

Pro gradu –tutkielma

***Ichthyocotylurus pileatus* -imumatoloisen esiintyminen ja
elämänkiertopiirteet *Valvata macrostoma* -kotiloissa**

Marjo Aaltonen



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Kalabiologia ja kalatalous

7.3.2011

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos
Kalabiologia ja kalatalous

AALTONEN MARJO, S.: *Ichthyocotylurus pileatus* -imumatoloisen esiintyminen ja elämänkiertopiirteet *Valvata macrostoma* -kotiloissa

Pro gradu: 26 s.

Työn ohjaajat: Prof. Tellervo Valtonen, Dos. Anssi Karvonen

Tarkastajat: Prof. Jouni Taskinen, Dos. Anssi Karvonen

Maaliskuu 2011

Hakusanat: *Perca fluviatilis*, Trematoda, *Ichthyocotylurus* sp., kerkaria, transmissio, liejukotilo, väli-isäntä

TIIVISTELMÄ

Ichthyocotylurus pileatus on ahvenkaloissa yleinen imumatoloinen, jonka elämänkiertoon kuuluu 3 isäntää. Pääisäntä on kalaa ravinnokseen käyttävä lintu, 1. väli-isäntä on liejukotiloihin kuuluva *Valvata macrostoma* -kotilo, jonka kautta loinen parveilee veteen ja tunkeutuu 2. väli-isäntäänsä kalaan (*Perca fluviatilis*). Loisen yleisyydestä huolimatta sen elämänkiertopiirteitä ei tunneta kovin hyvin. Työni päätavoite oli selvittää mitkä tekijät vaikuttavat siihen, että *Ichthyocotylurus* -imumatoloisten esiintyminen on niin yleistä ja runsasta makeanveden kaloissa, vaikka loisten siirtyminen isännästä toiseen on yleisesti ottaen epätodennäköistä. Näitä tekijöitä selvitin tutkimalla *Valvata macrostoma* -kotiloiden populaatiodynamiikkaa, *I. pileatus* -loisen esiintymistä *V. macrostoma* -kotiloissa eri syvyysvyöhykkeissä, transmissio vuodenaikaisuutta sekä kerkaria-tuotannon rytmiiikkaa ja kerkarioiden ominaisuuksia. Tutkimuksessa selvisi, että kotiloiden kokojakaumat vaihtelivat kuukausittain sekä matalassa (1-2 m), että syvässä (5-6 m) vedessä tutkimusjakson aikana touko-lokakuussa 2007. Kokojakaumien dynamiikka kuukausittain oli kuitenkin verrattain samanlainen sekä 1-2 metrin, että 5-6 metrin syvyydessä, mutta syvällä kotilot olivat keskimäärin pienempiä kuin matalassa (Mann-Whitney U-testi; $Z = -5,536$, $p < 0,001$). Syvällä *Ichthyocotylurus* -infektio kotilopopulaatiossa oli suurimmillaan heinäkuussa (36,8 %) ja pienimmillään syys-lokakuussa (2,0 % ja 2,5 %). Prevalenssi (loisintaprosentti) oli syvällä korkeampi kuin matalassa koko tutkimusjakson ajan. Toukokuussa infektiot olivat kehittyviä sekä syvässä, että matalassa. Kerkarioiden parveilu alkoi kesäkuussa, jolloin parveilevien kotiloiden osuus oli matalassa 1 % ja syvällä 6,9 %. Huomattavana erona havaittiin, että heinä-elokuussa matalassa ei havaittu lainkaan *I. pileatus* -loista, kun samaan aikaan syvällä parveilu oli voimakkaimmillaan. Parveilevien kotiloiden ($n = 15$) keskimääräinen kerkariatuoanto oli laboratoriossa $166 \pm 12,8$ (S.E.) kerkariaa päivässä 48 päivän tutkimusjakson aikana. Huippunsa parveilu saavutti klo 23:00, jonka jälkeen se alkoi laskea. *I. pileatus* -kerkarioiden elinikä osoittautui melko korkeaksi verrattuna muihin imumatoloislajeihin. Kuudentoista tunnin jälkeen eliniän seurannan aloittamisesta 60 %:a tutkimuksen kerkarioista ($n = 20$) oli elossa, jonka jälkeen kuolleisuus laski lineaarisesti. Viimeinen kerkaria kuoli 76 tunnin jälkeen. Loisen elämänkierto seuraa tehokkaasti isäntiensä elämän vaiheita, mikä on mahdollistanut sen, että transmissio 1. ja 2. väli-isännän välillä onnistuu hyvin. Tunnettaessa loisen kehittyminen ja vaiheet kotiloissa, voidaan ennakoida mahdollinen loisen riski levitä esimerkiksi ahvensukuisien kalojen viljely-yksiköihin ja estää se.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Science

Department of Biological and Environmental Science
Fish Biology and Fisheries

AALTONEN MARJO, S.: *Ichthyocotylurus pileatus* –trematode parasite occurrence and life cycle characteristics in *Valvata macrostoma* -gastropods

Master of Science Thesis: 26 p.

Supervisors: Prof. Tellervo Valtonen, Dos. Anssi Karvonen

Inspectors: Prof. Jouni Taskinen, Dos. Anssi Karvonen

March 2011

Key Words: *Perca fluviatilis*, Trematode, *Ichthyocotylurus* sp., cercariae, transmission, large-mouthed valve snail, intermediate host

ABSTRACT

Ichthyocotylurus pileatus is a common trematode species in percid fishes. The life cycle of *I. pileatus* includes three hosts. Definite host is the fish eating bird, first intermediate host is a large-mouthed valve snail, *Valvata macrostoma*, from which the parasite is shedded into the water and penetrates the second intermediate host fish (*Perca fluviatilis*). Even the parasite is very common it's life cycle characteristics are not well known. My main goal was to find out what factors affect on the fact that *I. pileatus* -trematode is so widespread and abundant in freshwater percids, although the transmission from one host to the other might be unlikely. These factors were investigated by studying *Valvata macrostoma* population dynamics, *I. pileatus* –prevalence in *V. macrostoma* –snails in two different depths (1-2 m and 5-6 m) of a lake, seasonal difference in parasites transmission and also cercariae production rhythms and features. The study revealed that the snails as well as size distributions varied between shallow (1-2 m) and the deep (5-6 m) areas during the survey period May-October 2007. Size distribution dynamics of each month, however, were relatively similar in 1-2 meters, and in water 5-6 meters deep. However, snails in deep area, were on average smaller than in shallow area (Mann-Whitney U-test, $Z = -5.536$, $p < 0.001$). In the deep area *Ichthyocotylurus* –infection in snail population peaked in July (36.8%) and was lowest in September and October (2.0% and 2.5%, respectively). Prevalence was higher in the deep than in the shallow depth throughout the study period. In May, the infections were emerged in both depths. The shedding of cercariae started in June, when proportion of shedding snails were 1 % in the shallow and 6,9 % in the deep water. Significant difference was found because in July-August in the shallow water no *I. pileatus* were observed, while at the same time, in the deep area shedding was most intense. In laboratory shedding snails ($n = 15$) had an average cercariae production of an average 166 ± 12.8 (SE) cercariae per a day in 48-day study period. Shedding reached its peak at 23:00, after which it began to fall. *I. pileatus* -cercariae life-time turned out to be relatively high compared to other trematode species. Sixteen hours after starting the life-time examination 60% of the study cercariae ($n = 20$) were still alive, after which the mortality rate decreased linearly and the last cercariae died 76 hours later. The parasite's life cycle follows effectively the life of their hosts It's important to know the parasite's life cycle characteristics, because then you can predict the potential spread of the parasite to fish farms of percid fishes and prevent the spreading of the parasite to the farmed fishes.

Sisältö

1. JOHDANTO	5
2. AINEISTO JA MENETELMÄT	9
2.1. <i>Valvata macrostoma</i> -kotiloiden kerääminen ja käsittely	9
2.2. Kerkariatutannon päivittäinen seuranta.....	10
2.3. Kerkariatutannon vuorokausiseuranta.....	10
2.4. <i>Ichthyocotylurus pileatus</i> kerkarioiden eliniän seuranta	10
2.5. Tilastolliset menetelmät	10
3. TULOKSET	11
3.1. <i>Valvata macrostoma</i> -kotiloiden populaatiodynamiikka	11
3.2. <i>I. pileatus</i> –loisinnan paikallinen ja ajallinen vaihtelu	11
3.3. <i>I. pileatus</i> kerkariatutannon päivittäinen seuranta.....	15
3.4. <i>I. pileatus</i> kerkariatutannon vuorokausirytmikka.....	16
3.5. <i>I. pileatus</i> kerkarioiden eliniän seuranta.....	18
4. POHDINTA	19
4.1. Imumatolaisen elämänkierto	19
4.2. <i>Valvata macrostoma</i> -kotiloiden populaatiodynamiikka ja kotilon koon vaikutus loisintaan	19
4.3. <i>I. pileatus</i> –loisinnan paikallinen ja ajallinen vaihtelu	20
4.4. <i>I. pileatus</i> kerkariatutannon päivittäinen seuranta.....	21
4.5. <i>I. pileatus</i> –lajin kerkaria-tuotannon vuorokausirytmikka ja kerkarioiden elinikä	22
4.6. Yhteenveto.....	23
Kiitokset	24
Kirjallisuus	24

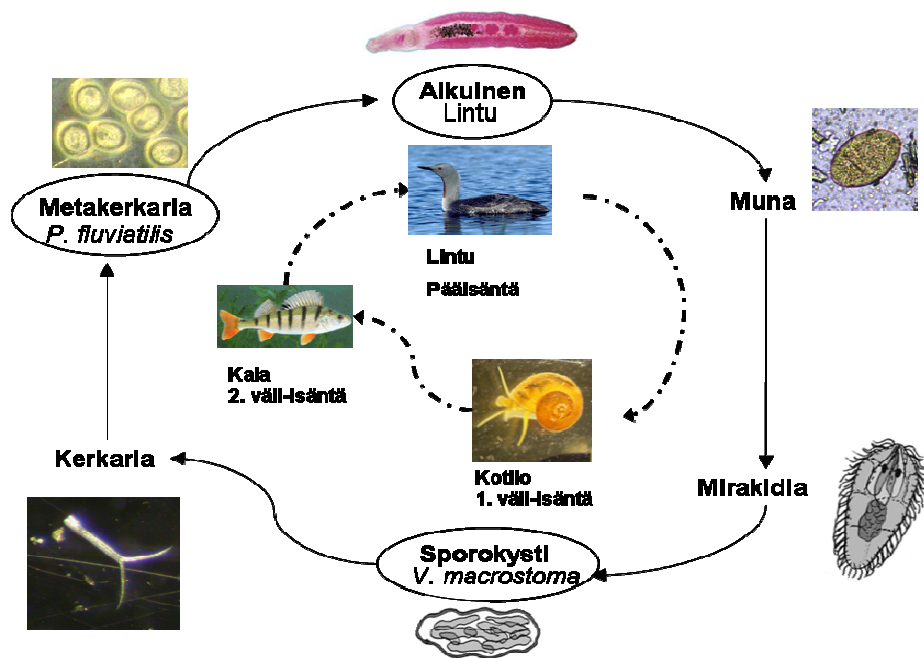
1. JOHDANTO

Makean veden ja murtoveden kaloilla on yleisesti useita loislajeja ja yksilömäärät yksittäisissä kaloissa voivat nousta satoihin (Valtonen & Gibson 1997; Valtonen ym. 1997, Valtonen ym. 2003). On yleistä, että jotkut loislajit ovat yleisempiä kuin toiset. Esimerkiksi imumatoihin kuuluvat *Diplostomum* -suvun loiset esiintyvät hyvin laajassa joukossa kalalajeja, joiden elinympäristöt vaihtelevat makeasta vedestä murtovesiympäristöön (Valtonen & Gibson 1997). Lisäksi ko. loiset pystyvät infektoimaan jopa vaeltavia merikalalajeja. Useilla kalojemme loislajeista on monivaiheinen elämänkierto, toisin sanoen ne tarvitsevat useita isäntälajeja elämänkiertonsa aikana. Tästä syystä loiset joutuvat läpikäymään useita epäennustettavia transmissiovaiheita siirtyessään seuraavaan isäntään ja kehittyäkseen elämänkierrrossaan eteenpäin. Siirtymävaiheessa loiset ovat isäntänsä ulkopuolella vedessä, jossa niiden täytyy käyttää rajallisia energiavarastojaan elossa pysymiseen ja isännän löytämiseen. Vaikka useimpien loislajien perusbiologia ja niiden esiintyminen varsinkin kalaisännissään tunnetaan melko hyvin, useita elämänkierron vaiheita (esim. esiintyminen isännissä, transmission eli isäntien välillä siirtymisen yksityiskohdat) samanaikaisesti käsitteleviä tutkimuksia on tehty huomattavasti vähemmän (Karvonen ym. 2006). Ko. tutkimukset voivat kuitenkin paljastaa keskeisiä loisten elämänkiertopiirteitä tietyn lajiryhmän sisällä ja selittää osaltaan, miksi jotkut loislajit ovat yleisempiä kuin toiset. Kaiken kaikkiaan, kokonaisvaltainen monivaiheisten loiselämänkiertojen tutkiminen on keskeisessä asemassa selvittäessä mm. elämänkiertojen evoluutioon johtavia tekijöitä, loisten transmissioon liittyviä strategioita, sekä kehitettäessä loisten torjuntamenetelmiä mm. kalanviljelyssä.

Transmissio isäntien välillä on yksi keskeisimmistä loisten elämänkierron vaiheista. Siirtyminen isännästä toiseen on kriittinen vaihe loisen elämänkierrossa, koska monilla loisilla vapaana elävät toukkavaiheet säilyvät elossa vain muutaman vuorokauden isännän ulkopuolella (Karvonen ym. 2006). Näin ollen kohtaaminen isännän kanssa on tapahduttava juuri oikeaan aikaan. Useille loislajeille on tästä syystä kehittynyt evoluution tuloksena yksityiskohtaisia mekanismeja, joilla ne pyrkivät maksimoimaan transmission onnistumisen todennäköisyyden (Poulin 2007). Imumadoilla näitä ovat mm. suuri lisääntymispotentiaali kotiloisännässä (Karvonen ym. 2004) sekä toukkavaiheiden vapauttaminen synkronoituna isännän aktiivisuuden kanssa (Poulin, 1998, Karvonen ym. 2004). Esimerkiksi *Schistosoma*-suvun loislajeilla kerkaria-parveilun vuorokausirytmikka jakautuu kaikille vuorokauden jaksoille, mutta on synkronoitu kullakin lajilla sen mukaan, milloin seuraava isäntä on aktiivinen (Combes ym. 1994). Mm. *Schistosoma curassoni* ja *S. bovis* parveilevat ulos kotilosta aikaisin aamulla (Mouchet ym. 1992), jolloin niiden seuraava isäntä, laiduntava sorkkaeläin, altistuu loiselle todennäköisimmin. Sen sijaan *S. mansoni* (Théron, 1984), *S. haematobium* (Mouchet ym. 1992) ja *S. intercalatum* (Pàges ja Théron, 1990 b), joiden seuraava isäntä on ihminen, parveilevat kotiloista keskellä päivää. *S. mansoni* -loisella parveilun piikki osuu sen sijaan iltaan (Théron, 1984) ja *S. rodhaini* -loisella yöhön, jolloin loisen seuraava isäntä, rotta, on aktiivinen (Théron, 1989). Tämä loisen isännän aktiivisuuteen synkronoitu rytmi on loisen adaptaatio olosuhteisiin, joissa lyhytikäisten ja rajallisella energialla varustettujen kerkarioiden pääsy seuraavaan isäntään olisi muuten epätodennäköistä. Toinen hyvä esimerkki loisen täydellisestä ajoituksesta on heisimatoihin kuuluva *Triaenophorus crassus* -haukimato, joka elää vuoden pääisännässään hauessa (*Esox lucius*). *T. crassus* viettää korkeintaan vuoden kalassa ja munat kehittyvät vasta keväällä. Hauki kutee kerran vuodessa, jolloin se tulee matalaan rantaveteen, jossa loisen ensimmäinen väli-isäntä, hankajalkainen (Copepoda), elää. Kalassa olevat aikuiset, munia täynnä olevat haukimadot, poistuvat kalasta kudun aikaan,

jolloin munat vapautuvat veteen kuolevista madoista. *T. crassus* –loisen munista kuoriutuvilla toukilla on suurempi mahdollisuus tulla hankajalkaisen syömäksi, kun toukat ja hankajalkaiset ovat samalla alueella (Poulin 2007). Edellinen esimerkki korostaa myös loisinnan paikallista vaihtelua; ajoituksen lisäksi infektiota pitää olla paikallisesti yhteensopiva isännän esiintymisen kanssa. Usein infektiota todennäköisyydessä on suurta paikallista vaihtelua mm. siitä syystä, että loisten väli-isännät eivät esiinny tasaisesti vaan laikuittaisesti tietyissä paikoissa. Myös infektoituneiden isäntien osuus populaatiosta voi vaihdella paikallisesti (Jokela & Lively 1995), millä on suora vaikutus seuraavaan isäntään kohdistuvaan infektiopaineeseen. Tässä työssä tutkin *Ichthyocotylurus pileatus* –imumadon elämänkiertostrategioita selvittämällä mm. miten kotiloisäntien infektoituminen on ryhmittynyt ajallisesti ja paikallisesti (vuodenaikaisuus ja syvyys) sekä miten loisen kerkaria-toukat vapautuvat kotiloista (mm. kerkariatutuotannon määrä ja kesto).

Ichthyocotylurus pileatus on yleinen ahvenkalojen imumatoloinen, jonka elämänkierto käsittää kolme vedessä vapaana elävää vaihetta (muna, mirakidia-toukka ja kerkaria-toukka) ja kolme isäntää (kotilo, kala ja lintu,) (Swennen ym. 1979). Loinen aikuistuu ja lisääntyy suvullisesti kalaa syövän linnun suolessa, josta vapautuvat munat päätyvät vesistöön ja kuoriutuvat mirakidia-toukiksi. Mirakidia-toukat etsiytyvät *Valvata macrostoma* -kotiloihin (1. väli-isäntä), joissa loinen lisääntyy suvuttomasti tuottaen sporokysteitä. Sporokystien sisällä kehittyvät kerkaria-toukat vapautuvat (parveilevat) kotiloista veteen ja tunkeutuvat ohi uiviin kaloihin (2. väli-isäntä). Kalassa loisen toukat kehittyvät metakerkaria-toukiksi mm. munuaisessa ja uimarakossa, jossa niitä voi kalayksilöstä riippuen olla jopa satoja (Karvonen ym. 2005). Metakerkaria kystittyy kalassa lepovaiheeseen muutamassa viikossa infektiosta ja voi odottaa jopa vuosia kunnes lintu syö kalan (Swennen ym. 1979). (Kuva 1). Vapaana elävät toukkavaiheet ovat lyhytikäisiä, koska niillä on rajalliset energiavarat. Laboratoriokokeissa on havaittu, että mirakidia-toukkien uiminen hidastuu jo 6 tunnin jälkeen kuoriutumisen jälkeen ja suurin osa toukista pysyi aktiivisena vain 12 tuntia (Olson 1970). Lämpötilalla on suuri vaikutus niin munien kuoriutumiseen kuin toukkien aktiivisuuteenkin (Swennen ym. 1979, Olson 1970). Lisäksi Swennen ym. (1979) havaitsivat, että *Ichthyocotylurus*–kerkarioita (toinen vapaana elävä toukka-vaihe) parveilee kotilo-isännästänsä vain jos lämpötila on yli 13° C.



Kuva 1. *Ichthyocotylurus pileatus* –imumatoloisen elämänkierto käsittää kolme vedessä vapaana olevaa vaihetta (muna, mirakidia-toukka ja kerkaria-toukka) ja kolme isäntävaihetta (ympyröity) joista kalaa syövä lintu on pääisäntä, kotilo (*V. macrostoma*) 1. väli-isäntä ja kala (*P. fluviatilis*) 2. väli-isäntä.

Ichthyocotylurus-loiset ovat yksi runsaslukuisimmista loisryhmistä makean veden kaloissa (Valtonen ym. 2003, Karvonen ym. 2005, Harrod & Griffiths 2005). Esimerkiksi Karvonen ym. (2005) havaitsivat, *I. variegatus* –infektion 99,5 %:lla tutkituista ahvenista loismäärien ollessa, näytteenotto paikasta riippuen, kymmenistä satoihin. Harrod ja Griffiths (2005) taas havaitsivat, että *I. erraticus* –infektion prevalenssi (loisittujen kalojen osuus) omulsiialla (*Coregonus autumnalis*) oli 100 % ja yksittäisessä aikuisessa kalassa metakerkarioita oli jopa tuhansia. Nämä ovat poikkeuksellisen korkeita yksilömääriä verrattuna useimpiin makean veden kalojen loislajeihin (Valtonen ym. 1997, 2003), mikä viittaa siihen, että *Ichthyocotylurus*-loisten transmissio kotiloista kaloihin on yleisesti tehokasta sen pienestä onnistumisen todennäköisyydestä huolimatta. Tämä puolestaan viittaa siihen, että kerkaria-toukille on todennäköisesti kehittynyt strategioita, joilla ne kasvattavat kalan kohtaamisen todennäköisyyttä. Karvonen ja Valtonen (2004) havaitsivat 8 eri järvessä *Ichthyocotylurus* -loista siialla (*Coregonus Lavaretus*), joista seitsemässä järvessä infektio kaloissa oli suurta prevalenssin ollessa 100 % ja yhdessä järvessä 90%, abundanssit (kuinka monta loista/metakerkariaa tutkittua kalaa kohti) vaihtelivat näissä seitsemässä järvessä 13,4-3102 välillä. Valtonen ym. (1997) raportoivat tutkimuksessaan eri loislajien infektioita ahvenella ja särjellä Keski-Suomen alueen vesistöissä (Peurunka, Vatia, Saravesi ja Leppävesi); esimerkiksi Saraveden ahvenissa esiintyi imumatolajeista mm. *Diplostomum gasterostei* –loinen, jonka abundanssi oli 3,5 (k.a.). Näiden tutkimusten tuloksista voidaan todeta, että *Ichthyocotylurus* –suvun loiset ovat hyvin yleisiä vesistöissämme ja sitä kautta on olemassa myös mahdollinen loisen leviämisen riski kalanviljelylaitoksille. Yleisyydestään huolimatta *Ichthyocotylurus*-loisten perusbiologiasta ja vaikutuksista kalaan tiedetään melko vähän. Tieto ko. loisten transmissiomekanismeista on kuitenkin tärkeää, sillä ne infektoivat kalataloudellisesti merkittäviä kalalajeja (ahvenkalat, siika ja muikku). Runsaana esiintyessään loinen on potentiaalisesti haitallinen

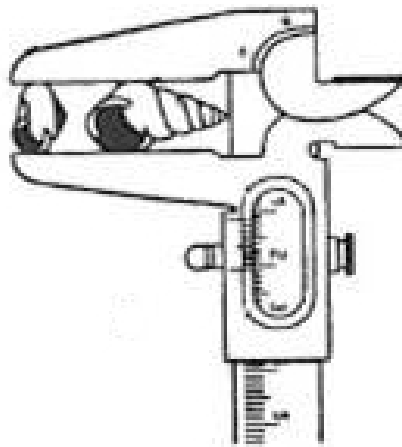
varsinkin kasvuvaiheessa infektion jälkeen, jolloin loisen metakerkaria-toukat kasvavat ja kehittyvät kalan kudoksissa ennen varsinaista kystittymistä ja lepovaihetta. Tätä tukevat siikkakaloissa esiintyvän *I. erraticus* -loisen haitalliset vaikutukset mm. kalan kasvuun (Harrod & Griffiths 2005). Harrod ja Griffiths (2005) infektoivat omulsiikoja (*Coregonus autumnalis*) *I. erraticus* -loisella ja havaitsivat, että koirailta maksan ja gonadien kasvu heikkeni loismäärän noustessa. Naarailta sen sijaan ainoastaan gonadien kasvu heikkeni, vaikka ne infektoituivat voimakkaammin kuin koiraat. Korkea *I. erraticus* -infektio vaikutti siis negatiivisesti ainakin koiraiden kasvuun.

Tämän tutkimuksen päätavoitteena on selvittää mitkä tekijät vaikuttavat siihen, että *Ichthyocotylurus*-imumatoloisen esiintyminen on niin yleistä ja runsasta makeanveden kaloissa. Tutkin näitä tekijöitä *I. pileatus* -loisella selvittämällä loisen esiintymistä *Valvata macrostoma* -kotiloissa, sekä kerkaria-tuotannon määrää ja rytmikkaa sekä kerkarioiden ominaisuuksia. Keskeisiä kysymyksiä ovat mm. loisen infektiodynamiikka kotiloissa eri syvyysvyöhykkeissä sekä transmission vuodenaikaisuus. Nämä tekijät antavat kuvan infektiopaineen paikallisesta ja ajallisesta vaihtelusta järvessä. Lisäksi selvitin kerkaria-toukkien elinaikaa sekä kotiloyksilöiden välisiä eroja kerkaria-tuotannossa. Erityisesti keskityin siihen, miten kerkariat vapautuvat kotiloista kotilon elinkaaren aikana, sekä tarkemmin, yhden vuorokauden sisällä. Nämä antavat käsityksen kerkaria-tuotannon kokonaistasosta sekä siitä, onko loisella tietty parveilyrytmiikka esimerkiksi isännän aktiivisuuden suhteen. Näiden perusbiologisten yksityiskohtien tuntemus mahdollistaa myöhemmässä vaiheessa myös loisen kalaan kohdistamien vaikutusten kokeellisen tutkimuksen. Tämä on tärkeää mm. ahvenen talouskala-aseman korostuessa sekä kuhanviljelyn lisääntyessä.

2. AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1. *Valvata macrostoma* -kotiloiden kerääminen ja käsittely

Tutkimus toteutettiin Jyväskylän yliopiston Konneveden tutkimusasemalla touko-lokakuussa 2007. *Valvata macrostoma* -kotilot kerättiin oligotrofisesta Konnevedestä (62°37'N; 26°21'E) kahdesta eri syvyydestä (1-2 m ja 5-6 m) samoilta alueilta koko kesän ajan (paikkojen välinen etäisyys oli n. 50-70 m, matala ja syvä). Matalassa järven pohja-aines koostui pienistä kivistä, mudasta ja vesikasvillisuudesta. Syvällä vesikasvillisuutta ei esiintynyt ja pohja-aines koostui lähinnä mudasta. Kotiloita kerättiin joka kuukausi ja kunkin kuukauden kotilonäyte kerättiin 2-3 päivän kuluessa. Ensimmäinen kotilonäyte kerättiin toukokuun lopussa ja seuraava n. 2 viikon päästä kesäkuussa. Kesäkuusta eteenpäin kuukausittaiset näytteet kerättiin n. 4 viikon välein. Kotiloita kerättiin joka kuukausi matalasta vähintään 100 kpl ja syvältä vähintään 50 kpl. Syvällä kotilotiheys oli alempi, joten kerättyjen kotiloiden määrä oli pienempi kuin matalassa. Kerääminen tapahtui vetämällä köyden päässä sankoa veneen perässä, josta saadusta pohjanäytteestä poistettiin ensin isommat kasvit ym. Tämän jälkeen näyte kuljetettiin laboratorioon, jossa *V. macrostoma* -kotilot poimittiin valkoisen tarjottimen päällä järivedellä täytettyyn lasipurkkiin. Kotilot laskettiin ja sijoitettiin yöksi lampun alle (klo 23.00–9.00) kukin kotilo omalle 15 ml järvivettä sisältävälle pienelle petrimaljalle. Kerkaria-tuotanto tutkittiin mikroskoopilla seuraavana aamuna jokaiselta kotilolta. *Ichthyocotylurus pileatus* -kerkarioita tuottavat kotilot otettiin talteen ja käytettiin myöhemmissä kokeissa (ks. alla). Kerkarioita tuottavat eli parveilevat kotilot laitettiin jääkaappiin 250 ml järvivettä sisältävissä lasipurkeissa, joissa oli vesikasveja kotiloiden ravinnoksi. Loisen lajintunnistus tehtiin kerkarioiden liikkeiden ja lepoasennon perusteella, vertaamalla *I. pileatus* -loista lähisukuiseen *Ichthyocotylurus variegatus* -loiseen (Santos ym. 2006). Kaikista kotiloista mitattiin kuoren leveys (Kuva 2). Kotilot, jotka eivät parveilleet, mutta olivat mahdollisesti infektoituneet loisella (sporkystejä kotilon sisällä), litistettiin kahden lasilevyn väliin ja tutkittiin mikroskoopilla murskaamalla ensin kotilon kuori varovasti pinseteillä. Tällä tavalla loiset ja niiden eri kehitysvaiheet pystyttiin tunnistamaan paremmin mikroskoopilla.



Kuva 2. Jokaisen *Valvata macrostoma* -kotilon kuoresta mitattiin leveys (mm) työntömitalla (kuvassa vasemman puoleinen kotilo).

2.2. Kerkariatuotannon päivittäinen seuranta

Parveilevien kotiloiden kerkaria-tuotantoa seurattiin päivittäin 18.7.–3.9.2007 välisenä aikana, kotiloiden kuolemaan saakka. Seurannan aloittamista edeltävänä päivänä 17.7. klo 13.00, jääkaapissa säilytetyt loisitut *V. macrostoma* -kotilot (n=15) otettiin huoneen lämpötilaan. Kotilot aseteltiin purkeissaan ikkunalle luonnolliseen valorytmiin. Kotiloiden järjestys satunnaistettiin ja jokaisen kotilon purkkiin vaihdettiin 250 ml yhden vuorokauden seisonutta huoneen lämpöistä (20 °C) järvivettä. Kerkariatuotannon seuranta aloitettiin seuraavana päivänä 18.7 klo 13.00, jolloin kotiloiden purkkeihin vaihdettiin jälleen 250 ml yhden vuorokauden seisonutta huoneen lämpöistä järvivettä. Lasipurkeissa oli myös kotiloille ravintona vesikasveja järvestä. Seuranta jatkettiin joka päivä vaihtamalla vesi kotiloille klo 13.00 ja laskemalla kerkariat. Lasipurkkien järjestys ikkunalla satunnaistettiin joka päivä vedenvaihdon yhteydessä arpomalla purkkien paikat. Kerkaria-näytteet otettiin 2.5 ml annoksina 12 kertaa eli yhteensä 60 ml purkin sisältämästä 250 ml vedestä. Vettä sekoitettiin samalla pipetinkärjellä, jotta kerkariat sekoittuivat veteen mahdollisimman tasaisesti. Tämän jälkeen laskettiin kunkin kotiloyksilön tuottamat kerkariat mikroskoopin avulla.

2.3. Kerkariatuotannon vuorokausiseuranta

Ichthyocotylurus pileatus -loisen kerkariatuotannon vuorokausirytmiiikkaa tutkittiin laittamalla 13 loisittua kotiloyksilöä yksittäin 15 ml järvivettä sisältäville pienille petrimaljoille. Kotiloille vaihdettiin uusi vesi kahden tunnin välein ja edellisen kahden tunnin aikana tuotetut kerkariat laskettiin mikroskoopin avulla. Kuten edellä, maljoilla käytettyä järvivettä seisotettiin vuorokausi huoneen lämmössä. Kotiloyksilöiden kokonaistuotannosta laskettiin prosentit kullekin kahden tunnin aikajaksolle ja näistä laskettiin keskiarvot koko 13 kotilon ryhmälle.

2.4. *Ichthyocotylurus pileatus* kerkarioiden eliniän seuranta

Kerkarioiden elinikä määritettiin 17 kotiloyksilöstä, joista otettiin kustakin 20 kerkariaa. Kerkarioiden ikä seurannan aloittamishetkellä oli korkeintaan neljä tuntia, mikä kului siihen, että kotilot tuottivat tarpeeksi kerkarioita. Kunkin kotilon tuottamat kerkariat sijoitettiin neljän kerkarian ryhmissä viidelle 15 ml järvivettä sisältävälle petrimaljalle. Petrimaljat asetettiin luonnolliseen valorytmiin. Seuranta aloitettiin klo 01.00 yöllä ja sitä jatkettiin neljän tunnin välein kunnes viimeinenkin kerkaria oli kuollut. Kuolleet kerkariat vajosivat maljan pohjalle ja ne eivät reagoineet mekaaniseen ärsykkeeseen, jolloin ne oli helppo erottaa elävistä.

2.5. Tilastolliset menetelmät

Kerättyjen *V. macrostoma* -kotiloiden kokoluokista laskettiin prosenttiosuudet jokaiselle kuukaudelle (touko-lokakuu) erikseen matalasta ja syvästä. Keskikoon eroja eri kuukausien välillä testattiin Kruskall-Wallis testillä ja kokojakaumien eroja Kolmogorov-Smirnov testillä. Paikallista eroa kotiloiden koossa kahdessa eri syvyydessä (matala ja syvä) testattiin ei-parametrisellä Mann-Whitneyn testillä, koska aineisto ei täyttänyt parametrisen testin oletuksia log-muunnoksen jälkeen. Kerkarioiden vuorokausituotannon eri ajankohtien eroja testattiin toistomittaus ANOVA:lla (aineistolle tehtiin Arcsin-muunnos). Jokaiselle kotilolle laskettiin tuotanto tietylle aikavälille ja tästä aineistosta laskettiin kerkarioiden keskimääräinen tuotanto-osuus vuorokauden eri ajankohtina.

3. TULOKSET

3.1. *Valvata macrostoma* -kotiloiden populaatiodynamiikka

Touko-lokakuun aikana *V. macrostoma* -kotiloiden kuoren leveyden keskiarvo oli matalassa $3,5 \pm 0,02$ mm ja suurin osa kotiloyksilöistä oli kokoluokissa 3,0-4,1 mm (Kuva 3a). Toukokuussa suurin osa kotiloista (10,3 %) olivat 4,1 mm, kesäkuussa suurin osa kotiloista olivat 3,8 mm (12 %), heinäkuussa 3,9 mm (9,2 %), elokuussa 3,0 mm (18 %), syyskuussa sekä 3,3 mm että 3,6 mm (10,2 %) ja lokakuussa 3,6 mm (12,6 %). Syvällä kotiloiden koon keskiarvo touko-lokakuun aikana oli $3,3 \pm 0,03$ mm ja vaihteli 2,0-4,8 mm välillä, mutta suurin osa kotiloista oli kokoluokissa 2,5-3,5 mm (Kuva 3b). Toukokuussa yleisin kotilokokoko oli sekä 2,5 mm että 2,8 mm koossa (28,6 %), kesäkuussa 3,2 mm (19 %), heinäkuussa 3,2 mm (15,8 %), elokuussa 3,0 mm (18,9 %), syyskuussa 3,5 mm (25,5 %) ja lokakuussa 3,0 mm (20 %).

Kotiloiden kokojakaumat vaihtelivat kuukausittain sekä matalassa että syvässä tutkimusjakson aikana. Kokojakaumien dynamiikka kuukausittain oli kuitenkin verrattain samanlainen sekä 1-2 metrin että 5-6 metrin syvyydessä, mutta syvällä kotilot olivat keskimäärin pienempiä kuin matalassa (Mann-Whitneyn U-testi; $Z = -5,536$, $p < 0,001$; Taulukko 1). Kuukausien välisiä eroja kotiloiden koossa tarkasteltiin tilastollisesti käyttämällä aineistoa 1-2 metrin syvyydestä (matala), jossa kerättyjen kotiloiden määrä oli suurempi. Kotiloiden koot erosivat merkitsevästi touko-lokakuun aikana (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 147,755$, $df = 5$, $p = 0,000$). Tämä johtui pääasiassa siitä, että heinäkuussa pienten kotiloiden osuus oli suurempi kuin toukokuussa (Kolmogorov-Smirnov, $Z = 2,215$, $p = 0,001$). Myös elokuussa pienten kotiloiden osuus oli suurempi kuin toukokuussa (Kolmogorov-Smirnov, $Z = 4,418$, $p = 0,001$). Touko- ja lokakuun kokojakaumat ovat jo lähempänä toisiaan, mutta silti merkitsevästi erilaisia (Kolmogorov-Smirnov, $Z = 1,660$, $p = 0,008$).

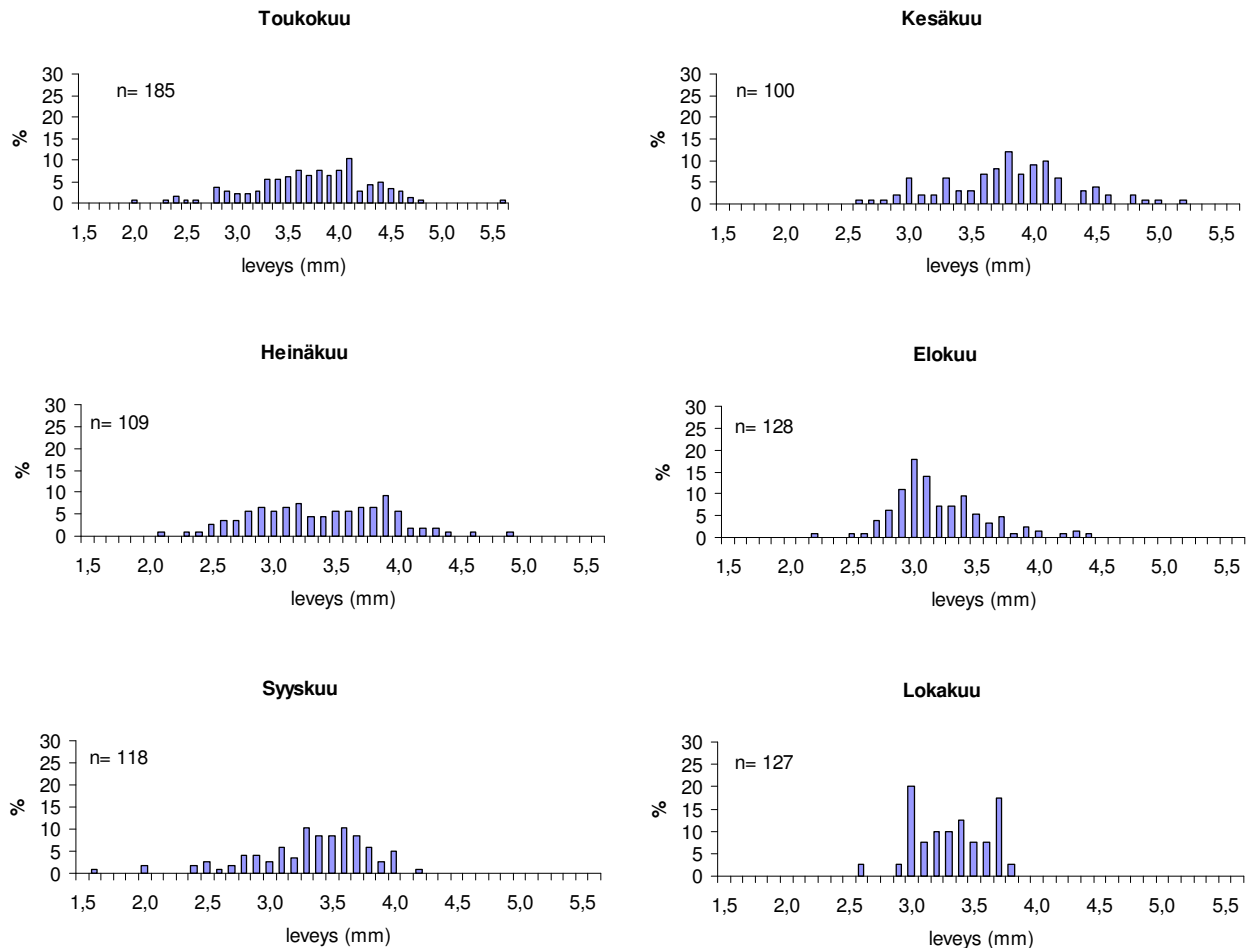
3.2. *I. pileatus* -loisinnan paikallinen ja ajallinen vaihtelu

Ichthyocotylurus pileatus -loisella loisittujen *V. macrostoma* -kotiloiden prevalenssi oli suurimmillaan 1-2 metrin syvyydessä kesäkuussa (8,0 %), mutta heinä- ja elokuussa ei matalassa havaittu yhtään *Ichthyocotylurus* -imumadolla infektoitunutta kotiloa. Syvällä *Ichthyocotylurus*-infektio kotilopopulaatiossa oli suurimmillaan heinäkuussa (36,8 %) ja pienimmillään syys-lokakuussa 2,0 % ja 2,5 %. Prevalenssi oli syvällä korkeampi kuin matalassa koko tutkimusjakson ajan (Taulukko 1).

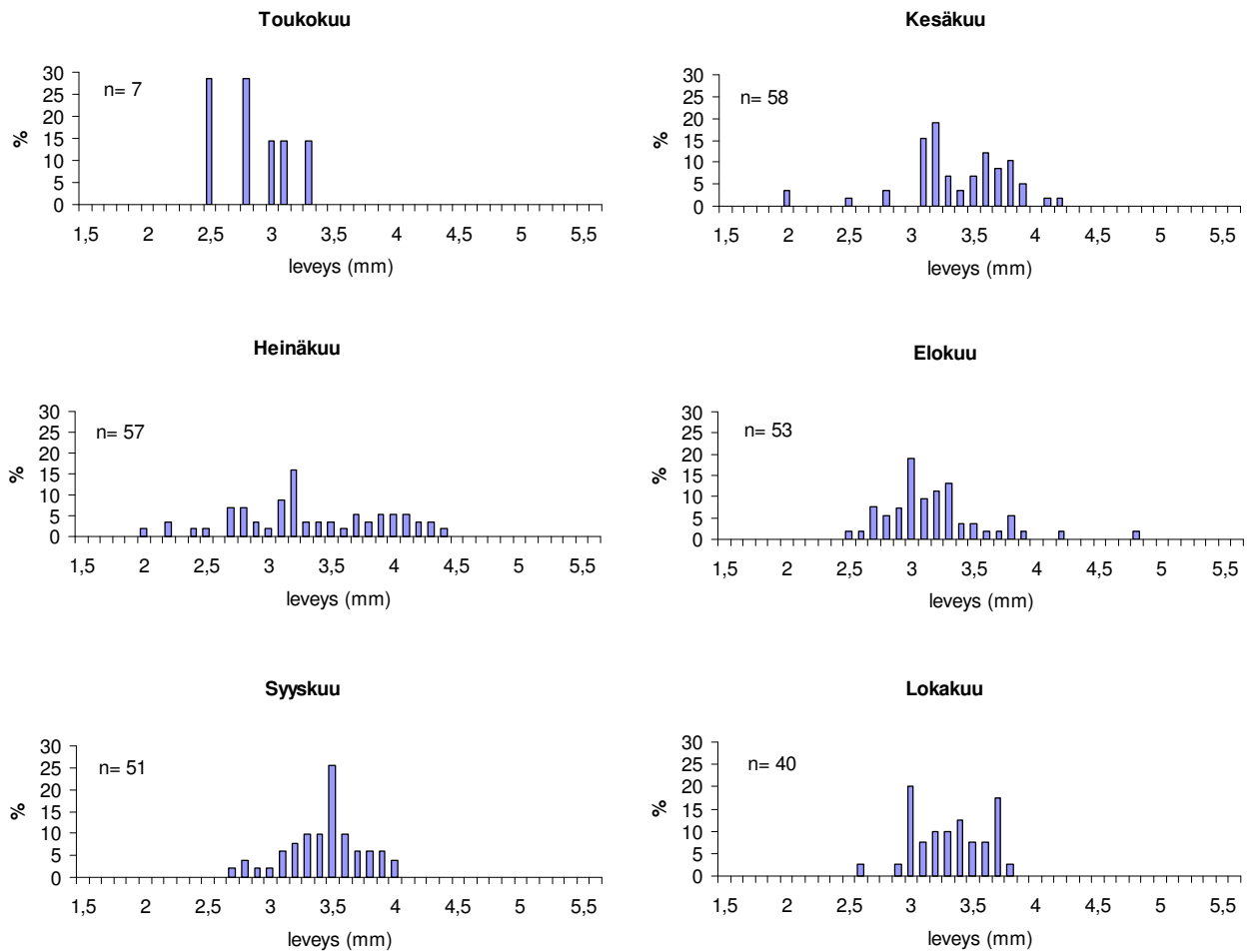
Kun kotilot jaettiin kolmeen eri kokoluokkaan, suurin prosenttiosuus *I. pileatus* -loisella infektoituneista kotiloista olivat syvällä kokoluokiassa 4,0-5,6 mm (82 %, $n = 17$). Kokoluokassa 3,0-3,9 mm infektoituneita kotiloita oli 12 % ($n = 205$) ja pienimmässä kokoluokassa 1,6-2,9 mm 5 % ($n = 44$). Matalassa infektio suurikokoisissa kotiloissa (4,0-5,6 mm) oli 4% ($n = 163$), keskikokoisissa kotiloissa (3,0-3,9 mm) 2 % ($n = 498$) ja pienimmässä kokoluokassa (1,6-2,9 mm) 0% ($n = 106$). (Kuva 4).

Taulukko 1. *Ichthyocotylurus pileatus* -imumatoloisella loisittujen *Valvata macrostoma* -kotiloiden prosentuaaliset määrät (Prevalenssi, %), kotiloiden määrät ja keskokoot (mm) kuukausittain kahdessa eri syvyydessä (1-2 m ja 5-6 m) Konnevedessä touko-lokakuussa 2007.

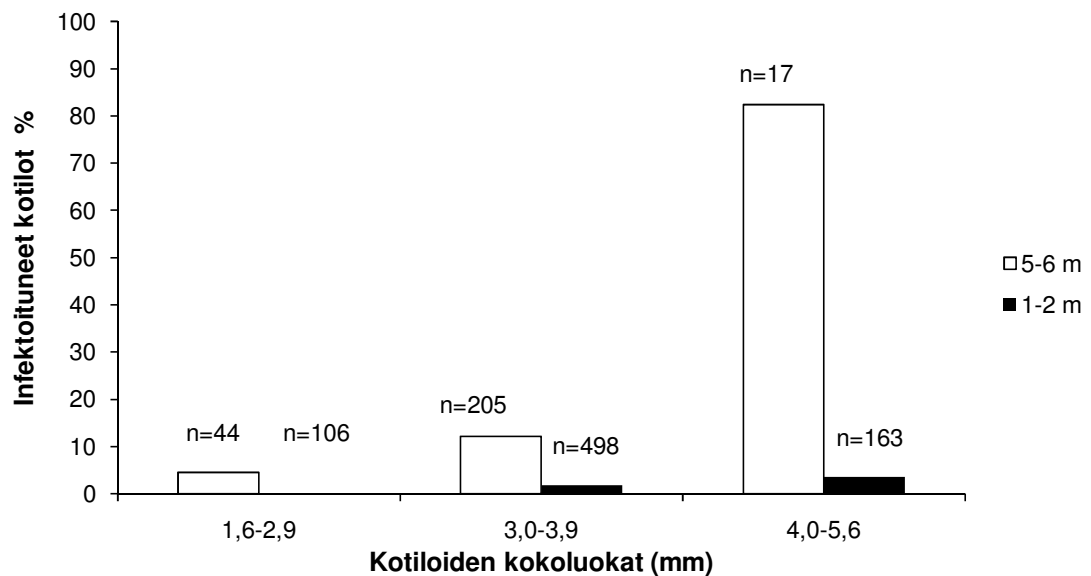
	Toukokuu	Kesäkuu	Heinäkuu	Elokuu	Syyskuu	Lokakuu
matala n	185	100	109	128	118	127
(1-2m) leveys mm (k.a.) ±SE	3,7 ± 0,4	3,8 ± 0,4	3,4 ± 0,5	3,2 ± 0,3	3,3 ± 0,4	3,6 ± 0,3
min-max	2- 5,6	2,6- 5,2	2,1-4,9	2,2-4,4	1,6-4,2	2,5-4,6
prev.%	2,2	8,0	0	0	0,9	1,6
syvä n	7	58	57	53	51	40
(5-6m) leveys mm (k.a.) ±SE	2,9 ± 0,2	3,4 ± 0,3	3,3 ± 0,5	3,2 ± 0,3	3,4 ± 0,2	3,3 ± 0,2
min-max	2,5-3,3	2,0-4,2	1,6-4,4	2,5-4,8	2,7-4,0	2,6-3,8
prev.%	14,3	20,7	36,8	9,4	2,0	2,5



Kuva 3a.



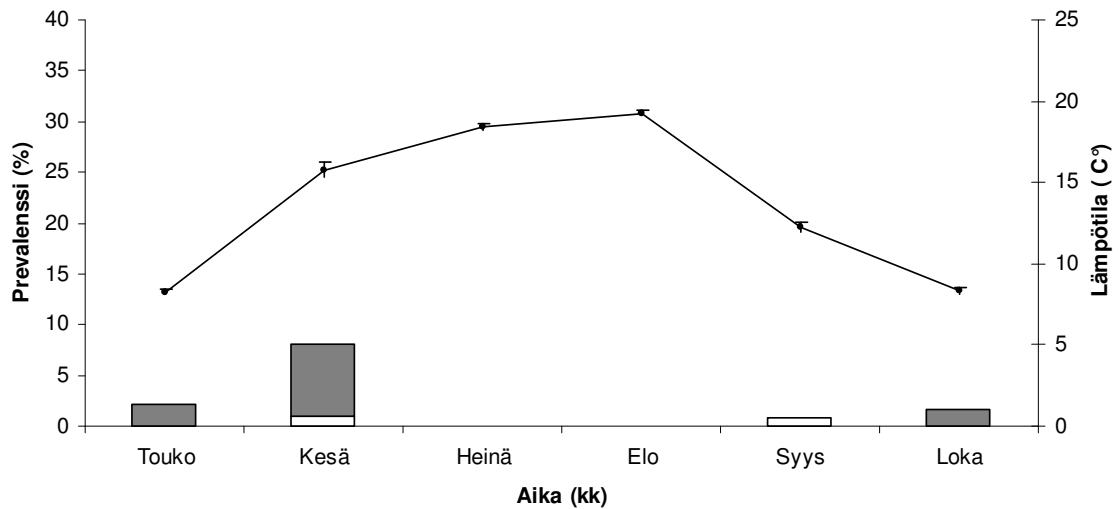
Kuva 3a-b. *Valvata macrostoma* –kotiloiden kokojakaumat (% kokonaismäärästä, n) Konnevedessä 1-2 m (Kuva 3a.) ja 5-6 m (Kuva 3b.) syvyydessä touko-lokakuun aikana vuonna 2007.



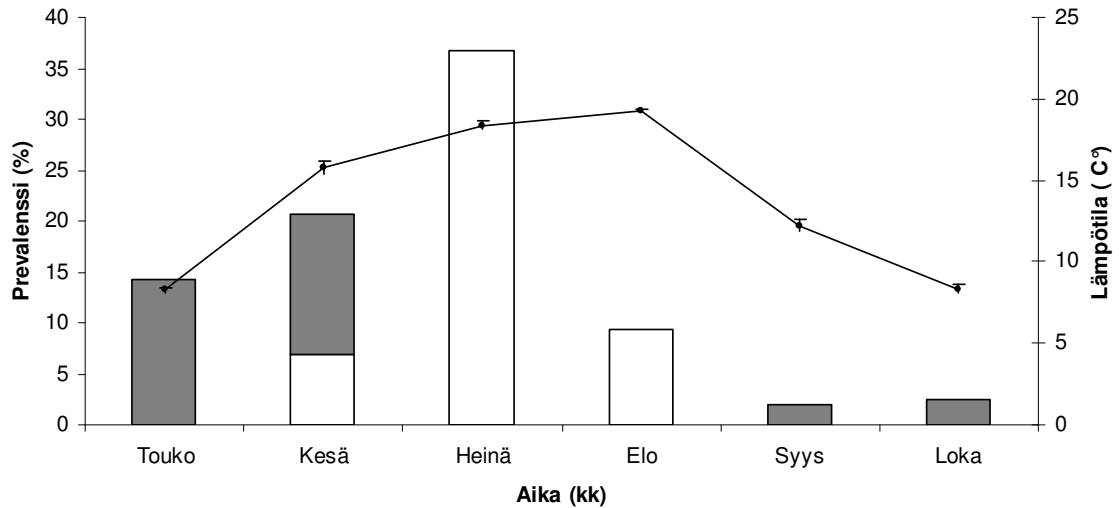
Kuva 4. *Ichthyocotylurus pileatus* –infektioiden prosentuaaliset osuudet (% kunkin kokoluokan kokonaismäärästä, n) *Valvata macrostoma* -kotiloissa kolmessa eri kokoluokassa (1,6-2,9 mm, 3,0-

3,9 mm ja 4,0-5,6 mm) Konnevedestä kahdesta eri syvyydestä (1-2 m ja 5-6 m) touko-lokakuussa 2007.

Ichthyocotylurus pileatus -loisen kerkariaparveilun alkamista seurattiin *V. macrostoma* -kotiloissa touko- ja lokakuun välisenä aikana. Syvällä havaitut loisen sporokysti-vaiheet oletettiin kuuluvan *Ichthyocotylurus pileatus* -loiselle, mikä on todennäköistä, koska muita loislajeja ei myöhemminkään havaittu. Matalassa sen sijaan esiintyi myös muita imumatolajeja: *Asymphylogora* sp. (2,2 %), *Australapatemon* sp. (2,0 %), *Sanguinicola* (1,2 %), *Strigeidae* (0,1 %) ja *Trichobilharzia* sp. (0,3 %), joten matalassa esiintyneisiin sporokysti-vaiheisiin saattoi sisältyä myös em. loisten kehitysvaiheita. Toukokuussa infektiot olivat kehittyviä sekä syvässä että matalassa (Kuvat 5a ja 5b). Kerkarioiden parveilu alkoi kesäkuussa, jolloin parveilevien kotiloiden osuus oli matalassa 1 % ja syvällä 6,9 %. Huomattavana erona havaittiin, että heinä-elokuussa matalassa ei havaittu lainkaan *I. pileatus* -loista, kun taas samaan aikaan syvällä parveilu oli voimakkaimmillaan. Heinäkuussa parveilevien kotiloiden osuus oli syvällä 36,8 % ja elokuussa parveilu laski 9,4 %:iin, kehittyviä sporokystivaiheita ei syvällä havaittu näinä kuukausina. Syyskuussa matalassa parveilua esiintyi jonkin verran (0,8 %), mutta silloinkaan ei havaittu yhtään kehittyviä sporokystivaiheita. Lokakuussa matalassa esiintyi ainoastaan kehittyviä sporokystivaiheita (1,6 %). Syys- ja lokakuussa parveilua ei enää havaittu syvässä vedessä, mutta sporokystivaiheita esiintyi syyskuussa 2 % ja lokakuussa 2,5 % kotilyksilöistä (Kuva 5b).



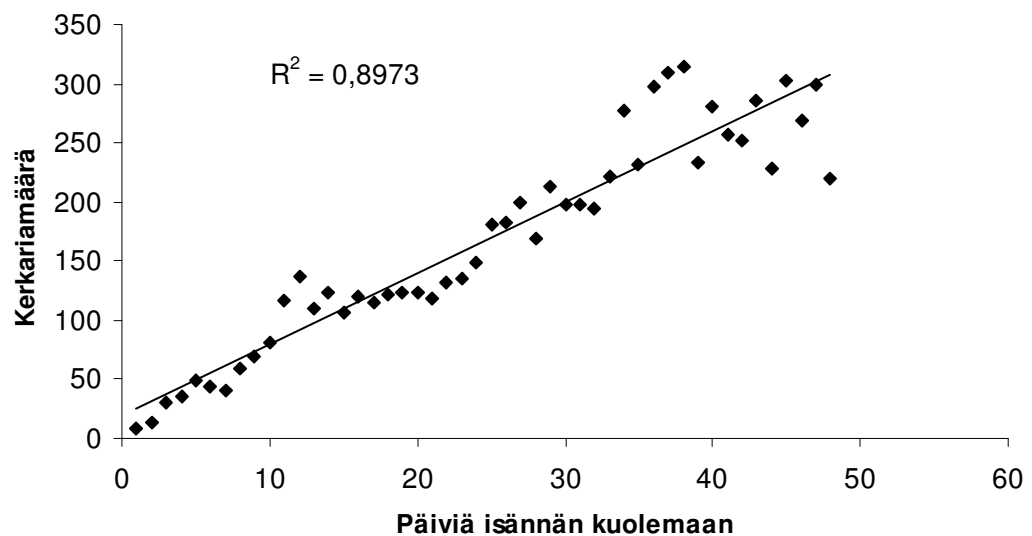
Kuva 5a.



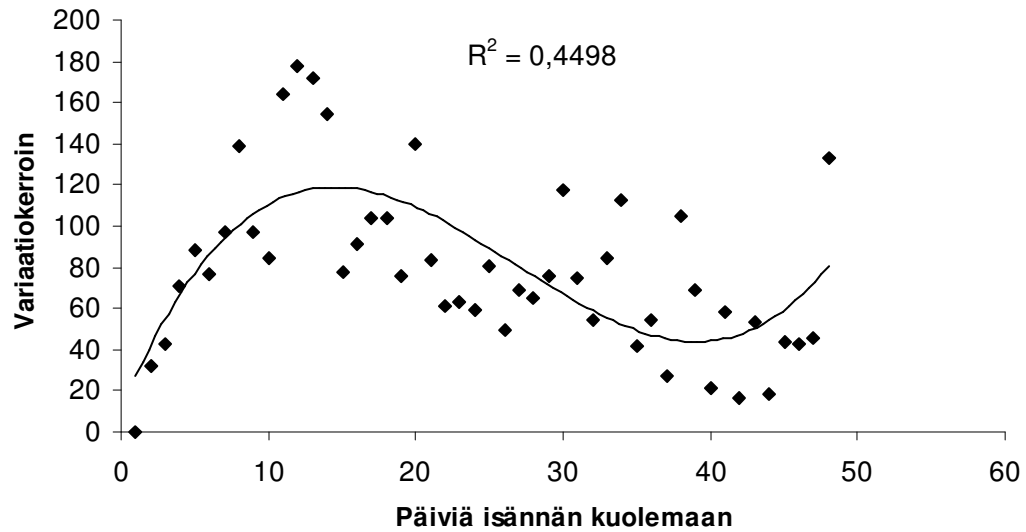
Kuva 5a-b. *I. pileatus* -loisten prosentuaaliset osuudet sporokysti- ja parveiluvaiheissa Konnevedessä 1-2 metrin (Kuva 5a) ja 5-6 metrin (Kuva 5b) syvyydessä touko- lokakuussa 2007 (sporokysti= harmaa pylväs, parveilu= valkoinen pylväs). Viiva osoittaa kunkin kuukauden pintaveden keskilämpötilan.

3.3. *I. pileatus* kerkariatutannon päivittäinen seuranta

Parveilevien kotiloiden ($n=15$) keskimääräinen kerkariatutanto oli 166 ± 12.8 (S.E.) kerkariaa päivässä 48 päivän tutkimusjakson aikana. Koska tässä tutkimuksessa käytetyt kotilot kerättiin luonnosta, niiden *Ichthyocotylurus* -infektion ikää ei tunnettu. Toisin sanoen, infektiot voivat olla eri vaiheessa riippuen siitä, milloin kotilo on infektoitunut. Tästä syystä tuotannon kuvaajaa tarkasteltiin siten, että kaikkien kotiloyksilöiden kuolinhetki asetettiin x-akselin nollakohtaan. Tulos osoittaa, että kotiloiden keskimääräinen kerkaria-tuotanto laskee kotilon kuoleman lähestyessä lähes lineaarisesti, vaikka jonkin verran on havaittavissa vaihtelua (Kuva 6). Kotiloiden seuranta kesti 48 päivää, mutta kaksi kotiloyksilöä oli elossa vielä 17 päivää myöhemmin (20.9.07). Ko. yksilöiden kerkaria-tuotanto 48 päivän jälkeen oli kuitenkin vähäistä ja tämän jakson tuotanto jätettiin pois aineistosta.



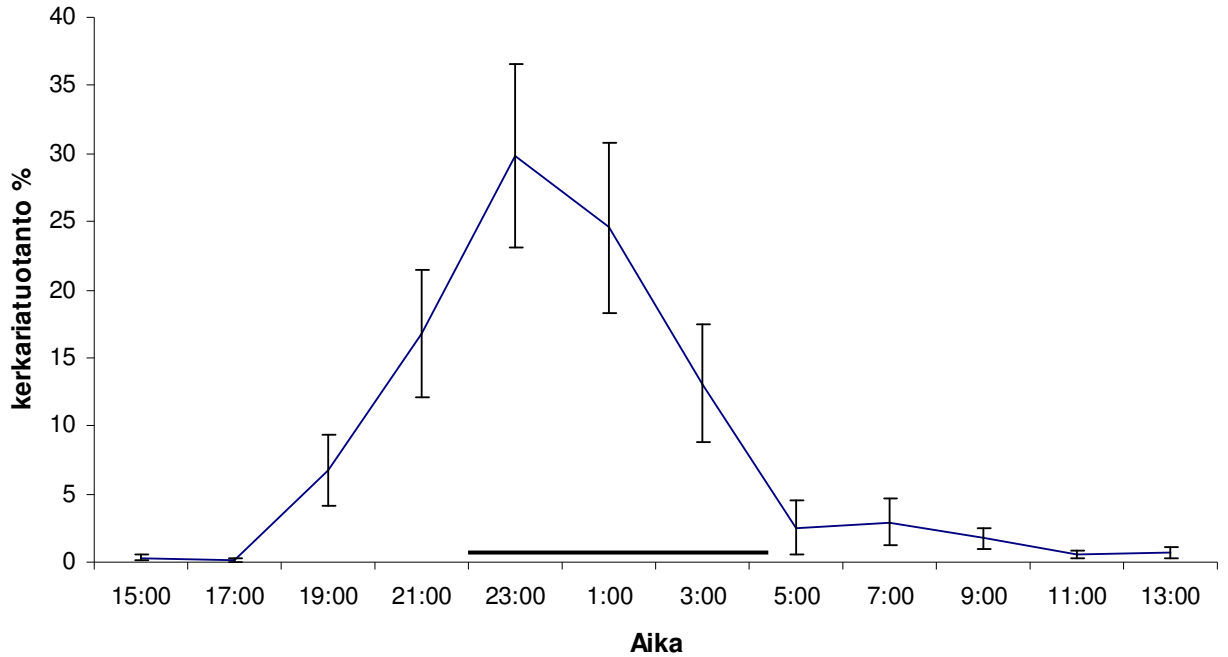
Kuva 6. *Ichthyocotylurus. pileatus*- kerkarioiden vuorokausituotannon keskiarvot. Seuranta toteutettiin 18.7.–3.9.2007. *Valvata macrostoma*- kotiloiden (n=15) kuolinaika on asetettu samaksi päiväksi. Suoran yhtälö: $y = 6.0127x + 18.964$.



Kuva 7. Variaatiokerroin (variassi/keskiarvo) *I. pileatus*- kerkarioiden vuorokausituotannosta. *V. macrostoma*- kotiloiden (n=15) kuolinpäivä on asetettu samaksi päiväksi. Trendiviivan yhtälö: $y = 0.0101x^3 - 0.808x^2 + 17,054x + 10,847$.

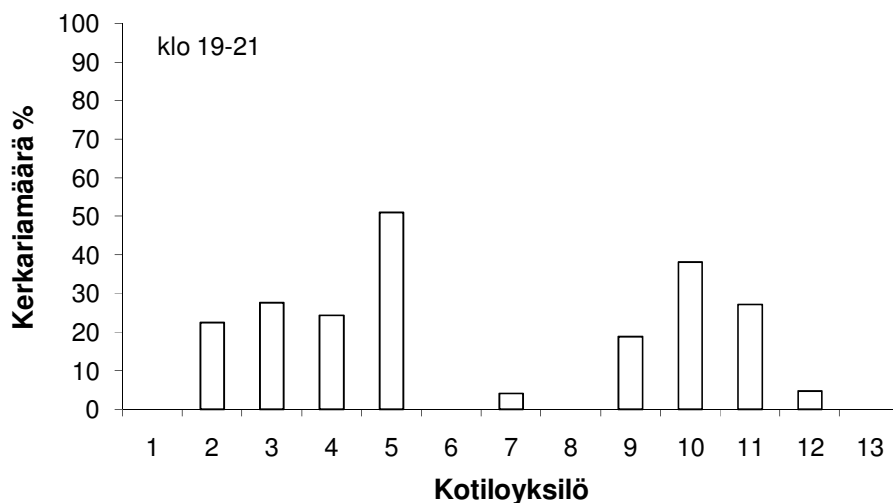
3.4. *I. pileatus* kerkariatuoannon vuorokausirytmikka

Kotiloiden (n= 13) vuorokautista kerkariatuoantoa seurattiin kahden tunnin välein. Kerkarioiden parveilu alkoi klo 17:00–19:00 välisenä aikana ja lisääntyi tämän jälkeen. Huippunsa parveilu saavutti klo 23:00, jonka jälkeen se alkoi laskea. Kerkariatuoanto klo 21:00-23:00 välisenä aikana vastasi 54 %:a vuorokauden koko tuotannosta. Matalimmillaan kerkariatuoanto oli klo 03:00-17:00, jolloin kerkarioita parveili 15 % kokonaismäärästä. Ajankohtien välillä on merkitsevä ero kerkariatuoannossa (Toistomittaus ANOVA, $F_{11}=11,709$, $p=0,001$). (Kuva 8).

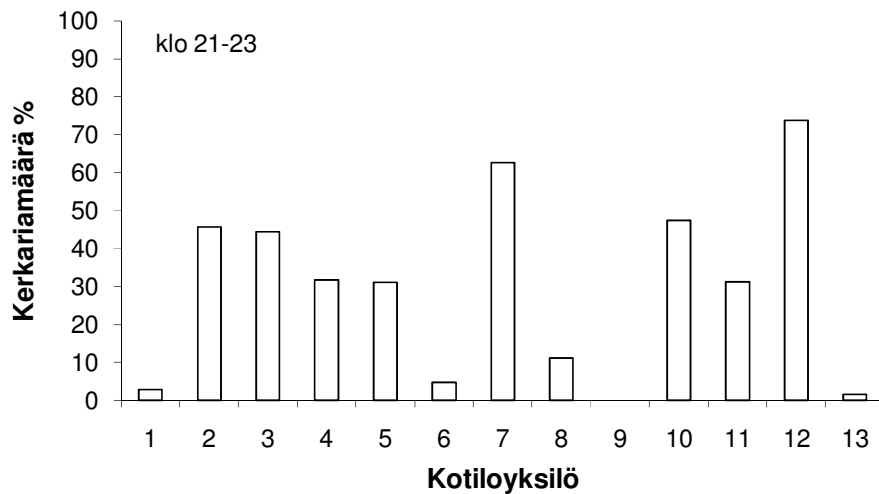


Kuva 8. *I. pileatus* -loisen kerkariatuotannon vuorokausirytmiiikka *Valvata macrostoma* kotiloyksilöissä (n= 13). Aineisto on kuvattu prosenttiosuuksina kerkariatuotannosta kahden tunnin jaksoissa vuorokauden aikana (1.8.-2.8.2007). Aurinko laski klo 22.00 ja nousi klo 04.30, musta palkki kuvaa vuorokauden valotonta aikaa.(virhepalkit S.E.).

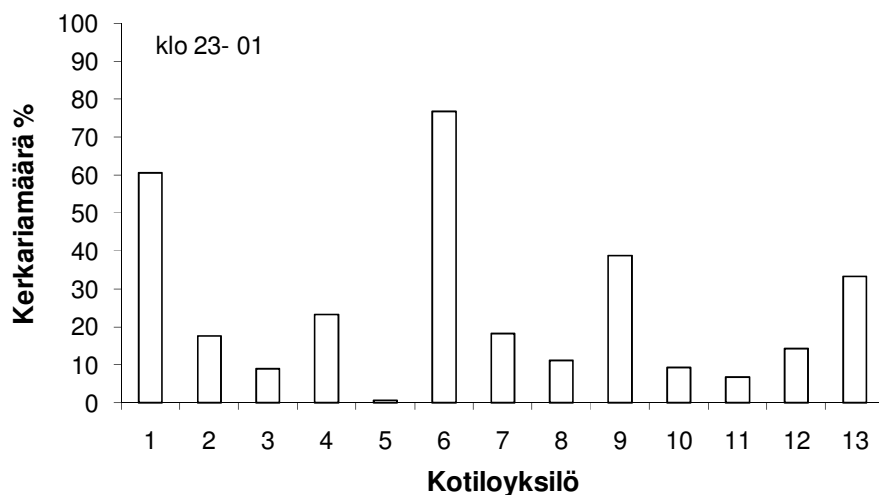
Tarkastelin myös kotiloiden yksilökohtaista kerkariatuotantoa ja käytin tähän aineistoa klo 19:00-01:00 väliseltä ajanjaksolta, jolloin tuotanto oli korkeimmillaan. Kotiloyksilöiden kerkaria-tuotanto vaihteli eri yksilöiden välillä selvästi. Esimerkiksi, kotiloyksilö 5 tuotti klo 19:00-21:00 välisenä aikana 51% vuorokauden kerkariatuotannosta, kun samaan aikaan kotiloyksilö 6 ei tuottanut kerkarioita lainkaan. Kahden tunnin päästä, klo 21:00-23:00, kotiloyksilön 5 tuotanto laski 31 %:iin ja kotiloyksilön 6 tuotanto nousi 5 %:iin. Kello 23:00-01:00 kotiloyksilön 5 kerkariatuotanto laski 1%:iin ja samaan aikaan kotiloyksilön 6 tuotanto oli suurimmillaan (77 % vuorokauden tuotannosta) (Kuvat 9 a-c).



Kuva 9a.



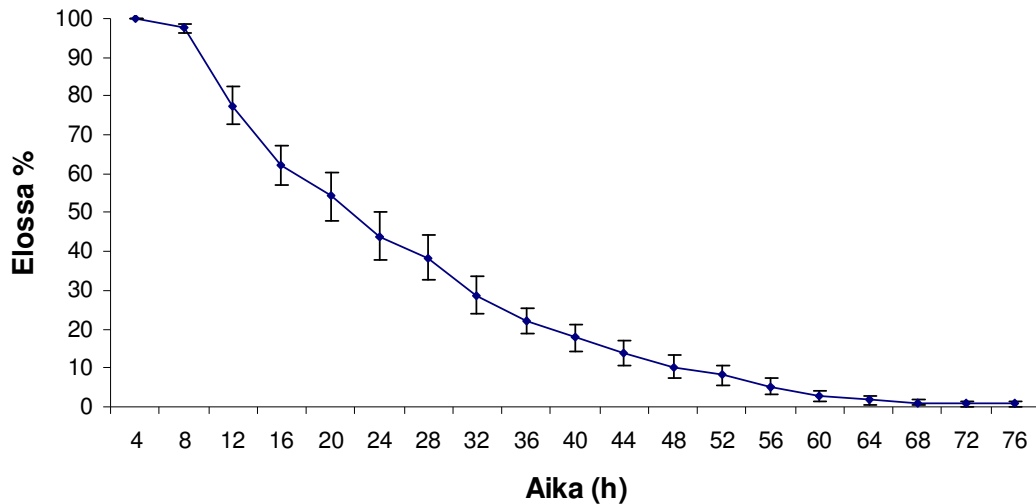
Kuva 9b.



Kuva 9 a-c. *V. macrostoma* –kotiloiden kerkariatuoanto kolmen eri ajanjakson aikana. Kotiloyksilöt (1-13) on sijoitettu järjestykseen tuotantomääränsä mukaan kuvassa 9a (klo 19.00-21.00). Sama järjestys toistuu kuvissa 9b (klo 21-23) ja 9c (klo 23-01).

3.5.1. *I. pileatus* kerkarioiden eliniän seuranta

Ichthyocotylurus-kerkarioiden eliniän seuranta aloitettiin 15.8. klo 01.00 ja lopetettiin 18.8.2007 klo 01.00. Kuolleisuus oli ensimmäisten 16 tunnin aikana melko korkea; 12 tunnin jälkeen kerkarioita oli elossa 77 % ja 16 tunnin jälkeen 60 %. Tämän jälkeen kuolleisuus eteni lähes lineaarisesti ja 44 tunnin jälkeen elossa oli 40 % kerkarioista. Kuolleisuus laski 44 tunnin jälkeen hitaasti kohti loppua ja kahden vuorokauden (48 h) ikäisinä kerkarioista oli elossa 10 %. Elävien kerkarioiden osuus laski 3 %:iin 60 tunnin jälkeen (Kuva 10).



Kuva 10. Elossa olevien *Ichthyocotylurus pileatus* –kerkarioiden osuus (% \pm S.E.) ajan funktiona. Kerkariat kerättiin 17 *V. macrostoma* -kotilosta (20 kerkariaa per kotilo). Viimeinen kerkaria kuoli 76 tunnin jälkeen.

4. POHDINTA

4.1. Imumatoloisen elämänkierto

Imumatojen elämänkierto sisältää tyypillisesti kaksi tai kolme eri isäntälajia, joista pääisäntä on selkärangainen, 1. väli-isäntä selkärangaton (usein kotilo) ja 2. väli-isäntä kala, joka kantaa sisällään tai pinnallaan loisen metakerkaria-vaihetta. Transmissio, eli siirtyminen isännästä toiseen, on loisen elämänkierrossa yksi keskeisimmistä ja epäennustettavimmista vaiheista, sillä loisen täytyy olla samassa paikassa samaan aikaan seuraavan isännän kanssa päästäkseen elämänkierronsa eteenpäin. Transmission epätodennäköisyyttä lisää monilla loisilla vapaana elävien toukkavaiheiden lyhyt elinaika; ne pysyvät elossa yleensä vain muutaman vuorokauden isännän ulkopuolella rajallisten energiavarustojensa vuoksi (Karvonen ym., 2006). Imumadot ovat pyrkineet ratkaisemaan siirtymisen epätodennäköisyyden mm. suurella lisääntymispotentiaalilla kotiloisännässä (Karvonen ym., 2004) sekä toukkavaiheiden vapauttamisen synkronoinnilla seuraavan isännän aktiivisuuden kanssa (Poulin, 1998; Karvonen ym., 2004). Loisen kerkaria-vaiheen siirtymiseen 2. väli-isäntään vaikuttaa suuresti mm. isännän käyttäytyminen ja ravinnon hankinta, joihin loinen pyrkii synkronoitumaan. Työni päätavoite oli selvittää mitkä tekijät vaikuttavat siihen, että *Ichthyocotylurus* -imumatoloisten esiintyminen on niin yleistä ja runsasta makeanveden kaloissa, vaikka loisten siirtyminen isännästä toiseen on yleisesti ottaen epävarmaa. Näitä tekijöitä selvitin tutkimalla *Valvata macrostoma* -kotiloiden populaatiodynamiikkaa, *I. pileatus* -loisen esiintymistä *V. macrostoma* -kotiloissa eri syvyysvyöhykkeissä, transmission vuodenaikaisuutta sekä kerkariatuotannon rytmiikkaa ja kerkarioiden ominaisuuksia.

4.2. *Valvata macrostoma* -kotiloiden populaatiodynamiikka ja kotilon koon vaikutus loisintaan

Aiemmissa tutkimuksissa on havaittu loisten prevalenssin ja parveilevien kerkarioiden määrän nousevan isäntänä toimivan kotilon koon kasvaessa (Karvonen ym., 2006). Suurempikokoiset kotilot ovat yleensä vanhempia yksilöitä ja ovat altistuneet

loisille pidempään, mikä kasvattaa loisinnan todennäköisyyttä (Jokela & Lively, 1995; Taskinen & Valtonen, 1995; Sorensen & Minchella, 2001). On myös havaittu infektoituneilla kotiloilla gigantismia eli ne kasvavat nopeammin kooltaan suuremmiksi kuin terveet samanikäiset kotiloyksilöt (Sorensen & Minchella, 2001; Graham, 2003; Chapuis 2009).

Työssäni havaitsin, että *V. macrostoma* –kotiipopulaation kuukausittaiset kokojakaumat erosivat merkitsevästi toisistaan, touko- ja lokakuun jakaumien ollessa lähimpänä toisiaan. Heinä- ja elokuun aikana pienten kotiloiden osuus kotiipopulaatiossa oli suurempi kuin toukokuussa, mikä viittaa uuden vuosiluokan syntyyn. *V. macrostoma* –kotilo kuuluu semelparisiin lajeihin eli se lisääntyy aikuisena kerran, jonka jälkeen se kuolee (Glöer, 2002). Talvehtineet suuret yksilöt lisääntyvät todennäköisesti keväällä ja kuolevat sen jälkeen. Näiden kotiloiden jälkeläiset näkyvät kotiipopulaatiossa heinäkuusta eteenpäin. Syvällä kotilot olivat hieman pienempiä kuin matalassa, mikä voi viitata hitaampaan kotiloiden kasvuun veden ollessa syvällä viileämpää (Holopainen, 1980; Bauer, 1992; Jokela & Lively, 1995). Näiden kahden syvyysvyöhykkeen kokojakaumat kuukausittain tutkimusjakson aikana olivat kuitenkin muodoltaan verrattain samanlaisia. Yhteenvetona voidaan sanoa, että elämän pituus kotiloilla on luultavasti noin vuosi.

Tässä tutkimuksessa prevalenssi oli korkein suurimmassa kokoluokassa (4,0-5.6 mm). Suurimman kokoluokan kotiloita saatiin kuitenkin kerättyä paljon vähemmän kuin muiden kokoluokkien yksilöitä, varsinkin syvältä (n=17). On mahdollista, että tähän on vaikuttanut loisittujen yksilöiden korkeampi kuolleisuus (Jokela ym., 1999). Työni kotilot ovat luonnosta kerättyjä, joten niiden ikää ei tiedetä tarkasti. Imumatoloisille on yleistä, että ne kastroivat kotilo-isäntänsä, jolloin kotilo voi käyttää lisääntymisestä jääneen ylimääräisen energian omaan kasvuunsa (Sorensen & Minchella, 2001). Näin loinen saa käyttöönsä suuremman 'loistehtaan'. Korkeamman loisinnan suurissa kotiloissa voisi selittää joko kotiloiden vanhempi ikä, jolloin ne ovat altistuneet loisille pidempään tai infektiosta johtuva gigantismi, jolloin kotilot ovat samaa ikäluokkaa, mutta toiset ovat infektoituneet toisia aiemmin. Tällä aineistolla ei saada vastausta kumpi edellä mainituista tapauksista on kyseessä. Asian selvittäminen vaatisi lisää kokeita. *Valvata macrostoma* -kotiiloiden populaatiodynamiikassa oli myös havaittavissa selvää vuodenaikaisuutta *I. pileatus* –infektioiden suhteen. Tämä voi johtua loisesta, mutta myös kotiiloiden elämän vaiheista. Vaikuttaa siltä, että nuori ikäryhmä korvaa vanhan ja se voi johtaa prevalenssin laskuun keskikesällä.

4.3. *I. pileatus* –loisinnan paikallinen ja ajallinen vaihtelu

Syvällä alueella *I. pileatus* infektiota oli enemmän kuin matalassa (1-2m). Myös kahden eri syvyysvyöhykkeen välillä ero infektioiden suuruudessa oli hämmästyttävän suurta näinkin pienessä mittakaavassa. Paikkojen välinen ero oli vain n. 50-70 m. Syvyysvyöhykkeiden välinen ero loisinnan prosentissa säilyi koko tutkimusjakson ajan. Tämä osoittaa eron olevan todellinen, vaikka tutkimus käsitti vain kaksi paikkaa. Matalassa vedessä kotiiloiden prevalenssi oli korkeimmillaan kesäkuussa, mutta heinä- ja elokuussa en havainnut rannan kotiiloissa yhtään *I. pileatus* infektiota. Tämä voi johtua mm. loisen pääisäntänä toimivien lintulajien esiintymisestä rantavyöhykkeen eri osissa. Vaikka *I. pileatus* –loisen pääisäntälajeja/lajia ei tiedetä varmuudella, näyttää siltä, että kotilot altistuvat pääosin syvällä. Tällöin isäntälaji on todennäköisesti jokin syvällä ruokaileva lintu, joita ovat esimerkiksi monet sukeltajat (koskelot; *Mergus sp.* ja kuikat; *Gavia arctica*). *Ichthyocotulurus pileatus* –loisen lähisukuisten *I. erraticus* ja *I. variegatus* –lajien pääisäntänä taas pidetään *Larus*-suvun lokkeja (Swennen ym., 1979). Näiden loislajien infektiota ei kuitenkaan löytynyt tutkimukseni kotiiloista, vaikka kyseisten loisten metakerkariat ovat yleisiä

tutkimusalueenkin kaloissa. Tämä viittaa siihen että ko. lajien transmissio kaloihin tapahtuu jossakin muualla kuin *I. pileatus* -loisen transmissio. *I. pileatus* -loisen transmissio näyttäisi tapahtuvan pääasiassa syvällä. Onkin ilmeistä, että *I. pileatus* -loisen esiintymisessä ja siten myös transmissiossa on suuria paikallisia eroja.

Toukokuun ja lokakuun prevalenssit olivat samansuuntaisia. Tämä viittaa siihen, että loiset talvehtivat kotiloissa, kun veden lämpötila laskee liian kylmäksi kerkarioiden parveilulle. *Ichthyocotylurus* -kerkarioita vapautuu kotilosta veden lämpötilan saavuttaessa vähintään 13 °C (Olson, 1970; Wootten, 1973). Samanlainen lämpötilaan liittyvä parveileminen on havaittu aiemmissa tutkimuksissa *Diplostomum spathaceum* -imumadoilla (Karvonen ym. 2006). Toukokuun infektiot olivat luultavasti edellisen vuoden talvehtineita loisia. Veden lämpötilan noustessa tarpeeksi kerkarioiden kehittyminen ja parveilu jatkuu. Syvällä *I. pileatus* -loisen prevalenssi kotilopopulaatioissa oli suurimmillaan heinäkuussa ja pienimmillään syys-lokakuussa. Parveilu syvällä keskittyi kesä- elokuulle (pintaveden lämpötila 15,8 -19,3 °C) ja oli suurinta heinäkuussa (pintaveden lämpötilojen keskiarvo 18,4 °C) (Kuvat 5a ja 5b). Tämä osoittaa, että parveilu on luultavasti yhteydessä veden lämpötilaan kuten muillakin imumatolajeilla. Parveilevia kotiloita 1-2 m syvyydessä havaitsin ainoastaan kesä- ja syyskuussa. Tämä johtunee matalan veden muutenkin pienestä loisinnan prosentista ja korostaa infektioiden satunnaista luonnetta matalassa elävissä kotiloissa. Infektion riskissä on siis kalan kannalta suurta ajallista ja paikallista vaihtelua, mikä johtuu osaltaan kotiloiden populaatiodynamiikasta, mutta ennen kaikkea siitä, että loisinta on keskittynyt syvälle ja keskikesään.

4.4. *I. pileatus* kerkariatuoannon päivittäinen seuranta

Tämän tutkimuksen *I. pileatus* -infektion saaneiden *V. macrostoma* -kotiloiden (n=15) keskimääräinen kerkariatuoanto oli 166 kerkariaa päivässä tutkimusjakson aikana (48 päivää). Swennen ym. (1979) havaitsivat *Ichthyocotylurus* -loisilla (lajeja ei määritelty) infektoituneiden kotiloiden tuottavan keskimäärin 100 kerkariaa päivässä, maksimissaan 190. Tuoreemmissa tutkimuksissa tuotannon on havaittu olevan keskimäärin 154 kerkariaa päivässä *I. erraticus* -loisella ja 127 kerkariaa *I. variegatus* -loisella (Bell ym. 1999). Vertailtaessa muihin imumatolajeihin määrä on alhainen. Esimerkiksi *Diplostomum spathaceum* -loisen keskimääräinen päivittäinen kerkaria-tuoanto *Lymnae stagnalis* -kotilossa vaihteli 7000 ja 37 000 kerkaria välillä päivässä (Karvonen ym., 2004). Määrät vaikuttavat suurilta vertailtaessa niitä *Ichthyocotylurus* -loisen kerkariatuoantoon, mutta on otettava huomioon, että *V. macrostoma* -kotilo on kooltaan paljon pienempi kuin *L. stagnalis*. Karvonen ym. (2006) havaitsivat, että keskimääräinen kerkariatuoanto oli huomattavasti suurempi *Diplostomum spathaceum* -lajilla kuin *D. gasterostei* -lajilla kymmenen päivän aikana (*D. spathaceum* 11000 ja *D. gasterostei* 4400), mutta suhteutettuna kotilon kokoon *D. gasterostei* -lajin keskimääräinen kerkariatuoanto oli huomattavasti korkeampi. Kotilon koolla näyttäisi näin ollen olevan suuri vaikutus kerkariatuoannon määriin. *V. macrostoma* -kotiloiden tiheydet ovat luultavasti huomattavasti suurempia kuin esim. *L. stagnalis* -kotiloiden, mikä saattaa kompensoida kerkarioiden kokonaismäärää, jonka kotilopopulaatio tuottaa.

Loinen ja kotilo-isäntä elävät vuorovaikutuksessa toisiinsa. Vaikka loinen tekee kotilon lisääntymiskyvyttömäksi 'loistehtääksi', se yleensä pyrkii pitämään isäntänsä elossa mahdollisimman pitkään, jotta siirtyminen seuraavaan isäntään olisi todennäköistä. Loinen voi myös tappaa isäntänsä pianikin, jos se sitä kautta saavuttaa korkeamman jälkeläistuoton seuraavassa isännässä. Tässä tutkimuksessa kotiloiden kerkaria-tuoanto laski merkittävästi kotilon lähestyessä kuolemaa. Tämä voi johtua yksinkertaisesti siitä,

että kotilon resurssit vähenevät, kun infektiot etenee, mikä jättää vähemmän resursseja myös loiselle. Toisaalta, tulos voi tukea ”bet hedging” -teoriaa (Karvonen ym., 2004), minkä mukaan loiset pienentävät tuotantoaan sitä mukaan kun kotilo heikkenee, sillä ne eivät halua tappaa isäntäänsä.

4.5. *I. pileatus* –lajin kerkaria-tuotannon vuorokausirytmiiikka ja kerkarioiden elinikä

Imumatoloiisiin kuuluva *Apatemon gracilis* –loisella loisittujen *Lymnae peregra* –kotiloiden kerkarioiden parveilun piikki osui pimeään aikaan (klo 01-03) kuten *I. pileatus* –kerkarioiden (Bell ym. 1999). *Diplostomum spathaceum* –loisen kerkariatuoannon havaittiin hiipuvan yöksi ja olevan korkeimmillaan päivällä (Karvonen ym. 2004), jolloin useimmat kalalajit ovat myös aktiivisia (Wootton, 1990). *D. spathaceum* –loisen on havaittu infektoivan useampia kalalajeja (Valtonen & Gibson 1997), mutta tätä käsitystä ovat kuitenkin hieman muuttaneet uudet molekyylianalyysiin perustuvat lajinmääritykset. Silmän linssissä loisivaa *Diplostomum* –lajeja on ilmeisesti enemmän kuin rakenteen perusteella pystytään erottamaan. Ei siksi voida tietää miten montaa isäntää kukin laji todellisuudessa infektoi. Useissa tutkimuksissa on havaittu *Schistosoma* –suvun loislajien kerkarioiden parveilun vuorokausirytmien jakautuvan kaikille vuorokauden jaksoille siten, että kukin laji synkronoituu sen mukaan milloin seuraava isäntä on aktiivinen (Combes ym. 1994) (ks. myös johdanto). Kerkarioiden parveilu noudatti *I. pileatus* –loisella selvää vuorokausirytmiiikkaa keskittyen iltaan. Loisen ainoa päämäärä kotilossa on lisääntyä suvuttomasti mahdollisimman paljon, kuitenkin ylittämättä isäntänsä sietokykyä ja purkautua ulos seuraavan väli-isännän eli kalan lähetyksellä. Mitä suuremmat kerkarioiden määrät yksi loinen tuottaa kotilon sisällä, sitä varmemmin edes yksi tai muutama kerkaria päätyy seuraavaan isäntään. Kerkariatuoanto nousi illalla ja oli huipussaan ilta yhdentoista aikaan, jonka jälkeen se alkoi laskea. *Ichthyocotylurus* -loisen tärkein väli-isäntä on ahven, joka saalistaa päivisin parvessa ja viettää yönsä pohjan tuntumassa kasvuston suojissa (Huusko ym., 1996; Zamora & Moreno-Amich, 2002; Lorke ym., 2008). Vaikuttaisi siltä, että loisen vuorokausirytmiiikka on yhteydessä ahvenen rytmiiikkaan (Koli 1990). Kun ahven lepää pohjassa ja sen lähellä on loisella infektoituneita kotiloita, kerkariat parveilevat ja löytävät kala-isäntiä. Loisen kannalta on tehokkainta parveilla ulos kotilosta suurina määrinä juuri silloin, kun siirtyminen kalaan on todennäköisintä. Kerkarioiden vertikaalijakaumaa vedessä ei vielä tunneta, mikä voi myös hienosäätää transmissiota.

I. pileatus –loisen lähisukuisilla *I. erraticus* - ja *I. variegatus* –loislajeilla vuorokausirytmiiikka taas noudatti päivävastaista parveilurytmiiikkaa, keskittyen valoisaan aikaan (piikki klo 13- 15) (Bell ym. 1999). Erilainen vuorokausirytmiiikka eri *Ichthyocotylurus* –lajeilla selittyy luultavimmin eri isäntäkalalajeilla. *I. variegatus* –loinen esiintyy myös ahvenkaloissa, mutta erilainen vuorokausirytmiiikka voi selittyä loislajien käyttäessä ensisijaisesti eri ahvenkalalajeja väli-isäntinä. *I. erraticus* –loisella väli-isäntänä toimii lohikaloihin kuuluva siika. Vuorokausirytmiiikka *I. pileatus* –loisella synkronoituna ahvenen rytmiiikkaan voisi selittää loisen yleisyyden ja tehokkaan transmission onnistumisen.

I. pileatus -kerkariat elivät pisimmillään 3 vuorokautta, mikä on pidempi aika kuin useimmilla imumatoloiisilla, joilla elinaika on usein 1-2 vuorokautta. Karvonen ym. (2006) tutkimuksessa *D. spathaceum* –loisen maksimi elinikäksi todettiin 37 tuntia ja muutama *D. gasterostei*-loisen kerkaria eli 44 tuntia. *Ichthyocotylurus*-loisten (*I. erraticus*, *I. variegatus* ja *I. plathycephalus*) kerkarioiden on havaittu olevan hyvin aktiivisia 15 tunnin ajan 22 °C lämpötilassa, jonka jälkeen aktiivisuus laskee nopeasti. Kerkariat voivat kuitenkin pysyä elossa 26 tuntia ja vielä hiukan pidempäänkin alemmissa lämpötiloissa (Swennen ym. 1979). Kerkarioiden hännässä sijaitsevat glykogeenivarastot ovat rajalliset ja kerkarian

kyky infektoida, joka on riippuvainen samasta resurssista, häviää jo todennäköisesti aiemmin, muutama tunti ennen kuolemaa (Karvonen ym. 2003). Koska *I. pileatus* loiset eivät tuota niin paljon kerkarioita, jää energiaa kerkarioiden elämiseen ehkä tästä syystä enemmän eli kerkariat varustetaan paremmin selviämään vapaana.

4.6. Yhteenveto

Työni tulosten perusteella *I. pileatus* loisen yleisyys makeissa vesissä näyttäisi olevan tehokkaan transmissiostrategian tulosta. Loinen on oikeassa paikassa oikeaan aikaan.

I. pileatus –loinen on synkronoitunut tehokkaasti isäntiensä kanssa. Loinen talvehtii kotilossa veden lämpötilan laskiessa ja aloittaa parveilemisen ulos kotilosta seuraavana kesänä veden lämpötilan jälleen noustessa. Toukokuussa loiset ovat vielä kotiloiden sisällä sporokystivaiheessa, myös lokakuussa veden viilentyessä uuden sukupolven kotiloissa esiintyy ainoastaan sporokystivaihetta. Parveileminen alkaa seuraavan vuoden kesäkuussa ja on voimakkainta syvällä alueella (5-6 m) varsinkin heinäkuussa. Osa kotilopopulaatiosta ehtii lisääntymään ennen loisinfektiota, sillä heinä- ja elokuussa pienten kotiloiden osuus kotilopopulaatiossa on suurempi kuin toukokuussa, mikä viittaa uuteen sukupolveen. Loinen hyödyntää tehokkaasti kotilopopulaatiota ja on synkronoitunut kotilon elämänkaaren eri vaiheisiin.

Näyttäisi siltä, että siirtyminen kotilo-isännästä seuraavaan kalaisäntään tapahtuu voimakkaammin 5-6 metrissä kuin 1-2 m. Tämä voi olla loisen synkronoitumista kalaisännän liikkumisen rytmiin. Parveilu näyttäisi painottuvan kesä- elokuuhun ja myöhäisiltaan. Tämän tutkimuksen laboratoriokeissa parveilu kotiloista saavutti huippunsa klo 23 illalla. *I. pileatus* –loisen parveilevat kerkariat olivat myös muita imumatolaisia hieman pitkäikäisempiä, mikä voi osaltaan vahvistaa siirtymistä seuraavaan isäntään. Toisaalta, vaikka kerkariat ovat pitkäikäisiä, ei tiedetä vielä säilyykö niiden infektointikyky myös pidempään kuin muilla imumatolaisilla. Tätä asiaa pitäisi vielä tutkia.

Luonnon oloissa *I. pileatus* –loisen leviäminen kaloihin on tehokasta ja hyvin synkronoitunutta, joten se voi olla haitallinen ahvenkalojen viljelyaltaisiin päästessään. Luonnon kalat ovat lähes aina se lähde, mistä myös viljeltävien kalojen loiset ovat peräisin. Runsaana esiintyessään loinen voi heikentää kalojen ja niiden gonadien kasvua, kuten *I. pileatus* –loisen sukulaislajin *I. erraticus* –lajin on havaittu heikentäneen siikojen kasvua (Harrod & Griffiths 2005). Loisen pääisäntä, kalaa syövä lintu, voi ohi lentäessään ulostaa viljelyaltaisiin ja levittää loisen munia. Siirtyminen linnusta kalaan ei voi kuitenkaan tapahtua ilman kotilo väli-isäntää, joten olisi tärkeää torjua tehokkaasti kotiloiden pääsy kalojen kasvatusaltaisiin. Ensin pitäisi selvittää pystyvätkö *V. macrostoma* –kotilot elämään kalanviljelyaltaissa ja onko olemassa uhka kotilon leviämisestä laitoksiin. Toinen leviämishuhta on kerkarioiden pääseminen vedenvaihtokanavia pitkin altaisiin, jolloin kotiloita ei tarvita kalaisäntään siirtymiseen. Jatkotutkimuksissa voitaisiin selvittää onko kerkarioiden mahdollista päästä altaisiin ja miten kerkarioiden leviämisen voisi mahdollisesti estää. Erityisesti siikojen kasvatuksessa *I. erraticus* saattaa muodostaa uhkan, mutta myös *I. pileatus* –lajin lienee mahdollista levitä kuhan luonnonravintoviljelyksille. Ainakin kokeissa *I. pileatus* on tarttunut kuhan poikasiin (E.T. Valtonen, suullinen ilmoitus).

KIITOKSET

Kiitän työni ohjaamisesta Dosentti Anssi Karvosta ja Professori (emerita) E. Tellervo Valtosta. Lisäksi haluan kiittää Anna Faltýnkovaa ja Katri Senilää avusta käytännön tutkimustyön toteutuksessa ja Konneveden tutkimusaseman henkilökuntaa avusta kotilonäytteiden keräämisessä.

KIRJALLISUUS

- Bell A.S., Sommerville C., Gibson D.I.1999. Cercarial emergence of *Ichthyocotylurus erraticus* (Rudolphi, 1809), *I. variegatus* (Creplin, 1825) and *Apatemon gracilis* (Rudolphi, 1819) (Digenea: Strigeidae): contrasting responses to light: dark cycling. *Parasitol Res* 85:387-392.
- Bauer, G. 1992. Variation in the life span and size of the freshwater pearl mussel. *J. Anim. Ecol.* 61: 425-436.
- Chapuis,E. 2009. Correlation between parasite prevalence and adult size in a trematode-mollusc system: evidence for evolutionary gigantism in the freshwater snail *Galba truncatula*? *Journal of Molluscan Studies* 75(4): 391-396.
- Chellappa, S. Huntingford, F.A.,Strang, R.H.C.& Thomson, R.Y.1995. Condition factor and hepatosomatic index as estimates of energy status in male three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology* 47:775-787.
- Christensen, N. O. 1979. *Shistosoma mansoni*: interference with cercarial host-finding by various aquatic organisms. *Journal of Helminthology* 53: 7-14.
- Christensen, N. O., Frandsen , F. & Nansen, P. 1980. The interaction of some environmental factors influencing *Schistosoma mansoni* cercarial host-finding. *Journal of Helminthology* 54: 203-5
- Combes, C., Fournier, A., Moné, H. & Théron, A. 1994. Behaviours in Trematode cercariae that enhance parasite transmission: patterns and processes. *Parasitology* 109: S3-S13.
- Graham, A.L. 2003.Effects of snail size and age on the prevalence and intensity of avian schistosome infection: relating laboratory to field studies. *Journal of Parasitology* 89 (3): 458-463.
- Glöer, P. 2002. Die Süßwassergastropoden Nord- und Mitteleuropas. Bestimmungsschlüssel, Lebensweise, Verbreitung. *Die Tierwelt Deutschlands* 73: 1-327.
- Jokela, J. & Lively, C. M. (1995). Spatial variation in infection by digenetic trematodes in a population of freshwater snails (*Potamopyrgus antipodarum*). *Oecologia* 103: 509-517.
- Jokela, J.,Lively, C.M., Taskinen, J. & Peters, A.D. 1999. Effect of starvation on parasite-induced mortality in a freshwater snail (*Potamopyrgus antipodarum*). *Oecologia* 119: 320-325.
- Harrod C. & Griffiths D. 2005. *Ichthyocotylurus erraticus* (Digenea: Strigeidae): factors affecting infection intensity and the effects of infection on pollan (*Coregonus autumnalis*) a glacial relict fish. *Parasitology* 131: 511-519.
- Holopainen, IJ.1980. Growth of two *Pisidium* (Bivalvia, Sphaeriidae) species in the laboratory. *Oecologia* 45: 104-108.
- Huusko, A., Vuorimies, O. & Sutela, T. 1996. Temperature and light mediated predation by perch on vendace larvae. *Journal of Fish Biology* 49: 441-447.
- Mouchet F., Théron A., Brémond P., Sellin E. & Sellin B. 1992. Pattern of cercarial emergence of *Schistosoma curassoni* from Niger and comparison with three sympatric species of *Schistosomes*. *Journal of Parasitology* 78 (1): 61-63.
- Karvonen A., Kirsi S., Hudson P.J. & Valtonen E.T. 2004. Patterns of cercarial production from *Diplostomum spathaceum*: terminal investment or bet hedging? *Parasitology* 129: 87-92.

- Karvonen A. ja Valtonen E.T. 2004. Helminth assemblages of whitefish (*Coregonus Lavaretus*) in interconnected lakes: similarity as a function of species specific parasites and geographical separation. *Journal of Parasitology* 90 (3): 471-476.
- Karvonen A., Hudson P.T., Seppälä O. & Valtonen E.T. 2004. Transmission dynamics of a trematode parasite: exposure, acquired resistance and parasite aggregation. *Parasitol Res.* 92: 183-188.
- Karvonen A., Cheng G.H. & Valtonen E.T. 2005. Within- lake dynamics in the similarity of parasite assemblages of perch (*Perca fluviatilis*). *Parasitology* 131: 817-823.
- Karvonen A., Savolainen M., Seppälä O. & Valtonen E.T. 2006. Dynamics of *Diplostomum spathaceum* infection in snail hosts at a fish farm. *Parasitol Res.* 99: 341-345.
- Karvonen A., Terho P., Seppälä O., Jokela J. & Valtonen E.T. 2006. Ecological divergence of closely related *Diplostomum* (Trematoda) parasites. *Parasitology* 133: 229-235.
- Lorke, A., Weber, A., Hofmann, H. & Peeters, F. 2008. Opposing diel migration of fish and zooplankton in the littoral zone of a large lake. *Hydrobiology* 600: 139-146.
- Olson, R.E. 1970. The life cycle of *Cotylurus erraticus* (Rudolphi, 1809) Szidat, 1928 (Trematoda: Strigeidae). *Journal of parasitology* 56: 55-63.
- Poulin R. 1998: Evolutionary Ecology of Parasites. Chapman & Hall, New Zealand.
- Poulin R. 2007: Evolutionary Ecology of Parasites (second edition), From Transmission and infection. 26 s. Princeton University Press, United Kingdom.
- Santos M.J., Karvonen A., Pedro J.C., Faltynkova A., Seppälä O. & Valtonen E.T. 2007. Qualitative and quantitative behavioural traits in a community of furcocercarial trematodes- tools for species separation? *Journal of Parasitology* 93(6): 1319-1323.
- Sorensen R.E. & Minchella D.J. 2001. Snail-trematode life history interactions; past trends and future directions. *Parasitology* 123: S3-S18
- Swennen C., Heessen H.J.L. & Höcker A.W.M. 1979. Occurrence of *Cotylurus (Ichthyocotylurus) erraticus*, *C. (I.) variegatus* and *C. (I.) platycephalus* in the Netherlands. *Netherlands Journal Sea Research* 13 (2): 161-191.
- Taskinen, J. & Valtonen E.T. 1995. Age-, size-, and sex-specific infection of *Anodonta piscinalis* (Bivalvia: Unionidae) with *Rhipidocotyle fennica* (Digenea: Bucephalidae) and its influence on host reproduction. *Can.J. Zool.* 73: 887-897.
- Valtonen E.T., Holmes J.C. & Koskivaara M. 1997. Eutrophication, pollution and fragmentation; effects on parasites communities in roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in four lakes in central Finland. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54: 572-585.
- 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.
- Valtonen E.T., Holmes J. C., Aronen J. & Rautalahti I. 2003. Parasite communities as indicators of recovery from pollution: parasites of roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in Central Finland. *Parasitology* 126: S43-S52.
- Wootton R. 1973. Occurrence of the metacercariae of *Cotylurus erraticus* (Rudolphi, 1809) Szidat, 1928 (Trematoda: Strigeidae) in brown trout *Salmo trutta* L., and rainbow trout *S. gairdneri* Richardson, 1836, from Hanningfield Reservoir, Essex. *Journal of Helminthology* 47:389-398.
- Wootton R.J. (1990). The Ecology of Teleost Fishes. Chapman and Hall, London.

Zamora, L. & Moreno-Amich, R. 2002. Quantifying the activity and movement of perch in a temperate lake by integrating acoustic telemetry and a geographic information system. *Hydrobiologia* 482: 209-218.