

**Pro gradu–tutkielma**

**Kuhan (*Sander lucioperca*) soveltuvuus kolmen  
imumatoloislajin väli-isännäksi: alttius infektiolle ja  
loisten vaikutus kalan käyttäytymiseen**

**Jussi Iso-Tuisku**



**Jyväskylän yliopisto**

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Hydrobiologia ja Limnologia

23.5.2008

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Hydrobiologia ja Limnologia

ISO-TUISKU J, M.: Kuhan (*Sander lucioperca*) soveltuvuus kolmen imumatoloislajin väli-isännäksi: alttius infektiolle ja loisten vaikutus kalan käyttäytymiseen

Pro gradu: 32 s.

Työn ohjaajat: Prof. Tellervo Valtonen & FT Otto Seppälä

Tarkastajat: Prof. Tellervo Valtonen ja Prof. Jouni Taskinen

Toukokuu 2008

Hakusanat: kuha, *Sander lucioperca*, kalanviljely, Trematoda, *Diplostomum spathaceum*, *Diplostomum gasterostei*, *Ichthyocotylurus variegatus* (ent. *Ichthyocotylurus variegata*), infektioaste, käyttäytymiskoe, parasitologia

## TIIVISTELMÄ

Kuha (*Sander lucioperca*) on kalataloudellisesti yksi Suomen merkittävimmistä kalalajeista, sillä se on siian (*Goregonus lavaretus*) jälkeen maamme toiseksi eniten viljelty kalalaji. Kalanviljelyssä esiintyvät loisongelmat aiheuttavat toistuvasti mittavia tappioita kalojen kuolleisuuden sekä heikentyneen kasvun takia. Aikaisemmassa tutkimuksessa viljeltävien lohikalalojen loisia ja niiden aiheuttamia ongelmia on tutkittu runsaasti, mutta kuhan loisia ja niiden mahdollisesti aiheuttamaa uhkaa viljelylle ei tunneta. Lisäksi Suomen luonnonvesissä kuhakannat ovat vahvistuneet ja lajin levinneisyyden ja runsauden odotetaan kasvavan. Tämän työn tarkoituksena on selvittää kuhan soveltuvuutta kolmen imumatoloislajin (*Diplostomum spathaceum*, *D. gasterostei* ja *Ichthyocotylurus variegatus*) väli-isännäksi. Kokeessa mitattiin laboratorio-oloissa loisten infektiivisyyttä kuhaan sekä loisten kykyä vaikuttaa kalojen käyttäytymiseen siten, että ne altistuisivat kalaa syövien lintujen saalistukselle (oleskelusvyvyys ja reagointi lähestyvän saalistajan aiheuttamaan häiriöön). Loiset erosivat infektiivisyydessään kuhaan. Sekä *D. spathaceum* että *I. variegatus* -loiset pystyivät infektoimaan kuhan kohtalaisesti toisin kuin *D. gasterostei*, jonka infektiivisyys oli hyvin alhainen. Todennäköisesti kuha ei kuitenkaan ole luonnossa *D. spathaceum* eikä *I. variegatus* -loisten pääasiallinen väli-isäntä, sillä loiset eivät pystyneet aiheuttamaan saalistukselle altistavia käyttäytymismuutoksia kuhissa. Täten loisten siirtymisen kuhista elinkierrossa seuraaviin isäntiin, kalaa syöviin lintuihin, voidaan olettaa olevan epätodennäköistä. Kuvanviljelyssä näiden loisten kotiloisäntien ja kalaa syövien lintujen määriä ja esiintymistä luonnonravintolammikoissa pitää kuitenkin seurata ja kontrolloida, sillä suurina määrinä imumadot voivat aiheuttaa kalakuolemia ja heikentää kuhan puolustuskykyä muita taudinaiheuttajia vastaan, täten vaikeuttaen kuhanviljelyä.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Science

Department of Biological and Environmental Science

Hydrobiology and Limnology

ISO-TUISKU J, M.: Suitability of pikeperch (*Sander lucioperca*) to three different trematoda species: Susceptibility to infection and influence of parasites to behaviour of fish.

Master of Science Thesis: 32 p.

Supervisors: Prof. Tellervo Valtonen & PhD Otto Seppälä,

Inspectors: Prof. Tellervo Valtonen and Prof. Jouni Taskinen

May 2008

---

Key Words: pikeperch, *Sander lucioperca*, fish farming, Trematoda, *Diplostomum spathaceum*, *Diplostomum gasterostei*, *Ichthyocotylurus variegatus* (prev. *Ichthyocotylurus variegata*), infection stage, behavioural experiment, parasitology

## ABSTRACT

Pikeperch (*Sander lucioperca*) is one of the most important farmed fish species in Finland as it is the most commonly farmed fish after whitefish (*Goregonus lavaretus*) at the moment. Parasite infections cause continuous loss in fish farming industry due to increased mortality and reduced productivity of fish. In previous research, wide interest has focused on parasite problems of farmed salmonid fish, but parasites of pikeperch and possible threats caused by them are not studied. Moreover, pikeperch stocks are strengthening in nature, and the abundance of species is expected to increase in future. The aim of this study was to investigate the suitability of pikeperch as an intermediate host for three different trematoda parasite species (*Diplostomum spathaceum*, *D. gasterostei* and *Ichthyocotylurus variegatus*). Differences in the infectivity of parasite species and their ability to induce behavioural changes that could predispose fish to predation by fish eating birds (swimming depth and reactions to disturbance by approaching predator) were studied experimentally under laboratory conditions. Studied parasite species differed in their infectivity to pikeperch. *Diplostomum spathaceum* and *I. variegatus* infected pikeperch effectively, but the infectivity of *D. gasterostei* was very low. However, pikeperch is unlikely to be a required host species for *D. spathaceum* and *I. variegates* in nature because parasites were unable to cause behavioural alterations in pikeperch. Thus, parasite transmission from pikeperch to birds can be expected to be inefficient. Nevertheless, it is important to monitor and control the numbers of snails and fish eating birds at fish farms because these parasites may cause increased mortality of fish and impair fish immune defence against other pathogens and parasites when occurring in high numbers.

## Sisältö

<b>1. JOHDANTO</b> .....	<b>5</b>
<b>2. LOISTEN ELINKIERTO</b> .....	<b>7</b>
<b>3. AINEISTO JA MENETELMÄT</b> .....	<b>8</b>
3.1. Kalojen loisaltistus .....	8
3.2. Käyttäytymiskoe.....	9
3.3. Kalojen infektioasteen määrittäminen.....	10
3.4. Tulosten analysointi .....	10
<b>4. TULOKSET</b> .....	<b>11</b>
4.1. Kalojen infektioaste.....	11
4.2. Käyttäytymiskoe.....	13
<b>5. TULOSTEN TARKASTELU</b> .....	<b>16</b>
<b>Kiitokset</b> .....	<b>21</b>
<b>Kirjallisuus</b> .....	<b>21</b>

## 1. JOHDANTO

Suomalaisessa kalanviljelyssä on ilmennyt bakteeri-, virus-, lois- ja sienitautien aiheuttamia ongelmia kolmen vuosikymmenen ajan (Rahkonen ym. 2000). Viljelyympäristössä on luonnon ympäristöön verrattuna monia tekijöitä, jotka aiheuttavat kalalle stressiä. Suuresta kalatiheydestä ja heikosta vedenlaadusta aiheutuva krooninen stressi voi aiheuttaa kalalle merkittävää vastustuskyvyn alenemista (Wedemeyer, 1976; Strange ym., 1978; Schreck, 1982), jolloin olosuhteet tautien voimakkaalle lisääntymiselle kaloissa ovat mahdolliset. Taudin puhkeamiseen vaikuttavat yhdessä kalan vastustuskyky, taudin aiheuttajan haitallisuus ja ympäristön tila. Poikasvaiheessa kalalla on synnynnäinen epäspesifinen puolustusjärjestelmä, ja siltä puuttuu myöhemmin kehittyvä, hankittu eli spesifinen puolustusjärjestelmä, ns. immunologinen muisti (Arala-Chaves & Sequeira 2000, Kurtz & Franz 2003, Little & Kraaijeveld 2004). Synnynnäinen puolustusjärjestelmä ei välttämättä kykene estämään viljelyoloissa ilmeneviä suuria taudinaiheuttajien määriä. Erityisesti tästä syystä poikasvaiheessa olevat kalat ovat herkimpiä taudinaiheuttajille. Eri taudinaiheuttajaryhmien vaarallisuus kaloille vaihtelee paljon. Useimmat niistä ovat vaarattomia, ja kala pystyy ne yleensä torjumaan. Tietyt pieneliöt ovat taudinaiheuttamiskyvyltään kuitenkin niin voimakkaita, että puolustusjärjestelmä ei pysty niitä vastustamaan (Valtonen & Keränen 1981, Rintamäki-Kinnunen ym. 2005). Taudinaiheuttajien haitallisuuteen vaikuttaa oleellisesti myös niiden määrä ympäristössä, sillä se vaikuttaa siihen, miten kalan puolustusjärjestelmä onnistuu estämään sairastumisen. Kala on herkkä vedenlaadun ja lämpötilan muutoksille. Nämä tekijät ovat oleellisesti vaikuttamassa stressireaktion muodostumiseen ja kestoon, ja sitä kautta vastustuskyvyn ylläpitoon (Rintamäki-Kinnunen & Valtonen 1997, Rahkonen ym. 2000).

Kuha (*Sander lucioperca*) on siian (*Coregonus lavaretus*) jälkeen Suomessa toiseksi eniten viljelty ja istutettu kala. Yksilömäärillä mitattuna se on kalataloudellisesti merkittävimpiä kalalajejamme. Kuhan istukasmäärät ovat kohonneet 1990-luvun alusta noin 5 miljoonasta lähes 9 miljoonaan yksilöön. Vuonna 2003 kuhan istukasmäärät olivat 8,7 miljoonaa yksilöä (Ahvonen 2005). Valtaosa kuhista istutetaan luonnonvesiin 1-kesäisinä, jolloin niiden selviäminen ensimmäisestä talvesta on heikompaa istutustuloksien perusteella kuin 1-vuotiaiksi tai 2-kesäisiksi kasvatetuilla kuhilla (Ruuhijärvi & Salminen 2004). Tämä asettaa vaatimuksia kasvattaa kuhia vanhemmiksi viljelyolosuhteissa. Kuhan poikasten kasvatusajan pidentämiseen liittyy kuitenkin riskejä. Se edellyttää tuottavia luonnonravintolammikoita ja pitkää kasvukautta (Ruuhijärvi & Salminen 2004). Ilmaston lämpeneminen saattaa mahdollistaa lammikoiden tuottavuuden lisääntymisen ja kasvukauden pidentymisen, mutta samalla se voi aiheuttaa kasvavan kalatautien riskin. Lisääntyvien kasvatusmäärien ja istutusten tuloksellisuuden varmistamisen vuoksi kuhanviljelyyn liittyviä tautiuhkia pitää seurata entistä tehokkaammin. Erityisen tärkeää on seurata loistauteja, jotka mm. lohikalajien poikastuotannossa ovat keskeisiä kalakuolleisuuden aiheuttajia, ellei niitä seurata ja torjuta systemaattisesti (Rintamäki-Kinnunen & Valtonen 1997, Johnsen & Jensen 1988). Tällä hetkellä kuhan loisia ei tunneta kunnolla viljelyoloissa eikä luonnon vesissä ja niiden vaikutuksia kalaan ei ole tutkittu.

Kuhaa on viljelty pitkään poikasistukkaiksi luonnonravintolammikoissa. Luonnonravintolammikot ovat erinomaisia elinympäristöjä myös monille kotilolajeille, jotka toimivat imumatoloisten (Trematoda) elinkierroissa väli-isäntinä (katso loisten elinkierto alla). Luonnonravintolammikoissa elävistä kotiloista jopa 70 % voi olla infektoituneita imumatoloisilla tuottaen kaloja infektoivia kerkaria -toukkia (Väyrynen ym.

2000), jolloin olosuhteet loisten voimakkaalle lisääntymiselle viljeltävissä kuhissa ovat mahdolliset. Imumatojen kerkaria -toukkia saattaa kulkeutua viljelylaitoksille myös yläpuolisista vesistöistä tuloveden mukana. Käytännössä imumatojen esiintymistä luonnonravintolammikkoviljelyssä on lähes mahdotonta estää, mutta sitä voidaan vähentää estämällä lintujen (loisten pääisännät) pääsy allasalueelle sekä kuivaamalla ja kalkitseamalla kasvatusaltaat kerran vuodessa loisten väli-isäntinä toimivien kotiloiden tuhoamiseksi (Rahkonen ym. 2000).

Imumadoista *Diplostomum* -suvun loiset ovat hyvin yleisiä luonnonvesissä. Niitä elää myös murtovedessä, sillä Valtonen ym. (2001) havaitsivat niiden olevan yleisiä pohjoisen Itämeren alueen kaloissa. Tämän suvun loisista silmän linssiin hakeutuva *Diplostomum spathaceum* -loinen on generalisti kalaisännän suhteen ja se infektoi monia kalalajeja (Valtonen & Gibson 1997, Valtonen ym. 1997). Vastaavasti silmän lasiaisessa esiintyvä *Diplostomum gasterostei* -loinen on yleinen ahvenkalojen (*Percidae*), erityisesti ahvenen (*Perca fluviatilis*) ja kiiskan (*Gymnocephalus cernuus*) loinen (Valtonen & Gibson 1997; Karvonen ym. 2006). Pohjois-Amerikassa luonnonravintolammikossa kasvatettavan valkosilmäkuhan (*Sander vitreum*) on aiemmin havaittu soveltuvan *Diplostomum* -suvun loisten väli-isännäksi (Sangster ym. 2003). Täten myös kuha saattaa olla altis *Diplostomum* -suvun loisille. Erityisesti *D. spathaceum* voi aiheuttaa suurta haittaa kaloille. Loisen toukat aiheuttavat kalan silmien linsseihin kaihia erittämiensä aineenvaihduntatuotteidensa seurauksena. Runsaana esiintyessään kaihi voi johtaa jopa kalan sokeutumiseen (Rushton 1937, 1938; Shariff ym. 1980) ja vaikeuttaa muun muassa kalan ravinnon etsintää ja hidastaa kasvua (Growden & Broom 1980; Owen ym. 1993). Tämän lisäksi kalaisäntä voi joutua todennäköisemmin pedon saaliiksi näkökyvyn alenemisesta johtuvan pakoreaktion heikentymisen seurauksena (Seppälä ym. 2005). *Diplostomum* -loisia on tutkittu paljon parasitologian tutkimusryhmässä Jyväskylän yliopistossa. Seppälä ym. (2004, 2005) on havainnut muun muassa *D. spathaceum* -loisen kirjolohelle (*Oncorhynchus mykiss*) aiheuttaman kaihin vaikuttavan kalojen käyttäytymiseen ja alttiuteen saaliiksi joutumiselle loisen lintuisännälle. Karvonen ym. puolestaan ovat tutkineet muun muassa loisten elinkiertoja ja kalan puolustusjärjestelmän reagoimista *Diplostomum* -loisten infektiioon (Karvonen ym. 2005a & 2006). Pääosa tehdystä tutkimuksesta on toteutettu käyttämällä koekalana kirjolohta. *Diplostomum* -loisten taudinaiheuttamiskykyä kuhassa ja vaikutusta kalan käyttäytymiseen ei ole tutkittu.

*Ichthyocotylurus* -suvussa on laji, *Ichthyocotylurus variegatus*, joka loisii pääasiassa ahvenen ja kiiskan ruumiinontelossa. Karvonen ym. (2005b) ja Valtonen ym. (1997) havaitsivat, että *I. variegatus* on Keski-Suomen järvissä todella runsas loinen ahvenessa. Hollannissa *I. variegatus* -loisen esiintymistä ahvenkaloissa on raportoinut Swennen ym. (1979). Loinen esiintyy kystittyneenä pääasiassa uimarakon mutta myös muiden sisäelimiä pinoilla (Faulkner 1989; Swennen ym. 1979). Loisen infektiivisyyttä ja loisten aiheuttaman tulehduksen vaikutusta kuhaan ei tiedetä. *Ichthyocotylurus* -suvussa on myös lohikalojen (*Salmonidae*) kuten siian (*Coregonus lavaretus*) ja taimenen (*Salmo trutta*) sisäelimiä loisivia lajeja kuten *I. erraticus*. Tämän loisen on todettu aiheuttavan ainakin taimenella ja nieriällä (*Salvelinus alpinus*) paikallista sydänlihastulehdusta (Rahkonen ym. 2000. Pulkkinen & Valtonen (1998) havaitsivat siiassa runsaasti *I. erraticus* imumatoa Kaakkois-Suomen järvissä. *Ichthyocotylurus erraticus* imumatoa ilmeni suuria määriä myös Koillis-Suomesta kerätystä tutkimusaineistosta, jossa tutkittiin siian loisyhteisöjen eroja toisiinsa yhteydessä olevilla järvillä (Karvonen & Valtonen 2004). Valtonen ym. (2001) havaitsivat *Ichthyocotylurus* -loisia murtovedessä Perämeren alueen kaloissa. Näiden havaintojen perusteella voidaan *Ichthyocotylurus* -suvun loisten sanoa olevan *Diplostomum* -suvun loisten tapaan hyvin yleisiä luonnonvesissä.

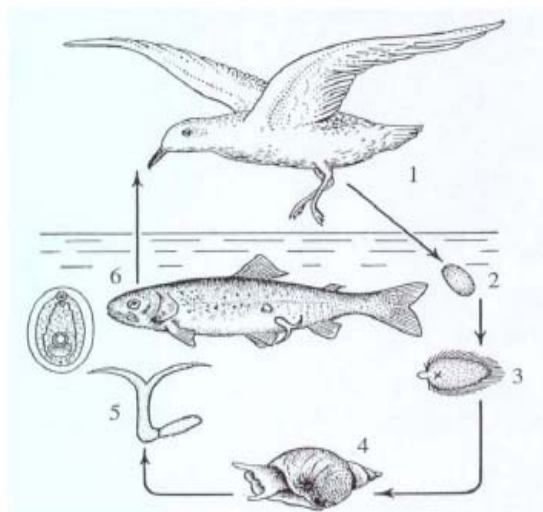
Sekä *Diplostomum* - että *Ichthyocotylurus* -sukujen imumatojen kerkaria-toukkien tunkeutumisvaihe on vaarallinen pikkukaloille. Loiset aiheuttavat verenvuotoja ja tukkivat hiusverisuonia. Loisten läpätunkeutuminen voi järkyttää kalan homeostaasia, jolloin kalan vastustuskyky toissijaisille taudinaiheuttajille alenee syntyvän stressireaktion seurauksena (Chappel ym. 1994). Loisten tunkeutumisvaihe saattaa altistaa kaloja myös ihotulehduksille kalan ihon limapinnan haavaumien ja paikallisen heikentymisen seurauksena (Bandilla ym. 2006). Ravintoketjuissa etenevien loisten elinkierron kannalta on lisäksi välttämätöntä, että ne pääsevät siirtymään tehokkaasti väli-isännästä pääisäntään (Rothschild 1962; Holmes & Bethel 1972). Monet loiset aiheuttavatkin muutoksia isäntiensä käyttäytymisessä siten, että isäntien altistuminen saalistukselle lisääntyy. Tämä saattaa lisätä loisten mahdollisuutta siirtyä elinkierrossaan seuraavaan isäntään (Moore 2002). Seppälä ym. (2004) havaitsivat, että *D. spathaceum* heikentää kirjolohen pakoreaktiota lisäämällä loisittujen kalojen kiinnijäämistä haavittaessa. Loisen aiheuttama muutos pakoreaktiossa saattaa aiheuttaa lisääntyneen todennäköisyyden jäädä saaliiksi ilmasta tulevalle saalistajalle, mikä voi edistää loisen siirtymistä kalaa syövään lintuun. Loisen pääsy pääisäntään on välttämätöntä sen elinkierron kannalta, koska suvullinen lisääntyminen tapahtuu vain pääisännässä. *D. spathaceum* -loisen kyky muokata kalaisäntänsä käyttäytymistä saattaa olla osoitus loiselle hyödyllisestä evolutiivisesta sopeutumasta, jolla se varmistaa pääisäntään pääsyn.

Tämän pro gradu -työn tarkoituksena on selvittää kuhan alttius kolmelle luonnossa yleiselle imumatololajille ja mahdollisille loisten aiheuttamille muutoksille kuhan käyttäytymisessä. Silmän linssiin hakeutuva ja kalalle kaihia aiheuttava *D. spathaceum* on generalistina potentiaalinen kuhan loinen ja sen voidaan olettaa aiheuttavan muutoksia kuhan käyttäytymisessä. *D. gasterostei* on yleinen ja runsas loinen ahvenen ja kiiskan silmän lasiaisessa. Runsaana esiintyessään se voi aiheuttaa häiriöitä kalan näkökyvyssä. *I. variegatus* on luonnossa yleinen sisälöinen ahvenkaloilla. Se saattaa aiheuttaa kalassa häiriöitä sisäelinten toiminnassa kuten uimarakon kaasutasapainon säätelyssä. Tässä tutkimuksessa selvitetään loisten vaikutusta kuhaan mittaamalla kunkin lajin infektoivuutta, ja mahdollisia loisten aiheuttamia muutoksia kalojen uintisyvytydessä ja pakoreaktiossa. Työ arvioi siten kuhan soveltuvuutta loislajeille huomioiden loisten koko elinkierron (siirtyminen kotilosta kalaan sekä siirtyminen kalasta lintuun mahdollisten käyttäytymismuutosten seurauksena). Työ lisää tietoa kuhan imumatololisista ja niiden kuhan viljelylle aiheuttamasta uhkasta, jolloin tuloksia voidaan hyödyntää myös viljelytoiminnassa ja kalaistutuksissa. Lisäksi työ selvittää loisittujen kalojen mahdollisen lisääntyneen altistumisen saalistukselle. Käyttäytymismuutokset olisivat mahdollinen osoitus loisten kyvystä muokata väli-isäntänsä käyttäytymistä.

## 2. LOISTEN ELINKIERTO

Monilla imumadoilla on kolmevaiheinen elinkierto, jossa pääisäntinä toimivat kalaa syövät linnut ja väli-isäntinä kotilot ja kalat (Kuva 1., Chappel ym. 1994). Loiset kehittyvät aikuisiksi lintujen suolessa, jossa ne lisääntyvät suvullisesti. Useat lintulajit soveltuvat loisten pääisänniksi, mutta lokit (*Laridae*) ja tiirat (*Sternidae*) ovat todennäköisesti yleisimpiä isäntiä. Suvullisen lisääntymisen jälkeen loisten munat kulkeutuvat lintujen ulosteiden mukana veteen, missä munista kuoriutuu miracidium -toukkia. Miracidium -toukat hakeutuvat kotiloisäntiin (1. väli-isäntä), joita ovat *Diplostomum* -loisilla pääasiassa *Lymnaea* -suvun keuhkokotilot ja *Ichthyocotylurus* -loisilla *Valvata* -suvun kotilot. Infektoituneissa kotiloissa loiset kehittyvät sporokysteiksi, jotka tuottavat suvuttomasti kerkaria -toukkia. Infektion muodostuminen kotiloissa kestää 4-10 viikkoa riippuen veden lämpötilasta (Chappel ym. 1994), jonka jälkeen yksittäinen kotilo voi tuottaa useita

tuhansia kerkaria -toukkia päivässä usean viikon ajan (Karvonen ym. 2004b). Kerkaria -toukat infektoivat monia makean veden ja murtoveden kalalajeja (2. väli-isäntä) (Valtonen & Gibson 1997, Valtonen ym. 1997) tunkeutumalla kalojen kidusten ja ihon läpi (Whyte ym. 1991, Höglund 1995). Kalaisännässä loisilla on läpätunkeutumisen jälkeen 24 tuntia aikaa sijoittua ennen kuin kalan puolustusjärjestelmä tuhoaa ne (Erasmus 1959, Whyte ym. 1991). Kalaisännässä loiset kehittyvät metakerkaria -toukiksi, jonka jälkeen ne ovat valmiita siirtymään pääisäntään. Täydentääkseen elinkiertonsa loisten täytyy päästä kalaa syövään lintuun (Pääisäntä), mikä tapahtuu kun lintu syö loisitun kalan.



Kuva 1. Imumatoloisten tyypillinen elinkiertö: 1 = pääisäntä, 2 = muna, 3 = miracidium -toukka, 4 = kotiloisäntä, 5 = kerkaria -toukka, 6 = kalaisäntä (muokattu Dogiel ym. 1961).

### 3. AINEISTO JA MENETELMÄT

#### 3.1. Kalojen loisaltistus

Tutkimuksen kokeelliset työt suoritettiin heinä-syyskuussa 2006 Jyväskylän yliopiston Konneveden tutkimusasemalla. Kokeessa käytettiin luonnonravintolammikossa kasvatettuja kuhan poikasia (0+), jotka oli hankittu keskisuomalaiselta kalanviljelylaitokselta. Kalojen loisaltistuksiin käytetyt kotilot (*Lymnaea ovata*, *Lymnaea stagnalis* ja *Valvata macrostoma*) kerättiin Konneveden Pitkälahdesta (62°36'N, 26°21'E) 16.–21.7.2006 välisenä aikana. *Lymnaea ovata* ja *L. stagnalis* -kotilot kerättiin käsin järven rantavyöhykkeestä ja *V. macrostoma* -kotilot kerättiin 1-4 metrin syvyydestä käyttäen pohjakelkkaa. Kerätyt kotilot pidettiin yksitellen lasipurkeissa (0,5 litraa vettä; 20 °C) pöytävalaisimen alla, jolloin kotiloista vapautuvat loisten kerkaria -toukat havaittiin. Kotiloiden tuottamat loisilajit määritettiin tutkimusmikroskoopilla käyttäen 120 kertaista suurennosta. Infektoituneet kotilot säilytettiin jääkaapissa (6 °C) kerkarioiden parveilun ehkäisemiseksi ja niitä ruokittiin lehtisalaatilla ja detrituksella kalojen loisaltistusten aloittamiseen asti.



Koekalat altistettiin kolmelle eri imumatoloslajille 23.7.2006. Koekalojen loisaltistuksiin käytettiin *Diplostomum spathaceum* (kotiloisäntä: *Lymnaea stagnalis*), *Diplostomum gasterostei* (kotiloisäntä: *Lymnaea ovata*), ja *Ichthyocotylurus variegatus* (kotiloisäntä: *Valvata macrostoma*) imumatolaisia. Infektoituneet kotilot (*Lymnaea stagnalis* 5 kpl, *Lymnaea ovata* 5 kpl, *Valvata macrostoma* 21 kpl) siirrettiin jääkaapista 20 °C lämpötilaan pöytävalaisimen alle vuorokausi ennen loisaltistuksien aloittamista, ja lasipurkkeihin vaihdettiin vesi kahdeksan tuntia ennen infektointien aloittamista. Toisin sanoen, kotiloiden annettiin tuottaa kerkaria -toukkia 7,5 tunnin ajan ennen kokeen aloittamista, joten loisaltistuksissa käytettyjen kerkarioiden ikä vaihteli 30 minuutin ja 8 tunnin välillä. Kotiloiden tuottamat kunkin loislajin kerkariat yhdistettiin yhdeksi seokseksi, josta mitattiin toukkien tiheys laskemalla lohkotulla Petri-maljalla 10 kappaletta 1 ml:n vesinäytteitä. Loisten lukumäärä laskettiin tutkimusmikroskoopilla käyttäen 120 kertaista suurennosta. Näytteiden loistiheyden perusteella laskettiin loisaltistuksissa käytettävien loisseosten määrät (katso alla).

Koekalat altistettiin kerkarioille 14 altaassa. Kussakin altaassa oli 20 satunnaisesti valittua kalaa. Koekalat altistettiin kahdella eri loisannoksella, jotka olivat joko 50 tai 100 loista yhtä kalaa kohden. Täten kullakin loislajilla infektoituja kaloja tuotettiin kaksi eri infektiotasoa. Kaksi satunnaisesti valittua allasta sai yhden loislajin kerkaria -altistuksen. Kahdessa altaassa kalat jätettiin kontrollikaloiksi, joille tehtiin loisseosta vastaavalla vesimäärällä valealtistus ja muutkin samat toimenpiteet kuin loisille altistetuille kaloille. Altistuksessa veden läpivirtaus altaissa pysäytettiin. Vesimäärä laskettiin 15 litraan (14,0 °C) ja altaita hapetettiin akvaariopumpuilla. Kolmekymmentä minuuttia loisseosten altaisiin lisäämisen jälkeen veden läpivirtaus kytkettiin päälle ja altaiden vesimäärä nostettiin 80 litraan. Loisaltistuksen jälkeen kalat säilytettiin näissä olosuhteissa (valoisausaika klo 6.30–21.30) kahden kuukauden ajan käyttäytymiskokeen aloittamiseen asti. Kalojen säilytyksen aikana ilmeni *Flavobacterium columnare* -bakteeritulehdus, joka lääkittiin antibiootilla ennen kokeen aloittamista. Käyttäytymiskokeessa oli 105 kalaa ja kalojen infektioste määritettiin 118 kalasta. Säilytyksen aikana kaloja ruokittiin päivittäin pellettirehulla.

### 3.2. Käyttäytymiskoe

Käyttäytymiskoe tehtiin 4.9–16.9.2006 välisenä aikana. Kokeessa mitattiin kalojen oleskelusyvyyttä sekä pakoreaktion voimakkuutta. Kokeessa käytettiin viittä läpinäkyvää muoviputkea. Putkien korkeus oli 205 cm ja halkaisija 20 cm. Vesipatsaan korkeus putkissa oli 200 cm ja se oli jaettu 10:een 20 cm:n osaan. Vesi virtasi putkiin 5 cm pohjan yläpuolelta ja ulos pinnasta (virtaama 1,5 litraa/min). Putkien pohjalla oli tumma kumilevy. Kutakin putkea valaistiin yläpuolelta 60 watin hehkulampulla ja valo-pimeägradientti säädettiin samankaltaiseksi kaikissa putkissa. Valonvoimakkuus vaihteli niin, että se oli 12,6 luxia putkien pintaosassa ja 1,8 luxia pohjaosassa. Putkien välissä oli mustat paperisermit, joilla varmistettiin, että eri putkissa olevat kalat eivät nähneet toisiaan.

Käyttäytymiskoe suoritettiin 21 kertaa käyttäen viittä eri kalaa kullakin kierroksella (kokonaismäärä 15 kalaa kussakin käsittelyssä, n = 105). Kalat siirrettiin haavilla yksitellen säilytysaltaista putkiin siten, että loisittuja ja kontrollikaloja tuli mittauksiin tasaisesti. Kussakin putkessa oli yksi satunnaisesti valittu kala kerrallaan. Tutkittavien kalojen annettiin sopeutua 10 tunnin ajan koeolosuhteisiin ennen kokeen aloittamista. Kokeessa kalojen oleskelusyvyyttä mitattiin kirjaamalla kalojen sijoittuminen vesipatsaassa minuutin välein kahden tunnin ajan. Uintisyyden mittaamisen jälkeen kalojen pakoreaktion voimakkuus ilmasta tulevaa saalistajaa kohtaan mitattiin vetämällä tumma vanerilevy (21,5 × 10,5 cm) lamppujen ja muoviputkien yläreunan välistä läpinäkyvää

kalastussiimaa käyttäen. Tämä aiheutti altaiden päälle varjon, joka jäljitteli lintusaalistajaa. Pakoreaktion voimakkuus mitattiin subjektiivisella asteikolla: 0 = ei reaktiota ja 1 = havaittava reaktio (levottomuus ja/tai sukeltaminen syvempiin vesikerroksiin). Pakoreaktion voimakkuus oli aluksi arvoitettu asteikolla: 0 = ei reaktiota, 1 = levotonta liikehdintää, 2 = hidas vertikaalinen liike vesikerroksien välillä, 3 = välitön pakeneminen sukeltamalla syvempiin vesikerroksiin (katso Seppälä ym. 2004). Asteikon käyttäminen muutettiin, koska suurin osa kaloista oleskeli altaan pohjaosissa, jolloin pakoreaktiot jäivät vähäisiksi. Veden lämpötila kokeessa vaihteli välillä 14,1–17,6 °C, mikä vastasi veden lämpötilaa luonnossa kokeen aikana.

### 3.3. Kalojen infektiostaen määrittäminen

Käyttäytymiskokeen jälkeen kaikki tutkimuksessa käytetyt kalat (n = 118) lopetettiin 5 % neilikkaöljy-vesiseoksella. Mahdolliset alkueläinloisten, monogeenien tai äyriäisryhmän loisten aiheuttamat tartunnat tarkastettiin pääsääntöisesti kaikilta kaloilta 40 kertaisella suurennoksella; iholta ja kiduksilta tutkittiin limanäytteet. Kokeiden aikana ei todettu muiden loisryhmien aiheuttamia epidemioita, jotka olisivat saattaneet vaikuttaa koekalojen käyttäytymiseen.

Kalojen pituus ja massa mitattiin. Kaloista määritettiin *D. spathaceum* -loisen aiheuttaman loiskaihin voimakkuus käyttäen Kowa slit lamp SL-14 mikroskooppia, jolla arvioitiin kalan silmän linssistä kaihin prosentuaalinen peittävyys asteikolla 0-5 (0 = 0 %, 1 = 0-25 %, 2 = 25–50 %, 3 = 50–75 %, 4 = 75–100 %, 5 = 100 %). Tämän jälkeen kalojen molemmat silmät preparoitiin ja *D. spathaceum* -loisten määrä silmien linssissä sekä *D. gasterostei* -loisten määrä silmien lasiaisissa laskettiin. Koekaloissa ilmeni *D. spathaceum* -loisen taustainfektiota. Se otettiin tuloksissa huomioon *D. spathaceum* -loiselle altistettujen kuhien kohdalla loisten määriä laskettaessa siten, että silmien linssien loisten lukumääristä vähennettiin muissa käsittelyissä (kontrolli, *D. gasterostei* 50 & 100, ja *I. variegatus* 50 & 100) havaittujen loisten lukumäärien keskiarvo (loisten lukumäärä: keskiarvo 5,7 ja keskihajonta  $\pm$  2,2). Taustainfektiokorjausta ei tehty loiskaihin voimakkuutta määrittäessä.

*I. variegatus* -loisten määrä kalojen ruumiinontelossa laskettiin ja loisten sijoittuminen eri elimiin (sydän, maksa, suoliliepeet, uimarakko/munuainen) määritettiin. Uimarakko ja munuainen luokiteltiin yhdeksi elimeksi, koska niiden erottaminen oli mahdotonta kalojen pienen koon takia. Loiset laskettiin stereomikroskoopin (suurennos 25 $\times$  tai 50 $\times$ ) avulla näytteistä jotka oli puristettu kahden lasilevyn väliin.

### 3.4. Tulosten analysointi

Loislajien ja loisannoksien vaikutus loisten läpätunkeutuvuuteen analysoitiin käyttäen kaksisuuntaista varianssianalyysiä (ANOVA). Analyysissä käytettiin riippuvana muuttujana loisten prosentuaalista läpätunkeutuvuutta (osuus kerkaria-toukista jotka infektoivat kalan) ja riippumattomina kiinteinä muuttujina altistuksessa käytettyä loislajia (3 tasoa) ja loisannosta (2 tasoa). Aineistolle tehtiin arcsin neliöjuurimuunnos, jotta varianssien yhtäsuuruusoletus saatiin voimaan. Yksityiskohtainen kunkin loislajin eri annoksien välinen vertailu tehtiin käyttäen riippumattomien otosten *t*-testejä, sillä varianssianalyysissä havaittiin yhdysvaikutus loislajin ja loisannoksen välillä (katso tulokset). Koekalojen pituutta ja painoa verrattiin tilastollisesti riippumattomien otosten *t*-testeillä. Vertailulla varmistettiin, ettei kalojen koko eri käsittelyiden välillä eronnut ja siten mahdollisesti vaikuttanut kokeen tuloksiin.

Käyttäytymiskokeessa loisinnan yleinen vaikutus kalojen suosimaan oleskelusyvytyteen testattiin vertaamalla kaikkien loisittujen kuhien ja kontrollikuhien keskimääräisiä oleskelusyvytyksiä käyttäen riippumattomien otosten *t*-testiä. Yksityiskohtainen vertailu eri loislajien ja loisannosten välillä tehtiin kaksisuuntaisella varianssianalyysillä (ANOVA), jossa riippuvana muuttujana käytettiin kunkin kuha yksilön keskimääräistä oleskelusyvytyttä ja riippumattomina kiinteinä muuttujina altistuksessa käytettyjä loislajeja ja loisannoksia. Pakoreaktiota mittaavassa kokeessa aineistoa ei analysoitu tilastollisesti kalojen pohjahakuisuuden ja heikkojen pakoreaktioiden vuoksi (katso tulokset). Aineiston tilastollisessa analysoinnissa käytettiin SPSS 14.0 tilasto-ohjelmaa (SPSS Inc.).

## 4. TULOKSET

### 4.1. Kalojen infektioste

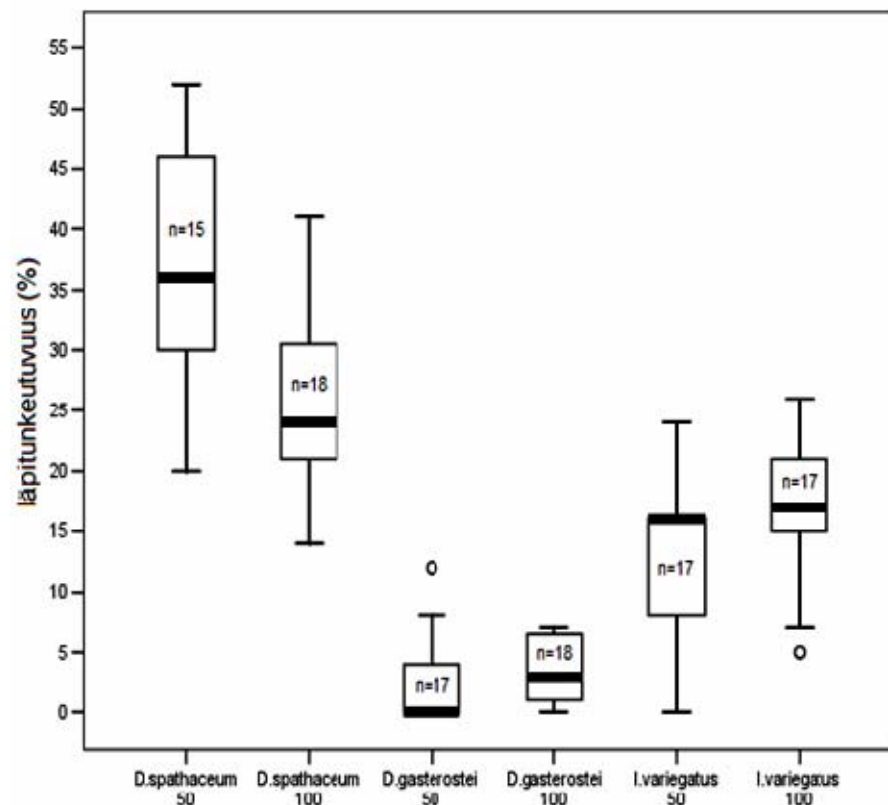
Kuhat erosivat alttiudessa eri loislajien infektiolle (Taulukko 1 ja 2; Kuva 2). Silmän linssiin hakeutuvan *D. spathaceum* -loisen läpitukeutuvuus oli muihin lajeihin verrattuna korkein. Alhaisimmat loismäärät havaittiin kaloilla, jotka oli altistettu silmän lasiaiseen hakeutuvalle *D. gasterostei* -loiselle (Taulukko 1 ja 2; Kuva 2). Loislajin ja loisannoksen välillä havaittiin lisäksi merkitsevä yhdysvaikutus loisten läpitukeutuvuudessa (Taulukko 2). Tämä johtui erilaisesta altistusannoksen vaikutuksesta loisten infektiivisyyteen eri loislajien välillä. *D. spathaceum* -loisen infektiivisyys oli suurempi annoksella 50 kuin annoksella 100 (kahden riippumattoman otoksen *t*-testi: d.f. = 31; *t* = 3,540; *p* = 0,001; Kuva 2). Pääasiassa kalan uimarakkoon ja munuaiseen hakeutunut *I. variegatus* oli puolestaan infektiivisempi annoksella 100 kuin annoksella 50 (kahden riippumattoman otoksen *t*-testi: d.f. = 32; *t* = -1,976; *p* = 0,057; Kuva 2). *D. gasterostei* -loisen infektiivisyydessä ei ollut eroa annoksien välillä (kahden riippumattoman otoksen *t*-testi: d.f. = 33; *t* = -1,851; *p* = 0,073; Kuva 2), ja infektiivisyys oli alhainen molemmilla annoksilla.

Taulukko 1. Kuhan alttius eri loislajeille (*Diplostomum spathaceum*, *Diplostomum gasterostei* ja *Ichthyocotylurus variegatus*) ja loisannoksille (50 & 100 loista/kala).

käsittely	N	loisinnan prevalenssi (%)	loismäärät loisittua kuhaa kohden keskiarvo ( $\bar{x}$ )	keskihajonta ( $\sigma$ )	max. loismäärä
<i>D. spathaceum</i> 50	15	100	18,4	5,0	26
<i>D. spathaceum</i> 100	18	100	25,8	7,9	41
<i>D. gasterostei</i> 50	17	29,4	3,4	1,8	6
<i>D. gasterostei</i> 100	18	77,8	3,9	2,5	7
<i>I. variegatus</i> 50	17	94,1	6,9	2,8	12
<i>I. variegatus</i> 100	17	100	17,3	5,7	26

Taulukko 2. Kaksisuuntainen varianssianalyysi (ANOVA) loislajien ja -annoksien välisistä infektiivisyseroista kuhaan prosentuaalisen läpätunkeutuvuuden perusteella.  $\eta^2$  - arvo ilmaisee prosentuaalisen osuuden, jonka kukin tekijä (loislaji, annos, loislaji  $\times$  annos) selittää infektiivisyyden kokonaisvaihtelusta.

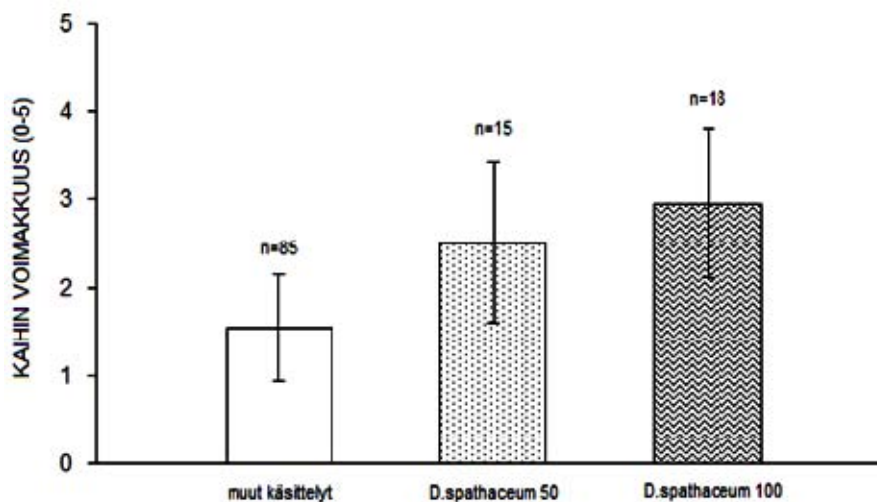
vaikutus	infektiivisyys				
	df	MS	F	P	$\eta^2$
loislaji	2	1.953	174.70	<0.001	76.6
annos	1	0.001	0.12	0.728	<1.0
loislaji x annos	2	0.102	9.110	<0.001	4.0
virhe	96	0.011			



Kuva 2. *Diplostomum spathaceum*, *Diplostomum gasterostei* ja *Ichthyocotylurus variegatus* -loisten prosentuaalinen läpätunkeutus kuhaan (osuus kerkarioista jotka infektoivat kalan) kahdella loisannoksella (50 ja 100 kerkaria -toukkaa per kala). Kuvassa on esitettyä mediaanit (paksu viiva), kvartiilit (laatikot), vaihteluvälit (viikset) ja reunahavainnot (ympyrät).

Loisinnalla ei ollut vaikutusta kalojen kokoon (kontrollikalojen pituus; k.a.  $\pm$  s.d. =  $73 \pm 8,5$  mm; massa; k.a.  $\pm$  s.d. =  $2,87 \pm 0,8$  g, loisittujen kalojen pituus; k.a.  $\pm$  s.d. =  $72 \pm 9,1$  mm; massa; k.a.  $\pm$  s.d. =  $2,58 \pm 0,8$  g; kahden riippumattoman otoksen  $t$ -testi:  $N_{\text{loisitut}} = 102$ ;  $N_{\text{kontrolli}} = 16$ ; pituus, d.f. = 116,  $t = 0,274$ ,  $p = 0,784$ ; massa, d.f. = 116,  $t = 1,412$ ,  $p =$

0,161). *D. spathaceum* -loinen aiheutti kaloille kaihin muodostumisen, joka ilmeni silmien linsien läpinäkymättömänä valkoisena samentumisena (käsittely 50; k.a. 2,5; s.d.  $\pm$  0,9, käsittely 100; k.a. 2,9; s.d.  $\pm$  0,9, muut loiskäsittelyt; k.a. 1,5; s.d.  $\pm$  0,6; Kuva 3). *Ichthyocotylurus variegatus* havaittiin kystittyneenä kalan ruumiinontelossa, pääasiassa uimarakossa ja munuaisessa (Taulukko 3). Loinen oli kystittyneenä kalassa kahden kuukauden kuluttua loisaltistuksien aloittamisesta.



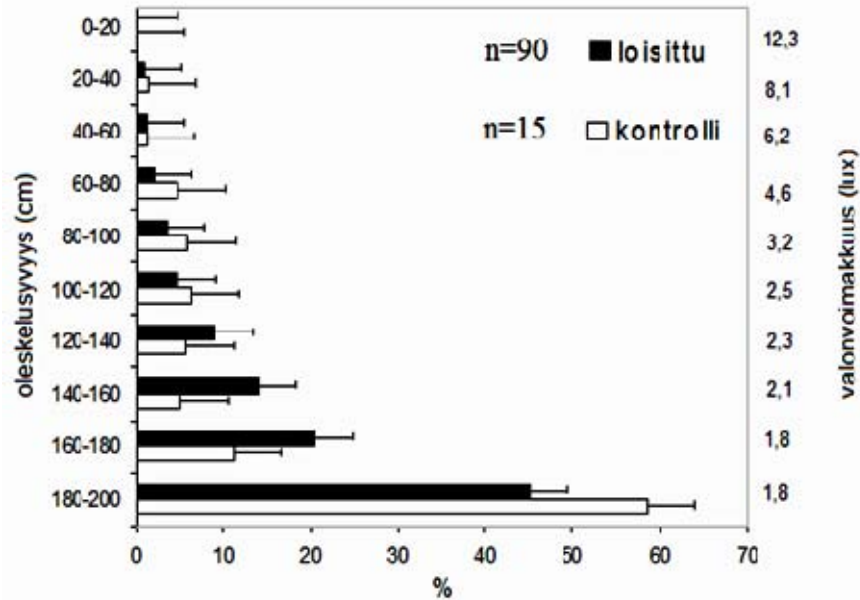
Kuva 3. *Diplostomum spathaceum* -loisen aiheuttaman kaihin muodostuminen kuhien silmien linseissä eri loiskäsittelyiden ja -annoksien välillä. Palkit ilmaisevat kaihin voimakkuuden keskiarvon (0-5 asteikolla) ja viikset keskihajonnan (+/-).

Taulukko 3. *Ichthyocotylurus variegatus* -loisen määrät ja prosentuaalinen sijoittuminen loiselle altistettujen kuhien ruumiinontelossa.

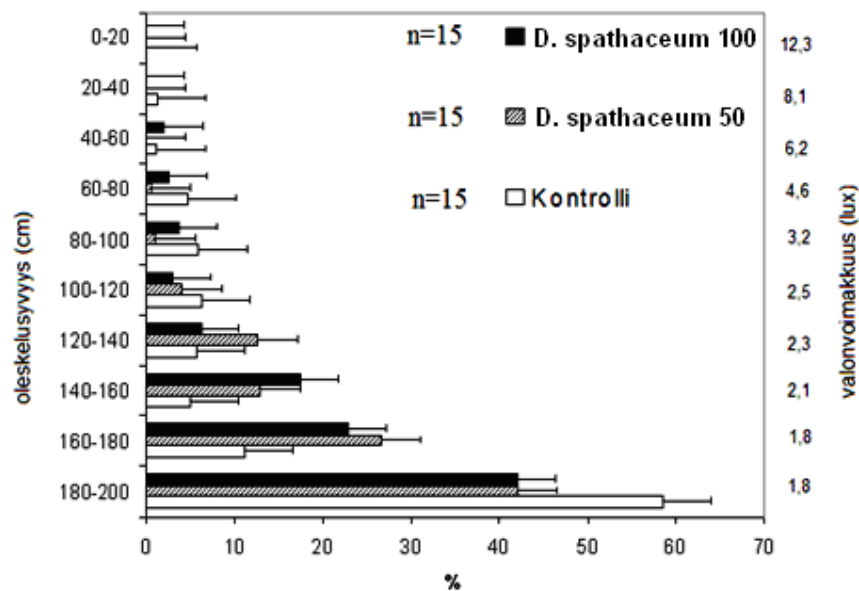
<b>Ichthyocotylurus variegatus</b> n = 34	<b>kpl</b>	<b>%</b>
uimarakko/munuainen	388	95,8
sydän	4	1,0
maksa	5	1,2
suolenpinta	8	2,0
<b>yht.</b>	<b>405</b>	<b>100</b>

#### 4.2. Käyttätymiskoe

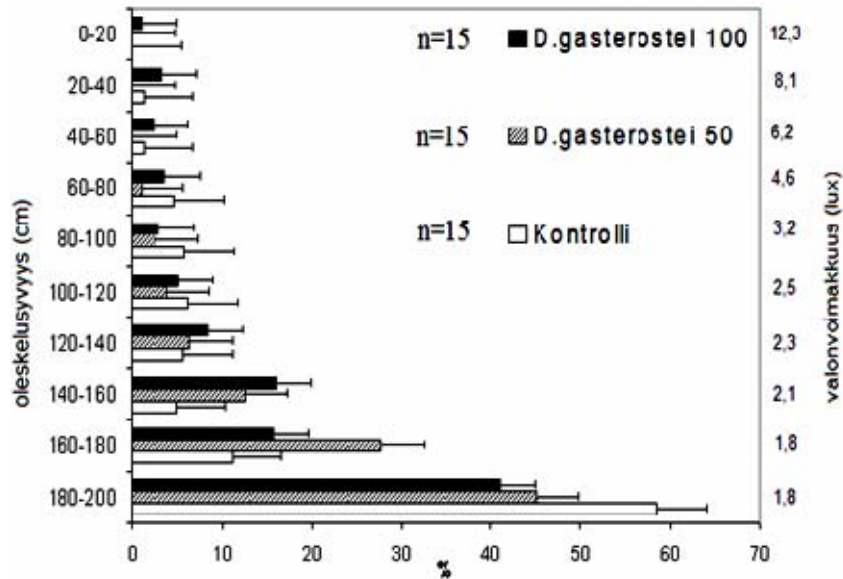
Oleskelusyvyyttä tutkittaessa loisittujen kalojen ja kontrollikalojen käyttäytymisen välillä ei havaittu eroa (kahden riippumattoman otoksen *t*-testi:  $N_{\text{loisittu}} = 90$ ;  $N_{\text{kontrolli}} = 15$ , d.f. = 103,  $t = -0,114$ ,  $p = 0,910$ ; Kuva 4a), eivätkä myöskään eri loislajeilla infektoidut kalat eronneet toisistaan (Taulukko 4; Kuva 4b, 4c, 4d). Suurin osa koekaloista oleskeli vesipatsaan pohjaosissa. Myöskään Loisittujen kalojen ja kontrollikalojen pakokäyttäytymisessä ei havaittu eroja, sillä ainoastaan muutamat kalayksilöt reagoivat putkien yli vedetyn vanerilevyn (lintusaalistaja) aiheuttamaan häiriöön (Taulukko 5).



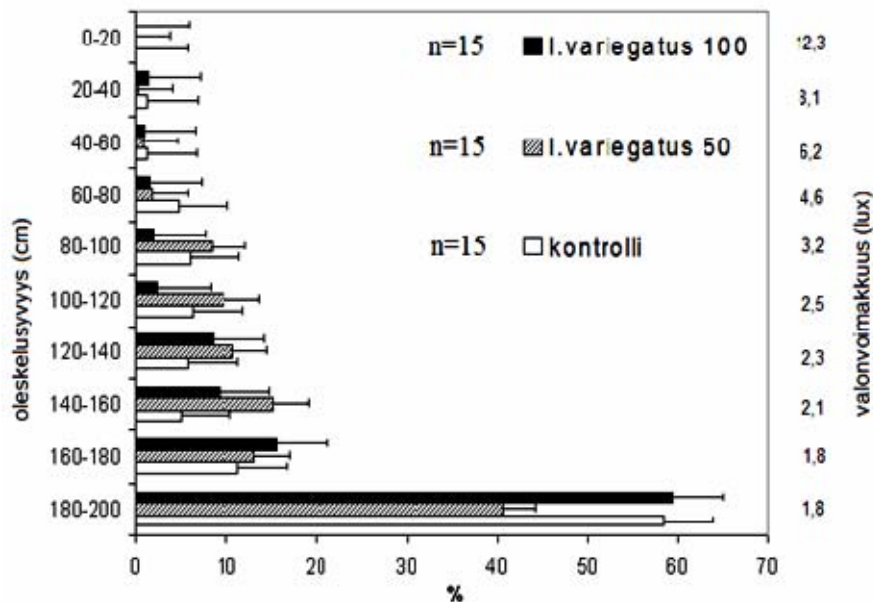
Kuva 4a. Kolmella imumatoloislajilla (*Diplostomum spathaceum*, *D. gasterostei* ja *Ichthyocotylurus variegatus*) loisittujen kuhien ja kontrollikuhien keskimääräisten oleskelusyvyyksien jakaumat putkissa ja valonvoimakkuus eri vesikerroksissa. Kuvassa on esitettyä prosentuaalinen osuus kuhien kokonaisoleskeluajasta eri vesikerroksissa (palkit) ja keskihajonnat (viikset).



Kuva 4b. *Diplostomum spathaceum* -loisella infektoidujen kuhien (0+) ja kontrollikuhien keskimääräisten oleskelusyvyyksien jakaumat putkissa ja keskimääräinen valonvoimakkuus eri vesikerroksissa. Kuvassa on esitettyä prosentuaalinen osuus kuhien kokonaisoleskeluajasta eri vesikerroksissa (palkit) ja keskihajonnat (viikset).



Kuva 4c. *Diplostomum gasterostei* -loisella infektoidujen kuhien (0+) ja kontrollikuhien keskimääräisten oleskelusvyvyksien jakaumat putkissa ja keskimääräinen valonvoimakkuus eri vesikerroksissa. Kuvassa on esitettyä prosentuaalinen osuus kuhien kokonaisoleskeluajasta eri vesikerroksissa (palkit) ja keskihajonnat (viikset).



Kuva 4d. *Ichthyocotylurus variegatus* -loisella infektoidujen (0+) kuhien ja kontrollikuhien keskimääräisten oleskelusvyvyksien jakaumat putkissa ja keskimääräinen valonvoimakkuus eri vesikerroksissa. Kuvassa on esitettyä prosentuaalinen osuus kuhien kokonaisoleskeluajasta eri vesikerroksissa (palkit) ja keskihajonnat (viikset).

Taulukko 4. Kaksisuuntainen varianssianalyysi (ANOVA) loislajien ja – annoksien välisistä vaikutuksista kuhien oleskelusyvyyteen.  $\eta^2$  – arvo ilmaisee prosentuaalisen osuuden, jonka kukin tekijä (loislaji, annos, loislaji  $\times$  annos) selittää oleskelusyvyyden kokonaisvaihtelusta.

vaikutus	oleskelusyvyyks				
	df	MS	F	P	$\eta^2$
loislaji	2	0.343	0.18	0.840	4.0
annos	1	0.158	0.81	0.777	<1.0
loislaji x annos	2	3.846	1.962	0.147	4.4
virhe	84	1.960			

Taulukko 5. Loisittujen kuhien ja kontrollikuhien reaktiot keinotekoista lintusaalistajaa kohtaan prosentteina. Sarakkeessa 0 on niiden kalojen määrä, joissa ei todettu reaktiota ja 1, kun esiintyi havaittava reaktio.

käsittely	n = 105	n	0	1	0 %	1 %
kontrolli		15	13	2	86,7	13,3
<i>D. spathaceum</i> (50 & 100)		30	29	1	96,7	3,3
<i>D. gasterostei</i> (50 & 100)		30	26	4	86,7	13,3
<i>I. variegatus</i> (50 & 100)		30	27	3	90,0	10,0

## 5. TULOSTEN TARKASTELU

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää kuhan alttius kolmen imumatoloislajin infektiolle, ja vaikuttavatko loiset kalojen käyttäytymiseen. Toisaalta tutkimus otti huomioon loisten koko elinkierron ja mittasi kuhan soveltuvuutta loisten väli-isännäksi yleisellä tasolla. Kuha infektoitui merkittävästi *D. spathaceum* ja *I. variegatus* -loisilla. Täten *D. spathaceum* ja *I. variegatus* -loisilla voi olla kalataloudellista merkitystä kuhalle haitallisuuden aiheuttajana suomalaisissa viljelyoloissa. Esimerkiksi Pohjois-Amerikassa on raportoitu vakavia *Diplostomum* -loisten aiheuttamia infektiota luonnonravintolammikoissa kasvatettavassa valkosilmäkuhassa (Sangster ym. 2004). Kuha ei kuitenkaan näyttäisi olevan loisten pääasiallinen isäntä kalan infektoituvuuden ja loisten aiheuttaman käyttäytymisen muutoksen perusteella, sillä kuhan alttiudessa eri loislajeja kohtaan oli eroja ja loiset eivät aiheuttaneet käyttäytymismuutoksia kuhassa. *Diplostomum spathaceum* on generalistiloinen ja infektoi useita kalalajeja. Muissa tutkimuksista, joissa aineisto on kerätty luonnonvesistä, käy ilmi että *I. variegatus* ja *D. gasterostei* esiintyvät kuhaa runsaampina esimerkiksi ahvenissa ja kiiskissä (Valtonen & Gibson 1997; Karvonen ym. 2005b). Tässä tutkimuksessa *I. variegatus* infektoi kuhaa vain kohtalaisesti. *D. gasterostei* puolestaan ei juuri infektoinut kuhaa. Myöskään aikaisemmissa tutkimuksissa esitetty *D. spathaceum* -loisittujen kalojen lisääntynyt oleskelu pintavedessä (Crowden &



Broom 1980) ja kalojen heikentynyt pakokäyttäytyminen (Seppälä ym. 2004) eivät tämän tutkimuksen mukaan ole kuhien lisääntyneeseen saalistukselle altistumiseen johtavia tekijöitä, sillä suurin osa kuhista oleskeli käyttäytymiskokeessa putkien pohjaosissa.

*Diplostomum spathaceum* -loinen saattaa aiheuttaa kohonneen riskin kuhan kasvatuksessa. Loisen kuhalle aiheuttama kaihi voi vaikeuttaa kalan ravinnon etsintää ja hidastaa kasvua (Growden & Broom 1980; Owen ym. 1993). Runsaana esiintyessään *D. spathaceum* saattaa lisäksi aiheuttaa suoraa kalakuolleisuutta viljelyoloissa. Loinen ei kuitenkaan muuttanut kuhan oleskelua pintahakuisemmaksi eikä heikentänyt kalojen pakoreaktiota ilmasta tulevan saalistajan lähestyessä. Brassard ym. (1982) kuitenkin havaitsivat, että *D. spathaceum* -loisella infektoidut kalat voivat altistua saalistukselle välittömästi loisaltistuksen jälkeen. Tässä tutkimuksessa mittauksia ei tehty heti loisaltistuksen jälkeen, vaan vasta loisten kehittyttyä metakerkaria-toukiksi. On mahdollista, että infektio on voinut vaikuttaa kalojen käyttäytymiseen myös tässä tutkimuksessa heti loisaltistuksen jälkeen. Käyttäytymismuutokset voisivat viljelyoloissa lisätä lintusaalistuksesta johtuvia kalatappioita (Rintamäki Päivi, suullinen tiedonanto), ja voisivat johtaa viljelylammikoiden imumatoloiskannan vahvistumiseen loisen elinkierron täydentymisen myötä. *I. variegatus* -loisen infektio ei todennäköisesti aiheuta riskiä kuhan kasvatuksessa, vaikka se kykenee infektoimaan kuhan. Loinen esiintyy metakerkaria-vaiheessa kalassa kystittyneenä eikä haittaa kalan ravinnonhankintaa tai elintoimintoja, vaikka loinen esiintyykin pääasiassa uimarakossa, joka on keskeinen elin kalan oleskelusyvyyden säätelijänä. On kuitenkin mahdollista, että loinen vaikuttaa kuhan uimarakon kaasutasapainon säätelyyn ja sitä kautta oleskelusyvyyteen jo ennen kystittymistä tai infektion alkuvaiheessa samaan tapaan kuin *D. spathaceum* vaikutti Brassard ym. (1982) tekemässä tutkimuksessa. Ennen kehittymistään metakerkaria -vaiheeseen loinen voi muuttaa kuhan käyttäytymistä ja altistaa kalat saaliiksi joutumiselle. *Diplostomum gasterostei* ei kyennyt juuri infektoimaan kuhaa, joten se ei ilmeisimmin aiheuta uhkaa kalanviljelylle. Loinen kuitenkin kykeni pääsemään kuhan monimutkaisen puolustusjärjestelmän läpi, mikä on osoitus jonkinlaisesta yhteensopivuudesta, mutta myös siitä ettei kuha ole loiselle tarpeeksi altis ollakseen merkittävä väli-isäntä sen elinkierrossa.

Muiden loisryhmien loisia ei tutkimuksessa käytetyissä kaloissa havaittu. Kuhien säilytyksen aikana puhjennut *F. columnare* -bakteeritulehdus ei todennäköisesti johtunut kalojen loisaltistuksista, vaan kohonneesta veden lämpötilasta. Kokeiden aikana allasveden lämpötila vaihteli 14,1–17,6 °C asteen välillä. Suomalainen ym. (2005) havaitsivat, että *D. spathaceum* -loisella altistetut kirjolohet eivät olleet alttiimpia *F. columnare* -bakteeritulehduksen puhkeamiselle, vaan taudin puhkeaminen oli selvästi riippuvainen veden lämpötilasta ja kalatiheydestä. Kuhan on havaittu suosivan hämääriä valaistusolosuhteita viljelyolosuhteissa (Luchiari ym. 2006). Kuhien pohjahakuisuus ei kuitenkaan johtunut kokeen valaistusolosuhteista, sillä putkien valonvoimakkuudet olivat alhaiset. Lisäksi esikokeessa koekalojen käyttäytymisen muutosta seurattiin puolittamalla valonvoimakkuus yhden vuorokauden ajaksi. Valonvoimakkuuden puolittaminen ei vaikuttanut kuhien oleskelusyvyyteen. Kalojen käyttäytyminen ja saalistukselle altistuminen ei riippunut kalan koosta, sillä tutkimuksessa käytettyjen kalojen pituuden ja massat eivät eronneet.

Kokeessa käytetyt loisannokset (50 tai 100 kpl/kala) olivat melko alhaisia verrattuna mm. Seppälän ym. (2004) ja Karvosen ym. (2003) (250 *D. spathaceum* -loista/kala) kirjolohella tekemiin tutkimuksiin. Luonnonvesistä otetuista kalanäyteistä on määritetty jopa useita satoja kappaleita samaa loisalajia yhdestä kalayksilöstä (Valtonen & Gibson 1997; Marcogliese ym. 2001). Jos tässä tutkimuksessa kalojen infektointeihin käytetyt loismäärät olisivat olleet suurempia tai loisten taudinaiheuttamiskyky olisi ollut

voimakkaampi, mahdolliset loisten haittavaikutukset ja käyttäytymisen muutokset kuhassa olisivat voineet tulla paremmin esiin. Toisaalta tutkimuksessa käytetyt loismäärät olivat varmasti riittäviä tutkittaessa kuhan alttiutta eri loislajeille ja loisten haittoja, sillä lajien väliset infektiivisyserot tulivat selvästi esiin. Esimerkiksi *D. spathaceum* -loisen määrät kuhan silmän linssissä olivat suhteellisesti samankaltaisia kuin kirjolohella (Seppälä ym. 2004) tehdyssä tutkimuksessa.

*D. spathaceum* -loisen aiheuttamalla taustainfektiolla on osittain voinut olla vaikutusta tutkimuksen tuloksiin. Se on saattanut estää tutkimuksessa käytettyjen loisten pääsyä kuhaan, sillä taustainfektiosta on voinut syntyä kuhalle osittainen resistenssi käytettyjä loisia vastaan. Kirjolohelle aiheutuu *D. spathaceum* -altistuksesta immuunireaktio (immunologinen muisti), mikä suojaa sitä myöhemmältä altistukselta loiselle (Karvonen ym. 2004). Tämä on saattanut estää osaa *D. spathaceum* -loisista tunkeutumasta kuhaan. Immuunireaktion syntymistä kuhassa tukee se, että *D. spathaceum* oli infektiivisempi läpäisyprosentin perusteella annoksena 50 kuin annoksena 100, jolloin kalan puolustusjärjestelmä toimisi tehokkaammin, kun kalojen kohtaama loismäärä on suurempi. Karvonen ym. (2005a) havaitsivat kirjolohen immuniteettiä *D. spathaceum* -loista vastaan käsitellessä tutkimuksessa, että kalat jotka eivät olleet kohdanneet loista aikaisemmin olivat huomattavasti alttiimpia loisen läpätunkeutumiselle verrattuna kaloihin, jotka olivat kärsineet kevyestä loiskuormasta aikaisemmin. On myös mahdollista, että taustainfektio on aiheuttanut kuhissa immuunireaktion, joka on johtanut resistenssiin myös *D. gasterostei* ja *I. variegatus* -loisia vastaan. Immuunireaktio on voinut vaikuttaa kuhassa loisten läpätunkeutumiseen samankaltaisesti kuin kirjolohella ja *D. spathaceum* -loisella tehdyssä tutkimuksessa. Toisaalta tässä tutkimuksessa kuhassa ei todennäköisesti ehtinyt kehittymään spesifiä immunologista muistia lyhyen aikavälin ja altistusajan vuoksi, kuten Karvosen ym. (2005a) tutkimuksessa, jolloin immuunireaktion voimakkuus ja tehokkuus oletettavasti jäivät pienemmiksi. *Diplostomum gasterostei* ei kyennyt infektoimaan kuhaa juuri lainkaan. Vaikka *D. gasterostei* on luonnossa runsas Suomen muissa ahvenkaloissa (kiiski & ahven), se on soveltuvien väli-isäntien suhteen kapea-alaisempi verrattuna generalisti *D. spathaceum* -loiseen. On todennäköisempää, että kuha ei sovellu luontaisesti loisen väli-isännäksi, koska *Diplostomum* -loisten elinkierrrot ovat eriytyneet toisistaan kotilo- ja kalavaiheessa. Elinkiertojen eriytyminen voi olla osoitus aiemmista kilpailutilanteista lajien välillä (Karvonen ym. 2006). Elinkiertojen eriytyminen on voinut johtaa *D. gasterostei* -loisen erikoistumiseen kalaisännän suhteen siten, ettei se kykene infektoimaan kuhaa. Yleensä viljelyolosuhteissa allasvesi johdetaan aina luonnonvesistä, jolloin tuloveden mukana tulee aina loisia (Valtonen & Koskivaara 1994). Myös Konneveden tutkimusaseman allasrakennuksen tulovesi johdetaan viereisestä Konnevedestä. Tuloveden mukana tulevien loisten vaikutuksesta tietyn loislajin infektoivuuteen ja esiintyvyyteen ei voi koskaan tehdä yleistettäviä johtopäätöksiä ilman tarkkoja tutkimuksia sekä eri loislajien että eri kalalajien kesken.

Käyttäytymiskokeessa eri loislajeilla infektoituilla kuhilla ei ilmennyt sellaisia käyttäytymismuutoksia, jotka voisivat lisätä kalojen altistumista lintujen saalistukselle. Edes *D. spathaceum* -loisilla infektoituneet kalat eivät poikenneet käyttäytymiseltään vaikka loisinta aiheutti kaloille melko voimakkaan kaihin muodostumisen ja siten mahdollisesti näkökyvyn heikentymisen. Tämä ei kuitenkaan välttämättä tarkoita, ettei loinen kykene vaikuttamaan kuhan saalistusalttiuteen. *Diplostomum spathaceum* -loisen elinkierrrosta tiedetään hyvin vähän loisen pääisäntien osalta. On mahdollista, että lorkien (*Laridae*) sijaan loisen kannalta tärkeimpiä pääisäntälajeja ovat pääasiassa kalaa syövät lintulajit, kuten tiirat (*Sternidae*), kuikat (*Gavidae*), uikut (*Podicipedidae*) ja koskelot (mm. suku *Mergus*). Lokit ovat ravinnonkäytöltään huomattavasti monipuolisempia ja niiden

saalistus rajoittuu ainoastaan veden pintakerrokseen (Götmark 1984; Hario 1986; Lokki & Palmgren 1997). Äsken mainituista pääasiassa kalaa syövästä linturyhmistä ainoastaan tiirojen saalistus rajoittuu veden pintakerrokseen, muiden ryhmien saalistuksen tapahtuessa sukeltamalla ja ulottuen myös veden syvempiin kerrokseen (Lehtonen 1981; Lokki & Palmgren 1997). Esimerkiksi kuikat pystyvät sukeltamaan ainakin 20 metrin syvyyteen ja kykenevät kymmenien sekuntien sukelluksiin (Lokki & Palmgren 1997). Mikäli *D. spathaceum* -loisen elinkierrossa yleisimpinä pääisäntinä toimivat sukeltamalla saalistavat ja pääosin kalaravintoa käyttävät linnut lokkien sijaan, niin aikaisemmissa tutkimuksissa esitetyt tulokset, joissa loisittujen kalojen on havaittu oleskelevan veden pintakerroksissa (Growden & Broom 1980), eivät olisi loisen pääisäntään siirtymisen kannalta välttämättömiä. Kuha on hämääraaktiivinen ja pohjan läheisyydessä viihtyvä kalalaji (Koli 1998). Se on elintavoiltaan ja liikkumisaktiivisuudeltaan erilainen verrattuna esimerkiksi paljon liikkuviin päiväaktiivisiin lohikaloihin. On hyvin mahdollista, että kuha toimii *D. spathaceum* -loisen ja *I. variegatus* -loisen väli-isäntänä juuri näiden sukeltamalla saalistavien lintujen kohdalla, sillä tämä tutkimus mittasi ainoastaan loisten kahta mahdollista vaikutustapaa (oleskelusyvyys ja pakoreaktio). Loisten mahdollista vaikutusta esimerkiksi kalan suojaväriytyksen tai muihin saalistukselta suojaavien ominaisuuksien heikentymiseen ei tässä tutkimuksessa mitattu. Imumatoloisille mahdollisesti soveltuvia lintulajeja olisi syytä tutkia esimerkiksi suolinäytteiden perusteella, jotta loisten pääisännistä saataisiin lisää tietoa.

Ekologisesti kuha soveltui *D. spathaceum* ja *I. variegatus* -loisten väli-isännäksi, mutta se ei soveltunut *D. gasterostei* -loisen väli-isännäksi kovin hyvin, sillä kuhat eivät juuri infektoituneet loisaltistuksessa. Kalaisännän ja loisen yhteensopivuus voi olla osoitus yhteisestä evolutiivisesta historiasta, sillä suurin osa loisista on kapea-alaisia käyttämiensä isäntien suhteen. Luonnossa kalan ja loisen kohtaamistodennäköisyys riippuu osaltaan kalan biologiasta ja elintavoista, mutta myös kotiloiden biologiasta ja loisten elinkierroista syntyvästä vuorovaikutuksesta. Kalan täytyy ensiksi kohdata loinen ja tämän jälkeen loisen täytyy pystyä infektoimaan kalaisäntä ja elämään siinä. Toisaalta yhteensopivuuden mittarina voidaan pitää myös loisen kykyä siirtyä kalaisännästä seuraavaan isäntään. Tässä tutkimuksessa loisen ja kalan kohtaaminen toteutui. Yhteensopivuudessa oli kuitenkin merkittäviä eroja eri loislajien välillä. Loisten heikko vaikutus kuhan oleskelusyvyteen ja pakoreaktion voimakkuuteen tarkoittavat, että luonnossa kuha ei ilmeisimmin sovellu hyvin tutkimuksessa käytettyjen loisten väli-isännäksi. Merkittävää yhteensopivuutta loisten ja kuhan välillä ei näillä perusteilla voida katsoa olevan. Kuha eroaa elintavoiltaan, yleisyydeltään ja levinneisyydeltään ahvenesta ja kiiskestä. Pääasiassa selkävesissä ja syvässä esiintyvän kuhan ja rantavyöhykkeessä *Lymnaea* -suvun kotiloiden (*Diplostomum* -loisten 1. väli-isäntä) elinalueet eivät luonnossa kohtaa. Matalassa vedessä ja rantavyöhykkeessä esiintyvien ahvenen ja kiisken ja *Lymnaea* -suvun kotiloiden elinalueet puolestaan kohtaavat. Pällekkäisten esiintymisalueiden vuoksi on oletettavaa, että ahven ja kiiski soveltuvat kuhaa paremmin *Diplostomum* -loisten väli-isänniksi. *Diplostomum spathaceum* kykeni kuitenkin infektoimaan kuhaa. Se on väli-isäntänsä suhteen generalisti ja pystyy infektoimaan monia eri kalalajeja (Valtonen & Gibson 1997). Kuha ei ollut altis *D. gasterostei* -loisen aiheuttamalle infektiolle, vaikka loinen on luonnossa yleinen ja runsaslukuinen Suomen muissa ahvenkaloissa. *Diplostomum gasterostei* on kalaisäntänsä suhteen erikoistuneempi kuin *D. spathaceum* (Valtonen & Gibson 1997). Niillä on myös eri kotiloisännät, mikä voi johtua eriytyneistä elinkierroista ja mahdollisista aikaisemmista kilpailutilanteista loislajien kesken (Karvonen ym. 2006). Kuhan ja *D. gasterostei* -loisen kohtaaminen luonnossa on epätodennäköistä kuten kuhan ja *D. spathaceum* -loisen välillä, koska loisen väli-isäntinä toimivat kotilot ja kuha elävät erilaisissa ympäristöissä. Matalassa vedessä esiintyvistä *Lymnaea* -suvun kotiloista poiketen *I. variegatus* -loisen

kotiloisäntä, *Valvata macrostoma*, esiintyy vesistöissä ranta-alueella mutta myös sen ulkopuolella syvemmissä vedessä (Faltynkova ym. suullinen tiedonanto). Kuha soveltuu edellisiä lajeja paremmin *I. variegatus* -loisen väli-isännäksi myös luonnossa, koska loisen ja kalan kohtaaminen on todennäköisempää. Tässä tutkimuksessa kuha infektoitui *I. variegatus* -loisesta. Loisen prevalenssin ja läpäisyprosentin perusteella kuha soveltuu loisen väli-isännäksi. Loisen läpäisyprosentteissa kuhaan oli kuitenkin suuria yksilöllisiä vaihteluita ja loispvalenssi jäi alle sadan prosentin matalammalla (50 loista/kala) loiskäsittelyllä. Kuhassa ilmenneitä loismääriä verrattaessa Karvosen ym. (2005b) ahvenessa tekemiin *I. variegatus* -havaintoihin, joissa yhdessä ahvenessa saattoi olla 250–300 loisyksilöä, voidaan päätellä että kuha ei ole keskeinen isäntä loiselle. Luonnossa *I. variegatus* esiintyy yleisenä ja runsaslukuisena ahvenessa ja sen levinneisyys ei ole paikallista, vaan loisittuja ahvenia tavataan eri osista vesistöä (Karvonen 2005b). Ahven on Suomen yleisin kala, ja se asuttaa lähes kaikkia suomalaisia vesiympäristöjä. Sen ympäristövaatimukset ovat varsinkin hapen tarpeen ja happamuuden siedon suhteen varsin väljät verrattuna lämmintä vettä ja hyviä happioloja vaativaan kuhaan (Koli 1998). Ahven kutee pääsääntöisesti matalaan veteen kun taas kuha lisääntyy syvemmissä vedessä (Koli 1998). Kuoriuduttuaan ahvenen poikaset hakeutuvat kasvamaan rantavesiin, jossa niiden on todennäköisempää kohdata imumatolaisia kuin kuhan poikasilla, jotka levittäytyvät kasvamaan vapaan veden alueelle (anonyymi 2007; Koli 1998). Lisäksi kuha mielletään avovesien kalalajiksi, jota tavataan harvoin kasvillisuutta kasvavassa rantavyöhykkeessä (Craig ym. 1987; Sonesten 1991; Greenberg ym. 1995; Jepsen ym. 1999; Koed ym. 2000). Kuhan ja *I. variegatus* -loisen kohtaaminen luonnossa ei ole yhtä todennäköistä kuin loisen ja ahvenen kohtaaminen. Täten kuha ei todennäköisesti toimi loisen pääasiallisena isäntänä, vaan laajempaa ekolokeroa käyttävä ahven. Luonnossa ahven on todennäköisesti *I. variegatus* -loisen esiintymiselle avainlaji, jonka puuttuminen saattaisi romahduttaa loislajin esiintymisen luonnonvesissä (Holmes 1979). On tyypillistä, että loisten pääasiallisen kalaisännän lisäksi loinen esiintyy harvalukuisempaan saman sukuisissa kalalajeissa.

Tämän tutkimuksen perusteella kotiloiden ja kalaa syövien lintujen määriä on syytä tarkkailla ja seurata luonnonravintolammikoissa, sillä kuha on altis varsinkin *D. spathaceum* -loisen mutta myös *I. variegatus* -loisen infektiolle. Suositeltavaa on tehdä myös rutiininomaisia mikroskooppitutkimuksia kuhalle varsinkin, jos vähäistä kalakuolleisuutta ilmenee. Säännöllinen kotiloiden poisto ja altaiden kalkitseminen sekä kalaa syövien lintujen pääsyn ehkäiseminen kuhalammikoille ovat tärkeässä asemassa kuhan imumatoloisongelmia ehkäistäessä. Loisia tuottavien kotiloiden määrän päästessä suureksi viljelylammikossa kalakohtainen loisannos voi muodostua suuremmaksi kuin tässä tutkimuksessa, jolloin loisten suorat tai epäsuorat vaikutukset kuhassa voivat olla vakavia ja ennalta arvaamattomia, koska loisten tunkeutumisvaihe kalaan aiheuttaa stressiä ja altistaa kalat taudinaiheuttajille (Wedemeyer, 1976; Strange ym., 1978; Schreck, 1982). Loisten läpitunkeutumisesta aiheutunut kuhan ihon limapinnan heikentyminen huonontaa kuhan puolustuskykyä ihon pinnalla esiintyviä taudinaiheuttajia vastaan. Ilman seurantaa ja hoitoa on mahdollista, että nämä imumatot aiheuttavat kuhanviljelyssä taloudellisia tappioita heikentyneen kasvun ja ravinnonoton sekä suoran ja epäsuoran kalakuolleisuuden kautta.

Kuhanviljelyn asema ja merkitys suomalaisessa kalataloudessa asettavat vaatimuksia kuhan loistautien tutkimiselle ja seurannalle. Kalataloudellinen arvo ja toisaalta kuhan virkistyskalastuksellinen merkitys luovat tärkeät puitteet lajin biologisen tuntemuksen lisäämiselle. Tulevaisuudessa ilmaston lämpenemisestä johtuva oletettava kuhan elinalueiden laajeneminen ja lajin yleistyminen sekä runsastuminen lisäävät kuhan

loistutkimuksen tärkeyttä, sillä tällä hetkellä Suomessa kuha elää levinneisyysalueensa pohjoisrajalla. Lisäksi kuhan loiset tunnetaan huonosti ja niistä on tällä hetkellä olemassa vain vähän tutkimustietoa. Myöskään loisten kuhanviljelylle aiheuttamista uhkista ei tällä hetkellä tiedetä. Tiedon lisääminen kuhan loisista on ensisijaisesti tärkeää kalanviljelyn näkökulmasta, mutta myös biologisessa, ekologisessa ja parasitologisessa mielessä. Käytännön loistutkimus on merkittävässä osassa kuhan suurten viljelymäärien ja luonnonravintolammikoiden aiheuttaman tautiuhkan vuoksi. Lisäksi on tärkeää tutkia myös kuhan loisia luonnonoloissa, sillä luonnonkannat toimivat reservinä kalanviljelylaitosten loiskannoille. Kuhan loisista saatu tutkimustieto auttaa vahvistamaan ja lisäämään nykyistä ekologista tietoa akvaattisessa loistutkimuksessa. Kalojen loiset ovat laaja ja monipuolinen eliöryhmä. Puuttuva tieto kuhan loisista edellyttää jatkamaan lajin loistutkimusta. Tästä tutkimuksesta saatu tieto toimii ohjeena kuhanviljelyn imumatoloisongelmia torjuttaessa ja ehkäistäessä. Tutkimus toimii myös avauksena kuhan ekologiselle loistutkimukselle.

## KIITOKSET

Kiitän professori E. Tellervo Valtosta ja FT Otto Seppälää työn asiallisesta ja kannustavasta ohjauksesta. Kiitoksen ansaitsevat myös Jyväskylän yliopiston Konneveden tutkimusaseman henkilökunta työskentelymahdollisuuksista ja avusta kokeiden tekemisen aikana. Perhettäni haluan kiittää tuesta ja kannustuksesta, erityisesti puolisoni Mia Mattila ja tyttäreni Fanny Iso-Tuisku kannustivat tutkielman tekemisessä ja uskoivat tämän työn valmistumiseen.

## KIRJALLISUUS

- Ahvonen A. 2005. Kala ja rapuistutukset 2003. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, 1-2.
- Anonyymi 2007. Kuha. [http://www.rktl.fi/kala/tietoa\\_kalalajeista/kuha/](http://www.rktl.fi/kala/tietoa_kalalajeista/kuha/) Hakupäivä 17.12.2007
- Arala-Chaves, M. and Sequeira, T. 2000. Is there any kind of adaptive immunity in invertebrates? *Aquaculture*, 191, pp. 247–258.
- Bandilla, M., Valtonen, E.T., Suomalainen, L-R., Aphalo, P. & Hakalahti, T. 2006. A link between ectoparasite infection and susceptibility to bacterial disease in rainbow trout. *Int.J. Parasit.* 36: 987-991.
- Brassard, P., Rau, M.E. & Curtis, M.A. 1982. Parasite-induced susceptibility to predation in diplostomiasis. *Parasitology*, 85, 495-501.
- Chappell, L. H., Hardie, L. J. & Secombes, C. J. 1994. Diplostomiasis: the disease and host-parasite interactions. In: Pike, A. W. & Lewis, J. W. (eds), *Parasitic diseases of fish*: 59-86. Samara Publishing Ltd, Dyfed.
- Craig, J.F. 1987. *The biology of perch and related fish*. London: Croom-Helm.
- Dogiel, V. A., Petrushevski, G. K. & Polyanski, Y. I. 1961. *Parasitology of fishes*. 384 p., Oliver & Boyd, Edinburgh.
- Erasmus, D. A. 1959. The migration of *Cercaria X* Baylis (Strigeida) within the intermediate fish host. *Parasitology* 49: 173-190.
- Faulkner, M. 1989. *Studies on the development of the strigeid trematode, Cotylurus variegatus* (volumes I and III). Queens University, Belfast.

11. Greenberg, L.A., Pazskowski, C.A & Tonn, W.M. 1995. Effects of prey species composition and habitat structure on foraging by two functionally distinct piscivores. *Oikos* 74: 522-532.
12. Growden, A.E. & Broom, D.M. 1980. Effects of the eyefluke, *Diplostomum spathaceum*, on the behaviour of dace (*Leuciscus leuciscus*). *Animal behaviour*, 28, 287-294.
13. Götmark, F. 1984. Food and foraging in five European *Larus* gulls in the breeding season: a comparative review. *Ornis Fennica*, 61, 9-17.
14. Hario, M. 1986. Itämeren loppilinnut: määritys ja esiintyminen. 263 s. Yliopistopaino. Helsinki. SLY:n lintutieto Oy.
15. Holmes, J. C. 1979. Parasite populations and host community structure. In *Host-Parasite interfaces* (ed. Nickol, B.B. ). New York, San Francisco and London. Academic Press.
16. Holmes, J. C. & Bethel, W. M. 1972. Modification of intermediate host behaviour by parasites. In: *Behavioural Aspects of Parasite Transmission* (Ed. by E. U. Canning & C. A. Wright), pp. 123-149. London: Academic Press.
17. Höglund, J. 1995. Experiments on second intermediate fish host related cercarial transmission of the eyefluke *Diplostomum spathaceum* into rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Folia Parasitol.* 42: 49-53.
18. Johnsen, B.O & Jensen, A.J. 1988. Introduction and establishment of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957, on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fry and parr in the River Vefsna, northern Norway. *Journal of Fish Diseases.* 11: 35-45.
19. Marcogliese, D. J., Dumont, P., Gendron, A. D., Mailhot, Y., Bergeron, E. & McLaughlin, J. D. 2001. Spatial and temporal variation in abundance of *Diplostomum* spp. in walleye (*Stizostedion vitreum*) and white suckers (*Catostomus commersoni*) from the St. Lawrence River. *Canadian Journal of Zoology*, 79, 355-369.
20. Karvonen, A., Cheng, G.-H. & Valtonen, E.T. 2005b. Within-lake dynamics in the similarity of parasite assemblages of perch (*Perca fluviatilis*). *Parasitology.* 131: 817-823.
21. Karvonen, A., Kirsi, S., Hudson, P. J. & Valtonen, E. T. 2004b. Patterns of cercarial production from *Diplostomum spathaceum*: terminal investment or bet hedging. *Parasitology* 129: 87-92.
22. Karvonen, A., Paukku, S., Valtonen, E.T. & Hudson, P.J. 2003. Transmission, infectivity and survival of *Diplostomum spathaceum* cercariae. *Parasitology*, 127, 217-224.
23. Karvonen, A., Paukku S., Seppälä, O. & Valtonen, E.T. 2005a. Resistance against eye flukes: naive versus previously infected fish. *Parasitol. Res.* 95: 55-59.
24. Karvonen, A., Terho, P., Seppälä, O., Jokela, J. & Valtonen, E.T. 2006. Ecological divergence of closely related *Diplostomum* (Trematoda) parasites. *Parasitology*, 133, 229-235.
25. Karvonen, A. & Valtonen, E.T. 2004. Helminth Assemblages Of Whitefish (*Goregonus lavaretus*) in interconnected lakes: Similarity As A Function Of Species Specific Parasites And Geographical Separation. *Journal Of Parasitology.* 90: 471-476.
26. Koed, A., Mejlhede, P., Balleby, K. & Aarestrup, K. 2000. Annual movement of adult pikeperch in a lowland river. *Journal Of Fish Biology.* 57: 1266-1279.
27. Koli, L. 1998. Suomen kalat. s. 275-285 Werner Söderström osakeyhtiö.
28. Kurtz, J. and Franz, K. 2003. Evidence for memory in invertebrate immunity. *Nature.* 425, pp. 37-38.
29. Lehtonen, L. 1981. Kalatiiran *Sterna hirundo* poikasvaiheen saalistuksesta ja ravintobiologiasta Järvi-Suomessa. *Ornis Fennica*, 58, 29-40.

30. Little, T. & Kraaijeveld, A. 2004. Ecological and evolutionary implications of immunological priming in invertebrates, *Trends Ecol Evol.* 19 (2), pp. 58–60.
31. Lokki, J. & Palmgren, J. 1997. Suomen ja pohjolan linnut. 495 s. Werner Söderström Osakeyhtiö. Porvoo.
32. Luchiari, A., C., de Morais Freire, F.A., Koskela, J. & Pirhonen J. 2006. Light intensity preference of juvenile pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquacult.* 37: 1572-1577.
33. Moore, J. 2002. Parasites and the Behavior of animals. Oxford University Press, New York.
34. Owen, S. F., Barber, I. & Hart, P. J. B. 1993. Low level infection by eye fluke, *Diplostomum* spp., affects the vision of three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*. *J. Fish Biol.* 42: 803-806.
35. Pulkkinen, K. & Valtonen, E.T. 1998. The use of parasites as tags to elucidate differences between whitefish populations. *Arch. Hydrobiol.Spec. Issues Advanc. Limnol.* 50: 257-271.
36. Rahkonen, R., Vennerström, P., Rintamäki-Kinnunen, P. & Kannel, R. 2000. Terve kala, Tautien ennaltaehkäisy, tunnistus ja hoito. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, 5-72.
37. Rintamäki-Kinnunen, P., Rahkonen M., Mannermaa-Keränen, A-L., Suomalainen, L-R., Mykrä, H. & Valtonen, E.T. 2005. Treatment of ichthyophthiriasis after malachite green: I. Concrete tanks at salmonid farms. *Diseases of Aquatic Organisms*, 64: 69-76.
38. Rintamäki-Kinnunen, P. & Valtonen, E.T. 1997. Epizootiology of protozoans in farmed salmonids at northern latitudes. *Int. J. Parasit.* 27: 89-99.
39. Rothschild, M. 1962. Changes in behaviour in the intermediate hosts of trematodes. *Nature* 193: 1312-1313.
40. Ruuhijärvi, J. & Salminen, M. 2004. The effect of stocking size on survival of fingerling pikeperch (*Sander lucioperca*). In *Proceedings of Percis III: The Third International Percid Fish Symposium* (Barry, T.P., and J.A. Malison, Eds.), pp. 123-124. University of Wisconsin Sea Grant Institute, Madison, WI.
41. Rushton, W. 1937. Blindness in freshwater fish. *Nature*, 140, 1014.
42. Rushton, W. 1938. Blindness in freshwater fishes. *Nature*, 141, 289.
43. Sangster, C.R., Dove, A.D.M. & Bowser P.R. 2004. *Diplostomum* in pond-reared walleye *Stizostedion vitreus*—implications on a management. *Aquacult.* 236: 95-102.
44. Salminen M. & Böhling P. 2002. Kalavedet kuntoon. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, 174–177.
45. Schreck, C. B. (1982). Stress and rearing of salmonids. *Aquaculture* 28: 241-249.
46. Seppälä, O., Karvonen, A. & Valtonen, E. T. 2005. Manipulation of fish host by eye flukes in relation to cataract formation and parasite infectivity. *Animal Behaviour*, 70, 889–894.
47. Seppälä O., Karvonen A. & Valtonen E.T. 2004. Parasite-induced change in host behaviour and susceptibility to predation in an eye fluke-fish interaction. *Anim. Behav.* 68: 257-263.
48. Shariff, M., Richards, R.H. & Sommerville, C. 1980. The histopathology of acute and chronic infections of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson with eye flukes, *Diplostomum* spp. *Journal of fish diseases*, 3, 455-465.
49. Sonesten, L. 1991. The biology of pikeperch - a literature review. Information from the Institute of Freshwater Research. Drottningholm (in Swedish).

50. Strange, R. J., Schreck, C. B. & Ewing, R. D. 1978. Cortisol concentrations in confined juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Transactions of the American Fisheries Society. 107: 812-819.
51. Suomalainen, L-R., Tiirola M., A. & Valtonen E.T. 2005. Influence of rearing conditions on *flavobacterium columnare* infection of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Waulbaum). Journal of Fish Diseases. 28: 271-277.
52. Swennen, C., Heessen H.J.L. & Hocker A.W.M. 1979. Occurrence and biology of the trematodes *Cotylurus (Ichthyocotylurus) erraticus*, *C. (I.) variegatus* and *C. (I.) platycephalus* (Digenea: Strygeidae) in the Netherlands. Netherlands Journal of Sea Research. 13: 161-176.
53. Valtonen E. T. & Gibson D. I. 1997. Aspects of the biology of diplostomid metacercarial (Digenea) populations occurring in fishes in different localities of Northern Finland. *Ann. Zool. Fennici*. 34: 47-59.
54. Valtonen, E.T., Holmes, J.C. & Koskivaara, M. 1997. Eutrophication, pollution and fragmentation: effects on the parasite communities in roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in four lakes in central Finland. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54: 572-585.
55. Valtonen, E. T. & Keränen, A. L. 1981. Ichthyophthiriasis of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., at the Montta hatchery in northern Finland in 1978-79. *Journal of Fish Diseases* 4: 405-411.
56. Valtonen, E. T. & Koskivaara, M. 1994. Relationships between the parasites of some wild and cultured fishes in two lakes and a fish farm in Central Finland. *International Journal for Parasitology* 24:109-118.
57. Valtonen, E.T., Pulkkinen, K., Poulin, R. & Julkunen, M. 2001. The structure of parasite component communities in brackish water fishes of the northeastern Baltic Sea. *Parasitology* 122: 471-481.
58. Väyrynen T., Siddal R., Valtonen E. T. & Taskinen J. 2000. Patterns of trematode parasitism in Lymnaeid snails from Northern and Central Finland. *Ann. Zool. Fennici*. 37: 189-199.
59. Wedemeyer, G. A. 1976. Physiological response of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to handling and crowding stress in intensive fish culture. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 33: 2699-2702.
60. Whyte, S. K., Secombes, C. J. & Chappell, L. H. 1991. Studies on the infectivity of *Diplostomum spathaceum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Helminthol.* 65: 169-178.