

Pro gradu -tutkielma

**Välttämättömien biomolekyylien saatavuuden
vaikutus eri eläinplanktonsukujen ravintoarvoon ja
biomassaan**

Marko Malin



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ympäristötiede

9.11.2021

Marko Malin: Välttämättömien biomolekyylien saatavuuden vaikutus eri eläinplanktonsukujen ravintoarvoon ja biomassaan
Pro gradu -tutkielma: 91 s.
Työn ohjaajat: Dosentti Kirsi Kuoppamäki ja Dosentti Sami Taipale
Tarkastajat: Dosentti Katja Pulkkinen ja Dosentti Sami Taipale
Marraskuu 2021

Hakusanat: aminohappo, rasvahappo, seston, steroli, syanobakteeri

Järvissä elävät mikroskooppisen pienet kasviplanktonyhteisöt ovat tärkeitä tuottajia ja välttämättömiä elämän ylläpitämiselle. Ne kykenevät syntetisoimaan kaikille eliöille välttämättömiä biomolekyyliä, kuten aminohappoja, pitkäketjuisia omega-3 ja omega-6 rasvahappoja sekä steroleita. Kaikki makean veden kasviplanktoniin kuuluvat eliöt pystyvät tuottamaan välttämättömiä aminohappoja, sekä lyhytketjuisia omega-3 rasvahappoja, kuten alfa-linoleenihappoa (ALA) ja linolihappoa (LIN). Sen sijaan pidempiketjuisten omega-3 rasvahappojen eikosapentaeenihapon (EPA) ja dokosaheksaenihapon (DHA) synteesiin kykenevät vain kultalevät (Chrysophyceae), nielulevät (Cryptophyceae) ja panssarisiimalevät (Dinophyceae). Edellämainittujen levien lisäksi myös piilevät (Diatomophyceae) tuottavat EPA:a ja silmälevät (Euglenophyceae) DHA:ta. Järvien rehevöitymisen ja ilmastomuutoksen seurauksena yleistyneet syanobakteerit (Cyanophyceae) ja viherlevät (Chlorophyceae), eivät kykene tuottamaan pitkäketjuisia rasvahappoja lainkaan. Lisäksi syanobakteereissa ei ole steroleita, jonka vuoksi ne ovat huonolaatuista ravintoa varsinkin vesikirpuille. Tässä tutkimuksessa selvitettiin kuinka kahden ravinteisuudeltaan erityyppisen järven sestonissa tuotettujen välttämättömien biomolekyylien pitoisuuksissa tapahtuvat muutokset vaikuttivat eri eläinplanktonsukujen ravintoarvoon ja biomassaan, kun laadukkaampaa ravintoa tuottavat kasviplanktoniluokat joutuivat kilpailemaan elintilastaan syanobakteeri- ja viherleväyhteisöjen kanssa. Välttämättömien rasvahappojen osalta muutos vaikutti noin kahden viikon viiveellä sestonia suodattamalla syövien *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen, sekä omnivoristen kyklooppihankajalkaisten (Cyclopoida) biomassaan ja ravintoarvoon. *Daphnia*-vesikirppujen, kyklooppihankajalkaisten ja *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten biomassaa rajoittivat lähinnä pitkäketjuisten rasvahappojen DHA:n ja DPA:n (dokosapentaeenihappo) saatavuus, sekä *Bosmina*-vesikirpuilla DHA:n ja DPA:n lisäksi myös EPA:n ja sterolien saatavuus. *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaiset onnistuivat pitämään kudosten rasvahappopitoisuudet suhteellisen korkeina koko tutkimusjakson ajan, mutta niiden biomassaa rajoitti sterolien saatavuus. Tutkimusjärvet erosivat toisistaan sestonin aminohappopitoisuuksien suhteen, mutta tällä ei ollut vaikutusta eläinplanktonin aminohappopitoisuuksiin, vaan ainoastaan keijuhankajalkaisten (Calanoida) biomassan kasvuun.

SISÄLLYSLUETTELO

1 JOHDANTO	1
1.1 Elämälle tärkeät biomolekyylit.....	1
1.2 Pitkäketjuisten omega-3 ja omega-6 rasvahappojen tuottaminen.....	7
1.3 Kasviplanktoniyhteisön tuottamien rasvahappojen kulkeutuminen eläinplanktoniin.....	8
1.4 Tutkimusaihe ja hypoteesit	13
2 AINEISTO JA MENETELMÄT.....	15
2.1 Tutkimusalue	15
2.2 Aineiston keruu	17
2.3 Toimenpiteet laboratoriossa näytteenoton jälkeen.....	17
2.4 Sestonin ja eläinplanktonin lipidien uuttaminen.....	19
2.4.1 Rasvahappojen derivatisointi ja analysointi.....	19
2.4.2 Sterolien silylointi ja analysointi.....	21
2.5 Sestonin ja eläinplanktonin aminohappojen uuttaminen ja analysointi ...	22
2.6 Tilastolliset menetelmät.....	24
3 TULOKSET	25
3.1 Tutkimusjärvien vedenlaatu.....	25
3.2 Planktoniyhteisö	26
3.2.1 Kasviplanktoniyhteisön rakenne ja laatu	26
3.2.2 Eläinplanktoniyhteisön rakenne.....	28
3.3 Rasvahappokoostumus	29
3.3.1. Sestonin rasvahappokoostumus ja -pitoisuus.....	29
3.3.2 Eläinplanktonin rasvahappokoostumus ja -pitoisuus.....	31

3.3.3 Eläinplanktonsukujen väliset erot.....	34
3.4 Sterolikoostumus	37
3.4.1 Sestonin sterolikoostumus ja -pitoisuus	37
3.4.2 Eläinplanktonin sterolikoostumus ja -pitoisuus	37
3.4.3 Eläinplanktonsukujen väliset erot.....	40
3.5 Aminohappokoostumus.....	43
3.5.1 Sestonin aminohappokoostumus ja -pitoisuus	43
3.5.2 Eläinplanktonin aminohappokoostumus ja -pitoisuus.....	44
3.5.3 Eläinplanktonsukujen väliset erot.....	48
3.6 Sestonin tuottamien biomolekyylien vaikutus eläinplanktonin kudosten biomolekyyli-pitoisuuteen	53
3.6.1 Omega-3 ja omega-6 rasvahapot	53
3.6.2 Sterolit.....	55
3.6.3 Aminohapot.....	55
3.7 Sestonin tuottamien biomolekyylien vaikutus eläinplanktonin biomassaan	55
3.7.1 Omega-3 ja omega-6 rasvahapot	55
3.7.2 Sterolit.....	58
3.7.3 Aminohapot.....	59
3.8 Eläinplanktonin kudosten sisältämien biomolekyylien vaikutus biomassaan	60
3.8.1 Omega-3 ja omega-6 rasvahapot	60
3.8.2 Sterolit.....	61
3.8.3 Aminohapot.....	62
4 TULOSTEN TARKASTELU	63

4.1 Ympäristötekijöiden vaikutus kasvi- ja eläinplanktonyhteisöön.....	63
4.2 Sestonin tuottamien omega-3 ja omega-6 rasvahappojen vaikutus eläinplanktoniin.....	64
4.3 Sestonin tuottamien stererolien vaikutus eläinplanktoniin.....	77
4.4 Sestonin tuottamien aminohappojen vaikutus eläinplanktoniin.....	79
4.5 Tutkimuksen herättämiä kysymyksiä.....	80
4.6 Yhteenveto.....	82
KIITOKSET.....	84
KIRJALLISUUS.....	85

1 JOHDANTO

1.1 Elämälle tärkeät biomolekyylit

Järvet ovat osa suomalaista maisemaa. Esteettisen kauneuden lisäksi järvillä on tärkeä merkitys ravinnontuotannossa. Järvissä elävät mikroskooppisen pienet kasviplanktonyhteisöt ovat tärkeitä tuottajia ja siten välttämättömiä elämän ylläpitämiselle. Kasviplanktonilla on kyky syntetisoida elämälle välttämättömiä biomolekyylejä, joita muut eliöt tarvitsevat, mutta joita muut eliöt eivät itse kykene valmistamaan riittävässä määrin.

Elämälle välttämättömiin biomolekyyleihin kuuluvat tietyt välttämättömät aminohapot, sekä pitkäketjuiset omega-3 (ω -3) ja omega-6 (ω -6) rasvahapot. Lisäksi akvaattisessa ympäristössä vesikirput (Cladocera) ovat riippuvaisia kasviplanktonin tuottamista steroleista (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009a). Näiden aineiden saatavuus ja laatu vaikuttavat suoraan eläinplanktonlajien lisääntymiskypsyyden ajoittumiseen, hedelmällisyyteen, sekä jälkeläisten selviytymispotentiaaliin ja kasvuun (Hart ja Bychek 2011).

Ravintoketjussa kaikille välttämättömille biomolekyyleille on ominaista hyvä pidättyvyys. Esimerkiksi rasvahapot eivät hajoa ruoansulatuksen aikana, vaan ne vapautuvat lipidimolekyyleistä, jolloin kudokset voivat käyttää niitä perusmuodossaan (Iverson 2009). Välttämättömien biomolekyyliden pidättyvyys on tärkeää, koska ylemmän trofiatasoin kuluttajat eivät itse pysty valmistamaan näitä aineita riittävässä määrin omien elintoimintojen ylläpitämisen, kasvun ja lisääntymisen kannalta. Tästä syystä kasviplanktonin tuottamien biomolekyyliden saatavuudella on tärkeä merkitys eläinplanktonille, joka toimii ravintoverkossa keskeisessä roolissa välittämällä tärkeitä biomolekyylejä alemmasta trofiatasosta (kasviplanktonista) ylempään (kala) trofiatasoon (Taipale ym. 2016a).

Eliöt tarvitsevat ravinnostaan proteiineja. Proteiineja käytetään entsyymien, kudosten, hormonien ja vasta-aineiden valmistamiseen (Aro ym. 2015, Peltomaa ym. 2017). Ravinnosta saatavat proteiinit sisältävät 20 erilaista aminohappoa. Näistä aminohapoista 11 on sellaisia, joita elimistö pystyy tuottamaan itse, joko yhdistämällä hiiltä ja typpeä sisältäviä yhdisteitä tai muodostamalla niitä eliöille välttämättömistä aminohapoista (Aro ym. 2015). Eläinplanktonin kannalta välttämättömät aminohapot ovat samoja, joita esimerkiksi ihmiset ja hyönteiset tarvitsevat (Fink ym. 2011). Välttämättömiä, ainoastaan ravinnosta saatavilla olevia aminohappoja ovat fenyylialaniini, histidiini, isoleusiini, leusiini, lysiini, metioniini, treoniini, tryptofaani ja valiini (Aro ym. 2015).

Akvaattisessa ympäristössä kaikki kasviplanktoniin kuuluvat eliöt ja bakteerit pystyvät syntetisoimaan aminohappoja, mutta aminohappojen koostumus ja pitoisuus vaihtelee jopa läheisten sukulaisten kesken (Brown ym. 1997, Koch ym. 2012, Peltomaa ym. 2017, Taipale ym. 2018). Suurimpia aminohappomääriä on havaittu nielulevillä (Cryptophyceae), piilevillä (Diatomophyceae) ja syanobakteereilla (Cyanophyceae) (Taipale 2019, luento).

Aminohappojen saatavuuden merkitystä ja vaikutusta eläinplanktoniin ei täysin tunneta. Aminohappoja on tutkittu lähinnä laboratorio-olosuhteissa, eikä kenttätutkimuksia ole tehty paljon. Proteiineilla ja välttämättömien aminohappojen saatavuudella on kuitenkin havaittu olevan vaikutusta vesikirppujen lepomunien tuotantoon (Koch ym. 2011, Fink ym. 2011, Bouchnak ja Steinberg 2014, Peltomaa ym. 2017). Lisäksi *Daphnia*-vesikirpulla arginiinin (ei-välttämätön aminohappo) ja histidiinin on havaittu parantavan jälkeläisten tuotantoa (Koch ym. 2011, Fink ym. 2011, Bouchnak ja Steinberg 2014). Luonnossa aminohappojen arvellaan vaikuttavan erityisesti eläinplanktonin lisääntymiseen ja populaation kasvuun (Koch ym. 2011, Fink ym. 2011, Bouchnak ja Steinberg 2014, Peltomaa ym. 2017).

Sterolit ovat rasvaliukoisia steroidialkoholeja, joiden rakenteelle on tunnusomaista tetrasyklinen fuusioitunut rengasrunko, polaarinen pääryhmä asemassa 3 (3β -OH) ja alkyyylisivuketju asemassa 17 (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009a). Eliökunnassa aiotumallisten joukossa sterolikoostumuksessa on eroja.

Eläinkunnassa yleisin ja tärkein steroli on kolesteroli (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009b). Kasveissa ja kasviplanktonissa on paljon erilaisia kasvisteroleita eli fytosteroleita, joita ne tuottavat (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009b). Sienissä on useiden sterolien ohella erityisesti ergosterolia, jota käytetään myös sienten biomarkkerina (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009b). Tosin ergosterolia on myös *Chlamydomonas*-suvun viherlevissä (Miller ym. 2012) ja silmälevissä (Euglenophyceae) (Taipale ym. 2016b).

Kasvisteroleita tuottavat kaikki muut kasviplanktoniin kuuluvat eliöt paitsi sinilevät eli syanobakteerit. Parhaita sterolien tuottajia ovat kultalevät (Chrysophyceae) ja nielulevät (Peltomaa ym. 2017). Kultalevissä on erityisen paljon stigmasterolia ja β -sitosterolia (Rampen ym. 2010). Nielulevien päästeroli on brassikasteroli, mutta niissä on runsaasti myös stigmasterolia (Taipale ym. 2016b). Myös viherlevissä (Chlorophyceae), *Chlamydomonas*- ja *Pediastrum*-sukuja lukuun ottamatta, on huomattavia määriä steroleita (Peltomaa ym. 2017), mutta niiden sterolikoostumus ei ole vesikirppujen kannalta optimaalinen. Viherlevissä on erityisen paljon Δ^7 -steroleja (Patterson 1991, Thomson 1996, Taipale ym. 2016b), joilla ei ole suurta vaikutusta vesikirppujen somaattiseen kasvuun ja lisääntymiseen (Martin-Creuzburg ja von Elert 2004). Piilevillä, silmälevillä ja panssarisiimalevillä (Dinophyceae) sterolipitoisuudet jäävät yleensä melko pieniksi (Peltomaa ym. 2017).

Sterolit ovat tärkeitä kaikille aitotumaisille soluille ja niiden avulla säädellään mm. solukalvon läpäisevyyttä (Haines 2001). Sterolit toimivat myös D-vitamiinin ja useiden luonnonvaraisten kasvien, niveljalkaisten ja selkärangattomien steroidihormonien esiasteena (Grieneisen 1994). Kolesteroli on eläinplanktonin tärkein steroli, joka vastaa parhaiten kasvun ja lisääntymisen tarpeita (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009a). Vesiekosysteemissä kyklooppihankajalkaiset (Cyclopoida) ja kalat pystyvät valmistamaan kolesterolia asetaattien esiasteista biokonversion (entsyymien avulla tapahtuvan yhdisteen kemiallisen rakenteen muuntamisen) avulla, mutta vesikirput eivät (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009a). Tästä syystä sterolit ovat välttämättömiä erityisesti vesikirpuille. *Daphnia*-

vesikirpuilla sterolien puuttuminen vaikuttaa heikentävästi elinkelpoisten jälkeläisten tuottantoon, somaattiseen kasvuun ja selviytymiseen (Martin-Creuzburg ym. 2005). Järvissä, joissa on runsaasti syanobakteereja, sterolien saatavuus saattaa rajoittaa *Daphnia*-vesikirpun kasvua ja lisääntymistä (Peltomaa ym. 2017). Tämä puolestaan heikentää ravintoketjussa seuraavan trofiatason eliöiden, kuten kalojen ja muiden saalistajien ravinnon laatua ja määrää (Taipale ym. 2016a).

Sterolit jaetaan vaikutusasteen mukaan ns. matalan ja korkean kynnyksen steroleihin (Martin-Creuzburg ym. 2014). Kasviplanktonin tuottamia matalan kynnyksen kasvisteroleita ovat brassikasteroli, ergosteroli, fukosteroli ja stigmasteroli. Ne vaikuttavat *Daphnia*-vesikirpun somaattiseen kasvuun pienempinä pitoisuuksina kuin kolesteroli (Martin-Creuzburg ym. 2014). Korkean kynnyksen kasvisterolit desmosteroli, dihydrokolesteroli, lathosteroli, sitosteroli ja 7-dehydrokolesteroli, ovat steroleja, joita tarvitaan kolesterolia suurempia määriä, jotta ne vaikuttaisivat *Daphnia*-vesikirpun kasvuun (Martin-Creuzburg ym. 2014). Sterolien vaikutusta hankajalkaisiin on tutkittu vähän. Ravinnon kolesterolipitoisuuden on kuitenkin havaittu vaikuttavan hankajalkaisten lisääntymiseen ja jälkeläisten elinvoimaisuuteen (Crockett ja Hassett 2005).

Rasvahapot ovat karboksyylihappoja, joiden kemiallisessa rakenteessa hiiliketjun toisessa päässä on happoryhmä ja toisessa päässä metyyliiryhmä (Iverson 2009). Rasvahapot jaetaan hiiliatomien välisten sidosten perusteella kolmeen ryhmään: tyydyttyneisiin, kertatyydyttymättömiin ja monityydyttymättömiin rasvahappoihin. Tyydyttyneet rasvahapot ovat rakenteeltaan suoraketjuisia ja niiden hiilirungossa hiiliatomien välillä on vain yksinkertaisia kovalenttisia sidoksia. Kertatyydyttymättömissä rasvahapoissa on yksi kaksoissidos ja monityydyttymättömissä rasvahapoissa kaksi tai useampia kaksoissidoksia. Monityydyttymättömissä rasvahapoissa kaksoissidosten sijainti vaikuttaa rasvahappojen avaruudelliseen rakenteeseen ja niiden toimintaan elimistössä.

Rasvahaposta käytetään IUPAC:n määrittelemää systemaattista nimeä tai rakennemerkinä, jossa ensin kerrotaan hiiliatomien ja kaksoissidosten määrä

kaksoispisteellä eroteltuna, sekä ensimmäisen kaksoissidoksen paikka omega-merkinnällä (ω). Esimerkkinä eikosapentaeenihappo (EPA, 20:5 ω 3), jossa on 20 hiiliatomia, viisi kaksoissidosta ja ensimmäinen kaksoissidos sijaitsee metyyliiryhmästä poispäin laskien kolmannen ja neljännen hiiliatomin välissä. Rasvahapot voivat myös haarautua. Haaroista käytetään nimitystä *iso* (i) tai *anteiso* (a). Merkintä "iso" tarkoittaa, että rasvahapolla on metyylihaara, joka lähtee metyyliipäästä laskettuna toisesta hiilestä ja merkintä "anteiso" tarkoittaa, että metyylihaara lähtee metyyliipäästä laskettuna kolmannesta hiilestä.

Eliöiden toiminnan kannalta absoluuttisesti välttämättömiä rasvahappoja ovat omega-3 rasvahappoihin kuuluva alfa-linoleenihappo (ALA, 18:3 ω 3) (Taulukko 1) ja omega-6 rasvahappoihin kuuluva linolihappo (LIN, 18:2 ω 6) (Taulukko 2). Näitä rasvahappoja eliöt saavat ainoastaan ravinnosta. On kuitenkin yleisesti hyväksyttyä, että eliöiden toiminnan kannalta välttämättömiin rasvahappoihin lasketaan kuuluviksi myös pidemmän hiiliketjun omaavat rasvahapot eli eikosapentaeenihappo (EPA, 20:5 ω 3), dokosaheksaeenihappo (DHA, 22:6 ω 3), sekä arakidonihappo (ARA, 20:4 ω 6) (Hiltunen 2016). Näitä rasvahappoja eliöt pystyvät tuottamaan pieniä määriä myös itse. Kokonaisuuden kanalta varsinkin EPA:n ja DHA:n tuotanto on kuitenkin niin vähäistä, että se ei yleensä riitä eliöiden tarpeisiin, jonka vuoksi näitä aineita on saatava myös ravinnosta. Ekosysteemin ravintoverkossa kasviplanktonin tuottamat pitkäketjuiset omega-3 rasvahapot EPA ja DHA ovat täten välttämättömiä biomolekyylejä, koska korkeamman trofiatason kuluttajien menestys ja oikea rasvahappokoostumus riippuu hyvin pitkälti näiden kahden rasvahapon saatavuudesta (Arts ym. 2001).

Taulukko 1. Tässä tutkimuksessa tarkasteltavat omega-3 (ω -3) rasvahapot, niiden lyhenteet ja rakennemerkinnot. Välttämättömät rasvahapot on lihavoitu.

Nimi	Lyhenne	Rakenne
Alfa-linoleenihappo	ALA	18:3ω3
Stearidonihappo	SDA	18:4 ω 3
Eikosapentaeenihappo	EPA	20:5ω3
Dokosaheksaeenihappo	DHA	22:6ω3

Taulukko 2. Tässä tutkimuksessa tarkasteltavat omega-6 (ω -6) rasvahapot, niiden lyhenteet ja rakennemerkinnot. Välttämättömät rasvahapot on lihavoitu.

Nimi	Lyhenne	Rakenne
Linolihappo	LIN	18:2ω6
Arakidonihappo	ARA	20:4ω6
Dokosapentaeenihappo	DPA	22:5 ω 6

Omega-3 (ω -3) rasvahapoilla on useita tärkeitä tehtäviä eläinten fysiologiassa. Eläimet tarvitsevat niitä elintoimintojen ylläpitämiseen, lisääntymiseen ja kasvuun (Brett ja Müller-Navarra 1997, Sargent ym. 1999, Simopoulos 2000, Lauritzen ym. 2001). Lisäksi eläimet tarvitsevat pitkäketjuisia monityydyttymättömiä omega-3 rasvahappoja hermoston ja silmän verkkokalvon (retinan) kehittymiseen, sekä solukalvojen rakentamiseen ja mitokondrioihin (Lauritzen ym. 2001, Stillwell ja Wassal 2003, Innis 2007, Swanson ym. 2012). Omega-3 rasvahapolla on myös terveyttä edistäviä vaikutuksia. Ihmisellä pitkäketjuisten omega-3 rasvahappojen EPA:n ja DHA:n on havaittu vähentävän sydän- ja verisuonitauteja, rytmihäiriöitä, kakkostyypin diabetestä, sekä syöpää ja masennusta (Simopoulos 1999, Pelliccia ym. 2013). Lisäksi ne parantavat imeväisten kognitiivista kehitystä (Jiao ym. 2014). Ihmiselle tärkein välttämättömien rasvahappojen lähde on kala, jonka lihassa on suhteessa erityisen paljon EPA:a ja DHA:ta (Hiltunen 2016).

Rasvahappojen vaikutusta ja merkitystä eläinplanktonille on tutkittu suhteellisen vähän ja tulokset ovat osittain ristiriitaisia. Useissa tutkimuksissa on havaittu, että makean veden eläinplanktonin kasvun ja lisääntymisen kannalta tärkeimmät rasvahapot ovat EPA ja DHA (Park ym. 2002, Brett ym. 2006, Martin-Creuzburg ja von Elert 2009a, Ravet ym. 2010, Taipale ym. 2011, 2014, 2015; Galloway ym. 2014). *Daphnia*-vesikirpuilla varsinkin ravinnon EPA-pitoisuulla on havaittu olevan suuri vaikutus kasvuun ja lisääntymiseen (Müller-Navarra ym. 2000, Persson ja Vrede 2006). Lisäksi on tutkimuksia, joiden mukaan omega-6 rasvahappoihin kuuluva ARA vaikuttaisi *Daphnia*-vesikirpun kasvuun. Beckerin ja Boersmanin (2005) tutkimuksissa ARA lisäsi *Daphnia*-vesikirpun kasvua, mutta von Elertin (2002) mukaan ARA:n lisäämisellä ravintoon ei ole positiivista vaikutusta *Daphnia*-vesikirpun kasvuun ja lisääntymiseen. Muutamat tutkijat ovat kuitenkin sitä mieltä,

että *Daphnia*-vesikirput tarvitsevat ARA:a, koska yhdessä EPA:n kanssa kyseiset rasvahapot ovat lähtöaineita lipidihormoneihin kuuluvien eikosanoidien synteesissä (Bell ja Sargent 2003). Eikosanoidit vaikuttavat tulehdusreaktioihin, ioninsiirtojärjestelmään, sekä niveljalkaisten ja kalojen lisääntymiseen (Bell ja Sargent 2003). Myös rasvahappojen suhteellisilla osuuksilla on havaittu olevan merkitystä vesikirppujen lisääntymisen kannalta. *Daphnia*-vesikirput kasvavat ja lisääntyvät tehokkaammin, mitä enemmän niiden ravinnossa on omega-3 (ω -3) rasvahappoja, suhteessa omega-6 (ω -6) rasvahappoihin (ω -3: ω -6-suhde) (Taipale ym. 2015).

Hankajalkaisilla lisääntyminen (munantuotanto) on tehokkaampaa mitä enemmän niiden ravinnossa on EPA:a ja DHA:ta (Evjemo ym. 2008, Burns ym. 2011). ARA:n on sen sijaan havaittu vaikuttavan hankajalkaisten lisääntymiseen jopa negatiivisesti, sillä merissä elävällä *Temora longicornis* -keijuhankajalkaisella ravinnon sisältämän ARA:n suhteellinen osuus korreloi negatiivisesti poikasten kuoriutumisen suhteen (Evjemo ym. 2008). Kalat kuitenkin tarvitsevat ARA:a, sillä kaloilla ARA vaikuttaa positiivisesti poikasten kasvuun (Bell ja Sargent 2003, Cutts ym. 2012). Kaloilla ravinnon alhaiset EPA-, DHA- tai ARA-pitoisuudet voivat johtaa alentuneeseen stressinsietokykyyn, epänormaaliin pigmentaatioon, näköhäiriöön ja lohikaloilla joesta mereen vaeltavien poikasten (smolttien) fysiologisen kehityksen hidastumiseen (Sargent ym. 1999, Bell ja Sargent 2003). Edellä mainitut vaikutukset hidastavat kalojen kasvua ja heikentävät kalojen eloonjäämistä (Sargent ym. 1999, Bell ja Sargent 2003).

1.2 Pitkaketjuisten omega-3 ja omega-6 rasvahappojen tuottaminen

Kaikki makean veden kasviplanktoniin kuuluvat eliöt pystyvät tuottamaan omega-3 rasvahapoista ALA:a ja omega-6 rasvahapoista LIN:ia. Pidempiketjuisten rasvahappojen synteesiin vaikuttaa osaltaan myös veden laatu, sillä EPA:a kykenee tuottamaan vain paremmin kirkasvetisissä järvissä viihtyvät kultalevät, nielulevät, panssarisiimalevät ja piilevät. DHA:ta kykenee tuottamaan edellä mainittujen kulta-, nielu- ja panssarisiimalevien lisäksi myös silmälevät (Taipale ym. 2016a). Sen

sijaan sameissa ja rehevissä järvissä viihtyvät syanobakteerit eli sinilevät ja viherlevät eivät kykene tuottamaan pitkäketjuisia rasvahappoja lainkaan. Eläinplanktonin kannalta varsinkin syanobakteerit ovat huonolaatuista ravintoa, sillä yhdessä tuottamiensa myrkkujen kanssa ne rajoittavat energian siirtymistä korkeampiin kuluttajiin (Martin-Creuzburg ym. 2008). Viherlevissä on runsaasti C18 PUFA:a (monityydyttymätön rasvahappo, jossa on 18 hiiltä), mutta se luokitellaan ravintoarvoltaan keskitason ravinnonlähteeksi (Taipale ym. 2013).

Joillakin vedessä elävillä eliöillä on kyky tuottaa pitkäketjuisia rasvahappoja saatavilla olevista lyhempiketjuisista rasvahapoista. Pidempiketjuisten rasvahappojen tuottamisen tehokkuudessa on kuitenkin vaihtelua eri eliöiden välillä. Esimerkiksi *Daphnia*-vesikirput kykenevät muuntamaan desaturaation ja ketjun pidentämisen avulla ALA:a EPA:ksi, mutta muuntotehokkuus on alhainen (< 0,5 %) (Taipale ym. 2011). *Daphnia*-vesikirput pyrkivät usein myös pitämään kudosten ARA-pitoisuuden tietyllä tasolla ja sen vuoksi ne valmistavat ARA:a joko desaturaation ja ketjun pidentämisen avulla lyhempiketjuisesta LIN:istä, tai retrokonversion (kemiallisen aineen muuntamista takaisin alkuperäiseen muotoonsa) avulla pidempiketjuisesta DPA:sta (Strandberg ym. 2014). Näistä menetelmistä retrokonversio on osoittanut *Daphnia*-vesikirpuilla hieman tehokkaammaksi tavaksi valmistaa ARA:a kuin desaturaatio ja ketjun pidentäminen (Strandberg ym. 2014). Lisäksi hankajalkaisista ainakin *Eudiatonus gracilis* -keijuhankajalkaisilla on havaittu alhainen, mutta ei kovin tehokas kyky muuntaa lyhempiketjuisia rasvahappoja DHA:ksi (Koussoroplis ym. 2014).

1.3 Kasviplanktoniyhteisön tuottamien rasvahappojen kulkeutuminen eläinplanktoniin

Laboratoriokokeet ovat osoittaneet, että kasviplanktonia syövien vesikirppujen rasvahappokoostumus riippuu hyvin paljon niiden ravinnon laadusta (Brett ym. 2006). Esimerkiksi nieluleviä syöneet vesikirput kasvavat ja lisääntyvät tehokkaammin kuin syanobakteereja ja viherlevää syöneet vesikirput (Brett ym. 2006). *Daphnia*-vesikirpuilla on myös havaittu, että kasvua on sitä nopeampaa, mitä

enemmän niiden ravinnossa on monityydyttymättömiä rasvahappoja (PUFA:a) hiiltä kohti laskettuna (Taipale ym. 2014).

Vesistöjen pohja-alueella elävillä hankajalkaisilla on havaittu selvä yhteys niiden käyttämän ravinnon ja kudosten rasvahappokoostumuksen välillä (Caramujo ym. 2008). Sen sijaan makean veden ulappa-alueella elävillä hankajalkaisilla ravinnon laadun vaikutusta kudosten rasvahappokoostumukseen ja ei ole tutkittu kovin perusteellisesti. Kenttätutkimukset sestonin ja eläinplanktonin rasvahappokoostumuksen välillä ovat antaneet hieman erilaisia tuloksia. Joissain tutkimuksissa on havaittu yhteys sestonin ja eläinplanktonin rasvahappokoostumuksen välillä (Hessen ja Leu 2006, Ravet ym. 2010, Burns ym. 2011), mutta joissain tutkimuksissa yhteyttä ei ole havaittu lainkaan (Persson ja Vrede 2006, Smyntek ym. 2008).

Eläinplanktonin kudosten rasvahappokoostumukseen ja -pitoisuuteen vaikuttaa ravinnonlaadun lisäksi myös eläinplanktonin kyky akkumuloida rasvahappoja. Arktisilla keijuhankajalkaisilla (Calanoida) on havaittu kyky akkumuloida (kerryttää) ravinnosta saatavilla olevia rasvahappoja (Graeve ym. 2005). Akkumulaation tehokkuus kuitenkin vaihtelee suuresti eri lajien välillä, koska eri lajit akkumuloivat erilaisia rasvahappoja valikoivasti omien tarpeiden ja elintapojen mukaan (Graeve ym. 2005). Eläinplanktonin rasvahappokoostumukseen vaikuttaa ravinnon ja akkumulaatiotehokkuuden lisäksi myös lajien erilainen aineenvaihdunta ja sen säätely (Hiltunen 2016).

Samalla alueella elävillä eläinplanktoniryhmillä rasvahappokoostumukset ja -pitoisuudet voivat vaihdella hyvinkin suuresti (Hiltunen ym. 2015). Selvimmin tämä näkyy EPA:n ja DHA:n pitoisuuksissa. Vesikirpuilla on kudoksissaan yleensä enemmän EPA:a kuin DHA:ta (Persson ja Vrede 2006, Smyntek ym. 2008). EPA:n suurempi osuus vesikirpuilla johtuu siitä, että ne kykenevät akkumuloimaan EPA:a kudoksiinsa (Taipale ym. 2011). Vesikirput eivät kuitenkaan kerää varastolipidejä samalla tavalla kuin hankajalkaiset, sillä suurin osa vesikirppujen lipideistä sitoutuu kalvoihin, jotta kalvot pysyisivät toiminnallisina myös silloin kun ravintoa on vähemmän tarjolla (Hiltunen ym. 2016).

Hankajalkaisilla sen sijaan DHA-pitoisuudet ovat yleensä korkeampia kuin vesikirpuilla (Smyntek ym. 2008, Brett ym. 2009, Burns ym. 2011, Hiltunen ym. 2015). Merkittävin syy tähän on se, että vesikirpuista poiketen hankajalkaiset kykenevät akkumuloimaan DHA:ta kudoksiinsa (Persson ja Vrede 2006). Hankajalkaisten kudosten suurempi DHA-pitoisuus johtuu lähtökohtaisesti siitä, että niillä on vesikirppuihin verrattuna kehittyneempi hermojärjestelmä, joka toimiakseen tarvitsee enemmän DHA:ta (Persson ja Vrede 2006). Kuuden kaksoissidoksen ansiosta DHA myös parantaa kalvon fysikaalisia ominaisuuksia, kuten läpäisevyyttä ja elastisuutta (Stillwell ja Wassall 2003). Hankajalkaisten DHA:n tarvetta lisää omalta osaltaan myös niiden elinympäristö, sillä osa hankajalkaisista talvehtii ja elää vesikirppuihin verrattuna kylmemmässä alusvedessä (Farkas 1979, Smyntek ym. 2008). Koska DHA:ssa on enemmän kaksoissidoksia kuin EPA:ssa, sen jäätymislämpötila on alhaisempi kuin EPA:n (Farkas 1979, Arts ja Kohler 2009). Akkumuloimalla DHA:ta hankajalkaisilla on siten vesikirppuihin verrattuna parempi kyky ylläpitää kalvojen juoksevuutta ja liukoisuutta kylmässä vedessä (Farkas 1979, Stillwell ja Wassall 2003). Tämä on yksi merkittävimmistä syistä miksi hankajalkaiset kykenevät talvehtimaan aktiivisina, mutta vesikirput eivät (Farkas 1979). Lisäksi hankajalkaiset kykenevät myös solukalvojen koostumusta muuttamalla hidastamaan aineenvaihduntanopeuttaan kylmissä olosuhteissa ja siten ne ovat sopeutuneet kylmiin olosuhteisiin paremmin kuin vesikirput (Koussoroplis ym. 2014). Yhteenvetona voidaan sanoa, että makeanveden hankajalkaisilla ja vesikirpuilla on molemmilla kyky akkumuloida ARA:a ja EPA:a, mutta ero on siinä, että hankajalkaisilla on tämän lisäksi myös kyky akkumuloida DHA:ta (Brett ym. 2009).

Vesikirpuilla ja hankajalkaisilla kudosten rasvahappokoostumukseen vaikuttaa edellä mainittujen tekijöiden lisäksi myös trofiataso, ravinnonhankintatapa ja koko. Pidempiketjuisten omega-3 rasvahappojen EPA:n ja DHA:n osuus lisääntyy trofiatason kasvaessa (Person ja Vrede 2006, Brett ym. 2009, Strandberg ym. 2015). Kooltaan suuremmilla omnivorilla *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisilla ja saalistavilla *Heterocope*-keijuhankajalkaisilla on kudoksissaan yleensä enemmän DHA:ta ja EPA:a, kuin herborisilla *Eudiaptomus*-suvun keijuhankajalkaisilla ja

kooltaan pienemmillä omnivorisilla kyklooppihankajalkaisilla (Hiltunen ym. 2015). Sen sijaan *Eudiaptomus*-suvun keijuhankajalkaisilla ja kyklooppihankajalkaisilla lyhempiketjuisten ALA:n ja SDA:n osuudet ovat yleensä *Limnocalanus*- ja *Heterocope*-suvun keijuhankajalkaisiin verrattuna suurempia (Hiltunen ym. 2015).

Joillakin eläinplanktoneilla rasvahappokoostumus vaihtelee myös vuodenajan mukaan. Koko vuoden aktiiviset *Limnocalanus*- ja *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaiset akkumuloivat kudoksiinsa monityydyttymättömiä rasvahappoja erityisesti syksyisin (Hiltunen ym. 2015). Lipidien varastoiminen auttaa niitä selviytymään paremmin talven yli, jolloin ravinto on kasvukauteen verrattuna huonolaatuisempaa (Lee ym. 2006). Keijuhankajalkaiset varastoivat lipidejä vahaestereinä (Brett ym. 2009), jotka useilla herbivorisilla eläinplanktoneilla koostuvat suurelta osin tietyistä pitkäketjuisista kertatytydyttymättömistä rasvahapoista ja alkoholeista (Lee ym. 2006). Sen sijaan lepomunina talvehtivilla vesikirpuilla ja *Heterocope*-suvun keijuhankajalkaisilla, sekä lepotilassa (diapaussi) talvehtivilla kyklooppihankajalkaisilla, ei rasvahappojen vuodenajan mukaista akkumuloitumista ole havaittu lainkaan (Hiltunen ym. 2015).

Jääkauden reliktilajina *Limnocalanus marcurus*- keijuhankajalkaisilla on moniin muihin keijuhankajalkaisiin verrattuna erilainen lisääntymistapa, joka omalta osaltaan vaikuttaa myös niiden kudosten rasvahappokoostumukseen ja -pitoisuuksiin. *Limnocalanus*-keijuhankajalkaiset munivat talven ja kevään aikana ennen keväistä kasviplanktonkukintaa tai kukinnan aikana (Mäkinen ym. 2017). Jotta lisääntyminen onnistuu, ne tarvitsevat hyviä lipidivarastoja (Błędzki ja Rybak 2016). Kaikista makean veden hankajalkaisista *Limnocalanus*-suvun keijuhankajalkaisilla onkin havaittu olevan suurin lipidivarasto (67 % kuivapainosta) (Błędzki ja Rybak 2016). Ne ovat myös ainoa hankajalkaisten suku, joiden kudoksissa on erittäin pitkäketjuisia 24–26 hiilen pituisia monityydyttymättömiä rasvahappoja (VLC-PUFA) (Hiltunen 2016), joita ei löydy *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten tavanomaisista ravinnonlähteistä (seston ja muu eläinplankton). Siksi on hyvin todennäköistä, että *Limnocalanus*-keijuhankajalkaiset kykenevät syntetisoimaan niitä lyhytkeijusista monityydyttymättömistä

rasvahaposta (Hiltunen 2016). Erittäin pitkäketjuiset monityydyttymättömät rasvahapot ovat erinomaista ravintoa myös kaloille ja näiden *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten kudosten sisältämien rasvahappojen on havaittu myös siirtyneen samoilla vesialueilla eläviin muikkuihin (*Coregonus albula*) (Hiltunen 2016). Kaiken kaikkiaan akvaattisen ympäristön ravintoverkossa hankajalkaisilla on erittäin suuri merkitys, koska niiden kautta huomattava osa välttämättömistä rasvahapoista siirtyy primäärisiltä tuottajilta korkeammille trofiatasoille (Kainz ja Fisk 2009).

Kasviplanktonyhteisön rakenteessa tapahtuvat muutokset voivat aiheuttaa muutoksia myös eläinplanktonin rasvahappokoostumuksessa (Hiltunen ym. 2015). Kasviplanktonyhteisön rakenteeseen vaikuttaa ensisijaisesti sestonissa saatavilla olevien ravinteiden laatu ja määrä. Myös humuspitoisuus vaikuttaa kasviplanktonyhteisön rakenteeseen erityisesti silloin kun valaistusolosuhteet muuttuvat (Thrane ym. 2014). Lisäksi on havaittu, että humusjärvien sestonissa EPA-pitoisuudet ovat yleensä korkeampia kuin vähemmän humusta sisältävien (kirkkaampien) järvien sestonissa (Gutseit ym. 2007).

Kasviplanktonyhteisön lisäksi myös sestonin muiden komponenttien, kuten hiukkasmaisten orgaanisten aineiden (tPOM), bakteerien ja toisenvaraisten (heterotrofisten) alkueläinten rasvahappokoostumus saattaa vaihdella ja siten myös niillä on vaikutusta eläinplanktonin ravinnon laatuun (Véra ym. 2001, Taipale ym. 2014). Lisäksi on havaittu, että järviveden sisältämän liuenneen orgaanisen hiilen (DOC), ravinteiden ja klorofylli-a:n määrän kasvaessa eläinplanktonin kudosten ω -3: ω -6-suhde kasvaa (Hiltunen 2016).

Sestonin rasvahappokoostumuksessa tapahtuvat muutokset näkyvät eri eläinplanktonryhmissä eri aikavälillä. Sestonia suodattamalla syövien *Daphnia*-vesikirppujen kudoksissa sestonin rasvahappokoostumuksessa tapahtunut muutos näkyi noin viikon viiveellä (Brett ym. 2006, Taipale ym. 2009) ja arktisen merialueen *Calanus hyperboreus* -keijuhankajalkaisten kudoksissa ruokinnassa tapahtunut muutos näkyi vasta 11 vuorokauden jälkeen (Graeve ym. 2005).

1.4 Tutkimusaihe ja hypoteesit

Akvaattisessa ravintoverkossa kasviplankton-eläinplankton-kala-petokala-ketjun toiminta ja tuottavuus perustuu välttämättömien biomolekyylien eli aminohappojen, rasvahappojen ja sterolien valmistamiseen, pidättyvyyteen ja seuraavalle trofiatasolle siirtymiseen (Müller-Navarra ym. 2000, Hiltunen ym. 2015). Leväyhteisön rakenteella on suuri merkitys tärkeiden ravintoaineiden saatavuuden kannalta (Müller-Navarra ym. 2000, Hiltunen ym. 2015). Järvien ravinteisuus vaikuttaa kasviplanktoniyhteisöön ja siten kasviplanktonin tuottamien tärkeiden biomolekyylien laatuun ja määrään (Hiltunen ym. 2015). Kesäisin rehevissä, korkean fosforipitoisuuden järvissä syanobakteerien ja viherlevien osuus leväyhteisössä kasvaa, jolloin pidempiketjuisia rasvahappoja syntetisoivien levien määrä pienenee. Samalla myös sterolien määrä vähenee, koska syanobakteereissa ei ole steroleita lainkaan (Martin-Creuzburg ym. 2008, Taipale ym. 2016a, Peltomaa ym. 2017). Viherlevissä sen sijaan on runsaasti Δ^7 -steroleita, mutta ne vaikuttavat vesikirppujen kasvuun ja lisääntymisen heikommin kuin useat muut sterolit (Martin-Creuzburg ja von Elert 2004, Taipale ym. 2016b). Tästä johtuen syanobakteerit ja viherlevät ovat eläinplanktonille ja erityisesti vesikirpuille huonolaatuista ravintoa.

Tässä tutkimuksessa selvitettiin kuinka kahdessa ravinteisuudeltaan erityyppisessä järvessä elävien kasviplanktoniyhteisöjen tuottamien tärkeiden biomolekyylien pitoisuudet ja pitoisuuksissa tapahtuvat muutokset vaikuttivat eläinplanktonin ravintoarvoon ja biomassaan. Lähtökohtana oli selvittää kuinka eri eläinplanktonisukujen kudoksissa olevat amino- ja rasvahappopitoisuudet, sekä sterolipitoisuudet heijastavat sestonissa tarjolla olevien välttämättömien biomolekyylien laatua ja määrää. Regressiomallien avulla tutkittiin myös mitkä sestonissa tarjolla olevista biomolekyyleistä rajoittivat eniten eri eläinplanktonisukujen biomassan kasvua.

Makean veden ulappa-alueella elävien eläinplanktonisukujen kudosten biomolekyylikoostumusta on tutkittu vähän. Tutkimuksessa saatiin arvokasta lisätietoa makeassa vedessä elävien eri eläinplanktonisukujen steroli-, amino- ja

rasvahappokoostumuksesta. Lisäksi tutkimustulosten avulla pyrittiin arvioimaan kuinka veden happamuus mahdollisesti vaikuttaa sestonissa tarjolla olevien biomolekyylien määrään.

Tutkimushypoteesina (H_1) oli, että runsasravinteisessa järvessä elävillä eläinplanktoneilla olisi kudoksissaan vähemmän välttämättömiä biomolekyylejä kuin karussa (niukkaravinteisessa) järvessä elävillä eläinplanktoneilla. Oletus perustuu siihen, että vaikka niukkaravinteisessa järvessä on eläinplanktonille tarjolla ravinnoksi suhteessa vähemmän kasviplanktonia, se on kuitenkin yleensä ravintoarvoltaan parempaa.

Toisena tutkimuskohteena oli selvittää kykenevätkö eri eläinplanktonsukuihin kuuluvat eliöt löytämään tarpeeksi laadukasta ravintoa, kun enemmän EPA:a ja DHA:ta syntetisoivat kasviplanktonluokat joutuivat kilpailemaan elintilastaan syanobakteeri- ja viherleväyhteisöjen kanssa. Toisena tutkimushypoteesina (H_2) esitettiin, että eliöille välttämättömien rasvahappojen (lähinnä EPA:n ja DHA:n) pitoisuudet pienenevät vesikirppujen ja hankajalkaisten kudoksissa syanobakteerien ja viherlevien kukintojen aikaan. Vaihtoehtoinen nollahypoteesi (H_0) oli, että syanobakteeri- ja viherleväkasvuston lisääntyessä eläinplanktoniyhteisön kudoksissa ei tapahdu tärkeiden rasvahappojen vähenemistä. Tämä voi selittyä sillä, että eri eläinplanktoneilla on kyky biosyntetisoida eli valmistaa EPA:a ja DHA:ta ALA:sta, kun olosuhteet sestonin rasvahappotuotannon kannalta ovat heikkommat.

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1 Tutkimusalue

Tutkimusaineisto kerättiin kesän 2019 aikana Päijät-Hämeessä, Lahden kaupungin, sekä Asikkalan ja Hollolan kunnan alueella sijaitsevasta rehevästä Vesijärvestä (Kuva 1), sekä Hollolan kunnassa sijaitsevasta karusta Iso-Tiilijärvestä (Kuva 2). Vesijärvi sijaitsee ensimmäisen ja toisen Salpausselän välissä ja se kuuluu Kymijoen vesistöön. Järvi laskee Vääksynjoen ja vuonna 1871 valmistuneen Vääksyn kanavan kautta Etelä-Päijänteseen. Vesijärvi jakautuu neljään salmien ja matalikkojen erottamaan altaaseen, Enon-, Kajaan-, Komon- ja Laitilanselkään, sekä kahteen näitä pienempään lahteen Paimelanlahteen ja Vähäselkään.

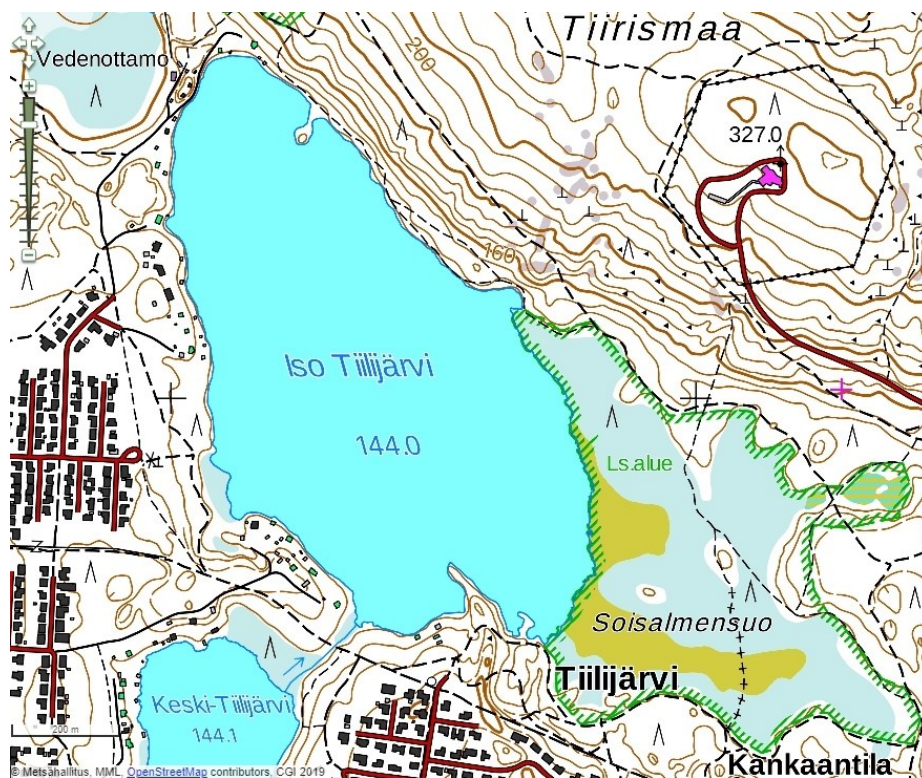


Kuva 1. Vesijärvi ja sen valuma-alue, sekä järven suurimmat selkäalueet (Lahden kaupunki).

Vesijärven pinta-ala on 107,51 km² ja tilavuus 0,65 km³. Järven keskisyvyys on 6,1 metriä ja suurin syvyys tämän tutkimuksen näytteidenottopaikalla Enonselällä 31 metriä (Suomen ympäristökeskus 2019). Vesipuidedirektiivin mukaisen ekologisen tilaluokituksen mukaan Enonselkä oli tutkimuksen aikaan (2019) tyydyttävässä tilassa.

Vesijärven kasviplanktonyhteisöä on tutkittu varsin laajasti vuodesta 1979 lähtien. Vielä 1990-luvun alkuun saakka Vesijärven kasviplanktonista vain alle 20 % oli lajeja, jotka kykenivät tuottamaan EPA:a ja DHA:ta (Taipale ym. 2019a). Järven kunnostamiseksi tehdyn suuren biomanipulaation jälkeen vuosina 1991–2001 EPA:a tuottavien levien osuus nousi yli 50 %:iin ja DHA:ta tuottavien levien osuus yli 75 %:iin kaikista leväluokista (Taipale ym. 2019a). Tämän jälkeen eri vuosien välillä leväluokkien osuuksissa on ollut suurta vaihtelua.

Hollolan kunnan alueella sijaitsevan Iso-Tiilijärven pinta-ala on 0,51 km² ja rantaviivan pituus on 3,65 km (Suomen ympäristökeskus 2019). Iso-Tiilijärveä on tutkittu vähän, eikä siitä ole saatavilla julkaistua tutkimustietoa. Iso-Tiilijärveltä ei ole raportoitu haitallista syanobakteerikasvustoa, mutta linnuntietä noin 640 metrin päässä sijaitsevassa Vähä-Tiilijärvessä on viime vuosien aikana havaittu hyvinkin laajamittaista syanobakteerikasvustoa. Keski-Tiilijärven kautta Vähä-Tiilijärven vedet ovat myös yhteydessä Iso-Tiilijärveen. Iso-Tiilijärvellä itsellään ei ole laskujokea ja sen veden vaihtumisesta ei ole tarkkaa tietoa.



Kuva 2. Iso-Tiilijärvi (Metsähallitus 2019).

2.2 Aineiston keruu

Tutkimusaineisto kerättiin Vesijärveltä Enonselällä sijaitsevasta noin 31 metrin syvänteestä (61,0182°N 25,6032°E) kesä-lokakuun aikana (11.6.–9.10.2019) joka toinen viikko ja Iso-Tiilijärveltä järven pohjoisosassa sijaitsevasta noin 16 metrin syvänteestä (61,0071°N 25,5052°E) kerran kuukaudessa kesä-, heinä- ja elokuun aikana. Näytteidenotto suoritettiin molemmissa järvissä samalla tavalla. YSI-mittarilla mitattiin ensin veden lämpötila (°C), liuenneen hapen pitoisuus prosentteina (%), sekä hapen konsentraatio (mg l⁻¹), alkaen veden pinnasta ja jatkuen metrin välein aina pohjanläheiseen veteen saakka. Näkösyvyys mitattiin secchi-levyn avulla.

Kasvi- ja eläinplankton-, sekä klorofyllinäytteet kerättiin Limnos-noutimella (tilavuus 6,94 litraa) alkaen pinnasta pohjaan päin metrin vesipatsas kerrallaan. Näytteistä muodostui 0–5, 5–10, 10–20 ja 20–30 metrin syvyyteen ulottuneet kokoomanäytteet. Kahdesta ensimmäisestä kokoomanäytteestä (0–5 m ja 5–10 m) otettiin eläin- ja kasviplankton-, sekä klorofylli-a-näytteet ja kahdesta syvemmältä otetusta kokoomanäytteestä (10–20 m ja 20–30 m) kerättiin vain eläinplanktonia. Eläinplankton kerättiin osanäytteistä planktonhaavin (50 µm) avulla ja haavin sisältö tyhjennettiin näytepurkkiin, johon lisättiin teknistä etanolia (lopullinen konsentraatio noin 70 %).

Lipidien ja aminohappojen määrittämistä varten eläinplanktonia kerättiin myös vetämällä silmäkooltaan 150 µm planktonhaavia pohjanläheisestä vedestä pintaan saakka. Näin saatiin näyte, joka edusti koko vesipatsasta. Vesijärvessä näytteet otettiin noin 28 m syvyydestä ja Iso-Tiilijärvessä noin 15 metrin syvyydestä alkaen.

2.3 Toimenpiteet laboratoriossa näytteenoton jälkeen

Helsingin yliopiston Lahden toimipistessä kasviplanktonnäytteisiin lisättiin Lugolin liuosta (2 ml) ja ne säilöttiin jääkaapissa (4 °C) analysointiin saakka. Talvella 2020 Kristiina Vuorio teki Jyväskylän yliopistolla Vesijärven

kasviplanktonnäytteistä neljä ja Iso-Tiilijärven näytteistä kolme analyysiä, joista laskettiin eri kasviplanktonluokkien biomassat ja prosenttiosuudet.

Klorofyllinäytteet suodatettiin GF/C-lasikuitusuotimen läpi. Suodattimet säilöttiin pakastimessa (-20 °C), aina siihen saakka kunnes Helsingin yliopiston dosentti Kirsi Kuoppamäki analysoi niistä klorofyllipitoisuuden ($\mu\text{g l}^{-1}$) etanoliuuton avulla spektrofotometrisesti (SFS 5772). Hän analysoi myös eläinplanktonnäytteistä lajiston ja biomassat.

Sestonin sisältämien lipidien ja aminohappojen määrittämistä varten kokoomanäytteistä kerätty vesi esisuodatettiin silmäkooltaan 48 μm siivilän läpi. Aminohapoista tehtiin kaksi rinnakkaista näytettä, jotka suodatettiin 3,0 μm polykarbonaatti-suodattimelle. Lipideistä tehtiin kolme rinnakkaista näytettä 3,0 μm selluloosanitraatti-suodattimelle. Ennen suodatusta suodatinpaperit oli esipunnittu Jyväskylän yliopistolla.

Biomolekyylien määrittämistä varten molemmista tutkimusjärviestä kerätyistä eläinplanktonnäytteistä poimittiin kolme eri vesikirppu- ja hankajalkaisukua. Vesijärven näytteestä poimittiin kahta suodattamalla syövää vesikirppusukua eli *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppuja, sekä petovesikirppuihin kuuluvaa *Leptodora*-sukua. Hankajalkaisista poimittiin Cyclopoida-lahkon kyklooppihankajalkaisia, sekä *Eudiaptomus*- ja *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisia. Iso-Tiilijärven näytteestä poimittiin kolme suodattamalla syövää vesikirppusukua eli *Bosmina*-, *Daphnia*-, ja *Holopedium*-vesikirppuja, sekä hankajalkaisista Cyclopoida-lahkon kyklooppihankajalkaisia, sekä *Eudiaptomus*- ja *Heterocope*-suvun keijuhankajalkaisia. Eläinplanktonsuvut tunnistettiin Leica S6E stereomikroskoopin avulla 25–40 kertaisella suurennoksella. Näytteet (n = 121) kerättiin Eppendorf-putkiin ja niiden kansiin tehtiin reikä, jotta paine tasautuu yli vuorokauden kestäneen kylmäkuivauksen (Christ Alpha 1–4) aikana.

Kylmäkuivauksen jälkeen suodattimet punnittiin ja näytteistä laskettiin kuivapaino vähentämällä suodatuspainosta filterin paino ennen suodatusta. Punnituksen jälkeen filterit siirrettiin poltettuihin (2 h 450 °C:ssa) ja kloroformi-metanolilla (2:1)

huuhdeltuihin Kimax-borosilikaattiputkiin. Eläinplanktonnäytteistä pyrittiin keräämään kaksi rinnakkaista vähintään 0,1 mg:n osanäytettä tinakuppiin (Elemental Microanalysis D1008). Näytteiden tarkka paino punnittiin mikrovaa'alla (Sartorius) ja näytteet siirrettiin tinakupissa kloroformi-metanolilla huuhdeltuihin Kimax-borosilikaattiputkiin.

2.4 Sestonin ja eläinplanktonin lipidien uutaminen

Seston- ja eläinplanktonnäytteiden lipidit uutettiin käyttämällä Folchin menetelmää (Folch ym. 1957). Lipidit uutettiin 3 ml kloroformi:metanoli (2:1) seokseen, johon lisättiin 0,75 ml tislattua vettä ja 15 µl sisäistä standardiliuosta FA/STER (PLFA C_{19:0} ja C_{23:0} 5-alfakolestaani). Näytteille tehtiin 10 minuutin ultraääniavusteinen liotus eli sonikointi (VWR ultrasonic cleaner). Näytteet vorteksoitiin ja orgaaniset ja epäorgaaniset faasit eroteltiin toisistaan sentrifugoimalla putkia 4 minuuttia 3000 rpm (Heraeus Biofuge primo). Tämän jälkeen alempi lipidejä sisältävä orgaaninen faasi siirrettiin lasisella Pasteur-pipetillä uuteen puhtaaseen Kimax-putkeen. Putket haihdutettiin typpivirran (N₂) alla ja lipidit uutettiin 500 µl:aan toluenia. Uutetuista lipideistä puolet eli 250 µl uutetta käytettiin sterolien analysointiin. Sterolinäytteet siirrettiin GC-autosamplerpulloihin ja säilöttiin pakastimessa (-20 °C) aina jatkokäsittelyyn saakka. Jäljellä olevaan, rasvahappojen analysointia varten jätettyyn uutteeseen, lisättiin 750 µl toluenia, jolloin toluenin kokonaistilavuudeksi saatiin 1000 µl (1 ml).

2.4.1 Rasvahappojen derivatisointi ja analysointi

Derivatisoinnin tarkoituksena oli tuottaa rasvahapoista metyyliestereitä, liittämällä päihin metyyliiryhmä (Taipale ym. 2013). Kimax-putkiin lisättiin 2 ml metylointireagenssia (metanolia, jossa 1 % H₂SO₄). Tämän jälkeen Kimax-putket suljettiin ja vorteksoitiin. Vorteksoinnin jälkeen putket siirrettiin vesihauteeseen (50 °C) (LAUDA RC 20), jossa ne inkuboituvat yön yli. Inkuboinnin jälkeen rasvahappometanoliliuos jäähdytettiin noin huoneenlämpöiseksi. Kimax-putket avattiin ja niihin lisättiin 2 ml deionisoitua vettä, sekä 2 ml heksaania. Heksaanin

tarkoituksena oli liuottaa rasvahappojen metyyliesterit. Putket suljettiin ja vorteksoitiin. Vorteksoinnin jälkeen rasvahapot eroteltiin sentrifugissa 2 min 1500 rpm (Heraeus Biofuge primo), jonka jälkeen rasvahappoja sisältävät ylemmät faasit siirrettiin lasisella Pasteur-pipetillä puhtaisiin Kimax-putkiin ja haihdutettiin typpisuihkun (N_2) alla. Kuiviin putkiin lisättiin 110 μ l heksaania, joka jälkeen ne vorteksoitiin kevyesti, jotta ajoliuoksena toimivaan heksaani irrottaisi rasvahapot putkien pohjalta. Tämän jälkeen jokaisesta Kimax-putkesta siirrettiin putken pohjalla oleva uute (tilavuus noin 100 μ l) lasisella Pasteur-pipetillä kirkkaaseen 5 ml GC-autosamplerpulloon, joka suljettiin korkilla ja siirrettiin kaasukromatografia ja massaspektrometri ajoon.

Kaasukromatografia on fysikaaliskemiallinen erottelumenetelmä, jonka avulla erotellaan ja määritetään haihtuvia yhdisteitä. Rasvahappojen höyrystymislämpötila on hyvin korkea. Siksi niistä tehdään haihtuva johdannainen eli derivaatta, ennen kaasukromatografista määrittystä. Derivatisoinnissa yhdisteeseen liitetään ryhmä, joka parantaa stabiilisuutta ja alentaa höyrystymislämpötilaa. Tässä tapauksessa rasvahapot muunnettiin haihtuviksi metyyliestereiksi, jonka seurauksena saatiin aikaan helposti haihtuva johdos ennen kaasukromatografista määrittystä.

Kaasukromatografia perustuu liikkuvaan näytteitä sisältävään kaasufaasiin ja kolonnissa paikallaan pysyvään (stationääriseen) faasiin. Näytteet syötetään injektorin kautta uunissa olevaan kolonniin. Ajoliuoksena toimiva heksaani höyrystyy injektorissa kaasuksi. Kolonnin sisällä kantajakaasu, tässä tapauksessa helium, kuljettaa höyrystettyjä metyyliestereitä kolonnissa, jonka sisällä paikallaan pysyvä stationäärifaasi reagoi yhdisteisiin eri tavoin, sillä eri yhdisteet kulkevat kolonnin läpi eri nopeudella. Kulkunopeus vaihtelee yhdisteen kemiallisten ominaisuuksien mukaan. Lopulta yhdisteet erotellaan ja tunnistetaan kromatogrammista kulkeutumisaajan eli retentioajan mukaan. Rasvahappoja määritettäessä käytetään usein myös massaspektrometridetektoria, koska paljon rasvahappoja sisältävästä näytteestä on vaikea määrittää erilaisia rasvahappoja

pelkän retentioajan perusteella. Massaspekttrin avulla eri rasvahappojen yksilöiminen voidaan suorittaa luotettavasti.

Tuotettujen rasvahappojen metyyliesterit analysoitiin kaasukromatografia-massaspektrometrin (Shimadzu GC-MS-QP2010 Ultra, Japani) avulla. Kantokaasuna käytettiin heliumia. Laitteistossa käytetty kolonni oli Zebron Capillary GC Column ZB-FAME. Kolonnin pituus 30 metriä. Sisähalkaisija 0,25 mm ja filmin paksuus 0,20 µm. Injektiotilavuus 1 µl ja injektio- lämpötilä 270 °C. Injektion moodi splitless. Kantokaasun paine 79,3 kPa. Virtausnopeus 27,5 ml/min. Kolonnin virtaus 1,17 ml/min. Puhdistusvirtaus 3,0 ml/min. Ajo-ohjelman kokonaiskesto 35,14 minuuttia. Kolonnin lämpötilaohjelma on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 3. Kolonnin lämpötilaohjelma rasvahappojossa.

Vaihe	Nousuvauhti (°C/min)	Lopullinen lämpötila (°C)	Pitoaika (min)
0		50,0	1,0
1	10,0	130,0	0,0
2	7,0	180,0	0,0
3	2,0	200,0	3,0
4	10,0	260,0	0,0

2.4.2 Sterolien silylointi ja analysointi

Sterolianalyysia varten autosamplerpulloissa olevat näytteet haihdutettiin kuiviksi typpisuihkun (N_2) alla ja uutettiin pyridiniin. Autosamplerpulloihin lisättiin 70 µl silylointireagenssia (N, O-bis (trimetyylisinyyli) trifluoriasetamidi-liuosta), jossa oli mukana trimetyylikloorisilaani (BSTFA/TMCS). Silyloinnissa steroleista tuotetaan trimetyyliestereitä, jolloin OH-ryhmä poistuu ja happeen sitoutuu trimetyyli-ryhmä. Silyloinnin seurauksena tutkittavat sterolit höyrystyvät paremmin. Autosamplerpulloja inkuboitiin lämpökaapissa (70 °C) yön yli ja seuraavana päivänä tuotetut trimetyyliesterit analysoitiin kaasukromatografia-massaspektrometrillä (Shimadzu GC-MS-QP2010 Ultra, Japani), jossa kantokaasuna oli helium. Laitteistossa käytetty kolonni oli Zebron Capillary GC Column ZB-5MSi. Kolonnin pituus 30 metriä. Sisähalkaisija 0,25 mm ja filmin paksuus 0,25 µm. Massaspektrometrin massan lämpötila 220 °C. Kolonnin massan

ja rajapinnan lämpötila 250 °C. Liuottimen leikkausaika 9 minuuttia. Ajo-ohjelman kokonaiskesto 35,14 minuuttia. Massaspektrometrin ajo-ohjelma on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 4. Massaspektrometrin ajo-ohjelma steroliajossa.

Vaihe	Aloitus (min)	Lopetus (min)	Kesto (s)	Skannaus- nopeus (u/s)	Aloitus (m/z)	Lopetus (m/z)
1	9,0	35,0	0,30	2000	40,0	600,0
2	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0

m/z = massan suhde varauslukuun

Rasvahappojen ja sterolien kaasukromatografia-massaspektrometri- ajoista saatu data analysoitiin GCMSsolution Postrum -ohjelmiston avulla. Rasvahapot tunnistettiin retentioajan ja massaspekttrin perusteella, sekä sterolit tyypillisten ionien avulla (Taipale ym. 2016b). Sterolit kvantifioitiin käyttämällä ulkoisia standardiliuoksia, jotka koostuivat Larodanin kasvisteroliseoksesta (Sigma-Aldrich; β -sitosteroli, brassikasteroli, kampesteroli, stigmasteroli). Sterolinäytteiden saantoprosentti laskettiin sisäisen standardin 5- α -kolestaenin avulla. Tunnistetut sterolit olivat β -sitosteroli, brassikasteroli, kampesteroli, kolesteroli ja stigmasteroli. Rasvahappojen ja sterolien tunnistamisen jälkeen kromatogrammista laskettiin GCMSsolution Browser -ohjelman avulla integroiden kunkin rasvahapon ja sterolin pitoisuus standardisuoraa apuna käyttäen. Iso-Tiilijärven sestonin sterolinäytteitä ei analysoitu lainkaan, koska ne katosivat Covid-19 sulun aikana.

2.5 Sestonin ja eläinplanktonin aminohappojen uuttaminen ja analysointi

Aminohappojen analysointiin käytetyt sestonista suodatetut filtit ja eläinplanktonnäytteet siirrettiin punnituksen jälkeen korkilla suljetuissa Kimax-putkissa pakastimeen (-20 °C). Ennen GC-MS ajoa valmistettiin neljä aminohappostandardia AAS18 Sigma-Aldrich+Norvaline-menetelmän avulla. Näiden mukaan luotiin standardin konsentraatiogradientti.

Näytteiden proteiinit hydrolysoitiin 1 ml suolahapolla lämpökaapissa (110 °C) 20 tunnin aikana. Hydrolyysin jälkeen näytteet laimennettiin lisäämällä 5 ml deionisoitua vettä. Suolat ja orgaaniset yhdisteet poistettiin lisäämällä 10 ml deionisoitua vettä, jonka jälkeen aminohapot liuotettiin 6 ml:aan 2M NH₄OH. Näytteet kuivattiin typpisuihkun (N₂) alla. Aminohapot ajettiin propyyliklooriformiaatteina käyttäen apuna EZ: faast -sarjaa (Phenomenex, Saksa). Näytteet analysoitiin GC-MS:llä (Shimadzu). Kolonnina käytettiin ZB-AAA (9,5 m × 0,25 µm × 0,25 mm; Phenomenex). Injektion moodi splitless. Aminohappojen erottamiseen käytettiin seuraavaa lämpötilaohjelmaa: nousu alkulämpötilasta 110 °C – 320 °C nopeudella 30 °C min⁻¹, jonka jälkeen seosta pidettiin 7 minuuttia 320 °C:ssa. Injektiolämpötila oli 300 °C ja rajapinnan lämpötila 290 °C. Kolonnin kokonaisvirtaus oli 2,35 ml min⁻¹ ja lineaarinen nopeus 71,2 cm s⁻¹.

Aminohapot tunnistettiin spesifisten ionien perusteella (EZ:faast-kirjasto). Kvantifioinnissa käytettiin Sigma-Aldrich AA-18 standardiseosta, josta tehtiin kalibrointikäyrä. Näytteiden saantoprosentti laskettiin käyttämällä sisäisenä standardina norvaliinia (Sigma-Aldrich). EZ: faast -kirjaston avulla tunnistettiin kahdeksan välttämätöntä aminohappoa (fenyyialaniini, histidiini, isoleusiini, leusiini, lysiini, metioniini, treoniini ja valiini), sekä seitsemän ei välttämätöntä aminohappoa (alaniini, aspartaamihappo, glutamiinihappo, glysiini, proliini, seriini ja tyrosiini).

Amino- ja rasvahappojen, sekä sterolien analyyseistä saadut arvot siirrettiin Microsoft Excel 2016-ohjelmistoon, jonka avulla laskettiin tutkittavien biomolekyylien prosenttiosuudet (%) ja pitoisuudet hiilimolekyyliä kohti laskettuna (µg mg C⁻¹). Yleensä biomolekyylipitoisuudet ilmoitetaan hiiliyksikköä kohti, jonka tarkoituksena on kuvailla siirtotehokkuutta sestonista ylemmälle trofiatasolle. Tässä tutkimuksessa biomolekyylipitoisuudet laskettiin kasviplanktonin hiilibiomassaa kohti, koska kasviplankton on näiden kaikkien välttämättömien biomolekyylien ensisijainen lähde akvaattisessa ravintoverkoissa (Ruess ja Müller-Navarra 2019).

Vesijärvestä kerätyistä seston- ja äyriäiseläinplanktonnäytteistä tutkittiin sestonin tuottamien tärkeiden biomolekyylien kulkeutumista ja kerääntymistä eläinplanktonin kudoksiin lineaaristen regressiomallien avulla. Lineaaristen regressiomallien avulla tutkittiin myös sestonin ja äyriäiseläinplanktonin kudosten sisältämien biomolekyyli-pitoisuuksien (μg biomolekyyli mg C^{-1}) suhdetta biomassaan ($\mu\text{g l}^{-1}$).

2.6 Tilastolliset menetelmät

Aineiston tilastolliset testaukset tehtiin IBM SPSS Statistic 26 -ohjelmalla. Vedenlaatu-, kasvi- ja eläinplankton-, sekä aminohappo-, rasvahappo- ja steroliaineistojen normaalijakautuneisuus testattiin ensin Shapiro-Wilk-testin avulla. Normaalijakautuneen aineiston vertailussa käytettiin kahden riippumattoman otoksen välistä kaksisuuntaista T-testiä. Muussa tapauksessa käytettiin ei-parametrista Mann-Whitneyn U -testiä.

Järvien sisäisissä vertailuissa tilastolliset erot ja samankaltaisuudet testattiin yksisuuntaisella varianssianalyysillä (One-Way ANOVA). Varianssien yhtäsuuruutta verrattiin Levenen testillä. Varianssien ollessa yhtäsuuret, parittaisessa vertailussa käytettiin Post Hoc -testinä Tukeyn HSD -testiä ja varianssien ollessa eri suuret, Post Hoc -testinä käytettiin Dunnettin T3 -testiä.

Kasviplanktonyhteisöjen vertaamiseksi levät luokiteltiin rasvahappojen tuotannon perusteella DHA-syntetisoiviin (nielu-, panssariisiima-, kulta- ja silmälevät), EPA-syntetisoiviin (nielu-, panssariisiima-, kulta- ja piilevät), sekä ei-DHA tai ei-EPA syntetisoiviin (syanobakteerit ja viherlevät) leväluokkiin (Taipale ym. 2016).

Sestonin sisältämien välttämättömien biomolekyylien pitoisuuksien suhdetta äyriäiseläinplanktonin kudosten biomolekyyli-pitoisuuksiin ja biomassaan, sekä kudosten sisältämien biomolekyyli-pitoisuuksien suhdetta biomassaan tutkittiin yleistetyn lineaarisen mallin avulla. Regressiomallien merkitsevyys testattiin yksisuuntaisella varianssianalyysillä. Kaikissa tilastollisissa analyyseissä käytettiin 0,05 merkitsevyystasoa.

3 TULOKSET

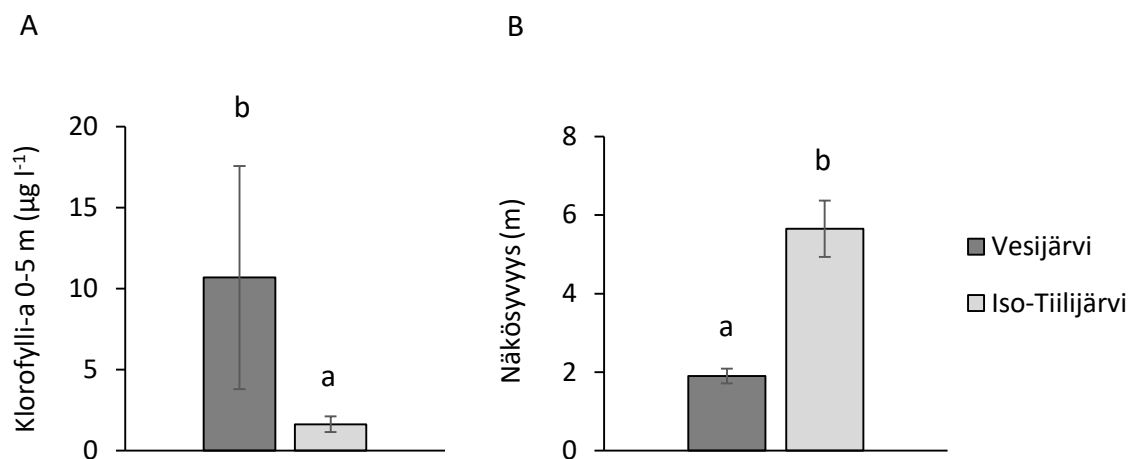
3.1 Tutkimusjärvien vedenlaatu

Vesijärvestä oli saatavilla koko tutkimusjakson (touko-lokakuu 2019) ajalta kattavat mittaustulokset erilaisista vedenlaatuun liittyvistä arvoista. Iso-Tiilijärven osalta typen, fosforin, sameuden ja pH:n mittauksista oli käytettävissä vain yksi tulos, jonka vuoksi kyseisten tekijöiden tilastollinen vertaaminen järvien välillä ei ollut mahdollista. Fosforipitoisuus oli Vesijärvessä ($28,5 \pm 6,9 \mu\text{g l}^{-1}$) yli kaksi kertaa suurempi kuin Iso-Tiilijärvessä ($12,0 \mu\text{g l}^{-1}$) ja typpipitoisuus oli Vesijärvessä ($423,8 \pm 40,3 \mu\text{g l}^{-1}$) lähes kaksinkertainen Iso-Tiilijärveen ($250 \mu\text{g l}^{-1}$) verrattuna. Veden pH mittausten mukaan Iso-Tiilijärven vesi luokiteltiin happamaksi (pH = 6,2, Taulukko 5). Metrin syvyydeltä mitattujen lämpötilojen (T-testi, $t_{13} = -0,285$, $p = 0,780$) ja happipitoisuuksien (T-testi, $t_{12} = -0,201$, $p = 0,844$) suhteen järvet eivät eronneet tilastollisesti toisistaan (Taulukko 5).

Taulukko 5. Tutkimusjakson (touko-lokakuu 2019) aikana mitatut kokonaistypen, kokonaisfosforin, sameuden, veden lämpötilan, happipitoisuuden ja pH:n keskiarvot (\pm keskihajonta) tutkimusjärvissä. Aineistoa on täydennetty Herttatietokannasta ja Vesijärvisäätiöltä saaduilla tiedoilla. Tilastollinen merkitsevyys (T-testi, $p = < 0,05$) on merkitty kirjaimin (b > a, $p < 0,05$).

Järvi	Kokonaisfosfori ($\mu\text{g P l}^{-1}$)	Kokonais-typpi ($\mu\text{g N l}^{-1}$)	Sameus (FNU)	Veden lämpötila ($^{\circ}\text{C}$)	Happipitoisuus (mg l^{-1})	pH
Vesijärvi	$28,5 \pm 6,9$ (n = 8)	$423,8 \pm 40,3$ (n = 8)	$2,7 \pm 1,1$ (n = 5)	$16,5 \pm 3,0^a$ (n = 16)	$9,5 \pm 0,7^a$ (n = 10)	$7,7 \pm 0,1$ (n = 9)
Iso-Tiilijärvi	12,0 (n = 1)	250,0 (n = 1)	1,2 (n = 1)	$17,3 \pm 0,8^a$ (n = 4)	$9,6 \pm 0,1^a$ (n = 4)	6,2 (n = 1)

Klorofylli-a pitoisuus oli Vesijärvessä korkeampi kuin Iso-Tiilijärvessä (T-testi, $t_{10} = 2,563$, $p = 0,028$; Kuva 3A) ja näkösyvyys oli Iso-Tiilijärvessä parempi kuin Vesijärvessä (T-testi, $t_{10} = -14,556$, $p = 0,000$; Kuva 3B).



Kuva 3. Vesijärven (n = 10) ja Iso-Tiilijärven (n = 6) klorofylli-a pitoisuuden (A) ja näkösyvyyden (B) keskiarvot tutkimusjakson kesä-elokuun 2019 aikana. Virhepalkit kuvaavat keskihajontaa. Tilastollinen merkitsevyys (T-testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin (b > a, $p < 0,05$).

3.2 Planktonyhteisö

3.2.1 Kasviplanktonyhteisön rakenne ja laatu

Tutkimusjakson kesä-elokuu 2019 aikana kasviplanktonin kokonaisbiomassa oli Vesijärvessä keskimäärin suurempi ($3,54 \pm 2,57 \text{ mg l}^{-1}$) kuin Iso-Tiilijärvessä ($0,36 \pm 0,04 \text{ mg l}^{-1}$), mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä (Taulukko 6). Tämä johtui Vesijärven kasviplanktonin kokonaisbiomassan suuresta vaihtelusta. Järvet erosivat toisistaan nielu-, pii- ja silmälevien biomassojen suhteen (Taulukko 6). Vesijärvessä oli enemmän nielu- ja piileviä, kun taas Iso-Tiilijärvessä oli enemmän silmäleviä (Taulukko 6). Vesijärvellä kasviplanktonin kokonaisbiomassa oli pienimmillään ($0,62 \text{ mg l}^{-1}$) heinäkuussa (23.7.2019), jolloin syanobakteerien ja viherlevien osuus kasviplanktonin biomassasta oli suurimmillaan (49,3 %).

Taulukko 6. Tutkimusjärvien kymmenen yleisimmän kasviplanktonluokan biomassojen ($\mu\text{g l}^{-1}$) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuun 2019 aikana.

Leväluokka	Biomassa ($\mu\text{g l}^{-1}$)		Testi	Analyysi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		t	df	p
Chlorophyceae	106,0 \pm 125,1	105,3 \pm 46,6	T-testi	0,008	4	0,994
Chrysophyceae	59,8 \pm 27,1	27,5 \pm 23,3	T-testi	1,279	4	0,270
Cryptophyceae	110,1 \pm 96,9	8,0 \pm 7,4	Mann-Whitney U		6*	0,050
Cyanophyceae	179,7 \pm 125,9	6,5 \pm 3,3	T-testi	1,945	2,003	0,191
Diatomophyceae	2847,9 \pm 1961,6	0,0 \pm 0,0	Mann-Whitney U		6*	0,046
Dinophyceae	103,7 \pm 42,7	24,6 \pm 24,1	T-testi	2,278	4	0,085
Euglenophyceae	4,8 \pm 4,0	142,0 \pm 46,5	T-testi	-3,222	3	0,049
Monads + flagellates	35,0 \pm 21,4	17,9 \pm 16,9	T-testi	1,218	4	0,290
Synurophyceae	57,8 \pm 36,3	19,5 \pm 18,2	T-testi	1,573	4	0,191
Trebouxiophyceae	23,2 \pm 22,7	16,5 \pm 9,1	T-testi	0,387	4	0,718
Kokonaisbiomassa	3538,2 \pm 2569,4	361,6 \pm 37,0	T-testi	2,141	2,001	0,166

* Mann-Whitneyn U -testin yhteydessä merkitty otoskoko n

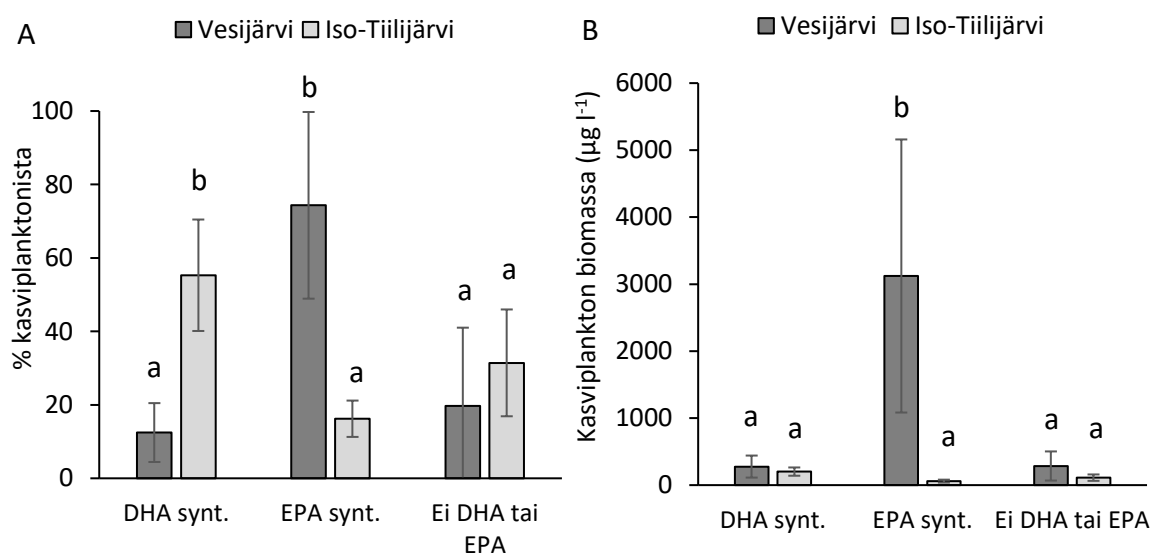
Vesijärvellä piilevät muodostivat yli puolet kasviplanktonin kokonaisbiomassasta, mutta Iso-Tiilijärvellä piileviä ei havaittu juuri lainkaan (Taulukko 7). Iso-Tiilijärvellä puolestaan silmälevät oli vallitsevin kasviplanktonluokka, mutta Vesijärvellä niitä oli varsin vähän (Taulukko 7).

Taulukko 7. Tutkimusjärvien kymmenen yleisimmän kasviplanktonluokan suhteellisten prosenttiosuuksien (% biomassasta) keskiarvo (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuun 2019 aikana.

Leväluokka	Suhteellinen osuus (% biomassasta)		Testi	Analyysi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		t	df	p
Chlorophyceae	3,4 \pm 2,3	29,7 \pm 14,4	T-testi	-2,556	4	0,063
Chrysophyceae	2,8 \pm 1,9	7,4 \pm 6,4	T-testi	-0,967	4	0,388
Cryptophyceae	4,2 \pm 2,4	2,4 \pm 2,3	T-testi	0,755	4	0,492
Cyanophyceae	16,4 \pm 19,9	1,8 \pm 0,8	T-testi	1,037	2,006	0,408
Diatomophyceae	62,0 \pm 32,2	0,0 \pm 0,0	Mann-Whitney U		6*	0,046
Dinophyceae	5,4 \pm 4,1	6,4 \pm 5,9	T-testi	-0,208	4	0,846
Euglenophyceae	0,1 \pm 0,0	39,1 \pm 12,1	T-testi	-4,543	2,000	0,045
Monads + flagellates	2,9 \pm 3,4	4,5 \pm 4,2	T-testi	-0,026	4	0,981
Synurophyceae	1,6 \pm 0,1	6,0 \pm 5,7	T-testi	-0,624	2,002	0,596
Trebouxiophyceae	0,8 \pm 0,5	4,5 \pm 2,4	T-testi	-2,098	4	0,104

* Mann-Whitneyn U -testin yhteydessä merkitty otoskoko n

Iso-Tiilijärvässä oli suhteessa enemmän (% kasviplanktonista) DHA-syntetisoivia leviä kuin Vesijärvässä (T-testi, $t_4 = -3,530$, $p = 0,024$; Kuva 4A), mutta DHA-syntetisoivien levien biomassojen suhteen järvien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa (T-testi, $t_4 = 0,603$, $p = 0,579$; Kuva 4B). Sen sijaan järvet erosivat toisistaan EPA-syntetisoivien levien suhteellisen osuuden (Mann-Whitney U-testi, $p = 0,050$; Kuva 4A) ja biomassojen suhteen (Mann-Whitney U-testi, $p = 0,050$; Kuva 4B). Ei-DHA:ta tai ei-EPA:a valmistavien syanobakteerien ja viherlevien prosentiosuuksien (T-testi, $t_4 = -0,641$, $p = 0,556$; Kuva 4A) ja biomassojen (T-testi, $t_4 = 2,193$, $p = 0,376$; Kuva 4B) suhteen järvien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa.

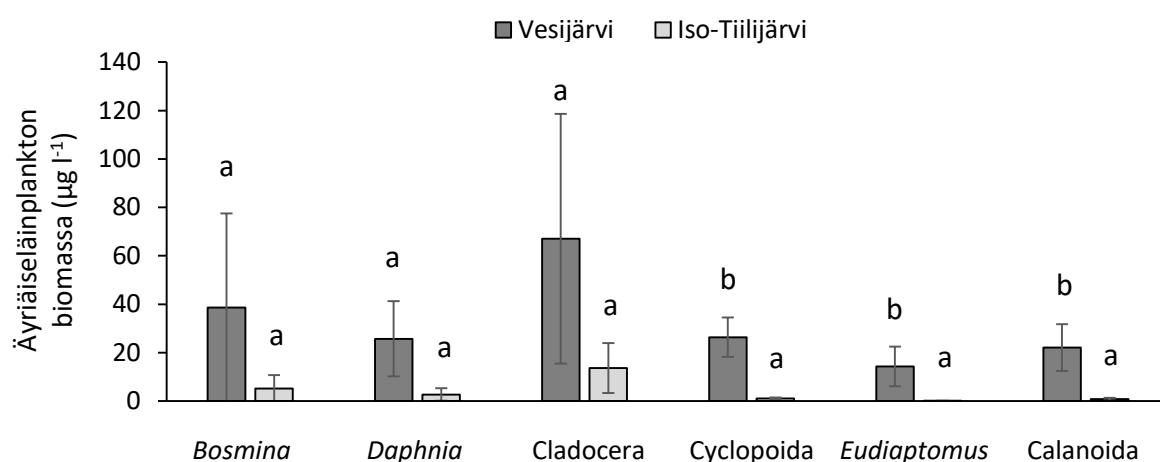


Kuva 4. DHA-syntetisoivien (nielu-, panssarisiima-, kulta- ja silmälevät), EPA-syntetisoivien (nielu-, panssarisiima-, kulta- ja piilevät) ja ei-DHA tai ei-EPA syntetisoivien (syanobakteerit ja viherlevät) levien suhteellisen prosentiosuuden (A) ja keskimääräisen biomassan (B) keskiarvo Vesijärvässä ($n = 3$ määrittystä) ja Iso-Tiilijärvässä ($n = 3$ määrittystä) tutkimusjakson aikana kesä-elokuussa 2019. Virhepalkit kuvaavat keskihajontaa. Järvien välinen tilastollinen merkitsevyys (T-testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin ($b > a$, $p < 0,05$).

3.2.2 Eläinplanktonyhteisön rakenne

Kesä-elokuun 2019 aikana äyriäiseläinplanktonin ($>50 \mu\text{m}$) biomassa ($\mu\text{g l}^{-1}$) oli Vesijärvässä ($n = 6$) suurempi ($115,5 \pm 59,1 \mu\text{g l}^{-3}$) (T-testi, $t_7 = 2,805$, $p = 0,026$) kuin Iso-Tiilijärvässä ($n = 3$) ($15,6 \pm 11,9 \mu\text{g l}^{-3}$). Vesikirppujen biomassojen osalta järvet eivät eronneet tilastollisesti toisistaan (T-testi_{Bosmina}: $t_{5,488} = 1,881$, $p = 0,114$;

T-testi_{Daphnia}: $t_7 = 2,246$, $p = 0,060$; Kuva 5). Sen sijaan hankajalkaisten biomassan osalta järvien välillä oli eroja, sillä Vesijärvellä kyklooppihankajalkaisten ja keijuhankajalkaisten biomassat olivat suurempia (T-testi_{Cyclopoida}: $t_7 = 4,747$, $p = 0,002$; T-testi_{Calanoida}: $t_{4,903} = 5,084$, $p = 0,004$; Kuva 5) kuin Iso-Tiilijärvellä. Yksittäisistä keijuhankajalkaisista *Eudiaptomus*-suvun biomassa oli Vesijärvessä suurempi (T-testi: $t_{5,001} = 3,864$, $p = 0,012$; Kuva 5) kuin Iso-Tiilijärvessä. Tutkimusjakson aikana biomassojen vaihtelu on suurinta Vesijärven vesikirpuissa (Kuva 5).

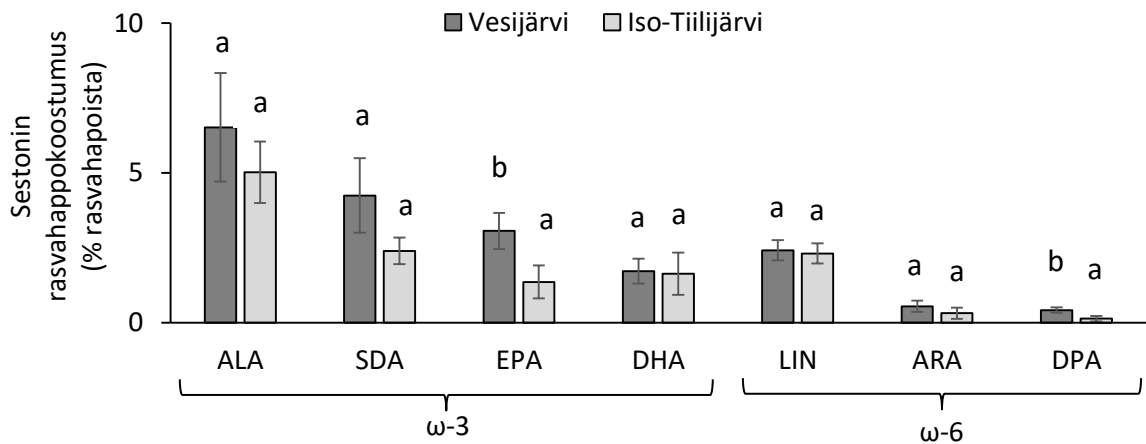


Kuva 5. Eri äyriäiseläinplanktonisukujen ja -lahkojen keskimääräinen biomassa ($\mu\text{g l}^{-1}$) Vesijärvessä ($n = 6$) ja Iso-Tiilijärvessä ($n = 3$) kesä-elokuussa 2019. Virhepalkit kuvaavat keskihajontaa. Tilastollinen merkitsevyys (T-testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin (b > a, $p < 0,05$).

3.3 Rasvahappokoostumus

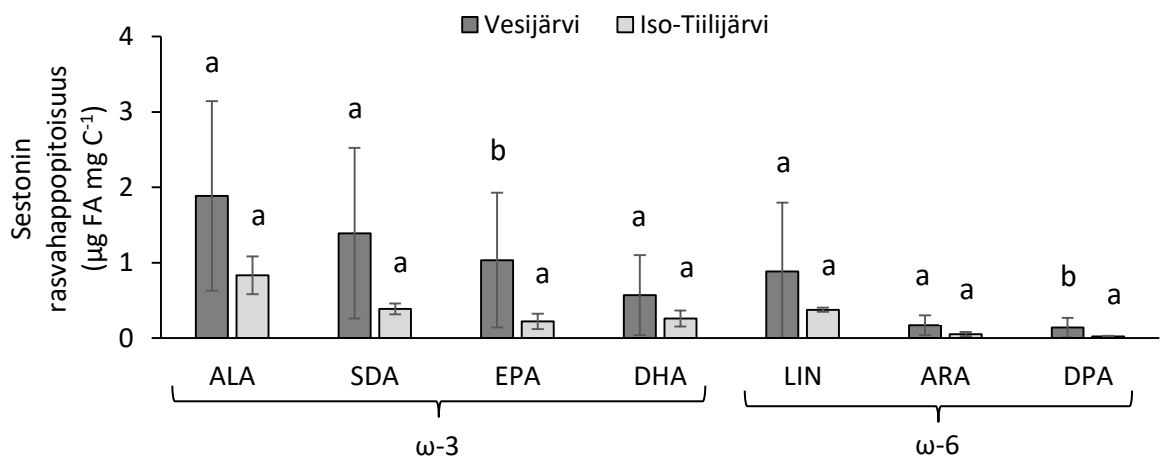
3.3.1. Sestonin rasvahappokoostumus ja -pitoisuus

Tutkimusjärvien sestonien välillä ei ollut eroja kokonais-omega-3 ja kokonais-omega-6 rasvahappojen suhteellisten prosenttiosuuksien suhteen (T-testi_{omega-3}: $t_7 = 2,159$, $p = 0,068$ ja T-testi_{omega-6}: $t_7 = 1,573$, $p = 0,160$). Järvien sestonit eivät myöskään eronneet ALA:n, SDA:n, DHA:n, LIN:n ja ARA:n suhteen, mutta Vesijärven sestonissa oli suhteessa enemmän EPA:a ja DPA:ta (T-testi_{EPA}: $t_7 = 3,605$, $p = 0,009$ ja T-testi_{DHA}: $t_7 = 4,340$, $p = 0,003$; Kuva 6) kuin Iso-Tiilijärvessä.



Kuva 6. Vesijärven (n = 6) ja Iso-Tiilijärven (n = 3) sestonin (< 50 μm fraktio) omega-3 ja omega-6 rasvahappojen pitoisuudet (% rasvahapoista) kesä-elokuussa 2019. Virhepalkit kuvaavat keskihajontaa. Tilastollinen merkitsevyys (T-testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin (b > a, $p < 0,05$).

Rasvahappojen hiiltä kohti laskettuna pitoisuutena Vesijärven sestonissa ($6,1 \pm 5,4 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$) oli enemmän rasvahappoja (Mann-Whitney U-testi, $p = 0,039$) kuin Iso-Tiilijärven sestonissa ($2,2 \pm 0,6 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$). Myös sestonin omega-3 rasvahappojen kokonaispitoisuus oli Vesijärvessä ($4,9 \pm 4,2 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$) suurempi (Mann-Whitney U-testi, $p = 0,039$; Kuva 7) kuin Iso-Tiilijärvessä ($1,7 \pm 0,6 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$). Yksittäisistä omega-3 rasvahapoista Vesijärven sestonissa oli enemmän EPA:a (Mann-Whitney U-testi, $p = 0,039$; Kuva 7) ja omega-6 rasvahapoista DPA:ta (Mann-Whitney U-testi, $p = 0,020$; Kuva 7) kuin Iso-Tiilijärven sestonissa.



Kuva 7. Vesijärven (n = 6) ja Iso-Tiilijärven (n = 3) sestonin (< 50 μm fraktio) omega-3 ja omega-6 rasvahappojen pitoisuudet hiiltä kohti laskettuna ($\mu\text{g FA C}^{-1}$) kesä-elokuussa 2019. Virhepalkit kuvaavat keskihajontaa. Tilastollinen merkitsevyys (Mann-Whitney U -testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin (b > a, $p < 0,05$).

3.3.2 Eläinplanktonin rasvahappokoostumus ja -pitoisuus

Bosmina- ja *Daphnia*-vesikirppujen sekä *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaisten rasvahappokoostumuksissa (%rasvahapoista) ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja järvien välillä (Taulukko 8). Sen sijaan kyklooppihankajalkaisten osalta järvien välillä oli tilastollisesti merkitseviä eroja. Iso-Tiilijärven kyklooppihankajalkaisissa oli suhteessa enemmän ALA:a kuin Vesijärven kyklooppihankajalkaisissa (Taulukko 8). Vastaavasti Vesijärven kyklooppihankajalkaisissa oli suhteessa enemmän EPA:a, DHA:ta, kokonais-omega-3 rasvahappoja ja DPA:ta kuin Iso-Tiilijärven kyklooppihankajalkaisissa (Taulukko 8). Eläinplanktonin kudosten sisältämien rasvahappojen hiiltä kohti laskettujen pitoisuuksien ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$) suhteen järvien välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja (Taulukko 9).

Taulukko 8. Molemmissa tutkimusjärvissä tavattujen eläinplanktonsukujen kudosten sisältämien rasvahappojen prosenttiosuuksien (% rasvahapoista) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuu 2019 aikana.

<i>Bosmina</i> rasvahappokoostumus (% rasvahapoista)					
Rasvahappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
ALA	7,2 \pm 2,8	9,6 \pm 2,2	-1,087	5	0,326
SDA	3,9 \pm 1,0	5,5 \pm 2,3	-1,370	5	0,229
EPA	16,5 \pm 1,5	17,2 \pm 4,6	-0,199	1,085	0,873
DHA	2,9 \pm 1,0	3,1 \pm 1,9	-0,196	5	0,853
ω -3	32,8 \pm 3,5	36,8 \pm 10,3	-0,537	1,092	0,680
LIN	3,4 \pm 1,1	2,9 \pm 0,7	0,585	5	0,584
ARA	4,5 \pm 1,3	6,0 \pm 2,3	-1,135	5	0,308
DPA	0,5 \pm 0,2	0,5 \pm 0,3	-0,042	5	0,968
ω -6	10,9 \pm 3,2	10,3 \pm 3,4	0,219	5	0,836
<i>Daphnia</i> rasvahappokoostumus (% rasvahapoista)					
Rasvahappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
ALA	6,8 \pm 1,5	7,9 \pm 2,0	-0,944	7	0,377
SDA	4,2 \pm 0,6	4,7 \pm 2,2	-0,391	2,148	0,731
EPA	13,9 \pm 3,4	12,6 \pm 2,4	0,589	7	0,574
DHA	1,9 \pm 0,3	2,3 \pm 2,6	-0,232	2,031	0,837
ω -3	28,8 \pm 2,1	29,4 \pm 7,6	-0,165	7	0,874
LIN	5,9 \pm 3,1	3,2 \pm 1,1	1,409	7	0,202
ARA	4,0 \pm 1,8	3,5 \pm 1,2	0,428	7	0,682
DPA	0,5 \pm 0,4	0,4 \pm 0,5	0,302	7	0,772
ω -6	12,5 \pm 3,4	9,1 \pm 2,8	1,481	7	0,182
<i>Cyclopoida</i> rasvahappokoostumus (% rasvahapoista)					
Rasvahappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
ALA	5,2 \pm 0,9	8,3 \pm 2,0	-3,236	6	0,018
SDA	2,4 \pm 0,9	2,7 \pm 0,4	-0,426	6	0,685
EPA	11,0 \pm 1,6	5,4 \pm 0,5	7,524	5,979	0,000
DHA	25,0 \pm 4,8	14,0 \pm 2,9	2,966	6	0,025
ω -3	45,6 \pm 5,7	33,9 \pm 5,5	2,520	6	0,045
LIN	3,3 \pm 1,0	2,6 \pm 0,1	0,931	6	0,388
ARA	2,7 \pm 1,0	1,7 \pm 0,8	1,366	6	0,221
DPA	1,8 \pm 0,4	1,0 \pm 0,2	2,846	6	0,029
ω -6	9,3 \pm 1,5	6,8 \pm 0,5	2,270	6	0,064
<i>Eudiaptomus</i> rasvahappokoostumus (% rasvahapoista)					
Rasvahappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
ALA	3,9 \pm 0,8	4,4 \pm 5,4	-0,146	1,018	0,907
SDA	2,4 \pm 0,8	6,9 \pm 9,0	-0,705	1,006	0,609
EPA	13,1 \pm 2,4	6,4 \pm 6,8	1,352	1,105	0,389
DHA	18,6 \pm 4,7	12,4 \pm 12,2	0,690	1,121	0,605
ω -3	38,9 \pm 7,4	31,0 \pm 33,9	0,327	1,038	0,797
LIN	4,1 \pm 3,2	5,1 \pm 5,6	-0,320	5	0,762
ARA	2,1 \pm 0,7	0,9 \pm 1,0	1,931	5	0,111
DPA	2,3 \pm 1,0	1,4 \pm 1,4	1,019	5	0,355
ω -6	9,9 \pm 4,7	9,1 \pm 8,5	0,174	5	0,869

Taulukko 9. Molemmissa tutkimusjärvissä tavattujen eläinplanktonsukujen kudosten sisältämien rasvahappojen hiiltä kohti laskettujen pitoisuuksien ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuu 2019 aikana.

<i>Bosmina</i> rasvahappopitoisuus ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$)					
Rasvahappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
ALA	10,5 \pm 4,2	7,3 \pm 1,3	1,034	5	0,349
SDA	6,4 \pm 3,2	4,0 \pm 0,1	1,667	4,014	0,171
EPA	26,3 \pm 11,8	12,8 \pm 2,0	1,521	5	0,189
DHA	5,0 \pm 3,5	2,1 \pm 0,5	1,091	5	0,325
ω -3	48,2 \pm 20,5	22,2 \pm 2,7	1,434	5	0,211
LIN	6,0 \pm 4,2	2,2 \pm 0,3	1,966	4,071	0,119
ARA	7,1 \pm 4,2	4,4 \pm 0,1	0,874	5	0,422
DPA	0,9 \pm 0,5	0,4 \pm 0,1	1,298	5	0,251
ω -6	13,9 \pm 8,7	6,9 \pm 0,3	1,794	4,02	0,147
<i>Daphnia</i> rasvahappopitoisuus ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$)					
Rasvahappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
ALA	10,5 \pm 2,7	10,9 \pm 4,4	-0,161	7	0,877
SDA	6,7 \pm 1,7	6,3 \pm 2,2	0,330	7	0,751
EPA	21,3 \pm 4,9	17,2 \pm 3,4	1,313	7	0,231
DHA	3,1 \pm 0,9	2,7 \pm 2,8	0,223	2,179	0,843
ω -3	41,7 \pm 7,5	37,0 \pm 9,3	0,817	7	0,441
LIN	9,2 \pm 5,1	4,5 \pm 2,1	1,513	7	0,174
ARA	5,9 \pm 2,2	4,9 \pm 1,5	0,725	7	0,492
DPA	0,7 \pm 0,4	0,5 \pm 0,4	0,762	7	0,471
ω -6	15,9 \pm 5,5	9,9 \pm 3,5	1,698	7	0,133
<i>Cyclopoida</i> rasvahappopitoisuus ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$)					
Rasvahappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
ALA	7,0 \pm 5,0	10,8 \pm 1,2	-1,005	6	0,354
SDA	3,5 \pm 3,0	3,6 \pm 1,0	-0,025	6	0,981
EPA	13,9 \pm 7,0	7,1 \pm 0,4	1,295	6	0,243
DHA	32,0 \pm 18,7	18,2 \pm 1,3	0,988	6	0,361
ω -3	56,4 \pm 32,9	39,7 \pm 1,1	0,681	6	0,521
LIN	4,6 \pm 3,3	3,4 \pm 0,6	0,461	6	0,661
ARA	3,4 \pm 1,9	2,3 \pm 1,4	0,773	6	0,469
DPA	2,2 \pm 1,3	1,2 \pm 0,0	1,045	6	0,336
ω -6	10,2 \pm 6,1	7,0 \pm 1,9	0,709	6	0,505
<i>Eudiaptomus</i> rasvahappopitoisuus ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$)					
Rasvahappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
ALA	4,4 \pm 1,8	8,8 \pm 11,8	-0,516	1,018	0,695
SDA	2,7 \pm 1,3	14,0 \pm 19,3	-0,824	1,004	0,561
EPA	14,7 \pm 4,4	12,2 \pm 15,7	0,220	1,064	0,860
DHA	20,9 \pm 7,0	23,2 \pm 29,1	-0,110	1,046	0,930
ω -3	42,7 \pm 13,6	58,1 \pm 75,8	-0,285	1,026	0,823
LIN	4,0 \pm 1,6	9,8 \pm 12,8	-0,644	1,013	0,634
ARA	2,4 \pm 0,8	1,7 \pm 2,2	0,395	1,105	0,755
DPA	2,5 \pm 0,7	2,6 \pm 3,3	-0,060	1,034	0,962
ω -6	8,8 \pm 2,4	14,1 \pm 18,3	-0,412	1,014	0,751

3.3.3 Eläinplanktonsukujen väliset erot

Tutkimusjärvien sisällä eri äyriäiseläinplanktonsukujen kudosten sisältämien rasvahappojen koostumuksia (% rasvahapoista) ja pitoisuuksia ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$) vertailtiin erikseen vesikirppujen ja hankajalkaisten välillä. *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen rasvahappokoostumuksissa (Taulukko 10) ja pitoisuuksissa (Taulukko 11) ei ollut eroja kummassakaan tutkimusjärvessä. Vesijärvellä *Leptodora*-petovesikirpuissa oli *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppuihin verrattuna suhteessa vähemmän ALA:a, SDA:ta ja kokonais-omega-3 rasvahappoja (Taulukko 10). Kun taas *Leptodora*-petovesikirppujen SDA-pitoisuus oli tilastollisesti pienempi kuin *Daphnia*-vesikirpuilla (Taulukko 11). Iso-Tiilijärvellä *Daphnia*-vesikirpuissa oli suhteessa vähemmän EPA:a ja ARA:a kuin *Holopedium*-vesikirpuissa (Taulukko 10). Lisäksi ARA-pitoisuus oli *Daphnia*-vesikirpuissa tilastollisesti merkitsevästi pienempi kuin *Holopedium*-vesikirpuissa (Taulukko 11).

Hankajalkaisten rasvahappopitoisuudet eivät eronneet toisistaan kummassakaan tutkimusjärvessä (Taulukko 11). Omega-3 rasvahappojen suhteellisissa osuuksissa oli kuitenkin eroja. Vesijärvessä *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisissa oli suhteessa vähemmän ALA:a ja SDA:ta kuin kyklooppihankajalkaisissa ja *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaisissa (Taulukko 10). Lisäksi keijuhankajalkaisilla ALA:n osuus oli tilastollisesti suurempi kuin *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaisilla (Taulukko 10). EPA:n osuus sen sijaan oli *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisilla tilastollisesti suurempi kuin kyklooppihankajalkaisilla (Taulukko 10). Iso-Tiilijärvellä *Heterocope*-keijuhankajaisissa oli sen sijaan suhteessa enemmän EPA:a ja DHA:ta kuin kyklooppihankajalkaisissa (Taulukko 10).

Taulukko 10. Vesijärven ja Iso-Tiilijärven vesikirppujen, sekä hankajalkaisten kudosten sisältämien rasvahappojen suhteellisten osuuksien (% rasvahapoista) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä ryhmien välinen tilastollinen vertailu (ANOVA) kesä-elokuussa 2019. Tilastollinen merkitsevyys (Tukey HSD -testi tai Dunnett T3-testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin ($c > b > a$, $p < 0,05$).

Vesijärven vesikirppujen rasvahappokoostumus (% rasvahapoista)							
Rasvahappo	<i>Bosmina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Leptodora</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Bo)	(Da)	(Le)		Bo	Da	Le
ALA	7,2 \pm 2,8	6,8 \pm 1,5	3,4 \pm 1,4	0,010	b	b	a
SDA	3,9 \pm 1,0	4,2 \pm 0,6	0,8 \pm 0,2	0,000	b	b	a
EPA	16,5 \pm 1,5	13,9 \pm 3,4	16,0 \pm 5,6	0,522	a	a	a
DHA	2,9 \pm 1,0	1,9 \pm 0,3	2,0 \pm 0,7	0,085	a	a	a
ω -3	32,8 \pm 3,5	28,8 \pm 2,1	22,3 \pm 7,0	0,044	b	ab	a
LIN	3,4 \pm 1,1	5,9 \pm 3,1	3,3 \pm 0,9	0,079	a	a	a
ARA	4,5 \pm 1,3	4,0 \pm 1,8	4,7 \pm 2,2	0,816	a	a	a
DPA	0,5 \pm 0,2	0,5 \pm 0,4	0,3 \pm 0,1	0,253	a	a	a
ω -6	10,9 \pm 3,2	12,5 \pm 3,4	8,3 \pm 2,6	0,391	a	a	a

Vesijärven hankajalkaisten rasvahappokoostumus (% rasvahapoista)							
Rasvahappo	<i>Cyclopoida</i>	<i>Eudiaptomus</i>	<i>Limnocalanus</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Cy)	(Eu)	(Li)		Cy	Eu	Li
ALA	5,2 \pm 0,9	3,9 \pm 0,8	2,5 \pm 0,7	0,000	c	b	a
SDA	2,4 \pm 0,9	2,4 \pm 0,8	1,0 \pm 0,3	0,008	b	b	a
EPA	11,0 \pm 1,6	13,1 \pm 2,4	14,3 \pm 2,3	0,051	a	ab	b
DHA	25,0 \pm 4,8	18,6 \pm 4,7	24,2 \pm 4,4	0,081	a	a	a
ω -3	43,6 \pm 5,9	37,9 \pm 7,5	41,3 \pm 6,4	0,350	a	a	a
LIN	3,3 \pm 1,0	4,1 \pm 3,2	3,0 \pm 2,1	0,699	a	a	a
ARA	2,7 \pm 1,0	2,1 \pm 0,7	2,3 \pm 0,9	0,513	a	a	a
DPA	1,8 \pm 0,4	2,3 \pm 1,0	1,9 \pm 0,7	0,442	a	a	a
ω -6	7,8 \pm 1,2	8,5 \pm 4,7	7,2 \pm 2,5	0,770	a	a	a

Iso-Tiilijärven vesikirppujen rasvahappokoostumus (% rasvahapoista)							
Rasvahappo	<i>Bosmina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Holopedium</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Bo)	(Da)	(Ho)		Bo	Da	Ho
ALA	9,6 \pm 2,2	7,9 \pm 2,0	4,7 \pm 0,8	0,051	a	a	a
SDA	5,5 \pm 2,3	4,7 \pm 2,2	3,2 \pm 2,5	0,579	a	a	a
EPA	17,2 \pm 4,6	12,6 \pm 2,4	22,0 \pm 3,7	0,052	ab	a	b
DHA	3,1 \pm 1,9	2,3 \pm 2,6	1,8 \pm 0,9	0,778	a	a	a
ω -3	35,3 \pm 10,9	27,4 \pm 7,5	31,7 \pm 7,7	0,600	a	a	a
LIN	2,9 \pm 0,7	3,2 \pm 1,1	4,8 \pm 1,2	0,193	a	a	a
ARA	6,0 \pm 2,3	3,5 \pm 1,2	10,1 \pm 2,4	0,027	ab	a	b
DPA	0,5 \pm 0,3	0,4 \pm 0,5	0,3 \pm 0,2	0,798	a	a	a
ω -6	9,4 \pm 3,4	7,1 \pm 2,3	15,2 \pm 3,7	0,061	a	a	a

Iso-Tiilijärven hankajalkaisten rasvahappokoostumus (% rasvahapoista)							
Rasvahappo	<i>Cyclopoida</i>	<i>Eudiaptomus</i>	<i>Heterocope</i>	ANOVA	Dunnett T3 testi		
	(Cy)	(Eu)	(He)		Cy	Eu	He
ALA	8,3 \pm 2,0	4,4 \pm 5,4	3,9 \pm 0,6	0,322	a	a	a
SDA	2,7 \pm 0,4	6,9 \pm 9,0	2,5 \pm 0,2	0,573	a	a	a
EPA	5,4 \pm 0,5	6,4 \pm 6,8	14,4 \pm 1,3	0,081	a	ab	b
DHA	14,0 \pm 2,9	12,4 \pm 12,3	33,8 \pm 3,4	0,040	a	ab	b
ω -3	30,5 \pm 5,0	30,2 \pm 33,5	54,7 \pm 3,8	0,287	a	a	a
LIN	2,6 \pm 0,1	5,1 \pm 5,6	2,7 \pm 0,6	0,623	a	a	a
ARA	1,7 \pm 0,8	0,9 \pm 1,0	2,6 \pm 0,8	0,201	a	a	a
DPA	1,0 \pm 0,2	1,4 \pm 1,4	2,9 \pm 1,2	0,230	a	a	a
ω -6	5,3 \pm 0,7	7,4 \pm 8,0	8,2 \pm 2,6	0,772	a	a	a

Taulukko 11. Vesijärven ja Iso-Tiilijärven vesikirppujen sekä hankajalkaisten kudosten sisältämien rasvahappojen hiiltä kohti laskettujen pitoisuuksien ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä ryhmien välinen tilastollinen vertailu (ANOVA) kesä-elokuussa 2019. Tilastollinen merkitsevyys (Tukey HSD - testi tai Dunnettin T3 -testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin ($b > a$, $p < 0,05$).

Vesijärven vesikirppujen rasvahappopitoisuus ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$)							
Rasvahappo	<i>Bosmina</i> (Bo)	<i>Daphnia</i> (Da)	<i>Leptodora</i> (Le)	ANOVA	Tukeyn testi		
					Bo	Da	Le
ALA	10,5 \pm 4,2	10,5 \pm 2,7	5,8 \pm 2,9	0,039	a	a	a
SDA	6,4 \pm 3,2	6,7 \pm 1,7	1,5 \pm 1,0	0,001	ab	b	a
EPA	26,3 \pm 11,8	21,3 \pm 4,9	26,8 \pm 11,1	0,571	a	a	a
DHA	5,0 \pm 3,5	3,1 \pm 0,9	3,9 \pm 2,6	0,480	a	a	a
ω -3	48,2 \pm 20,5	41,7 \pm 7,5	38,0 \pm 16,6	0,560	a	a	a
LIN	6,0 \pm 4,2	9,2 \pm 5,1	6,9 \pm 4,9	0,508	a	a	a
ARA	7,1 \pm 4,2	5,9 \pm 2,2	7,5 \pm 2,9	0,675	a	a	a
DPA	0,9 \pm 0,5	0,7 \pm 0,4	0,5 \pm 0,3	0,411	a	a	a
ω -6	13,9 \pm 8,7	15,9 \pm 5,5	14,9 \pm 6,8	0,905	a	a	a

Vesijärven hankajalkaisten rasvahappopitoisuus ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$)							
Rasvahappo	Cyclopoida (Cy)	<i>Eudiaptomus</i> (Eu)	<i>Limnocalanus</i> (Li)	ANOVA	Tukeyn testi		
					Cy	Eu	Li
ALA	7,0 \pm 5,0	4,4 \pm 1,8	2,6 \pm 1,0	0,085	a	a	a
SDA	3,5 \pm 3,0	2,7 \pm 1,3	1,1 \pm 0,4	0,127	a	a	a
EPA	13,9 \pm 7,0	14,7 \pm 4,4	15,2 \pm 5,8	0,926	a	a	a
DHA	32,0 \pm 18,7	20,9 \pm 7,0	27,0 \pm 15,8	0,497	a	a	a
ω -3	56,4 \pm 32,9	42,7 \pm 13,6	45,9 \pm 22,3	0,634	a	a	a
LIN	4,6 \pm 3,3	4,0 \pm 1,6	2,8 \pm 1,0	0,382	a	a	a
ARA	3,4 \pm 1,9	2,4 \pm 0,8	2,8 \pm 2,3	0,632	a	a	a
DPA	2,2 \pm 1,3	2,5 \pm 0,7	1,9 \pm 1,1	0,725	a	a	a
ω -6	10,2 \pm 6,1	8,8 \pm 2,4	7,5 \pm 4,4	0,581	a	a	a

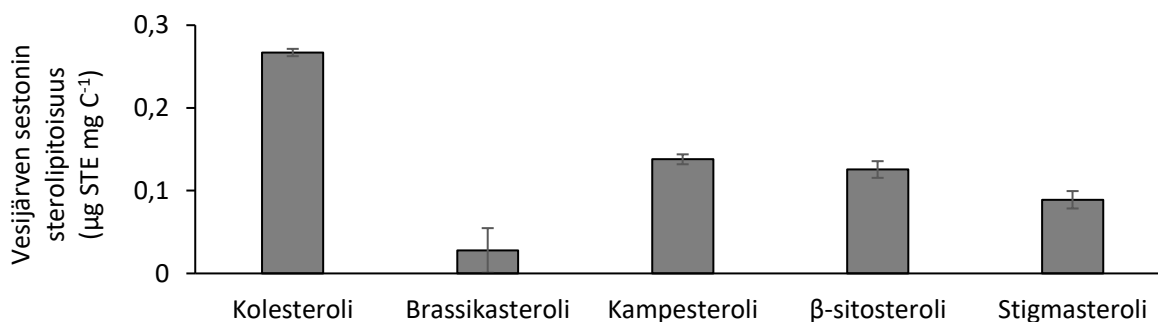
Iso-Tiilijärven vesikirppujen rasvahappopitoisuus ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$)							
Rasvahappo	<i>Bosmina</i> (Bo)	<i>Daphnia</i> (Da)	<i>Holopedium</i> (Ho)	ANOVA	Tukeyn testi		
					Bo	Da	Ho
ALA	7,3 \pm 1,3	10,9 \pm 4,4	5,6 \pm 1,4	0,181	a	a	a
SDA	4,0 \pm 0,1	6,3 \pm 2,2	4,1 \pm 3,5	0,547	a	a	a
EPA	12,8 \pm 2,0	17,2 \pm 3,4	26,2 \pm 6,5	0,056	a	a	a
DHA	2,1 \pm 0,5	2,7 \pm 2,9	2,2 \pm 1,3	0,925	a	a	a
ω -3	26,2 \pm 2,7	37,0 \pm 9,3	38,1 \pm 12,1	0,418	a	a	a
LIN	2,2 \pm 0,3	4,5 \pm 2,1	5,7 \pm 1,7	0,187	a	a	a
ARA	4,4 \pm 0,1	4,9 \pm 1,5	12,0 \pm 3,8	0,032	ab	a	b
DPA	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,6	0,4 \pm 0,3	0,949	a	a	a
ω -6	6,9 \pm 0,3	9,9 \pm 3,5	18,1 \pm 5,7	0,066	a	a	a

Iso-Tiilijärven hankajalkaisten rasvahappopitoisuus ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$)							
Rasvahappo	Cyclopoida (Cy)	<i>Eudiaptomus</i> (Eu)	<i>Heterocope</i> (He)	ANOVA	Dunnettin T3 testi		
					Cy	Eu	He
ALA	10,8 \pm 1,2	8,8 \pm 11,7	5,1 \pm 5,7	0,622	a	a	a
SDA	3,6 \pm 1,0	14,0 \pm 19,3	3,3 \pm 1,5	0,495	a	a	a
EPA	7,1 \pm 0,4	12,2 \pm 15,7	17,9 \pm 7,4	0,513	a	a	a
DHA	18,2 \pm 1,3	23,2 \pm 29,1	41,0 \pm 12,9	0,384	a	a	a
ω -3	39,7 \pm 1,1	58,1 \pm 75,8	67,2 \pm 24,3	0,781	a	a	a
LIN	3,4 \pm 0,6	9,8 \pm 12,8	3,2 \pm 0,7	0,534	a	a	a
ARA	2,3 \pm 1,4	1,7 \pm 2,2	3,0 \pm 0,4	0,607	a	a	a
DPA	1,2 \pm 0,0	2,6 \pm 3,3	3,3 \pm 0,7	0,501	a	a	a
ω -6	7,0 \pm 1,9	14,1 \pm 18,3	9,5 \pm 1,6	0,749	a	a	a

3.4 Sterolikoostumus

3.4.1 Sestonin sterolikoostumus ja -pitoisuus

Vesijärven sestonin yleisin steroli oli kolesteroli ($42,0 \pm 1,6$ %). Seuraavaksi yleisimmät olivat kampesteroli ($21,7 \pm 0,3$ %), β -sitosteroli ($19,4 \pm 0,7$ %), stigmasteroli ($14,2 \pm 2,0$ %) ja brassikasteroli ($2,8 \pm 2,6$ %). Elo-lokakuun aikana sterolien osuuksissa ja pitoisuuksissa ei havaittu suurta vaihtelua. Suurinta vaihtelua oli brassikasterolin suhteen, jota oli muihin verrattuna vähemmän (Kuva 8).



Kuva 8. Vesijärven sestonin hiiltä kohti laskettujen sterolipitoisuuksien ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$) keskiarvot elo-lokakuussa 2019. Virhepalkit kuvaavat keskihajontaa.

3.4.2 Eläinplanktonin sterolikoostumus ja -pitoisuus

Molemmissa tutkimusjärvissä vesikirppujen ja hankajalkaisten kudosten päästeroli oli kolesteroli. Sen osuus molempien järvien eläinplanktonissa oli yli 90 % kaikista tutkituista steroleista (Taulukko 12). Kummassakaan tutkimusjärvessä kolesterolin suhteellisissa osuuksissa ja hiiltä kohti lasketuissa pitoisuuksissa ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja eri eläinplanktonisukujen välillä (Taulukko 12 ja 13). Sen sijaan pienempinä pitoisuuksina esiintyvien sterolien suhteen tutkimusjärvien välillä oli tilastollisesti merkitseviä eroja. Vesijärven *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuissa oli tilastollisesti enemmän kampesterolia kuin Iso-Tiilijärven yksilöissä (Taulukko 13). Lisäksi Vesijärven *Daphnia*-vesikirpuissa oli enemmän brassikasterolia ja β -sitosterolia kuin Iso-Tiilijärven yksilöissä. Hankajalkaisista Vesijärven kyklooppihankajalkaiset sisälsivät enemmän kampesterolia kuin Iso-Tiilijärven yksilöt ja Iso-Tiilijärven *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaisissa oli puolestaan enemmän stigmasterolia kuin Vesijärven yksilöissä (Taulukko 13).

Taulukko 12. Molemmissa tutkimusjärvisä tavattujen eläinplanktonisukujen kudosten sisältämien sterolien prosenttiosuuksien (% tutkituista steroleista) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuu 2019 aikana.

<i>Bosmina</i> sterolikoostumus (% tutkituista steroleista)					
Steroli	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Kolesteroli	90,6 \pm 5,9	97,0 \pm 0,1	-1,831	6	0,117
Brassikasteroli	0,6 \pm 0,4	0,8 \pm 0,2	-0,713	6	0,503
β -sitosteroli	6,4 \pm 6,1	1,1 \pm 0,2	1,455	6	0,196
Kampesteroli	2,4 \pm 0,7	0,8 \pm 0,0	4,647	4,069	0,009
Stigmasteroli	0,1 \pm 0,2	0,2 \pm 0,1	-1,308	6	0,239
<i>Daphnia</i> sterolikoostumus (% tutkituista steroleista)					
Steroli	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Kolesteroli	91,6 \pm 2,6	97,8 \pm 0,4	-5,707	5,449	0,002
Brassikasteroli	0,9 \pm 0,4	0,4 \pm 0,3	3,024	7	0,019
β -sitosteroli	3,8 \pm 2,9	0,7 \pm 0,1	2,618	5,048	0,047
Kampesteroli	3,4 \pm 0,7	1,0 \pm 0,1	5,997	7	0,001
Stigmasteroli	0,2 \pm 0,2	0,1 \pm 0,2	0,222	7	0,830
<i>Cyclopoida</i> sterolikoostumus (% tutkituista steroleista)					
Steroli	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Kolesteroli	97,3 \pm 0,5	98,2 \pm 0,4	-2,318	5	0,068
Brassikasteroli	0,2 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	1,799	5	0,132
β -sitosteroli	0,5 \pm 0,3	0,8 \pm 0,0	-1,422	5	0,214
Kampesteroli	1,9 \pm 0,6	0,7 \pm 0,1	2,699	5	0,043
Stigmasteroli	0,2 \pm 0,2	0,3 \pm 0,4	-0,550	5	0,606
<i>Eudiaptomus</i> sterolikoostumus (% tutkituista steroleista)					
Steroli	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Kolesteroli	93,1 \pm 1,8	92,7 \pm 0,4	0,288	4	0,788
Brassikasteroli	0,2 \pm 0,2	0,2 \pm 0,3	0,271	4	0,800
β -sitosteroli	0,9 \pm 0,3	1,7 \pm 0,2	-2,684	4	0,055
Kampesteroli	5,7 \pm 1,4	4,6 \pm 0,4	1,041	4	0,357
Stigmasteroli	0,0 \pm 0,1	0,9 \pm 0,0	-14,638	4	0,000

Taulukko 13. Molemmassa tutkimusjärvissä tavattujen eläinplanktonsukujen kudosten sisältämien sterolien hiiltä kohti laskettujen pitoisuuksien ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuu 2019 aikana.

<i>Bosmina</i> sterolipitoisuus ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$)					
Steroli	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Kolesteroli	19,2 \pm 1,5	17,7 \pm 1,7	1,331	6	0,232
Brassikasteroli	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0	-0,106	6	0,919
β -sitosteroli	1,5 \pm 1,6	0,2 \pm 0,1	1,378	6	0,217
Kampesteroli	0,5 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0	5,578	4,284	0,004
Stigmasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	-0,797	6	0,456
Yhteensä	21,4 \pm 2,7	18,2 \pm 1,8	1,806	6	0,121
<i>Daphnia</i> sterolipitoisuus ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$)					
Steroli	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Kolesteroli	22,0 \pm 4,2	19,1 \pm 4,2	0,985	7	0,357
Brassikasteroli	0,2 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0	2,951	7	0,021
β -sitosteroli	0,9 \pm 0,7	0,1 \pm 0,0	2,589	5,091	0,048
Kampesteroli	0,8 \pm 0,3	0,2 \pm 0,0	3,760	7	0,007
Stigmasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,518	7	0,620
Yhteensä	24,0 \pm 4,5	19,5 \pm 4,2	1,454	7	0,189
<i>Cyclopoidea</i> sterolipitoisuus ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$)					
Steroli	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Kolesteroli	15,6 \pm 2,6	12,8 \pm 0,5	2,282	4,673	0,075
Brassikasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	1,896	5	0,116
β -sitosteroli	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	-0,868	5	0,425
Kampesteroli	0,3 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	3,534	4,145	0,023
Stigmasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	-0,522	5	0,624
Yhteensä	16,0 \pm 2,7	13,0 \pm 0,7	2,336	4,884	0,068
<i>Eudiaptomus</i> sterolipitoisuus ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$)					
Steroli	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Kolesteroli	14,2 \pm 0,8	12,8 \pm 1,3	1,728	4	0,159
Brassikasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,472	4	0,661
β -sitosteroli	0,1 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	-1,734	4	0,158
Kampesteroli	0,9 \pm 0,2	0,6 \pm 0,0	1,362	4	0,245
Stigmasteroli	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	-10,825	4	0,000
Yhteensä	15,3 \pm 0,9	13,8 \pm 1,3	1,660	4	0,172

3.4.3 Eläinplanktonsukujen väliset erot

Kummassakaan tutkimusjärvessä ei *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen välillä ollut tilastollisesti merkitseviä eroja sterolikoostumuksen tai -pitoisuuksien suhteen (Taulukko 14 ja 15). Sen sijaan Vesijärven *Leptodora*-petovesikirpuissa sterolien kokonaispitoisuus oli tilastollisesti suurempi kuin *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuissa (Taulukko 15). Yksittäisistä steroleista *Leptodora*-petovesikirpuissa oli *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppuihin verrattuna enemmän kolesterolia ja stigmasterolia (Taulukko 15). Toisaalta Vesijärven *Leptodora*-petovesikirpuissa oli *Bosmina*-vesikirppuihin verrattuna suhteessa vähemmän β -sitosterolia (Taulukko 14).

Hankajalkaisten osalta sterolien kokonaispitoisuuksissa ei ollut eroja kummassakaan tutkimusjärvessä (Taulukko 15). Sen sijaan molemmissa tutkimusjärvissä kyklooppihankajakaisissa oli suhteessa enemmän kolesterolia kuin keijuhankajakaisissa (Taulukko 14). Toisaalta molemmissa tutkimusjärvissä kyklooppihankajalkaisilla kampesterolin osuus ja hiiltä kohti laskettu pitoisuus olivat tilastollisesti pienempiä kuin keijuhankajalkaisilla (Taulukko 14 ja 15). Iso-Tiilijärvellä *Eudiatomus*-keijuhankajalkaisissa oli enemmän kampesterolia kuin *Heterocope*-keijuhankajalkaisissa (Taulukko 15) ja Vesijärvellä *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisissa oli enemmän β -sitosterolia kuin kyklooppihankajalkaisissa (Taulukko 15).

Taulukko 14. Vesijärven ja Iso-Tiilijärven vesikirppujen, sekä hankajalkaisten sterolien suhteellisten osuuksien (% tutkituista steroleista) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä ryhmien välinen tilastollinen vertailu (ANOVA) kesäelokuun 2019 aikana. Tilastollinen merkitsevyys (Tukey HSD-testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin ($c > b > a$, $p < 0,05$).

Vesijärven vesikirppujen sterolikoostumus (% tutkituista steroleista)							
Steroli	<i>Bosmina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Leptodora</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Bo)	(Da)	(Le)		Bo	Da	Le
Kolesteroli	90,6 \pm 5,9	91,6 \pm 2,6	95,3 \pm 2,6	0,134	a	a	a
Brassikasteroli	0,6 \pm 0,4	0,9 \pm 0,4	0,5 \pm 0,3	0,092	a	a	a
β -sitosteroli	6,4 \pm 6,1	3,8 \pm 2,9	0,2 \pm 0,2	0,042	b	ab	a
Kampesteroli	2,4 \pm 0,7	3,4 \pm 0,7	2,0 \pm 1,4	0,074	a	a	a
Stigmasteroli	0,1 \pm 0,2	0,2 \pm 0,2	2,0 \pm 1,1	0,000	a	a	b

Vesijärven hankajalkaisten sterolikoostumus (% tutkituista steroleista)							
Steroli	<i>Cyclopoida</i>	<i>Eudiaptomus</i>	<i>Limnocalanus</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Cy)	(Eu)	(Li)		Cy	Eu	Li
Kolesteroli	97,3 \pm 0,5	93,1 \pm 1,8	94,0 \pm 1,3	0,001	b	a	a
Brassikasteroli	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,2	0,2 \pm 0,1	0,920	a	a	a
β -sitosteroli	0,5 \pm 0,3	0,9 \pm 0,3	1,3 \pm 0,4	0,020	a	ab	b
Kampesteroli	1,9 \pm 0,6	5,7 \pm 1,4	4,5 \pm 1,7	0,003	a	b	b
Stigmasteroli	0,2 \pm 0,2	0,0 \pm 0,1	0,0 \pm 0,1	0,276	a	a	a

Iso-Tiilijärven vesikirppujen sterolikoostumus (% tutkituista steroleista)							
Steroli	<i>Bosmina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Holopedium</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Bo)	(Da)	(Ho)		Bo	Da	Ho
Kolesteroli	97,0 \pm 0,1	97,8 \pm 0,4	97,8 \pm 0,6	0,113	a	a	a
Brassikasteroli	0,8 \pm 0,2	0,4 \pm 0,3	0,4 \pm 0,3	0,220	a	a	a
β -sitosteroli	1,1 \pm 0,2	0,7 \pm 0,1	0,8 \pm 0,2	0,049	a	a	a
Kampesteroli	0,8 \pm 0,0	1,0 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1	0,073	a	a	a
Stigmasteroli	0,2 \pm 0,1	0,1 \pm 0,2	0,1 \pm 0,1	0,369	a	a	a

Iso-Tiilijärven hankajalkaisten sterolikoostumus (% tutkituista steroleista)							
Steroli	<i>Cyclopoida</i>	<i>Eudiaptomus</i>	<i>Heterocope</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Cy)	(Eu)	(He)		Cy	Eu	He
Kolesteroli	98,2 \pm 0,4	92,7 \pm 0,4	90,5 \pm 1,9	0,009	b	a	a
Brassikasteroli	0,0 \pm 0,0	0,2 \pm 0,3	0,1 \pm 0,1	0,550	a	a	a
β -sitosteroli	0,8 \pm 0,0	1,7 \pm 0,2	2,0 \pm 0,6	0,101	a	a	a
Kampesteroli	0,7 \pm 0,1	4,6 \pm 0,4	2,0 \pm 0,4	0,001	a	c	b
Stigmasteroli	0,3 \pm 0,4	0,9 \pm 0,0	5,5 \pm 2,8	0,073	a	a	a

Taulukko 15. Vesijärven ja Iso-Tiilijärven vesikirppujen, sekä hankajalkaisten hiiltä kohti laskettujen sterolipitoisuuksien ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä ryhmien välinen tilastollinen vertailu (ANOVA) kesä-elokuun 2019 aikana. Tilastollinen merkitsevyys (Tukey HSD-testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin ($c > b > a$, $p < 0,05$).

Vesijärven vesikirppujen sterolipitoisuus ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$)							
Steroli	<i>Bosmina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Leptodora</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Bo)	(Da)	(Le)		Bo	Da	Le
Kolesteroli	19,2 \pm 1,5	22,0 \pm 4,2	28,3 \pm 5,4	0,005	a	a	b
Brassikasteroli	0,1 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,191	a	a	a
β -sitosteroli	1,5 \pm 1,6	0,9 \pm 0,7	0,1 \pm 0,1	0,067	a	a	a
Kampesteroli	0,5 \pm 0,1	0,8 \pm 0,3	0,6 \pm 0,4	0,234	a	a	a
Stigmasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,6 \pm 0,3	0,000	a	a	b
Yhteensä	21,4 \pm 2,7	24,0 \pm 4,5	29,7 \pm 5,3	0,018	a	a	b
Vesijärven hankajalkaisten sterolipitoisuus ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$)							
Steroli	Cyclopoida	<i>Eudiaptomus</i>	<i>Limnocalanus</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Cy)	(Eu)	(Li)		Cy	Eu	Li
Kolesteroli	15,6 \pm 2,6	14,2 \pm 0,8	14,9 \pm 1,1	0,537	a	a	a
Brassikasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,905	a	a	a
β -sitosteroli	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,031	a	ab	b
Kampesteroli	0,3 \pm 0,1	0,9 \pm 0,2	0,7 \pm 0,3	0,006	a	b	b
Stigmasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,322	a	a	a
Yhteensä	16,0 \pm 2,7	15,3 \pm 0,9	15,9 \pm 1,1	0,820	a	a	a
Iso-Tiilijärven vesikirppujen sterolipitoisuus ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$)							
Steroli	<i>Bosmina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Holopedium</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Bo)	(Da)	(Ho)		Bo	Da	Ho
Kolesteroli	17,7 \pm 1,7	19,1 \pm 4,2	25,0 \pm 5,8	0,161	a	a	a
Brassikasteroli	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1	0,233	a	a	a
β -sitosteroli	0,2 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0	0,2 \pm 0,1	0,344	a	a	a
Kampesteroli	0,1 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0	0,065	a	a	a
Stigmasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,674	a	a	a
Yhteensä	18,2 \pm 1,8	19,5 \pm 4,2	25,6 \pm 5,9	0,162	a	a	a
Iso-Tiilijärven hankajalkaisten sterolipitoisuus ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$)							
Steroli	Cyclopoida	<i>Eudiaptomus</i>	<i>Heterocope</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Cy)	(Eu)	(He)		Cy	Eu	He
Kolesteroli	12,8 \pm 0,5	12,8 \pm 1,3	11,6 \pm 0,3	0,207	a	a	a
Brassikasteroli	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,491	a	a	a
β -sitosteroli	0,1 \pm 0,0	0,2 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,092	a	a	a
Kampesteroli	0,0 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	0,3 \pm 0,0	0,000	a	c	b
Stigmasteroli	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,7 \pm 0,4	0,078	a	a	a
Yhteensä	13,0 \pm 0,7	13,8 \pm 1,3	12,8 \pm 0,5	0,449	a	a	a

3.5 Aminohappokoostumus

3.5.1 Sestonin aminohappokoostumus ja -pitoisuus

Iso-Tiilijärven sestonissa oli kokonaisuudessaan enemmän sekä välttämättömiä, että ei-välttämättömiä aminohappoja kuin Vesijärvessä (Taulukko 16). Välttämättömiin aminohappoihin kuuluvan treoniinin pitoisuuden suhteen järvet eivät eronneet toisistaan, mutta treoniinin suhteellinen osuus oli Vesijärvessä suurempi kuin Iso-Tiilijärvessä (Taulukko 16 ja 17). Toisaalta Iso-Tiilijärvessä oli suhteessa enemmän ei-välttämättömiin aminohappoihin kuuluvia glysiiniä ja tyrosiiniä kuin Vesijärvessä (Taulukko 17).

Taulukko 16. Vesijärven (n = 6) ja Iso-Tiilijärven (n = 3) sestonin sisältämien aminohappojen hiiltä kohti laskettujen pitoisuuksien ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuun 2019 aikana. Tilastollisesti merkitsevät erot on lihavoitu.

Tutkimusjärvien sestonin aminohappopitoisuus ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$)						
Välttämättömät aminohapot	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	Analyysi	t	df	p
Fenyyialaniini	5,4 \pm 1,4	11,6 \pm 0,5	T-testi	-6,982	7	0,000
Histidiini	2,0 \pm 0,7	4,0 \pm 0,4	T-testi	-4,604	7	0,002
Isoleusiini	5,7 \pm 1,9	12,3 \pm 0,9	T-testi	-5,456	7	0,001
Leusiini	8,6 \pm 2,7	20,0 \pm 1,6	T-testi	-6,523	7	0,000
Lysiini	6,4 \pm 1,9	14,5 \pm 1,1	T-testi	-6,709	7	0,000
Metioniini	0,2 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2	T-testi	-5,579	7	0,001
Treoniini	7,3 \pm 2,2	10,9 \pm 2,7	T-testi	-2,161	7	0,067
Valiini	8,1 \pm 2,4	16,9 \pm 1,0	T-testi	-6,007	7	0,001
Yhteensä	43,7 \pm 12,8	90,7 \pm 6,6	T-testi	-5,818	7	0,001
Ei-välttämättömät aminohapot	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	Analyysi	t	df	p
Alaniini	7,2 \pm 1,9	14,5 \pm 1,6	T-testi	-5,515	7	0,001
Aspartaamihappo	15,3 \pm 5,3	30,2 \pm 2,5	T-testi	-4,482	7	0,003
Glutamiinihappo	19,8 \pm 5,8	44,3 \pm 2,2	T-testi	-6,834	7	0,000
Glysiini	6,7 \pm 1,5	19,0 \pm 1,0	T-testi	-12,649	7	0,000
Proliini	5,7 \pm 1,7	10,5 \pm 1,0	T-testi	-4,537	7	0,003
Seriini	6,2 \pm 1,4	16,1 \pm 1,8	T-testi	-9,307	7	0,000
Tyrosiini	0,4 \pm 0,2	7,0 \pm 1,2	T-testi	-10,242	2,056	0,009
Yhteensä	61,2 \pm 17,2	141,6 \pm 3,2	T-testi	-7,755	7	0,000

Taulukko 17. Vesijärven (n = 6) ja Iso-Tiilijärven (n = 3) sestonin sisältämien aminohappojen suhteellisten osuuksien (% aminohapoista) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuun 2019 aikana. Tilastollisesti merkitsevät erot on lihavoitu.

Tutkimusjärvien sestonin aminohappokoostumus (% aminohapoista)						
Välttämättömät aminohapot	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	Analyysi	t	df	p
Fenyylialaniini	5,2 \pm 0,5	5,0 \pm 0,3	T-testi	0,558	7	0,594
Histidiini	1,8 \pm 0,2	1,7 \pm 0,1	T-testi	0,874	7	0,411
Isoleusiini	5,4 \pm 0,4	5,3 \pm 0,1	T-testi	0,417	7	0,689
Leusiini	8,2 \pm 0,5	8,6 \pm 0,3	T-testi	-1,301	7	0,235
Lysiini	6,1 \pm 0,5	6,2 \pm 0,2	T-testi	-0,399	7	0,702
Metioniini	0,2 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	T-testi	-0,930	7	0,383
Treoniini	6,8 \pm 1,1	4,7 \pm 0,8	T-testi	2,519	7	0,040
Valiini	7,7 \pm 0,5	7,3 \pm 0,2	T-testi	1,226	7	0,260
Ei-välttämättömät aminohapot	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	Analyysi	t	df	p
Alaniini	6,9 \pm 0,3	6,3 \pm 0,5	T-testi	2,165	7	0,067
Aspartaamihappo	14,4 \pm 1,6	12,9 \pm 0,6	T-testi	1,453	7	0,189
Glutamiinihappo	19,0 \pm 1,1	19,0 \pm 1,2	T-testi	0,018	7	0,986
Glysiini	6,5 \pm 0,6	8,2 \pm 0,3	T-testi	-4,842	6,841	0,002
Proliini	5,4 \pm 0,8	4,5 \pm 0,3	T-testi	1,676	7	0,138
Seriini	6,0 \pm 0,9	6,9 \pm 0,5	T-testi	-1,455	7	0,189
Tyrosiini	0,4 \pm 0,1	3,1 \pm 0,5	T-testi	-7,480	2,091	0,015

3.5.2 Eläinplanktonin aminohappokoostumus ja -pitoisuus

Bosmina- ja *Daphnia*-vesikirppujen kudosten sisältämien välttämättömien ja ei-välttämättömien aminohappojen suhteellisissa osuuksissa (Taulukko 18) ja kokonaispitoisuuksissa (Taulukko 19) ei ollut merkitseviä eroja järvien välillä. Sen sijaan yksittäisistä aminohapoista Iso-Tiilijärven *Daphnia*-vesikirpuissa aspartaamihappopitoisuus oli korkeampi kuin Vesijärven yksilöissä, mutta *Bosmina*-vesikirppujen osalta tilanne oli päinvastainen (Taulukko 19). Iso-Tiilijärven *Daphnia*-vesikirpuissa oli myös enemmän ei-välttämättömiin aminohappoihin kuuluvaa glysiiniä kuin Vesijärven yksilöissä (Taulukko 19). Hankajalkaisten osalta Vesijärven kyklooppihankajalkaisissa oli suhteessa enemmän lysiiniä kuin Iso-Tiilijärven yksilöissä ja Iso-Tiilijärven kyklooppihankajalkaisissa oli puolestaan suhteessa enemmän ei-välttämättömiin aminohappoihin kuuluvaa aspartaamihappoa kuin Vesijärven yksilöissä (Taulukko 18).

Taulukko 18. Molemmassa tutkimusjärvissä tavattujen eläinplanktonsukujen kudosten sisältämien aminohappojen prosenttiosuuksien (% tutkituista aminohapoista) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuu 2019 aikana. Tilastollisesti merkitsevät erot ja välttämättömät aminohapot on lihavoitu.

<i>Bosmina</i> aminohappokoostumus (% aminohapoista)					
Aminohappo	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Fenyylialaniini	5,1 \pm 0,6	5,3 \pm 0,8	-0,431	5	0,685
Histidiini	1,8 \pm 0,7	2,7 \pm 1,9	-0,896	5	0,411
Isoleusiini	4,5 \pm 0,9	4,9 \pm 1,1	-0,396	5	0,708
Leusiini	7,3 \pm 1,3	7,2 \pm 1,7	0,040	5	0,969
Lysiini	7,2 \pm 1,0	8,1 \pm 2,7	-0,625	5	0,559
Metioniini	0,2 \pm 0,1	0,4 \pm 0,2	-1,504	5	0,193
Treoniini	5,0 \pm 2,6	3,5 \pm 2,7	0,736	5	0,495
Valiini	9,1 \pm 1,8	9,3 \pm 1,7	-0,162	5	0,877
Alaniini	9,2 \pm 2,9	10,8 \pm 3,8	-0,642	5	0,549
Aspartaamihappo	15,3 \pm 3,8	12,7 \pm 3,9	0,869	5	0,424
Glutamiinihappo	17,7 \pm 12,0	10,6 \pm 4,4	0,958	5	0,382
Glysiini	5,8 \pm 1,0	6,0 \pm 0,7	-0,294	5	0,780
Proliini	6,8 \pm 1,6	6,9 \pm 0,4	-0,190	5	0,857
Seriini	4,2 \pm 0,9	6,0 \pm 2,3	-1,491	5	0,196
Tyrosiini	1,0 \pm 2,0	5,7 \pm 2,8	-2,559	5	0,051
<i>Daphnia</i> aminohappokoostumus (% aminohapoista)					
Aminohappo	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Fenyylialaniini	5,2 \pm 0,7	5,1 \pm 0,8	0,163	4	0,878
Histidiini	1,7 \pm 0,4	1,5 \pm 0,2	0,591	4	0,586
Isoleusiini	5,0 \pm 1,2	4,6 \pm 0,3	0,449	4	0,677
Leusiini	7,5 \pm 1,3	7,5 \pm 0,5	-0,005	4	0,996
Lysiini	7,2 \pm 0,9	6,8 \pm 0,0	0,929	3,021	0,421
Metioniini	0,4 \pm 0,2	0,2 \pm 0,1	1,921	4	0,127
Treoniini	4,2 \pm 1,7	5,9 \pm 0,7	-1,622	4,000	0,180
Valiini	8,6 \pm 1,8	9,2 \pm 1,4	-0,343	4	0,749
Alaniini	7,6 \pm 1,9	8,2 \pm 0,0	-0,437	4	0,685
Aspartaamihappo	14,9 \pm 3,9	16,6 \pm 2,1	-0,566	4	0,601
Glutamiinihappo	21,3 \pm 11,2	17,6 \pm 2,2	0,439	4	0,683
Glysiini	5,2 \pm 1,0	6,2 \pm 0,0	-0,992	4	0,377
Proliini	6,0 \pm 1,2	6,9 \pm 1,2	-0,832	4	0,452
Seriini	3,5 \pm 1,1	3,7 \pm 1,1	-0,189	4	0,860
Tyrosiini	1,4 \pm 1,5	0,0 \pm 0,1	1,822	3,017	0,165

Cyclopoida aminohappokoostumus (% aminohapoista)					
Aminohappo	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Fenyylialaniini	5,9 ± 1,1	5,9 ± 0,8	0,054	3	0,960
Histidiini	1,6 ± 0,6	1,4 ± 0,2	0,606	3	0,587
Isoleusiini	5,2 ± 0,6	4,9 ± 0,0	0,736	3	0,515
Leusiini	10,4 ± 1,9	7,4 ± 0,7	2,030	3	0,135
Lysiini	8,6 ± 0,5	6,1 ± 0,5	5,342	3	0,013
Metioniini	0,7 ± 0,6	0,0 ± 0,0	1,739	3	0,180
Treoniini	3,6 ± 1,4	1,5 ± 0,7	1,850	3	0,161
Valiini	8,7 ± 1,4	9,6 ± 0,4	-0,918	3	0,426
Alaniini	12,0 ± 3,8	10,3 ± 0,5	0,592	3	0,595
Aspartaamihappo	11,7 ± 1,2	17,3 ± 2,7	-3,279	3	0,046
Glutamiinihappo	9,9 ± 5,7	21,0 ± 0,3	-2,590	3	0,081
Glysiini	6,7 ± 1,5	6,3 ± 0,2	0,401	3	0,715
Proliini	7,5 ± 1,4	5,8 ± 0,5	1,684	3	0,191
Seriini	4,0 ± 0,9	2,6 ± 1,9	1,175	3	0,325
Tyrosiini	3,3 ± 3,1	0,0 ± 0,0	1,444	3	0,245

Taulukko 19. Molemmassa tutkimusjärvissä tavattujen eläinplanktonsukujen kudosten sisältämien aminohappojen hiiltä kohti laskettujen pitoisuuksien ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä tilastollinen vertailu tutkimusjakson kesä-elokuu 2019 aikana. Tilastollisesti merkitsevät erot ja välttämättömät aminohapot on lihavoitu.

<i>Bosmina</i> aminohappopitoisuus ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$)					
Aminohappo	Järvi		T-testi		
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi	t	df	p
Fenyylialaniini	21,0 ± 3,7	17,3 ± 2,6	1,463	5	0,203
Histidiini	7,8 ± 4,9	9,5 ± 6,9	-0,390	5	0,713
Isoleusiini	18,4 ± 2,4	15,8 ± 3,3	1,229	5	0,274
Leusiini	29,6 ± 4,5	23,9 ± 7,2	1,299	5	0,251
Lysiini	29,6 ± 5,8	27,3 ± 11,3	0,353	5	0,738
Metioniini	0,5 ± 0,4	1,1 ± 0,5	-1,675	5	0,155
Treoniini	21,2 ± 10,7	13,1 ± 12,3	0,926	5	0,397
Valiini	37,1 ± 6,6	30,2 ± 1,3	1,758	5	0,139
Välttämättömät yht.	165,2 ± 28,9	138,2 ± 39,8	1,050	5	0,342
Alaniini	36,7 ± 8,9	34,2 ± 6,4	0,406	5	0,702
Aspartaamihappo	61,3 ± 8,0	41,1 ± 9,8	3,026	5	0,029
Glutamiinihappo	83,5 ± 75,6	36,1 ± 21,1	1,032	5	0,349
Glysiini	23,5 ± 3,5	19,6 ± 3,8	1,404	5	0,219
Proliini	27,0 ± 2,8	22,8 ± 3,9	1,662	5	0,157
Seriini	17,1 ± 3,8	20,8 ± 12,0	-0,599	5	0,575
Tyrosiini	5,6 ± 11,2	18,8 ± 9,6	-1,628	5	0,164
Ei-välttämättömät yht.	254,7 ± 84,5	193,5 ± 45,8	1,121	5	0,313

<i>Daphnia</i> aminohappopitoisuus ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$)					
Aminohappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
Fenyylialaniini	20,1 ± 7,0	24,2 ± 4,5	-0,732	4	0,505
Histidiini	7,1 ± 3,9	7,2 ± 0,9	-0,044	3,565	0,967
Isoleusiini	19,1 ± 5,6	21,9 ± 2,1	-0,655	4	0,548
Leusiini	29,3 ± 9,8	35,7 ± 3,2	-1,198	3,878	0,299
Lysiini	28,4 ± 10,6	32,2 ± 1,0	-0,708	3,098	0,528
Metioniini	1,8 ± 1,5	0,9 ± 0,3	0,819	4	0,459
Treoniini	19,0 ± 13,3	27,6 ± 2,8	-0,856	4	0,440
Valiini	32,3 ± 7,9	43,5 ± 7,6	-1,660	4	0,172
Välttämättömät yht.	157,0 ± 58,7	193,2 ± 15,1	-0,821	4	0,458
Alaniini	27,8 ± 5,4	38,8 ± 1,0	-2,691	4	0,055
Aspartaamihappo	54,1 ± 9,7	78,4 ± 8,0	-3,006	4	0,040
Glutamiinihappo	97,1 ± 99,3	83,1 ± 12,6	0,187	4	0,861
Glysiini	19,4 ± 4,2	29,2 ± 0,5	-3,141	4	0,035
Prolini	23,1 ± 6,9	32,5 ± 5,1	-1,664	4	0,171
Seriini	15,5 ± 9,2	17,5 ± 5,0	-0,277	4	0,795
Tyrosiini	7,2 ± 8,0	0,2 ± 0,3	1,771	3,013	0,174
Ei-välttämättömät yht.	244,2 ± 132,6	279,7 ± 3,8	-0,356	4	0,740
<i>Cyclopoida</i> aminohappopitoisuus ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$)					
Aminohappo	Järvi		t	T-testi	
	Vesijärvi	Iso-Tiilijärvi		df	p
Fenyylialaniini	16,5 ± 9,6	29,8 ± 2,8	-1,805	3	0,169
Histidiini	5,6 ± 5,3	6,9 ± 0,6	-0,322	3	0,768
Isoleusiini	15,2 ± 9,4	25,3 ± 5,6	-1,332	3	0,275
Leusiini	28,7 ± 15,6	37,8 ± 5,1	-0,765	3	0,500
Lysiini	26,4 ± 19,1	31,0 ± 4,5	-0,320	3	0,770
Metioniini	1,4 ± 1,0	0,0 ± 0,0	1,851	3	0,161
Treoniini	12,7 ± 11,6	8,2 ± 5,6	0,492	3	0,656
Valiini	24,4 ± 13,5	49,4 ± 9,4	-2,237	3	0,111
Välttämättömät yht.	130,9 ± 83,5	188,5 ± 33,6	-0,889	3	0,439
Alaniini	30,8 ± 11,2	53,1 ± 14,6	-1,968	3	0,144
Aspartaamihappo	34,0 ± 19,9	90,5 ± 34,2	-2,418	3	0,094
Glutamiinihappo	36,8 ± 40,9	108,3 ± 26,2	-2,138	3	0,122
Glysiini	18,1 ± 8,1	32,2 ± 6,2	-2,051	3	0,133
Prolini	20,7 ± 10,3	30,1 ± 9,2	-1,030	3	0,379
Seriini	13,3 ± 11,2	12,2 ± 6,9	0,116	3	0,915
Tyrosiini	13,4 ± 17,3	0,0 ± 0,0	1,039	3	0,375
Ei-välttämättömät yht.	167,1 ± 116,0	326,4 ± 83,5	-1,642	3	0,199

3.5.3 Elänplanktonsukujen väliset erot

Iso-Tiilijärvellä vesikirppujen aminohappoprofiilit eivät eronneet toisistaan. Vesijärvellä *Daphnia*-vesikirpuissa oli suhteessa enemmän metioniinia kuin *Bosmina*-vesikirpuissa ja *Laptodora*-petovesikirpuissa (Taulukko 20). Hiiltä kohti laskettuna pitoisuutena Iso-Tiilijärven *Daphnia*-vesikirput sisälsivät enemmän aspartaamihappoa kuin *Bosmina*- ja *Holopedium*-vesikirput (Taulukko 21).

Vesijärvellä hankajalkaisten aminohappokoostumuksessa ei ollut eroja. Iso-Tiilijärvellä *Heterocope*-keijuhankajalkaisissa oli suhteessa enemmän leusiinia, metioniinia ja lysiiniä kuin kyklooppihankajalkaisissa (Taulukko 20). Toisaalta kyklooppihankajalkaisilla ei-välttämättömiin aminohappoihin kuuluvan glutamiinihapon osuus ja hiiltä kohti laskettu pitoisuus olivat molemmat tilastollisesti suurempia kuin *Heterocope*-keijuhankajalkaisilla (Taulukko 20 ja 21).

Taulukko 20. Vesijärven ja Iso-Tiilijärven vesikirppujen, sekä hankajalkaisten aminohappojen suhteellisten osuuksien (% aminohapoista) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä ryhmien välinen tilastollinen vertailu (ANOVA) kesäelokuun 2019 aikana. Tilastollinen merkitsevyys (Tukey HSD-testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin ($b > a$, $p < 0,05$). Välttämättömät aminohapot on lihavoitu.

Vesijärven vesikirppujen aminohappokoostumus (% aminohapoista)							
Aminohappo	<i>Bosmina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Leptodora</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Bo)	(Da)	(Le)		Bo	Da	Le
Fenyylialaniini	5,1 \pm 0,6	5,2 \pm 0,7	5,5 \pm 0,2	0,534	a	a	a
Histidiini	1,8 \pm 0,7	1,7 \pm 0,4	1,9 \pm 0,8	0,940	a	a	a
Isoleusiini	4,5 \pm 0,9	5,0 \pm 1,2	5,9 \pm 0,8	0,182	a	a	a
Leusiini	7,3 \pm 1,3	7,5 \pm 1,3	9,3 \pm 0,6	0,059	a	a	a
Lysiini	7,2 \pm 1,0	7,2 \pm 0,9	8,6 \pm 0,7	0,077	a	a	a
Metioniini	0,2 \pm 0,1	0,4 \pm 0,2	0,3 \pm 0,0	0,041	a	b	a
Treoniini	5,0 \pm 2,6	4,2 \pm 1,7	3,6 \pm 0,7	0,582	a	a	a
Valiini	9,1 \pm 1,8	8,6 \pm 1,8	9,5 \pm 1,5	0,783	a	a	a
Alaniini	9,2 \pm 2,9	7,6 \pm 1,9	9,9 \pm 2,9	0,457	a	a	a
Aspartaamihappo	15,3 \pm 3,8	14,9 \pm 3,9	13,1 \pm 2,7	0,653	a	a	a
Glutamiinihappo	17,7 \pm 12,0	21,3 \pm 11,2	14,2 \pm 7,6	0,647	a	a	a
Glysiini	5,8 \pm 1,0	5,2 \pm 1,2	5,3 \pm 0,6	0,743	a	a	a
Proliniini	6,8 \pm 1,6	6,0 \pm 1,2	6,5 \pm 0,7	0,724	a	a	a
Seriini	4,2 \pm 0,9	3,5 \pm 1,1	4,6 \pm 0,9	0,348	a	a	a
Tyrosiini	1,0 \pm 2,0	1,4 \pm 1,5	1,8 \pm 2,2	0,862	a	a	a

Vesijärven hankajalkaisten aminohappokoostumus (% aminohapoista)							
Aminohappo	<i>Cyclopoida</i>	<i>Eudiaptomus</i>	<i>Limnocalanus</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Cy)	(Eu)	(Li)		Cy	Eu	Li
Fenyylialaniini	5,9 \pm 1,1	5,7 \pm 0,1	5,4 \pm 0,3	0,566	a	a	a
Histidiini	1,6 \pm 0,6	2,1 \pm 1,2	1,8 \pm 1,2	0,882	a	a	a
Isoleusiini	5,2 \pm 0,6	6,1 \pm 0,7	6,1 \pm 0,5	0,193	a	a	a
Leusiini	10,4 \pm 1,9	10,2 \pm 1,5	9,5 \pm 0,9	0,667	a	a	a
Lysiini	8,6 \pm 0,5	9,1 \pm 1,6	8,2 \pm 1,2	0,632	a	a	a
Metioniini	0,7 \pm 0,6	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,0	0,143	a	a	a
Treoniini	3,6 \pm 1,4	3,9 \pm 0,6	3,6 \pm 0,9	0,959	a	a	a
Valiini	8,7 \pm 1,4	8,9 \pm 0,3	9,2 \pm 1,1	0,811	a	a	a
Alaniini	12,0 \pm 3,8	9,6 \pm 1,7	11,1 \pm 2,5	0,663	a	a	a
Aspartaamihappo	11,7 \pm 1,2	13,2 \pm 6,0	15,0 \pm 3,4	0,509	a	a	a
Glutamiinihappo	9,9 \pm 5,7	10,4 \pm 3,0	11,5 \pm 3,5	0,891	a	a	a
Glysiini	6,7 \pm 1,5	5,5 \pm 0,5	6,1 \pm 1,0	0,492	a	a	a
Proliniini	7,5 \pm 1,4	5,6 \pm 0,2	5,9 \pm 0,9	0,123	a	a	a
Seriini	4,0 \pm 0,9	5,1 \pm 0,4	4,3 \pm 1,4	0,577	a	a	a
Tyrosiini	3,3 \pm 3,1	4,2 \pm 6,0	2,2 \pm 4,3	0,851	a	a	a

Iso-Tiilijärven vesikirppujen aminohappokoostumus (% aminohapoista)							
Aminohappo	<i>Bosmina</i> (Bo)	<i>Daphnia</i> (Da)	<i>Holopedium</i> (Ho)	ANOVA	Tukeyn testi		
					Bo	Da	Ho
Fenyylialaniini	5,3 ± 0,8	5,1 ± 0,8	5,4 ± 1,3	0,955	a	a	a
Histidiini	2,7 ± 1,9	1,5 ± 0,2	2,0 ± 1,2	0,664	a	a	a
Isoleusiini	4,9 ± 1,1	4,6 ± 0,3	5,5 ± 2,1	0,784	a	a	a
Leusiini	7,2 ± 1,7	7,5 ± 0,5	9,0 ± 2,9	0,602	a	a	a
Lysiini	8,1 ± 2,7	6,8 ± 0,0	7,5 ± 2,5	0,839	a	a	a
Metioniini	0,4 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,340	a	a	a
Treoniini	3,5 ± 2,7	5,9 ± 0,7	4,3 ± 3,0	0,639	a	a	a
Valiini	9,3 ± 1,7	9,2 ± 1,4	9,1 ± 2,6	0,987	a	a	a
Alaniini	10,8 ± 3,8	8,2 ± 0,0	9,9 ± 4,8	0,777	a	a	a
Aspartaamihappo	12,7 ± 3,9	16,6 ± 2,1	10,6 ± 2,6	0,206	a	a	a
Glutamiinihappo	10,6 ± 4,4	17,6 ± 2,2	16,8 ± 20,2	0,801	a	a	a
Glysiini	6,0 ± 0,7	6,2 ± 0,0	5,1 ± 1,5	0,500	a	a	a
Proliini	6,9 ± 0,4	6,9 ± 1,2	6,8 ± 2,0	0,995	a	a	a
Seriini	6,0 ± 2,3	3,7 ± 1,1	5,2 ± 1,4	0,441	a	a	a
Tyrosiini	5,7 ± 2,8	0,0 ± 0,1	2,5 ± 2,5	0,113	a	a	a

Iso-Tiilijärven hankajalkaisten aminohappokoostumus (% aminohapoista)							
Aminohappo	Cyclopoida (Cy)	<i>Eudiaptomus</i> (Eu)	<i>Heterocope</i> (He)	ANOVA	T-testi		
					Cy	Eu	He
Fenyylialaniini	5,9 ± 0,8	4,4 ± 0,0	5,4 ± 1,0	0,637	a		a
Histidiini	1,4 ± 0,2	2,2 ± 0,0	1,9 ± 0,7	0,397	a		a
Isoleusiini	4,9 ± 0,0	4,6 ± 0,0	6,1 ± 0,5	0,062	a		a
Leusiini	7,4 ± 0,7	8,6 ± 0,0	10,8 ± 8,2	0,018	a		b
Lysiini	6,1 ± 0,5	9,3 ± 0,0	10,4 ± 0,8	0,008	a		b
Metioniini	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,021	a		b
Treoniini	1,5 ± 0,7	5,5 ± 0,0	3,8 ± 1,1	0,089	a		a
Valiini	9,6 ± 0,4	6,6 ± 0,0	8,4 ± 1,4	0,324	a		a
Alaniini	10,3 ± 0,5	8,0 ± 0,0	12,3 ± 2,1	0,291	a		a
Aspartaamihappo	17,3 ± 2,7	9,7 ± 0,0	10,0 ± 3,2	0,081	a		a
Glutamiinihappo	21,0 ± 0,3	15,4 ± 0,0	4,8 ± 1,5	0,001	b		a
Glysiini	6,3 ± 0,2	4,9 ± 0,0	5,9 ± 0,9	0,651	a		a
Proliini	5,8 ± 0,5	6,1 ± 0,0	6,3 ± 1,0	0,519	a		a
Seriini	2,6 ± 1,9	6,4 ± 0,0	9,6 ± 4,6	0,143	a		a
Tyrosiini	0,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	3,8 ± 3,6	0,260	a		a

Taulukko 21. Vesijärven ja Iso-Tiilijärven vesikirppujen, sekä hankajalkaisten hiiltä kohti laskettujen aminohappopitoisuuksien ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$) keskiarvot (\pm keskihajonta), sekä ryhmien välinen tilastollinen vertailu (ANOVA) kesäelokuun 2019 aikana. Tilastollinen merkitsevyys (Tukey HSD-testi, $p < 0,05$) on merkitty kirjaimin ($b > a$, $p < 0,05$). Välttämättömät aminohapot on lihavoitu.

Vesijärven vesikirppujen aminohappopitoisuus ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$)							
Aminohappo	<i>Bosmina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Leptodora</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Bo)	(Da)	(Le)		Bo	Da	Le
Fenyylialaniini	21,0 \pm 3,7	20,1 \pm 7,0	20,3 \pm 4,7	0,971	a	a	a
Histidiini	7,8 \pm 4,9	7,1 \pm 3,9	7,6 \pm 4,6	0,977	a	a	a
Isoleusiini	18,4 \pm 2,4	19,1 \pm 5,6	21,3 \pm 4,6	0,630	a	a	a
Leusiini	29,6 \pm 4,5	29,3 \pm 9,8	34,0 \pm 8,0	0,636	a	a	a
Lysiini	29,6 \pm 5,8	28,4 \pm 10,6	31,3 \pm 7,6	0,885	a	a	a
Metioniini	0,5 \pm 0,4	1,8 \pm 1,5	0,9 \pm 0,3	0,189	a	a	a
Treoniini	21,2 \pm 10,7	19,0 \pm 13,3	13,8 \pm 5,6	0,610	a	a	a
Valiini	37,1 \pm 6,6	32,3 \pm 7,9	34,2 \pm 5,2	0,597	a	a	a
Yhteensä	165,2 \pm 28,9	157,0 \pm 58,7	163,5 \pm 37,9	0,961	a	a	a
Alaniini	36,7 \pm 8,9	27,8 \pm 5,4	34,0 \pm 1,9	0,163	a	a	a
Aspartaamihappo	61,3 \pm 8,0	54,1 \pm 9,7	46,6 \pm 6,6	0,088	a	a	a
Glutamiinihappo	83,5 \pm 75,6	97,1 \pm 99,3	61,7 \pm 43,7	0,808	a	a	a
Glysiini	23,5 \pm 3,5	19,4 \pm 4,2	19,2 \pm 3,4	0,235	a	a	a
Proliini	27,0 \pm 2,8	23,1 \pm 6,9	6,5 \pm 0,7	0,482	a	a	a
Seriini	17,1 \pm 3,8	15,5 \pm 9,2	23,2 \pm 4,3	0,927	a	a	a
Tyrosiini	5,6 \pm 11,2	7,2 \pm 8,0	7,8 \pm 9,8	0,947	a	a	a
Yhteensä	254,7 \pm 84,5	244,2 \pm 132,6	209,1 \pm 65,6	0,795	a	a	a
Vesijärven hankajalkaisten aminohappopitoisuus ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$)							
Aminohappo	Cyclopoida	<i>Eudiaptomus</i>	<i>Limnocalanus</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Cy)	(Eu)	(Li)		Cy	Eu	Li
Fenyylialaniini	16,5 \pm 9,6	28,2 \pm 0,0	27,2 \pm 7,2	0,199	a	a	a
Histidiini	5,6 \pm 5,3	10,3 \pm 5,8	9,4 \pm 7,2	0,667	a	a	a
Isoleusiini	15,2 \pm 9,4	29,9 \pm 2,5	30,1 \pm 5,9	0,061	a	a	a
Leusiini	28,7 \pm 15,6	50,3 \pm 5,9	48,1 \pm 12,7	0,169	a	a	a
Lysiini	26,4 \pm 19,1	44,7 \pm 6,9	41,1 \pm 11,1	0,322	a	a	a
Metioniini	1,4 \pm 1,0	1,0 \pm 0,5	1,0 \pm 0,4	0,730	a	a	a
Treoniini	12,7 \pm 11,6	18,9 \pm 2,4	18,9 \pm 6,6	0,595	a	a	a
Valiini	24,4 \pm 13,5	43,7 \pm 3,4	46,0 \pm 10,2	0,086	a	a	a
Yhteensä	130,9 \pm 83,5	227,2 \pm 19,6	221,8 \pm 53,3	0,185	a	a	a
Alaniini	30,8 \pm 11,2	47,5 \pm 9,7	54,8 \pm 13,5	0,104	a	a	a
Aspartaamihappo	34,0 \pm 19,9	65,4 \pm 31,1	74,5 \pm 23,5	0,157	a	a	a
Glutamiinihappo	36,8 \pm 40,9	51,9 \pm 30,8	61,6 \pm 31,2	0,640	a	a	a
Glysiini	18,1 \pm 8,1	27,2 \pm 3,4	30,2 \pm 6,9	0,146	a	a	a
Proliini	20,7 \pm 10,3	27,5 \pm 1,9	29,0 \pm 3,8	0,305	a	a	a
Seriini	13,3 \pm 11,2	25,1 \pm 1,5	21,2 \pm 6,7	0,299	a	a	a
Tyrosiini	13,4 \pm 17,3	20,3 \pm 28,7	11,8 \pm 23,7	0,910	a	a	a
Yhteensä	167,1 \pm 116,0	264,9 \pm 32,9	283,1 \pm 69,6	0,254	a	a	a

Iso-Tiilijärven vesikirppujen aminohappopitoisuus ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$)							
Aminohappo	<i>Bosmina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Holopedium</i>	ANOVA	Tukeyn testi		
	(Bo)	(Da)	(Ho)		Bo	Da	Ho
Fenyylialaniini	17,3 ± 2,6	24,2 ± 4,5	25,6 ± 10,2	0,377	a	a	a
Histidiini	9,5 ± 6,9	7,2 ± 0,9	10,3 ± 7,3	0,870	a	a	a
Isoleusiini	15,8 ± 3,3	21,9 ± 2,1	26,4 ± 13,1	0,387	a	a	a
Leusiini	23,9 ± 7,2	35,7 ± 3,2	42,7 ± 18,2	0,268	a	a	a
Lysiini	27,3 ± 11,3	32,2 ± 1,0	37,6 ± 19,7	0,702	a	a	a
Metioniini	1,1 ± 0,5	0,9 ± 0,3	0,7 ± 0,4	0,598	a	a	a
Treoniini	13,1 ± 12,3	27,6 ± 2,8	17,0 ± 13,6	0,448	a	a	a
Valiini	30,2 ± 1,3	43,5 ± 7,6	41,0 ± 10,8	0,199	a	a	a
Yhteensä	138,2 ± 39,8	193,2 ± 15,1	201,3 ± 70,7	0,359	a	a	a
Alaniini	34,2 ± 6,4	38,8 ± 1,0	42,7 ± 8,5	0,380	a	a	a
Aspartaamihappo	41,1 ± 9,8	78,4 ± 8,0	46,1 ± 14,0	0,034	a	b	a
Glutamiinihappo	36,1 ± 21,1	83,1 ± 12,6	103,4 ± 150,7	0,703	a	a	a
Glysiini	19,6 ± 3,8	29,2 ± 0,5	22,8 ± 4,4	0,087	a	a	a
Proliini	22,8 ± 3,9	32,5 ± 5,1	29,9 ± 5,6	0,157	a	a	a
Seriini	20,8 ± 12,0	17,5 ± 5,0	24,6 ± 10,5	0,762	a	a	a
Tyrosiini	18,8 ± 9,6	0,2 ± 0,3	15,6 ± 14,6	0,253	a	a	a
Yhteensä	193,5 ± 45,8	279,7 ± 3,8	285,0 ± 173,7	0,593	a	a	a

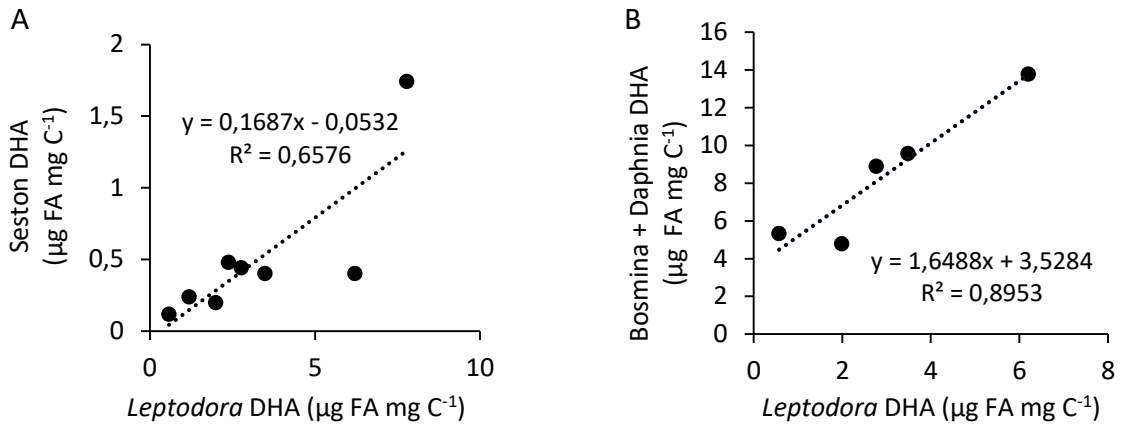
Iso-Tiilijärven hankajalkaisten aminohappopitoisuus ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$)							
Aminohappo	<i>Cyclopoida</i>	<i>Eudiaptomus</i>	<i>Hetercope</i>	ANOVA	T-testi		
	(Cy)	(Eu)	(He)		Cy	Eu	He
Fenyylialaniini	29,8 ± 2,8	27,3 ± 0,0	26,1 ± 14,9	0,768	a		a
Histidiini	6,9 ± 0,6	13,7 ± 0,0	8,4 ± 2,2	0,434	a		a
Isoleusiini	25,3 ± 5,6	28,3 ± 0,0	29,8 ± 15,2	0,730	a		a
Leusiini	37,8 ± 5,1	53,7 ± 0,0	52,2 ± 27,7	0,540	a		a
Lysiini	31,0 ± 4,5	57,6 ± 0,0	49,1 ± 19,3	0,302	a		a
Metioniini	0,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	2,3 ± 1,7	0,160	a		a
Treoniini	8,2 ± 5,6	34,2 ± 0,0	20,0 ± 13,0	0,328	a		a
Valiini	49,4 ± 9,4	41,0 ± 0,0	41,5 ± 26,3	0,721	a		a
Yhteensä	188,5 ± 33,6	256,8 ± 0,0	229,4 ± 117,0	0,676	a		a
Alaniini	53,1 ± 14,6	49,8 ± 0,0	58,5 ± 36,0	0,858	a		a
Aspartaamihappo	90,5 ± 34,2	60,5 ± 0,0	49,8 ± 39,6	0,288	a		a
Glutamiinihappo	108,3 ± 26,2	95,7 ± 0,0	22,8 ± 10,1	0,012	b		a
Glysiini	32,2 ± 6,2	30,3 ± 0,0	29,0 ± 18,4	0,837	a		a
Proliini	30,1 ± 9,2	38,1 ± 0,0	30,5 ± 18,7	0,977	a		a
Seriini	12,2 ± 6,9	40,0 ± 0,0	44,9 ± 23,0	0,159	a		a
Tyrosiini	0,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	15,7 ± 16,4	0,288	a		a
Yhteensä	326,4 ± 83,5	364,3 ± 0,0	251,2 ± 119,1	0,503	a		a

3.6 Sestonin tuottamien biomolekyylien vaikutus eläinplanktonin kudosten biomolekyyli-pitoisuuteen

3.6.1 Omega-3 ja omega-6 rasvahapot

Sestonin ja eri äyriäiseläinplanktonisukujen sisältämien rasvahappojen hiiltä kohti lasketut pitoisuudet korreloivat parhaiten keskenään, kun sestonin pitoisuuksia verrattiin kaksi viikkoa myöhemmin kerätyistä äyriäiseläinplanktonnäytteistä laskettuihin pitoisuuksiin. Ainoan poikkeuksen teki *Leptodora*-petovesikirppu, jonka kudosten DHA-pitoisuus korreloi parhaiten sestonin DHA-pitoisuuden kanssa silloin kun näytteet oli kerätty samana päivänä (Kuva 9A).

Leptodora-petovesikirpun biomassa korreloi varsin hyvin *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen yhteenlasketun biomassan kanssa ($R^2 = 0,88$). Tulos antoi olettaa, että *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirput ovat olennainen osa *Leptodora*-petovesikirpun ravintoa. Tämän johdosta *Leptodora*-petovesikirpun kudosten rasvahappopitoisuuksia verrattiin myös *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen yhteenlaskettuihin rasvahappopitoisuuksiin. Vertailun tuloksena *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen rasvahapoista DHA:n yhteenlaskettu pitoisuus korreloi parhaiten *Leptodora*-petovesikirpun kudosten DHA-pitoisuuden kanssa, kun *Leptodora*-petovesikirpun näytteitä verrattiin kaksi viikkoa aiemmin kerättyihin *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppu näytteisiin (Kuva 9B). DHA:n ohella lähes yhtä hyviä korrelaatioita saatiin myös kokonais-omega-3 rasvahappojen ($R^2 = 0,85$) ja kokonais-omega-6 rasvahappojen suhteen ($R^2 = 0,83$).



Kuva 9. Vesijärven *Leptodora*-petovesikirppujen kudosten sisältämän DHA:n hiiltä kohti laskettujen pitoisuuksien ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$) suhde (A) sestonin DHA-pitoisuuksiin ja (B) *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen kudosten yhteenlaskettuihin DHA-pitoisuuksiin kesä-syyskuun 2019 aikana. Sestonin DHA-pitoisuuksia verrattiin samana päivänä kerätyistä *Leptodora*-petovesikirpuista määriteltyihin DHA-pitoisuuksiin ja *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen kudosten yhteenlaskettuja DHA-pitoisuuksia verrattiin kaksi viikkoa myöhemmin kerätyistä *Leptodora*-petovesikirpuista määriteltyihin DHA-pitoisuuksiin.

Bosmina-vesikirppujen ja sestonin rasvahappojen välisessä vertailussa paras korrelaatio saatiin EPA:n suhteen (Taulukko 22). Sestonin ja *Daphnia*-vesikirppujen kudosten välisessä vertailussa parhaiten korreloi LIN (Taulukko 22). Kyklooppihankajalkaisten kudosten ja sestonin sisältämien rasvahappojen välillä saatiin useita positiivisia korrelaatioita, joista parhaiten korreloi LIN (Taulukko 22). Sen sijaan *Eudiaptomus*- ja *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten kudosten ja sestonin sisältämien rasvahappojen pitoisuuksien välillä ei havaittu tilastollisesti merkitseviä korrelaatioita lainkaan. Tilastollisesti merkitsevät korrelaatiot on esitetty taulukossa 22.

Taulukko 22. Vesijärven äyriäiseläinplanktonsukujen kudosten sisältämien rasvahappojen hiiltä kohti laskettujen pitoisuuksien ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$) suhde sestonin sisältämiin vastaaviin rasvahappoihin kesä-lokakuun 2019 aikana. Tilastollinen merkitsevyys on lihavoitu.

Eläinplankton	Rasvahappo	R ²	F	df1	df2	p
<i>Bosmina</i>	EPA	0,83	24,68	1	5	0,004
<i>Bosmina</i>	LIN	0,69	11,28	1	5	0,020
<i>Bosmina</i>	ω -3 + ω -6	0,58	6,86	1	5	0,047
<i>Daphnia</i>	LIN	0,75	17,79	1	6	0,006
<i>Daphnia</i>	ω -6	0,62	9,96	1	6	0,020
<i>Leptodora</i>	DHA	0,66	11,52	1	6	0,015
Cyclopoida	LIN	0,84	25,78	1	5	0,004
Cyclopoida	ω -6	0,84	25,39	1	5	0,004
Cyclopoida	ARA	0,71	12,06	1	5	0,018
Cyclopoida	DHA	0,70	11,68	1	5	0,019
Cyclopoida	EPA	0,68	10,62	1	5	0,022
Cyclopoida	ω -3 + ω -6	0,62	8,20	1	5	0,035

3.6.2 Sterolit

Sestonin ja eri äyriäiseläinplanktonsukujen sisältämien sterolien välillä ei tehty tilastollisia testauksia.

3.6.3 Aminohapot

Sestonin ja eri äyriäiseläinplanktonsukujen kudosten sisältämien aminohappojen välillä ei havaittu tilastollisesti merkitseviä korrelaatioita lainkaan.

3.7 Sestonin tuottamien biomolekyylien vaikutus eläinplanktonin biomassaan

3.7.1 Omega-3 ja omega-6 rasvahapot

Vesijärven sestonin rasvahappopitoisuuksien ja samana päivänä kerätyistä äyriäiseläinplanktonnäytteistä laskettujen biomassojen välillä ei havaittu korrelaatioita. Sen sijaan yhteys tuli esille, kun sestonin rasvahappopitoisuuksia verrattiin kaksi viikkoa myöhemmin kerätyistä äyriäiseläinplanktonnäytteistä määritettyihin biomassoihin, muiden paitsi *Eudiptomus*-keijuhankajalkaisten osalta.

Bosmina-vesikirppujen biomassa korreloi parhaiten sestonin EPA-pitoisuuden kanssa (Taulukko 23). *Daphnia*-vesikirppujen ja kyklooppihankajalkaisten biomassat korreloivat puolestaan parhaiten sestonin DPA-pitoisuuden kanssa (Taulukko 23). *Leptodora*-petovesikirpun biomassan ja sestonin rasvahappopitoisuuksien välillä paras korrelaatio saatiin DHA-pitoisuuden suhteen ja *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisilla SDA-pitoisuuden suhteen (Taulukko 23). Tilastollisesti merkitsevät positiiviset korrelaatiot ja niiden tunnusluvut on esitetty taulukossa 23.

Taulukko 23. Vesijärven äyriäiseläinplanktonisukujen biomassan ($\mu\text{g l}^{-1}$) riippuvuus sestonin kaksi viikkoa aiemmin sisältämien rasvahappojen hiiltä kohti lasketuista pitoisuuksista ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$) kesä-lokakuun 2019 aikana.

Eläinplankton	Rasvahappo	R ²	F	df1	df2	p
<i>Bosmina</i>	EPA	0,81	24,72	1	6	0,003
<i>Bosmina</i>	DPA	0,79	22,28	1	6	0,003
<i>Bosmina</i>	DHA	0,77	20,60	1	6	0,004
<i>Bosmina</i>	SDA	0,75	18,01	1	6	0,005
<i>Bosmina</i>	ω -6	0,74	17,01	1	6	0,006
<i>Bosmina</i>	LIN	0,74	16,83	1	6	0,006
<i>Bosmina</i>	ω -3	0,67	11,93	1	6	0,014
<i>Bosmina</i>	ARA	0,65	11,28	1	6	0,015
<i>Daphnia</i>	DPA	0,79	22,61	1	6	0,003
<i>Daphnia</i>	DHA	0,77	19,88	1	6	0,004
<i>Daphnia</i>	SDA	0,69	13,54	1	6	0,010
<i>Daphnia</i>	EPA	0,69	13,51	1	6	0,010
<i>Daphnia</i>	ω -6	0,67	11,99	1	6	0,013
<i>Daphnia</i>	ARA	0,65	10,98	1	6	0,016
<i>Daphnia</i>	LIN	0,65	10,88	1	6	0,016
<i>Daphnia</i>	ω -3	0,54	7,12	1	6	0,037
<i>Leptodora</i>	DHA	0,90	52,17	1	6	0,001
<i>Leptodora</i>	DPA	0,89	47,53	1	6	0,001
<i>Leptodora</i>	EPA	0,80	24,35	1	6	0,003
<i>Leptodora</i>	ω -6	0,79	23,00	1	6	0,003
<i>Leptodora</i>	LIN	0,79	22,62	1	6	0,003
<i>Leptodora</i>	SDA	0,76	19,34	1	6	0,005
<i>Leptodora</i>	ARA	0,67	11,91	1	6	0,014
<i>Leptodora</i>	ω -3	0,66	11,38	1	6	0,015
Cyclopoida	DPA	0,69	13,16	1	6	0,011
Cyclopoida	DHA	0,68	12,81	1	6	0,012
Cyclopoida	SDA	0,66	11,84	1	6	0,014
Cyclopoida	EPA	0,60	9,08	1	6	0,024
Cyclopoida	ARA	0,56	7,49	1	6	0,034
Cyclopoida	ω -6	0,55	7,25	1	6	0,046
Cyclopoida	LIN	0,52	6,52	1	6	0,043
<i>Limnocalanus</i>	SDA	0,70	13,92	1	6	0,010
<i>Limnocalanus</i>	DPA	0,65	11,15	1	6	0,016
<i>Limnocalanus</i>	DHA	0,63	10,12	1	6	0,019
<i>Limnocalanua</i>	ARA	0,63	10,01	1	6	0,019
<i>Limnocalanus</i>	EPA	0,61	9,30	1	6	0,023
<i>Limnocalanus</i>	ω -6	0,56	7,87	1	6	0,031
<i>Limnocalanus</i>	LIN	0,54	7,07	1	6	0,038
<i>Limnocalanus</i>	ω -3	0,52	6,47	1	6	0,044

3.7.2 Sterolit

Sestonin sisältämät sterolit korreloivat parhaiten samana päivänä otetuista äyriäiseläinplanktonnäytteistä määritettyjen biomassojen kanssa. *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen yhteenlaskettu biomassa korreloi parhaiten sestonin brassikasterolin, kampesterolin ja stigmasterolin yhteenlasketun sterolipitoisuuden suhteen (Taulukko 24). *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen yhteenlasketun biomassan suhteen korrelaation selityskerroin oli jopa parempi kuin yksistään *Bosmina*-vesikirpun biomassan kanssa tarkasteltuna (Taulukko 24). Huomionarvoista kuitenkin on, että *Daphnia*-vesikirpun biomassa ei yksinään korreloinut yhdenkään sestonin sterolipitoisuuden kanssa. Hankajalkaisten osalta paras korrelaatio saatiin, kun keijuhankajalkaisten yhteenlaskettua biomassaa verrattiin sestonin stigmasterolipitoisuuteen (Taulukko 24). Yksittäisistä keijuhankajalkaisista stigmasterolipitoisuus korreloi parhaiten *Eudiptomus*-keijuhankajalkaisten biomassan kanssa (Taulukko 24). Keijuhankajalkaisten nauplistoukkien (*Calanoida*-nauplius) biomassa puolestaan korreloi parhaiten sestonin brassikasterolin kanssa (Taulukko 24). Tilastollisesti merkitsevät positiivisen korrelaatiot ja niiden tunnusluvut on kerätty taulukkoon 24.

Taulukko 24. Vesijärven äyriäiseläinplanktonsukujen biomassan riippuvuus sestonin sisältämien sterolien hiiltä kohti lasketuista pitoisuuksista ($\mu\text{g STE mg C}^{-1}$) elo-lokakuun 2019 aikana.

Eläinplankton	Steroli	R ²	F	df1	df2	p
<i>Bosmina</i>	Brassikasteroli+ kampesteroli	0,89	23,96	1	3	0,016
<i>Bosmina</i>	Brassikasteroli+ kampesteroli + stigmasteroli	0,85	17,37	1	3	0,025
<i>Bosmina</i>	Kampesteroli Brassikasteroli+	0,80	12,05	1	3	0,040
<i>Bosmina+Daphnia</i>	kampesteroli + stigmasteroli	0,98	155,442	1	3	0,001
<i>Bosmina+Daphnia</i>	Brassikasteroli+ stigmasteroli	0,97	51,50	1	3	0,006
<i>Bosmina+Daphnia</i>	Brassikasteroli+ kampesteroli	0,93	17,96	1	3	0,024
Calanoida	Stigmasteroli	0,98	179,04	1	3	0,001
Calanoida-nauplius	Brassikasteroli	0,99	236,92	1	3	0,001
Calanoida-nauplius	Brassikasteroli+ kampesteroli	0,92	15,80	1	3	0,028
Calanoida-nauplius	Brassikasteroli+ stigmasteroli	0,78	10,367	1	3	0,049
<i>Eudiaptomus</i>	Stigmasteroli	0,94	48,89	1	3	0,006

3.7.3 Aminohapot

Sestonin sisältämät aminohapot korreloivat ainoastaan hankajalkaisten biomassojen suhteen. Vahvin korrelaatio saatiin, kun sestonin aminohappopitoisuuksia verrattiin kaksi viikkoa myöhemmin kerätyistä hankajalkaisnäytteistä määriteltyihin biomassoihin. Keijuhankajalkaisten yhteenlaskettu biomassa korreloi parhaiten sestonin sisältämän treoniinipitoisuuden kanssa (Taulukko 25). Yksittäisistä keijuhankajalkaissaivuista *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten biomassa korreloi parhaiten sestonin sisältämän tyrosiinin kanssa (Taulukko 25) ja kyklooppihankajalkaisten naupliustoukkien biomassa puolestaan korreloi parhaiten sestonin lysiinipitoisuuden kanssa (Taulukko 25). Tilastollisesti merkitsevien positiivisten korrelaatioiden tunnusluvut on kerätty taulukkoon 25.

Taulukko 25. Vesijärven äyriäiseläinplanktonsukujen biomassan riippuvuus sestonin kaksi viikkoa aiemmin sisältämien aminohappojen hiiltä kohti lasketuista pitoisuuksista ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$) elo-lokakuun 2019 aikana.

Eläinplankton	Aminohappo	R ²	F	df1	df2	p
Calanoida	Treoniini	0,72	17,80	1	7	0,004
Calanoida	Välttämättömät yht.	0,60	10,52	1	7	0,014
Calanoida	Leusiini	0,56	8,99	1	7	0,020
Calanoida	Valiini	0,74	8,26	1	7	0,024
Calanoida	Histidiini	0,53	7,94	1	7	0,026
Calanoida	Isoleusiini	0,53	7,76	1	7	0,027
Calanoida	Fenyylialaniini	0,52	7,47	1	7	0,029
Calanoida	Lysiini	0,50	7,09	1	7	0,032
Calanoida	Ei-välttämättömät yht.	0,47	6,26	1	7	0,041
<i>Limnocalanus</i>	Tyrosiini	0,63	11,93	1	7	0,011
<i>Limnocalanus</i>	Seriini	0,58	9,61	1	7	0,017
Cyclopoida-nauplius	Lysiini	0,64	12,53	1	7	0,009
Cyclopoida-nauplius	Fenyylialaniini	0,63	11,89	1	7	0,011
Cyclopoida-nauplius	Välttämättömät yht.	0,48	6,47	1	7	0,038
Cyclopoida-nauplius	Ei-välttämättömät yht.	0,46	6,04	1	7	0,044
Cyclopoida-nauplius	Leusiini	0,45	5,81	1	7	0,047
Cyclopoida-nauplius	Leusiini	0,45	5,81	1	7	0,047

3.8 Eläinplanktonin kudosten sisältämien biomolekyylien vaikutus biomassaan

3.8.1 Omega-3 ja omega-6 rasvahapot

Äyriäiseläinplanktonin kudosten sisältämät rasvahapot korreloivat biomassan kanssa parhaiten, kun biomassoja verrattiin kaksi viikkoa aiemmin kerätyistä näytteistä määritettyihin rasvahappopitoisuuksiin. Ainoan poikkeuksen teki *Leptodora*-petovesikirppu, jonka kudosten DHA-pitoisuudet korreloivat parhaiten sama päivänä otetuista näytteistä määritettyjen biomassojen suhteen (Taulukko 26). Korrelaation selityskerroin ei ollut kuitenkaan kovin hyvä. *Bosmina*-vesikirppujen biomassa korreloi parhaiten kudosten EPA-pitoisuuden suhteen (Taulukko 26) ja *Daphnia*-vesikirpuilla kokonais-omega-6 rasvahappojen suhteen (Taulukko 26). Kyklooppihankajalkaisten biomassa korreloi parhaiten, kun laskettiin yhteen ARA:n ja DPA:n hiiltä kohti lasketut pitoisuudet (Taulukko 26). Tilastollisesti merkitsevien positiivisten korrelaatioiden tunnusluvut on esitetty taulukossa 26.

Taulukko 26. Vesijärven äyriäiseläinplanktonsukujen biomassan riippuvuus kudosten sisältämien rasvahappojen hiiltä kohti lasketuista pitoisuuksista ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$) kesä-lokakuun 2019 aikana.

Eläinplankton	Rasvahappo	R ²	F	df1	df2	p
<i>Bosmina</i>	EPA	0,79	18,97	1	5	0,007
<i>Bosmina</i>	LIN	0,72	12,74	1	5	0,016
<i>Bosmina</i>	ω -3	0,58	6,98	1	5	0,046
<i>Daphnia</i>	ω -6	0,79	20,34	1	6	0,004
<i>Daphnia</i>	LIN	0,76	19,05	1	6	0,005
<i>Leptodora</i>	DHA	0,64	10,44	1	6	0,018
Cyclopoida	ARA+DPA	0,78	17,90	1	5	0,008
Cyclopoida	ω -6	0,77	16,69	1	5	0,009
Cyclopoida	DHA	0,71	12,48	1	5	0,017
Cyclopoida	LIN	0,71	12,48	1	5	0,017
Cyclopoida	DHA+DPA	0,71	12,41	1	5	0,017
Cyclopoida	ARA	0,71	12,37	1	5	0,017
Cyclopoida	ω -3	0,69	11,03	1	5	0,021
Cyclopoida	EPA+DHA	0,69	10,88	1	5	0,022
Cyclopoida	SDA	0,68	10,72	1	5	0,022
Cyclopoida	DPA	0,64	8,98	1	5	0,030
Cyclopoida	ALA	0,63	8,46	1	5	0,033
Cyclopoida	EPA	0,61	7,97	1	5	0,037

3.8.2 Sterolit

Kudosten sisältämien sterolien ja biomassojen välillä positiivisia korrelaatioita havaittiin ainoastaan kolmessa eri eläinplanktonsuvussa. *Bosmina*-vesikirppujen ja kyklooppihankajalkaisten tapauksessa korrelaatiot olivat parempia samana päivänä otetuissa näytteissä. *Bosmina*-vesikirppujen biomassa korreloi parhaiten kudosten sisältämien brassikasterolin ja β -sitosterolin yhteenlasketun pitoisuuden suhteen (Taulukko 27) ja kyklooppihankajalkaisten biomassa korreloi puolestaan parhaiten kudosten stigmasterolipitoisuuden suhteen (Taulukko 27). *Eudiaptomus*-hankajalkaisilla kudosten kampesterolin ja β -sitosterolin yhteenlaskettu pitoisuus korreloi positiivisesti biomassan kanssa, kun biomassoja verrattiin kaksi viikkoa aiemmin kerätyistä näytteistä määritettyihin sterolipitoisuuksiin (Taulukko 27). Tilastollisesti merkitsevät positiiviset korrelaatiot ja niiden tunnusluvut on esitetty taulukossa 27.

Taulukko 27. Vesijärven äyriäiseläinplanktonsukujen kudosten sisältämien sterolien hiiltä kohti laskettujen pitoisuuksien ($\mu\text{g FA mg C}^{-1}$) suhde biomassaan ($\mu\text{g l}^{-1}$) kesä-lokakuun 2019 aikana.

Eläinplankton	Steroli	R ²	F	df1	df2	p
<i>Bosmina</i>	Brassikasteroli + β -sitosteroli	0,75	15,27	1	5	0,011
<i>Bosmina</i>	β -sitosteroli	0,72	13,14	1	5	0,015
<i>Bosmina</i>	Sterolit yhteensä	0,72	12,62	1	5	0,016
Cyclopoida	Stigmasteroli	0,71	12,36	1	5	0,017
<i>Eudiaptomus</i>	Kampesteroli + β -sitosteroli	0,98	208,55	1	4	0,000
<i>Eudiaptomus</i>	Kampesteroli	0,94	67,64	1	4	0,001
<i>Eudiaptomus</i>	β -sitosteroli	0,80	15,90	1	4	0,016

3.8.3 Aminohapot

Eri äyriäiseläinplanktonsukujen kudosten sisältämien aminohappojen ja biomassojen välillä havaittiin ainoastaan yksi tilastollisesti merkitsevä positiivinen korrelaatio. *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaisten biomassa korreloi kaksi viikkoa aiemmin kerätyistä näytteistä analysoitujen isoleusiinipitoisuuksien kanssa (Taulukko 28). Tilastollisesti merkitsevä positiivinen korrelaatio ja sen tunnusluvut on esitetty taulukossa 28.

Taulukko 28. Vesijärven keijuhankajalkaisten biomassojen riippuvuus eläinplanktonin kudosten sisältämien aminohappojen hiiltä kohti lasketuista pitoisuuksista ($\mu\text{g AA mg C}^{-1}$) kesä-syyskuun 2019 aikana.

Eläinplankton	Aminohappo	R ²	F	df1	df2	p
<i>Eudiaptomus</i>	Isoleusiini	0,93	27,76	1	2	0,034

4 TULOSEN TARKASTELU

4.1 Ympäristötekijöiden vaikutus kasvi- ja eläinplanktonyhteisöön

Tutkimusjakson aikana mitattujen fosforipitoisuuksien mukaan Vesijärvi luokiteltiin OECD:n kriteerien perusteella ylempään mesotrofiseen ravinteisuusluokkaan ja Iso-Tiilijärvi alempaan mesotrofiseen ravinteisuusluokkaan (OECD 1982, Bengtsson ym. 2012). Korkeammista ravinnepitoisuuksista johtuen kasviplanktonin kokonaisbiomassa oli Vesijärvessä lähes kymmenkertainen Iso-Tiilijärveen verrattuna. Tämä heijastui myös tutkimusjärvien kasvi- ja eläinplanktonyhteisöön.

Enemmän ravinteita sisältävässä Vesijärvessä oli selvästi enemmän EPA:a syntetisoivia leviä kuin niukempiravinteisessa Iso-Tiilijärvessä. Varsinkin EPA:a tuottavien piilevien biomassat ja osuus oli Vesijärvellä huomattavasti suurempi kuin Iso-Tiilijärvellä. Tämän lisäksi myös EPA:a ja DHA:ta tuottavien nielulevien biomassat oli Vesijärvellä suurempi kuin Iso-Tiilijärvellä. Sen sijaan DHA:ta syntetisoivien silmälevien biomassat ja osuudet olivat Iso-Tiilijärvellä selvästi suurempia kuin Vesijärvellä, jonka vuoksi Iso-Tiilijärvellä oli myös suhteessa enemmän DHA:ta syntetisoivia leviä kuin Vesijärvellä, vaikka DHA:ta tuottavien leväluokkien biomassat eivät eronneetkaan toisistaan.

Vesijärven korkeampi ravinnepitoisuus ja siitä johtuva kasviplanktonin suurempi biomassat heijastui luonnollisesti myös eläinplanktonin biomassaan. *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen biomassat olivat Vesijärvessä keskimäärin suuremmat kuin Iso-Tiilijärvessä, vaikka tutkimusjakson aikana tapahtuneesta suuresta vaihtelusta johtuen erot eivät olleetkaan tilastollisesti merkitseviä. Sen sijaan omnivoristen kyklooppihankajalkaisten ja herbivoristen *Eudiatomus*-keijuhankajalkaisten biomassat olivat Vesijärvessä merkitsevästi suuremmat kuin Iso-Tiilijärvessä.

Tutkimusjärvien vesikirppuyhteisöt olivat erilaisista ympäristötekijöistä johtuen erilaiset. Iso-Tiilijärvellä ei havaittu *Leptodora*-petovesikirppuja lainkaan, mutta sen sijaan siellä oli runsaasti *Holopedium gibberum* -vesikirppuja, joita Vesijärvellä havaittiin vain yhdestä kesäkuussa otetusta eläinplanktonnäytteestä ja silloinkin

niiden biomassa oli hyvin pieni. *H. gibberum* -vesikirput suosivat oligotrofisia, pehmeävesisiä järviä, joiden pH-arvo on suhteellisen matala (4,8 – 7,5) (Balcer ym. 1984). Tämän vuoksi ne viihtyivät Iso-Tiilijärvessä, jossa niiden biomassa oli keskimäärin samaa luokkaa kuin *Bosmina*-vesikirppujen. Tosin *H. gibberum* -vesikirppujen biomassassa ei tapahtunut niin suurta vaihtelua tutkimusjakson aikana kuin *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuilla. Tämä johtuu pääosin siitä, että *H. gibberum* -vesikirput ovat omnivoreja, jonka vuoksi niillä on herbivorisiin *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppuihin verrattuna enemmän vaihtoehtoja ravinnon suhteen. Lisäksi *H. gibberum* -vesikirput ovat sopeutuneet elämään olosuhteissa, joissa on vain vähän ravintoa tarjolla ja mahan alla olevan aukon kautta ne pystyvät suodattamaan hyvinkin pieniä nanopartikkeleita (Kotov ym. 2013).

4.2 Sestonin tuottamien omega-3 ja omega-6 rasvahappojen vaikutus eläinplanktoniin

Tutkimusjakson aikana Vesijärven sestonissa oli enemmän rasvahappoja kuin Iso-Tiilijärven sestonissa. Sestonin rasvahappopitoisuudet kuitenkin vaihtelivat Vesijärvellä enemmän kuin Iso-Tiilijärvellä. Molempien tutkimusjärvien sestonissa vaihtelua oli suurinta omega-3-rasvahapoista ALA:n ja omega-6 rasvahapoista LIN:in osalta. Pidemmän hiiliketjun omaavilla rasvahapoilla vaihtelu oli vähäisempää, joka saattoi osaltaan johtua siitä, että niiden pitoisuudet sestonissa olivat pienempiä.

Vesijärven sestonissa rasvahappopitoisuudet olivat korkeimmillaan alkukesällä touko-kesäkuun vaihteessa ja kesäkuun ensimmäisellä viikolla, jolloin vesi oli vielä suhteellisen viileää ja näkösyvyys koko tutkimusjakson aikana tehtyjen mittausten perusteella parhaimmillaan. Samaan aikaan EPA:a ja DHA:ta syntetisoivien levien kokonaisbiomassa ($1381,5 \mu\text{g l}^{-1}$) oli suhteellisen korkea ja ei-EPA:a ja ei-DHA:ta syntetisoivien syanobakteerien ja viherlevien yhteisbiomassa ($45,6 \mu\text{g l}^{-1}$) suhteellisen matalalla tasolla. Kesäkuun viimeisellä viikolla EPA:a ja DHA:ta syntetisoivien levien kokonaisbiomassa ($4376,5 \mu\text{g l}^{-1}$) oli selvästi korkeampi kuin

ensimmäisellä viikolla, mutta syanobakteerien ja viherlevien kokonaisbiomassa ($7,3 \mu\text{g l}^{-1}$) oli sen sijaan laskenut alkukesän lukemista. Leväyhteisön koostumuksessa tapahtuneiden muutosten perusteella sestonin rasvahappopitoisuuksien olisi voinut odottaa kasvaneen kesäkuun aikana, mutta tästä huolimatta sestonin rasvahappopitoisuudet sen sijaan laskivat. Merkittävin syy kasviplanktonin rasvahappotuotannon heikkenemiseen saattoi olla veden pintalämpötilan nousulla, sillä kasviplanktonin rasvahapposynteesi on yleensä tehokkaampaa mitä viileämpää vesi on (Renaud ym. 2002, Jiang ja Gao 2004, Guschina ja Harwood 2009). Alhaisimmillaan Vesijärven sestonin rasvahappopitoisuudet olivat heinäkuun lopulla, jolloin DHA- ja EPA-syntetisoivien levien kokonaisbiomassa ($247,9 \mu\text{g l}^{-1}$) oli pienimmillään ja vastaavasti veden pintalämpötila, sekä syanobakteerien ja viherlevien kokonaisbiomassa ($312,1 \mu\text{g l}^{-1}$) oli korkeimmillaan. Nämä leväkoostumuksessa ja veden pintalämpötiloissa tapahtuneet muutokset selittävät hyvin miksi sestonin rasvahappopitoisuudet olivat pienimmillään juuri heinäkuun lopulla.

Iso-Tiilijärven sestonin pienemmät rasvahappopitoisuudet johtuivat Vesijärveä selvästi alhaisemmista ravinnepitoisuuksista, jotka rajoittivat kasviplanktonin rasvahappotuotantoa. Veden happamuuden vaikutusta Iso-Tiilijärven sestonin rasvahappopitoisuuksiin on vaikea arvioida, koska happamuuden vaikutusta leväyhteisön koostumukseen ja rasvahapposynteesiin on tutkittu vähän.

Iso-Tiilijärven sestonissa rasvahappojen kokonaispitoisuus oli korkeimmillaan heinäkuussa otetussa näytteessä. Tuolloin leväyhteisön koostumuksen mukaan sestonin rasvahappojen kokonaispitoisuuden olisi kuitenkin pitänyt olla matalammalla tasolla kuin kesä- ja elokuussa, koska samaan aikaan DHA- ja EPA-syntetisoivien levien kokonaisbiomassa ($153,0 \mu\text{g l}^{-1}$) oli pienimmillään koko tutkimusjakson aikana ja vastaavasti ei-DHA:ta ja ei-EPA:a syntetisoivien syanobakteerien ja viherlevien kokonaisbiomassa ($153,9 \mu\text{g l}^{-1}$) oli suurimmillaan. Iso-Tiilijärven sestonin rasvahappopitoisuuksien vaihteluun eri näytteenottopäivinä on saattanut vaikuttaa myös se, että tutkimusjakson aikana leväluokkien sisällä lajien runsaussuhteissa on tapahtunut muutoksia. Esimerkiksi EPA:a ja DHA:ta tuottavien leväluokkien sisällä eri lajien rasvahappopitoisuuksissa

on vaihtelua (Taipale ym. 2020). Sen vuoksi mahdolliset erot eri lajien runsaussuhteissa voivat hyvinkin selittää miksi sestonin rasvahappojen kokonaispitoisuus oli heinäkuussa korkeampi, vaikka EPA:a ja DHA:ta syntetisoivien leväluokkien kokonaisbiomassa olikin pienempi kuin kesä- ja elokuussa. Toinen asiaan mahdollisesti vaikuttanut tekijä on se, että heinäkuussa näytteenottopäivänä pintaveden (0–2 m) lämpötila oli alhaisempi, kuin kesä- ja elokuussa, jonka seurauksena kasviplanktonyhteisön rasvahappotuotanto saattoi kyseisenä hetkenä olla tehokkaampaa kuin kesä- ja elokuussa (vertaa Renaud ym. 2002, Jiang ja Gao 2004, Guschina ja Harwood 2009).

Vesijärven sestonin korkeampi EPA-pitoisuus heijastui myös eläinplanktonin kudosten EPA-pitoisuuksiin. Vesijärven *Bosmina*-vesikirpuilla EPA-pitoisuus oli keskimäärin noin kaksi kertaa suurempi kuin Iso-Tiilijärven yksilöissä ja *Daphnia*-vesikirppujen, kyklooppihankajalkaisten ja *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaisten EPA-pitoisuudet olivat myös Vesijärvessä korkeampia kuin Iso-Tiilijärvessä. Tosin pienistä näytemääristä johtuen edellä mainitut erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä.

Vesikirpuissa EPA:n suhteellinen osuus oli selvästi suurempi kuin sestonissa. Tulos tukee aiempia tutkimuksia, joiden mukaan vesikirput akkumuloivat EPA:a kudoksiinsa (Burns ym. 2011, Taipale ym. 2011), koska EPA on vesikirpuille fysiologisesti tärkeä rasvahappo (Müller-Navarra ym. 2000, Person ja Vrede 2006, Smyntek ym. 2008, Sperfeld ja Wacker 2011). Vesijärvessä tehokkaimmat EPA:n akkumuloijat olivat *Bosmina*-vesikirppu ja *Leptodora*-petovesikirppu, sekä Iso-Tiilijärvessä *Holopedium*- ja *Bosmina*-vesikirppu. *Daphnia*-vesikirppujen tehokkuus akkumuloida EPA:a oli molemmissa tutkimusjärvissä heikompi kuin muiden tutkittujen vesikirppujen. Iso-Tiilijärvellä *Holopedium*-vesikirpuilla EPA:n suhteellinen osuus oli myös suurempi kuin *Daphnia*-vesikirpuilla, mutta näiden kahden vesikirppusuvun väliset erot voivat johtua myös siitä, että omnivoriset *Holopedium*-vesikirput voivat *Daphnia*-vesikirpuista poiketen syödä myös pienempiä vesikirppuja, joiden kudoksissa EPA-pitoisuus on jo lähtökohtaisesti korkeampi kuin sestonissa.

Vesijärvellä *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuilla oli suhteessa enemmän ALA:a ja SDA:ta kuin *Leptodora*-petovesikirpuilla. Tulos vastaa aiempaa havaintoa, jonka mukaan sestonia suodattamalla syövässä vesikirpuissa on suhteessa enemmän ALA:a ja SDA:ta kuin eläinplanktonia syövässä pedoissa (Hiltunen ym. 2015).

Erilaiset ravinnonhankintastrategiat näkyivät vesikirpuissa myös siten, että Iso-Tiilijärvellä omnivorisilla *Holopedium*-vesikirpuilla oli kudoksissa enemmän ARA:a kuin herbivorisilla *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuilla. Vesijärvellä *Leptodora*-petovesikirpuissa oli myös hieman enemmän ARA:a kuin *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuissa, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Tulokset tukevat Hiltusen ym. (2015) tutkimusta, jonka mukaan saalistavissa vesikirpuissa (esimerkkinä *Bythotrepes longimanus* -petovesikirppu) on paljon ARA:a. Aiemmissä tutkimuksissa on lisäksi havaittu, että ARA kulkeutuu sestonista suhteellisen hyvin nimenomaan saalistaviin vesikirppuihin (Persson ja Vrede 2006, Ret ym. 2010). Uutena havaintona voidaan lisätä, että happamassa ja niukkaravinteisessä järvessä omnivoriset *Holopedium*-vesikirput kykenevät akkumuloimaan huomattavasti suurempia määriä ARA:a kudoksiinsa kuin herbivoriset *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirput. Lisäksi voidaan mainita, että *Holopedium*-vesikirpuilla ARA-pitoisuudet olivat myös hankajalkaisiin verrattuna suuremmat.

Aiemmissä tutkimuksissa on havaittu, että *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirput eivät useinkaan saa tarpeeksi ARA:a suoraan ravinnosta (Strandberg ym. 2014). Niillä on kuitenkin kyky tuottaa ARA:a desaturaation ja hiiliketjun pidentämisen avulla lyhempiketjuisesta LIN:istä tai retrokonversion avulla pidempiketjuisesta DPA:sta (Strandberg ym. 2014). Siksi onkin hyvin todennäköistä, että Vesijärvellä *Bosmina*-vesikirput valmistivat ARA:a LIN:istä, sillä ainakin *Daphnia*-vesikirppuihin verrattuna niiden kudoksissa oli enemmän ARA:a. Toisaalta *Bosmina*-vesikirppujen LIN-pitoisuus olivat myös pienempi kuin *Daphnia*-vesikirpuilla. Siten edellä mainitut pitoisuuserot tukevat käsitystä, jonka mukaan *Bosmina*-vesikirput tuottivat ARA:a LIN:istä, mutta *Daphnia*-vesikirput eivät.

Vesikirppuihin verrattuna hankajalkaisilla DHA-pitoisuudet olivat selvästi korkeampia kuin EPA-pitoisuudet. Tulos tukee aiempia tutkimuksia, joiden

mukaan DHA akkumuloituu hankajalkaisiin, mutta ei vesikirppuihin (Persson ja Vrede 2006). Merkittävin syy hankajalkaisten kudosten korkeisiin DHA-pitoisuuksiin on sillä, että niillä on vesikirppuihin verrattuna kehittyneempi hermojärjestelmä, jonka ylläpitämiseen hankajalkaiset tarvitsevat enemmän DHA:ta (Persson ja Vrede 2006). Kehittyneen hermojärjestelmän ansiosta hankajalkaiset ovat tehokkaita saalistajia, ja samalla ne myös kykenevät välttämään saalistajiaan paremmin (Persson ja Vrede 2006). Korkeimmat DHA-pitoisuudet analysoitiin Iso-Tiilijärven *Heterocope*-hankajalkaisista, joka ovat rotevia ja kookkaita petoäyriäisiä. Tulos tukee Strandbergin ym. (2015) tutkimusta, jossa *Heterocope*-hankajalkaisilla oli tutkimukseen osallistuneista eläinplanktonsuvuista korkein DHA-pitoisuus.

EPA:n ja DHA:n suhteellisissa osuuksissa havaitut erot kuvastavat hankajalkaisten välisiä kokoeroja ja erilaisia ravinnonhankintatapoja. Vesijärvässä *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten kudoksissa oli suhteessa enemmän EPA:a kuin kyklooppihankajalkaisissa ja *Eudiatomus*-keijuhankajalkaisissa. Vastaavasti Iso-Tiilijärven *Heterocope*-keijuhankajalkaisten kudoksissa oli kyklooppihankajalkaisiin ja *Eudiatomus*-keijuhankajalkaisiin verrattuna suhteessa enemmän EPA:a ja DHA:ta. Tulokset ovat linjassa Hiltusen ym. (2015) havaintojen kanssa. Vastaavasti kooltaan pienemmissä ja vähemmän saalistavissa kyklooppihankajalkaisissa ja herbivorisissa *Eudiatomus*-keijuhankajalkaisissa oli *Limnocalanus*- ja *Heterocope*-keijuhankajalkaisiin verrattuna suhteessa enemmän ALA:a ja SDA:ta, joka myös vastaa Hiltusen ym. (2015) havaintoja.

Iso-Tiilijärven kyklooppihankajalkaisissa oli suhteessa enemmän ALA:a ja SDA:ta kuin Vesijärven yksilöissä, vaikka Iso-Tiilijärven sestonissa ALA:a ja SDA:ta oli vähemmän kuin Vesijärvässä. Koska Vesijärvellä kyklooppihankajalkaisten biomassa oli suurempi kuin Iso-Tiilijärvässä, herää kysymys, joutuivatko Vesijärven kyklooppihankajalkaiset kilpailun kiristyessä saalistamaan enemmän kuin Iso-Tiilijärven yksilöt, sillä Vesijärven kyklooppihankajalkaisten alhaisemmat ALA- ja SDA-pitoisuudet viittaavat enemmän saalistukseen perustuvaan ravinnonhankintatapaan. Asiaa tukee lisäksi se, että Vesijärven kyklooppihankajalkaisilla EPA- ja DHA-pitoisuudet olivat korkeampia, joka myös

on ominaista enemmän saalistukseen perustuvalla ravinnonhankintatavalla. Toinen asiaan mahdollisesti vaikuttava tekijä voi olla se, että Iso-Tiilijärvellä kyklooppihankajalkaiset ovat syöneet enemmän viherlevää. Viherlevissä on ALA:a ja SDA:ta, mutta ei EPA:a ja DHA:ta (Martin-Creuzburg ym. 2008, Taipale ym. 2013) ja siten viherlevän syönti voi myös selittää ALA:n ja SDA:n, sekä EPA:n ja DHA:n suhteellisissa osuuksissa havaitut erot. Runsasravinteisella Vesijärvellä kyklooppihankajalkaisilla on ollut mahdollisuus syödä monipuolisempaa ravintoa ja vastaavasti niukempiravinteisella Iso-Tiilijärvellä niiden on täytynyt tyytyä siihen mitä on enemmän tarjolla. Iso-Tiilijärvellä oli runsaasti *Botryococcus terribilis*-viherlevää, joka on saattanut muodostaa hyvinkin suuren osan kyklooppihankajalkaisten ravinnosta. Kolmas asiaan mahdollisesti vaikuttava tekijä on se, että runsaasti energiaa sisältävässä Vesijärvessä kyklooppihankajalkaiset olisivat voineet desaturaaion ja hiiliketjun pidentämisen avulla muuntaa ALA:a EPA:ksi (Taipale ym. 2017), jolloin ALA:n suhteellinen osuus olisi pienentynyt ja vastaavasti EPA:n suhteellinen osuus olisi kasvanut. Muuntaminen on yleensä melko tehotonta ja se kuluttaa paljon energiaa (Taipale ym. 2017), mutta runsasravinteisessa Vesijärvessä energiaa olisi ainakin teoriassa ollut tarjolla runsaasti. Vastaavasti niukempiravinteisella Iso-Tiilijärvellä muuntamiseen tarvittavaa energiaa ei välttämättä olisi ollut tarpeeksi tarjolla, vaikka kyklooppihankajalkaisten kudoksissa ALA:a olisikin ollut runsaasti muunneltavaksi.

Lineaaristen regressiomallien avulla tutkittiin kuinka sestonin rasvahappopitoisuuksissa tapahtuneet muutokset vaikuttivat eri eläinplanktonsukujen kudosten rasvahappopitoisuuksiin ja siten niiden ravintoarvoon. Tuloksia tarkasteltaessa täytyy ottaa huomioon, että makeanveden vesikirpuilla ja hankajalkaisilla on molemmilla kyky akkumuloida ARA:a ja EPA:a (Persson ja Vrede 2006, Taipale ym. 2011, Strandberg ym. 2014) ja tämän lisäksi hankajalkaiset kykenevät akkumuloimaan myös DHA:ta (Brett ym. 2009). Tästä syystä kyseisten rasvahappojen kudospitoisuudet eivät heijasta suoraan sestonin pitoisuuksia. Toisaalta *Daphnia*-vesikirppujen EPA-pitoisuus voi olla hyvinkin riipuvainen sestonin EPA-pitoisuudesta, sillä niukempiravinteisissa järvissä

Daphnia-vesikirput eivät kykene energian vähyden vuoksi valmistamaan EPA:a desaturaaion ja ketjun pidentämisen avulla ALA:sta (Taipale ym 2011). On kuitenkin hyvin todennäköistä, että Vesijärvellä muuntamista on voinut tapahtua, sillä Vesijärven sestonissa energiaa on runsaasti tarjolla. Toisaalta tulosten mukaan *Daphnia*-vesikirppujen EPA-pitoisuudet olivat hieman pienempiä kuin *Bosmina*-vesikirppujen, vaikka ALA-pitoisuudet olivat lähes samat, joten sen mukaan *Daphnia*-vesikirput eivät olisi valmistaneet EPA:a ALA:sta.

Korrelaatioiden perusteella sestonin rasvahappopitoisuuksissa tapahtuvat muutokset vaikuttivat ensisijaisesti herbivoristen *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen, sekä omnivoristen kyklooppihankajalkaisten kudospitoisuuksiin. Näiden eläinplanktonsukujen kudosten rasvahappopitoisuudet heijastivat noin kahden viikon viiveellä sestonin rasvahappopitoisuuksissa tapahtuvia muutoksia.

Bosmina-vesikirpuilla kudosten ja sestonin rasvahappojen pitoisuuksien välillä paras korrelaatio saatiin EPA:n suhteen. Tuloksen perusteella *Bosmina*-vesikirput ovat hyvinkin riippuvaisia sestonin sisältämästä EPA:sta, sillä ne tarvitsevat EPA:a lisääntymiseen ja kasvuun (Müller-Navarra ym. 2000, Persson ja Vrede 2006). Lisäksi sestonin ja *Bosmina*-vesikirppujen kudosten sisältämien omega-3 ja omega-6 rasvahappojen kokonaispitoisuudet korreloivat keskenään tilastollisesti merkitsevästi, joka osoittaa, että sestonissa tuotettujen rasvahappojen pitoisuuksien vaihtelu vaikuttaa *Bosmina*-vesikirppujen kudosten rasvahappopitoisuuksiin ja siten niiden ravintoarvoon. Toisin sanoen syanobakteerien ja viherlevien kukinnan aikaan *Bosmina*-vesikirppujen ravintoarvo laskee noin noin kahden viikon viiveellä, jonka seurauksena *Bosmina*-vesikirppuja ravintonaan käyttävät kuluttajat, kuten kalanpoikaset ja petovesikirput, saavat ravinnostaan entistä vähemmän kasvun ja kehityksen kannalta tärkeitä välttämättömiä rasvahappoja.

Daphnia-vesikirpuilla sestonin ja kudosten sisältämien rasvahappojen välillä paras korrelaatio saatiin LIN:in suhteen. Aiemmin pääteltiin, että Vesijärven *Bosmina*-vesikirput saattoivat käyttää osan LIN:istä ARA:n valmistamiseen, mutta *Daphnia*-vesikirpuilla LIN:in muuntaminen ARA:ksi ei ollut todennäköistä, koska niiden kudoksissa LIN:iä oli suhteessa selvästi enemmän kuin ARA:a. Tämän mukaan

Daphnia-vesikirpuilla ei ollut yhtäsuuri ARA:n tarve kuin *Bosmina*-vesikirpuilla. Tulos tukee von Elert (2002) tutkimusta, jonka mukaan ARA:n lisääminen ei edistä *Daphnia*-vesikirpun kasvua ja lisääntymistä. Sen sijaan voidaan olettaa, että LIN on *Daphnia*-vesikirpuille tärkeä rasvahappo, vaikka aiemmissa tutkimuksissa asiaa ei ole juurikaan korostettu. LIN:in tärkeyttä kuvaa myös se, että *Daphnia*-vesikirppujen biomassa korreloi kudosten LIN-pitoisuuden suhteen voimakkaasti. Lisäksi LIN:in tärkeyttä tukee myös Müller-Navarran (2006) havainto, jonka mukaan makeassa vedessä elävien partenogeneettisesti lisääntyvien *Daphnia*-vesikirppujen LIN-koostumuksen ja sestonin LIN-koostumuksen välillä havaittiin yhteys. Lisäksi on huomioitava, että *Daphnia*-vesikirpuilla myös kudosten kokonais-omega-6 rasvahappojen pitoisuudet korreloivat sestonin vastaavien rasvahappojen kanssa tilastollisesti merkitsevästi.

Kokonaisuudessaan *Daphnia*-vesikirpuilla sestonin ja kudosten välisiä korrelaatioita oli kuitenkin vähemmän kuin *Bosmina*-vesikirpuilla ja niiden selityskertoimet olivat myös heikompia. Tulosten perusteella sestonin rasvahappopitoisuuksissa tapahtuva vaihtelu ei vaikuta *Daphnia*-vesikirppujen ravintoarvoon yhtä voimakkaasti kuin *Bosmina*-vesikirpuilla. Tämä johtuu todennäköisesti siitä, että *Daphnia*-vesikirput valikoivat ravintoaan paremmin kuin *Bosmina*-vesikirput.

Kyklooppihankajalkaisilla sestonin ja kudosten sisältämien rasvahappojen välillä parhaiten korreloivat LIN ja kokonais-omega-6 rasvahapot, aivan kuten *Daphnia*-vesikirpuillakin. Kokonaisuudessaan kyklooppihankajalkaisten kudosten ja sestonissa tarjolla olevien rasvahappojen välisiä korrelaatioita oli lukumääräisesti enemmän ja ne olivat myös selityskertoimiltaan parempia kuin *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuilla, joten tämän perusteella voidaan sanoa, että sestonin rasvahappopitoisuuksissa tapahtuvat muutokset vaikuttivat kaikista tutkituista eläinplanktonsuvuista voimakkaimmin juuri kyklooppihankajalkaisten ravintoarvoon.

Leptodora-petovesikirppujen osalta sestonin sisältämien rasvahappojen pitoisuuksissa tapahtuvat muutokset eivät heijastuneet kovin hyvin kudosten

rasvahappopitoisuuksiin. Sen sijaan sestonista peräisin olevat rasvahapot vaikuttivat saaliseläinten kautta hyvinkin voimakkaasti *Leptodora*-petovesikirppujen biomassaan. Korrelaatioiden mukaan tärkeimmiksi rasvahapoksi osoittautuivat DHA ja DPA, joiden saatavuus (saaliseläinten kautta) rajoitti eniten *Leptodora*-petovesikirppujen biomassan kasvua. ALA:a lukuunottamatta myös muiden tutkittujen omega-3 ja omega-6 rasvahappojen saatavuudella oli vaikutusta *Leptodora*-petovesikirppujen biomassaan, joka viittaa siihen, että *Leptodora*-petovesikiiput ovat erittäin riippuvaisia saaliseläinten kautta saamistaan rasvahapoista. Tämä näkyi selvästi elo-syyskuussa, jolloin *Leptodora*-petovesikirppujen kudosten rasvahappopitoisuudet ja biomassat alkoivat laskea voimakkaasti, samalla kun *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen kudosten rasvahappopitoisuudet ja biomassat laskivat. Lokakuussa *Leptodora*-petovesikirppuja ei havaittu Vesijärvessä enää lainkaan.

Omnivorisilla *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisilla kudosten rasvahappopitoisuudet eivät heijastaneet sestonin rasvahappopitoisuuksissa tapahtuneita muutoksia ja siten sestonin rasvahappopitoisuuksien vaihtelulla ei ollut vaikutusta niiden ravintoarvoon.

Herbivorisilla *Eudiptomus*-keijuhankajalkaisilla kudosten rasvahappokoostumus poikkesi hyvin suuresti sestonin rasvahappokoostumuksesta. Tulos vahvistaa käsitystä, jonka mukaan *Eudiptomus*-keijuhankajalkaiset valitsevat ravintonsa tarkemmin kuin muut tutkitut eläinplanktonsuvut, koska ne syövät pääasiassa vain muutamaa panssarisiimalevä- ja nieluleväasukua (DeMott 1986). Valikoivaa ruokailutapaa puoltaa myös se, että *Eudiptomus*-keijuhankajalkaisten rasvahappopitoisuuksissa ei havaittu eroja tutkimusjärvien välillä, vaikka Vesijärven sestonin rasvahappopitoisuuksissa oli voimakasta vaihtelua tutkimusjakson aikana. Tästä voidaan tehdä johtopäätös, joka mukaan valikoivan ruokailutavan ansiosta *Eudiptomus*-keijuhankajalkaiset kykenevät ylläpitämään kudosten korkeita rasvahappopitoisuuksia myös syanobakteerien ja viherlevien kukinnan aikana, jos tarjolla on niiden lisäksi myös hyvälaatuista ravintoa.

Sestonin sisältämien biomolekyylien pitoisuuksien vertaaminen eläinplanktonin biomassaan antoi arvokasta tietoa siitä, mitkä sestonissa tarjolla olevista biomolekyyleistä olivat sellaisia, joiden pitoisuudet noudattivat mahdollisimman tarkasti biomassassa tapahtuneita muutoksia. Toisin sanoen korrelaatioiden avulla saatiin selville mitkä sestonin biomolekyyleistä olivat sellaisia, joiden saatavuus rajoitti eniten biomassan kasvua. Rasvahappojen osalta sestonin rasvahappopitoisuudet korreloivat parhaiten kaksi viikkoa myöhemmin kerätyistä eläinplanktonnäytteistä määritettyjen biomassojen suhteen.

Bosmina-vesikirppujen biomassaan vaikutti sestonin tuottamista rasvahapoista eniten EPA:n, DPA:n ja DHA:n saatavuus. Useissa aiemmissa tutkimuksissa on saatu tuloksia, joiden mukaan EPA ja DHA ovat eniten makean veden eläinplanktonin kasvuun ja lisääntymiseen vaikuttavia rasvahappoja (Park ym. 2002, Brett ym. 2006, Martin-Creuzburg ym. 2009, Ravet ym. 2010, Taipale ym. 2011, 2014, 2015; Galloway ym. 2014). Tämän tutkimuksen mukaan myös DPA:an saatavuus vaikutti voimakkaasti *Bosmina*-vesikirppun kasvuun ja lisääntymiseen. Vesijärven sestonissa saattoi olla *Bosmina*-vesikirppujen kasvun ja lisääntymisen kannalta liian vähän DPA:ta ja siksi siitä muodostui EPA:n jälkeen voimakkaimmin biomassaa rajoittava rasvahappo. *Bosmina*-vesikirppujen biomassa korreloi edellä mainittujen rasvahappojen lisäksi varsin hyvin myös kaikkien muiden tutkittujen omega-3 ja omega-6 rasvahappojen paitsi ALA:n suhteen. Koska ALA:n pitoisuus sestonissa oli tutkituista rasvahapoista korkein, se ei muodostunut *Bosmina*-vesikirppujen biomassaa rajoittavaksi biomolekyyliksi. Kokonaisuudessaan sestonissa tarjolla olevilla omega-3 ja omega-6 rasvahapoilla oli huomattava vaikutus herbivoristen *Bosmina*-vesikirppujen kasvuun ja lisääntymiseen. Tämän perusteella sestonin sisältämien omega-3 ja omega-6 rasvahappojen saatavuus voi rajoittaa hyvinkin voimakkaasti *Bosmina*-vesikirppujen biomassan kasvua, varsinkin syanobakteerien ja viherlevien kukinnon aikaan, jolloin se vaikuttaa myös *Bosmina*-vesikirppuja syövien kalanpoikasten ravinnon saatavuuteen ja määrään.

Myös *Daphnia*-vesikirppujen biomassat korreloivat sestonin kaikkien muiden tutkittujen rasvahappojen, paitsi ALA:n suhteen. Parhaat korrelaatiot saatiin sestonissa pienempinä pitoisuuksina tarjolla olevien pitkäketjuiset rasvahappojen

eli DPA:n ja DHA:n suhteen, joiden saatavuus rajoitti voimakkaimmin *Daphnia*-vesikirpun biomassan kasvua. Huomionarvoista on, että *Daphnia*-vesikirpuilla sestonin omega-6 rasvahappojen kokonaispitoisuus korreloi paremmin biomassan kanssa kuin omega-3 rasvahappojen kokonaispitoisuus. Tulos poikkeaa Peltomaan ym. (2017) tutkimuksesta, jonka mukaan ravinnon korkea omega-6-pitoisuus hidastaa *Daphnia*-vesikirpun somaattista kasvua ja heikentää niiden lisääntymistä. Tässä tutkimuksessa omega-6-rasvahapoilla oli kuitenkin positiivinen vaikutus. On todennäköistä, että Vesijärvellä *Daphnia*-vesikirput kykenivät keräämään kudoksiinsa tarpeeksi suuren määrän omega-3 rasvahappoja, koska niitä oli sestonissa myös omega-6 rasvahappoihin verrattuna enemmän tarjolla. Tämän vuoksi omega-3 rasvahappojen saatavuus ei rajoittanut biomassan kasvua, mutta pienempinä pitoisuuksina saatavilla olevat omega-6 rasvahapot sen sijaan rajoittivat.

Mistä edellä mainitut erot eri tutkimustulosten välillä johtuvat? Useissa rasvahapotutkimuksissa on perinteisesti käytetty koe-eläiminä *Daphnia*-vesikirppuja, joiden kasvatus laboratorio-olosuhteissa on moneen muuhun eläinplanktoniin verrattuna suhteellisen helppoa. Tämän vuoksi *Daphnia*-vesikirpuista löytyy myös paljon julkaistua tutkimustietoa. Monissa rasvahappoja käsittelevissä ruokintatutkimuksissa *Daphnia*-vesikirpuille on tarjottu laboratorioissa yksipuolisena ravintona esimerkiksi runsaasti EPA:a sisältävää levää ja vertailuna vähemmän EPA:a sisältävää levää. Tuloksena on todettu, että EPA lisää *Daphnia*-vesikirppujen somaattista kasvua ja lisäksi se on myös lisääntymisen kannalta tärkeä rasvahappo (Müller-Navarra ym. 2000, Persson ja Vrede 2006, Evjemo ym. 2008, Burns ym. 2011, Sperfeld ja Wacker 2011). Joskus *Daphnia*-vesikirpuilla tehtyjen tutkimusten tuloksia on saatettu yleistää koskemaan myös muita herbivorisia vesikirppuja, kuten *Bosmina*-vesikirppuja. Luonnonolosuhteissa tilanne on kuitenkin monimutkaisempi kuin laboratoriossa, jossa vältetään ympäristötekijöiden vaikutusta. Luonnollisissa vesissä eläinplanktonille on yleensä tarjolla monipuolisempaa ja laadultaan vaihtelevampaa ravintoa. Erilaisista ympäristötekijöistä johtuen jokaisessa järvessä tai lammessa on erilainen kasviplanktonilajisto ja sitä mukaa myös erilainen

biomolekyylien koostumus. Tästä syystä tärkeiden biomolekyylien pitoisuuksissa saattaa olla hyvinkin suuria eroja järvien välillä ja jopa järven sisällä eri vuodenaikoina, olosuhteiden muuttuessa. Tämän vuoksi tietyssä järvessä pienempänä pitoisuutena saatavilla oleva biomolekyyli ei välttämättä rajoita eläinplanktonin biomassaa samalla tavoin toisessa järvessä, jossa kyseisen biomolekyylin pitoisuus saattaa olla muihin biomolekyyliin verrattuna suurempi. Lisäksi sattumalla on huomattava vaikutus ravinnon laadun suhteen, varsinkin ei-valikoivaa ruokailutapaa noudattavilla herbivorisilla vesikirpuilla.

Hankajalkaisten osalta sestonista saatavilla olevilla rasvahapoilla oli vaikutusta ainoastaan kyklooppihankajalkaisten ja *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten biomassan kasvuun. Kyklooppihankajalkaisten biomassaan vaikutti eniten sestonista tarjolla olevista rasvahapoista DPA:n ja DHA:n saatavuus. Sen sijaan kudospitoisuutena kyklooppihankajalkaisten biomassaan vaikutti eniten omega-6-rasvahappojen kokonaispitoisuus. Korrelaatioiden selityskertoimien mukaan kudosten sisältämät rasvahapot vaikuttivat kyklooppihankajalkaisten biomassaan enemmän kuin sestonissa tarjolla olevat rasvahapot.

Aiemmin tehtiin havainto, jonka mukaan omnivoristen *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten kudosten ja sestonin sisältämien rasvahappojen pitoisuudet eivät korreloineet keskenään. *Limnocalanus*-keijuhankajalkaiset kuitenkin tarvitsevat rasvahappoja kasvuun ja lisääntymiseen, sillä *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten biomassa korreloi positiivisesti varsin monen sestonista saatavilla olevan rasvahapon kanssa. Näiden korrelaatioiden selityskertoimet olivat kuitenkin melko heikkoja. Heikot korrelaatiot johtuvat lähinnä siitä, että *Limnocalanus*-keijuhankajalkaiset voivat olla sekä petoja, että herbivoreja ja tämän lisäksi niiden elinympäristössä eli viileämmässä alusvedessä on vähemmän sestonia tarjolla kuin yhteyttävässä kerroksessa.

Merkittävä tekijä, joka vaikuttaa *Limnocalanus*-hankajalkaisten rasvahappokoostumukseen ja -pitoisuuksiin, on niiden lisääntyminen ja sen ajankohta. Aikuiset *Limnocalanus*-keijuhankajalkaiset parittelevat ja munivat talvella, jonka vuoksi niiden täytyy jo syksyllä alkaa keräämään lipidivarastoja

talven varalle. Kudosten rasvahappopitoisuuksissa on kuitenkin suurta vaihtelua eri kuukausien välillä ja jopa samana päivänä kerättyjen yksilöiden kesken (Mäkinen ym. 2017). Vesijärvellä *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten kudoksissa rasvahappopitoisuudet olivat korkeimmillaan elokuun lopulla ja myös Hiltusen (2016) tutkimuksessa *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten lipidivarastot olivat suurimmillaan elokuussa. Vesijärvellä *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten rasvahappopitoisuudet laskivat elokuun jälkeen voimakkaasti ja samalla myös niiden biomassa pieneni voimakkaasti. Syys-lokakuussa kerätyistä eläinplanktonnäytteistä *Limnocalanus*-hankajalkaisia ei enää havaittu lainkaan.

Ehkä merkittävin syy *Limnocalanus*-keijuhankajalkaisten biomassan romahtamiseen on se, että jääkauden reliktinä *Limnocalanus*-keijuhankajalkaiset viihtyvät pääosin viileässä alusvedessä ja kesän edetessä myös alusvedet lämpenevät. Lopulta viileää vettä löytyy enää syvänteistä ja syvänteiden pienessä tilassa laadukasta ravintoa on selvästi vähemmän kuin yhteyttävässä vesikerroksessa. Tällöin kilpailu ravinnosta kiristyy ja sen seurauksena laadultaan sopivan ravinnon löytäminen on yhä vaikeampaa. Kun laadukas ravinto lopulta loppuu, voi sen seurauksena olla koko populaation (biomassan) romahtaminen, kuten Vesijärven tapauksessa on todennäköisesti tapahtunut.

Kuten aiemmin havaittiin, sestonin rasvahappopitoisuudet eivät korreloineet *Eudiptomus*-keijuhankajalkaisten kudosten rasvahappopitoisuuksien kanssa lainkaan. Samoin sestonin rasvahappopitoisuuksien vaihtelulla ei ollut myöskään vaikutusta *Eudiptomus*-keijuhankajalkaisten biomassaan. Tämä tarkoittaa sitä, että valikoivan ruokailutavan ansiosta *Eudiptomus*-keijuhankajalkaiset pystyivät keräämään ravinnostaan elintoimintojensa ylläpitämisen, sekä kasvun ja lisääntymisen kannalta tarpeeksi suuren määrän fysiologisesti tärkeitä omega-3 ja omega-6 rasvahappoja, jonka vuoksi yksikään tutkittu rasvahappo ei muodostunut *Eudiptomus*-keijuhankajalkaisten biomassaa rajoittavaksi biomolekyyliksi.

4.3 Sestonin tuottamien sterolien vaikutus eläinplanktoniin

Vesijärven sestonin yleisin steroli oli kolesteroli, jonka osuus oli hieman alle puolet kaikista tutkituista steroleista. Eläinplanktonilla kolesterolin osuus oli selvästi suurempi, sillä kaikissa eläinplanktonsuvuissa kolesterolin osuus oli yli 90 % tutkituista steroleista. Tulokset tukevat käsitystä, jonka mukaan kolesteroli on eläinplanktonin tärkein steroli ja eläinplanktonit myös pyrkivät pitämään kudosten kolesterolipitoisuuden mahdollisimman korkeana (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009a). Molemmissa tutkimusjärvissä kolesterolin suurimmat osuudet oli kyklooppihankajalkaisilla. Tulos tukee havaintoa, jonka mukaan kyklooppihankajalkaiset kykenevät valmistamaan kolesterolia asetaattien esiasteista biokonversion avulla (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009a) ja sen vuoksi ne myös kykenevät pitämään kolesterolin osuuden korkeampana kuin muut tutkitut eläinplanktonsuvut.

Molemmissa tutkimusjärvissä vesikirpuilla oli kudoksissaan enemmän kolesterolia kuin hankajalkaisilla. Tulos tukee käsitystä, jonka mukaan kolesteroli on tärkeä erityisesti vesikirpuille, koska vesikirput eivät itse kykene tuottamaan kolesterolia lainkaan (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009a). Vesikirpuilla kolesterolipitoisuudet kuitenkin vaihtelivat erilaisten ravinnonhankintatapojen mukaan. Vesijärvellä *Leptodora*-petovesikirpuissa oli enemmän kolesterolia kuin herbivorisissa *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuissa. Myös Iso-Tiilijärvellä omnivorisissa *Holopedium*-vesikirpuissa oli hieman enemmän kolesterolia kuin herbivorisissa *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuissa. Kolesterolin lisäksi ravinnonhankintatavat vaikuttivat myös stigmasterolipitoisuuksiin, sillä saalistavilla petoäyriäisillä *Leptodora*-petovesikirpuilla ja *Heterocope*-keijuhankajalkaisilla stigmasterolipitoisuudet olivat korkeampia kuin herbivorisilla ja omnivorisilla saman lahkonsa edustajilla.

Vesijärven *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuilla, sekä kyklooppihankajalkaisilla kampesterolipitoisuudet olivat korkeampia kuin Iso-Tiilijärven yksilöissä. Perimmäinen syy kampesterolin pitoisuuseroihin järvien välillä jäi epäselväksi, koska Iso-Tiilijärven sestonin sterolipitoisuuksia ei analysoitu lainkaan.

Molemmissa tutkimusjärjissä keijuhankajalkaisilla oli kudoksissaan enemmän kampesterolia kuin kyklooppihankajalkaisilla, joten tämän tuloksen mukaan keijuhankajalkaisilla on kyklooppihankajalkaisiin verrattuna parempi kyky akkumuloida kampesterolia.

Aiemmissä tutkimuksissa on todettu, että kolesteroli on eläinplanktonin kasvun ja lisääntymisen kannalta tärkein steroli (Martin-Creuzburg ja von Elert 2009a). Vesijärven sestonissa oli kuitenkin niin paljon kolesterolia tarjolla, että sen saatavuus ei rajoittanut yhdenkään eläinplanktonsuvun biomassan kasvua. Sen sijaan sestonissa kolesterolia pienempinä pitoisuuksina olevat sterolit rajoittivat *Bosmina*-vesikirppujen, *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaisten ja kyklooppihankajalkaisten biomassan kasvua.

Bosmina-vesikirpuilla biomassan kasvua rajoitti eniten brassikasterolin, kampesterolin ja stigmasterolin saatavuus. Korrelaation selityskertoimien mukaan niiden vaikutus oli jopa suurempi kuin rasvahappojen. Saatu tulos korostaa sterolien tärkeää merkitystä varsinkin *Bosmina*-vesikirpuille.

Eudiaptomus-keijuhankajalkaisilla biomassan kasvuun vaikutti eniten kampesterolin ja β -sitosterolin kudospitoisuus, sekä sestonin sisältämän stigmasterolin pitoisuus. Edellämainituista steroleista brassikasteroli ja stigmasteroli kuuluvat ns. matalan kynnyksen steroleihin, jotka vaikuttavat *Daphnia*-vesikirppujen somaattiseen kasvuun pienempinä pitoisuuksina kuin kolesteroli (Martin-Creuzburg ym. 2014). Koska *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaiset valitsevat ravinnokseen lähinnä runsaasti rasvahappoja sisältäviä nieluleviä ja panssariisiimaleviä (DeMott 1986), saattaa niiden ravinnossa tämän vuoksi olla vähemmän steroleista. Näin käy varsinkin silloin jos valinta kohdistuu panssariisiimaleviin, joissa sterolipitoisuudet ovat yleensä melko pieniä (Peltomaa ym. 2017). Koska nielulevissä on runsaasti stigmasterolia (Taipale ym. 2016b), on todennäköistä, että *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaiset söivät Vesijärvellä ensisijaisesti panssariisiimalevää. Kokonaisuudessaan tutkimustuloksista voidaan tehdä johtopäätös, jonka mukaan valikoivan ruokailutavan ansiosta *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaiset kykenivät keräämään ravinnostaan tarpeeksi suuren määrän

fysiologisesti tärkeitä välttämättömiä rasvahappoja, mutta lopulta niiden biomassaa rajoittaviksi biomolekyyleiksi osoittautuivat sterolit, varsinkin panssariisiimalevissä pienempinä pitoisuuksina olevat stigmasteroli, kampesteroli ja β -sitosteroli.

Kyklooppihankajalkaisilla biomassan kasvu oli tehokkaampaa, mitä enemmän niiden kudoksissa oli stigmasterolia. Korrelaatioiden määrän ja selityskertoimien mukaan kudosten rasvahappopitoisuuksilla oli kuitenkin suurempi merkitys kyklooppihankajalkaisten biomassaan kuin yksittäisellä sterolilla.

4.4 Sestonin tuottamien aminohappojen vaikutus eläinplanktoniin

Tutkimusjärvien sestonien aminohappokoostumukset erosivat toisistaan vain yhden välttämättömän aminohapon eli treoniinin ja yhden ei-välttämättömän aminohapon eli glysiinin suhteen. Kokonaisuudessaan Iso-Tiilijärven sestonissa oli selvästi enemmän sekä välttämättömiä, että ei-välttämättömiä aminohappoja. Aiemmista tutkimuksista ei ole löytynyt yksittäistä selittävää tekijää, jonka perusteella voisi sanoa miksi Iso-Tiilijärven sestonissa oli huomattavasti enemmän aminohappoja kuin Vesijärvessä. Asian selvittäminen vaatii lisätutkimusta. Herää kuitenkin kysymys, onko Iso-Tiilijärven sestonin suurilla aminohappopitoisuuksilla jotain tekemistä järven happamuuden kanssa tai toisin päin, vaikuttaako veden happamuus sestonin aminohappotuotantoa lisäävästi? Kokonaisuuden kannalta asiaa vielä monimutkaistaa tieto, jonka mukaan kasviplanktonista parhaita aminohappojen tuottajia ovat nielulevät, piilevät ja syanobakteerit (S. Taipale 2019, luento), joiden prosenttiosuudet ja biomassat olivat Vesijärvellä huomattavasti suurempia kuin Iso-Tiilijärvellä.

Aiemmissä tutkimuksissa on tehty havainto, jonka mukaan rehevöityminen vähentää aminohappojen siirtymistä boreaalisten järvien ravintoverkoissa (Taipale ym. 2019b). Tässä tutkimuksessa Vesijärvi edustaa selvästi rehevämpää järveä, mutta sestonin alhaisemmista aminohappopitoisuuksista huolimatta eläinplanktonin kudosten aminohappopitoisuuksissa oli merkitseviä eroja ainoastaan ei-välttämättömiin aminohappoihin kuuluvan aspartaamihapon osalta.

Bosmina-vesikirppuilla aspartaamihappopitoisuudet olivat korkeampia Vesijärven yksilöissä ja *Daphnia*-vesikirpuilla Iso-Tiilijärven yksilöissä. Järven rehevyys ei siten yksistään selitä miksi Vesijärven eläinplanktonyhteisössä aminohappopitoisuudet olivat lähes samalla tasolla kuin Iso-Tiilijärvessä, vaikka lähtökohtaisesti Iso-Tiilijärven sestonissa aminohappoja oli tarjolla huomattavasti enemmän. Selitys saattaa kuitenkin löytyä siitä, että ainakin *Daphnia*-vesikirpuilla on havaittu kyky kompensoida välttämättömien aminohappojen saatavuutta (Taipale ym. 2018). Sen mukaan *Daphnia*-vesikirput pystyvät keräämään kudoksiinsa lähes yhtä suuren määrän välttämättömiä aminohappoja olosuhteissa, joissa aminohappoja oli tarjolla vähemmän, verrattuna olosuhteisiin, joissa aminohappoja oli enemmän (Taipale ym. 2018). Tämän tutkimuksen tulosten perusteella näyttää siltä, että myös *Bosmina*-vesikirput kykenevät kompensoimaan aminohappojen saatavuutta jopa *Daphnia*-vesikirppuja paremmin.

Molemmissa tutkimusjärvissä sestonin aminohappopitoisuudet pysyivät korkeina koko tutkimusjakson ajan, eikä aminohappopitoisuuksien vaihtelulla siten ollut vaikutusta eläinplanktonin kudosten aminohappopitoisuuksiin ja ravintoarvoon. Sen sijaan Vesijärvellä sestonissa saatavilla olevien välttämättömien aminohappojen kokonaispitoisuus vaikutti keijuhankajalkaisten biomassaan.

4.5 Tutkimuksen herättämiä kysymyksiä

Monet tutkimuksen tulokset tukivat aiempien tutkimusten tuloksia, mutta lisäksi saatiin myös uutta tietoa, jotka omalta osaltaan herättävät lisäkysymyksiä. Yksi huomionarvoinen kysymys on, olisivatko regressiomallien korrelaatiot kenties voineet olla parempia, jos näytteitä olisi kerätty useammin tiheämmällä aikavälillä? Tässä tutkimuksessa seston- ja eläinplanktonnäytteitä kerättiin Vesijärvestä kahden viikon välein ja Iso-Tiilijärvestä kuukauden välein. Erilaisten korrelaatiotestausten jälkeen havaittiin, että kaikkien eläinplanktonisukujen aminohappo- ja rasvahappopitoisuudet, sekä biomassat korreloivat parhaiten kaksi viikkoa aiemmin kerätyistä sestonnäytteistä analysoitujen amino- ja rasvahappopitoisuuksien suhteen. Sterolien osalta sestonin ja kudosten

pitoisuudet, sekä biomassat korreloivat sen sijaan parhaiten samana päivänä kerättyjen näytteiden kanssa. Mikä olisi mahdollisesti ollut optimaika, jolloin eri eläinplanktonsukujen kudosten sisältämät biomolekyylit olisivat heijastaneet parhaiten sestonissa tarjolla olevien biomolekyylien pitoisuuksia? Emme tiedä, onko kahden viikon väli optimaalinen amino- ja rasvahappopitoisuuksien vertailuun, kun toisena vaihtoehtona olisi ollut joko samana päivänä, tai vasta neljän viikon välein kerättyjen näytteiden vertaaminen keskenään. Aikaisemmissa tutkimuksissa on havaittu, että sestonia suodattamalla syöville *Daphnia*-vesikirpuilla sestonin rasvahappokoostumuksessa tapahtuva muutos näkyi kudosten rasvahappokoostumuksessa noin kuuden vuorokauden viiveellä (Taipale ym. 2009, Taipale ym. 2011) ja toisaalta arktisen merialueen *Calanus hyperboreus* -keijuhankajalkaisten ruokintakokeessa muutos kudosten lipidikoostumuksessa näkyi vasta noin 11 vuorokautta ruokinnan jälkeen (Graeve ym. 2005). Edellä mainituissa tutkimuksissa sestonin ja eläinplanktonin kudosten rasvahappojen välistä riippuvuutta ei tutkittu hiiltä kohti laskettuina pitoisuuksina, vaan suhteellisena osuutena rasvahapoista. Olisimme ehkä voineet saada erilaisia tuloksia, jos näytteitä olisi kerätty useammin ja siten olisimme kenties voineet löytää tietyn optimaalisen aikavälin, jolloin eri biomolekyylit olisivat korreloineet parhaiten eri eläinplanktonsukujen kudospitoisuuksien ja biomassojen suhteen. Tämä olisi kuitenkin ollut erittäin aikaavievää ja sen vuoksi se voisi olla aivan erillisen tutkimuksen aihe.

Tutkimuksessa jäi myös epäselväksi kuinka happamuus todellisuudessa vaikuttaa sestonin sisältämien biomolekyylien määrään ja kulkeutumiseen ravintoverkossa. Avoimiksi kysymyksiksi jäi esimerkiksi vaikuttaako happamuus kasviplanktonkoostumukseen ja/tai biomolekyylien tuottamiseen tai jopa eri eläinplanktonsukujen kykyyn akkumuloida tärkeitä biomolekyylejä? Saatujen tulosten perusteella ei voi tehdä pitkälle meneviä johtopäätöksiä happamuuden vaikutuksesta, koska tuloksia voidaan selittää varsin hyvin tutkimusjärvien ravinnepitoisuuksissa ja kasviplanktonkoostumuksissa havaittujen erojen perusteella.

4.6 Yhteenveto

Vesijärven sestonissa ja eläinplanktonin kudoksissa rasvahappopitoisuudet olivat korkeimmillaan alkukesällä, jolloin ympäristöolosuhteet rasvahappoja syntetisoiville kasviplanktonluokille olivat suotuisat. Pintaveden lämmitessä ja syanobakteerien, sekä viherlevien yleistyessä, kasviplanktonin rasvahappopitoisuudet laskivat ja pysyivät alhaisina aina elokuun loppuun saakka.

Sestonissa tapahtuvat muutokset heijastuivat eri eläinplanktonsukujen rasvahappopitoisuuksiin eri tavoin. Voimakkaimmin muutokset näkyivät muutaman viikon viiveellä sestonia suodattamalla syövässä ja ei-valikoivaa ruokailutapaa harjoittavissa *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirpuissa, sekä omnivorisissa kyklooppihankajalkaisissa. Toisen asteen kuluttajina *Leptodora*-petovesikirput olivat sen sijaan riippuvaisia *Bosmina*- ja *Daphnia*-vesikirppujen kudosten sisältämistä rasvahapoista.

Tutkimusjakson aikana sestonin biomolekyyli-pitoisuuksissa tapahtuvilla muutoksilla ei ollut suurta vaikutusta eläinplanktonsukujen ravintoarvoon, mutta muutosten vaikutus näkyi eläinplanktonsukujen biomassoissa. *Daphnia*-vesikirpuilla ja kyklooppihankajalkaisilla biomassaa eniten rajoittaviksi biomolekyyleiksi osoittautuivat sestonissa pienempinä pitoisuuksina tarjolla olevat pitkäketjuiset rasvahapot. Sen sijaan *Bosmina*-vesikirpuilla biomassaa rajoittivat sestonista tarjolla olevien rasvahappojen lisäksi myös kolesterolia pienempinä pitoisuuksina esiintyvien sterolien saatavuus.

Valikoivan ruokailutavan ansiosta *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaiset pystyivät löytämään runsaasti rasvahappoja sisältävää ravintoa ja siten ylläpitämään muihin eläinplanktonsukuihin verrattuna korkeampia rasvahappopitoisuuksia, myös syanobakteerien ja viherlevien kukinnan aikaan. Eniten *Eudiaptomus*-keijuhankajalkaisten biomassaa rajoittaviksi biomolekyyleiksi muodostuivat sestonissa ja kudoksissa kolesterolia pienempinä pitoisuuksina esiintyvät sterolit. *Limnocalanus*-keijuhankajalkaiset valikoivat ravintoa, mutta viileässä alusvedessä kilpailun kiristyessä ne eivät onnistuneet keräämään kudoksiinsa tarpeeksi suuria

määriä rasvahappoja, jotka lopulta osoittautuivat niiden biomassaa eniten rajoittaviksi biomolekyyleiksi.

Kummassakin tutkimusjärvessä oli tarjolla runsaasti aminohappoja, eikä aminohappopitoisuuksien vaihtelulla ollut vaikutusta eläinplanktonsukujen ravintoarvoon. Sen sijaan keijuhankajalkaisten biomassa oli riippuvainen sestonin sisältämien välttämättömien aminohappojen kokonaispitoisuudesta.

Tutkimushypoteesin (H_1) mukaisesti valikoivaa ruokailutapaa edustavilla *Eudiaptomus*-suvun keijuhankajalkaisilla rasvahappojen pitoisuudet olivat vähäravinteisessa Iso-Tiilijärvessä korkeammat kuin runsasravinteisessa Vesijärvessä. Samoin aminohappojen pitoisuudet olivat Iso-Tiilijärven eläinplanktonissa Vesijärven yksilöihin verrattuna korkeammat kaikkien muiden paitsi *Bosmina*-vesikirppujen osalta. Tutkimushypoteesista poiketen vesikirpuilla ja kyklooppihankajalkaisilla kudosten rasvahappo- ja sterolipitoisuudet olivat Vesijärven yksilöillä korkeammat kuin Iso-Tiilijärven yksilöissä, joten tulokset eivät kokonaisuudessaan tue ensimmäistä tutkimushypoteesia. Iso-Tiilijärvellä veden happamuus saattoi myös osaltaan vaikuttaa siihen, että sestonin ja eläinplanktonin kudosten sisältämät rasvahappo- ja sterolipitoisuudet jäivät tutkimushypoteesin oletuksesta poiketen pienemmiksi.

Toisen tutkimushypoteesin (H_2) mukaisesti kaikkien tutkittujen eläinplanktonsukujen kudoksissa tapahtui jonkinasteista EPA:n ja DPA:n pitoisuuksien laskua syanobakteerien ja viherlevien kukinnan aikaan, mutta viiveellä. Muutokset olivat selvästi suurempia Vesijärvessä, jossa syanobakteereja ja viherleviä oli enemmän kuin Iso-Tiilijärvessä.

KIITOKSET

Kiitokset kuuluvat monille projektiin osallistuneille henkilöille. Varsinkin pro gradu-tutkielman ohjaajat Sami Taipale ja Kirsi Kuoppamäki ansaitsevat kiitokset aiheeseen perehdyttämisestä ja ohjauksesta. Ilman heitä tästä ei olisi tullut mitään. Sami ohjeisti laboratoriotöissä ja antoi neuvoja kirjallisessa työskentelyssä. Kirsi opasti eläinplanktonsukujen määrittämisessä ja hän oli mukana myös Iso-Tiilijärvellä kasvi- ja eläinplanktonin, sekä klorofyllin keräämisessä ja vedenlaatuun liittyvissä mittauksissa. Lisäksi hän määritteli molempien järvien eläinplanktonsukujen biomassat, joita myöhemmin verrattiin biomolekyylien pitoisuuksiin. Lahden ympäristöpalveluiden työntekijät Esa Mäkelä ja Priidu Pae osallistuivat tarmolla Vesijärvellä tehtyihin näytteidenottoihin koko kesän ajan, lukuun ottamatta vuosilomien aikaa. Kiitokset siitä. Heidän lisäksi mukana olivat myös harjoittelijat Hanna Suutari ja Anna Vesanen, jotka auttoivat näytteidenotossa, joten kiitos kuuluu myös heille. Kiitokset myös Iida Mäkelälle, joka organisoivat ja antoi luvan käyttää Lahden Tiedepuistossa Helsingin yliopiston kylmäkuivauslaitetta, vaikka kone olikin varattu heidän projektiaan varten. Kiitos siitä. Lisäksi esitän kiitokseni Jyväskylän yliopiston laboratorioteknikoille Emma Pajuselle ja Mervi Koistiselle laboratoriotyöskentelyn avustamisesta ja ohjeistamisesta, sekä mukavasta seurasta. Suuri kiitos kuuluu myös Marco Calderinille, joka korona-viruksen aiheuttaman sulun aikana auttoi aminohapponäytteiden analysoinnissa. Erityiskiitos kuuluu lisäksi Tuula Väänäselle, joka ohjeisti GCMS Postrum ja GCMS Browser-ohjelman käytössä ja antoi apua tarvittaessa. Samoin iso kiitos Ossi Kevalle, joka opasti rasvahappojen tunnistamisessa ja neuvoi pitoisuuksien laskemisessa. Lisäksi haluan esittää suuret kiitokset tutkimuksessa taloudellisesti avustaneita Maa- ja vesitekniikan tuki ry:tä, sekä Padasjoen Säästöpankkisäätiötä.

KIRJALLISUUS

- Aro A, Mutanen M. & Uusitupa M. 2017. *Ravitsemustiede*. 5.painos. Kustannus Oy. Helsinki: Duodecim. 613 s.
- Arts M., Ackman R. & Holub B. 2001. "Essential fatty acids" in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 58(1): 122-137.
- Arts M.T & Kohler C.C. 2009. Health and Condition in Fish: The Influence of Lipids on Membrane Competency and Immune Response. Teoksessa: Arts M.T., Kainz M. & Brett M.T. (toim.), *Lipids in aquatic ecosystems*, Springer New York, pp. 237-255.
- Balcer B.D., Korda N.L. & Dodson S.I. 1984. Zooplankton of the Great Lakes. The University of Wisconsin Press, Ltd. London, England. pp. 56-58.
- Becker C. & Boersma M. 2005. Differential effects of phosphorus and fatty acids on *Daphnia magna* growth and reproduction. *Limnology and Oceanography*. 50: 388-397.
- Bell J.G. & Sargent J.R. 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: Current status and future opportunities. *Aquaculture*. 218: 491-499.
- Bengtsson L., Herschy, R.W. & Fairbridge R.E. (toim.). 2012. Encyclopedia of Lakes and Reservoirs. Springer Sciences and Business Media. Switzerland.
- Błędzki L.A. & Rybak J.I. 2016. Freshwater Crustacean Zooplankton of Europe Cladocera & Copepoda (Calanoida, Cyclopoida) Key to Species Identification, with Notes on Ecology, Distribution, Methods and Introduction to Data Analysis. Springer. 838 s.
- Bouchnak R. & Steinberg C.E.W. 2014. Algal diets and natural xenobiotics impact energy allocation in cladocerans. II. *Moina macrophora* and *Moina micrura*. *Limnologica*. 44, 23-31. doi:10.1016/j.limno.2013.06.002.
- Brett M.T. & Müller-Navarra D.C. 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic food web processes. *Freshwater Biology*. 38: 483-499.
- Brett M., Müller-Navarra D., Ballantyne A., Ravet J. & Goldman C. 2006. *Daphnia* fatty acid composition reflects that of their diet. *Limnology and Oceanography*. 51(5): 2428-2437.
- Brett M., Müller-Navarra D. & Persson J. 2009 Crustacean zooplankton fatty acid composition. Teoksessa: Arts. M.T., Brett M. T. & Kainz M. (toim.), *Lipids in Aquatic Ecosystems*, Springer New York, pp. 115-146.
- Brown M.R., Jefferey S.W., Volkman J. K. & Dunstan G. A. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. 151: 315-331.
- Burns C.W., Brett M. & Schallenberg M. 2011. A comparison of the trophic transfer of fatty acids in freshwater plankton by cladocerans and calanoid copepods. *Freshwater Biology*. 56(5): 889-903.

- Caramujo M.J., Boeschker, H.T.S. & Admiraal W. 2008. Fatty acid composition of algae mark the development and composition of harpacticoid copepods. *Freshwater Biology*. 53: 77–90.
- Crockett E.L. & Hassett R.P. 2005. A cholesterol-enriched diet enhances egg production and egg viability without altering cholesterol content of biological membranes in the copepod *Acartia hudsonica*. *Physiol. Biochem. Zool.* 78: 424 – 433.
- DeMott W.R. 1986. The role of taste in food selection by freshwater zooplankton. *Oecologia*. 69: 334–340.
- Evjemo J.O., Tokle N., Vadstein O. & Olsen Y. 2008. Effect of essential dietary fatty acids on egg production and hatching success of the marine copepod *Temora longicornis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 365: 31–37.
- Fink P., Pflitsch C. & Marin, K. 2011. Dietary essential amino acids affect the reproductions of the keystone herbivore *Daphnia pulex*. *PLoS ONE*. 6:e28498, doi: 10.1371/journal.pone.0028498.
- Folch J., Lees M. & Stanley G.H.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226(1): 497–50.
- Galloway A.W.E., Taipale S. J., Hiltunen M., Peltomaa E., Standberg U. & Brett M. 2014. Diet specific biomarkers show that high-quality phytoplankton fuels herbivorous zooplankton in large boreal lakes. *Freshwater Biology*. 59: 1902–1915.
- Graeve M., Albers C. & Kattner G. 2005. Assimilation and biosynthesis of lipids in Arctic *Calanus* species based on feeding experiments with a ¹³C labelled diatom. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 317: 109–125.
- Grieneisen M. 1994. Recent advances in our knowledge of ecdysteroid biosynthesis in insects and crustaceans. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 24(2): 115–132.
- Guschina I.A. & Harwood J.L. 2009. Algal Lipids and Effect of the Environment on their Biochemistry. Teoksessa: Arts M.T., Kainz M. & Brett M.T. (toim.), *Lipids in aquatic ecosystems*, Springer New York, pp. 1–24.
- Gutseit K., Berglund O. & Granéli W. 2007. Essential fatty acid and phosphorus in seston from lakes with contrasting terrestrial dissolved organic carbon content. *Freshwater Biology*. 52: 28–38.
- Haines T. H. 2001. Do sterols reduce proton and sodium leaks through lipid bilayers? *Progress in Lipid Research*, 40(4): 299–324.
- Hart R.C. & Bychek, E.A. 2011. Body size in freshwater planktonic crustaceans: an overview of extrinsic determinants and modifying influences of biotic interactions. *Hydrobiologia* 668: 61–108.
- Hessen D.O. & Leu E. 2006. Trophic transfer and trophic modification of fatty acids in high Arctic lakes. *Freshwater Biology*. 51: 1987–1998.

- Hiltunen M., Strandberg U., Taipale S. & Kankaala P. 2015. Taxonomic identity and phytoplankton diet affect fatty acid composition of zooplankton in large lakes with differing dissolved organic carbon concentration. *Limnology and Oceanography*. 1-15.
- Hiltunen M. 2016. The role of zooplankton in the trophic transfer of fatty acids in boreal lake food webs. University of Eastern Finland. No. 210. 68 s.
- Innis S. 2007. Fatty acids and early human development. *Early human development*. 83(12): 761-766.
- Iverson. S.J. 2009. Tracing Aquatic Food Webs Using Fatty Acids: From Qualitative Indicators to Quantitative Determination. Teoksessa: Arts M.T., Kainz M. & Brett M.T. (toim.), *Lipids in aquatic ecosystems*, Springer New York, pp. 281–307.
- Jiang, H. & Gao K. 2004. Effects of lowering temperature during culture on the production of polyunsaturated fatty acids in the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* 40: 651–654.
- Jiao J., Li Q., Chu J., Zeng W., Yang M. & Zhu S. 2014. Effect of n-3 PUFA supplementation on cognitive function throughout the life span from infancy to old age: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*. 100: 1422 – 1436.
- Koch, U., Martin-Creuzburg D., Grossart H.-P. & Straile D. 2011. Single dietary amino acids control resting egg production and affect population growth of a key freshwater herbivore. – *Oecologia* 167: 981– 989. doi:10.1007/s00442-011-2047-4.
- Koch U., Martin-Creuzburg M., Grossart H.-P. & Straile D. 2012. Differences in the amino acid content of four green algae and their impact on the reproductive mode of *Daphnia pulex*. *Fundam. Appl. Limnol.* 181: 327–336.
- Kotov A., Forró L., Korovchinsky N.M. & Petrusek A. 2013. World checklist of freshwater Cladocera species. World Wide Web electronic publication. Available online at <http://fada.biodiversity.be/group/show/17> (luettu 12.4.2021).
- Koussoroplis A., Nussbaumer J., Arts M., Guschina I. & Kainz M. 2014. Famine and feast in a common freshwater calanoid: Effects of diet and temperature on fatty acid dynamics of *Eudiaptomus gracilis*. *Limnology and Oceanography*. 59(3): 947-958.
- Lauritzen L., Hansen H., Jørgensen M. & Michaelsen K. 2001. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Progress in lipid research*. 40(1-2): 1-94.
- Lee R.F., Hagen W. & Kattner G. 2006. Lipid storage in marine zooplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 307: 273–306.
- Martin-Creuzburg D. & von Elert E. 2004. Impact of 10 dietary sterols on growth and reproduction of *Daphnia galeata*. *J. Chem. Ecol.* 3: 483-500.

- Martin-Creuzburg D., Wacker A., & von Elert E. 2005. Life history consequences of sterol availability in the aquatic keystone species *Daphnia*. *Oecologia* 144: 362 – 372.
- Martin-Creuzburg D., von Elert E. & Hoffmann K.H. 2008. Nutritional constraints at the cyanobacteria–*Daphnia magna* interface: The role of sterols. *Limnol. Oceanogr.* 53: 456–468.
- Martin-Creuzburg D. & von Elert E. 2009a. Good food versus bad food: the role of sterols and polyunsaturated fatty acids in determining growth and reproduction of *Daphnia magna*. *Aquat. Ecol.* 43: 943–950.
- Martin-Creuzburg D. & von Elert E. 2009b. Ecological Significance of Sterols in Aquatic Food Webs. Teoksessa: Arts M.T., Kainz M. & Brett M.T. (toim.), *Lipids in aquatic ecosystems*, Springer New York, pp. 43–64.
- Martin-Creuzburg D., Sperfeld E. & Wacker A. 2009. Colimitation of a freshwater herbivore by sterols and polyunsaturated fatty acids. *Proc. R. Soc. B* 276: 1805–1814.
- Martin-Creuzburg D., Oexle S. & Wacker A. 2014. Threshold for sterol-limited growth of *Daphnia magna*: a comparative approach using 10 different sterols. *J. Chem. Ecol.* 40: 1039–1050.
- Metsähallitus 2019. Retkikartta. <https://www.retkikartta.fi/> (luettu 12.11.2019).
- Müller-Navarra D.C., Brett M.T., Liston A.M. & Goldman C.R. 2000. A highly unsaturated fatty acid predicts carbon transfer between primary producers and consumers. *Nature* 403: 74–77.
- Müller-Navarra D.C. 2006. The nutritional importance of polyunsaturated fatty acids and their use as trophic markers for herbivorous zooplankton: Does it contradict? *Arch. Hydrobiol.* 167: 501–513.
- Mäkinen K., Elfving M., Hänninen J., Laaksonen L., Rajasilta M., Vuorinen I. & Suomela J.-P. 2017. Fatty acid composition and lipid content in the copepod *Limnocalanus macrurus* during summer in the southern Bothnian Sea. *Helgol. Mar. Res.* 71:11, doi:10.1186/s10152-017-0491-1.
- Organisation for Economic Co-operation and Development. 1982. Eutrophication of Waters, Monitoring, Assessment and Control. Organisation for Economic Cooperation and Development. Paris. France. 154 s.
- Park S., Brett M.T., Müller-Navarra D.C. & Goldman C.R. 2002. Essential fatty acid content and the phosphorus to carbon ratio in cultured algae as indicators of food quality for *Daphnia*. *Freshwater Biology.* 47: 1377–1390.
- Pelliccia F., Marazzi G., Greco C., Franzoni F., Speziale G. & Gaudio C. 2013. Current evidence and future perspectives on n-3 PUFAs. *International Journal of Cardiology.* 170: 3–7.
- Peltomaa E.T., Aalto S.L., Vuorio K.M. & Taipale S.J. 2017. The Importance of Phytoplankton Biomolecule Availability for Secondary Production. *Front. Ecol. Evol.* 5:128. doi:10.3389/fevo.2017.00128.

- Persson J. & Vrede T. 2006. Polyunsaturated fatty acids in zooplankton: Variation due to taxonomy and trophic position. *Freshwater Biology*. 51: 887–900.
- Rampen S.W., Abbas B.A., Schouten S. & Sinninghe Damste J.S. 2010. A comprehensive study of sterols in marine diatoms (Bacillariophyta): implications for their use as tracers for diatom productivity. *Limnol. Oceanogr.* 55: 91–105.
- Ravet J.L., Brett M.T. & Arhonditsis G. B. 2010. The effects of seston lipids on zooplankton fatty acid composition in lake Washington, Washington, U.S.A. *Ecology* 91: 180–190.
- Renaud S.M., Thinh L.V., Lambrinidis G. & Parry D.L. 2002. Effects of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture*. 211: 195 – 214.
- Ruess L. & Müller-Navarra D.C. 2019. Essential biomolecules in food webs. *Front. Ecol. Evol.* doi:10.3389/fevo.2019.00269.
- Sargent J., Bell G., McEvoy L., Tocher D. & Estevez A. 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177: 191–199.
- Simopoulos A.P. 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 70(3): 560-569.
- Simopoulos A.P. 2000. Human requirement for N-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry science*. 79(7): 961-970.
- Smyntek P.M., Teece M.A., Schulz K. L. & Storch A.J. 2008. Taxonomic differences in the essential fatty acid composition of groups of freshwater zooplankton relate to reproductive demands and generation time. *Freshwater Biology*. 53: 1768–1782.
- Sperfeld E. & Wacker A. 2011. Temperature- and cholesterolinduced changes in eicosapentaenoic acid limitation of *Daphnia magna* determined by a promising method to estimate growth saturation thresholds. *Limnology and Oceanography*. 56: 1273-1284.
- Stillwell W. & Wassall S.R. 2003. Docosahexaenoic acid: Membrane properties of a unique fatty acid. *Chemistry and Physics of Lipids*. 126: 1-27.
- Strandberg U., Taipale S.J., Kainz M.J. & Brett M.T. 2014. Retroconversion of Docosapentaenoic Acid (n-6): an Alternative Pathway for Biosynthesis of Arachidonic Acid in *Daphnia magna*. *Lipids*. Springer. doi:10.1007/s11745-014-3902-y
- Strandberg U., Hiltunen M., Jelkänen E., Taipale S., Kainz M., Brett M. & Kankaala P. 2015. Selective transfer of polyunsaturated fatty acids from phytoplankton to planktivorous fish in large boreal lakes. *Science of the Total Environment*. 536: 858-865.
- Suomen ympäristökeskus 2019. Hertta-tietojärjestelmä. <https://www.p2.ymparisto.fi/scripts/hearts/welcome.asp> (luettu 8.11.2019).

- Swanson D., Block R. & Mousa S. 2012. Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. *Advances in nutrition*. 3(1): 1-7.
- Taipale S., Kankaala P., Hämäläinen H. & Jones R. I. 2009. Seasonal shifts in the diet of lake zooplankton revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Freshwater Biology*. 54: 90–104.
- Taipale S., Kainz M. & Brett M. 2011. Diet-switching experiments show rapid accumulation and preferential retention of highly unsaturated fatty acids in *Daphnia*. *Oikos*. 120(11): 1674-1682.
- Taipale S., Strandberg U., Peltomaa E., Galloway A.W., Ojala A. & Brett M. 2013. Fatty acid composition as biomarkers of freshwater microalgae: analysis of 37 strains of microalgae in 22 genera and in seven classes. *Aquatic Microbial Ecology*. 71(2): 165-78.
- Taipale S., Brett M., Hahn M.W., Martin-Creuzburg D., Yeung S., Hiltunen M., Strandberg U. & Kankaala P. 2014. Differing *Daphnia magna* assimilation efficiencies for terrestrial, bacterial, and algal carbon and fatty acids. *Ecology*. 95(2): 563-576.
- Taipale S. J., Kainz M. J. & Brett, M.T. 2015. A low ω -3: ω -6 ratio in *Daphnia* indicates terrestrial resource utilization and poor nutritional condition. *J. Plankt. Res.* 37: 596–610.
- Taipale S.J., Vuorio K., Strandberg U., Kahilainen K.K., Järvinen M., Hiltunen M., Peltomaa E. & Kankaala P. 2016a. Lake eutrophication and brownification downgrade availability and transfer of essential fatty acids for human consumption. *Environ. Int.* 96: 156–166.
- Taipale S.J., Hiltunen M., Vuorio K. & Peltomaa E. 2016b. Suitability of phytosterols alongside fatty acids as chemotaxonomic biomarkers for phytoplankton. *Front. Plant Sci.* 7: 212. doi:10.3389/fpls.2016.00212.
- Taipale S.J., Kahilainen K.K., Holtgrieve G.W. & Peltomaa E.T. 2018. Simulated eutrophication and browning alters zooplankton nutritional quality and determines juvenile fish growth and survival. *Ecol. Evol.* 8: 2671 – 2687.
- Taipale S.J., Aalto S.L., Galloway A.W.E., Kuoppamäki K., Nzobeuh P. & Peltomaa E. 2019a. Eutrophication and browning influence *Daphnia* nutritional ecology. *Inland Waters*. 9(3): 374-394.
- Taipale S.J., Vuorio K., Aalto S.L., Peltomaa E. & Tirola M. 2019b. Eutrophication reduces the nutritional value of phytoplankton in boreal lakes. *Environmental Research*. 179. Part B. doi:10.1016/j.envres.2019.108836.
- Taipale S., Peltomaa E. & Salmi P. 2020. Variation in ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids produced by different phytoplankton taxa at early and late growth phase. *Biomolecules*. 10(4): 559, doi:10.3390/biom10040559
- Thrane J.E., Hessen D.O. & Andersen T. 2014. The absorption of light in lakes: negative impact of dissolved organic carbon on primary productivity. *Ecosystems* 17: 1040–1052.

- von Elert E. 2002. Determination of limiting polyunsaturated fatty acids in *Daphnia galeata* using a new method to enrich food algae with single fatty acids. *Limnol. Oceanogr.* 47: 1764–1773.
- Véra A., Desvillettes C., Bec A. & Bourdier G. 2001. Fatty acid composition of freshwater heterotrophic flagellates: an experimental study. *Aquatic Microbial Ecology.* 25(3): 271-279.