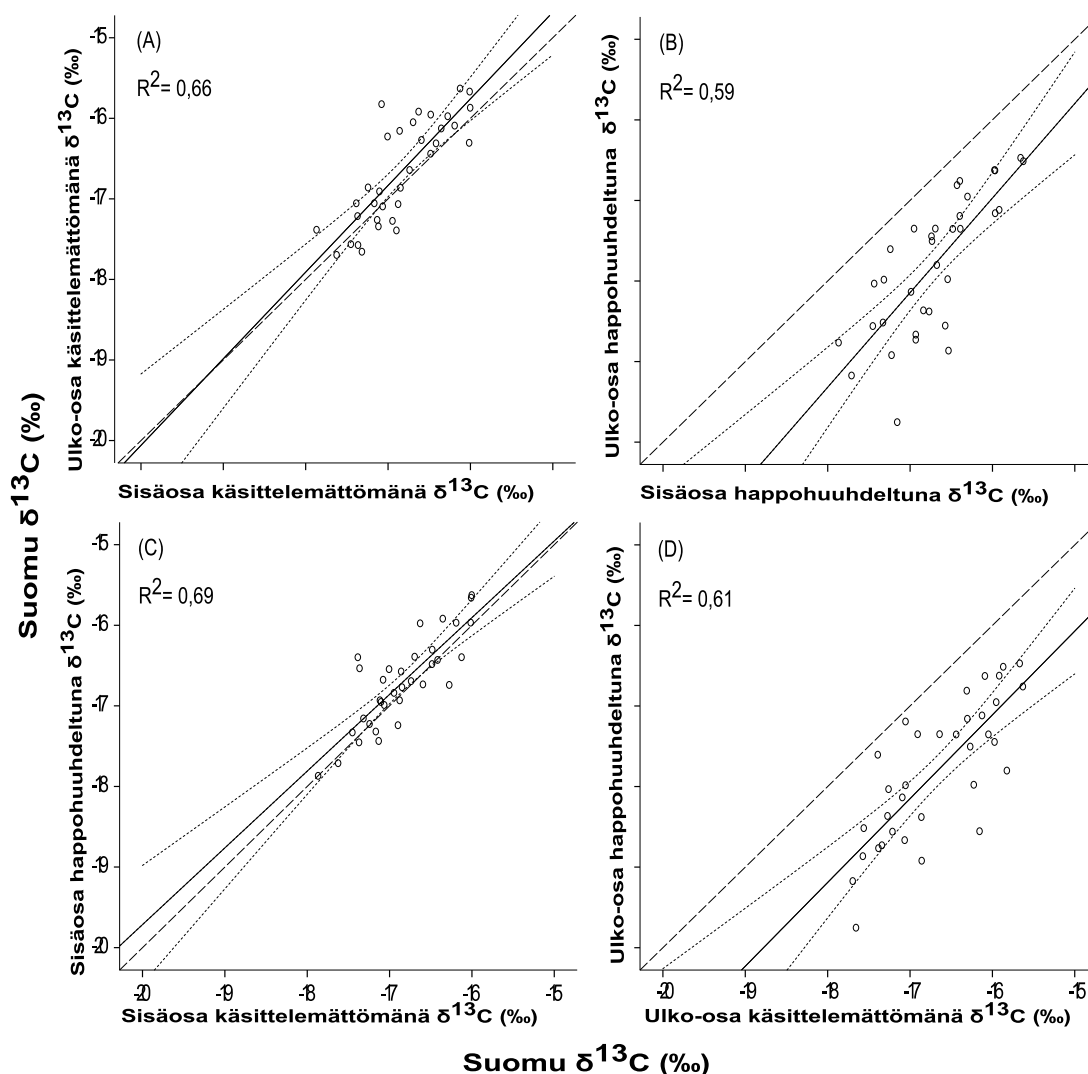
Suomun  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoissa havaittiin tilastollisesti erittäin merkitseviä eroja happohuhdellun ja käsitlemättömän välillä (Kruskal-Wallis,  $H=35,654$ ,  $df=3$ ,  $p<0,001$ ). Suurin ero vertailuparien välillä oli suomun käsitlemättömällä ulko-osalla ja happohuhdellulla ulko-osalla, jossa käsitlemättömien suomujen keskiarvo oli 1,1 ‰-yksikköä suurempi kuin happohuhdeltujen ulko-osien (Wilcoxon,  $Z=-5,086$ ,  $n=34$ ,  $p<0,001$ ). Suomun happohuhdellun sisäosan  $\delta^{13}\text{C}$ -keskiarvon ero oli 1,09 ‰-yksikköä suurempi kuin suomun happohuhdellun ulko-osan (Wilcoxon,  $Z=-5,086$ ,  $n=34$ ,  $p<0,001$ ). Pienin ero käsittelyjen välillä oli suomun sisäosalla, jonka käsitlemätön  $\delta^{13}\text{C}$  -keskiarvo oli 0,14 ‰-yksikköä pienempi kuin happohuhdellun suomun sisäosan (Wilcoxon,  $Z=-2,334$ ,  $n=34$ ,  $p=0,020$ ). Suomun käsitlemättömän sisäosan keskiarvo oli 0,18 ‰-yksikköä pienempi kuin suomun käsitlemättömän ulko-osan (Wilcoxon,  $Z=-2,385$ ,  $n=34$ ,  $p=0,017$ ) (Kuva 3).

Suomun  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoissa eri käsittelyjen välillä oli niin ikään tilastollisesti erittäin merkitseviä eroja (Kruskal-Wallis,  $H=30,338$ ,  $df=3$ ,  $p<0,001$ ). Suurin ero vertailuparien välillä oli suomun happohuhdellulla ja käsitlemättömällä ulko-osalla, jossa happohuhdellun suomun keskiarvo oli 1,1 ‰-yksikköä suurempi kuin suomun käsitlemättömän ulko-osan (Wilcoxon,  $Z=-4,402$ ,  $n=34$ ,  $p<0,001$ ). Suomun happohuhdellun ulko-osan keskiarvo oli 1,0 ‰-yksikköä suurempi kuin suomun happohuhdellun sisäosan (Wilcoxon,  $Z=-4,930$ ,  $n=34$ ,  $p<0,001$ ) (Kuva 3).



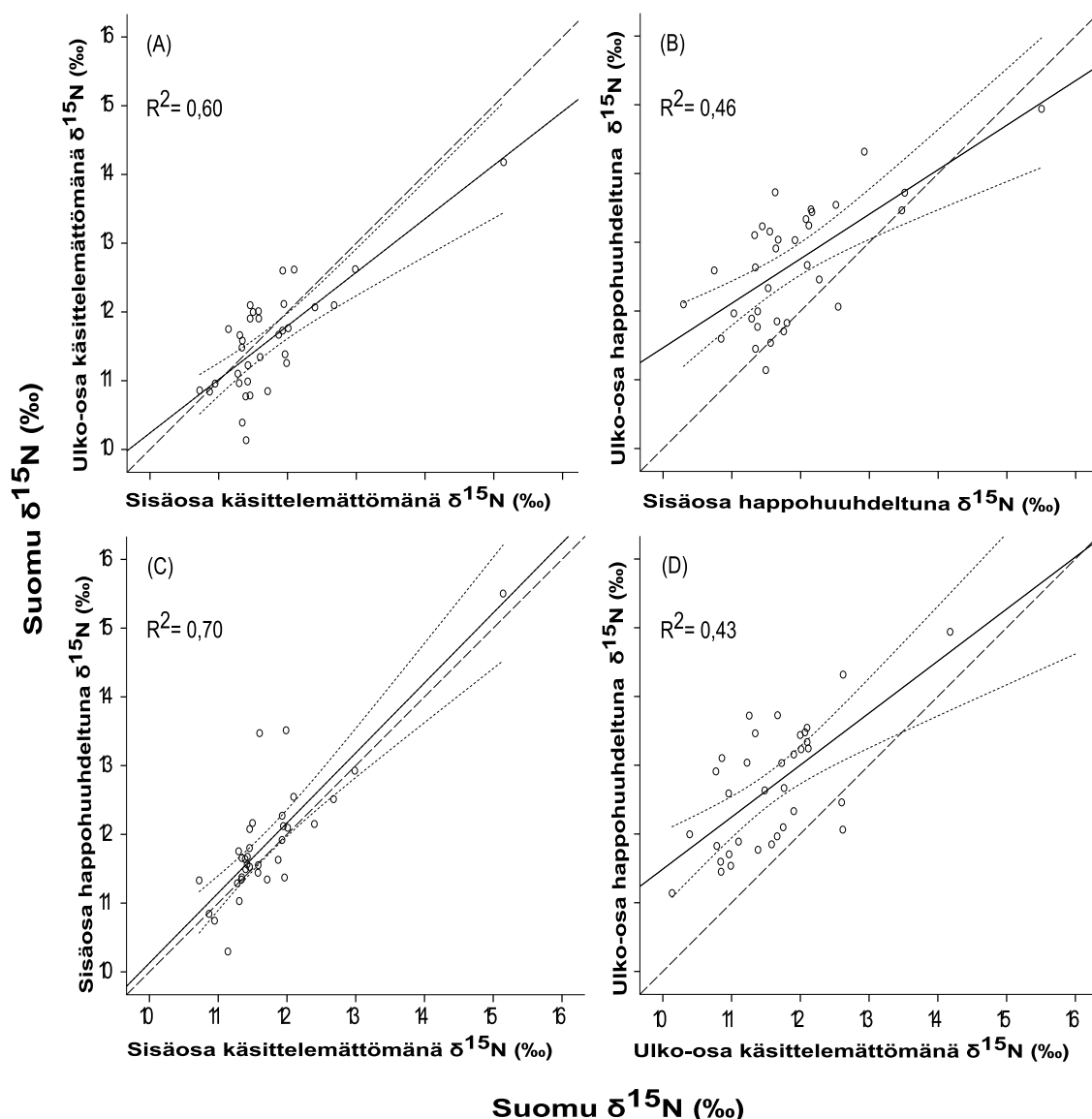
Kuva 3. Suomesta mitatut  $\delta^{13}\text{C}$  ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot, kun sisä- ja ulko-osat ovat happohuuhdeltuja tai käsittelemättömiä. Pystyjanat ovat pienin ja suurin arvo. Viiksilaatikoiden poikkiviiva on mediaani sekä ylä- ja alaosat kuvaavat 25 ja 75 prosentin luottavälejä. Suluissa havaintojen lukumäärä.

Suomun kaikkien käsittelyjen välillä havaittiin tilastollisesti erittäin merkitsevä positiivinen riippuvuus  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoissa (Lineaarinen regressio:  $n=34$ ,  $p<0,001$ ,  $R^2<0,59$ ) (Kuvat 4A-D). Käsittelyjen jälkeen regressiosuorien kulmakertoimet eivät eronneet käsittelemättömistä (kulmakerroin = 1) eivätkä y-akselin leikkauspisteet eronneet nollassa ( $y = 0$ ) (Kuvat 4A-D).



Kuva 4. Suomun sisä- ja ulko-osien  $\delta^{13}\text{C}$ -arvojen riippuvuudet ja poikkeamat käsittelyjen välillä. Hajontakuvioissa on vertailtu (A) sisä- ja ulko-osa käsittelemättömänä, (B) sisä- ja ulko-osa happohuuhdeltuna, (C) sisäosa käsittelemättömänä ja happohuuhdeltuna ja (D) ulko-osa käsittelemättömänä ja happohuuhdeltuna.  $R^2$ -arvo kuvaa pistejoukkoon sovitetun lineaarisen mallin selitysastetta. Katkoviiva kuvaa suomun sisä- ja ulko-osan 1:1 suhdetta, jossa y- ja x-akselien leikkauspiste on nolla ( $x=0$ ,  $y=0$ ).

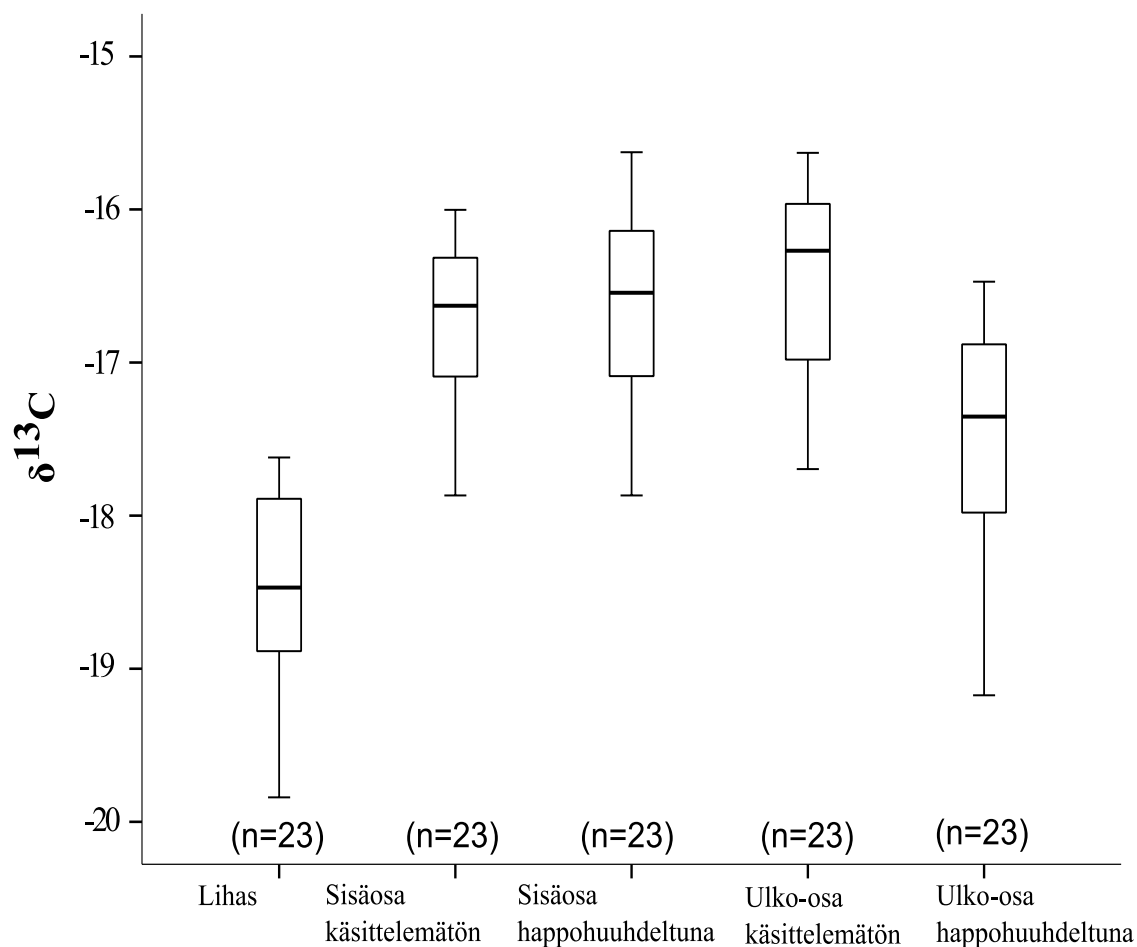
Suomun kaikkien käsittelyjen välillä havaittiin tilastollisesti erittäin merkitsevä positiivinen riippuvuus  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoissa (Lineaarinen regressio:  $n=34$ ,  $p<0,001$ ,  $R^2<0,43$ ) (Kuvat 5A-D). Käsittelyjen jälkeen regressiosuorien kulmakertoimet eivät eronneet käsittelemättömistä (kulmakerroin=1) (Kuvat 5A-D). Suomun käsittelemättömään sisä- ja ulko-osaan sekä suomun happohuuhdellun sisä- ja ulko-osaan sovitettujen regressiosuorien leikkauspisteet erosivat nollassa (Kuvat 5B ja D).



Kuva 5. Suomen sisä- ja ulko-osien  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen riippuvuudet ja poikkeamat käsittelyjen välillä. Hajontakuvioissa on vertailtu (A) sisä- ja ulko-osa käsittelemättömänä, (B) sisä- ja ulko-osa happohuuhdeltuna, (C) sisäosa käsittelemättömänä ja happohuuhdeltuna ja (D) ulko-osa käsittelemättömänä ja happohuuhdeltuna.  $R^2$ -arvo kuvaa pistejoukkoon sovitetun lineaarisen mallin selitysstastetta. Katkoviiva kuvaa suomun sisä- ja ulko-osan 1:1 suhdetta, jossa y- ja x-akselien leikkauspiste on nolla ( $x=0, y=0$ ).

#### 4.2. Lihaksen ja suomun isotooppisuhteiden $\delta^{13}\text{C}$ -arvojen vertailu

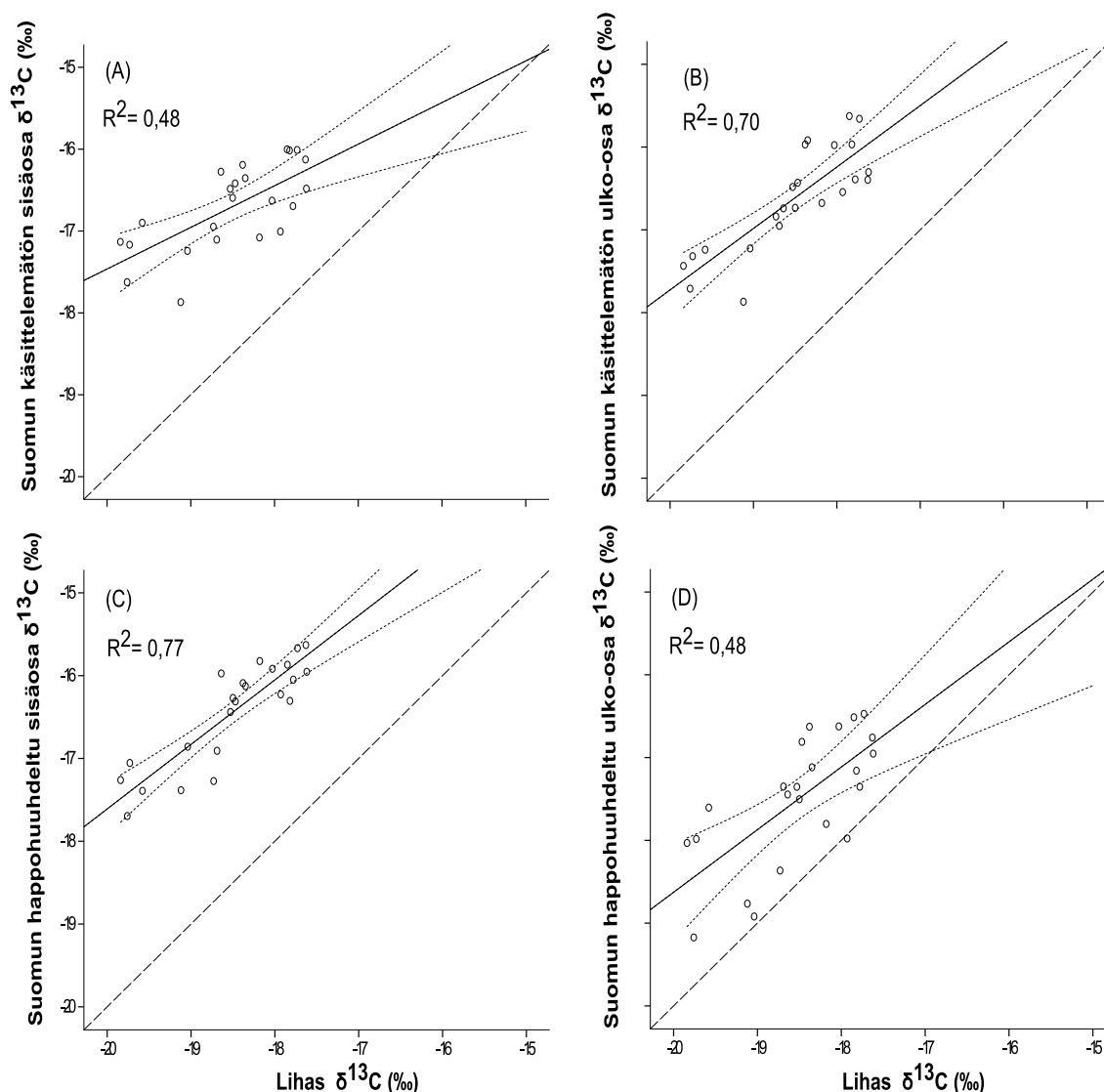
Lihaksen ja suomun  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoilla todettiin eri ryhmien välillä tilastollisesti erittäin merkitseviä eroja (Kruskal-Wallis,  $H=63,228$ ,  $df=4$ ,  $p<0,001$ ) (Kuva 6). Pienin ero oli suomun happohuuhdellulla ulko-osalla ja lihaksella, jossa suomun keskiarvo oli 1,01 ‰-yksikköä suurempi kuin lihaksella (Wilcoxon,  $Z=-4,167$ ,  $n=23$ ,  $p<0,001$ ). Suomun käsittelemättömän sisäosan keskiarvon ero oli 1,81 ‰-yksikköä suurempi kuin lihaksen ( $Z=-4,197$ ,  $n=23$ ,  $p<0,001$ ). Suomun happohuuhdellun sisäosan keskiarvo oli 1,89 ‰-yksikköä suurempi kuin lihaksen ( $Z=-4,197$ ,  $n=23$ ,  $p<0,001$ ). Suurin ero parivertailujen välillä oli suomun käsittelemättömällä ulko-osalla ja lihaksella, jossa suomun keskiarvo oli 2,06 ‰-yksikköä suurempi kuin lihaksella ( $Z=-4,197$ ,  $n=23$ ,  $p<0,001$ ) (Kuva 6).



### Lihäs ja suomu

Kuva 6. Lohen lihaksesta ja suomun eri osista mitatut  $\delta^{13}\text{C}$ -arvot eri käsittelyissä. Pystyjanat ovat pienin ja suurin arvo. Viiksilaatikoiden poikkiviiva on mediaani sekä ylä- ja alaosat kuvaavat 25 ja 75 prosentin luottavälejä. Suluissa havaintojen lukumäärä.

Kaikissa lihaksen ja suomun käsittelyjen välisissä  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoissa todettiin tilastollisesti erittäin merkitsevä positiivinen riippuvuus (Lineaarinen regressio,  $n=23$ ,  $p<0,001$ ,  $R^2<0,48$ ) (Kuvat 7A-D). Vain lihaksen ja happohuuhdellun suomun ulko-osan riippuvuutta kuvaavan mallin kulmakerroin ei eronnut yhdestä (Kuva 7D). Lisäksi vain lihaksen ja käsittelemättömän suomun sisäosan välille sovitetun lineaarisen regressioon leikkauspiste erosi nollostä (Kuvat 7A).

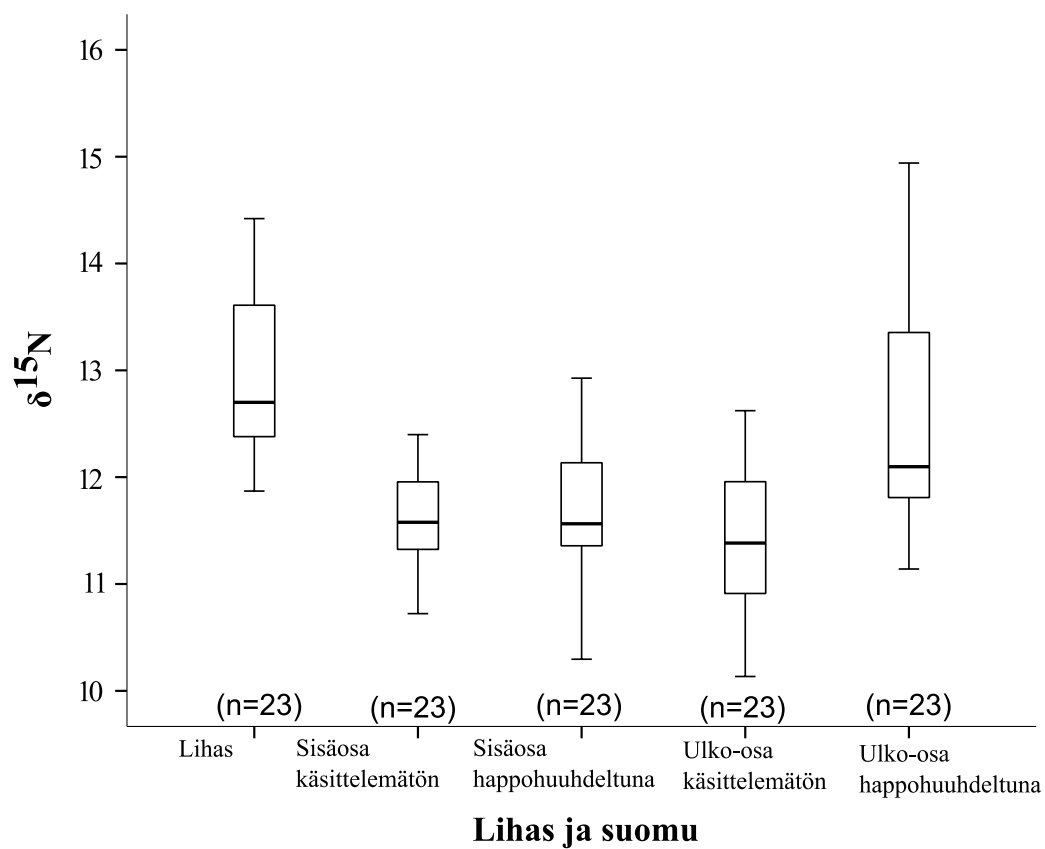
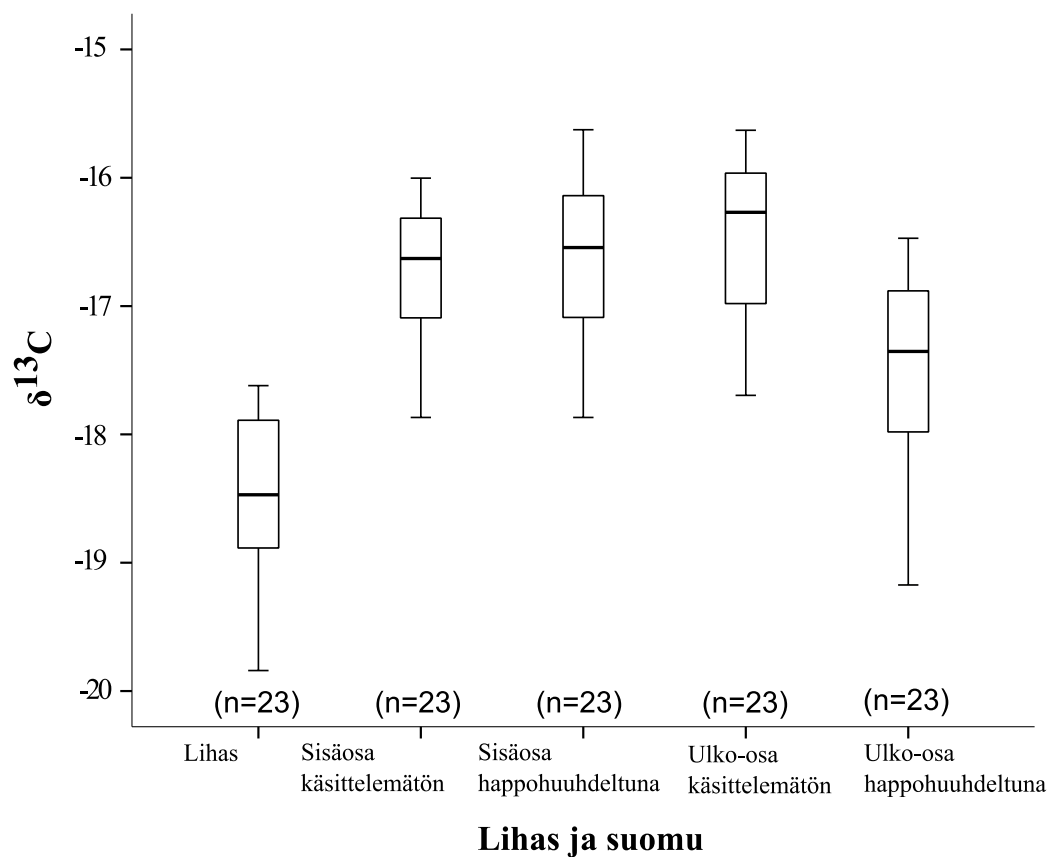


Kuva 7. Suomen ulko-osan ja lohen rasvakorjatun lihaksen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvojen riippuvuudet ja poikkeamat käsittelyjen välillä. Käsittelemätön ja happohuuhdeltu somu on vertailtu saman yksilön lihaksen nähdän. (A) Suomen käsittelemätön sisäosa ja (B) somun käsittelemätön ulko-osa. (C) Suomen happohuuhdeltu sisäosa ja (D) somun happohuuhdeltu ulko-osa.  $R^2$ -arvo kuvaa pistejoukkoon sovitetun lineaarisen mallin selitysastetta. Katkoviiva kuvaa somun sisä- ja ulko-osan 1:1 suhdetta, jossa y- ja x-akselien leikkauspiste on nolla ( $x=0$ ,  $y=0$ ).

#### 4.3. Lihaksen ja somun isotooppisuhteiden $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen vertailu

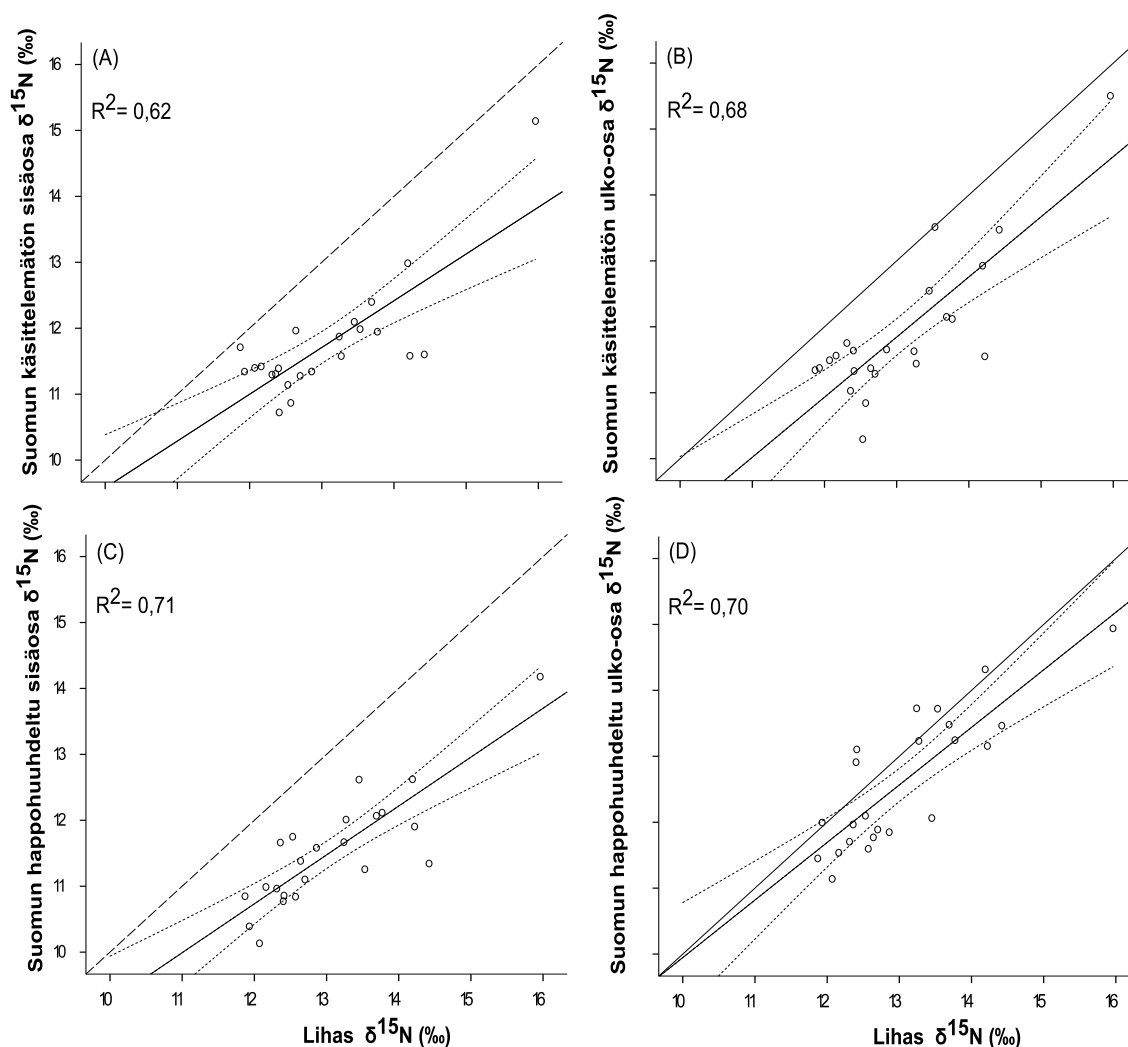
Lihaksen ja somun  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen välillä todettiin eri käsittelyjen välillä tilastollisesti erittäin merkitseviä eroja (Kruskal-Wallis,  $H=39,033$ ,  $df=4$ ,  $p<0,001$ ) (Kuva 8). Pienin ero parivertailujen välillä oli somun happohuuhdellulla ulko-osalla, jossa somun keskiarvo oli 0,44 ‰-yksikköä pienempi kuin lihaksella (Wilcoxon,  $Z=-4,197$ ,  $n=23$ ,  $p<0,001$ ). Suomen happohuuhdellun sisäosan keskiarvo oli 1,15 ‰-yksikköä pienempi kuin lihaksen ( $Z=-4,197$ ,  $n=23$ ,  $p<0,001$ ). Suomen käsittelemättömän sisäosan keskiarvon ero oli 1,31 ‰-yksikköä pienempi kuin lihaksen ( $Z=-4,197$ ,  $n=23$ ,  $p<0,001$ ). Suurin ero parivertailujen välillä oli somun käsittelemättömällä ulko-osalla, jonka keskiarvo oli 1,54 ‰-yksikköä suurempi kuin lihaksella ( $Z=-2,920$ ,  $n=23$ ,  $p=0,004$ ) (Kuva 8).





Kuva 8. Lohen lihaksesta ja suomusta mitatut  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot eri käsittelyissä. Pystyjanat ovat pienin ja suurin arvo. Viiksilaatikoiden poikkiviiva on mediaani sekä ylä- ja alaosat kuvaavat 25 ja 75 prosentin luottavälejä. Suluissa havaintojen lukumäärä.

Kaikissa lihaksen ja suomun käsittelyjen välisissä  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoissa oli tilastollisesti erittäin merkitsevä positiivinen riippuvuus (Lineaarinen regressio:  $n=23$ ,  $p<0,001$ ,  $R^2<0,62$ ) (Kuvat 9A-D). Vain lihaksen ja käsittelemättömän ulko-osan välistä riippuvuutta kuvaavan regressiomallin kulmakerroin erosi yhdestä (Kuvat 9C) sekä vain lihaksen ja käsittelemättömän sisäosan riippuvuutta kuvaavan regressiomallin leikkauspiste erosi nolasta (Kuva 9A).

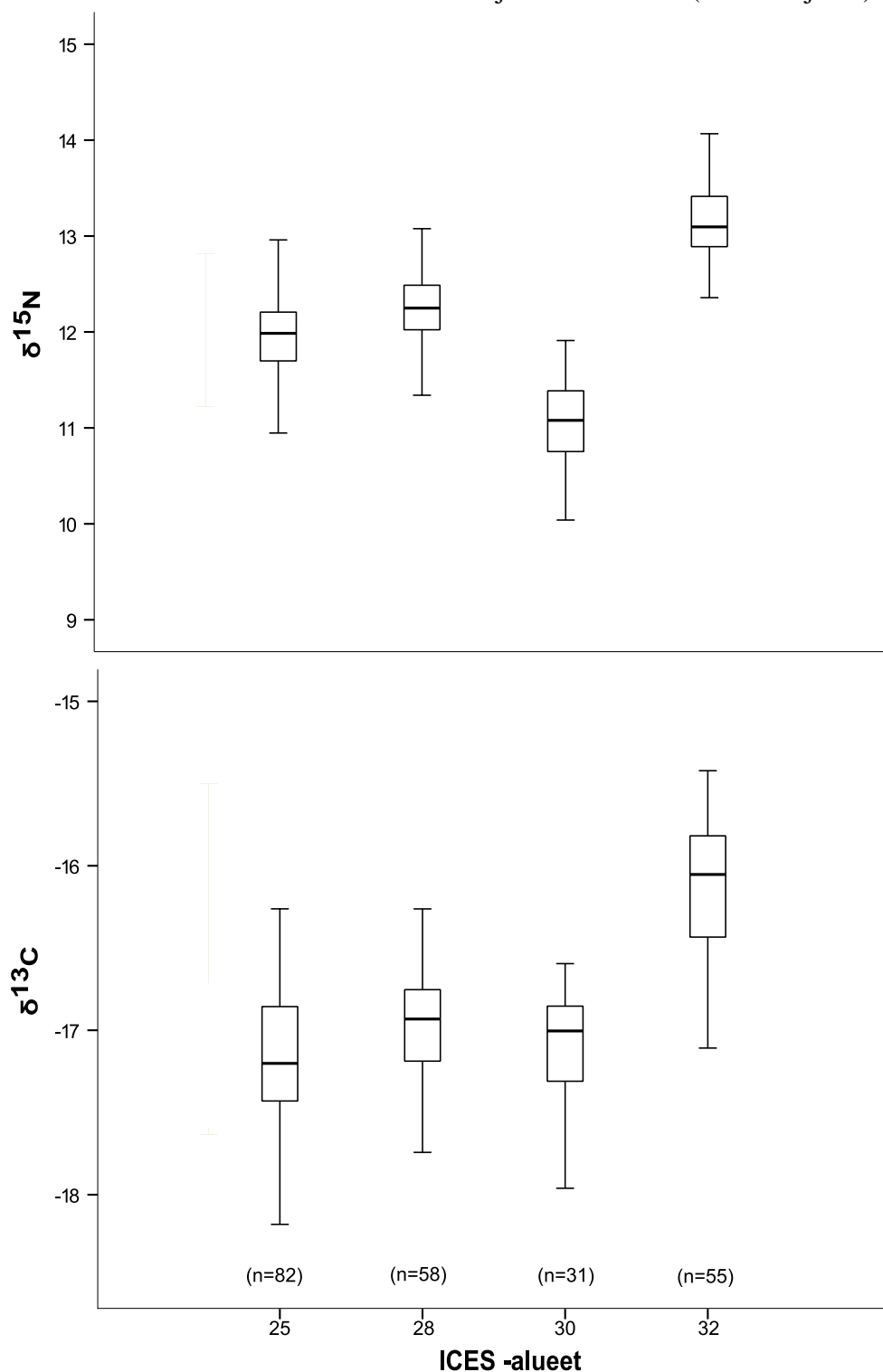


Kuva 9. Suomun ulko-osan ja lohien lihaksen  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen riippuvuus ja poikkeamat käsittelyjen välillä. Käsittelemätön ja happohuuhdeltu somu on vertailtu saman yksilön lihaksen nähden. (A) Suomun käsittelemätön sisäosa ja (B) suomun käsittelemätön ulko-osa. (C) Suomun happohuuhdeltu sisäosa ja (D) suomun happohuuhdeltu ulko-osa.  $R^2$ -arvo kuvaa pistejoukkoon sovitetun lineaarisen mallin selitysastetta. Katkoviiva kuvaa suomun sisä- ja ulko-osan 1:1 suhdetta, jossa y- ja x-akselien leikkauspiste on nolla ( $x = 0$ ,  $y = 0$ ).

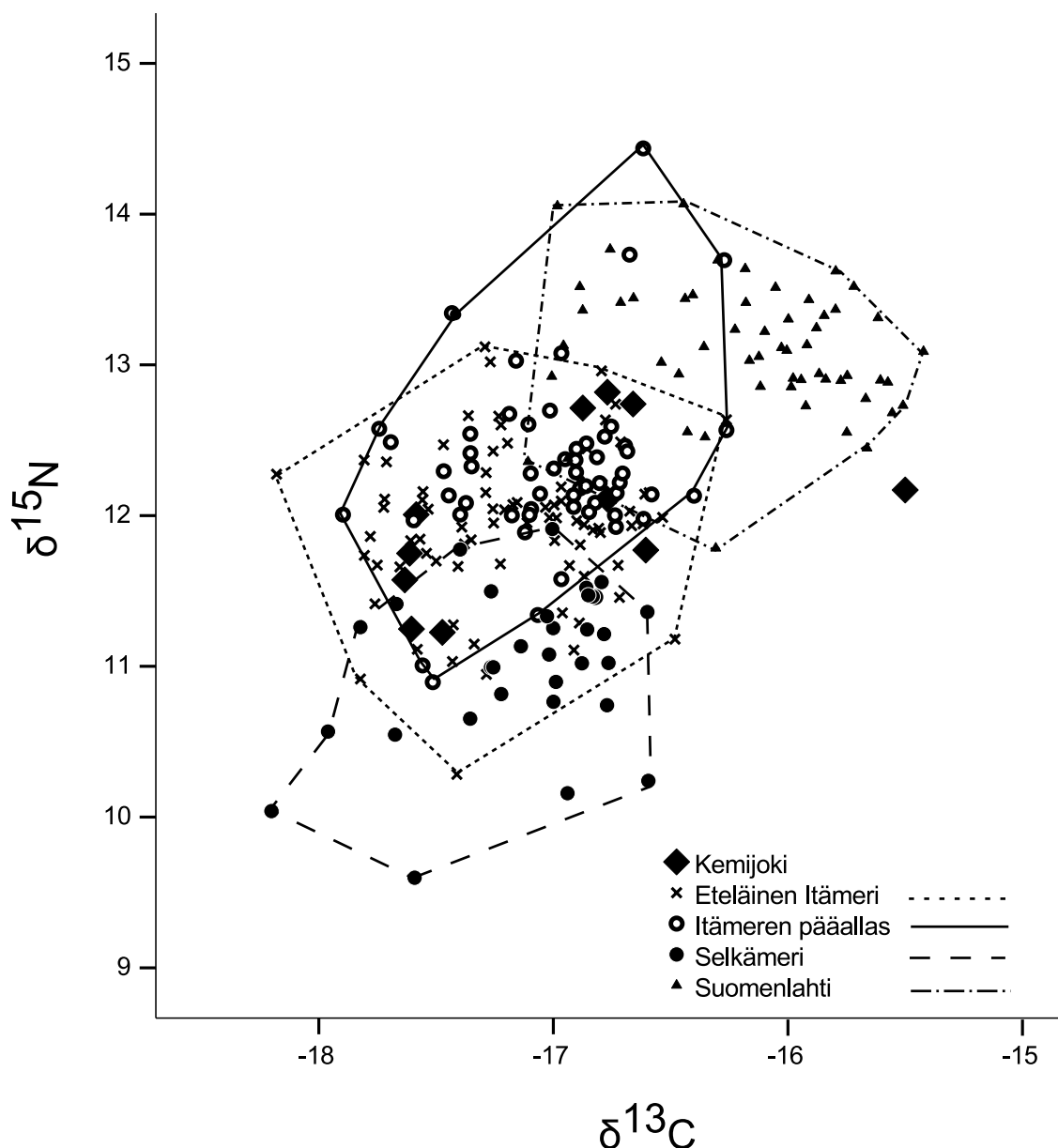
#### 4.4. Suomun ulko-osan $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ -arvot eri merialueilla

Vuoden 2006 ICES -alueilta pyydettyjen lohien happohuuhdeltujen suomun ulko-osien sekä  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo että  $\delta^{15}\text{N}$ -arvo erosivat tilastollisesti erittäin merkitsevästi vuoden 2007 vastaavista arvoista. (Kruskal-Wallis:  $H_C=117,005$ ,  $df=7$ ,  $p<0,001$ , Kruskal-Wallis:  $H_N=144,313$ ,  $df=7$ ,  $p<0,001$ ) (Kuva 10 ja 11). Parivertailussa vuoden 2006 alueen 25  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo oli 0,32 ‰-yksikköä suurempi kuin vuonna 2007 (Wilcoxon:n testi:  $Z=-3,502$ ,  $n=33$ ,  $p<0,001$ ) (Kuva 10 ja 11).

Vuonna 2006 ICES-alueilta pyydettyjen lohien suomun happohuhdellun ulko-osan  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen todettiin eroavan tilastollisesti erittäin merkittävästi vuoden 2007 vastaavista  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoista, mutta parivertailussa Wilcoxon:n testi ei löytänyt tilastollisesti merkitseviä vuosien välisiä eroja ICES-alueilla (Kuva 10 ja 11).



Kuva 10. Vuosina 2006 ja 2007 Kansainvälisen Merentutkimusneuvoston (ICES) määrittämiltä aluejaoilta pyydettyjen lohien suomujen happohuhdellun ulko-osan  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot. 25=eteläinen Itämeri, 28=Itämeren pääallas, 30=Selkämeri ja 32=Suomenlahti. Pystyjanat ovat pienin ja suurin arvo. Viiksilaatikoiden poikkiviiva on mediaani sekä ylä- ja alaosat kuvaavat 25 ja 75 prosentin luottavälejä. Suluissa havaintojen lukumäärä.



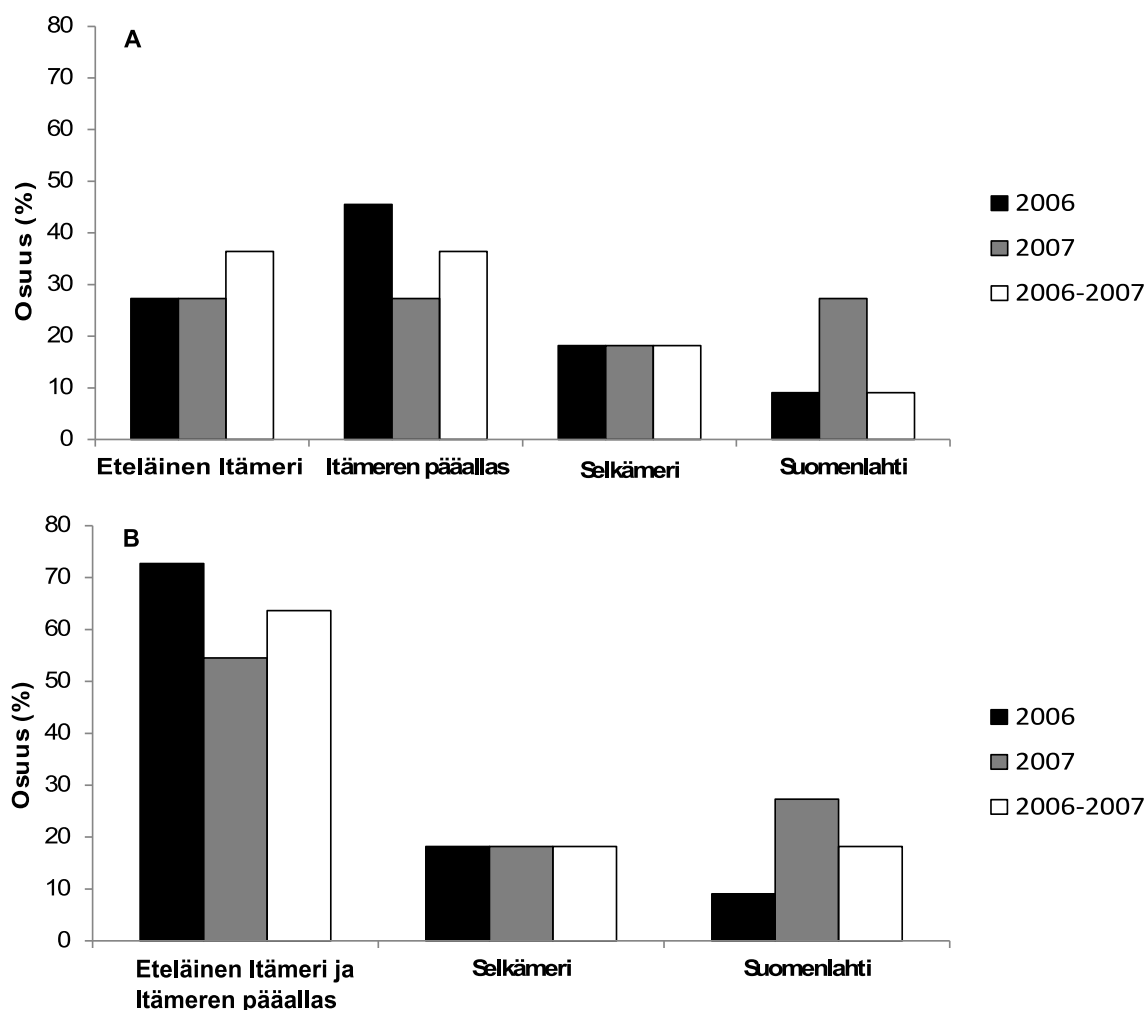
Kuva 11. Kemijoesta vuonna 2004 ja syönnösalueilta vuosina 2006 ja 2007 pyydettyjen lohien suomun ulko-osan  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot. Eri alueilta pyydettyjen lohien suomun  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -ääriarvot on rajattu hajontakuviioon. 25=eteläinen Itämeri, 28=Itämeren pääallas, 30=Selkämeri ja 32=Suomenlahti.

#### 4.5. Kemijoen lohien viimeisimmän syönnösalueen arviointi

Erotteluanalyysin ristivalidointi luokitteli ICES-alueilta pyydyt lohet samoille alueille, joista ne oli pyydetty 60 % varmuudella vuonna 2006 ja 68 % varmuudella vuonna 2007. Luokittelutarkkuus nousi 69 prosenttiyksikköön, kun vuodet yhdistettiin. Kun suomuvirtailuaineistona käytetään vuonna 2006 syönnösalueilta pyydettyjä lohia, erotteluanalyysi ennusti, että Kemijoen lohista 27 % (3 yksilöä) on ollut viimeisellä syönnöstalvena alueella 25, 46 % (5 yksilöä) alueella 28, 18 % (2 yksilöä) alueella 30 ja 9 % (1 yksilö) alueella 32 (Kuva 12A). Kun suomuvirtailuaineistona käytetään vuoden 2007 syönnösalueilta pyydytetyjä lohia, oli 27 % (3 yksilöä) ollut syönnöksellä alueella 25, 27 % (3 yksilöä) alueella 28, 18 % (2 yksilöä) alueella 30 ja 27 % (3 yksilöä) alueella 32 (Kuva 12A). Kun suomuvirtailuaineistona käytetään molempien vuosien syönnökseltä pyydettyjä lohia yhdistettynä, oli 36 % (4 yksilöä)

ollut syönnöksellä alueella 25, 36 % (4 yksilöä) alueella 28, 18 % (2 yksilöä) alueella 30 ja 9 % (1 yksilö) alueella 30 (Kuva 12A).

Tässä tutkimuksessa todettiin ICES-alueiden 25 ja 28  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen olevan lähellä toisiaan. Tästä syystä haluttiin tarkastella näiden alueiden yhdistämisen vaikutus luokittelutarkkuuteen sekä Kemijoen lohien viimeisen syönnösalueen prosentiosuuksiin. Kun eteläinen Itämeri ja Itämeren pääallas yhdistettiin, erotteluanalyysin ristivalidointi luokitteli ICES-alueilta pyydetty lohiet samoille alueille, joista ne oli pyydetty 81 % varmuudella vuonna 2006 ja 87 % varmuudella vuonna 2007. Luokittelutarkkuus nousi 85 %:iin, kun vuodet yhdistettiin, (Kuva 12B). Alueiden yhdistäminen suurensi luokittelutarkkuutta keskimäärin 19 prosenttiyksikköä verrattuna yhdistämättömiin alueisiin vuosina 2006, 2007 ja vuodet yhdistettyinä.



Kuva 12. Vuonna 2004 Kemijoesta pyydettyjen lohien (n=11) viimeisten syönnösaluearvioiden osuudet, kun erotteluanalyysissä on käytetty vertailuaineistona joko vuonna 2006 tai vuonna 2007 syönnösalueilta pyydettyjen lohien suumuja. Lisäksi osuudet on ilmoitettu, kun vuosien 2006 ja 2007 vertailuaineisto on yhdistetty. Kansainvälisen Merentutkimusneuvoston (ICES) aluejaot: 25=eteläinen Itämeri, 28=Itämeren pääallas, 30=Selkämeri ja 32=Suomenlahti. Kuvassa A kaikki pyyntialueet eroteltuina ja kuvassa B ICES -alueet 25 (Eteläinen Itämeri) ja 28 (Itämeren pääallas) yhdistettynä.

Eteläisen Itämeren ja Itämeren yhdistämisen jälkeen suomuvvertailuaineistona käytettiin vuonna 2006 syönnösalueilta pyydettyjä lohia. Erotteluanalyysi ennusti, että Kemijoen lohista 73 % (8 yksilöä) on ollut viimeisellä syönnösalueella 25/28, 18 % (2 yksilöä) alueella 30 ja 9 % (1 yksilö) alueella 32 (Kuva 12B). Kun

suomuvvertailuaineistona käytetään vuoden 2007 syönnösalueilta pyydystettyjä lohia, oli 55 % (6 yksilöä) ollut syönnöksellä alueella 25/28, 18 % (2 yksilöä) alueella 30 ja 27 % (3 yksilöä) alueella 32 (Kuva 12B). Kun suomuvvertailuaineistona käytetään molempien vuosien syönnökseltä pyydettyjä lohia yhdistettynä, oli 64 % (7 yksilöä) ollut syönnöksellä alueella 25/28, 18 % (2 yksilöä) alueella 30 ja 18 % (2 yksilö) alueella 30 (Kuva 12B).

## 5. TULOSTEN TARKASTELU

### 5.1. Happohuuhtelun vaikutus suomun $\delta^{13}\text{C}$ -ja $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin

Tämä tutkimus osoitti, että happohuuhtelu poistaa epäorgaanista hiiltä suomusta. Suurin vaikutus happohuuhtelulla on suomun ulko-osaan, jossa  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo pieneni ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvo suureni suhteessa käsittelemättömään suomuun. Happohuuhtelun suurempi vaikutus suomun ulko-osaan kuin sisäosaan johtuu todennäköisesti ulko-osan suhteellisesti suuremmasta määrästä epäorgaanista hiiltä verrattuna orgaanisen osuuteen. Muun muassa Ventura & Jeppesen (2010) mukaan happohuuhtelun vaikutus on riippuvainen suomun mineraalien ja karbonaattien määrästä, joka puolestaan on riippuvainen vesistön kalsiumkarbonaattipitoisuudesta. Kovassa vedessä muodostuu kalan suomuun enemmän kalsiumkarbonaattia kuin pehmeässä vedessä. Samassa tutkimuksessa havaittiin happohuuhtelun vaikutuksen olleen pieni kalalajeilla, joilla suomun mineraalipitoisuus oli alle 20 % ja karbonaattien alle 7 %. Tässä tutkimuksessa lohen suomun ulko-osan  $\delta^{13}\text{C}$ -arvon pienentymisestä happokäsittelyn jälkeen voidaan todeta, että happohuuhtelu poistaa suomusta hiilen isotooppiarvoiltaan rikastuneita ( $\delta^{13}\text{C}$ ) epäorgaanisia yhdisteitä. Käsitteilyn jälkeen suomuun jää vain orgaanisia yhdisteitä (mm. kollageeni) joilla on pienemmät  $\delta^{13}\text{C}$ -arvot. Happohuuhtelun poistaessa epäorgaanisen hiilen, jäljelle jää pääosin ravinnosta tullut orgaaninen hiili, jolloin suomun ulko-osan  $\delta^{13}\text{C}$ -arvot heijastavat paremmin viimeisintä syönnösalueetta. Myös Hutchinson & Trueman (2006) totesivat suomun ulko-osan isotooppien arvojen kuvaavan parhaiten lohen viimeisen kasvukauden ravinnon isotooppikoostumusta. Täten suomun ulko-osaa voidaan pitää parhaimpana suomun osana tutkittaessa lohen viimeistä merivaellusta.

Happohuuhtelu suurensi sisäosan  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoja, mutta vaikutus oli pieni. Tulosta voidaan pitää kuitenkin hieman odottamattomana, koska poistamalla epäorgaanista hiiltä oletettiin suomun sisäosan  $\delta^{13}\text{C}$ -arvon pienentyvän kuten ulko-osassakin. Suomun sisäosan  $\delta^{13}\text{C}$ -arvon suurenemisen syynä voi olla monia tekijöitä. Happohuuhtelu poistaa epäorgaanisen hiilen, mutta jäävällä hiilellä on kuitenkin suuremmat  $\delta^{13}\text{C}$ -arvot, jolloin suomun  $\delta^{13}\text{C}$ -arvon muuttuu suhteessa suuremmaksi kuin ennen happohuuhtelua. Suomulla on myös paksumpi sisä-osa, joka sisältää myös lohen makeanveden ajan, jolloin kollageenin isotooppiarvot voivat poiketa ulko-osan fosfaattimineraalien arvoista. Lisäksi suomun kasvaessa sisäosa on jatkuvasti osittain mineralisoituneessa tilassa ja suomun ulko-osa on täysin mineralisoitunut ja tämä voi vaikuttaa  $\delta$ -arvoihin. Lohen kasvaessa suomun sisäosa kasvaa jatkuvasti paksummaksi jolloin jokivaiheen ja meren syönnösalueiden  $\delta^{13}\text{C}$ -isotoopit ovat suomussa päällekkäin ja aiheuttavat analyysiin tulkintavaikeutta (Fouda1979, Zylberberg & Nicols 1982, Zylberberg 2004, Hutchinson & Trueman 2006). Suomun happohuuhtellun sisäosan suurempi  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo voi johtua myös siitä, että Itämeren lohikannat, kuten tässäkin tutkimuksessa käytetyt lohet, ovat suurelta osin istutettua alkuperää, jolloin kalanviljelylaitoksessa käytetyllä valtamerissä elävistä kaloista tehdyllä rehulla lienee vaikutus sisäosan  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin. Samoin, lohen poikasen jokivaiheesta suomun

sisäosan  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin jää valuma-alueelta ominaiset, merialueen arvoista poikkeavat isotooppileimat, joka voi selittää odottamattomia tuloksia.

Yleisesti on ajateltu, että happohuuhtelu poistaa suomusta pelkän epäorgaanisen hiilen eikä vaikuttaisi  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin (Bunn ym. 1995), mutta ainakin tässä tutkimuksessa havaittiin muutos myös  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoissa. Joissakin aikaisemmissakin tutkimuksissa on saatu myös ristiriitaisia tuloksia suolahappohuuhtelun vaikutuksessa  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoon. Perga & Gerdeaux (2003) havaitsivat, että happohuuhtelu suurensi siian suomun  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoa 1,3 ‰-yksikköä ja Syväranta ym. (2007) totesivat suolahappohuuhtelun suurentavan särjen (*Rutilus rutilus*) suomun  $\delta^{15}\text{N}$ -isotooppiarvoja, vaikka biologinen merkitys oli pieni. Lisäksi Sinnatamby ym. (2007) happohuuhtelivat kolmen kalalajin suomuja [Atlantin lohi, kelta-ahven (*Perca flavescens*) ja valkosilmäkuha (*Sander vitreus*)], jossa happohuuhdeltuja suomuja verrattiin saman kalan käsittelemättömiin suomuihin, mutta millään näistä lajeista ei todettu käsittelyn vaikuttavan suomun kummankaan  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin tilastollisesti merkitsevästi.

Tämän tutkimuksen perusteella käsittelemättömän suomun sisä- ja ulko-osan  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan, mutta happohuuhdellut sisä- ja ulko-osa erosivat tilastollisesti erittäin merkitsevästi toisistaan. Tilastollinen ero happohuuhdellun suomun sisä- ja ulko-osan  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoissa johtunee happohuuhtelun suuremmasta vaikutuksesta suomun ulko-osaan kuin sisäosaan. Toisaalta, Bunn ym. (1995) huomasivat happohuuhtelun suurentavan katkarapujen (*Metapenaeus moyebi*)  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoa 3 ‰-yksikköä, jonka epäiltiin johtuvan  $\delta^{15}\text{N}$ -arvon suhteiden muutoksesta, kun  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoiltaan pienimmät molekyylit poistuvat. Sama kemiallinen prosessi lienee syynä lohen suomujen  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen muutokselle happokäsittelyn jälkeen.

Koska suomun sisäosassa on useampia  $\delta$ -arvoihin vaikuttavia tekijöitä kuin ulko-osassa, suomun sisäosa ei ole yhtä käyttökelpoinen arvioitaessa lohen viimeistä syönnösaluetta kuin suomun ulko-osa. Sisäosan käyttöä ei siksi tässä työssä suositella käytettäväksi. Suomun sisäosan happohuuhtelulla voidaan ehkä tarkentaa isotooppituloksia, kun juuri vaellukselle lähteneiden lohien vaellusta ja ravinnon käyttöä seurataan viimeiseen kasvukauteen merellä.

## 5.2. Suomi lihasnäytteiden korvaajana

Uhanalaisen Itämeren luonnonvaraisen (villi) lohen harvinaistuesssa on tärkeää saada selville voidaanko lihasnäytteet korvata suomunäytteillä. Lihasnäytteen saamiseksi kala on pitänyt tappaa. Tämä tutkimus osoitti tilastollisesti erittäin vahvan riippuvuuden Itämeren lohen suomun ja lihaksen  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoilla. Paras tulos saatiin happohuuhdellun ulko-osan  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoilla, jotka ovat lähimpänä lihaksen vastaavia sekä siten soveltuvat parhaiten korvaamaan lihasnäytteet. Myös aikaisemmissa tutkimuksissa Tyynenmeren lohilla (*Oncorhynchus* sp.) on osoitettu happohuuhdellun suomun ja lihaksen  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoilla riippuvuus. (Pinnegar & Polunin 1999, Satterfield & Finney 2002, Kennedy ym. 2005).

Myös Perga & Gerdeaux (2003) osoittivat samankaltaisia tuloksia siian happohuuhdellulla suomulla, jonka  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo oli 4 ‰-yksikköä suurempi ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvo 0,2 ‰-yksikköä pienempi kuin lihaksen. Tässä tutkimuksessa saatiin huomattavasti pienempi ero lohen suomun ja lihaksen välille: Happohuuhdellun suomun ulko-osan  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo oli 1 ‰-yksikköä suurempi ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvo 0,4 ‰-yksikköä pienempi kuin lihaksen. Yhtenä syynä pienempään eroon voidaan pitää tässä tutkimuksessa käytettyä rasvatorjuttu lihasta. Post ym. (2007) mukaan eliöiden rasvojen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvot ovat pienempiä suhteessa proteiineihin ja hiilihydraatteihin. Lohikaloilla lihaksen

rasvapitoisuus on korkea (Anonyymi 2014c). Koska suomi on käytännössä rasvaton ja muodostuu pääosin kollageenista ja vähäisessä määrin fosfaattimineraaleista (happohuuhtelemattomana), on suomun  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo siten korkeampi kuin rasvaa sisältävien kudosten. Korjaamalla lihaksen isotooppiarvot poistamalla rasvojen vaikutusta (Kiljunen ym. 2008) ovat suomun ja lihaksen arvot lähimpänä toisiaan. Myös suomun ja lihaksen välinen ero voi johtua lihaksen nopeammasta uusiutumisajasta verrattuna suomuun pysyvään. Kun Weidel ym. (2011) tutkivat kalojen lihaksen uusiutumisaikoja, todettiin kalan koon vaikuttavan siihen kuinka nopeasti lihaksen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvot uusiutuvat. Pienillä, alle 1-vuotiailla kalanpoikasilla uusiutumisaika oli n. 10–20 päivää ja suuremmilla aikuisilla kaloilla oli n. 110–170 päivää. Tässä tutkimuksessa käytettiin melko kookkaita lohia, joten lihaksen uusiutumisaika lienee pitkäkö. Suomua voidaankin pitää parempana tutkittaessa lohien syönnösvaellusta, koska suomuun ei vaikuta rasvojen arvot eikä kudoksen uusiutuminen (Sinnatamby 2008).

Tämän työn tulosten perusteella suomun käsittelemättömällä ja happohuuhdellulla sisäosalla ei voi suositella korvamaan lihasta. Suositeltavampaa onkin käyttää happohuuhdellun suomun ulko-osaa, jossa  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot heijastavat parhaiten lohien viimeisimmän syönnösalueen ravinnonarvoja. Poistamalla suomun sisäosa voidaan välttää makean veden aiheuttamat virheet lohien viimeisen syönnösalueen arvioinnissa. Tämän jälkeen suomun ulko-osaan jää vain viimeisen merivuoden aikainen isotooppileima, jota voidaan käyttää syönnösvaellustutkimuksessa parhaiten.

Tässä tutkimuksessa happohuuhdellun suomun  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoilla päästiin lähelle rasvakorjatun lihaksen vastaavia arvoja. Suomun ulko-osan ja lohien lihaksen  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen riippuvuutta pystyttäisiin kenties parantamaan käyttämällä massaltaan samankokoisia kaloja, jolloin lihaksen uusiutumisaika ei vaikuttasi suomun ja lihaksen  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvojen riippuvuuteen. Suomun ja lihaksen lineaarisen riippuvuuden parantuessa voi määrittää korjauskertoimen. Tämän tutkimuksen perusteella korjauskerroin on 1,1 %, joka lisätään happohuuhdellun Itämeren lohien suomun ulko-osan  $\delta^{13}\text{C}$ -keskiarvoon tai vähennetään lihaksen vastaavasta arvosta riippuen mitä halutaan tutkia.

### 5.3. Lohien levittäytyminen eri syönnösalueille

Tässä tutkimuksessa saatiin samankaltaisia havaintoja Kemijoen lohien viimeisen syönnösalueiden osoittamiselle Itämeren eri alueille kuin aiemmissa tutkimuksissa (Ikonen 2006, Jutila ym. 2009, Tornainen ym. 2013). Erityisesti Suomenlahden korkeammat  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot erottuivat selkeästi Selkämeren arvoista. Selkämeren pienet  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot erottuivat puolestaan eteläisen Itämeren, Itämeren pääaltaan ja Suomenlahden arvoista. Eteläisen Itämeren ja Itämeren pääaltaan  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot erosivat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan, mutta absoluuttiset erot alueiden välillä olivat niin pienet, että näiden alueiden välinen erottelukyky jäi pieneksi. Eteläisen Itämeren ja Itämeren pääaltaan yhdistäminen olisi suositeltavaa, koska alueet ovat maantieteellisesti samaa suurta meren selkää, joka on jaettu useampaan ICES-alueeseen ja eteläisen Itämeren  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot ovat hyvin lähellä Itämeren pääaltaan vastaavia  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoja. Näiden kahden alueen yhdistäminen paransikin erotteluanalyysin luokittelua. Tilastollista eroa eteläisen Itämeren ja Itämeren pääaltaan välillä lisäsivät lohet, joilla oli poikkeuksellisen korkea  $\delta^{15}\text{N}$ -arvo. Lohien korkeat  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot viittaisivat lohien olevan olleen mahdollisesti syönnöksellä Suomenlahdella, josta ovat vaeltaneet Itämeren pääaltaalle. Muun muassa Aro (1989) on havainnut lohien vaeltavan syönnösalueiden välillä.



Vuonna 2004 Kemijokeen nousseista lohista noin 20 % oli viimeisellä syönnöksellään Selkämerellä, kun vertailuaineistona olivat vuodet 2006 ja 2007 erikseen tai vuodet yhdistettyinä. Selkämeri on ensimmäinen suurempi merialue Kemijoen lohen vaellusreitillä etelään, jolloin on todennäköistä, että osa lohista jää Selkämerelle syönnökselle, jos sopivan pienikokoisia saaliskaloja on paljon. Erityisesti viljeltyä alkuperää olevat lohet jäävät herkemmin Selkämerelle (Kallio-Nyberg ym. 1999, Jutila ym. 2009).

Kemijokeen nousseista lohista 9-27 % on viimeisellä syönnöksellään ollut Suomenlahdella, kun on vertailuainestona käytettiin vuosia 2006 ja 2007 erikseen tai vuodet yhdistettyinä. On yllättävää havaita Kemijoen lohien käyvän syönnöksellä Suomenlahdella, koska aiempien tutkimusten mukaan Perämereen laskevissa joissa lisääntyvät lohet suuntaavat vaelluksensa pääosin Itämeren pääaltaalle (Ikonen 2006, Jutila ym. 2009). Kemijoen lohiaineiston pieni määrä voi aiheuttaa vääristymää tuloksissa, mutta toisaalta Suomenlahden  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot poikkeavat huomattavasti muista tutkimusalueista, joten tuloksia voidaan pitää todenmukaisina. Lohen aloittaessa kutuvaelluksen eteläisen Itämeren alueilta, ne usein vaeltavat Suomenlahden lähistöltä (Aro 1989). Tämä voi osaltaan selittää Kemijoen lohien suomujen isotooppiarvojen olevan lähellä Suomenlahdelta pyydettyjen lohien vastaavia. Tämän tutkimuksen perusteella vuoden 2004 Kemijoen suulta pyydettyistä lohista suurin osa on ollut viimeisellä syönnöksellään Eteläisellä Itämerellä ja Itämeren pääaltaalla kaikkina vertailuvuosina ja riippumatta vuodesta.

Yhden Kemijoen lohen suomun  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvot eivät sijoittuneet mihinkään ICES -aluejaolta pyydettyjen lohien havaittuihin  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin. Lohen poikkeavia  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoja ei voida selittää ainakaan lohen kuntokertoimella, koska pituus tai paino ei osoita, että lohi olisi nälkiintynyt. Fry (2006) mukaan nälkiintyminen suurentaa eläimien isotooppiarvoja. Perämereen jokiin kutevat lohet suuntaavat pääasiallisesti viimeiselle syönnökselle Itämeren pääaltaalle, jolloin lohet ohittavat Suomenlahden mentäessä syönnökselle ja palatessa kudulle kotijokeensa (Aro 1989). On mahdollista, että lohi on käynyt vaelluksen aikana syönnöksellä Suomenlahdella. On myös mahdollista, että kerätty vertailuaineisto ei kuvaakaan edustavasti tiettyjen, tai kaikkien, alueiden lohien suomujen isotooppiarvoja, jolloin tämä yksi yksilö näyttää poikkeavan havaituista.

Aiempiin tutkimuksiin verrattuna Kemijoen 11 lohen viimeisen syönnösalueen tuloksia voidaan pitää samankaltaisina (Aro 1989, Kallio-Nyberg ym. 1999, Jutila ym. 2009, Torniaainen ym. 2013). Tulosten luotettavuus paranisi, jos Kemijoen lohien suomujen  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoja olisi voitu verrata syönnösalueilta edellisestä talvena pyydettyjen lohien vastaaviin arvoihin.

#### 5.4. Yhteenveto ja johtopäätökset

Tämän tutkimuksen tarkoitus oli selvittää, kuinka lohen suomuja voidaan hyödyntää Itämeren lohen vaellustutkimuksissa sekä yleisesti tutkimuksissa käytetyn happohuuhtelun vaikutuksen arvioinnissa suomun isotooppiarvoihin. Tutkimuksen osana selvitettiin voiko suomulla korvata lihasnäytteet, jolloin lohilyksilöä ei tarvitsisi tappaa.

Tämän tutkimuksen perusteella suomulla voidaan korvata lihasnäytteitä, kun käytetään happohuuhdellun suomun ulko-osan ja rasvakorjatun lihaksen isotooppiarvoja. Pientä epävarmuutta lihaksen korvaamiseen suomulla aiheuttaa happohuuhtelu, joka näyttää lisäävän hajontaa suomun  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoihin sekä

heikentää selitystasetta. Tutkimus vahvisti kirjallisuudessa aiemmin todettua, että suolahappohuuhtelu poistaa suomuun vedestä tullutta epäorgaanista hiiltä ja parantaa ravinnosta tulleen hiilen havaitsemista. Lisäksi tässä tutkimuksessa havaittiin, että erotteluanalyysillä ja suomun vakailta isotoopeilla ( $\delta^{13}\text{C}$  ja  $\delta^{15}\text{N}$ ) voidaan tutkia Itämeren lohien vaellusreittejä. Happohuuhtelun ei pitäisi vaikuttaa suomun  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoon, mutta jonkinlainen vaikutus suolahappohuuhtelulla on jota ei voida kunnolla tässä tutkimuksessa selittää. Tutkimuksen perusteella olisi hyvä myös kehittää suolahappohuuhtelumenetelmää paremmaksi, jotta voitaisiin vähentää mahdollista menetelmän aiheuttamaa hajontaa  $\delta^{13}\text{C}$ - ja  $\delta^{15}\text{N}$ -arvoissa.

Tutkimus osoitti, että paras tulos Kemijoen lohien syönnösvaelluksesta saadaan happohuuhtellun suomun ulko-osalla, joka kuvaa lohien viimeisen merivuoden isotooppikoostumusta. Suomun ulko-osalla saatiin selville, että Kemijoen lohet ovat syönnöksellä pääosin Itämeren pääaltaalla ja eteläisellä Itämerellä, mutta myös muut alueet tarjoavat pienemmälle osalle lohia sopivan syönnösalueen. Siten tämä tulos vahvistaa aiempaa tietoa Perämereen laskeviin jokiin kutevien lohien syönnösvaelluksista (Ikonen 2006, Jutila ym. 2009). Tutkimus osoitti osan Kemijoen lohista vaeltavan syönnökselle Suomenlahdelle, mitä ei ole aiemmin pidetty niiden syönnösalueena. Tulosten perusteella voidaan todeta, että erotteluanalyysi ja suomun happohuuhteltu ulko-osa ovat hyvä vaihtoehto korvata kalan ihoon kiinnitettäviä merkintämenetelmiä Itämeren lohien vaellustutkimuksissa.

## KIITOKSET

Suurimmat kiitokset saavat suomalaiset veronmaksajat, jotka mahdollistivat hyvän terveydenhuollon ja yöhoitajat Arttu poikani tueksi. Ilman tätä suurta apua graduni ei olisi valmistunut ja Jyväskylän yliopistosta valmistuminen olisi ollut mahdotonta. Paljon kiitoksia vaimolleni Satu ”Big Mama” Valkoselle perheemme hyvästä huolenpidosta. Kiitoksia akselille Mikko Kiljunen ja Jyrki Torniaisen, jotka ovat ohjanneet kärsivällisesti graduani sekä odottaneet sen valmistumista pitkään ja hartaasti. Kiitokset Olvi-säätiölle antamastaan apurahasta. Kiitän myös opiskelijakavereitani, jotka ovat tukeneet minua vaikeina hetkinä.

## KIRJALLISUUS

- Alapassi T., Salminen M., Pönni J., Ikonen E., Eskelinen U. & Juntunen K. 2003. Minkä ikäisinä lohienpoikaset kannattaa istuttaa Kymijokeen? *Riista ja kalatalouden tutkimuslaitos. Kala- ja Riista raportteja* 278: 1–16.
- Anonyymi 2014a. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. Merkintämenetelmiä. <http://www.rktl.fi/kala/kalavarat/kalamerkinta/merkintamenetelmia/> 5.2.2014.
- Anonyymi 2014b. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos. Lohitutkimuksen menetelmiä [http://www.rktl.fi/kala/kalavarat/teno\\_naatamojoen\\_lohi/lohitutkimuksen\\_menetelmia.html](http://www.rktl.fi/kala/kalavarat/teno_naatamojoen_lohi/lohitutkimuksen_menetelmia.html) 5.2.2014.
- Anonyymi 2014c. Raisio agro Kalan ravintoainetarpeet. <http://www.raisioagro.com/kalan-ravintoainetarpeet>. 18.2.2014.
- Aro E. 1989. A review of fish migration patterns in the Baltic. *Rapp. p.-v. réun. - Cons. int. explor. mer.* 190: 72–96.
- Bunn S. E., Loneragan, N. R. & Kempster, M. A. 1995. Effects of acid washing on stable isotope ratios of C and N in penaeid shrimp and seagrass: Implications studies using multiple stable isotopes for food-web. *Limnol. Oceanogr.* 40: 622–425.

- Chittende C.M., Ålandsvik B., Pedersen O., Righton D. & Rikardsen A.H. 2013. Testing a model to track fish migrations in polar regions using pop-up satellite archival tags. *Fish. Oceanogr.* 22: 1–13.
- Doucett, R.R., Power G., David B.R., Drimmie R.J. & Cunjak R. 1996. Stable isotope analysis of nutrient pathways leading to Atlantic salmon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 2058–2066.
- Fouda M. M. 1979. Studies on scale structure in the common goby *Pomatoschistus microps Krøyer*. *J. Fish Biol.* 15: 173–183.
- Fry B. 1981. Natural stable carbon isotope tag traces Texas shrimp migrations. *Fish B-nooa* 79: 337–45.
- Fry B. 2006. Stable isotope ecology. Springer, New York.
- Furman E., Dahlström H. & Hamari R. 1998. *ITÄMERI - luonto ja ihminen*. Otava, Helsinki.
- Hutchinson J.J. & Trueman C.N. 2006. Stable isotope analysis of collagen in fish: scales limitations set by scale architecture. *J. Fish Biol.* 69: 1874–1880.
- Ikonen E. 2006. *The role of the feeding migration and diet of Atlantic salmon in yolk-sack-fry mortality (M74) in the Baltic sea*. Väitöskirja, Helsingin yliopisto, Helsinki.
- Jutila E., Jokikokko E. & Ikonen E. 2009. Post-smolt migration of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., from the Simojoki river to the Baltic Sea. *J. Appl. Ichthyol.* 25:190–194.
- Kallio-Nyberg I., Peltonen H. & Rita H. 1999. Effects of stock-specific and environmental factors on the feeding migration of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the Baltic Sea. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56: 853–861.
- Kennedy B.P., Chamberlain C.P., Blum J.D., Nislow K.H. & Folt C.L. 2005. Comparing naturally occurring stable isotopes of nitrogen, carbon, and strontium as markers for the rearing locations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62: 48–57.
- Keskinen T., Pääkkönen J-P., Lilja J., Marjomäki T. J. & Karjalainen J. 2005. Homing behaviour of pikeperch (*Sander lucioperca*) following experimental transplantation. *Boreal Env. Res.* 10: 119–124.
- Kiljunen M., Peltonen H., Jones R.I., Kiviranta H., Vuorinen P.J., Verta M. & Karjalainen J. 2008. Coupling stable isotopes with bioenergetics to evaluate sources of variation in organochlorine concentrations in Baltic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 65: 2114–2126.
- Koli L. 2002. *Otavan kalakirja*. Otava, Helsinki.
- Koljonen M-L. 2005. Annual changes in the proportions of wild and hatchery Atlantic salmon (*Salmo salar*) caught in the Baltic Sea. *ICES J. Mar. Sci.* 63: 1274–1285.
- Lass H.U. & Matthäus W. 2008. *General oceanography of the Baltic Sea*. Teoksessa: Feistel R., Nausch G. & Wasmund N. (toim.), State and Evolution of the Baltic Sea 1952–2005, John Wiley & Sons, Hoboken, s. 5–44.
- Linnansaari T., Romakkaniemi A., Vähä V., Perä I., Cunjak R. & Graham B. 2010. Pysyvien isotooppien käyttö Tornionjoen eri vesistönsien lohien poikastuotannon arvioinnissa. *Riista- ja kalatalous - selvityksiä xx/2011*: 1–35.
- Perga M.E. & Gerdeaux D. 2003. Using the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  of whitefish scales for retrospective ecological studies: changes in isotope signatures during the restoration of Lake Geneva. *J. Fish Biol.* 63: 1197–1207.
- Pinnegar J.K. & Polunin N.V.C. 1999. Differential fractionation  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Funct. Ecol.* 13:225–231.

- Post D.M., Layman C.A., Arrington D.A., Takimoto G., Quattrochi J. & Montana C.G. 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods, and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* 152:179–189.
- Ramsay A.L., Milner N.J., Hughes R.N. & McCarthy I.D. 2012. Fish scale  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values provide biogeochemical tags of fish comparable in performance to element concentrations in scales and otoliths. *Hydrobiologia* 694: 183–196.
- Rubenstein D.R. & Hobson K.A. 2004. From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. *Trends Ecol Evol.* 9: 256–263.
- Sandercock F.K. 1991. Life history of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Teoksessa: Croot C. & Margolis L. (toim.), *Pacific salmon life histories*, UBC press, The University of British Columbia, Vancouver, 1–567.
- Satterfield R.S. & Finney B.P. 2002. Stable isotope analysis of Pacific salmon: insight into trophic status and oceanographic conditions over the last 30 years. *Prog. Oceanogr.* 53: 231–246.
- Siira A., Erkinaro J., Jounela P. & Suuronen P. 2009. Run timing and migration routes of returning Atlantic salmon in the Northern Baltic Sea: implications for fisheries management. *Fisheries management and Ecology* 16: 177–190.
- Sinnatamby R.N., Bowman J.E., Dempson B.J. & Power M. 2007. An assessment of decalcification procedures for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  analysis of yellow perch, walleye and Atlantic salmon scales *J. Fish Biol.*70: 1630–1635.
- Sinnatamby R.N., Dempson B.J. & Power M. 2008. A comparison of muscle- and scale-derived  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  across three life-history stages of Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 22: 2773–2778.
- Storhammar E., Pakarinen T., Söderkultalahti P. & Mäkinen T. 2011. Lohenkalastuksen taloudellisten vaikutusten vertailua: lohen ammattikalastus Pohjanlahden maakunnissa ja vapaa-ajankalastus Torniojoella ja Simojoella. *Riista- ja kalatalous - selvityksiä* 13/2011: 1–35.
- Syväranta J., Vesala S., Rask M., Ruuhijärvi J. & Jones R.I. 2007. Evaluating the utility of stable isotope analyses of archived freshwater sample materials. *Hydrobiologia* 600: 121–130.
- Torniainen J., Vuorinen P.J., Jones R.J., Keinänen M., Stefan Palm S., Kristiina A. M., Vuori K.A.M. & Kiljunen M. 2013. Migratory connectivity of two Baltic Sea salmon populations: retrospective analysis using stable isotopes of scales. *ICES. J. Mar. Sci.* 71: 336–334.
- Ventura M. & Jeppesen E. 2010 . Evaluating the need for acid treatment prior to  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  analysis of freshwater fish scales: effects of varying scale mineral content, lake productivity and CO<sub>2</sub> concentration. *Hydrobiologia* 644:245–259.
- Voipio A. 1981. The Baltic sea. *Elsevier Scientific Publishing Company*, Amsterdam.
- Weidel B.C., Stephen C.R., Kitchell J.F. & Vander Zanden J.M. 2011. Rates and components of carbon turnover in fish muscle: insights from bioenergetics models and a whole-lake  $^{13}\text{C}$  addition *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 68: 387–399.
- Zylberberg L. & Nicols G. 1982. Ultrastructure of scales in a teleost (*Carassius auratus L.*) after use of rapid freeze-fixation and freeze-substitution. *Cell Tissue Res.* 223: 349–367.
- Zylberberg L. 2004. New data on bone matrix and its proteins. *Comptes. Rendus. Palevol.* 3: 591–604.