

Pro Gradu –tutkielma

**Lierojen parittelumenestyksen yhteys sää- ja
ympäristöoloihin, yksilötiheyteen ja yksilön kokoon**

Kati Saarinen



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ekologia ja ympäristöhoito

14.10.2011

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ekologia ja ympäristönhoito

SAARINEN, K. : Lierojen parittelumenestyksen yhteys sää- ja ympäristöoloihin, yksilötiheyteen ja yksilön kokoon

Pro Gradu –tutkielma: 22 s.

Työn ohjaajat: Dos. Jari Haimi, VTM Elise Ketoja, FT Visa Nuutinen

Tarkastajat: Prof. Janne Kotiaho, FT Mira Liiri

Lokakuu 2011

Hakusanat: *Aporrectodea caliginosa*, *Lumbricus terrestris*, parittelutodennäköisyys, spermatofori

TIIVISTELMÄ

Yksilön kelpoisuus riippuu jälkeläistuotosta, ja parittelumenestys on yksi jälkeläistuoton avaintekijöistä. Monien eläinlajiryhmien lisääntymistä on tutkittu laajasti sekä laboratorio-oloissa että luonnossa, mutta lierojen lisääntymismenestykseen vaikuttavia tekijöitä luonnonpopulaatioissa ei vielä juurikaan tunneta. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää, miten kahden ekologiaaltaan erilaisen lierolajin parittelumenestys riippuu ympäristöoloista, yksilötiheydestä ja yksilön koosta. Tutkimuksessa käytettiin tietoja lieronäytteistä, jotka oli kerätty syksyinä 2004 ja 2005 viljelymailta eri puolilta Suomea. Spermatoforien esiintymistä yksilöillä käytettiin indikaattorina näytteenottoa edeltäneestä parittelusta. Tutkimuslajeina käytettiin kahta Suomen viljelymaiden yleisintä lierolajia: pintamaassa elävää peltolieroa (*Aporrectodea caliginosa* Sav.) ja syvälle maahan kaivautuvaa kasteliero (*Lumbricus terrestris* L.). Spermatoforien esiintymisen todennäköisyyttä lieroilla (eli parittelutodennäköisyyttä) mallinnettiin logistisella regressiolla. Selittäjinä käytettiin sää- ja ympäristöoloja, yksilötiheyttä ja etanoliin säilöttyjen yksilöiden painoa. Tulosten mukaan sekä kaste- että peltolierot olivat paritelleet sitä todennäköisemmin, mitä painavampi yksilö oli. Isokokoisten yksilöiden parempi parittelumenestys selittynee suurilla yksilöillä suosivalla valikoivalla pariutumisella. Lisäksi kastelierojen parittelutodennäköisyyttä lisäsi näytteenottoa edeltävän viikon runsas sademäärä, kun taas peltolieroilla parittelutodennäköisyyttä lisäsi näytteenottoa edeltävien kahden viikon korkea ilmankosteus. Kastelierojen vaste sademäärään selittyy lajin parittelukäyttäytymisellä: kasteliero parittelee maan pinnalla, ja kosteat sääolot tarjoavat suotuisat olosuhteet pinta-aktiivisuudelle. Myös maan alla parittelevien peltolierojen vaste ilmankosteuteen kertonee suotuisien kosteusolosuhteiden positiivisesta vaikutuksesta lajin aktiivisuuteen ja myös parittelumenestykseen. Yksilötiheydellä ei ollut tilastollisesti merkitsevää yhteyttä kummankaan lajin parittelutodennäköisyyteen sen jälkeen, kun yksilön painon ja ympäristömuuttujien yhteydet todennäköisyyteen oli otettu huomioon. Tulosten samankaltaisuus molemmilla tutkimuslajeilla on yllättävä, koska lajit ovat ekologiaaltaan ja parittelukäyttäytymiseltään huomattavan erilaiset.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Mathematics and Science

Department of Biological and Environmental Science

Ecology and Environmental Management

SAARINEN, K.: The relation of earthworm mating success to environmental conditions, population density and size of an individual

Master of Science Thesis: 22 p.

Supervisors: PhD Jari Haimi, M.Pol.Sc. Elise Ketoja, PhD Visa Nuutinen

Inspectors: Prof. Janne Kotiaho, PhD Mira Liiri

October 2011

Key Words: *Aporrectodea caliginosa*, *Lumbricus terrestris*, mating probability, spermatophore

ABSTRACT

Individual fitness depends on offspring production, and mating success is one of its key components. The reproduction of many animal species groups has been studied widely both in laboratory and in field, but in earthworms the factors affecting mating success in natural populations still remain quite unknown. The aim of this study was to find out how mating success in two earthworm species with different ecology is related to environmental conditions, population density, and the size of an individual. We utilized data of preserved earthworm samples that had been collected during autumns of 2004 and 2005 from arable fields in various localities in Finland. The presence of spermatophores on individuals was used as an indicator of recent mating preceding the sampling. The study species were the two most common earthworm species of Finnish arable fields: endogeic *Aporrectodea caliginosa* Sav. and anecic *Lumbricus terrestris* L.. We used logistic regression to model the probability of the occurrence of spermatophores (or mating probability). As explanatory variables we used: environmental conditions, population density and weight of ethanol-preserved individuals. The results show that the heavier the individual was, the more probable was the mating, both in *A. caliginosa* and in *L. terrestris*. The better mating success of large individuals is presumably explained by size-selective mating, where large individuals are preferred. In addition, the mating probability of *L. terrestris* was increased by substantial rainfall during the week preceding the sampling, whereas in *A. caliginosa* the mating probability was increased by high relative humidity of two weeks preceding the sampling. The response of *L. terrestris* to rainfall is likely to be explained by the mating behaviour of the species: *L. terrestris* copulates on the soil surface and moist weather conditions provide favourable conditions for surface activity. Also the response of *A. caliginosa*, which mates under the soil surface, to relative humidity probably tells about positive effect of favourable moisture conditions to the activity of the species, and also to its mating success. Population density didn't have statistically significant connection to mating probability in either of the species, after taking account of the connections of individuals weight and environmental conditions to the probability. The similarity of the results in both study species is surprising, because the species differ significantly in their ecology and mating behaviour.

Sisältö

1. JOHDANTO	5
2. AINEISTO JA MENETELMÄT	8
2.1. Tutkimuslajit	8
2.2. Lieronäytteet	8
2.3. Sää- ja ympäristömuuttujat	9
2.4. Tilastolliset menetelmät.....	11
3. TULOKSET.....	12
3.1. Koko lieroaineisto	12
3.2. Kastelierot.....	13
3.3. Peltolierot.....	14
4. TULOSTEN TARKASTELU	16
4.1. Yksilön koko	16
4.2. Ympäristöolot.....	17
4.3. Yksilötiheys	18
4.4. Loppupäätelmät	19
KIITOKSET	20
KIRJALLISUUS	20

1. JOHDANTO

Eläinten lisääntymismenestykseen voivat vaikuttaa mm. ympäristötekijät, populaatioiden yksilötiheys, lisääntymisen kustannukset ja yksilön ominaisuuksista esimerkiksi ikä ja ruumiinkoko (Clutton-Brock 1988). Suuri osa lisääntymismenestyksen tutkimuksesta on keskittynyt eläinlajeihin, joilla on erilliset sukupuolet, mutta samat tekijät voivat vaikuttaa myös kaksineuvoisten eläinten lisääntymiseen. Myös kaksineuvoisille eläinyksilöille aiheutuu lisääntymisestä kustannuksia, ja yksilöiden lisääntymismenestys vaihtelee riippuen mm. ruumiinkoosta. (Anthes ym. 2006). Hermafrodiittisista eläimistä eräs eniten tutkittuja lajiryhmiä on lierot, mutta tästä huolimatta lierojen lisääntymismenestykseen vaikuttavia tekijöitä luonnonpopulaatioissa ei edelleenkään tunneta kovin hyvin. Kastelierojen (*Lumbricus terrestris* L.) lisääntymisen fysiologiaa ja parittelukäyttäytymistä on tutkittu eniten, koska ne parittelevat maan pinnalla toisin kuin useimmat muut lierolajit, mikä mahdollistaa käyttäytymisen suoran havainnoinnin (mm. Grove 1925, Nuutinen & Butt 1997b, Michiels ym. 2001).

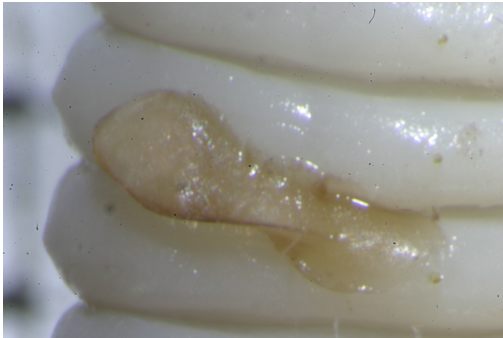
Lierot ovat yksi tärkeimmistä maaperän ja sitä kautta koko ekosysteemin rakenteeseen ja toimintaan vaikuttavista eläinryhmistä, ja niitä voidaan kutsua eräänlaisiksi ekosysteemi-insinööreiksi, jotka muokkaavat, pitävät yllä ja luovat uusia habitaatteja (Jones ym. 1994, Lavelle ym. 2007). Habitaatit muokkautuvat, kun maan rakenne muuttuu lierojen kaivaessa käytäviä, sekoittaessa orgaanista ainesta mineraalimaahan ja hajottaessa kariketta. Lierojen toiminta tehostaa mikrobitoimintaa ja helpottaa veden ja kaasujen kulkeutumista maaperässä (Brown ym. 2000).

Eurooppalaisten Lumbricidae-heimon lierojen perusteella tehdyn jaottelun mukaan lierot voidaan jakaa kolmeen toiminnalliseen ryhmään: karikekerroksessa eläviin (epigeic species), pintamaassa kaivautuviin (endogeic species) ja syvälle maahan kaivautuviin lajeihin (anecic species) (Sims & Gerard 1999). Lierot voidaan jakaa myös ravinnonhankinnan perusteella kahteen ryhmään: detritivoreihin eli maan pinnalla olevaa kuollutta kasviainesta ja eläinten lantaa syöviin lajeihin (syvälle kaivautuvat ja karikekerroksen lierot) ja maan alla ruokaileviin lajeihin, jotka syövät maa-aineksen seassa olevaa orgaanista ainesta (pintamaassa kaivautuvat lierot) (Lee 1985).

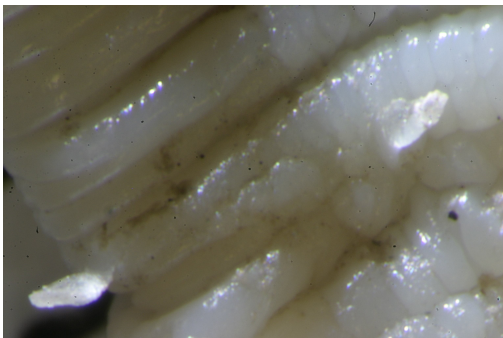
Kaikki lierot ovat kaksineuvoisia eli hermafrodiitteja. Suurin osa lajeista lisääntyy ristisiitoksella, mutta jotkin lajit voivat tuottaa jälkeläisiä sekä ristisiitoksella että partenogeneesillä, ja muutamat lajit lisääntyvät yksinomaan partenogeneettisesti (Edwards & Bohlen 1996). Joillakin lajeilla myös itsesiitos voi olla mahdollinen (Dominguez ym. 2003). Parittelussa lierot ovat kiinnittyneinä toisiinsa päät vastakkaisiin suuntiin, vyö toisen yksilön siittiösäiliöiden kohdalla. Siemenneste kulkeutuu koirasaukoista vatsapuolella olevia siittiökouruja pitkin vyön alueelle, johon se kerääntyy ja lopulta siirtyy toisen yksilön siittiösäiliöihin (Edwards & Bohlen 1996). Lieron tuottaessa munakoteloita vyö erittää limakapselin, joka liikkuu ruumiin peristalttisten liikkeiden myötä kohti lieron etupäätä. Matkan varrella munakoteloon laskeutuvat munasolut naarasaukoista sekä varastoidut siittiöt siittiösäiliöistä, jolloin hedelmöittyminen tapahtuu (Sims & Gerard 1999). Kastelierojen on havaittu voivan tuottaa elinkykyisiä munakoteloita vielä kuusi kuukautta parittelun jälkeen (Butt & Nuutinen 1998).

Lumbricus- ja *Eisenia*-suvun lieroilla tehdyissä tutkimuksissa on käynyt ilmi, että parittelun jälkeen lieroilla voidaan havaita ns. spermatoforeja, jotka muodostuvat lieroyksilöiden ulkopintaan parittelun aikana, mutta irtoavat muutaman päivän kuluessa lierojen kaivautuessa maassa (Grove 1925, Monroy ym. 2003). Spermatoforit ovat pitkulaisen tai pisaran muotoisia, litteitä ja pieniä limakapseleita, jotka ovat kiinnittyneet lieron vatsapuolelle vyön eteen (kuvat 1 ja 2) (Grove 1925, Stephenson 1930, Sims & Gerard 1999). Spermatoforien sisällä on havaittu olevan pisara siemennestettä (Grove

1925). Spermatorien toiminnallista merkitystä lierojen lisääntymiselle ei tunneta. Hypoteeseja spermatorien merkitykselle ovat olleet mm. siittiöiden luovutus niiden välityksellä, ravintolahjana toimiminen ja toiminta eräänlaisena ”tulppana”, jolla estettäisiin partneria luovuttamasta siittiöitä. Edellämainituille hypoteeseille ei kuitenkaan ole saatu tukea tunkiolierolla (*Eisenia fetida*) tehdyn tutkimuksen perusteella (Monroy ym. 2003). Groven (1925) mukaan spermatorit voisivat ohjata sperman kulkua koirasaukoista oikeaan suuntaan parittelun aikana. Toiminnallisen merkityksen epäselvyydestä huolimatta spermatorien on todettu olevan hyvä indikaattori lierojen äskettäisestä parittelusta (Monroy ym. 2003). Spermatoroja omaavien yksilöiden frekvenssistä (ristisiitoksella lisääntyvässä) lieropopulaatioissa voidaan mahdollisesti tehdä ainakin suuntaa antavia johtopäätöksiä myös lierojen lisääntymisestä ja populaation kasvusta.



Kuva 1. Yksittäinen spermatorfi kastelierolla, 25-kertainen suurennos.



Kuva 2. Kaksi spermatoria peltolierolla, 22-kertainen suurennos.

Lyhyen aikavälin muutoksilla ympäristössä, esimerkiksi säänvaihtelulla, voi olla erittäin suuri vaikutus eläinten lisääntymismenestykseen (Clutton-Brock 1988). Maaperän mikroilmastot voivat vaihdella miltei yhtä paljon kuin maanpinnan yllä olevat mikroilmastot, vaikka maaperä puskuroikin nopeilta säänvaihteluilta, syvällä maan alla tehokkaammin kuin pintamaassa (Lavelle & Spain 2001).

Lierot ovat melko herkkiä monille ympäristötekijöille ja sääolojen vaihtelulle ja vetäytyvät lepotilaan olosuhteiden ollessa epäedullisia. Erityisesti kuivuus on ongelmallista, koska lierojen kaasujenvaihto tapahtuu diffuusiolla ohuen ihon läpi, joka on pidettävä jatkuvasti kosteana. Korkeita maaperän lämpötiloja esiintyy yleensä vain yhdessä kuivuuden kanssa, joten lämpötilan ja kuivuuden vaikutuksia on vaikea erottaa toisistaan. Euroopassa elävillä Lumbricidae-heimon lieroilla optimilämpötila on yleisesti 10-15°C välillä, joten ne ovat aktiivisimmillaan keväisin ja syksyisin (Lee 1985). Lauhkealla vyöhykkeellä pintamaassa ja syvällä kaivautuvat lierot välttävät talvisin jäätymistä kaivautumalla routakerroksen alapuolelle. Karikkekerroksen lierolajeista osa kykenee talvehtimaan jäätyneessä pintamaassa. Lisäksi lauhkean, boreaalisen ja arktisen vyöhykkeen lierolajien munakotelot selviytyvät pakkasessa, joten osa lajeista ilmeisesti

talvehtii vain munakoteloina (Holmstrup 2003, Holmstrup & Overgaard 2007). Suomessa peltolierojen (*Aporrectodea caliginosa* Sav.) on havaittu selviytyvän lepotilassa kaikissa elinkierron vaiheissa myös jäätyneessä maassa (Holmstrup & Overgaard 2007, Nuutinen & Butt 2009). Aikuisia peltolieroyksilöitä on löydetty myös aktiivisina kaivautumassa routakerroksen alapuolella noin 1°C lämpötilassa (Nuutinen & Butt 2009).

Maan kosteuden ja lämpötilan lisäksi mm. pH, maalaji, maan happi- ja hiilidioksidipitoisuus sekä orgaanisen aineksen määrä ja laatu vaikuttavat lierojen aktiivisuuteen, lisääntymiseen ja kasvuun (Edwards & Bohlen 1996). Periaatteessa lierot voivat tuottaa munakoteloita mihin aikaan vuodesta tahansa, mutta käytännössä lisääntyminen on kausittaista, vuodenajoista ja ympäristöoloista riippuvaa (Edwards & Bohlen 1996, Biradar ym. 1999, Monroy ym. 2006). Vaatimukset ympäristöolojen suhteen kuitenkin vaihtelevat eri lajeilla sekä myös saman lajin eri ilmastoalueilla elävien populaatioiden välillä (Edwards & Bohlen 1996). Laboratoriokokeissa kastelierojen optimiolojen, joissa lisääntyminen on maksimaalista, on havaittu olevan 20°C:ssa ja 30% maankosteudessa (Berry & Jordan 2001). Kastelieroilla munakoteloiden tuoton optimilämpötilan on havaittu olevan 15°C, ja poikaset kuoriutuivat nopeimmin, kun lämpötila oli 20°C (Butt 1991).

Abioottisten tekijöiden lisäksi lierojen lisääntymiseen voi vaikuttaa mm. populaatioiden yksilötiheys. Esimerkiksi lisääntymistehokkuuden ja yksilöiden kehityksen on havaittu hidastuvan liian tiheissä populaatioissa (Butt ym. 1994, Klok 2007). Yksilötiheydellä on todettu olevan negatiivinen yhteys myös lieropopulaatioiden kasvunopeuteen (Kammenga ym. 2003). Toisaalta yksilötiheyden vaikutuksen suunta voi vaihdella riippuen elinympäristön muista tekijöistä. Esimerkiksi viljelymailla tiettyjen lierolajien yksilötiheys saattaa paikoin olla paljon alhaisempi kuin luonnontilaisissa ympäristöissä, johtuen maanmuokkauksesta ja muista viljelytoimenpiteistä (Edwards 1983). Suomen viljelymailla lierolajirunsauden ja yksilötiheyden on havaittu olevan korkeampi peltojen pientareilla kuin itse pelloilla. Erityisesti karikkekerroksen lierot ja syvälle maahan kaivautuvat lierot hyötyvät maan muokkaamattomuudesta (Nuutinen ym. 2007, Nieminen ym. 2011). Viljelymaiden lieropopulaatioissa saattaakin tulla näkyviin ns. Allee-efekti, jossa yksilön kokonaiskelpoisuus tai tietty kelpoisuuden osa (esim. parittelumenestys) alenee yksilötiheyden harventuessa tai populaation pienentyessä liian paljon (Couchamp ym. 2008).

Myös yksilön ominaisuudet, kuten ruumiinkoko, voivat vaikuttaa lierojen lisääntymismenestykseen. Suuri koko voi olla vihje lisääntymiseen käytettävistä resursseista mahdolliselle parittelukumppanille, mutta koko voi vaikuttaa parinvalintaan monimutkaisemmalla tavalla. Parinvalinta on ongelmallista erityisesti kastelieroilla, jotka kaivavat pysyvän kotikäytävän ja parittelevat vain ”lähinaapureiden” kanssa maanpinnalla. Paritellessaan kastelierot ovat tiukasti kiinnittyneinä toisiinsa, mutta pitävät samalla takaruumiitaan kotikäytävissään, valmiina pakenemaan saalistajilta ja häiriöiltä. Kun lierot alkavat vetäytyä kotikäytäviinsä parittelun päättyessä, voi syntyä ”köyden veto”, jossa erityisesti pienillä yksilöillä on vaarana joutua vedetyksi kokonaan maanpinnalle jos partneri on paljon suurempi. Tämä saattaa selittää viitteet siitä, että kastelierot suosivat itsensä kokoisia lisääntymiskumppaneita (Michiels ym. 2001).

Tämän työn tavoitteena oli tutkia, miten lierojen parittelumenestys luonnonpopulaatioissa riippuu sää- ja ympäristöoloista, yksilön koosta ja yksilötiheydestä. Erityisesti haluttiin tutkia, eroavatko kahden ekologialtaan erilaisen lierolajin parittelumenestykseen vaikuttavat tekijät toisistaan. Tutkimuslajeina käytettiin kahta Suomen viljelymaiden yleisintä lierolajia: kastelieroja ja peltolieroja. Tutkimus toteutettiin analysoimalla jo aiemmin koottua lieroaineistoa, joka oli kerätty Maa- ja

elintarviketalouden tutkimuskeskuksen ja Luonnontieteellisen keskusmuseon yhteistyönä vuosina 2004 ja 2005.

2. AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1. Tutkimuslajit

Tutkimuslajeina käytettiin kahta Suomen viljelymaiden yleisintä lierolajia, kasteliero ja peltoliero (Nuutinen ym. 2007, Nieminen ym. 2011), jotka eroavat huomattavasti elintavoiltaan ja ekologialtaan. Kasteliero on vertikaalisen ja pysyvän kotikäytävän syvälle maahan kaivava laji (anecic species), joka parittelee ja hankkii ravintonsa maan pinnalla. Kasteliero on detritivori, jonka ravinto koostuu mm. kuolleista kasvinosista ja eläinten lannasta. Peltoliero on pintamaassa kaivautuva laji (endogeic species), joka parittelee ja ruokailee maan alla. Lajin ravinto koostuu maa-aineksen seassa olevista orgaanisista partikkeleista. Molemmat lajit ovat kaksineuvoisia eli hermafrodiitteja, sekä obligatorisesti biparentaalisia, joten niillä ei esiinny itsesiitosta eikä partenogeneesiä (Edwards & Bohlen 1996, Sims & Gerard 1999).

2.2. Lieronäytteet

Tutkittavat lierot oli kerätty syksyllä vuosina 2004 ja 2005 Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskuksen (MTT) eri puolilla Suomea sijaitsevilta tutkimusasemilta. Lieroaineisto oli kerätty MTT:n ja Luonnontieteellisen keskusmuseon yhteistyönä, ja se oli osa LUMO-hanketta (Peltoluonnon ja viljelyn monimuotoisuus) joka liittyi kansalliseen ”Monimuotoisuuden tutkimusohjelmaan” (MOSSE; 2003-2007). LUMOliero-hankkeessa oli tutkittu lierojen esiintymiseen suomalaisessa peltomaassa vaikuttavia tekijöitä (Nuutinen ym. 2007, Nieminen ym. 2011).

Lieroaineiston näytesteverkko perustui aiemmin käynnistetyn peltojen maaperäseurannan pisteverkkoon. Jokaiselta tutkimuspaikkakunnalta (yhteensä 11) oli valittu 1-6 peltoaluetta (pelto ja lähin piennar), joilta lieronäytteet oli kerätty. Kussakin pelto- ja piennarpisteessä oli kaivettu kolme lieronäytekuoppaa, pelloilla maaperäseurantapisteen ympärille merkityn tasasivuisen (5m) kolmion kärkiin, pientareilla riviin viiden metrin välein. Näytteitä oli kerätty yhteensä 53:ltä pelloilta ja 50:ltä pellon viereiseltä pientareelta (ks. taulukko 1.). Lierot oli kerätty ISO-standardin mukaisesti yhdistetyllä käsinlajittelu- ja kemiallisella menetelmällä (ISO 23611-1:2006). Ensin maasta oli kaivettu lapiolla 20 cm:n syvyyteen 0,125 m² kokoinen näyte, josta oli käsin eroteltu pintamaan lierot. Tämän jälkeen näytekuoppa oli laajennettu 0,25 m² kokoiseksi, ja pohjalle kaadettu laimeaa formaliiniliuosta syvälle kaivautuvien lierojen esiin saamiseksi (yksityiskohtaiset menetelmät lieronäytteenotosta, katso Nuutinen ym. 2007).

Koko aineisto käsitti n. 11 000 lieroyksilöä yhdeksästä eri lierolajista (mukaan lukien myös nuoret lieroyksilöt). Lierot oli kentällä säilytetty 1:1 formaliini-etanoli liuokseen ja noin kahden kuukauden jälkeen siirretty lopullista säilytystä varten 85% etanoliin. Lierot oli määritetty lajilleen (ja nuoret yksilöt suvulleen) stereomikroskoopin ja suurennuslasivalaisimen avulla. Kehitysaste oli määritetty lieron vyöstä, ja täysin kehittynyt vyö katsottu merkiksi aikuisuudesta. Kaikki lierot oli määrittänyt MTT:llä FM Mervi Nieminen, ja lierojen spermatorit oli tutkinut Aime Nederström-Alanko. Spermatorien irtoamiseen kuluvaa aikaa tutkittiin kesällä 2009 lyhyessä kokeessa, jossa muutamien paritelleiden, erillisissä multaämpäreissä olevien kasteliero-yksilöiden spermatorit tarkastettiin joka päivä viikon ajan. Parittelun ajankohta oli tiedossa, ja havaittiin, että spermatorit irtosivat lieroilta keskimäärin 4-5 vuorokaudessa parittelun jälkeen.

Tämän tutkimuksen lieroaineiston (aikuiset kaste- ja peltolierot) tiedot tallennettiin taulukkoon, josta ilmenivät näytteenottopaikka, -ajankohta ja -menetelmä, lieron laji, massa grammoina, näytteen kunto (eli näytteenoton yhteydessä tapahtunut mahdollinen vahingoittuminen) sekä spermatoforien esiintyminen. Lieroaineistosta laskettiin myös näytekohtaiset kokonaisyksilömäärät, paritelleiden yksilöiden määrät sekä biomassat. Aineistossa esiintyi peltolierojen kahta eri muotoa (*A. caliginosa* ja *A. tuberculata*), jotka uusimpien tutkimusten mukaan määritellään eri lajeiksi (Pérez-Losada ym. 2009). Aineiston peltolierolajeja ei kuitenkaan ollut eroteltu tunnistusvaiheessa, joten tässä tutkimuksessa kaikki peltolierot analysoitiin yhtenä ryhmänä.

Taulukko 1. LUMO-tutkimuksen näytteenottopaikkakunnat ja paikkakuntia lähinnä olevat MTT:n säärekisterin havaintoasemat, joiden mittauksista koottiin tarvittava sääaineisto. Lisäksi lukumäärä peltoalueista (pelto ja lähin piennar), joilta näytteitä otettiin sekä lukumäärä näytealoista pelloilla ja pientareilla kullakin paikkakunnalla. Paikkakunnat ja asemat on järjestetty etelästä pohjoiseen.

Paikkakunta	Sääasema	Peltoalueiden lukumäärä	Näytealojen lkm pelloilla yht.	Näytealojen lkm pientareilla yht.
Mietoinen	Mietoinen Saari	6	18	18
Jokioinen	Jokioinen Observatorio	6	18	18
Pälkäne	Pälkäne Myttäälä	5	15	15
Juva	Juva Partala	5	15	12
Laukaa	Jyväskylä lentoasema	5	15	15
Ylistaro	Seinäjoki Pelma	6	18	18
Maaninka	Maaninka Halola	6	18	15
Toholampi	Toholampi Laitala	1	3	3
Sotkamo	Sotkamo Kuolaniemi	4	12	12
Ruukki	Siikajoki Revonlahti	5	15	15
Rovaniemi	Rovaniemen mlk Apukka	4	12	9

2.3. Sää- ja ympäristömuuttujat

Lierojen parittelun todennäköisyyttä selittävinä ympäristömuuttujina käytettiin sadesummaa, suhteellista ilmankosteutta, ilman lämpötilaa, maan kosteutta ja maalajia. Tutkimuksessa tarvittava sääaineisto (säähavaintojen vuorokautiset keskiarvot/summat toukokuun lopusta lokakuun puoleenväliin vuosilta 2004 ja 2005) saatiin MTT:n säärekisteriin tallennetuista Ilmatieteenlaitoksen mittauksista. Lieronäytteenotot olivat tapahtuneet elokuun lopusta lokakuun puoleenväliin, ja molempien vuosien osalta laskettiin jokaisen näytteenottopaikkakunnan jokaista näytteenottopäivää edeltävien

kolmen vuorokauden, yhden ja kahden viikon, sekä yhden, kahden ja kolmen kuukauden sadesummat sekä ilmankosteuden ja lämpötilan keskiarvot (taulukko 3). Eripituisten ajanjaksojen tarkastelulla pyrittiin selvittämään, reagoivatko lierot lyhyen- vai pitkän aikavälin muutoksiin sääoloissa. Maan kosteus oli mitattu TDR-menetelmällä (Time Domain Reflectometry) jokaisen näytteenoton yhteydessä, joten näytteenottopäivien maankosteusarvoja käytettiin tilastollisissa analyyseissä sellaisinaan. Näytteenoton yhteydessä oli otettu myös kairalla maanäyte 20 cm:n syvyyteen (vain pelloilta, ei pientareilta), ja näytteistä määritetyistä maalajeista tehtiin mallinnusta varten kolme maalajiryhmää selittäjiksi: hienojakoinen (savi), keskikarkea (hieno hieta ja hiesu), sekä karkea (karkea hieta ja hiekka) (taulukko 2). Aineiston analyysejä varten osa lieroaineiston muuttujista ja ympäristömuuttujat koottiin yhteen lieroyksilökohtaiseksi tiedostoksi, josta ilmenivät näytteenoton päivämäärä, sääasema, näytteenottopaikkakunta, peltoalue, näytealaperä eli paikka (pelto/piennar), näyteala, lierolaji, lierojen kokonaislukumäärä näytteessä, lieroyksilön paino, spermatoforien esiintyminen lieroilla (ei spermatoforeja/ on yksi tai useampia spermatoforeja) sekä sää- ja ympäristömuuttujat. Näytteenottopaikkakunnista kolmelta (Sotkamo, Juva ja Toholampi) ei ollut saatavilla tietoa sademääristä, joten näiltä paikkakunnilta mahdollisesti löytyneet lierot jäivät mallinnoista pois. Käytännössä analyyseissä oli siis mukana kahdeksan paikkakunnan liero- ja sääaineisto.

Taulukko 2. Näytealojen jakautuminen erilaisiin maalajiluokkiin tutkimuslajeittain. Hk & KHt = hiekka ja karkea hieta, Hs & HHt = hiesu ja hieno hieta, Sa = savi. Ac näytealat = lukumäärä näytealoista, joilta oli löytynyt peltolieroja, Lt näytealat = lukumäärä näytealoista, joilta oli löytynyt kastelieroja.

Laji	Hk & KHt	Hs & HHt	Sa
Ac näytealat	85	41	49
Lt näytealat	48	32	29

Taulukko 3. Sää- ja ympäristömuuttujien minimi-, maksimi- ja mediaaniarvot eri pituisille näytteenottoa edeltäneille ajanjaksoille koko aineistossa. Sade = sadesumma millimetreinä, lämpötila = keskimääräinen ilman lämpötila °C, ilman kosteus = ilman suhteellisen kosteuden keskiarvo prosentteina, maan kosteus prosentteina näytteenottohetkellä.

Muuttuja	Minimi	Maksimi	Mediaani
Sade 3 vrk	0,00	30,60	8,50
Sade 1 vko	0,20	57,40	21,20
Sade 2 vko	3,10	105,40	44,40
Sade 1 kk	18,30	143,50	73,20
Sade 2 kk	63,90	238,80	191,50
Sade 3 kk	170,50	362,00	278,40
Lämpötila 3 vrk	3,08	15,70	10,35
Lämpötila 1 vko	4,80	15,06	10,36
Lämpötila 2 vko	6,77	14,19	11,18
Lämpötila 1 kk	8,52	15,74	11,59
Lämpötila 2 kk	11,28	15,70	13,67
Lämpötila 3 kk	13,45	15,24	14,53
Ilman kosteus 3 vrk	51,50	91,00	73,25
Ilman kosteus 1 vko	56,88	89,88	71,50
Ilman kosteus 2 vko	58,60	83,87	72,53
Ilman kosteus 1 kk	61,16	80,83	70,81
Ilman kosteus 2 kk	59,78	79,17	68,93
Ilman kosteus 3 kk	56,26	75,42	67,67
Maan kosteus	9,00	58,50	35,80

2.4. Tilastolliset menetelmät

Mallinnuksessa tavoitteena oli löytää parhaat selittäjät aikuisten kaste- ja peltolierojen parittelutodennäköisyyksille useiden mahdollisten selittäjien joukosta. Vastemuuttuja, spermatorien esiintyminen yksilöllä, oli kaksiluokkainen, joten aineiston analysoinnissa käytettiin logistisia regressiomalleja. Vastemuuttujan arvojen (0= lierolla ei spermatorforeja, 1= on spermatorforeja) jakaumaksi oletetaan logistisessa regressiomallissa Bernoulli-jakauma parametrilla p_i , joka on lieroyksilön i parittelutodennäköisyys. Parametri p_i on myös Bernoulli-jakauman keskiarvo. Yksinkertaisen logistisen

regressiomallin malliyhtälö on muotoa $\log(p_i/(1-p_i)) = a + bx_i$, missä $p_i/(1-p_i)$ on parittelun vedonlyöntisuhde (odds) lierolla i eli tutkittavan ilmiön esiintymistodennäköisyyden suhde siihen, että ilmiötä ei esiinny, a on vakio, b regressiokerroin ja x_i selittävän muuttujan X arvo. Logaritminen vedonlyöntisuhde $\log(p_i/(1-p_i)) = \text{logit}(p_i)$, eli todennäköisyyden (keskiarvon) p_i logit-muunnos. Logistisessa regressiomallissa siis oletetaan, että logit-muunnettujen keskiarvojen p_i ja selittäjien arvojen välistä yhteyttä voidaan kuvata parametrien suhteen lineaarisella mallilla (Neter ym. 1996). Aineiston analysoinnissa käytetyt logistiset regressiomallit olivat myös ns. sekamalleja, joissa oli mukana sekä satunnaisvaikutuksia että kiinteitä vaikutuksia. Satunnaisvaikutuksilla otettiin huomioon otanta-asetelman hierarkkisuus (paikkakunta, jonka sisällä tietty määrä peltoalueita, joista kussakin pelto ja piennar, kolme näytealaa sekä pellolla että pientareella, lieroyksilöt näytealoilla).

Mallinnus toteutettiin monessa eri vaiheessa ja erikseen molemmille tutkimuslajeille. Numeeristen selittäjien arvot keskitettiin, eli jokaisesta selittäjän arvosta vähennettiin ko. selittäjien arvojen keskiarvo ($x_i - x_{\text{keskiarvo}}$) lukuun ottamatta lierojen kokonaislukumäärää näytteessä. Ensimmäisessä vaiheessa pyrittiin löytämään säämuuttujien joukosta sopivat selittäjät seuraavan vaiheen mallinnuksiin. Säämuuttujien (sade, lämpötila ja suhteellinen kosteus) eri aikajaksojen summat/keskiarvot korreloivat voimakkaasti keskenään, joten eri muuttujaryhmistä valittiin lopulliseen malliin pienimmän P -arvon perusteella vain yksi ajanjakso, ns. paras selittäjä. Käytännössä siis niillä paikkakunnilla, joilla oli esim. satanut paljon kolme vuorokautta ennen näytteenottoa, oli satanut paljon myös pidemmällä ajanjaksoilla. Tämän vuoksi säämuuttujien kaikkia ajanjaksoja ei kannattanut ottaa mukaan seuraaviin malleihin. Ensimmäisessä mallinnusvaiheessa sovitettiin 18 eri mallia (jokaiselle 18:lle säämuuttujalle erikseen), joissa kunkin säämuuttujan kiinteän vaikutuksen lisäksi muita kiinteitä vaikutuksia olivat lieron paino sekä paikkavaikutus (pelto/piennar). Satunnaisvaikutuksia olivat tutkimuspaikkakunta, näyteala paikkakunnan sisällä ja paikan ja paikkakunnan yhdysvaikutus. Seuraavassa vaiheessa ”parhaat” säämuuttujat sisällytettiin malliin edellä mainittujen satunnaisvaikutusten ja paikkavaikutuksen kanssa sekä muiden potentiaalisten selittäjien kanssa. Sen jälkeen selittäjiä karsittiin suurimman P -arvon perusteella yksi kerrallaan ja jokaisen karsinnan jälkeen malli sovitettiin uudestaan aineistoon. Analyysien testisuureena oli Waldin F -suure ja estimointimenetelmänä Suurimman uskottavuuden menetelmä (Bolker ym. 2009). Testit olivat tyyppin III testejä, jotka ottavat huomioon selittäjien mahdolliset keskinäiset riippuvuudet, eli testaavat, tarvitaanko selittäjää mallissa sen jälkeen, kun muiden mallissa olevien selittäjien yhteydet parittelutodennäköisyyteen on otettu huomioon. Mallinnusohjelmana käytettiin SAS 9.2 -version Glimmix -ohjelmaa.

3. TULOKSET

3.1. Koko lieroaineisto

Koko aineistossa näytealoja oli yhteensä pelloilla 159 ja pientareilla 150. Toholampi oli ainoa paikkakunta, jonka näytealoilta ei ollut löytynyt lainkaan lieroja.

Kastelieroja oli löytynyt yhteensä 109:ltä näytealalta, joista 30 pellolla ja 79 pientareella. Kastelierojen kokonaisyksilömäärä aineistossa oli 437, joista spermatoforeja oli löytynyt 48:ltä yksilöltä. Yksilömäärissä oli vaihtelua tutkimuspaikkakuntien välillä, ja kahdelta paikkakunnalta ei ollut löytynyt lainkaan kastelieroja (taulukko 4). Kastelierojen keskipaino analysoidussa aineistossa oli 4,26 grammaa, painon vaihdellessa 1,37 ja 9,51 gramman välillä.

Peltolieroja oli löytynyt yhteensä 175:ltä näytealalta, joista 84 pellolla ja 91 pientareella. Peltolierojen kokonaisyksilömäärä aineistossa oli 530, joista spermatoforeja oli löytynyt 86:ltä yksilöltä. Yksilömäärissä oli vaihtelua tutkimuspaikkakuntien välillä, ja yhdeltä paikkakunnalta ei ollut löytynyt lainkaan peltolieroja (taulukko 4). Peltolierojen keskipaino oli 0,94 grammaa painon vaihdellessa 0,25 ja 2,97 gramman välillä.

Taulukko 4. Kastelierojen ja peltolierojen kokonaisyksilömäärät (Lt ja Ac) ja spermatoforillisten yksilöiden määrät (Lt sf ja Ac sf) tutkimuspaikkakunnittain.

Paikkakunta	Lt	Lt sf	Ac	Ac sf
Mietoinen	18	3	59	11
Jokioinen	98	12	95	16
Pälkäne	33	1	46	7
Juva	51	8	29	5
Laukaa	99	14	70	6
Ylistaro	24	4	102	26
Maaninka	57	1	40	9
Toholampi	0	0	0	0
Sotkamo	0	0	30	3
Ruukki	52	5	35	2
Rovaniemi	5	0	24	1
Yhteensä	437	48	530	86

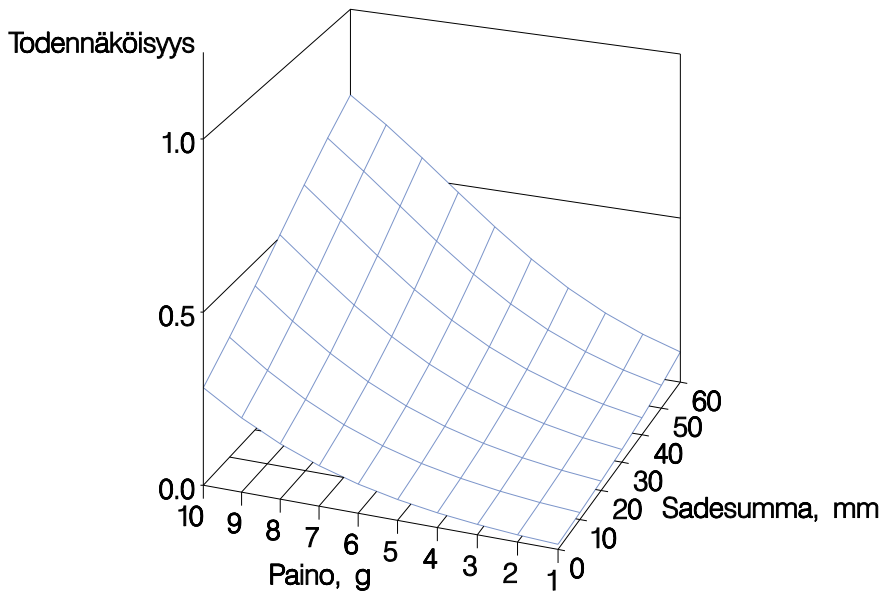
3.2. Kastelierot

Ensimmäisessä vaiheessa säämuuttujista parhaiksi selittäjiksi valikoituivat yhden viikon sadesumma ($P = 0,02$), kolmen kk:n keskilämpötila ($P = 0,09$) ja yhden viikon suhteellisen ilmankosteuden keskiarvo ($P = 0,005$). Seuraavaan vaiheeseen otettiin selittäjiksi parhaiden säämuuttujien, yksilön painon ja paikan (pelto/piennar) lisäksi maakosteus, lierojen kokonaislukumäärä näytteessä logaritimuunnettuna sekä maalajiryhmä.

Seuraavassa vaiheessa (7 eri mallia) karsiutuivat seuraavat muuttujat tässä järjestyksessä: yhden viikon suhteellinen kosteus ($F_{1, 343} = 0,02$ [1 = osoittajan vapausaste, 343 = nimittäjän vapausaste], $P = 0,88$), maalaji ($F_{2, 344} = 0,87$, $P = 0,42$), logaritminen kokonaislukumäärä ($F_{1, 344} = 1,52$, $P = 0,22$), maakosteus ($F_{1, 345} = 2,34$, $P = 0,13$), kolmen kuukauden keskilämpötila ($F_{1, 346} = 3,18$, $P = 0,08$) ja paikka (pelto/piennar) ($F_{1, 3} = 0,41$, $P = 0,57$).

Lopullisessa mallissa spermatoforien esiintymistodennäköisyys kastelieroilla riippui yksilön painosta ($F_{1, 351} = 7,86$, $P = 0,005$) sekä näytteenottoa edeltäneen viikon sademäärästä ($F_{1, 351} = 5,93$, $P = 0,02$). Suuret yksilöt olivat paritelleet todennäköisemmin kuin pienet, ja parittelun todennäköisyys myös kasvoi sitä mukaa, mitä enemmän

näytteenottoaika- ja paikkakunnalla oli edeltävällä viikolla satanut (kuva 3). Satunnaisvaikutuksille estimoitujen varianssien perusteella spermatorien esiintymistodennäköisyys lierolla ei vaihdellut merkittävästi eri paikkakuntien välillä tai näytealojen välillä saman paikkakunnan sisällä, kun yksilön paino ja yhden viikon sadesumma olivat selittäjinä mallissa (varianssiestimaatit olivat nolliä).



Kuva 3. Spermatorien esiintymistodennäköisyyttä kuvaava vastepinta kastelieroilla, selittäjinä yksilön paino ja näytteenottoa edeltävän viikon (7 vrk) sadesumma. Lopullisessa mallissa painon kertoimen estimaatti oli 0,3655, jolloin $\exp(0,3655) = 1,44$. Tällöin jokaista kasteliero-yksilön yhden gramman painonlisäystä kohti spermatorien esiintymisen vedonlyöntisuhde (odds) kasvaa keskimäärin 44% millä tahansa vakioidulla edeltävän viikon sadesummalla. Yhden viikon sateen kertoimen estimaatti oli 0,03231, jolloin $\exp(0,03231) = 1,03$. Eli jokaista näytteenottoa edeltävän viikon sadesumman yhden millimetrin lisäystä kohti spermatorien esiintymisen vedonlyöntisuhde (odds) kastelieroilla kasvaa keskimäärin 3% millä tahansa vakioidulla kasteliero-yksilön painolla.

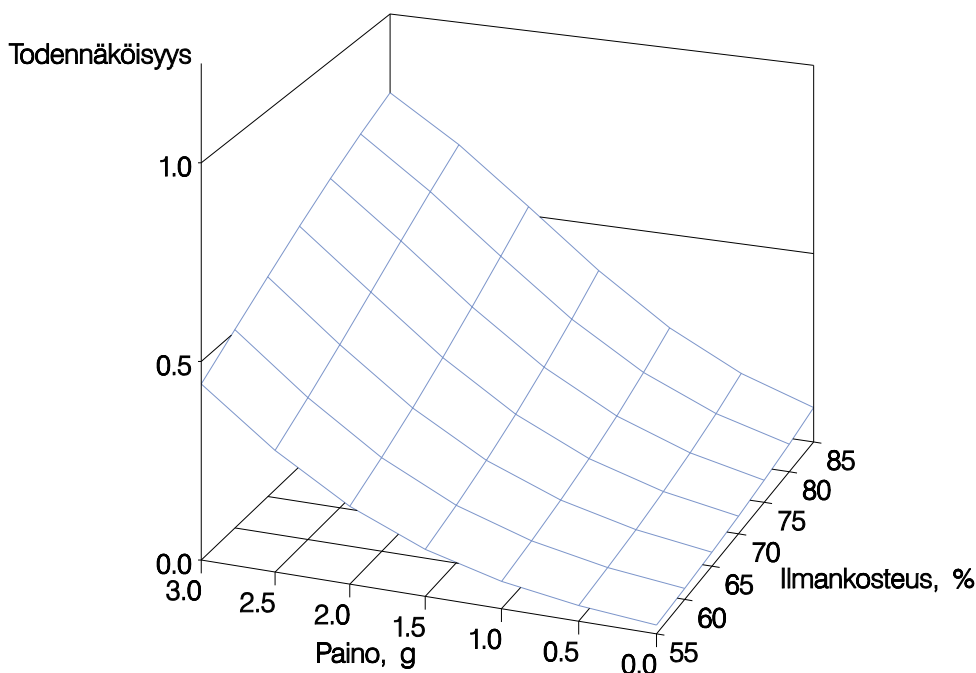
3.3. Peltolierot

Ensimmäisessä vaiheessa säämuuttujista parhaiksi selittäjiksi valikoituivat kolmen kuukauden sadesumma ($P = 0,10$), kolmen kuukauden keskilämpötila ($P = 0,10$) ja kahden viikon suhteellinen ilmankosteus ($P = 0,02$). Kuten myös kastelieroilla, seuraavaan vaiheeseen otettiin selittäjiksi parhaiden säämuuttujien, yksilön painon ja paikan (pelto/piennar) lisäksi maankosteus, lierojen kokonaislukumäärä näytteessä logaritimuunnattuna sekä maalajiryhmä.

Seuraavassa vaiheessa (7 eri mallia) karsiutuivat seuraavat muuttujat tässä järjestyksessä: kolmen kk:n keskilämpötila ($F_{1, 417} = 0,00$, $P = 0,99$), maalaji ($F_{2, 418} = 0,18$, $P = 0,84$), kolmen kk:n sade ($F_{1, 418} = 1,49$, $P = 0,22$), maankosteus ($F_{1, 468} = 1,75$, $P =$

0,19), logaritminen kokonaislukumäärä ($F_{1, 470} = 3,10$, $P = 0,08$) ja paikka (pelto/piennar) ($F_{1, 9} = 0,45$, $P = 0,52$).

Lopullisessa mallissa spermatorien esiintyminen peltolieroilla riippui yksilön painosta ($F_{1, 481} = 14,81$, $P < 0,001$) sekä näytteenottoa edeltävien kahden viikon suhteellisesta ilmankosteudesta ($F_{1, 481} = 5,38$, $P = 0,021$). Suuret yksilöt olivat paritelleet pieniä todennäköisemmin, ja parittelu oli sitä todennäköisempää, mitä korkeampi suhteellisen ilmankosteuden keskiarvo oli näytteenottoa edeltävien kahden viikon ajalta (kuva 4). Myöskään peltolieroilla spermatorien esiintymistodennäköisyys ei vaihdellut eri paikkakuntien välillä tai näytealojen välillä saman paikkakunnan sisällä, kun yksilön paino ja kahden viikon ilmankosteuden keskiarvo olivat selittäjinä mallissa. Paikkakuntien välistä vaihtelua kuvaava varianssiestimaatti oli 0 ja näytealojen välistä vaihtelua kuvaava varianssiestimaatti oli 0,14 (keskivirhe 0,17).



Kuva 4. Spermatorien esiintymistodennäköisyyttä kuvaava vastepinta peltolieroilla, selittäjinä yksilön paino ja näytteenottoa edeltävien kahden viikon (14 vrk) suhteellisen ilmankosteuden keskiarvo. Lopullisessa mallissa painon kertoimen estimaatti oli 1,1975, jolloin $\exp(1,1975) = 3,31$. Näin ollen jokaista peltolieroyksilön yhden gramman painonlisäystä kohti spermatorien esiintymisen vedonlyöntisuhde (odds) kasvaa keskimäärin 231% millä tahansa vakioidulla edeltävän kahden viikon ilmankosteudella. Kahden viikon suhteellisen ilmankosteuden kertoimen estimaatti oli 0,05066, jolloin $\exp(0,05066) = 1,05$. Eli jokaista näytteenottopäivää edeltävän kahden viikon ilmankosteuden yhden prosentin lisäystä kohti spermatorien esiintymisen vedonlyöntisuhde (odds) lieholla kasvaa keskimäärin 5% millä tahansa vakioidulla kastelieroxyksilön painolla.

4. TULOSTEN TARKASTELU

Kaste- ja peltolierojen parittelutodennäköisyydellä oli tulosten mukaan positiivinen yhteys yksilön kokoon (painoon) ja ympäristön kosteusolosuhteisiin. Sekä kaste- että peltolieroilla isokokoiset yksilöt olivat paritelleet todennäköisemmin kuin pienet. Kastelieroilla parittelun todennäköisyyttä lisäsi myös näytteenottoa edeltävän viikon korkea sademäärä ja peltolieroilla näytteenottoa edeltävien kahden viikon korkea keskimääräinen ilmankosteus. Yksilötiheydellä ei ollut yhteyttä kummankaan tutkimuslajin parittelutodennäköisyyteen sen jälkeen, kun yksilön painon ja ympäristömuuttujien yhteydet todennäköisyyteen oli otettu huomioon.

4.1. Yksilön koko

Tässä tutkimuksessa havaittu isokokoisten lieroxyksilöiden parempi parittelumenestys on yhtenevä monien aiempien sekä hermafrodiittisia että yksineuvoisia eläimiä koskevien teoreettisten ja empiiristen tutkimustulosten kanssa. Yksineuvoisten eläinten parinvalinnassa naaraan suuri koko saattaa olla partnerille vihje mm. kyvystä tuottaa paljon jälkeläisiä ja koiraan suuri koko taas mm. hyvästä terveydestä ja pitkäikäisyydestä (Clutton-Brock 1988). Kaksineuvoisilla eläimillä partnerin koko voi olla merkinä suuresta kyvystä investoida munien/munakoteloiden tuottoon (female fecundity) (Anthes ym. 2006). Näin ollen kaksineuvoisten eläinten valikoiva pariutuminen ja suurten yksilöiden suosiminen voi selittyä sillä, että naarasfunktion fertiliteettiä rajoittaa munien tuottoon tarvittava energiamäärä, kun taas koirasfunktion fertiliteettiä rajoittaa hedelmöitettävien munasolujen saatavuus. (Käytännössä siis naarasfunktion fertiliteetistä, jota muun muassa ruuminkoko indikoi, riippuu tuotettujen jälkeläisten määrä.) Teoria on johdettu A. J. Batemanin teoriasta naaraiden ja koiraiden lisääntymismenestystä rajoittavista tekijöistä (Charnov 1979).

Monilla hermafrodiittisilla eläimillä on havaittu kookkaiden yksilöiden suurempaa fertiliteettiä, mm. kotiloilla (DeWitt 1996, Madec ym. 2000), heisimadoilla (Schärer ym. 2001) ja laakamadoilla (Vreys & Michiels 1997). Kaksineuvoisista eläimistä partnerin ruumiinkoon arviointia ja valikoivaa pariutumista on havaittu merietanoilla, (Angeloni 2003), laakamadoilla (Vreys & Michiels 1997) ja lieroilla (Michiels ym. 2001, Monroy ym. 2005). Michielsin ym. (2001) ja Monroyn ym. (2005) liero tutkimuksissa ei kuitenkaan havaittu isokokoisten yksilöiden parempaa parittelumenestystä, vaan kaste- ja tunkiolierot suosivat parittelukumppaneita, jotka olivat mahdollisimman lähellä niiden omaa kokoa.

Laboratoriokokeissa on havaittu, että kastelierojen parittelua edeltää muutamasta sekunnista jopa yli tuntiin kestävä vastavuoroinen kotikäytävissä ”vierailu” partnereiden välillä (Nuutinen & Butt 1997a). Eräs vierailujen tarkoitus saattaa olla parittelukumppanin koon arviointi (Michiels ym. 2001). Michiels ym. (2001) tutkivat ruumiin koon vaikutusta parittelukumppanin valintaan kastelieroilla. Koosta riippuvaa pariutumista tutkittiin sekä kenttäoloissa että kokeellisesti laboratoriossa. Kenttäaineistossa havaittiin koon mukaan valikoituvaa pariutumista toisessa kahdesta näyte-erästä. Laboratoriokokeissa sekä pienet että suuret yksilöt parittelivat yhtä usein. Parittelu kuitenkin alkoi nopeammin samankokoisten yksilöiden välillä kuin erikokoisten. Kastelierot elävät pysyvässä käytävissä eivätkä maan pinnalla tapahtuvan parittelun aikana normaalisti nouse kokonaan maan pinnalle vaan pitävät takaruumiinsa omassa käytävässä, joten parittelu on mahdollista vain lähinaapureiden välillä. Kurottaessaan kauas kotikäytävänsä suuaukolta varsinkin pienet yksilöt voivat parittelun päättyessä tulla vedetyiksi kokonaan maanpinnalle, jos partneri on suurempi (ns. köydenveto). Michiels ym. (2001) päättelivätkin, että koko vaikuttaa kastelierojen paritteluun monimutkaisella tavalla. Toisaalta ”köydenveto” antaisi olettaa, että lierojen kannattaisi suosia suhteellisen pieniä

parittelukumppaneita, mutta toisaalta suuri koko saattaa olla indikaattori korkeasta hedelmällisyydestä. Tällöin valinta saattaa riippua oman ja parittelukumppanin käytävien etäisyydestä: lähellä omaa käytävää kannattaa paritella mahdollisimman suuren yksilön kanssa, kauempana taas itsensä kokoisen tai pienemmän kanssa.

Lierolajeilla, jotka elävät tiheissä populaatioissa, eräs syy valikoivaan pariutumiseen saattaa olla se, että tarjolla on paljon partnereita, mutta parittelusta on kustannuksia. Esimerkiksi kastelieroilla parittelusta aiheutuu paljon kustannuksia, koska parittelu alkaa usein myöhään yöllä, kestää pitkään ja saattaa loppua vasta auringon noustua. Lierot eivät myöskään välttämättä pääse nopeasti irti toisistaan. Tällöin parittelevat lieroyksilöt voivat altistua kuivumiselle ja joutua petojen saaliiksi helpommin kuin yksittäiset lierot (Michiels ym. 2001). Myös fysiologiset kustannukset ovat huomattavia, esim. siemennesteen ja liman tuotto sekä partnerin tarttumasukasten aiheuttamat vauriot (Grove 1925, Koene ym. 2005). Joillain lajeilla koon mukaan valikoituva pariutuminen saattaa johtua myös yksinkertaisesti siitä, että hyvin erikokoiset partnerit ovat fyysisesti yhteensopimattomia, eivätkä siis voi paritella. Kastelierojen osalta on kuitenkin havaittu, että myös hyvin erikokoiset yksilöt voivat paritella keskenään (Michiels ym. 2001). Isokokoiset yksilöt saattavat myös yksinkertaisesti olla tehokkaampia liikkumaan ja siten löytämään parittelukumppaneita (esim. isot kastelierot ulottuvat pidemmälle kotikäytävänsä suulta).

4.2. Ympäristöolot

Clutton-Brockin (1988) mukaan lyhyen aikavälin muutoksilla ympäristössä voi olla erittäin suuri vaikutus eläinten lisääntymismenestykseen. Tällaisia ympäristötekijöitä ovat esimerkiksi sään vaihtelu lisääntymiskausten aikana tai niiden välillä ja paikallinen vaihtelu habitaattien laadussa. Lieroilla pitkät kuivuusjaksot pienentävät populaatioiden kokoa, ja eräs selitys tälle on kosteuden suuri vaikutus lierojen lisääntymiskykyyn (Edwards & Bohlen 1996). Tämän perusteella sekä kaste- että peltolierojen tuloksissa havaittu vaste ympäristön kosteusoloihin on ymmärrettävissä.

Michiels ym. (2001) havaitsivat kastelierojen tulevan maanpinnalle parittelemaan mieluummin sateettomina, kirkkaina ja viileinä öinä ja ehdottivat, että pitkäaikainen "epäedullinen" sää (esim. sade), jota seuraa sateeton yö, saattaisi toimia parittelun synkronoijana. Tämä viittaa siihen, että kastelierot eivät mielellään parittele sateella, mutta toisaalta olisi myös mahdollista, että lierojen paritteluhalukkuus sateen jälkeen selittyisi korkealla ilmakehän kosteudella. Monien lierolajien, mukaanlukien kaste- ja peltolierot, on laboratoriotutkimuksissa havaittu pysyvän elossa myös täysin veden alla olevassa maaperässä, jos vesi vain on tarpeeksi happipitoista. Toisaalta kastelierot, ja myös suurin osa peltolieroista välttävät täysin vedellä kyllästettyä maata, jos niiden annetaan valita veden alla olevan ja kostean maan habitaatin välillä (Roots 1956). Kastelieroja on havaittu olevan maanpinnalla sitä enemmän mitä vähemmän aikaa edeltävästä sateesta on kulunut (Macdonald 1983). Tämä kastelierojen sateeseen liittyvä pinta-aktiivisuus kuitenkin johtuu todennäköisesti vain hapen puutteesta käytävien täyttyessä vedellä (Terhivuo 1986).

Suhteellinen ilmakehän kosteus oli analyyseissä mukana vuorokauden keskimääräisenä ilmakehän kosteutena. Mahdollisesti tämän vuoksi ilmakehän kosteus ei tullut merkittäväksi selittäjäksi kastelierojen parittelun todennäköisyydelle, koska kastelierot tulevat parittelemaan maan pinnalle vain öisin. Ilmakehän kosteus voi vaihdella suuresti vuorokauden aikana ja on yleensä aina korkeimmillaan yöllä (koska lämpötila on yleensä yöllä alempi kuin päivällä) (Ilmatieteenlaitos 2011). Jos olisi tarkasteltu keskimääräistä yöllistä ilmakehän kosteutta eri ajanjaksoilta, niin tällöin kastelierojen parittelumenestys olisi saattanut riippua merkittävästi myös ilmakehän kosteudesta. Toisaalta ilmakehän kosteus luonnollisesti riippuu myös sademäärästä, joten niillä paikkakunnilla, joilla oli satanut paljon

kastelieronäytteenottoa edeltävällä viikolla, voi olettaa myös ilmankosteuden olleen korkealla näytteenottojen aikaan.

Koska peltolierot parittelevat maan alla, niiden vastetta ilmankosteuteen ei ole yhtä helppo selittää kuin kastelierojen vastetta sademäärään. Ilmankosteuden merkitsevä positiivinen yhteys peltolierojen parittelutodennäköisyyteen kuitenkin oletettavasti kertoo kosteusolosuhteiden positiivisesta vaikutuksesta ylipäättään, vaikka sademäärä ja maankosteus eivät tulleetkaan tilastollisesti merkitseviksi selittäjiksi. Lieroyksilöiden välittömässä ympäristössään kokemat sääolot ovat voineet myös olla hyvin erilaiset kuin mitä lähimpien sääasemien mittaustuloksista voitiin päätellä. Tämä johtuu sään vaihtelusta jo hyvin pienillä alueilla ja esim. kasvillisuuden ja maaston korkeuserojen vaikutuksesta lämpötilaan ja kosteuteen (Begon ym. 1996). Tämän tutkimuksen lieropopulaatioihin on voinut vaikuttaa esimerkiksi se, sijaitsivatko näytteenottopellot tasaisessa vai mäkisessä maastossa tai mahdollisesti metsän vieressä jne.

Ilman lämpötilalla ei ollut merkitsevää yhteyttä kummankaan tutkimuslajin parittelumenestykseen. Euroopassa elävillä Lumbricidae-heimon lieroilla optimilämpötila on yleisesti 10-15°C välillä (Lee 1985), ja Suomessa lierojen on havaittu olevan aktiivisia maan alla vielä jopa 1°C lämpötilassa (Nuutinen & Butt 2009). Näytteenottojen aikaan esim. kolmen edeltävän vuorokauden keskimääräiset ilman lämpötilat vaihtelivat tutkimuspaikkakunnilla 3,1°C ja 15,7°C välillä. Maaperässä lämpötilanvaihtelua on puskurointivaikutuksen vuoksi ollut oletettavasti vähemmän, joten lämpötilat ovat pysyneet lähellä lierojen aktiivisuuden optimilämpötilaa. Lämpötilat eivät siis ole vaihdelleet tutkimuspaikkakuntien välillä niin paljoa, että ne olisivat vaikuttaneet lierojen lisääntymisaktiivisuuteen. Ilman lämpötilalla oli tässä tutkimuksessa potentiaalista suoraa vaikutusta luultavasti vain maanpinnalla paritteleviin kastelieroisiin, koska maaperän lämpötila poikkeaa aina ilman lämpötilasta. Erityisesti peltolierojen osalta olisikin ollut mielenkiintoista tutkia myös maaperän lämpötilan yhteyttä parittelumenestykseen.

Maankosteus näytteenottohetkellä ei ollut tilastollisesti merkitsevä parittelutodennäköisyyteen vaikuttava tekijä. Ilmeisesti maa ei ollut niin kuivaa tai märkää yhdelläkään paikkakunnalla näytteenottojen aikana, että se olisi vaikuttanut lierojen aktiivisuuteen ja parittelukäyttäytymiseen (toisin sanoen vaihtelua ei ollut riittävästi). Myöskään parittelumenestyksen vaihtelua karkeudeltaan erilaisissa maalajiluokissa ei havaittu. Karkeudeltaan erilaisten maalajiluokkien vaikutuksen tarkastelun ideana oli lähinnä selvittää, voiko maalajin karkeus vaikuttaa maan vedenpidätyskykyyn niin paljon, että se vaikuttaisi maaperän kosteuteen ja sitä kautta lierojen paritteluun.

On myös mahdollista, että ympäristötekijät eivät vaikuta suoraan lierojen parittelumenestykseen, vaan vaikutukset lisääntymiseen seuraavat vaikutuksista lierojen yleiseen aktiivisuuteen. Toisin sanoen lierot mahdollisesti parittelevat aina, kun olosuhteet ovat lähellä optimia ja lierot pysyvät aktiivisina. Näin voisi päätellä siitä, että useimpien lierolajien lisääntyminen on kausittaista ja vuodenajoista riippuvaa (Edwards & Bohlen 1996, Biradar ym. 1999, Monroy ym. 2006). Lierojen lisääntymisen kausittaisuus ei kuitenkaan välttämättä johdu aina ympäristössä tapahtuvista muutoksista: esim. metsälierolla (*Dendrobaena octaedra*) on havaittu kausittaista lisääntymistä myös täysin tasaisissa laboratorio-olosuhteissa pitkän kasvatusjakson aikana. Tällöin lisääntymisen ajoitus tapahtuu ”sisäisen kellon” mukaan eli on ilmeisesti geneettisesti säädeltyä (Rozen 2006).

4.3. Yksilötiheys

Yksilötiheys ei noussut tilastollisesti merkitseväksi tekijäksi kummankaan tutkimuslajin parittelumenestyksessä. Yksilöiden parittelumenestyksessä ei myöskään ollut merkittävää eroa tutkimusalueiden pelto- ja piennarhabitaattien välillä. Oletuksena oli, että sekä kaste-

että peltolieroilla olisi tiheydeltään harvoissa populaatioissa havaittu ns. Allee-efekti, jossa yksilön kelpoisuus pienissä ja/tai yksilötiheydeltään harvoissa populaatioissa alenee esimerkiksi siksi, että sopivan parittelukumppanin löytäminen voi olla vaikeaa (Couchamp ym. 2008, Gascoigne ym. 2009). Erityisesti kasteliero populaatioiden oletettiin olevan tutkimusalueilla sen verran harventuneita, että se olisi jo vaikuttanut negatiivisesti yksilöiden parittelumenestykseen, koska kastelieron karsivat maanmuokkauksesta. Edwardsin (1983) mukaan peltoekosysteemien lierolajikoostumus ja lieroyksilötiheys vaihtelevat riippuen ilmastosta, maalajista ja viljeltävistä kasvilajeista. Viljelytekniikka, jossa maata muokataan mekaanisesti (kyntö), muuttaa erityisesti kastelieron ja muiden kariketta maan pinnalla syövien lierolajien elinympäristön täysin. Habitaatit tuhoutuvat, maaperän lämpötila ja kosteus sekä ravinnon saatavuus muuttuvat, jolloin lierojen lajimäärä vähenee. Maan orgaanisen aineksen vähetessä jatkuvasti viljellyssä maassa esimerkiksi kastelierojen määrä vähenee, mutta peltolierot voivat yhä menestyä. Pelloilla, joille lisätään säännöllisesti orgaanista ainesta, voi toisaalta elää suuriakin lieropopulaatioita jatkuvasta viljelystä huolimatta. Eräs aineiston ongelma, joka vaikeutti peltolierotulosten tulkintaa, oli se, että peltolieroja oli aineistossa todennäköisesti kahta eri lajia. Tämän vuoksi peltolierojen todellista saman lajin lajikumppanien määrää näytteissä ei tiedetty. Toisaalta peltolierojen vaste yksilötiheyteen tässä tutkimuksessa ei ollut yllättävä, koska peltolierot yleensä menestyvät viljelymailla hyvin maanmuokkauksesta huolimatta (Edwards 1983, Nuutinen 1997, Nieminen ym. 2011).

Yksi mahdollinen syy siihen, että parittelutodennäköisyyden ja yksilötiheyden välisestä yhteydestä ei saatu todisteita, voi olla yksilöiden hyvin aggregoitunut esiintyminen näytteiden sisällä. Tällöin vaihtelu näytteiden yksilömäärässä ei suoraan kuvasta vaihtelua yksilöiden potentiaalisten parittelukumppanien, esimerkiksi kastelieron lähinaapurien, määrässä. Monille eliölajeille on myös kehittynyt lisääntymiseen liittyviä strategioita, jotka tehostavat kumppanin löytämistä alhaisessa populaatiotiheydessä. Tällöin Allee-efekti voidaan mahdollisesti välttää. Tällaisia strategioita ovat mm. erilaiset kutsuäänet ja feromonit, hermafroditismi sekä yksilöiden kerääntyminen yhteen lisääntymiskausina (Gascoigne ym. 2009). Edellä mainitut tekijät voivat myös kaksineuvoisilla lieroilla vähentää Allee-efektin voimakkuutta.

Aiemmissä tutkimuksissa on saatu viitteitä yksilötiheyden ja lisääntymismenestyksen negatiivisesta suhteesta lieroilla. Esimerkiksi onkilieroilla (*Lumbricus rubellus*) (Klok 2007) ja kastelieroilla (Butt ym. 1994) tehdyissä laboratoriotutkimuksissa on havaittu, että suuressa yksilötiheydessä lierojen kasvu ja kehitys hidastuvat ja munakoteloiden tuotto vähenee, vaikka ravintoa olisikin tarjolla riittävästi. Yksilötiheydellä on todettu olevan negatiivinen yhteys myös lieropopulaatioiden kasvunopeuteen, kun yksilötiheyden ja populaation kasvun yhteyttä kastelieroilla ja tunkiolieroilla on tutkittu matemaattisen mallinnuksen avulla (Kammenga ym. 2003).

4.4. Loppupäätelmät

Kaikenkaikkiaan spermatoforien käyttäminen merkinä parittelusta mahdollisti lierojen parittelumenestykseen vaikuttavien tekijöiden tutkimisen. Lähestymistapa vaikutti lupaavalta menetelmältä tutkittaessa ristisiitoksella lisääntyvien lierojen lisääntymisekologiaa. Menetelmän avulla on mahdollista tutkia jo aiemmin kerättyjä, hyvin säilöttyjä lieroaineistoja jälkikäteen. Kastelierojen osalta on havaittu, että etanoliin säilöttyjen näytteiden spermatoforit säilyvät yli 10 vuotta (FT Visa Nuutinen, MTT, henkilökohtainen tiedonanto). On kuitenkin pidettävä mielessä, että spermatoforit voivat irrota jos lieroyksilöitä käsitellään varomattomasti näytteenoton tai näytteiden käsittelyn yhteydessä, jolloin kaikkia paritelleita yksilöitä ei havaita. Spermatoforeja omaavien yksilöiden määrä aineistossa on siis luultavasti aina jonkin verran pienempi verrattuna

todelliseen paritelleiden yksilöiden määrään. Paritelleiden yksilöiden määrästä voidaan ehkä myös tehdä arvioita lierojen poikastuotosta ja populaation kasvusta. Toisaalta jos spermatoforeja omaavien yksilöiden määrästä halutaan tehdä päätelmiä lierojen lisääntymisestä, olisi myös itse spermatoforeista tehtävä vielä lisätutkimuksia. Erityisesti pitäisi tutkia muodostuvatko spermatoforit lieroille parittelun yhteydessä joka tapauksessa, vai ainoastaan onnistuneen parittelun (eli onnistuneen siittiöiden vaihdon) seurauksena. Jos siittiöiden vastaanotto siittiösäiliöihin jostain syystä epäonnistuu, niin munakoteloiden tuottoakaan ei tule tapahtumaan (ristisiitoksella lisääntyvillä lajeilla).

Tulosten perusteella kaste- ja peltolierojen parittelumenestys riippui molemmilla lajeilla yllättävän samankaltaisista tekijöistä siitä huolimatta, että lajit ovat ekologiaaltaan ja parittelukäyttäytymiseltään hyvin erilaiset. Toisaalta molempien lajien vaste kosteusolosuhteisiin oli odotettavissa, koska ympäristön kosteudella on suuri vaikutus lierojen aktiivisuuteen ylipäätään. Erityisesti isompien yksilöiden parempi parittelumenestys peltolieroilla oli mielenkiintoinen havainto, koska peltolierojen lisääntymismenestystä ei ole aiemmin juurikaan tutkittu. Tämän tutkimuksen perusteella ei kuitenkaan voitu vetää suoria johtopäätöksiä siitä, miksi isommat yksilöt olivat paritelleet todennäköisemmin, koska lierojen parittelukumppaneiden koko ei ollut tiedossa. Valikoivan pariutumisen tutkiminen lieroilla vaatisi lisäksi kokeellista yksilöiden käyttäytymisen tutkimista ja itse parittelun havainnointia. Yksilötiheyden yhteydestä parittelumenestykseen ei tässä tutkimuksessa saatu näyttöä, mikä oli kastelierojen osalta yllättävää, mutta myös toiveita herättävää: ehkä kastelieroipopulaatiot selviytyvät viljelymailla oletettua paremmin.

KIITOKSET

Kiitän ohjaajiani Jari Haimia, Visa Nuutista ja Elise Ketojaa hyvästä ohjauksesta ja hyvistä kommentteista ja korjauksista kirjoittamisen aikana, ja Eliseä erityisesti tilastoanalyysien suunnittelusta ja toteutuksesta. Kiitän myös Hannele Nikanderia avusta sääaineistojen kokoamisesta ja Mervi Niemistä hyvistä vinkeistä tilasto-ohjelmiston ja mikroskoopin ym. laitteiden käytössä Jokioisissa oloni aikana. Lisäksi kiitän äitiä sekä kaikkia sukulaisia, ystäviä ja työkavereita jotka ovat kannustaneet tämän pitkähkön projektin aikana niin hyvinä kuin huonoinakin hetkinä. Ja Reska: et ehtinyt nähdä tätä valmiina, mutta tiedän että olisit ollut ”niin maan perusteellisen” ylpeä siitä, että sain tämän valmiiksi.

KIRJALLISUUS

- Angeloni L. 2003. Sexual selection in a simultaneous hermaphrodite with hypodermic insemination: body size, allocation to sexual roles and paternity. *Anim. Behav.* 66: 417–426.
- Anthes N., Putz A. & Michiels N.K. 2006. Sex role preferences, gender conflict and sperm trading in simultaneous hermaphrodites: a new framework. *Anim. Behav.* 72: 1–12.
- Begon M., Harper J.L. & Townsend C.R. 1996. *Ecology. Individuals, Populations and Communities*. Blackwell Science, Oxford.
- Berry E.C. & Jordan D. 2001. Temperature and soil moisture content effects on the growth of *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta: Lumbricidae) under laboratory conditions. *Soil. Biol. Biochem.* 33: 133–136.
- Biradar V.A., Amoji S.D., Shagoti U.M. & Biradar P.M. 1999. Seasonal variation in growth and reproduction of the earthworm *Perionyx excavatus* (Oligochaeta: Megasclecidae). *Biol. Fertil. Soils.* 28: 389–392.
- Bolker B.M., Brooks M.E., Clark C.J., Geange S.W., Poulsen J.R., Stevens M.H.H. & White J-S.S. 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol. Evol.* 24: 127–135.

- Brown G.G., Barois I. & Lavelle P. 2000. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *Eur. J. Soil Biol.* 36: 177–198.
- Butt K.R. 1991. The effects of temperature on the intensive production of *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta: Lumbricidae). *Pedobiologia* 35: 257–264.
- Butt K.R. & Nuutinen V. 1998. Reproduction of the earthworm *Lumbricus terrestris* Linné after the first mating. *Can. J. Zool.* 76: 104–109.
- Butt K.R., Frederickson J. & Morris R.M. 1994. Effect of earthworm density on the growth and reproduction of *Lumbricus terrestris* L. (Oligochaeta, Lumbricidae) in culture. *Pedobiologia* 38: 254–261.
- Charnov E. L. 1979. Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 2480–2484.
- Clutton-Brock T.H. 1988. Reproductive Success. Teoksessa: Clutton-Brock T.H. (toim.), *Reproductive Success. Studies of Individual Variation in Contrasting Breeding Systems*. The University of Chicago Press, Chicago, s. 472–485.
- Courchamp F., Berec L. & Gascoigne J. 2008. *Allee Effects in Ecology and Conservation*. Oxford University Press, New York.
- DeWitt T.J. 1996. Gender contests in a simultaneous hermaphrodite snail: a size-advantage model for behaviour. *Anim. Behav.* 51: 345–351.
- Domínguez J., Velando A., Aira M. & Monroy F. 2003. Uniparental reproduction of *Eisenia fetida* and *E. andrei* (Oligochaeta: Lumbricidae): evidence of self-insemination. *Pedobiologia* 47: 530–534.
- Edwards C.A. 1983. Earthworm ecology in cultivated soils. Teoksessa: Satchell J.E. (toim.) *Earthworm ecology: from Darwin to vermiculture*, s. 123–137.
- Edwards C.A. & Bohlen P.J. 1996. *Biology and Ecology of Earthworms*. Chapman & Hall, London.
- Gascoigne J., Berec L., Gregory S. & Courchamp F. 2009. Dangerously few liaisons: a review of mate-finding Allee effects. *Popul. Ecol.* 51: 355–372.
- Grove A.J. 1925. On the reproductive processes of the earthworm, *Lumbricus terrestris*. *Q. J. Microsc. Sci.* 69: 245–290.
- Holmstrup M. 2003. Overwintering adaptations in earthworms. *Pedobiologia* 47: 504–510.
- Holmstrup M. & Overgaard J. 2007. Freeze tolerance in Aporrectodea caliginosa and other earthworms from Finland. *Cryobiology* 55: 80–86.
- Ilmatieteenlaitos 2011. Ilmankosteus. <http://ilmatieteenlaitos.fi/ilman-kosteus> Luettu 12.10.2011.
- Jones C.G., Lawton J.H. & Shachak M. 1994. Organisms as ecosystem engineers. *Oikos* 69: 373–386.
- Kammenga J.E., Spurgeon D.J., Svendsen C & Weeks J.M. 2003. Explaining density-dependent regulation in earthworm populations using life-history analysis. *Oikos* 100: 89–95.
- Klok C. 2007. Effects of earthworm density on growth, development, and reproduction in *Lumbricus rubellus* (Hoffm.) and possible consequences for the intrinsic rate of population increase. *Soil. Biol. Biochem.* 39: 2401–2407.
- Koene J.M., Pfortner T. & Michiels N.K. 2005. Piercing the partner's skin influences sperm uptake in the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 59: 243–249.
- Lavelle P. & Spain A.V. 2001. *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Lavelle P., Barot S., Blouin M., Decaens T., Jimenez J.J. & Jouquet P. 2007. Earthworms as key actors in self-organized soil systems. Teoksessa: Cuddington K., Byers J.E., Wilson W.G. & Hastings A. (toim.), *Ecosystem Engineers: Plants to Protists*, 77–106.
- Lee K.E. 1985. *Earthworms: Their Ecology and Relationships with Soils and Land Use*. Academic Press, Sydney, Australia.
- Macdonald D.W. 1983. Predation on earthworms by terrestrial vertebrates. Teoksessa: Satchell J.E. (toim.) *Earthworm ecology: from Darwin to vermiculture*, s. 393–414.
- Madec L., Desbuquois C. & Coutellec-Vetro M-A. 2000. Phenotypic plasticity in reproductive traits: importance in the life history of *Helix aspersa* (Mollusca: Helicidae) in a recently colonized habitat. *Biol. J. Linn. Soc.* 69: 25–39.

- Michiels N.K., Hohner A., & Vorndran I.C. 2001. Precopulatory mate assessment in relation to body size in the earthworm *Lumbricus terrestris*: avoidance of dangerous liaisons? *Behav. Ecol.* 12: 612–618.
- Monroy F., Aira M., Velando A. & Domínguez J. 2003. Have spermatophores in *Eisenia fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) any reproductive role? *Pedobiologia* 47: 526–529.
- Monroy F., Aira M., Velando A. & Domínguez J. 2005. Size-assortative mating in the earthworm *Eisenia fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae). *J. Ethol.* 23: 69–70.
- Monroy F., Aira M., Domínguez J. & Velando A. 2006. Seasonal population dynamics of *Eisenia Fetida* (Savigny, 1826) (Oligochaeta, Lumbricidae) in the field. *C. R. Biologies* 329: 912–915.
- Neter J., Kutner M.H., Nachtsheim C.J. & Wasserman W. 1996. *Applied Linear Statistical Models*. Times Mirror Higher Education Group, USA.
- Nieminen M., Ketoja E., Mikola J., Terhivuo J., Sirén T., & Nuutinen V. 2011. Local land use effects and regional environmental limits on earthworm communities in Finnish arable landscapes. *Ecol. Appl.* doi:10.1890/10-1801.1 [painossa]
- Nuutinen V. 1997. *Night crawling – on the reproduction and ecology of the earthworm Lumbricus terrestris L.* Joensuu Yliopiston luonnontieteellisiä julkaisuja 42.
- Nuutinen V. & Butt K.R. 1997a. Pre-mating behaviour of the earthworm *Lumbricus terrestris L.* *Soil Biol. Biochem.* 29: 307–308.
- Nuutinen V. & Butt K.R. 1997b. The mating behaviour of the earthworm *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta: Lumbricidae). *J. Zool. Lond.* 242: 783–798.
- Nuutinen V. & Butt K.R. 2009. Worms from the cold: Lumbricid life stages in boreal clay during frost. *Soil Biol. Biochem.* 41: 1580–1582.
- Nuutinen V., Terhivuo J., Ketoja E., Nieminen M. & Sirén T. 2007. Lieroyhteisöjen alueellinen vaihtelu maaperän ja pellon käytön mukaan. Julkaisussa: Salonen J., Keskitalo M. & Segerstedt M. (toim.) Peltoluonnon ja viljelyn monimuotoisuus. Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus, Jokioinen, s. 313–329.
- Pérez-Losada M., Ricoy M., Marshall J.C. & Domínguez J. 2009. Phylogenetic assessment of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* species complex (Oligochaeta: Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 52: 293–302.
- Roots B.I. 1956. The Water Relations of Earthworms: II. Resistance to Desiccation and Immersion, and Behaviour When Submerged and When Allowed a Choice of Environment. *J. Exp. Biol.* 33: 29–44.
- Rozen A. 2006. Internal regulation of reproduction seasonality in earthworm *Dendrobaena octaedra* (Savigny 1826) (Lumbricidae, Oligochaeta). *Soil Biol. Biochem.* 38: 180–182.
- Schärer L., Karlsson L.M., Christen M. & Wedekind C. 2001. Size-dependent sex allocation in a simultaneous hermaphrodite parasite. *J. Evol. Biol.* 14: 55–67.
- Sims R.W. & Gerard B.M. 1999. *Earthworms. Synopses of the British Fauna (New Series)*. Dorsett Press, Dorchester.
- Stephenson J. 1930. *The Oligochaeta*. Clarendon Press, Oxford.
- Terhivuo J. 1986. Lierot. Teoksessa: Huhta V. (toim.) *Suomen Eläimet 5: Muut Selkärangattomat*. Weilin Göös, Espoo, s. 174–181.
- Vreys C. & Michiels N.K. 1997. Flatworms flatten to size up each other. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 264: 1559–1564.