

Pro gradu -tutkielma

**Jokihelmisimpukan (*Margaritifera margaritifera*)
glokidium-toukkien kehittyminen ja lukumäärät
kalaisännässä kahdessa Ijoen alueen taimenpurossa**

Tapani Säkkinen



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Akvaattiset tieteet

21.5.2012

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos
Akvaattiset tieteet

SÄKKINEN TAPANI, M.: Jokihelmisimpukan (*Margaritifera margaritifera*) glokidium-toukkien kehittyminen ja lukumäärät kahdessa Iijoen alueen taimenpurossa

Pro gradu: 31 s.
Työn ohjaajat: Prof. Jouni Taskinen, FM Jouni Salonen
Tarkastajat: Prof. Jouni Taskinen, Dos. Timo Marjomäki
Toukokuu 2012

Hakusanat: glokidium-toukka, jokihelmisimpukka, *Margaritifera*, lämpötila, raakku, *Salmo trutta*

TIIVISTELMÄ

Jokihelmisimpukan (*Margaritifera margaritifera* L.) elämänsyklin eri vaiheiden ajoitus tunnetaan heikosti, mikä vaikeuttaa mm. suojelutoimien suunnittelua. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli havainnoida jokihelmisimpukan glokidium-toukkien kehittymistä ja lukumääriä kahdessa Iijoen alueen taimenpurossa. Erityisesti pyrimme saamaan tietoa siitä, milloin toukat kiinnittyvät kaloihin ja milloin ne irtoavat niistä. Lisäksi tavoitteena oli saada tietoa toukkien kasvunopeudesta loisvaiheessa. Tutkimus kohdistettiin kahteen lämpötiloiltaan erilaiseen puroon Iijoen alueella 9.6. ja 7.9. välisenä aikana. Tutkimuskalana käytettiin purotaimena (*Salmo trutta* m. *fario* L.), joka on puroissa luonnostaan esiintyvä raakun loisvaiheen isäntäkala. Työ on osa pohjoismaista Interreg Raakku -hanketta (2011–2014). Glokidium-toukkien irtoaminen kaloista ajoittui lämpimällä purolla pääasiassa välille 9.6.–28.6. ja kylmällä purolla välille 27.6.–20.7. Uudet toukat eivät olleet tarttuneet kaloihin kylmällä purolla vielä 2.8., mutta 31.8. näytteessä niitä havaittiin ja toukat olivat keskipituudeltaan 80 µm. Lämpimällä purolla uusia toukkia ei havaittu vielä 31.8., mutta 7.9. näytteessä niitä esiintyi keskipituuden ollessa 70 µm. Toukkien pituudesta voidaan päätellä, että kylmällä purolla infektoituminen uusilla glokidium-toukilla on tapahtunut selvästi ennen elokuun loppua, koska aikaisemmat havainnot viittaavat uusien toukkien olevan kooltaan n. 70 µm. Erot toukkien kehittämisessä eri puroissa johtunevat pääasiassa veden lämpötilaerosta. Veden lämpötila oli kylmässä purossa yli 15 °C viiden vuorokauden ajan aikavälillä 29.6.–3.7. Toukkien pudottautuminen kaloista lienee alkanut kyseisenä ajanjaksona, koska aikaisemmissa tutkimuksissa toukkien on havaittu irtoavan kaloista veden lämpötilan ollessa ”pysyvästi” yli 15 °C. Tulokset tukivat tätä kynnyslämpötilan ”pysyvän” ylityksen tarpeellisuutta toukkien parveilun ajoittumiseen. Kylmän puron toukat olivat kesäkuun alussa huomattavasti pienempiä verrattuna lämpimään puroon. Seuraavana tutkimuspäivänä 27./28.6. ero oli lähes tyystin kadonnut. Lämpimällä purolla lämpötila laski 3.9.–5.9 nopeasti alle 13 °C:een, mikä on ehkä toiminut laukaisevana tekijänä uusien glokidium-toukkien parveilulle. Kylmän puron vesi oli alle 13-asteista aikavälillä 5.8.–15.8., joten siellä toukat ovat voineet tarttua kaloihin jo elokuun alkupuoliskolla. Raakun loisvaihe kesti siis kylmällä purolla ehkä 11–11,5 kk ja lämpimällä purolla n. 10,5 kk, jos infektoitumisen oletetaan tapahtuneen molemmilla puroilla myös edellisenä vuonna samoihin aikoihin.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Science

Department of Biological and Environmental Science
Aquatic Sciences

SÄKKINEN TAPANI, M.: Freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*)
glochidium-larva development and number of larvae
parasitizing on trout in two streams in Iijoki catchment area

Master of Science Thesis: 31 p.

Supervisors: Prof. Jouni Taskinen, M.Sc. Jouni Salonen

Inspectors: Prof. Jouni Taskinen, Dr. Timo Marjomäki

May 2012

Key Words: freshwater pearl mussel, glochidium larva, *Margaritifera*, *Salmo trutta*,
temperature

ABSTRACT

Timing of different stages of freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) life cycle is poorly known which makes it difficult to plan conservation methods. Goal for this study was to examine the development and numbers of glochidia on trout gills in two different streams in Iijoki catchment area. Particularly aim was to get information when larvae attach to the host fish, resident brown trout *Salmo trutta* m. *fario*, and when larvae detach from the host. Samples were collected every 3rd week between 9th of June and 7th of September from two brooks which differed in water temperature. Study was a part of EU-funded Interreg project (2011–2014). The detachment period of glochidia-larva in the warm-water stream occurred between 9th of June and 28th of June and in the cold-water stream between 27th of June and 20th of July. New larvae were not found on 2nd of August from cold stream but on 31st of August fishes had larvae with an average size of 80 µm. In the warm stream larvae were still absent on 31st of August but on 7th of September larvae were present and the average larva size was 70 µm. Based on the large size of larvae in the end of August in the cold stream it can be concluded that the infection had taken place way before the end of August, because previous studies has shown that the initial size of encysted larvae is 70 µm. Water temperature was above 15 °C for five days between 29th of June and 3rd of July in the cold stream which has probably triggered detachment of glochidia since previous studies have confirmed that water temperature is needed to be at least 15 °C for the successful end of parasitic phase. My result supports this view. Glochidium larvae from the colder stream were significantly smaller compared to warmer stream larvae in the beginning of June. On next sample day (27th and 28th of June) this difference was almost vanished. Water temperature declined rapidly below 13 °C between 3rd of September and 5th of September in the warm stream which may have triggered the spat of glochidia from pearl mussels. Water temperature in the cold stream was below 13 °C between 5th of August and 15th of August. Thus, larvae may have attached to host fish in the first half of August in the cold creek. Therefore it can be estimated that the parasitic phase of freshwater pearl mussel will last about 11 to 11.5 months in the cold stream and about 10.5 months in the warm stream, assumed that the seasonal temperature pattern resembles that of the present study year.

Sisältö

1. JOHDANTO	5
2. TUTKIMUKSEN TAUSTA	5
2.1. Jokihelmisimpukan lisääntyminen	5
2.2. Jokihelmisimpukan loisvaihe	6
2.3. Juveliini jokihelmisimpukka	7
2.4. Jokihelmisimpukka aikuisena.....	8
2.5. Jokihelmisimpukkapopulaatiot vaarassa kuolla sukupuuttoon	8
3. AINEISTO JA MENETELMÄT	9
4. TULOKSET	12
4.1. Glokidium-toukkamäärät tutkimuspurojen taimenissa	13
4.2. Glokidium-toukkamäärien ajallinen vaihtelu	14
4.3. Glokidium-toukkamäärien riippuvuus kalan pituudesta	16
4.4. Glokidium-toukkamäärän ja toukkien pituuden välinen riippuvuus.....	19
4.5. Glokidium-toukkien kasvun ajallinen kehitys.....	20
5. TULOSTEN TARKASTELU	23
Kiitokset	28
Kirjallisuus	28

1. JOHDANTO

Simpukat (Bivalvia) kuuluvat eläinkunnassa nilviäisten (Mollusca) pääjaksoon. Jokihelmisimpukka (*Margaritifera margaritifera* L.) on makean veden simpukka (Unionoida) ja se kuuluu jokihelmisimpukoiden (Margaritiferidae) heimoon. Jokihelmisimpukan (kansanomaiselta nimeltään raakku) kannat ovat taantuneet voimakkaasti, ja lajina sen on määritelty olevan esiintymisalueillaan joko vaarantunut tai vaarassa kuolla sukupuuttoon (Young ym. 2001). Laji muutettiin Suomessa vaarantuneesta erittäin uhanalaiseksi vuonna 2010. Jokihelmisimpukan elinvoimaisimmat kannat sijaitsevat Kanadassa, Venäjällä, Skandinaviassa ja Skotlannissa (Young ym. 2001). Pohjois-Amerikan raakkukantojen nykytilanteesta ei ole varmaa tietoa, koska sitä ei ole viimeaikoina tutkittu (Geist 2010).

Raakut ovat mukautuneet elämään ravinneköyhissä virtavesissä, ja ne suosivat hapekkaita ja viileitä virtavesiä (Geist & Kuehn 2008), joiden pohjamateriaali on sopivan karkeaa juveniileille raakuille (Geist & Auerswald 2007). Erityisesti juveniilit simpukat ovat kykenemättömiä elämään vähähappisessa vedessä, joten habitaatin pitää kyetä tarjoamaan riittävän määrän happea (Strayer 2008).

Elinympäristön lämpötila vaikuttaa merkittävästi raakun kasvuun ja sen elämänkierron eri vaiheiden ajoituksiin, kuten kalojen kiduksilla tapahtuvaan loisvaiheeseen. Sekä korkea, että matala lämpötila voi olla eri simpukkalajeille haitallista (Strayer 2008). Elinalueiden kuivumisen myötä noussut lämpötila voi tappaa simpukat, ja se on voinut aiheuttaa useiden simpukkapopulaatioiden ja -lajien kuolemisen (Golladay ym. 2004). Korkeassa lämpötilassa myös glokidium-toukat selviävät lyhyemmän ajan elossa (Zimmerman & Neves 2002). Matalassa lämpötilassa raakun kasvu on hidasta tai se ei kasva ollenkaan (Hruška 1992).

Tutkimuksessamme halusimme selvittää jokihelmisimpukan glokidium-toukkien kehittymistä ja lukumääriä kalaisännissään kahdessa Iijoen alueen taimenpurossa. Erityisesti tutkimuksen tavoitteena oli saada tietoa siitä, milloin glokidium-toukat kiinnittyvät kaloihin ja milloin toukat pudottautuvat pohjasoraikkoon pieninä simpukoina. Lisäksi selvitimme toukkien loisvaiheen kasvunopeutta. Tutkimukseen valitut taimenpurot eroavat toisistaan lämpötilaltaan ja sijainniltaan (kylmä puro n. 50 km pohjoisempana). Hypoteesina oli, että kylmässä purossa jokihelmisimpukan loisvaihe kestää pidempään, eli kehittyneet toukat pudottautuvat kaloista myöhemmin ja uudet toukat tarttuvat kaloihin aikaisemmin, kuin lämpimässä purossa. Työ oli osa pohjoismaista Interreg Raakku -hanketta (2011–2014).

2. TUTKIMUKSEN TAUSTA

Raakku on hyvin pitkäikäinen selkärangaton, sillä arktisissa populaatioissa yksilöt voivat elää jopa 190-vuotiaiksi (Ziuganov ym. 2000) ja Etelä-Euroopassakin 35-40 vuoden ikäisiksi. (San Miguel ym. 2004). Pitkäikäisyyden sanotaan olevan seurausta raakun elämästä niukkaravinteisissa kylmissä vesissä, jolloin raakun aineenvaihdunnan taso on matala (Bauer 2001a).

2.1. Jokihelmisimpukan lisääntyminen

Raakulla on kaksi sukupuolta ja se lisääntyy suvullisesti. Tosin hermafrodiittejakin yksilöitä on tavattu, mutta äärimmäisen harvoissa populaatioissa (Bauer 1987a). Yleensä

lisääntymiskausia on vuodessa vain yksi. Itävallan Waldaist-joelta lienee ainoa tunnettu tapaus raakun kahdesta lisääntymiskaudesta vuoden aikana (Scheder ym. 2011). Simpukkakoiras vapauttaa siittiönsä veteen, mistä ne kulkeutuvat naaraiden hedelmöitettäviksi niiden sisäänhengitysaukkojen kautta ja hedelmöittyneet munasolut muuntuvat naarassimpukan sikiökammioissa glokidium-toukiksi. Raakkunaaras kohdentaa ruumiinpainostaan 0,3-5,3 % muniin (Bauer 2001a). Jokihelmsimpukoiden graviditeettia päästään vain harvoin selvittämään; yhden tutkimuksen mukaan n. 64 % naaraista oli kantavia (Bauer 1987a).

Yhdysvaltojen keskiosassa Connecticut-joella raakkujen lisääntymiskausi ajoittuu elokuun alusta lokakuun puoleenväliin (Smith 1976). Aikaa hedelmöityksestä toukkien valmistumiseen kului kyseisellä joella n. 45 vuorokautta. Keski-Euroopassa naarasraakun munat tulevat kiduskammioihin heinäkuun puolivälissä (Bauer 1987a) ja Smith (1979) kertoo hedelmöityksen tapahtuvan pian tämän jälkeen. Naaras kantaa glokidium-toukkia sikiökammioissaan 5-7 viikkoa (Bauer 1987a). Kantavan naarassimpukan, joita edellä mainitun Bauerin (1987a) tutkimuksen mukaan oli koko populaatiosta noin 32 %, sisällä voi olla jopa yli 4 miljoonaa toukkaa (Bauer 1987a). Raakku saavuttaa maturiteetin 15–20-vuotiaana ja on kykenevä lisääntymään kuolemaansa asti (Bauer 1987a). Saksan länsiosan vuoristoalueen puroissa havaittiin simpukoiden elävän keskimäärin 73-vuotiaaksi, eli sikäläinen raakkunaaras tuottaa elämänsä aikana jopa 200 miljoonaa glokidium-toukkaa (Bauer 1987a). Pohjois-Euroopassa raakun eliniät ovat pitempiä, joten lienee selvää, että koko eliniän aikana tuotettu toukkamäärä on pohjoisemmassa vielä suurempi. Raakkunaaras vapauttaa toukat 1–2 vuorokauden kuluessa (Hastie & Young 2003). Koko puron raakkupopulaatio vapauttaa toukkansa 1–3 viikossa (Young & Williams 1984a), joten raakkuyksilöiden toukkien vapautusajankohdissa on eroja.

2.2. Jokihelmsimpukan loisvaihe

Parveilun jälkeen toukat aloittavat raakun elinkierron parasiittisen vaiheen, jolloin pieni glokidium-toukka (n. 70 µm) loisii kalan kiduksilla talven yli. Bauer (1979) tosin väittää olevan myös jo samana syksynä loisvaiheen läpikäyviä populaatioita ja tähän viittaavat myös Schederin ym. (2011) havainnot poikkeuksellisen lämpimänä kesänä Itävallan Waldaist-joella. Toukan tulee päästä isäntäkalaan kalan sisäänhengityksen mukana, jolloin toukka tarttuu kalan kiduksen pehmeisiin osiin (Wächtler ym. 2001). Laboratorio-oloissa on havaittu raakun glokidium-toukkien pysyvän elossa 10 vrk (Jansen ym. 2001). Taskinen ym. (2011a) havaitsivat 80 % raakun glokidium-toukista olevan hengissä 8 vrk:n kuluttua 6 °C lämpötilassa. Monista muista simpukkalajeista poiketen raakun glokidium-toukalla ei ole kuorensa koukkuja, joten se ei kykene tarttumaan kalan eville (Bauer 2001b). Raakun glokidium-toukan loisinta onnistuu paremmin nuorissa isäntäkaloissa (Bauer 1987b). Vanhoissa kaloissa on vähemmän toukkia ja niissä loisivat toukat kehittyvät hitaammin (Bauer 1987b). Isäntäkalan immuunivasteet torjuvat toukan yleensä vaiheessa, jossa kalan epiteelisolut muodostavat kystin (Arey 1932) toukan ympärille tai pian sen jälkeen (Jansen ym. 2001). Toukkien määrä pienenee myös loisvaiheen myöhäisemmässä vaiheessa (Young & Williams 1984a). Sopivaan isäntäkalalajiin tarttuneista glokidium-toukista ainoastaan 5 % läpikäy onnistuneen metamorfoosin ja selviää juveniiliksi simpukaksi asti (Young & Williams 1984a). Kala muodostaa toukan ympärille kystin korjatakseen toukan aiheuttaman epiteelivaurion (Arey 1932). Toukan loisvaiheen aikana epiteelin muodostama kysti suojaaa toukkia mekaanisilta häiriöiltä ja välittää ravinteita toukalle koko loisvaiheen ajan (Arey 1932). Loisinnan aikana myös toukan hiilipitoisuus kasvaa (Wächtler ym. 2001).

Loisvaiheen isäntäkalalajilista on suppea. Isäntäkalalajeiksi käyvät lohi (*Salmo salar* L.) ja taimen (*Salmo trutta* L.) (Wächtler ym. 2001). Etelä-Euroopassa pääasiallinen isäntäkalalaji on taimen (Wächtler ym. 2001). Pohjois-Euroopassa lohen on havaittu olevan taimenta parempi isäntäkalalaji raakulle (Wächtler ym. 2001). Pohjois-Amerikassa isäntäkalalajiksi käy myös puronieriä (*Salvelinus fontinalis* L.) (Smith 1976). Tietoa siitä, kuinka hyvä isäntä puronieriä on Pohjois-Amerikassa verrattuna loheen ja taimeneen, ei kuitenkaan ole. Eurooppaan on istutettu puronieriöitä, ja toukkien on todettu tarttuvan niihin. Ne putoavat kuitenkin kehittymättöminä kuukauden aikana (Bauer 1987c, 1988). Glokidium-toukat putoavat kirjolohista (*Oncorhynchus mykiss* L.) ja harjuksista (*Thymallus thymallus* L.) jo viikon aikana (Bauer 1987c). Mutu (*Phoxinus phoxinus* L.) ei ole raakun loisvaiheen isäntäkalalaji (Young & Williams 1984b, Bauer & Wächtler 2001).

Glokidium-toukat tarvitsevat isäntäkalan suorittaakseen muodonmuutoksen (metamorfoosi), jonka aikana simpukkaan kehittyvät kaksi kuoren lähentäjälähistä, vaippa, ruoansulatuskanava, hermosto, jalka, parilliset kidusjärjestelmät ja ravintovarastot (storage granules) (Wächtler ym. 2001). Parasiittinen vaihe loppuu metamorfoosin päätyttyä, jolloin juveniiliksi raakuksi kehittynyt toukka rikkoo kystinsä ja pudottautuu veteen (Taskinen ym. 2011b).

Kalan immuunijärjestelmä pyrkii torjumaan kiduksilla loisivia raakun glokidium-toukkia. Immuunijärjestelmässä on todettu olevan sekä kudoksien aiheuttama synnynnäinen (Kortet & Vainikka 2008) toukkien torjuntajärjestelmä, että vasta-aineperusteinen torjuntajärjestelmä (Bauer & Vogel 1987). Toukkien tarttuessa kalan kiduksiin kudospoikkeusreaktio käynnistyy ja valkosolut aloittavat toukkien torjunnan. Dillon (2000) on todennut valkosolujen määrän nousevan glokidium-toukkien tarttuessa kalaan. Kudoksiin perustuva järjestelmä torjuu toukat heti infektion alussa, ja vasta-ainejärjestelmä on vastuussa myöhemmin tapahtuvassa torjunnassa (kuten esimerkiksi myöhemmin vuosina tarttuvia toukkia vastaan). Toukkia voi olla isäntäkalassa useita tuhansia, ja kalat kuolevat, jos ne altistuvat hyvin suurelle määrälle raakun glokidium-toukkia (Smith 1976, Young & Williams 1984a). Ziuganov (2005a) toteaa tutkimuksessaan, että talvella lohista löytyi 2000–7000 toukkaa. Kokemuseräistä tietoa glokidium-toukkien loisinnan haitallisuudesta kaloille on Suomessa esimerkiksi riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksella, missä Iijoen alueella kalanviljelylaitoksen yläpuolelta raakkuja jouduttiin siirtämään glokidioosin takia 1970-luvulla (viljelypäällikkö Vesa Määttä, RKTL Taivalkoski, suullinen tiedonanto). Kiduksilla loisivista glokidium-toukista voi olla kalalle hyötyäkin, sillä Ziuganov (2005b) kertoo toukilla infektoituneiden lohien selviävän paremmin hapenpuutteesta, kiduksien koskettamisesta sormilla ja kalastuskoukkujen aiheuttamista vaurioista. Lisäksi aikuisraakut puhdistavat puron vettä n. 50 l vuorokaudessa (Oulasvirta 2006) edesauttaen näin lohikalajien lisääntymistä ja poikasalueiden kuntoa. Toisaalta pohjalla olevat raakkupopulaatiot muodostavat elinympäristön kalojen ravintona oleville vesiselkärangattomille (Hastie & Cosgrove 2001). Vaughn & Spooner (2006) tutkivat vaeltajasimpukan (*Dreissena polymorpha*) vaikutusta selkärangattomien pohjaeläinten määriin. He havaitsivat simpukan lisäävän harvasukasmatojen, surviaissääskien, päivänkorentojen ja vesiperhosten määriä.

2.3. Juveliini jokihelmisimpukka

Toukat ovat 360 – 500 µm pituisia pudottautuessaan isäntäkalastaan (Bauer 1994), joten toukka kasvaa loisvaiheessa pituudeltaan noin kuusinkertaiseksi. Glokidium-toukat pudottautuvat kalasta ja aloittavat elinkiertonsa juveniilivaiheen joen pohjasoraikossa. Kuolleisuus simpukoiden elämän alkuvaiheessa on erittäin suuri, sillä hedelmöityneistä glokidium-toukista juveniileiksi pikkusimpukoiksi selviää vain n. 10 yksilöä miljardista

(Young & Williams 1984a). Juveniilit raakut kaivautuvat puron pohjasoraikkoon noin viideksi vuodeksi (Geist & Auerswald 2007) välttääkseen joutumasta kalojen ravinnoksi (Englund ym. 2008). Tämä on niiden elinkierrossaan kriittinen vaihe, koska pohjasoraikat ovat monin paikoin ihmistoiminnan vuoksi liettyneet liian vähähappisiksi, jotta juveniilit raakut voisivat siellä elää (Geist & Auerswald 2007). Hienojakoinen sedimentti estää hapen kulkeutumisen pohjasoraikon sisään ja toisaalta rehevöityminen aiheuttaa suuremman biokemiallisen hapenkulutuksen, jolloin happea on vähemmän käytettäväksi. Tutkimuksessa havaittiin juveniilien raakkujen selviävän huonosti puroissa, joiden pohjamateriaalissa on paljon hienojakoista ainesta. Juveniilien raakkujen kerrottiin pärjäävän paremmin karheapohjaisissa puroissa. Lisäksi hienojakoisen aineksen mangaanipitoisuus oli suurempi ”tuottavissa” puroissa (Geist & Auerswald 2007). Juveniilien simpukoiden kasvunopeuteen vaikuttavista tekijöistä on havaittu lämpötilan olevan merkittävin (Buddensiek 1995). Kasvun havaittiin korreloivan lämpötilan jälkeen eniten happipitoisuuden, sähkönjohtokyvyn ja kalsium- ja magnesiumpitoisuuden kanssa.

2.4. Jokihelmisimpukka aikuisena

Aikuiset makean veden simpukat ottavat ravintonsa vedestä suodattamalla. Vesi virtaa simpukan sisään eläimen takapäässä olevan, vaipan muodostaman hengitysaikon kautta ja ulosvirtaus tapahtuu edellisen selkäpuolella olevan hylkyaukon kautta (McMahon 1991). Raakun kaksiosainen kuori koostuu uloimmasta kerroksesta (periostratum), kalsiumkarbonaattirungosta ja sisäkerroksen helmiäisestä (McMahon 1991). Siitä huolimatta, että raakut tarvitsevat riittävästi kalsiumia kuorenkasvatukseen (Strayer 2008), ne elävät virtavesissä, joiden kalsiumkarbonaattikonsentraatio (CaCO_3) on pieni (Bauer 1988). Ulkokerros estää kalsiumkarbonaattirungon liukenemistä karbonaattiköyhään veteen (McMahon 1991). Kuoren rakentamiseen kuluu raakun ravinnosta saamasta energiasta kolmasosa (Bauer 1989).

Aikuiset raakut ovat kooltaan 80–145 mm (Bauer 1992), eikä niillä ole juurikaan vihollisia (Bauer 1992). Kanadassa havaittiin piisamien tuhoavan pienehköt raakut (alle 75 mm), mutta isompia, n. 100 mm yksilöitä, ne eivät kykene aukaisemaan (Zahner-Meike & Hanson 2001). Tutkimusten mukaan täpläravut (*Pacifastacus leniusculus*) syövät ainakin vaeltajasimpukoita (Zu Ermgassen & Aldridge 2011). Jyväskylän yliopiston tutkimuksissa on havaittu täplärapujen aiheuttavan vaurioita raakkujen kuoriin (Prof. Jouni Taskinen, Jyväskylän yliopisto, suullinen tiedonanto). Täplärapujen arvaillaan syövän ainakin nuoria raakkuja (Degerman ym. 2009).

2.5. Jokihelmisimpukkapopulaatiot vaarassa kuolla sukupuuttoon

Jokihelmisimpukka on vaarantunut laji (Strayer ym. 2004). Viimeisimmän vuosisadan aikana 90 % Euroopan raakkukannoista on tuhoutunut (Ziuganov ym. 2000, Machordom ym. 2003). Erityisesti huolenaiheena on juveniilien simpukoiden puuttuminen (Young ym. 2001). Lisääntyminen ei siis ole onnistunut useaan vuosikymmeneen. Toki juveniilien simpukoiden löytäminen on vaikeaa niiden pienikokoisuuden ja pohjasoraikon sisällä elämisen takia.

Raakkukantojen romahtamisiin on useita ihmisen aiheuttamia syitä. Syiksi mainitaan mm. jokirakentaminen (Bauer 1986, Williams ym. 1993), rehevöityminen (Bauer 1986, Young ym. 2001, Dolmen & Kleiven 2008), liettyminen (Williams ym. 1993), kuivatus (Young ym. 2001), happamoituminen (Young ym. 2001, Dolmen & Kleiven 2008), säännöstely (Dolmen & Kleiven 2008), maanrakennus (Dolmen & Kleiven 2008), vierasperäisten simpukkalajien istuttaminen (Williams ym. 1993) ja helmenkalastus (Young ym. 2001).

Pohjois-Saksan Lutter-joella havaittiin raakkujen kykenevän jälleen lisääntymään, kun ihmisen aiheuttama purovesien liettyminen väheni (Geist 2010). Koska raakkujen lisääntymiselimet toimivat huonohkoissakin ympäristöoloissa, voitaneen kannat palauttaa pääasiallisten romahdussyiden poistamisella (Bauer 1988). Raakkujen pitkäikäisyys ja niiden lisääntyminen kuolemaansa asti antavat myös toivoa populaatioiden elvyttämiselle, mutta aikaa lajin pelastamiselle lienee enää korkeintaan muutama vuosikymmen. Luonnonoloissa vedet tulevat jokiin suurelta osin pohjavalunnan kautta, mutta lisääntyneen ihmistoiminnan ansiosta se tapahtuu tänä päivänä suurelta osin pintavalunnan kautta. Tästä syystä lannoitteet, yhdyskuntajäte, humus ja maankamaran irtoaines pääsevät jokivesiin aiheuttaen sedimentaatiota ja rehevöitymistä. Tulisi siis rakentaa ojakatkoksia, laskeutusaltaita ja pintavalutuskenttiä estämään ihmistoiminnasta johtuvien aineiden kulkeutuminen raakkuvesistöihin. Jokirantojen rantavyöhykkeeseen tulisi jättää kasvillisuutta, joka estäisi eroosiota ja siten irtoaineksen pääsyä veteen. Raakkuvesiin ei tulisi istuttaa vieraskalalajeja (esim. kirjolohta ja puronierää). Raakkupopulaatioita voidaan tulevaisuudessa elvyttää ehkä myös keinotekoisilla infektioinneilla (Bauer 1988). Saksassa Ala-Saksin osavaltion jokiin on tosin vapautettu satoja infektoituja taimenia viimeisen 20 vuoden aikana, muttei sen aiheuttamasta raakkujen lisääntymisestä osavaltion virtavesissä ole todisteita (Buddensiek 1995).

3. AINEISTO JA MENETELMÄT

Tutkimuksen aineisto kerättiin 9.6.2011–7.9.2011 välisenä aikana sähkökalastamalla kahdella Iijoen alueen latvapurolla (Kuva 1). Tutkimuksen toteuttamiseen tarvittavat luvat (POPELY/1327/07.01/2010 ja POPELY/513/07.01/2011) myönsi Pohjois-Pohjanmaan ELY-keskus. Purojen nimiä ja tarkempia sijainteja ei julkaista salassapitosopimuksen (Metsähallitus) vuoksi. Purot valittiin siten, että toinen edusti veden lämpötilaltaan viileämpää ja se sijaitsee n. 50 km pohjoisempana. Veden viileys johtunee suuresta lähdeveden osuudesta vedessä ja varjostavien puiden määrästä puron rantatormällä. Lämpötilaeroa selittää myös se, että lämpimämpi puro saa alkunsa järvestä. Kylmempi puro on pituudeltaan alle 10 km ja lämpimämpi yli 10 km. Kylmän puron sähkökalastuspaikassa ei havaittu raakkuja, mutta lämpimällä purolla nähtiin yksittäisiä raakkuja. Sähkökalastus tehtiin kylmällä purolla koskessa kahlaten, sillä sähkökalastusalueen kohdalla puro oli liian leveä rannalta kalastettavaksi. Lämmin puro oli kapea, joten sähkökalastus tehtiin rannalta. Se onkin turvallisempi tapa myös raakkujen kannalta.

Sähkökalastuksessa käytettiin GeOmega FA4 -laitetta. Saalistavoitteeksi oli jokaiselta tutkimuskerralta määritelty molemmilta puroilta 10 taimenta, joista puolet lopetettaisiin ja kuljetettaisiin myöhemmin toteutettaviin jatkotutkimuksiin. Pienten purojen taimenkantoja kuitenkin säästettiin ottamalla toisinaan vähemmän kuin 5 taimenta. Kaikista kaloista mitattiin välittömästi kokonaispituus (RT), minkä jälkeen niiden sisältämien glokidium-toukkien lukumäärä arvioitiin silmämääräisesti. Tämän jälkeen valittiin satunnaisotannalla mikroskooppitutkimuksiin otettavat kalat ja pakattiin kylmälaukkuihin. Tarpeettomat kalat vapautettiin. Aikaa purokohtaiseen sähkökalastuskertaan meni alkukesästä jopa kaksi tuntia, mutta elokuussa tarvittavat 10 kalaa saatiin puolessa tunnissa (FM Jouni Salonen, Jyväskylän yliopisto, suullinen tiedonanto).

Jatkotutkimuksissa (Taulukko 1, Kuva 2) kalat punnittiin, kidukset leikattiin preparointisaksilla, kidukset aseteltiin lasilevyille ja glokidium-toukat laskettiin preparointimikroskoopin (Olympus SZX9) avulla. Jokaisesta loisitusta kalasta mitattiin

myös toukkien pituudet n. 10 toukan satunnaisotoksesta mikroskoopin mitta-okulaarilla (mittatarkkuus 18 μm). Pituus mitattiin toukan suurimmasta läpimitasta. Jatkotutkimukset tapahtuivat joko Syötteen mökkimajoituksessa tai Jyväskylän yliopiston tiloissa. Molemmissa sähkökalastuspaikoissa oli veden lämpötilaa automaattisesti mittaavat anturit (Thermochron 1921Z). Ne mittasivat lämpötilan 6 kertaa vuorokaudessa ja valmistaja ilmoittaa mittaustarkkuudeksi 0,125 °C. Näiden ammattikäyttöön tarkoitettujen mittareiden mittaustulosten välisiä eroja ei tutkittu systemaattisten virheiden selvittämiseksi (FM Jouni Salonen, Jyväskylän yliopisto, suullinen tiedonanto). Tässä työssä tulosten analysointiin käytetyt veden keskilämpötilat ovat vuorokauden keskiarvoja, ellei toisin mainita. Veden lämpötilan minimi- ja maksimiarvot ovat vuorokauden hetkellisiä arvoja. Mittarit olivat puroissa 13.6.2011–3.11.2011 (kylmä puro) ja 13.6.2011–7.11.2011 (lämmin puro).

Näytteenottokertojen välisiä keskiarvoeroja glokidium-toukkien lukumäärissä analysoitiin kovarianssianalyysillä (ANCOVA) käyttäen PASW Statistics –tilasto-ohjelmaa (versio: 19.0.0) siten, että näytteenottokerta oli faktorina ja kalan pituus kovariaattina. Varianssianalyysin oletusten täyttämiseksi kalakohtaisille glokidium-määrille tehtiin muuttujamuunnos ($\text{Log}_{10}(\text{toukkamäärä}+1)$). Jos varianssianalyysin oletukset eivät täytyneet muunnoksesta huolimatta, vertailtiin toukkamäärien eroja eri näytteenottokertojen välillä ei-parametrisella Mann–Whitney U-testillä.

Glokidium-toukkien pituuksien keskiarvoeroja näytteenottokerroittain analysoitiin varianssianalyysillä (2-ANOVA) käyttäen näytteenottokertaa faktorina ja populaatiota satunnaisena faktorina. Populaatio on satunnaisena faktorina, koska tarkoituksena on yleistää saatuja tuloksia koskemaan muitakin populaatioita. Näytteenottokerrat ovat faktoreina, koska kiinnostuksen kohteena ovat ainoastaan kyseiset päivämäärät. Tilastoyksikkönä käytettiin kalakohtaista toukkapituuksien keskiarvoa, jolle tehtiin ennen analyysiä logaritmuunnos, jotta varianssianalyysin oletukset saatiin toteutumaan.

Glokidium-toukkien pituuden suhdetta näytteenottokertaan ja populaatioon testattiin varianssianalyysillä (2-ANOVA) käyttäen näytteenottokertaa ja populaatiota faktoreina. Jos varianssianalyysin oletukset eivät täytyneet vastemuuttujan logaritmuunnoksesta huolimatta, testattiin toukkapituuksien eroja eri näytteenottokertojen välillä ei-parametrisella Mann–Whitney U-testillä.

Kalan pituuden, toukkien pituuksien ja glokidium-määrien välisiä yhteyksiä tutkittiin Spearman-järjestyskorrelaatioanalyysin avulla, koska aineistot eivät kaikilta osin täyttäneet parametrinen testauksen kriteerejä logaritmuunnoksista huolimatta. Työssä on käytetty raakun loisintaa kuvaavia käsitteitä: prevalenssi, abundanssi ja intensiteetti (Taulukko 2) (Bush ym. 1997).

Kalan pituuden vaikutusta glokidium-toukkien pituuteen näytteenottokerroittain tutkittiin yksisuuntaisella varianssianalyysillä (1-ANOVA).

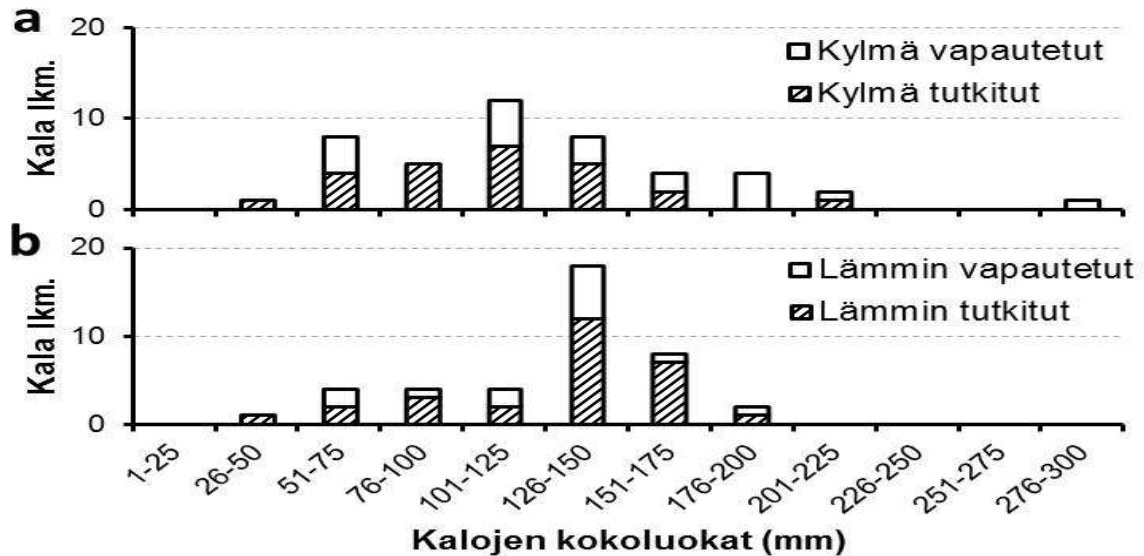
Työssä esitetyt tulokset toukkamäärien ja -pituuksien, lämpötilojen ja kalapituuksien keskiarvoista ovat muodossa keskiarvo \pm keskiarvon keskivirhe, ellei toisin mainita.



Kuva 1. Iijoen valuma-alue (Kuva: Metsähallitus).

Taulukko 1. Tutkittujen taimenten lukumäärät, pituuskeskiarvot ja keskivirheet (S.E.) tutkimuspuroilta. Lisäksi taulukossa on kaikkien sähkökalastettujen taimenten lukumäärät, pituuskeskiarvot ja keskivirheet (S.E.).

Pvm.	Puro	Tutkitut taimenet			Kaikki taimenet		
		n	Pituus (mm)		n	Pituus (mm)	
			Keskiarvo	S.E.		Keskiarvo	S.E.
09.06.2011	Kylmä	5	97,6	13,8	7	110,4	13,3
27.06.2011	Kylmä	4	106,5	9,5	7	132,3	29,7
20.07.2011	Kylmä	5	119,8	19,6	10	135,7	13,1
02.08.2011	Kylmä	5	112,6	28,3	10	132,3	17,1
31.08.2011	Kylmä	4	113,0	14,3	11	106,1	12,0
09.06.2011	Lämmin	4	139,5	10,3	5	139,4	8,0
28.06.2011	Lämmin	5	122,6	15,5	8	130,1	10,0
21.07.2011	Lämmin	5	120,6	23,9	6	115,5	20,2
03.08.2011	Lämmin	4	137,8	11,3	10	120,9	12,7
31.08.2011	Lämmin	5	113,4	19,6	7	124,0	16,7
07.09.2011	Lämmin	4	157,0	8,9	5	152,8	8,1



Kuva 2. Sähkökalastettujen taimenien pituusluokkien jakauma kylmältä puroilta (a) ja lämpimältä puroilta (b). Kala lkm. = kalojen lukumäärä.

Taulukko 2. Loisintaa kuvaavat käsitteet (Bush ym. 1997).

Prevalenssi	=	Loisittujen kalojen osuus otoksessa (loisitut kalat / kaikki kalat %)
Abundanssi	=	Loisinnan runsauden keskiarvo (toukat / otoksen kaikki kalat)
Intensiteetti	=	Loisinnan voimakkuuden keskiarvo (toukat / loisitut kalat)

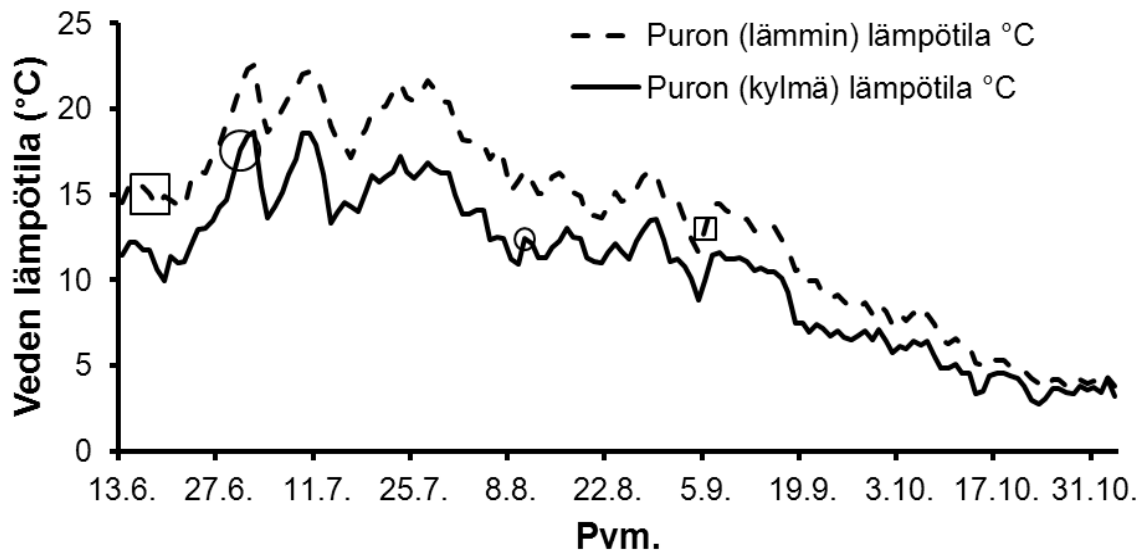
4. TULOKSET

Sähkökalastuskerroilla saaliiksi saatiin taimenia, ahvenia (*Perca fluviatilis* L.), mutuja, kirjoeväsimpluja (*Cottus poecilopus* L.), haukia (*Esox lucius* L.), mateita (*Lota lota* L.), kiiskiä (*Gymnocephalus cernuus* L.) ja harjuksia. Ainoastaan taimenia kerättiin jatkotutkimuksia varten, sillä tutkimuspurojen kalastosta ainoastaan taimenissa loisvaiheen muodonmuutos voisi aikaisempien tutkimusten mukaan onnistua (Wächtler ym. 2001). Taimenet olivat pituudeltaan kylmällä purolla keskimäärin 108,8 mm (keskihajonta $\pm 40,9$ mm) ja lämpimällä purolla 130,6 mm (keskihajonta $\pm 35,1$ mm).

Tutkimuskohteista kylmän puron vesi oli koko tutkimusjakson (13.6.–7.9.2011) aikana viileämpää verrattuna lämpimän puron veteen (Taulukko 3, Kuva 3).

Taulukko 3. Tutkimuspurojen sähkökalastusjakson (SK) veden lämpötilojen keskiarvot (Ka.), keskivirheet (S.E.), maksimilämpötilat (Max.) ja päivämäärä (Pvm.), minimilämpötilat (Min.) ja päivämäärä (Pvm.) ja lämpösomma (Lämpösomma (°C)). Tiedot on esitetty myös koko lämpötilamittauksen ajalta (LM).

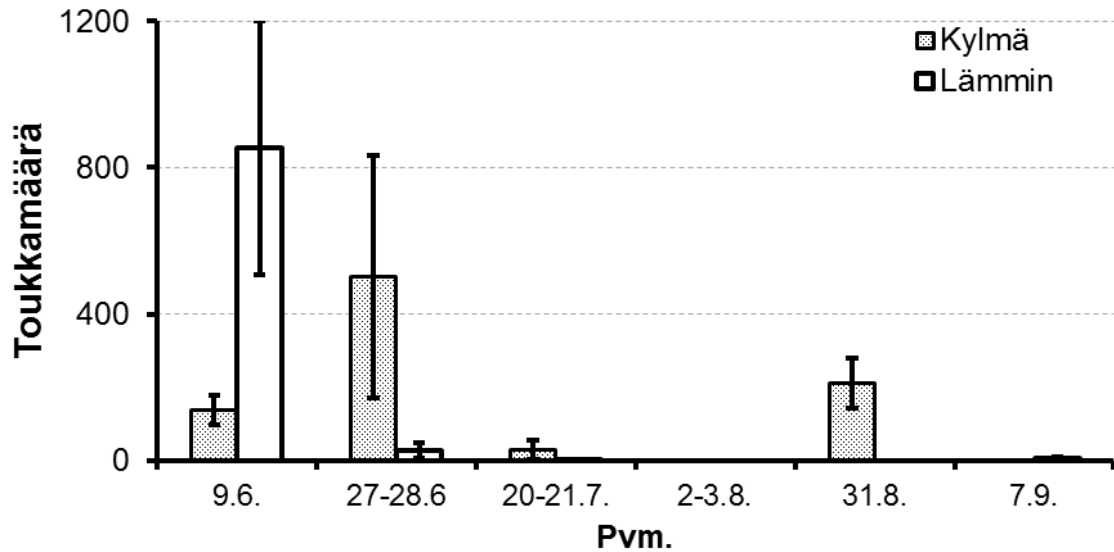
Ajanjakso	Puro	Veden lämpötila (°C)						
		Ka.	S.E.	Max.	Pvm.	Min.	Pvm.	Lämpösomma (°C)
13.06.–07.09. (SK)	Kylmä	13,5	0,3	20,5	09.07.	7,9	04.09.	1178
13.06.–07.09. (SK)	Lämmin	17,3	0,4	24,3	01.07.	10,1	04.09.	1504
13.06.–03.11. (LM)	Kylmä	10,6	0,4			2,5	24.10.	1525
13.06.–03.11. (LM)	Lämmin	13,5	0,5			3,4	24.10.	1941



Kuva 3. Tutkimuspurojen veden lämpötilan vuorokausikeskiarvon kehitys ajanjaksolla 13.6.–3.11.2011. Lämpimän puron lämpötiläkäyrässä oleva suurempi neliö kuvaa arvioitua toukkien pudottautumisajankohtaa ja pienempi neliö uusien toukkien arvioitua tarttumisaikajankohtaa. Vastaavat elinkierron ajankohdat ovat kylmän puron lämpötiläkäyrässä erikokoisilla ympyröillä. Lämpötila-anturit poistettiin kylmältä puroilta 3.11.2011.

4.1. Glokidium-toukkamäärät tutkimuspurojen taimenissa

Kylmän puron taimenissa toukkamäärien keskiarvo oli 137 kpl tutkimuksen ensimmäisenä sähkökalastuspäivänä 9.6.2011 (Kuva 4, Taulukko 4). Lämpimässä purossa vastaavasti toukkamäärien keskiarvo oli kyseisellä näytteenotokerralla 853 kpl. Seuraavana tutkimuskertana (27./28.6.2011) kylmän puron toukkamäärän keskiarvo oli 502 kpl kun taas lämpimällä purolla glokidium-toukkia oli jo vähemmän, keskiarvon ollessa 26 toukkaa. Elokuun alussa molempien purojen kaloista olivat kaikki edellisessä tarttuneet toukat pudottautuneet. Uudet toukat tulivat kylmällä purolla kaloihin elokuun aikana ja lämpimällä purolla syyskuun ensimmäisellä viikolla (Taulukko 4).



Kuva 4. Raakun glokidium-määrien keskiarvot ja niiden keskivirheet tutkimuspuroilta sähkökalastetuissa taimenissa.

Taulukko 4. Kalakohtaiset glokidium-toukkamäärät tutkimuspäivinä. Sähkökalastukset lopetettiin kun uudet toukat olivat tarttuneet kaloihin. Otoksen loisittujen kalojen määrä on n (loisittu) ja otoksessa olleiden kalojen määrä on n (kalat). Taulukossa lisäksi loisinnan abundanssi (Abund.) eli otoksen kaloissa olevien loisten määrä/otoksen kalojen määrä. Loisinnan intensiteetti (Intens.) on otoksen loisten määrä/otoksen loisittujen kalojen määrä.

Pvm.	Puro	Kala1	Kala2	Kala3	Kala4	Kala5	n (loisittu)	Abund.	Intens.	n (kalat)
09.06.2011	Kylmä	241	176	165	105	0	4	137,4	171,8	5
27.06.2011	Kylmä	1460	406	126	16	-	4	502,0	502,0	4
20.07.2011	Kylmä	128	11	6	0	0	3	29,0	48,3	5
02.08.2011	Kylmä	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	5
31.08.2011	Kylmä	329	265	235	16	-	4	211,3	211,3	4
09.06.2011	Lämmin	1674	1112	558	67	-	4	852,8	852,8	4
28.06.2011	Lämmin	108	19	3	1	0	4	26,2	32,8	5
21.07.2011	Lämmin	1	1	0	0	0	2	0,4	1,0	5
03.08.2011	Lämmin	0	0	0	0	-	0	0,0	0,0	4
31.08.2011	Lämmin	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	5
07.09.2011	Lämmin	12	8	2	0	-	3	5,5	7,3	4

4.2. Glokidium-toukkamäärien ajallinen vaihtelu

Ei-parametrisen Mann–Whitney-testin tulosten mukaan glokidium-toukkien lukumäärien välinen ero ei ollut kylmässä purossa tilastollisesti merkitsevä kahden ensimmäisen näytteenottokerran (9.6. ja 27.6.) välillä (Taulukko 5). Koska kesäkuun näytteiden välillä ei ollut eroa, analysointia jatkettiin yhdistämällä kyseisten kahden ensimmäisen näytteenottokerran näytteet ja vertaamalla niiden keskimääräistä toukkamäärää kolmannen näytteenottokerran (20.7.) tilanteeseen. Yhdistetty aineisto 9.6. ja 27.6. täyttivät kovarianssianalyysin oletukset ja analysointia jatkettiin siten ANCOVA-

testillä. ANCOVA-testin tulokset kertoivat kylmän puron glokidium-määrien olevan tilastollisesti merkitsevästi alhaisemmat 20.7. kalastetuissa kaloissa verrattuna kesäkuun tilanteeseen (Taulukko 6). Sen sijaan glokidium-määrien ero heinäkuun lopulta elokuun alkuun, jolloin lukumäärät putosivat nolnaan, ei kylmässä purossa ollut enää tilastollisesti merkitsevä (Taulukko 5). Voidaan siis sanoa glokidium-toukkien kypsymisen ja irrottautumisen taimenten kiduksilta ajoittuneen kylmässä purossa pääasiassa 27.6. ja 20.7. välille. Uudet glokidium-toukat löytyivät kylmän puron taimenten kiduksilta 31.8. Toukkamäärien erot ajankohtien 2.8. ja 31.8. välillä oli kylmässä purossa tilastollisesti merkitsevä (Taulukko 5). Glokidium-toukkien parveilu raakuista ja taimenten infektoituminen uusilla glokidium-toukilla tapahtui kylmässä purossa siis 2.8. ja 31.8. välisenä aikana.

Taulukko 5. Kylmän tutkimuspuron taimenten toukkamäärien vertailut tutkimuspäivien välillä. ANCOVA-testin oletukset eivät täyttyneet 9.6.2011, joten kyseisen vuorokauden ja 27.6.2011 välistä eroa on testattu Mann–Whitney-testillä. Samoin toimittiin myös 20.7./2.8.-välillä ja 2.8./31.8.-välillä. ANCOVA-testeissä kalan pituus on tutkimuspäivien vertailussa kovariaattina.

Pvm.	Puro	Mann–Whitney		ANCOVA					n (kalat)
		U	P	Tutkimuspäivä		Kalan pituus		Levene	
				F	P	F	P	P	
09.06.2011	Kylmä								5
27.06.2011	Kylmä	7,000	0,556						4
20.07.2011	Kylmä			7,988	0,030	1,395	0,282	0,738	5
02.08.2011	Kylmä	5,000	0,151						5
31.08.2011	Kylmä	< 0,001	0,016						4

Taulukko 6. Kylmän tutkimuspuron kalojen glokidium-toukkamäärien vertailut tutkimuspäivien välillä. Taulukossa on yhdistetty 9.6.2011 ja 27.6.2011, koska niiden välillä ei ollut eroa Mann–Whitney-testin perusteella (Taulukko 5). Yhdistettyjen tutkimuspäivien toukkamäärät olivat normaalijakautuneita $P = 0,124$. Kalan pituus on tutkimuspäivien vertailussa kovariaattina.

Pvm.	Puro	ANCOVA						n (kalat)
		Tutkimuspäivä		Kalan pituus		Levene		
		F	P	F	P	P		
09.06 ja 27.06.2011	Kylmä							9
20.07.2011	Kylmä	8,545	0,014	2,834	0,120	0,993		5

Lämpimän puron ANCOVA-testien mukaan toukkamäärien erot ajankohtien 9.6. ja 28.6. välillä olivat tilastollisesti merkitsevät (Taulukko 7). Kovariaattina käytetyn kalan pituuden vaikutus glokidium-määriin ei ollut merkitsevä. Sen sijaan glokidium-määrien erot ajankohtien 28.6. ja 21.7. välillä eivät olleet lämpimässä purossa enää merkitsevät. Glokidium-toukkien kypsymisen ja irrottautumisen taimenten kiduksilta voidaan sanoa ajoittuneen lämpimässä purossa siis pääasiassa aikavälille 9.6. ja 28.6. Kaloissa ei ollut glokidium-toukkia 3.8. eikä 31.8. kerätyissä näytteissä. Toukkamäärien erot ajankohtien 31.8. ja 7.9. välillä olivat lämpimässä purossa tilastollisesti merkitsevät. Glokidium-toukkien parveilu raakuista ja taimenten infektoituminen uusilla glokidium-toukilla tapahtui lämpimässä purossa siis 31.8. ja 7.9. välisenä aikana.

Taulukko 7. Lämpimän tutkimuspuron kalojen toukkamäärien vertailut tutkimuspäivien välillä käyttäen ANCOVA-testiä. 21.7. ja 31.8. väliseen vertailun toukkia oli liian vähän. Kalan pituus on tutkimuspäivien vertailussa kovariaattina. Tutkimuspäivien 31.8. ja 7.9. välisen Mann–Whitney-testin p-arvon laskemiseen on sovellettu yksisuuntaista merkitsevyyttä oletuksella, että tässä vaiheessa kesää glokidium-määrät voivat kaloissa ainoastaan nousta.

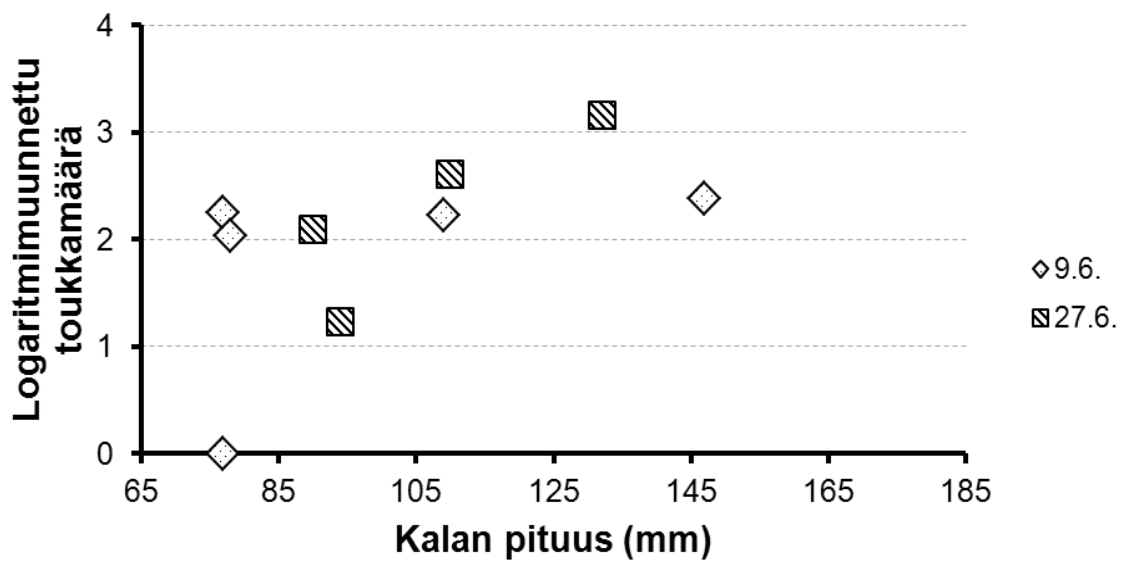
Pvm.	Puro	Mann–Whitney		ANCOVA					n (kalat)
		U	P	Tutkimuspäivä		Kalan pituus		Levene	
				F	P	F	P	P	
09.06.2011	Lämmin								4
28.06.2011	Lämmin	4,500	0,095	13,654	0,010	0,586	0,473	0,653	5
21.07.2011	Lämmin	-	-						5
31.08.2011	Lämmin	2,500	0,032						5
07.09.2011	Lämmin								4

4.3. Glokidium-toukkamäärien riippuvuus kalan pituudesta

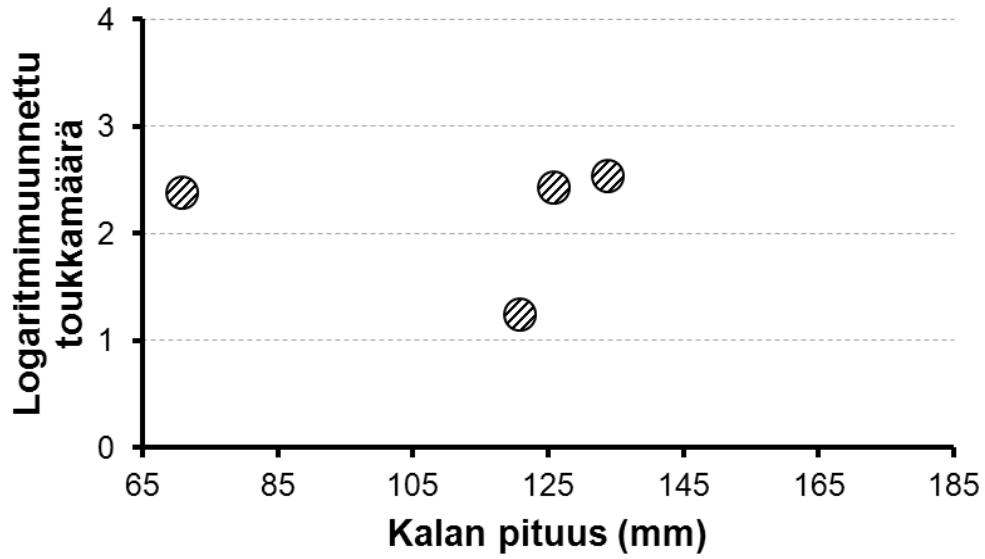
Toukkamäärän riippuvuutta kalan pituudesta testattaessa näytteenotokerrat 9.6. ja 27.6. yhdistettiin kylmän puron osalta, koska niiden välillä ei ollut eroa toukkamäärissä Mann–Whitney-testin perusteella (Taulukko 5) eikä kalojen pituuksissa (Kuva 5; Mann–Whitney U-test, $U = 6,000$, $p = 0,413$). Lisäksi kylmän puron osalta jätettiin tarkastelusta pois ajankohdat 20.7. ja 2.8., jolloin glokidium-toukkia oli liian harvoissa taimenissa korrelaatioanalyysia ajatellen tai ei ollenkaan. Yhdistetyssä 9.6. ja 27.6. aineistossa korrelaatio oli tilastollisesti merkitsevä. –toukkamäärä kasvoi pituuden kasvaessa (Taulukko 8, Kuva 5). Näytteenotokerralla 31.8. glokidium-määrän ja kalan pituuden välillä ei havaittu riippuvuutta (Taulukko 8, Kuva 6). Lämpimässä purossa ainoa merkitsevä toukkamäärien yhteys kalojen pituuteen oli negatiivinen korrelaatio 7.9. näytteessä (Taulukko 8, Kuvat 7 ja 8).

Taulukko 8. Tutkimuspurojen toukkamäärien ja kalojen pituuksien välinen Spearman-järjestyskorrelaatio. Kylmän puron toukkamäärät 9.6 ja 27.6 on yhdistetty, koska niiden välillä ei ollut eroa toukkien lukumäärässä eikä kalojen pituuksissa. Merkitsevyys arvo P (2-suunt.) tarkoittaa kaksisuuntaista merkitsevyyttä (ei tiedetä onko korrelaatio positiivista vai negatiivista).

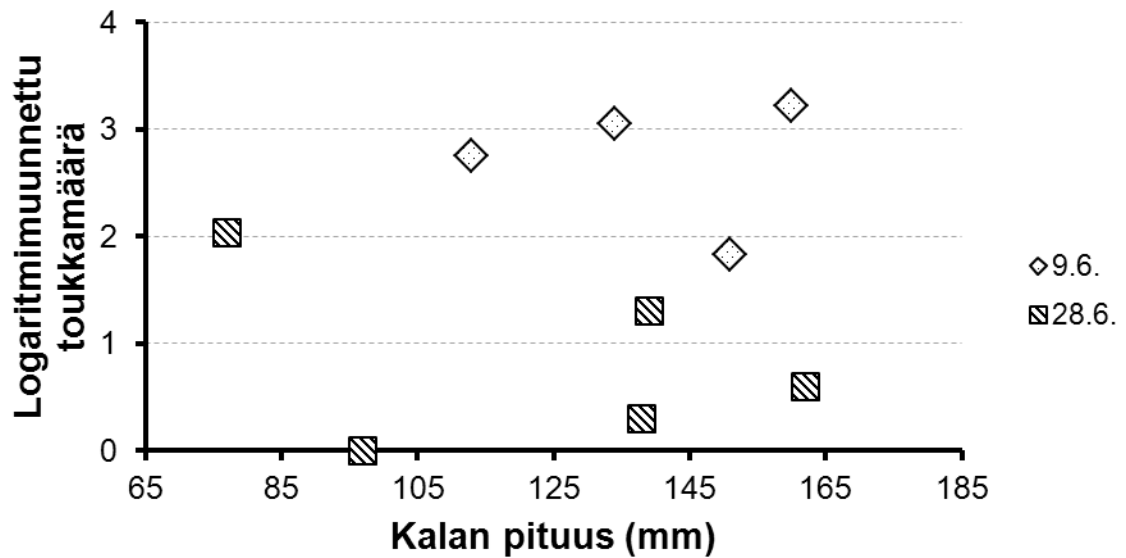
Pvm.	Puro	Korrelaatiokerroin	P (2-suunt.)	n (kalat)
09. ja 27.06.	Kylmä	0,695	0,038	9
31.08.2011	Kylmä	0,800	0,200	4
09.06.2011	Lämmin	0,400	0,600	4
28.06.2011	Lämmin	-0,100	0,873	5
07.09.2011	Lämmin	-1,000	<0,001	4



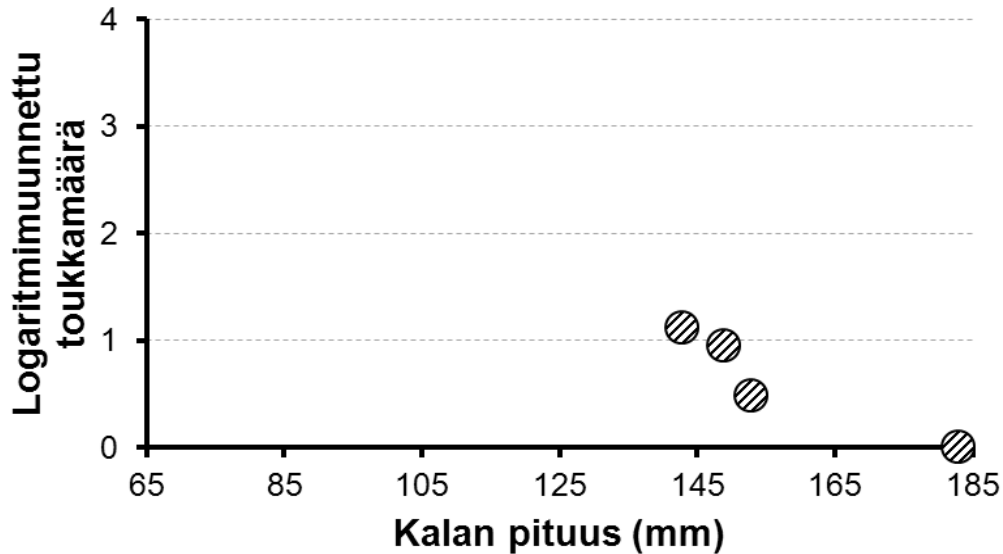
Kuva 5. Logaritmuunnetut toukkamäärät suhteessa taimenten pituuteen kylmässä purosäilytyksenäytteenottoerillä 9.6. ja 27.6. (20.7. ja 2.8. näytteet jätetty pois, koska silloin kalojen toukkamäärät olivat joko selvästi vähentyneet tai kaloissa ei ollut lainkaan glökidium-toukkia).



Kuva 6. Kylmän puron logaritmuunnettu glokidium-toukkamäärä 31.8. suhteutettuna kalan pituuteen.



Kuva 7. Logaritmuunnetut toukkamäärät suhteessa taimenten pituuteen lämpimässä purossa eri näytteenottoaikoilla 9.6. ja 28.6. (21.7., 3.8. ja 31.8. näytteet on jätetty pois, koska silloin kaloissa oli glokidium-toukkia erittäin vähän tai ei ollenkaan).



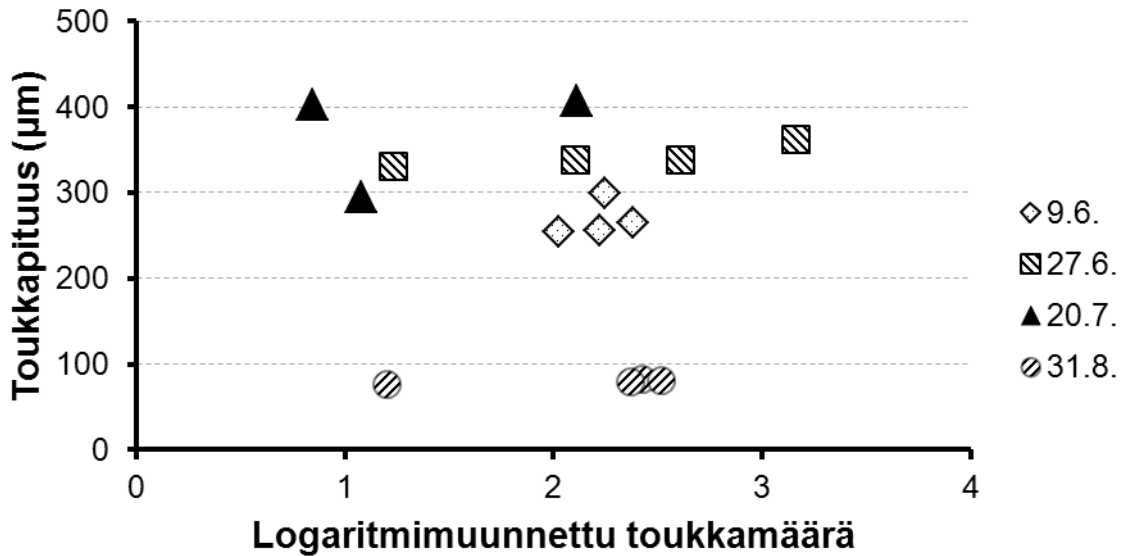
Kuva 8. Logaritmuunnetut toukkamäärät suhteessa taimenten pituuteen lämpimässä purossa 7.9.

4.4. Glokidium-toukkamäärän ja toukkien pituuden välinen riippuvuus

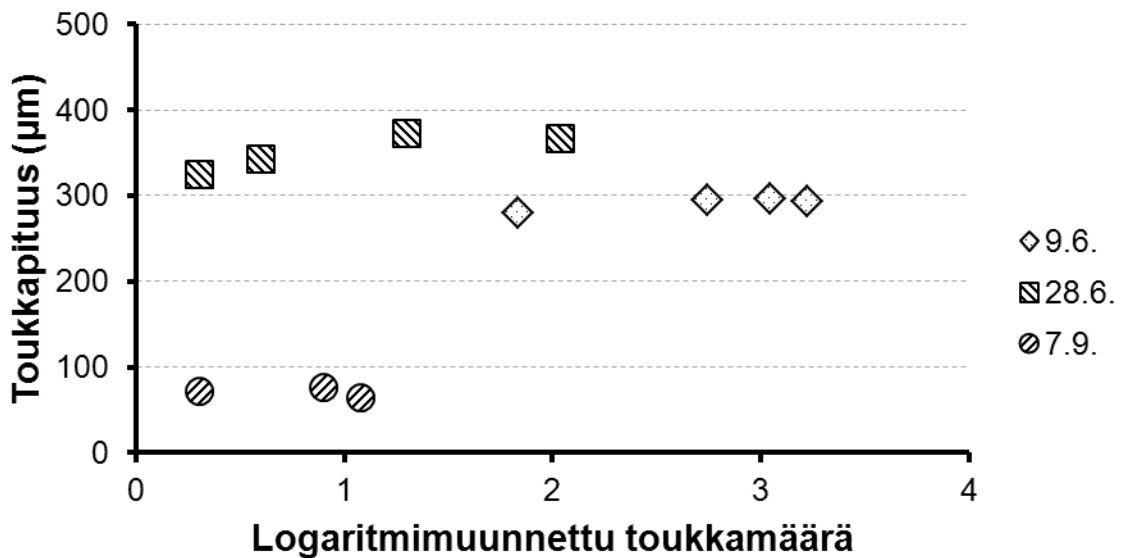
Tutkittaessa glokidium-toukkien pituuden yhteyttä toukkamäärään korrelaatiokerroin oli kylmässä purossa kaikilla näytteenottokerroilla positiivinen, muttei muuttujien välillä ollut merkitsevää yhteyttä (Kuva 9, Taulukko 9). Kylmän puron 27.6. näytteessä muuttujien välinen yhteys oli lähes tilastollisesti merkitsevä. Lämpimässä purossa korrelaatio oli myös yhtä tutkimuspäivää (7.9.) lukuun ottamatta kaikilla näytteenottokerroilla positiivinen, mutta korrelaatiot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä (Taulukko 9, Kuva 10). Muuttujien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää yhteyttä ja tämä on todettavissa kuvistakin (Kuvat 9 ja 10).

Taulukko 9. Tutkimuspurojen kalakohtaisten toukkamäärien ja toukkien pituuksien Spearman-korrelaatiot. Merkitsevyys arvo P (2-suunt.) tarkoittaa kaksisuuntaista merkitsevyyttä (ei tiedetä onko korrelaatio positiivista vai negatiivista).

Pvm.	Puro	Korrelaatio	P (2-suunt.)	n (kalat)	n (toukat)
09.06.2011	Kylmä	0,800	0,200	4	40
27.06.2011	Kylmä	0,949	0,051	4	41
20.07.2011	Kylmä	0,500	0,667	3	26
31.08.2011	Kylmä	0,800	0,200	4	50
09.06.2011	Lämmin	0,400	0,600	4	38
28.06.2011	Lämmin	0,800	0,200	4	25
07.09.2011	Lämmin	-0,500	0,667	3	21



Kuva 9. Kylmän puron kalakohtaiset glokidium-toukkien keskipituudet suhteessa logaritmuunnettuihin toukkalukumääriin eri näytteenottokerroilla.



Kuva 10. Lämpimän puron kalakohtaiset glokidium-toukkien pituudet suhteessa logaritmuunnettuihin toukkalukumääriin eri näytteenottokerroilla. Äärimmäisenä vasemmalla oleva arvopiste (28.6.) on yksittäinen toukka.

4.5. Glokidium-toukkien kasvun ajallinen kehitys

Kesän alussa 9.6. kylmemmän puron glokidium-toukkien keskipituus oli 268 µm ja lämpimämmässä purossa 291 µm (Kuva 11). Kylmemmän puron taimenissa loisineet toukat ovat pudottautuneet sedimenttiin viimeistään heinäkuun lopussa, jolloin ne ovat olleet pituudeltaan n. 360 µm ja lämpimämmällä purolla viimeistään heinäkuun loppupuoliskolla, jolloin ne olivat pituudeltaan n. 460 µm, tosin toukkia oli vain kahdessa kalassa, molemmissa vain 1 kpl. Kun uudet toukat havaittiin kaloissa, ne olivat lämpimässä purossa (7.9.) pituudeltaan n. 70 µm. Kylmän puron taimenista toukkia tavattiin ensimmäisen kerran 31.8. ja toukat olivat pituudeltaan n. 80 µm.

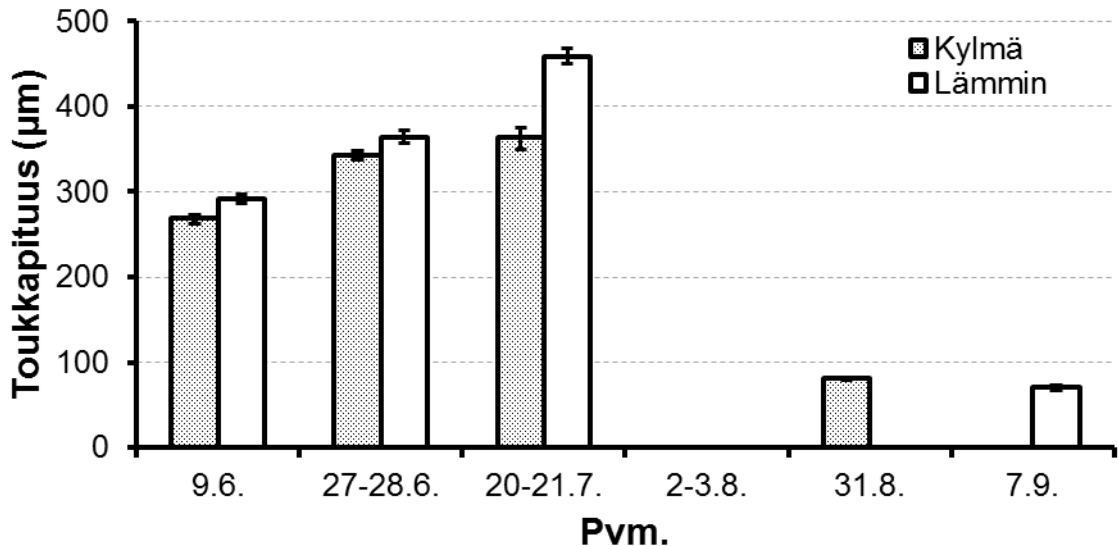
Analysoitaessa toukkien pituuden suhdetta näytteenottokertoihin kalan pituutta ei käytetty kovariaattina, koska sekä kalan, että toukan koko kasvaa kesän kuluessa. Lisäksi millään näytteenottokerralla toukkien ja kalojen pituuden korrelaatio ei ollut tilastollisesti merkitsevä, mikä viittaa siihen, ettei kalan pituuden vaikutusta ole tarvetta ottaa analyysiin kovariaatiksi.

Kylmällä purolla näytteenottokerrat 9.6. ja 27.6. erosivat toisistaan toukkapituuden suhteen tilastollisesti merkitsevästi (Mann-Whitney U-testi, $U < 0,001$, $Z = -2,460$, $p = 0,014$). Myös tutkimuspäivät 9.6. ja 20.7. erosivat toisistaan toukkapituuksien suhteen tilastollisesti merkitsevästi (Mann-Whitney U-testi, $U < 0,001$, $Z = 2,121$, $p = 0,034$). 27.6. ja 20.7. sen sijaan eivät eronneet toisistaan toukkapituuksien suhteen (Mann-Whitney U-testi, $U = 5,000$, $Z = -0,750$, $p = 0,453$). Kylmällä purolla toukkien pituudet siis kasvoivat kesäkuun aikana, mutta eivät enää heinäkuun aikana.

Lämpimältä purolta otettiin toukkien kokotarkasteluun mukaan vain näytteenottokerrat 9.6. ja 28.6., koska 21.7. näytteessä ainoastaan kaksi kalaa oli loisittu. Varianssianalyysi logaritimuunnetuilla toukkapituuksilla (näytteenottokerrat faktoreina) osoitti, että tutkimuspäivät 9.6. ja 28.6. erosivat tilastollisesti merkitsevästi (2-ANOVA, $F_{1,6} = 28,778$, $p = 0,002$) eli myös lämpimällä purolla toukkien pituudet kaloissa kasvoivat kesäkuun aikana.

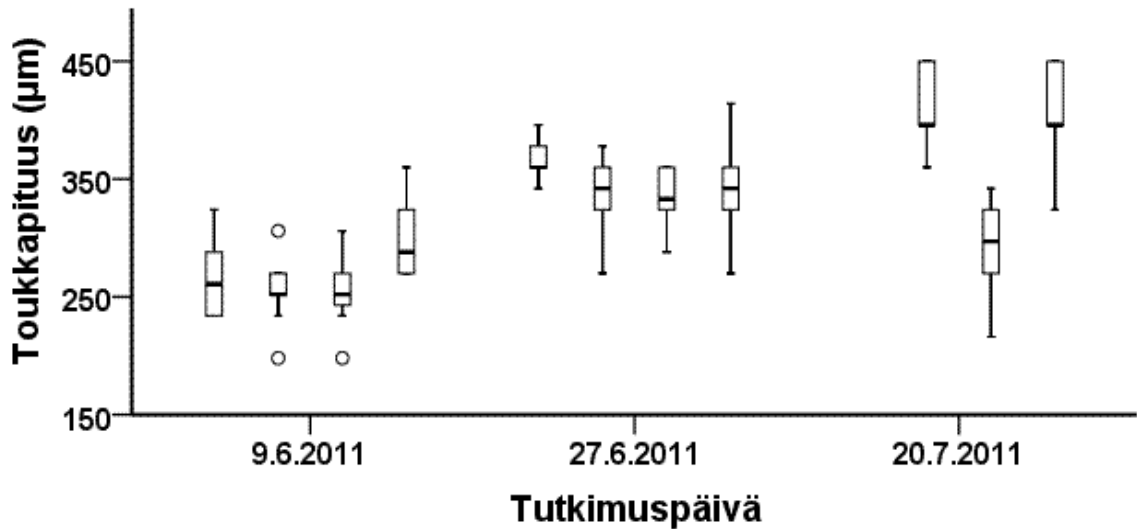
Vertailtaessa populaatioita keskenään näytteenottokerroilla 9.6. ja 27/28.6., varianssianalyysi logaritimuunnetuilla toukkapituuksilla kertoi molempien päävaikutusten 'näytteenottokerta' ja 'populaatio' olevan tilastollisesti merkitseviä ('näytteenottokerta': 2-ANOVA, $F_{1,13} = 151,22$, $p < 0,001$; 'populaatio': 2-ANOVA, $F_{1,13} = 14,622$, $p = 0,002$). Myös näytteenottokerran ja populaation välinen yhdysvaikutus oli merkitsevä (2-ANOVA, $F_{1,13} = 6,494$, $p = 0,024$).

Syytä näytteenottokerran ja populaation väliseen yhdysvaikutukseen tutkittiin erikseen lämpimällä ja kylmällä purolla. Näytteenottokerran 9.6. populaatioiden välillä oli tilastollisesti merkitsevä ero (2-ANOVA, $F_{1,6} = 51,070$, $p < 0,001$). Seuraavalla näytteenottokerralla 27/28.6. populaatioiden välillä ei ollut eroa (2-ANOVA, $F_{1,7} = 0,604$, $p = 0,462$). Tulos viittaa siihen, että kylmän puron glokidium-toukat ovat kesäkuun alussa pienempiä kuin lämpimän puron toukat, mutta pituusero häviää kesäkuun loppuun mennessä (Kuva 11).

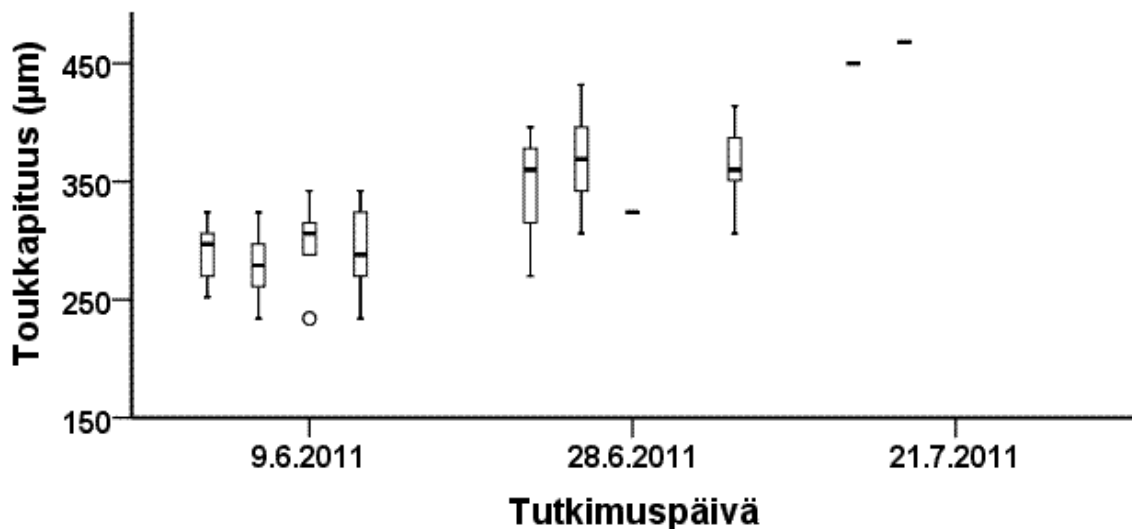


Kuva 11. Toukkien pituuskeskiarvot ja niiden keskivirheet tutkimuspuroilla. Toukkapituuksien keskiarvo on keskiarvo kalakohtaisten toukkapituuksien keskiarvoista.

Eri taimenyksilöiden toukkien keskiarvopituuksissa tutkimuspäivien sisällä on mielenkiintoisia eroja (Kuvat 12 ja 13). Tarkasteluun otettiin ainoastaan alkukesän näytteenottokerrat (vanhat toukat), koska niihin on ehtinyt muodostua kalojen välisiä eroja toukkien pituudessa 10-11 kk loisintavaiheen aikana, ja koska käytettävissä ollut mittasteikon mittatarkkuus ei ollut riittävä paljastamaan eroja loppukesän näytteiden osalta (uudet toukat kaikki hyvin pieniä). Erot toukkapituuksissa näkyvät kylmän puron osalta (Kuva 12) 9.6. (4. kala, suuremmat toukat), 27.6. (1. kala, suuremmat toukat) ja reilu toukkien pitusero muiden kalojen toukkiin 20.7. (2. kala, pienemmät toukat). Yksisuuntaisen varianssianalyysin mukaan kylmän puron kalapituuden vaikutus toukkapituuteen on tilastollisesti merkitsevä 9.6. (1-ANOVA, $F_{3, 36} = 5,245$, $p = 0,004$). Seuraavana tutkimuspäivänä (27.6.) yhteys ei ollut tilastollisesti merkitsevä (1-ANOVA, $F_{3, 36} = 1,789$, $p = 0,167$). 20.7. yhteys oli tilastollisesti merkitsevä (1-ANOVA, $F_{2, 23} = 24,840$, $p < 0,001$). Lämpimällä purolla toukkakokojen erot eivät ole selkeästi havaittavissa (Kuva 13), eivätkä ne sitä olleet varianssianalyysinkään mukaan (9.6.; 1-ANOVA, $F_{3, 34} = 0,560$, $p = 0,645$) ja (28.6.; 1-ANOVA, $F_{3, 21} = 0,813$, $p = 0,501$). Tutkimuspäivänä 21.7. lämpimällä purolla oli ainoastaan yksi toukka kahdessa kalassa (Kuva 13, yksittäiset havainnot).



Kuva 12. Kylmän puron viiksilaatikkokuvio kalakohtaisista glokidium-toukkien pituuksista 9.6., 27.6. ja 20.7. Loppukesän näytteenottokerta (uudet toukat) on jätetty pois mittaokulaarin mittatarkkuuden takia. Laatikoiden sisällä olevat viivat kuvaavat havaintoarvojen mediaaniarvoja. Laatikoiden ylä- ja alareunat kuvaavat 25 % ja 75 % kvartaaleja ja viiksien päät minimi- ja maksimiarvoja. Kuvassa olevat yksittäiset ympyrät ovat poikkeavia arvoja (outliers). Kalat on laitettu tutkimuspäivittäin pituusjärjestykseen, eli kunkin ryhmän vasemmanpuoleisin kala on tutkimuspäivän suurin loisittu taimen.



Kuva 13. Lämpimän puron viiksilaatikkokuvio kalakohtaisista glokidium-toukkien pituuksista 9.6., 28.6. ja 21.7. Loppukesän näytteenottokerta (uudet toukat) on jätetty pois mittaokulaarin mittatarkkuuden takia. Kuvassa olevat yksittäiset ympyrät ovat poikkeavia arvoja ja yksittäiset pisteet ovat yksittäisiä havaintoja. Kalat on laitettu tutkimuspäivittäin pituusjärjestykseen, eli kunkin ryhmän vasemmanpuoleisin kala on tutkimuspäivän suurin loisittu taimen.

5. TULOSTEN TARKASTELU

Raakun glokidium-toukkien irtoaminen isäntäkaloista ajoittui kylmällä purolla pääasiassa välille 27.6.–20.7., sillä 20.7.–2.8.2011 kaloista löydettiin enää yksittäisiä

toukkia. Lämpimällä purolla toukkamäärän lasku alkoi jo 9.6.–28.6. Veden lämpötila oli kylmällä purolla yli 15 °C viiden vuorokauden ajan aikavälillä 29.6.–3.7. Toukkien pudottautuminen kaloista lienee alkanut kyseisenä ajanjaksona, koska aikaisemmissa tutkimuksissa on havaittu pudottautumisen ajoittuvan ajanjaksoon jolloin lämpötila on ”pysyvästi” yli 15 °C (Hruška 1992). Lämpimällä purolla vastaava ajanjakso koitti neljän vuorokauden ajaksi aikavälillä 14.6.–17.6., joten voitaneen sanoa toukkien pudottautumisen ehkä alkaneen lämpimällä purolla n. kahta viikkoa aikaisemmin kuin kylmällä purolla. Tätä tukee myös loisinnan abundanssin kehitys tutkimuspuroilla. Kylmällä purolla toukkia oli kaikissa 27.6. sähkökalastetuissa taimenissa abundanssin ollessa useita satoja. Lämpimän puron loisituissa kaloissa oli 28.6. enää keskimäärin vajaat 30 toukkaa. Mielenkiintoista on se, että ensimmäisenä tutkimuspäivänä (9.6.) lämpimässä purossa oli kalakohtaisesti n. kuusinkertainen määrä toukkia verrattuna kylmän puron taimeniin. Tosin tutkimuksessa käytetyt kalamäärät olivat pieniä, eli tarkkoja johtopäätöksiä ei voida tehdä. Toisaalta tutkimuspurojen raakkukantojen yksilömääristä, eikä lisääntyvien yksilöiden osuustista ole tietoa.

Toukkien elämänkierron muutos loisivaiheesta juveniiliksi raakuksi saattaa olla myös seurausta kalan tehostuneesta immuunipuolustuksesta korkeammassa lämpötilassa. Toukat saattavatkin tulla pudotetuiksi, eivätkä pudotaudu omasta aloitteestaan, kuten oli havaittu *Anodonta suborbiculata* -simpukkalajilla tehdyssä tutkimuksessa (Roberts & Barnhart 1999). Siinä havaittiin, että kalan immuunipuolustus on irtoamisen ajankohdassa tärkeä tekijä (tutkimuskalana oli ollut särkikalojen lahkoon kuuluva pohjoisamerikkalainen *Notemigonus crysoleucas*). Tämä voikin siis päteä myös raakun glokidium-toukkien putoamisajankohtaan siten, että taimenien immuunipuolustus tehostuu saavutettaessa 15 °C ja toukat tulevat pudotetuiksi. Lämpötila vaikuttaa kalan vasta-ainevälitteisen immuniteetin tehokkuuteen (Kortet & Vainikka 2008). Viileässä vedessä se on heikko ja kalan immuniteetista vastaa silloin kalan luontainen, kudospöytäinen puolustusjärjestelmä (Kortet & Vainikka 2008). Alcorn ym. (2002) ovat testanneet kahden eri lämpötilan (8 °C ja 12 °C) vaikutusta punalohen (*Oncorhynchus nerka*) immuniteetin tehokkuuteen. Tutkimuksessa havaittiin, että lämpimämmässä vedessä immuniteetti on tehokkaampi. Tehdyssä tutkimuksessa epäiltiin, että kudospöytäinen immuniteetti torjuu taudinaiheuttajia viileämmässä vedessä ja vasta-ainevälitteinen immuniteetti lämpimämmässä vedessä.

Lämpimällä purolla uusien toukkien pituus 7.9. viittaa niiden tarttuneen kaloihin todennäköisesti tutkimuspäivää edeltävän viikon aikana. Lämpimällä purolla toukkien parveilu on tapahtunut siis välillä 31.8.–7.9. Kylmän puron taimenista toukkia tavattiin kiduksilla 31.8. ja toukat olivat tarttuneet kaloihin 2.8.–31.8. välisenä aikana. Toukkien suuri koko viittaa infektoitumisen tapahtuneen jo elokuun alkupuoliskolla. Lämpimällä purolla toukat ovat todennäköisesti tarttuneet 3.9.–5.9., jolloin lämpötilat olivat alle 13 °C kolmen vuorokauden ajan. Jos tämän ajatellaan toimineen laukaisevana tekijänä, voidaan ajankohdan veden lämpötiloja verrata kylmän puron vastaaviin. Siellä lämpötila oli alle 13 °C 11 vuorokauden ajan aikavälillä 5.8.–15.8. Kylmällä purolla uudet toukat ovat saattaneet tulla raakuista kaloihin siten jo elokuun alkupuoliskolla. Toukat voivat parveilla myös hetkellisen veden viilenemisen vaikutuksesta. Lämpimällä purolla veden lämpötila oli 10.1 °C (4.9. klo 6) ja uudet toukat havaittiin 3 vuorokautta myöhemmin. Kylmällä purolla lämpötila oli 9,8 °C (9.8. klo 6). Yhdysvaltojen Oregonin Siletz-joella havaittiin, että raakkunaarat vapauttivat toukkansa aikavälillä 13.5.–15.6. lämpötilan ollessa ajanjaksolla 13.6 °C (Karna & Millemann 1978), mutta verrattuna Iijoen tapahtuneeseen lämpötilakehitykseen lämpötila Siletz-joella oli toukkaparveilun ajanjaksolla nouseva. Hastie & Young (2003) tutkivat toukkien parveiluajankohtaa Kerry-joella vuosina 1993–2002 ja arvioivat toukkien vapautusajankohtien vaihdelleen välillä 28.6.–21.7. Artikkelissa

olevasta kuvasta arvioituna parveiluajankohdat ajoittuivat vuosittain ajankohtaan, jossa vesi oli keskimäärin minimilämpötilaltaan n. 14 °C, kuitenkin vähintään 10 °C. Lämpötila ei kuitenkaan saata olla ainoa toukkien vapautuksen ajoitukseen vaikuttava tekijä, sillä myös veden korkeuden vaihteluiden on arveltu vaikuttavan uusien toukkien parveiluajankohtiin (Ross 1992, Hastie & Young 2003). Hastie & Young (2003) kertovat Kerry-joella toteutetussa kymmenvuotisessa tutkimuksessa toukkien vapautuksen tapahtuneen joko veden lämpötilan äkillisen muutoksen (yli 2 °C) seurauksena tai/ja veden korkeuden yli 0,1 m muutoksen aiheuttamana. Iijoella tehdyssä tutkimuksessa veden korkeuden vaihtelusta ei kerätty tietoa.

Raakun loisvaihe kesti kylmällä purolla 11–11,5 kk ja lämpimällä n. 10,5 kk, mikäli infektoitumiset ovat tapahtuneet edellisenä vuonnakin samoihin aikoihin. Erot toukkien eriaikaisessa kehitymisessä eri puroissa johtunevat pääasiassa veden lämpötilaeroista. Kylmässä purossa glokidium-toukkien kehittyminen kesti pidempään (irtosivat myöhemmin) ja toukkien erittämisaikajankohta oli aikaisempi. Tämä näkyy lyhyempänä toukattomana ajanjaksona kylmemmässä purossa.

Muiden tutkimusten mukaan muodonmuutos tapahtuu noin 9–11 kk aikana (n. 1350 päiväastetta) (Larsen 2005). Osassa tutkimuksista kerrotaan parasiittivaiheen kestosta kuukausina, mutta nykytietämyksen mukaan ratkaisevassa asemassa toukkien vapauttamisaikajankohtaan on ns. päiväastesumma (Hastie & Young 2003). Iijoella tapahtuneessa tutkimuksessa lämpötilaseuranta ei ollut riittävän pitkä, jotta päiväastesummia voisi verrata. Ziuganov (2005a) kertoo parasiittivaiheen kestävän Pohjois-Euroopan kylmissä puroissa n. 300–350 vuorokautta. Päiväasteita muodonmuutokseen tarvitaan hänen mukaansa n. 1500. Bauer (1994) kirjoittaa päiväasteita tarvittavan laboratorio-oloissa n. 1600. Ensimmäisessä onnistuneessa keinotekoisessa juveniilien raakkujen viljelyssä vaadittiin 1245–1267 päiväastetta (Taskinen ym. 2011b). Hruška (1992) havaitsi tutkimuksessaan raakun glokidium-toukan vaativan allaskokeissa 1300–1430 päiväastetta läpikäydäkseen muodonmuutoksen ja toukkien kehitysvauhtia voidaan kontrolloida heti kalojen infektoitumisesta lähtien. Muodonmuutoksen havaittiin vaativan luonnonoloissa (Tšekki, Blanice-joki) 1760–1860 päiväastetta, mutta viimeisten 14–16 vuorokauden aikana veden lämpötilan tuli olla vähintään 15 °C (ajanjakson päiväasteet n. 225) (Hruška 1992). Tutkimuksen mukaan kehitys on alussa jatkuvaa, mutta loisvaiheen loppuvaiheessa (1100 päiväasteen tienoilla) kehitys hidastuu ja toukat ”odottavat” ajanjaksoa, jolloin veden lämpötila on ”pysyvästi” vähintään 15 °C (Hruška 1992). Luttojoella vuonna 2009 toteutetussa tutkimuksessa havaittiin raakun loisvaiheen kestävän noin 11 kuukautta (Ranta 2010). Veden lämpötila oli Rannan tutkimuksessa mitattu jokaisella sähkökalastuskerralla ollen korkeimmillaan 16,9 °C. Luttojoen kaloissa loisivat toukat olivat keväällä (27.5.) pituudeltaan 157 µm, keskihajonta ±13 µm ja ennen toukkien irtoamista (29.7.) 413 µm, keskihajonta ±14 µm (Ranta 2010). Uusi sukupolvi oli havaittu 9.9., mutta sillä kertaa toukkia ei ollut mitattu. Sähkökalastetuista taimenista löydettyjen toukkien pituuskeskiarvo oli näytteenottokertana 22.9. ollut 103 µm, keskihajonta ±9 µm. Tässä tutkimuksessa lämpötilat oli mitattu sähkökalastuskerroittain, joten tutkimuksen päiväastesummista ei ole tietoa. Skotlantilaisella Kerry-joella oli tutkittu glokidium-toukkien parveiluajankohtaa vuosina 1993–2002 ja uudet toukat olivat tarttuneet kaloihin välillä 27.6.–21.7. Pääosa toukista oli kiinnittynyt heinäkuun puolivälissä (Hastie & Young, 2003). Ero glokidium-toukkien parveiluajankohdassa verrattuna Iijoelle on suuri, jopa kaksi kuukautta. Kerry-joen keskimääräinen vuosittainen päiväastesumma oli koejakson aikana ollut 3239. Korkein keskilämpötila Kerry-joella oli ollut elokuun 16,1 °C, joten korkeammasta lämpötilasta Iijoen alueeseen verrattuna Kerry-joen aikainen toukkien eritys ei ainakaan voi johtua.

Skotlantilaisella South Esk-joella havaittiin infektoitumisen tapahtuvan välillä 18.8.–22.8.1997, mikä vastanee melko hyvin Iijoen kylmän tutkimuspuron tilannetta. South Esk-joella vuosittainen keskimääräinen päiväastesumma oli ollut 3098 ja korkein lämpötila heinäkuussa (16,0 °C). Ieshko ym. (2009) kertovat Norjan ja Venäjän rajalla sijaitsevalla Skjellbekken-joella loisvaiheen käsittävän kahdeksan kk jakson. Tekstissä kuitenkin kerrotaan infektoitumisen alkavan elokuussa jatkuen aina seuraavaan kesäkuuhun asti. Mutta Ieshko ym. (2009) kertovat loisintensiteetin olevan suurinta lokakuussa, joten ehkä loisvaihe on laskettu alkavan vasta siitä hetkestä. Tietoni mukaan ei ole julkaistua tutkimusta, jossa olisi tutkittu luonnonoloissa sekä toukkien parveiluajankohtaa, kalojen infektoitumisajankohtaa että juveniilien raakkujen pudottautumisajankohtaa.

Scheder ym. (2011) kertovat, ettei päiväastesumman käyttö luonnonolosuhteissa elävien raakkujen elinkierron tutkimiseen ole erityisen käyttökelpoinen. Veden lämpötila vaihtelee epäsäännöllisin ajoin sääolojen mukaan ja laskettaessa vuorokauden keskilämpötiloja pienetkin erot lämpötilan mittausajankohdissa aiheuttavat virhettä lämpötilojen muuttuessa eri kellonaikoina. Päiväasteita summattaessa epävarmuustekijöitä tuo myös se, ettei voida tarkasti tietää hetkeä, mistä hetkestä päiväasteiden laskeminen aloitettaisiin, eli milloin esimerkiksi raakkunaraan munat ovat hedelmöittyneet. Epäilen, ettei päiväastesumma päde Pohjois-Euroopan vesissä ainakaan arvioitaessa toukkien parveiluajankohtia, koska kylmässä purossa toukkaparveilu tapahtui aiemmin verrattuna lämpimään puroon. Veden lämpötila oli kylmässä purossa lisäksi laskusuunnassa arvioidun toukkaparveilun aikaan, toisin kuin Siletz-joella, jossa se oli ollut toukkaparveilun aikaan noususuunnassa (Karna & Millemann 1978). Lisäksi he arvioivat parveilun tapahtuneen touko–kesäkuussa, joka eroaa ainakin kahdella kuukaudella arvioiduista Iijoen purojen toukkaparveilun ajankohdista. Valon määrällä voi olla merkitystä raakun elinkierron ajoituksissa. Pohjois-Euroopan purovesien lämpötilaerot voivat olla suuremmat vuorokauden aikana verrattuna Keski-Euroopan vesiin. Tästä voitaisiin ehkä todeta parveilun tapahtuvan pohjoisessa ennemminkin hetkellisen lämpötilamuutoksen kuin vuorokauden keskilämpötilan mukaan tai lämpösomman saavuttaessa jonkin tietyn arvon. Asiasta tarvitaan lisätutkimuksia.

Kylmän ja lämpimän puron toukkapituudet erosivat tilastollisesti merkitsevästi 9.6. näytteessä siten, että lämpimän puron toukat olivat tuossa vaiheessa noin 22 µm kookkaampia kuin kylmän puron. Kesäkuun lopussa 27./28.6. ero keskipituuksissa oli vain 9 µm ja ero populaatioiden välillä ei ollut enää tilastollisesti merkitsevää. Tämä voi tarkoittaa sitä, että lämpimän puron raakat ”odottivat” lämpötilan olevan ”pysyvästi” yli 15 °C aikaisemmin mainitun tutkimuksen (Hruška 1992) tavoin, eli toukat olivat valmiina, mutta tarvittavaa kynnyslämpötilaa ei ollut vielä saavutettu. Tulos voi viitata myös siihen, että glokidium-toukat irrottautuvat kaloista saavutettuaan tietyn koon. Vaihtoehtoisesti syynä voi olla myös se, että taimenten immuunipuolustus tehostui ja toukat putoavat sen takia. Toisaalta kalojen määrä tutkimuspäivinä purojen välillä oli ainoastaan 9 kpl (kylmä) ja 8 kpl (lämmin), joten tuloksesta ei voi tehdä tarkkoja päätelmiä ilman lisätutkimuksia.

Kalan pituuden vaikutuksesta glokidium-infektion abundanssille löydettiin jonkin verran viitettä – kylmällä purolla havaittiin positiivinen korrelaatio kesäkuun näytteissä ja lämpimällä purolla negatiivinen korrelaatio syyskuun näytteessä. Luulisi, että jo talven yli loisituissa taimenissa kalojen pituuden korrelaatio olisi negatiivinen, koska vanhemmilla kaloilla kerrotaan olevan vahvempi immunitaetti. Toisaalta vastainfektoituneiden taimenien pituuden voisi kuvitella olevan korrelaatioltaan positiivinen, koska kalat eivät ehkä olisi vielä torjuneet toukkia. Mutta näin ei tulosten mukaan siis ole. Hastie & Young (2001) tutkivat ikäryhmän 0+ luonnonlohien pituuden vaikutusta toukkamääriin. He totesivat, että alle 30 vrk loisinnan aloituksesta kalan pituuden korrelaatio oli positiivinen

(tutkimuskalat South Esk- ja Spey-joelta). Korrelaatio oli negatiivinen 80–100 vrk loisvaiheen alkamishetken jälkeen (Kerry- ja Moidart-joen tutkimuskalat). Edellä mainitussa tutkimuksessa korrelaation muuttuminen negatiiviseksi loisvaiheen myöhäisemmässä vaiheessa voi mielestäni johtua ainakin osittain myös eri purojen lohipopulaatioista. Suuremmalla taimenella on enemmän kiduspinta-alaa, mutta sillä lienee myös aikaisempaa kokemusta raakun glokidium-toukista, jolloin se on saavuttanut paremman vastustuskyvyn toukkia vastaan. Olisi mielenkiintoista verrata 0+-taimenien glokidium-infektion voimakkuutta vanhempiin, naiiveihin (aikaisemmin infektoitumattomiin) taimeniin. Tämä olisi toteutettavissa laitosolosuhteissa syntyneillä ja kasvaneilla taimenilla. Oletan loisintensiteetin olevan vanhoilla, naiiveilla taimenilla lähes suoraan verrannollinen niiden suurempaan kiduspinta-alaan verrattuna 0+ -taimenien kiduspinta-alaan. Lisäksi erikokoisten kalojen hengityksen ominaisuuksia vertailtaessa on todettu suurempien kalojen kidusten lävitse virtaavan suurempi määrä vettä verrattuna pienempiin kaloihin (Young & Williams 1984b, Bauer & Vogel 1987), jolloin toukkia voi kulkeutua enemmän suuremman kalan kiduslamelleille.

Voisi olettaa, että paljon toukkia sisältävissä kaloissa toukkien kasvu on hitaampaa toukkien välisen kilpailun takia. Saatujen tulosten mukaan näin ei kuitenkaan ole (Taulukko 9), vaan glokidium-toukkamäärä korreloi pikemminkin positiivisesti toukkapituuksien kanssa. Eli vaikuttaa siltä, että mitä enemmän toukkia, sitä paremmin ne myös kasvoivat. Samansuuntaisia tuloksia saivat myös Bauer & Vogel (1987) infektoidessaan purotaimenia laboratorio-oloissa. Heidän mukaansa toukkien kehitys on nopeata niissä kaloissa, joissa toukkia on paljon. Taeubert ym. (2010) totesivat, että toukkien määrällä on heikko positiivinen korrelaatio toukkien kasvuun. Tutkimus oli tehty allaskokeina ja kalalajina heillä oli ollut järvitaimen (*Salmo trutta lacustris* L.). Iijoen tutkimuspurojen kalat, joissa toukkia oli paljon, ovat saattaneet olla heikommassa kunnossa, jolloin niiden vastustuskyky on voinut olla heikompi ja siten toukatkin kasvoivat nopeammin. Toukkapituuksien erot kalassa ja kalojen välillä voivat johtua myös eri aikaan tapahtuneista infektoitumisista, koska kaikki puron raakkunaarat eivät vapauta toukkia saman vuorokauden aikana (Young & Williams 1984a). Voi olla, että aktiivisesti purolla liikkunut taimen saa useiden raakkunaaraiden toukkia kiduksilleen siitäkin syystä, että toukat voivat tutkimusten mukaan kulkeutua virran mukana n. 200 m (Jansen ym. 2001) ja kykenevät tarttumaan kalaan muutaman vuorokauden ajan (Jansen ym. 2001, Taskinen ym. 2011a). Glokidium-toukan tarttuminen kalaan satojen metrien etäisyydellä emoraakustaan edellyttää kuitenkin sitä, ettei veden virtaus ole voimakkuudeltaan toukkaa vaurioittava.

Tutkimuksessa olisi pitänyt tutkia enemmän taimenia kalastuskerroittain, mutta sitä ei suojelusyistä tehty. Kylmemmän puron taimenkanta lienee pienehkö puron lyhyiden takia. Ehkä olisi tullut valita pidempi ”kylmä” puro. Tällöin ei tarvitsisi huolestua taimenkannan riittävydestä ja kanta kestäisi vaikka 15 taimenen ottamisen kalastuskerroittain jatkotutkimuksiin. Näin tilastollisilla analyyseillä olisi enemmän tarkkuutta ja tuloksista voisi tehdä tarkempia päätelmiä. Purojen sähkökalastukset olisi kannattanut tehdä kolmen poistopyynnin menetelmällä, jotta olisi saatu edes karkeat arviot taimenien määristä puroissa.

Lämpötila-anturit olisi tullut jättää puroihin ainakin vuoden 2012 uusien toukkien parveiluun saakka. Tämä olisi voitu toteuttaa korvaamalla purossa aikaisemmin olleet anturit uusilla marraskuussa 2011. Tällä tavalla olisi saatu arvioita näillä puroilla vaadittavista lämpösummista glokidium-toukkien onnistuneeseen metamorfoosiin.

Tässä tutkimuksessa mukana ollut kylmempi puro olisi tullut olla projektiin kuuluvan toisen tutkimuksen (raakun ja isäntäkalan välinen paikallinen sopeutuminen)

kalojen sumputuspaikka. Kyseisessä tutkimuksessa tutkitaan paikallisen taimenkannan soveltuvuutta puron raakun isännäksi verrattuna muiden purojen taimen- ja lohikantoihin. Jos kylmä puro olisi ollut myös sumputuspaikka, olisi toukkien kasvua voinut ehkä seurata pidemmän aikaa, mutta glokidium-infektion intensiteetti ei todennäköisesti olisi ollut vertailukelpoinen sähkökalastettuihin taimeniin verrattuna. Ehkä sumpun verkko ohjaa suuremman osan toukista taimenien ohi tai taimenet käyttäytyvät sumpussa eri tavalla kuin virrassa vapaasti olevat.

Tutkimuksemme antaa uutta tietoa uhanalaisen jokihelmisimpukan elämänkierron vuodenaikaisuudesta, ja tulokset ovat täten tärkeitä lajin suojelun kannalta. Tämä Interreg-raakku -hankkeen ensimmäisenä vuotena tehty tutkimus toimii myös pohjana hankkeen jatkosuunnitelmille vuosina 2012-2014.

KIITOKSET

Kiitokset ohjaajilleni professori Jouni Taskiselle (bio- ja ympäristötieteiden laitos, Jyväskylän yliopisto) ja FM Jouni Saloselle (jatko-opiskelija, bio- ja ympäristötieteiden laitos, Jyväskylän yliopisto). Lisäksi kiitokset kenttätöissä avustaneille fil. yo. Jarno Turuselle (bio- ja ympäristötieteiden laitos, Jyväskylän yliopisto), LuK Santtu Vätilälle (jatko-opiskelija, bio- ja ympäristötieteiden laitos, Jyväskylän yliopisto) ja laboratoriomestari Olli Nousiaiselle (bio- ja ympäristötieteiden laitos, Jyväskylän yliopisto). Tärkeitä vinkkejä maastotöihin ja tutkimuspurojen valintaan antoivat paikallistuntemusta omaavat Metsähallituksen eräsuunnittelijat Pirkko-Liisa Luhta ja Eero Moilanen. Tutkimus tehtiin hankkeessa, joka rahoitettiin Interreg IVA pohjoinen -ohjelmasta.

KIRJALLISUUS

- Alcorn S.W., Murray A.L. & Pascho R.J. 2002. Effects of rearing temperature on immune functions in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Fish Shellfish Immunol.* 12: 303–334.
- Arey L.B. 1932. The formation and structure of the glochidial cyst. *Biol. Bull.* 62: 212–221.
- Bauer G. 1979. Untersuchungen zur Fortpflanzungsbiologie der Flußperlmuschel (*Margaritana margaritifera*) im Fichtelgebirge. *Arch. Hydrobiol.* 85: 152–165.
- Bauer G. 1986. The status of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L. in the south of its European range. *Biol. Conserv.* 38: 1–9.
- Bauer G. 1987a. Reproductive strategy of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*. *J. Anim. Ecol.* 56: 691–704.
- Bauer G. 1987b. The parasitic stage of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.). II. Susceptibility of brown trout. *Arch. Hydrobiol.* 76: 403–412.
- Bauer G. 1987c. The parasitic stage of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.). III. Host relationships. *Arch. Hydrobiol.* 76: 413–423.
- Bauer G. 1988. Threats to the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L. in Central Europe. *Biol. Conserv.* 45: 239–253.
- Bauer G. 1989. Die bionomische Strategie der Flußperlmuschel. *Biologie in unserer Zeit* 19: 69–75.
- Bauer G. 1992. Variation in the life span and size of the freshwater pearl mussel. *J. Anim. Ecol.* 61: 425–436.
- Bauer G. 1994. The adaptive value of offspring size among freshwater mussels (Bivalvia; Unionoidea). *J. Anim. Ecol.* 63: 933–944.

- Bauer G. 2001a. Framework and driving forces for the evolution of naiad life histories. Teoksessa: Bauer G. & Wächtler K. (toim.), *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*, Springer, Berlin, 233–255.
- Bauer G. 2001b. Life-history variation on different taxonomic levels of naids. Teoksessa: Bauer G. & Wächtler K. (toim.), *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*, Springer, Berlin, 83–91.
- Bauer G. & Vogel C. 1987. The parasitic stage of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L. Host response to glochidiosis. *Arch. Hydrobiol.* 76: 393–402.
- Bauer G. & Wächtler K. 2001. *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*. Springer, NY, 394 s.
- Buddensiek V. 1995. The culture of juvenile freshwater pearl mussels *Margaritifera margaritifera* L. in cages: A contribution to conservation programmes and the knowledge of habitat requirements. *Biol. Conserv.* 74: 33–40.
- Bush A.O., Lafferty K.D., Lotz J.M. & Shostak A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *J. Parasitol.* 83: 575–583.
- Degerman E., Alexandersson S., Bergengren J., Henrikson L., Johansson B-E., Larsen B.M. & Söderberg H. 2009. *Restoration of freshwater pearl mussel streams*. WWF Sweden, Solna, 64 s.
- Dillon R.T., Jr. 2000. *The ecology of freshwater molluscs*. Cambridge University Press, Cambridge, 524 s.
- Dolmen D. & Kleiven E. 2008. Distribution, status and threats of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus) (Bivalvia, Margaritiferidae) in Norway. *Fauna Norv.* 26/27: 3–14.
- Englund D., Brunberg A. & Jacks G. 2008. A case study of a freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) population in central Sweden. *Geogr. Ann.* 90: 251–258.
- Geist J. 2010. Strategies for the conservation of endangered freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera* L.): a synthesis of conservation genetics and ecology. *Hydrobiologia.* 644: 69–88.
- Geist J. & Auerswald K. 2007. Physicochemical stream bed characteristics and recruitment of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). *Freshwater Biol.* 52: 2299–2316.
- Geist J. & Kuehn R. 2008. Host-parasite interactions in oligotrophic stream ecosystems: the roles of life history strategy and ecological niche. *Mol. Ecol.* 17: 997–1008.
- Golladay S.W., Gagnon P., Kearns M., Battle J.M. & Hicks D.W. 2004. Response of freshwater mussel assemblages (Bivalvia:Unionidae) to a record drought in the Gulf Coastal Plain of southwestern Georgia. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 23: 494–506.
- Hastie L.C. & Cosgrove P.J. 2001. The decline of migratory salmonid stocks: a new threat to pearl mussels in Scotland. *Freshw. Forum.* 15: 85–96.
- Hastie L.C. & Young M.R. 2001. Freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) glochidiosis in wild and farmed salmonid stocks in Scotland. *Hydrobiologia* 445: 109–119.
- Hastie L.C. & Young M.R. 2003. Timing of spawning and glochidial release in Scottish freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) populations. *Freshwat. Biol.* 48: 2107–2117.
- Hruška J. 1992. The freshwater pearl mussel in South Bohemia: evaluation of the effect of temperature on reproduction, growth and age structure of the population. *Arch. Hydrobio.* 126: 181–191.
- Ieshko E.P., Larson B.M., Pavlov U.L., Barskaya U.U., Lebedeva D.I. & Novohatskaya O.V. 2009. Population dynamics of glochidia of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*

- L., parasitizing on juvenile Salmonidae fishes in northern water reservoirs. *Biol. Bull.* 36: 624–629.
- Jansen W., Bauer G. & Zahner-Meike E. 2001. Glochidial mortality in freshwater mussels. Teoksessa: Bauer G. & Wächtler K. (toim.), *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*, Springer, Berlin, 185–211.
- Karna D.W. & Millemann R.E. 1978. Glochidiosis of salmonid fishes. III. Comparative susceptibility to natural infection with *Margaritifera margaritifera* (L.) (Pelecypoda: Margaritanidae) and associated histopathology. *J. Parasitol.* 64: 528–537.
- Kortet R. & Vainikka A. 2008. Seasonality of innate immunity; evolutionary aspects and latest updates. Teoksessa: Durand M. & Morel C.V. (toim.), *New research on innate immunity*, Nova Science Publishers, New York, 13–45.
- Larsen B.M. 2005. Handlingsplan for elvemusling *Margaritifera margaritifera* i Norge. Innspill til den faglige delen av handlingsplanen. *NINA Rapp.* 122: 1–33.
- Machordom A., Araujo R., Erpenbeck D. & Ramos M.A. 2003. Phylogeography and conservation genetics of endangered European Margaritiferidae (Bivalvia: Unionoidea). *Biol. J. Linn. Soc.* 78: 235–252.
- McMahon R. 1991. Mollusca: Bivalvia. Teoksessa: Thorp J. & Covich A. (toim.), *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. Academic Press, San Diego, 315–390.
- Oulasvirta P. 2006. *Pohjoisten virtojen raakat*. Metsähallitus, Jyväskylä, 153 s.
- Ranta M. 2010. *Alueellinen ja ajallinen vaihtelu jokihelmisimpukan ja purotaimenen välisessä suhteessa*. Vesistötieteiden Pro gradu -tutkielma. Jyväskylän yliopisto, 26 s.
- Roberts A.D. & Barnhart M.C. 1999. Effects of temperature, pH, and CO₂ on transformation of glochidia of the flat floater mussel, *Anodonta suborbiculata*. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 18: 477–487.
- Ross H.C.G. 1992. The reproductive biology of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L.) in Co Donegal. *Ir. Nat. J.* 24: 43–50.
- San Miguel E., Monserrat S., Fernandez C., Amaro R., Hermida M., Ondina P. & Altaba C.R. 2004. Growth models and longevity of freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera*) in Spain. *Can. J. Zool.* 82: 1370–1379.
- Scheder C., Gumpinger C. & Csar D. 2011. Application of a five-stage field key for the larval development of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* Linné, 1758) under different temperature conditions – a tool for the approximation of the optimum time for host fish infection in captive breeding. Teoksessa: Thielen F. (toim.), *Rearing of unionoid mussels (with special emphasis on the freshwater pearl mussel Margaritifera margaritifera)*. Ferrantia 64: 13–22.
- Smith D.G. 1976. Notes on the biology of *Margaritifera margaritifera margaritifera* (Lin.) in Central Massachusetts. *Am. Midl. Nat.* 96: 252–256.
- Smith D.G. 1979. Sexual characteristics of *Margaritifera margaritifera* populations in central New England. *Veliger.* 21: 381–383.
- Strayer D.L. 2008. *Freshwater mussel ecology: a multifactor approach to distribution and abundance*. University of California Press, Berkeley, California, 216 s.
- Strayer D.L., Downing J.A., Haag W.R., King T.L., Layzer J.B., Newton T.J. & Nichols S.J. 2004. Changing perspectives on pearly mussels, North America's most imperiled animals. *BioScience* 54: 429–439.

- Taeubert J.-E., Denic M., Gum B., Lange M. & Geist J. 2010. Suitability of different salmonid strains as host for the endangered freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.). *Aquatic Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 20: 728–734.
- Taskinen J., Berg P., Saarinen-Valta M., Väilä S., Mäenpää E., Myllynen K. & Pakkala J. 2011a. Effect of pH, iron and aluminum on survival of early life history stages of the endangered freshwater pearl mussel, *Margaritifera margaritifera*. *Toxicol. Environ. Chem.* 93: 1764–1777.
- Taskinen J., Saarinen M., Väilä S., Mäenpää E. & Valovirta I. 2011b. In vitro culture of parasitic glochidia of four unionacean mussels. Teoksessa: Thielen F. (toim.), *Rearing of unionoid mussels (with special emphasis on the freshwater pearl mussel Margaritifera margaritifera)*. Ferrantia 64: 38–47.
- Vaughn C.C. & Spooner D.E. 2006. Unionid mussels influence macroinvertebrate assemblage structure in streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 25: 691–700.
- Williams J.D., Warren M.L., Cummings K.S., Harris J.L. & Neves R.J. 1993. Conservation status of the freshwater mussels of the United States and Canada. *Fisheries* 18: 6–22.
- Wächtler K., Dreher-Mansur M. & Richter T. 2001. Larval types and early postlarval biology in Naiads (Unionoida). Teoksessa: Bauer G. & Wächtler K. (toim.), *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*, Springer, Berlin, 95–125.
- Young M. & Williams J. 1984a. The reproductive biology of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (Linn.) in Scotland. I. Field studies. *Arch. Hydrobiol.* 99: 405–422.
- Young M. & Williams J. 1984b. The reproductive biology of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (Linn.) in Scotland. II. Laboratory studies. *Arch. Hydrobiol.* 100: 29–43.
- Young M.R., Cosgrove P.J. & Hastie L.C. 2001. The extent of, and causes for, the decline of a highly threatened naiad: *Margaritifera margaritifera*. Teoksessa: Bauer G. & Wächtler K. (toim.), *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*, Springer, Berlin, 337–357.
- Zahner-Meike E. & Hanson M.J. 2001. Effect of muskrat predation on naiads. Teoksessa: Bauer G. & Wächtler K. (toim.), *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*, Springer, Berlin, 163–184.
- Zimmerman L.L. & Neves R.J. 2002. Effects of temperature on duration of viability for glochidia of freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae). *Am. Malacol. Bull.* 17: 31–35.
- Ziuganov V.V. 2005a. A long-lived parasite extending the host life span: the pearl mussel *Margaritifera margaritifera* elongates host life by turns out the program of accelerated senescence in salmon *Salmo salar*. *Dokl. Biol. Sci.* 403: 291–294.
- Ziuganov V.V. 2005b. A paradox of parasite prolonging the life of its host. Pearl mussel can disable the accelerated senescence program in salmon. *Biol. Bull.* 32: 360–365.
- Ziuganov V.V., San Miguel E., Neves R.J., Longa A., Fernández C., Amaro R., Beletsky V., Popkovitch E., Kaliuzhin S. & Johnson T. 2000. Life span variation of the freshwater pearlshell: a model species for testing longevity mechanisms in animals. *Ambio.* 29: 102–105.
- Zu Ermgassen P.S.E. & Aldridge D.C. 2011. Predation by the invasive American signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus* Dana, on the invasive zebra mussel, *Dreissena polymorpha* Pallas: the potential for control and facilitation. *Hydrobiol. J.* 658: 303–315.