

Pro gradu -tutkielma

**Taimenen (*Salmo trutta* L.) ja siian (*Coregonus lavaretus*
L.) *in situ* -mädinhaudontakokeet metallikaivoksen
jätevesipäästöjen vaikutusarvioinnissa**

Maija Hannula



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Akvaattiset tieteet

31.12.2019

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Akvaattiset tieteet

HANNULA MAIJA, L.: Taimenen (*Salmo trutta* L.) ja siian (*Coregonus lavaretus* L.)
in situ -mädinhaudontakokeet metallikaivoksen
jätevesipäästöjen vaikutusarvioinnissa

Pro gradu: 43 s.

Työn ohjaajat: Prof. Juha Karjalainen, FT Hanna Arola

Tarkastajat: Prof. Juha Karjalainen, FT Jukka Syrjänen

Joulukuu 2019

Hakusanat: alkio, altistus, kenttäkoe, sulfaatti, varhainen elinvaihe

TIIVISTELMÄ

Kaivostoiminnalla voi olla huomattavia vaikutuksia makeanveden ekosysteemeihin. Talvivaaran monimetallikaivoksen bioliuotusprosessista lasketaan vesistöihin happamia metalli- ja sulfaattipitoisia jätevesiä. Happamissa oloissa useimmat ympäristölle haitalliset metallit ovat liukoisessa biosaattavammassa muodossa, mikä lisää niiden toksisuutta eliöille. Tässä tutkimuksessa selvitettiin *in situ* -haudontamenetelmän käyttökelpoisuutta arvioitaessa metallikaivoksen jätevesipäästöjen vaikutuksia taimenen (*Salmo trutta* L.) ja planktonsiian (*Coregonus lavaretus* L.) mätimunien säilyvyyteen, alkioden kasvuun ja ruskuaisenkäyttöön. *In situ* -mädinhaudontamenetelmällä voidaan tutkia pitkäkestoisen altistuksen kumulatiivista vaikutusta koeyksilöihin todellisuutta vastaavassa ympäristössä, mutta haasteena on saada pelkkä kaivosvaikutus esiin usean muun vaikuttavan taustamuuttujan joukosta. Tutkimuksessa ei saatu näyttöä, että kaivostoiminta lisäisi alkioden kuolevuutta kummallakaan lajilla. Siian säilyvydet vastasivat muissa tutkimuksissa aiemmin havaittua tasoa. Taimenen kuolevuus oli suurta kaikissa haudontapaikoissa, joten tulokset kertoivat enemmän alueen olojen sopivuudesta taimenen varhaiskehitykselle yleensä kuin antavat tietoa kaivostoiminnan suorista vaikutuksista. Eri haudontapaikkojen erot lämpöoloissa vaikuttivat sekä taimenella että siialla alkioden kuivamassan ja pituuden kehitykseen. Haudontapaikoilla, joissa veden lämpötila oli korkeampi, alkiot kehittyivät nopeammin ja niiden kuivamassa ja pituus olivat suurempia kuin paikoilla, joissa vesi oli kylmempää. Taimenalkiot käyttivät ruskuaista mädinhaudontakokeen aikana vähän, kun taas siialla ruskuaisen määrä kului nopeammin kehityksen edetessä. Herkimmät kehitysvaiheet, eli hedelmöitys ja sitä seuraavat kehityksen alkuvaiheet ja poikasten kuoriutumisjakso, eivät sisällyneet tutkimukseen. Varhaiskehityksen aikaisen altistuksen mahdolliset vaikutukset kalojen myöhemmissä elinvaiheissa jäivät myös selvittämättä. Mädinhaudontakoetta sovellettiin onnistuneesti luonnonolosuhteissa.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Mathematics and Science

Department of Biological and Environmental Science
Aquatic Sciences

HANNULA MAIJA, L.: *In situ* -incubation method of brown trout (*Salmo trutta* L.) and whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) embryos in an impact assessment of metal mine effluents

Master of Science Thesis: 43 p.

Supervisors: Professor Juha Karjalainen, Dr. Hanna Arola

Inspectors: Professor Juha Karjalainen, Dr. Jukka Syrjänen

December 2019

Key Words: early life stage, embryo, exposure, field experiment, sulphate

ABSTRACT

Mining may have considerable impacts on freshwater ecosystems. Talvivaara polymetal mine discharges acidic metal- and sulphur-rich effluents from bioheap leaching process into the environment. In acidic conditions most environmentally harmful metals are in soluble and more bioavailable form increasing their toxicity to organisms. This study assessed the applicability of an *in situ* -incubation method to evaluation of the impacts of metal mining on the mortality, growth, and yolk consumption of brown trout (*Salmo trutta* L.) and whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) embryos. The *in situ* -incubation method can be applied to study long-term cumulative impacts to embryos exposed in a real environment, but the challenge is to differentiate a specific mining impact from other factors. In this study the mortality of neither species was impacted by mining activities. The mortality of whitefish embryos was similar to previously published studies and the high mortality of brown trout embryos both in the mine-impacted and reference sites tell more about the unsuitability of the incubation conditions in Talvivaara area for early life-stages of brown trout than about direct mining impacts. Differences in thermal conditions between incubation sites impacted on the dry weight and length development of both brown trout and whitefish embryos. The development was faster, and embryos had higher dry weight and length at incubation sites where the water temperature was higher compared to sites with colder water. Brown trout embryos consumed only a minor proportion of yolk, while whitefish had higher yolk consumption during the incubation experiment. The most sensitive development steps of the early life stages, fertilization and following initial phases and the hatching period, were not included in the study. It is also not known what impacts the exposure to mining effluents during early life stages may cause later in life. The *in situ* -incubation method was successfully applied in natural conditions.

Sisältö

1. JOHDANTO.....	5
2. TUTKIMUKSEN TAUSTA.....	6
2.1. Tutkimuslajit	6
2.1.1. Esiintymisalue ja kantojen tila.....	6
2.1.1.1. Taimen	6
2.1.1.2. Siika	7
2.1.2. Lisääntyminen	7
2.1.2.1. Taimen	7
2.1.2.2. Siika	9
2.1.3. Alkionkehitys ja kuoriutumisaikajankoa.....	10
2.2. Talvivaara.....	12
2.2.1. Alueen erityispiirteet	12
2.2.2. Biokasaliuotusteknologia.....	12
2.2.3. Sulfaatti ja vesistövaikutukset	13
2.3. Metallien vaikutus kalojen varhaiskehitykseen.....	13
2.3.1. Altistuminen ja biosaatavuus.....	13
2.3.2. Metallien vaikutukset kalojen varhaisiin kehitysvaiheisiin.....	14
2.4. Mädinhaudontakoe tutkimusmenetelmänä.....	15
3. AINEISTO JA MENETELMÄT.....	17
3.1. Tutkimuspaikat	17
3.2. Mäti	20
3.3. Mädinhaudontakoe	20
3.4. Aineiston käsittely ja tilastolliset analyysit.....	23
4. TULOKSET	24
4.1. Taimen.....	24
4.2. Siika.....	28
5. TULOSTEN TARKASTELU	32
5.1. Alkion varhaiskehitys.....	32
5.2. Kuolevuus.....	34
5.3. Haudontakokeen käyttökelpoisuus arviointimenetelmänä.....	35
Kiitokset.....	37
Kirjallisuus	37
LIITTEET	

1. JOHDANTO

Kaivostoiminta aiheuttaa elinkaarensa aikana erilaisia ympäristövaikutuksia, kuten päästöjä ilmaan, vesiin ja maaperään (Kauppila ym. 2011). Rikastusprosessi on yleensä merkittävin päästöjen aiheuttaja, mutta kuormitusta syntyy myös muista toiminnoista eli louhinnasta, kuljetuksista, malmin murskauksesta, rikasteiden kuivauksesta, sivukiven läjityksestä sekä rikasteen, rikastushiekan ja sakkalietteen varastoinnista. Vesistökuormitusta saattavat aiheuttaa kaivoksen kuivausvedet, rikastusprosessi, toiminnassa muodostuvat sakat ja lietteet, sivukivien ja rikastushiekan varastointi, räjähdysainejäämät sekä hiukkas- ja mineraalipölynä ympäristöön leviävät ja maaperän kautta vesistöihin kulkeutuvat päästöt. Kaivosalueelta valuma- ja suotovesiin voi liueta kiintoainesta, metalleja, puolimetalleja, suoloja, ravinteita ja orgaanisia yhdisteitä (Kauppila ym. 2011). Rikastusmenetelmänä biokasaliuotusteknologiaa (bioheapleaching) hyödynnetään kaupallisesti Euroopassa ensimmäisenä Talvivaaran monimetallikaivoksessa (Riekkola-Vanhanen 2013). Bakteerit katalysoivat metallien liukenemistä, kun hapanta liuosta kierrätetään malmikasojen läpi (Riekkola-Vanhanen 2013). Tässä tutkimuksessa kaivoksen jätevesillä tarkoitetaan kaivokselta ympäristöön johdettavia puhdistettuja ylijäämävesiä, joiden enimmäismäärä ja haitta-aineiden maksimipitoisuudet on säädetty kaivoksen ympäristöluvassa. Metallien kysynnän kasvu yhdistettynä niukkeneviin luonnonvaroihin ajaa kaivosteollisuuden kehittämään uusia menetelmiä, joilla voidaan hyödyntää myös heikkolaatuisia esiintymiä (Rawlings ym. 2003, Leppänen ym. 2017). Biokasaliuotus soveltuu alhaisia metallipitoisuuksia sisältäville malmeille, ja sitä käytetään teollisesti etenkin kuparille (Watling 2008). Mikrobitoimintaan perustuvaa metallinerottelua pidetään ympäristöystävällisempänä kuin fysikaalis-kemiallisia menetelmiä: bioliuotusteknologia kuluttaa vähemmän energiaa, ei tuota kaasupäästöjä ja prosessijätteet ovat vähemmän kemiallisesti aktiivisia (Rawlings ym. 2003, Johnson 2013). Teknologian haasteita ovat aikaa vaativa metallien erottaminen malmista (Johnson 2013) sekä bioliuotuskasojen hallinta johtuen malmin epätasaisesta jakautumisesta, suuresta mittakaavasta ja vallitsevista ilmasto-olosuhteista (Ollakka ym. 2016). Kaivostoiminnalla voi olla huomattavia vaikutuksia makeanveden ekosysteemeihin (Leppänen ym. 2017), mutta sen ympäristöhaittoja on mahdollista vähentää, kun ensin on tutkimustyön kautta voitu esittää tarkat ongelmakohtat ja kärsijät.

Kaivoksen vaikutus lähivesistöihin voidaan havaita selkeästi luonnonvesiä korkeampana sähkönjohtavuutena ja sulfaattipitoisuutena sekä järvien pysyvänä kerrostuneisuutena (Marttila & Hakala 2016). Suolaantuminen muuttaa vähitellen vesieliöstöä murtovetä suosivaksi, mikä vaikuttaa koko järven ekosysteemin tasapainoon (Kauppi ym. 2013). Happamat metalli- ja sulfaattipitoiset vedet aiheuttavat haittaa vesieliöille, ja voivat johtaa esimerkiksi kalakuolemiin (Kauppi ym. 2013). Happamissa oloissa useimmat ympäristölle haitalliset metallit ovat biosaatavammassa liukoisessa muodossa, mikä lisää niiden toksisuutta eliöille (Kauppila ym. 2011). Liuenneet metallit voivat kertyä kalojen sukusoluihin tai vaikuttaa suoraan alkioihin (Jeziarska ym. 2009). Herkimmät vaiheet metallien toksisuudelle ovat heti hedelmöityksen jälkeinen aika sekä kuoriutumisjakso. Metallialtistus saattaa häiritä eri alkionkehitysvaiheita, viivästyttää tai aikaistaa kuoriutumista, aiheuttaa alkoiden ja vastakuoriutuneiden poikasten epämuodostumia sekä lisätä niiden kuolevuutta (Jeziarska ym. 2009). Taimenen hedelmöityksestä alkionkehityksen loppuun asti kestäneissä puolikenttäkokeissa kemiallisten yhdisteiden ja raskasmetallien aiheuttaman fysiologisen stressin on havaittu viivästyttävän kehitystä, hidastavan kasvunopeutta ja lisäävän kuolevuutta (Luckenbach ym. 2001). Alkoiden altistuminen kemiallisille stressitekijöille voi vähentää kehitykseen

käytettävissä olevaa energiaa. Lisäksi kemialliset yhdisteet saattavat edesauttaa altistumista infektioille (Luckenbach ym. 2001). Alkionkehityksen häiriintyminen voidaan pyrkiä kokeellisesti osoittamaan alkioiden massojen, pituuksien, ruskuaisen massojen tai kuolevuuden poikkeamina (Lim ym. 2017).

Mädinhaudontakokeilla voidaan tutkia kalojen varhaiskehitystä (Kiljunen 2003, Syrjänen ym. 2008) ja hengissäsäilyvyyttä (Sivonen ym. 2017) tai selvittää vedenlaadun riittävyttä niiden lisääntymiseen ja näin ollen lajin säilymiseen (Syrjänen 2016). Raskasmetallialtistukseen keskittyvät mädinhaudontakokeet on lähes aina toteutettu kokonaan laboratorioissa kuten Arola ym. (2017) tai osittain hallituissa olosuhteissa kuten Luckenbach ym. (2001), mikä jättää vaihtelevat ympäristöolosuhteet huomioimatta. Tässä tutkimuksessa tarkastellaan, miten mätisylinterien käyttö soveltuu kaivosvesien ympäristönseurantamenetelmäksi luonnonolosuhteissa.

Tämä työ on osa Jyväskylän yliopiston laajempaa hankekokonaisuutta sekä väitöskirjatutkimusta. Tavoitteena oli selvittää *in situ* -haudontamenetelmän käyttökelpoisuutta arvioitaessa metallikaivoksen jätevesipäästöjen vaikutuksia taimenen (*Salmo trutta* L.) ja planktonsiian (*Coregonus lavaretus* L.) mätimunien säilyvyyteen, alkioiden kasvuun ja ruskuaisen käyttöön. Oletuksena oli, että jätevesille alttiina olevissa koepaikossa taimen- ja siika-alkioiden kuolevuus on suurempaa ja alkiot jäävät pienemmiksi kuin referenssipaikeissa haudottujen mätimunien alkiot. Tällöin koepaikkojen alkiot ovat myös kuluttaneet ruskuaisen ravintoa vähemmän kuin referenssipaikeissa kasvaneet alkiot.

2. TUTKIMUKSEN TAUSTA

2.1. Tutkimuslajit

2.1.1. Esiintymisalue ja kantojen tila

2.1.1.1. Taimen

Taimenta tavataan koko Suomen rannikko- ja sisävesissä elinkiertoamallaan erilaisina ekologisina muotoina: meritaimen, järvitaimen ja purotaimen (Koli 1998, Lehtonen 2003). Lisäksi voidaan erottaa virtaavassa vedessä koko ikänsä eläviä populaatioita, jotka vaeltavat joen sisällä latvaosan ja pääuoman välillä (Elliott 1994). Populaatiossa voi olla sekä vaeltavia että paikallisia yksilöitä (Jonsson & Jonsson 2011). Järviin vaeltavia taimenkantoja esiintyy Paatsjoen, Vuoksen ja Kymijoen suurvesistöissä (Syrjänen ym. 2017). Kokemäenjoen ja Oulujoen vesistöistä villit vaelluskannat ovat kadonneet tai lähes hävinneet (Syrjänen ym. 2017). Venäjän puolelta Tuulomajoen ja Koutajoen suurvesistöistä taimenten kutujoet sijaitsevat pääosin Suomessa (Syrjänen ym. 2017). Lisäksi vaeltavia kantoja löytyy esimerkiksi Kilpisjärvestä (Koli 1998), Kemijoesta ja Näämämöjoesta (Lehtonen 2003). Taimen elää vesissä, jotka pysyvät myös kesällä riittävän viileinä ja hapekkaina (Lehtonen 2003). Forseth ym. (2009) mukaan taimen voi kasvaa kokoa veden lämpötilan ollessa 5–23 °C, ja esimerkiksi Klemetsen ym. (2003) ovat esittäneet alimmaksi kriittiseksi kasvulämpötilaksi 3–6 °C ja ylimmäksi vastaavaksi 25–26 °C. Taimen sietää alhaisimmillaan happipitoisuutta 5–5,5 mg l⁻¹ (Lehtonen 2003, Koli 2005, Jonsson & Jonsson 2011) ja pH:ta 5–5,5 (Koli 2005). Taimenpopulaatioiden on havaittu elävän Norjassa pehmeävetisissä järvissä pH:ssa 4,9–5,5 (Hesthagen & Jonsson 1998). Norrgren & Degerman (1993) mukaan pH 5,5 heikentää kuoriutumismenestystä. Järvitaimenen Suomen sisävesien kannat luokitellaan leveyspiirin 67°00'N eteläpuolella erittäin uhanalaisiksi (EN) ja pohjoispuolella silmälläpidettäviksi (NT) (Urho ym. 2019).

Kantoja uhkaavat koko maassa vesirakentaminen, kalastus, ojitus ja turpeenotto, kemialliset haittavaikutukset ja satunnaistekijät sekä pohjoisessa lisäksi kaivannaistoiminta ja etelässä metsien uudistamis- ja hoitotoimet ja suuret kannanvaihtelut (Urho ym. 2019). Alkuperäisten kantojen yksilöitä pyydetään kalanviljelylaitoksille emokalastoksi, jonka avulla tuetaan heikentyneitä kantoja ympäri maata (Anonyymi 2017). Toisaalta alkuperäiset kannat ovat osittain vähentyneet siirtoistutusten vuoksi (Koli 1998).

2.1.1.2. Siika

Siika on levinnyt koko Suomen rannikko- ja sisävesiin (Lehtonen & Nyberg 2016). Siika tarvitsee järvissä kesällä kylmän ja hapekkaan alusveden ja alkaa kärsiä, jos veden happipitoisuus laskee 5:een ml l⁻¹ (Koli 2005). Siikavuopio ym. (2013) esittävät siian optimaaliseksi kasvulämpötilaksi subarktisisissa vesissä vajaan 18 °C. Eri siikamuodot suosivat kuitenkin erilaisia lämpötiloja (Lehtonen 2003). Siian lisääntyminen heikkenee huomattavasti, jos pH laskee 5:een (Keinänen ym. 2003). Suomessa esiintyviä siikamuotoja ovat pohjasiika, karisiika, vaellussiika, järvisiika ja planktonsiika (Lehtonen 2003, Koli 1998) sekä joidenkin lähteiden mukaan myös tuppisiika (esimerkiksi Kallio-Nyberg & Koljonen 1988, Säisä ym. 2008, Haakana & Huuskonen 2012). Ne eroavat toisistaan kiduskaarien siivilähampaiden lukumäärän ja sen myötä ravinnon, mutta myös kutupaikkojen, käyttäytymisen, kasvun, tiettyjen rakennepiirteiden (Lehtonen 2003), esimerkiksi ruumiin mittasuhteiden ja pään luiden sekä kutuajankohdan perusteella (Koli 2005). Koska muodot voivat risteytyä keskenään, niiden täysin varma tunnistaminen on mahdollista geneettisten analyysien (Haakana & Huuskonen 2012), kuten mikrosatelliitti-DNA:n avulla (Säisä ym. 2008). Planktonsiika on siian tiheäsiivilähampainen (41–56 kpl, Lehtonen & Nyberg 2016) pääsääntöisesti virtavesikutuinen muoto (Huuskonen ym. 2017), jota tavataan alkuperäisenä Kokemäenjoen, Kymijoen ja Vuoksen vesistöjen järvissä (Koli 1998). Esimerkiksi Koitajoessa elää yksi harvoista luonnonvaraisista planktonsiikapopulaatioista (Haakana & Huuskonen 2012). Koitajoen populaatiolla siivilähampaiden lukumäärän on havaittu olevan 48–56 kpl (Säisä ym. 2008, Haakana & Huuskonen 2012, Huuskonen ym. 2017). Tutkimuksessa käytettävää Koitajoen kantaa viljellään ja lisätään tuki-istutuksilla sekä Koitajokeen että muualle (Haakana & Huuskonen 2012). Yksilöt kasvavat nopeasti ja suurikokoisiksi (Haakana & Huuskonen 2008), joten Koitajoen planktonsiika on suosittu istutuslaji (Haakana & Huuskonen 2012). Planktonsiika luokitellaan vaarantuneeksi (VU) johtuen vesirakentamisesta ja kalastuksesta (Urho ym. 2019). Uhkatekijänä on lisäksi risteytyminen muiden siikamuotojen (Urho ym. 2019), kuten tuppisiian kanssa (Haakana & Huuskonen 2012).

2.1.2. Lisääntyminen

2.1.2.1. Taimen

Järvitaimen vaeltaa kutualueelleen loppukesällä tai alkusyksyllä (Koli 1998). Kutuajankohdan on arveltu kehittyneen sopimaan yhteen jälkeläisten ympäristöolosuhteiltaan optimaalisen sorastanousuajankohdan kanssa (Jonsson & Jonsson 2011). Kutuajankohtaa säätelevät päivän pituus ja veden lämpötila (Koli 1998). Pohjoisessa kutu tapahtuu aikaisemmin kuin etelässä johtuen alhaisemmasta veden lämpötilasta (Klemetsen ym. 2003, Jonsson & Jonsson 2011), joka järvitaimenen kutujakson aikana on 3–13 °C, tyypillisimmin 6–8 °C (Witzel & Maccrimmon 1983) ja jakson lopussa alhaisimmillaan 0 °C (Syrjänen ym. 2019). Pohjoisilla esiintymisalueillaan taimen kutee syntymäjokeensa syys-joulukuussa (Jonsson & Jonsson 2011). Esimerkiksi Suomessa keskimääräinen kutuaika ajoittuu loka- marraskuuhun (Koli 2005) ja Huusko ym. (2017) mukaan syyskuun puolesta välistä lokakuuhun. Sen sijaan eteläisemmällä

leveysasteilla Andalusiassa, Etelä-Espanjan vuoristojoessa taimenen on havaittu kutevan joulukuusta huhtikuun puoleen väliin (Gortázar ym. 2007). Alhaisilla leveysasteilla myös taimenen lisääntymisajanjakso on pidempi kuin kohti pohjoista siirryttäessä (Gortázar ym. 2007). Siinä missä pohjoisilla leveysasteilla kutuaika kestää tavallisesti 2–4 viikkoa (Witzel & Maccrimmon 1983, Armstrong ym. 2003, Jonsson & Jonsson 2011) on sen esimerkiksi Iberian niemimaan eteläosissa havaittu kestäneen jopa yli 3 kuukautta (Gortázar ym. 2007). Suomessa suurin osa taimenista näyttäisi kutevan heti kutujakson alkupuolella, kun lämpötila on sen verran alhainen, etteivät poikaset enää todennäköisesti ehdi kuoriutua syksyllä (Syrjänen ym. 2019).

Taimen kutee usein sivujokiin ja pieniin virtoihin, jotka ovat 3–5 m leveitä, mutta voi kutea suuremmissakin joissa (Jonsson & Jonsson 2011). Myös noin 1 m leveistä puroista on löydetty kutupesä (Jonsson & Jonsson 2011). Veden syvyys, virtausnopeus ja pohjan rakenne yhdessä uoman morfologian ja mahdollisten esteiden, kuten oksien, puunrunkojen ja kivien kanssa vaikuttavat kutupaikan valintaan (Jonsson & Jonsson 2011). Witzel & Maccrimmon (1983) ovat todenneet virrassa olevan suojan, kuten puunrungon tai oksien, olevan tärkeä vaatimus kutupaikalle. He havaitsivat 84 % taimenen kutupesistä sijaitsevan 1,5 metrin säteellä suojusta. Kutualueet sijaitsevat yleensä sorapohjilla kiihtyvässä virtauksessa mataloituvassa vedessä koskien niskoissa, nivoissa ja suvantojen alavirran puoleisilla alueilla (Crisp 1993, Louhi & Mäki-Petäys 2003) 15–45 cm:n keskimääräisessä syvyydessä (Louhi ym. 2008). Isot naaraat kutevat syvemmällä kuin pienet (Crisp & Carling 1989, Gauthey ym. 2015). Taimen suosii tyypillisesti kutupaikan valinnassa virtausnopeutta 20–55 cm s⁻¹ (Louhi ym. 2008) tai 10,8–80,2 cm s⁻¹ ja keskimäärin 46,7 cm s⁻¹ (Witzel & Maccrimmon 1983). Lohikalat kutevat mielellään paikoissa, joissa 60 %:n syvyydellä virtausnopeus on yli 15 cm s⁻¹ mutta alle 2 kertaa naaraan kehon pituus s⁻¹ (Crisp 1993).

Taimennaaras kaivaa kehollaan ja pyrstöllään kutupesän soraikkoon, joka koostuu sorasta ja pikkukivistä sekä satunnaisista mukulakivistä ja suuremmista kivistä (Jonsson & Jonsson 2011). Se poistaa kutukuopasta pienikokoisen soran ja hienojakoisimman aineksen, joka huuhtoutuu virran mukana pois suurempien partikkelien jäädessä muodostamaan kutukuopan hännän (Chapman ym. 1988). Pesän raekoko vaihtelee tavallisesti välillä 16–64 mm (Louhi ym. 2008) ja riippuu naaraan koosta sekä pohjan koostumuksesta (Chapman 1988). Tosin Witzel & Maccrimmon (1983) ovat havainneet Pohjois-Amerikassa taimenen kutupesä, joiden keskimääräinen raekoko oli 6,9 mm. Naaras laskee mätiannoksen kutukuoppaan ja peittää koiraan hedelmöittämän mädin kaivamalla soraa pesän edestä (Jonsson & Jonsson 2011) tehden samalla uuden kutukuopan ylävirtaan (Chapman 1988). Taimenen kutupesä koostuu 1–4 mätitaskusta, ja suurin osa munista jää noin 20 cm (Chapman 1988) tai vähintään 14 cm syvyyteen soran pinnasta (Witzel & Maccrimmon 1983). Gauthey ym. (2015) selvittivät taimenen kutuhabitaatin valintaa Pyreneillä, ja heidän tarkkailemissaan luonnonpesissä mätimunat oli haudattu 2–17 cm syvyyteen. Mädin hautoutumissyvyys vaikuttaa lämpötilan kautta alkioden kehitysnopeuteen sekä todennäköisyyteen huuhtoutua pois, tukehtua tai paljastua aliveden aikana (Crisp 1996). Mätimunun halkaisija on noin 5 mm (Crisp 1993) ja naaras tuottaa painokiloa kohden noin 1200–1300 mätimunaa yhdellä kutukerralla (Syrjänen ym. 2015). Munat hautoutuvat talven ajan soran sisällä (Syrjänen ym. 2008).

Kutupaikkoja kuvaavat muuttujat kuten syvyys, virtausnopeus ja pohjan rakenne vaihtelevat suuresti. Taimen kykenee sopeutumaan ja sietämään tarjolla olevia kutuolosuhteita (Armstrong ym. 2003). Jos kutupaikoilla esiintyy kilpailua, ei parhaita kutupaikkoja riitä kaikille, joten osa kaloista joutuu tyytymään epäsuotuisampiin olosuhteisiin (Armstrong ym. 2003). Kutukypsien naaraskalojen koko vaihtelee.

Suuremmat yksilöt kutevat voimakkaampiin virtoihin ja kykenevät rakentamaan kutupesänsä suuremman raekoon kivistä kuin pienemmät yksilöt (Witzel & Maccrimmon 1983). Mädin kannalta kutupaikan optimaaliset olosuhteet koostuvat fysikaalisten, kemiallisten ja hydraulisten ympäristötekijöiden yhteisvaikutuksesta, joten eri olosuhteissa yksittäiset tekijät voivat vaihdella suuresti kutupaikan laadun kuitenkaan kärsimättä (Louhi & Mäki-Petäys 2003). Taimen tarvitsee kutuunsa virtaavaa vettä, jotta alkioit ja ruskuaispussipoikaset saavat riittävästi liuennutta happea soran läpi ja vesi kuljettaa aineenvaihduntatuotteet pois (Jonsson & Jonsson 2011). Liian vähäinen hapensaanti voi vähentää alkioiden kasvua, heikentää ruskuaisen käyttötehokkuutta, ennaikaistaa kuoriutumista, aiheuttaa kuoriutumista pienikokoisempina sekä johtaa morfologisiin muutoksiin (Crisp 1996). Alkioiden hapentarve kasvaa kehityksen edetessä ja veden lämpötilan noustessa (Louhi ym. 2008). Kehityksen alkuvaiheessa alkioit selviytyvät niinkin alhaisessa happipitoisuudessa kuin $0,8 \text{ mg l}^{-1}$, mutta kuoriutuessaan ne tarvitsevat happea yli 7 mg l^{-1} (Louhi ym. 2008). Hapen kulutus on lisäksi suhteessa soran läpäisevyyteen ja väleihin kertyvään hienoainekseen (Louhi ym. 2008). Hienoaines määritellään halkaisijaltaan $< 1,0 \text{ mm}$ tai $< 2,0 \text{ mm}$ raekooksi (Crisp 1996). Hiekan ja orgaanisen aineksen kasaantuminen pesän yläpuolelle pohjaan voi vaikeuttaa alkioiden selviytymistä tai estää poikasten sorastanousun (Jonsson & Jonsson 2011).

Ensimmäisenä kesänä taimenpoikaset elävät pääasiassa matalassa hidasvirtaisessa rantavedessä ja vesikasvillisuuden suojissa syöden aluksi eläinplanktonia ja myöhemmin hyönteisiä ja niiden toukkia (Lehtonen 2003). Ne valtaavat ravinnonhankintaa varten itselleen reviiirin tai hakeutuvat uusille alueille riippuen yksilötiheydestä, poikasten koosta, veden virtausnopeudesta ja syvyydestä (Jonsson & Jonsson 2011). Suomen olosuhteissa taimenet elävät jokipoikasina 2–6 vuotta, minkä jälkeen ne smolttiutuvat keskimäärin 20–35 cm pituisina ja lähtevät syönnösvaellukselle järveen (Huusko ym. 2017). Saavutettuaan sukukypsyyden noin 55–70 cm pituisena taimen palaa kudulle tavallisesti 2–5 järvessä vietetyn vuoden jälkeen (Huusko ym. 2017). Luontaisesti lisääntyvän populaation yksilöt kutevat vuosittain tai joka toinen vuosi (Huusko ym. 2017).

2.1.2.2. Siika

Planktonsiika kutee syksyllä, Koitajoessa tavallisesti marraskuun alkupuolella (Haakana & Huuskonen 2012), kun veden lämpötila laskee nopeasti (Salojärvi 1982, Ventling-Schwank & Livingstone 1994). Siikakalojen kutujakso kestää tavallisesti 3–4 viikkoa (Karjalainen ym. 2015). Planktonsiika kutee loivasti syvenevälle kovalle hiekkapohjalle, jossa on vain vähän tai kohtalaisesti sedimenttiä (Haakana & Huuskonen 2012). Zuromska (1982) on esittänyt siian ihanteelliseksi kutualustaksi hyvin hapettuvaa kivi- ja sorapohjaa, jossa ei kulje voimakkaita aaltoja tai virtauksia. Siika ei tee kutupesää vaan laskee mätinsä pohjalle 0,5–10 m syvyyteen (Salojärvi 1982, Lehtonen 2003). Sveitsissä, Lucerne-järvessä, siikojen on havaittu kutevan 40–80 m sekä 120–160 m syvyyksillä (Meng & Müller 1988). Haakana & Huuskonen (2012) löysivät Koitajoen planktonsiian mätimunia tutkimuspaikoista, jotka sijaittivat 0,5–2,35 m syvyydellä virrannopeuden ollessa 20 cm veden pinnasta $3–30 \text{ cm s}^{-1}$. Mätimunat ovat halkaisijaltaan 2,3–3,0 mm (Lehtonen 2003). Liian voimakas virtaus saattaa siirtää munia epäsuotuisaan paikkaan tai haudata ne pohjasedimenttiin (Ventling-Schwank & Livingstone 1994). Liian hidaskvirtaus puolestaan lisää hienoaineksen sedimentoitumista heikentäen munien happiolosuhteita (Haakana & Huuskonen 2012). Haakana & Huuskonen (2012) havaitsivat munien säilyvyyden ja veden happipitoisuuden välillä voimakkaan positiivisen korrelaation haudontajakson lopussa. Alkioit kehittyvät talven ajan sedimentin pinnalla (Ventling-Schwank & Livingstone 1994).

Koitajoen planktonsiika elää sekä järvi- että jokihabitaateissa (Huuskonen ym. 2017). Suuri siivilähampaiden lukumäärä tekee siitä tehokkaan eläinplanktonin syöjän (Kahilainen ym. 2007). Planktonsiika kasvaa tavallisesti 0,5–1 kg painoiseksi ja suurimmillaan jopa 2–3-kiloiseksi ja saavuttaa sukukypsyyden myöhään, tyypillisesti 4–5-vuotiaana (Huuskonen ym. 2017). Koitajoen planktonsiian on havaittu lisääntyvän toistuvasti samoilla alueilla (Huuskonen ym. 2017).

2.1.3. Alkionkehitys ja kuoriutumisasajankohta

Alkionkehitys alkaa mätimunän hedelmöityksestä ja tsygootin muodostumisesta (Jonsson & Jonsson 2011). Balon (1985) esittää kalan alkionkehityksen kolmivaiheisena 10 askeleen kehityskulkuna vakoutumisesta alkiovaiheen kautta vapaan alkion vaiheeseen. Killeen ym. (1999) puolestaan jakavat taimenen alkionkehityksen 6 °C:ssa hedelmöityksestä ulkoisen syömiseen aloitukseen 6:een helposti havaittavaan jaksoon: munasolun vakoutuminen, gastrulaatio, somitogeneesi, verisuonten kehittyminen ruskuaispussiin, pyrstöevän ruotojen muodostuminen sekä evien poimuttuminen. Killeenin ym. (1999) jaksot sisältävät yhteensä 40 porrasta. Hedelmöitys alkaa, kun veden aktivoima siittiö tunkeutuu munasoluun mikropyylien kautta (Balon 1985). Solukalvon ja ruskuaiskalvon väliin syntyy perivitelliinitila (Balon 1985). Perivitelliinitilan ja ruskuaisen väliin muodostuu itulevy, jonka sisällä sukusolut yhdistyvät (Balon 1985). Tätä seuraa nopea itulevyn vakoutuminen eli jakautumisvaihe, joka päättyy blastulan muodostumiseen (Killeen ym. 1999). Gastrulaatiossa solujen jakautuminen hidastuu, ja blastulasta kehittyvä alkiolevy, johon syntyvät alkiokerrokset endo-, meso- ja ektodermi (Killeen ym. 1999). Solujen, kudosten ja elinten erilaistuminen eli morfogeneesi alkaa gastrulaation aikana (Thisse & Zon 2002). Gastrulasta lähtien alkionkehitystä ohjaavat yksilön omat geenit, kun siihen asti kehityksestä on vastannut pääasiassa munasolun geenistö (Schier 2007). Hermosto alkaa kehittyä neurulaatiossa (Killeen ym. 1999). Ektodermistä muodostuu hermostolevy ja edelleen hermostoputki, josta kehittyvät myöhemmin aivot ja aistinelimet (Killeen ym. 1999). Somitogeneesissä eli segmentaatioissa alkujaokkeiden eli somiittien lukumäärä kasvaa samalla, kun alkiokerroksista alkaa kehittyä rakennepiirteitä, kudoksia ja elimiä (Killeen ym. 1999). Selkäjänne muodostuu, pyrstösilmu vapautuu ruskuaisesta, sydän alkaa lyödä, verenkierto käynnistyy ja ensimmäiset lihassupistukset sekä melanoforit ilmaantuvat (Balon 1985). Taimenalkio kehittyä silmäpisteasteelle 6 °C:ssa 30–33 vrk:ssa ja verisuonitus koko ruskuaispussin alueelle 45–48 vrk:ssa (Killeen ym. 1999). Vakiolämpötilassa alkio saavuttaa silmäpisteasteen 50 %:ssa kuoriutumiseen vaadittavasta ajasta (Crisp 1993). Nielukaaret kehittyvät kiduksiksi ja ruodot muodostuvat eviin (Killeen ym. 1999). Ensimmäiset taimenalkiot kuoriutuvat 6 °C:ssa 72–77 vrk:ssa, ja eväruotojen kehittyminen jatkuu vielä kuoriutumisen jälkeen (Killeen ym. 1999).

Alkionkehitystä säätelee pääasiassa lämpötila (Crisp 1993, Karjalainen ym. 2015). Esimerkiksi taimenen alkionkehitykselle sopiva lämpötila on noin 0–14 °C (Crisp 1996, Ojanguren & Braña 2003). Ojanguren & Braña (2003) ehdottavat laboratoriokeiden perusteella taimenen optimaaliseksi alkionkehityslämpötilaksi 8–10 °C. Lämpötilan noustessa alkiot kehittyvät nopeammin ja saavuttavat yksilönkehityksen eri vaiheet aikaisemmin, mutta 14–16 °C:ssa kuolevuus kasvaa, ja ne eivät enää kuoriudu (Ojanguren & Braña 2003). Toisaalta mitä alhaisempi kehityslämpötila on 4 °C:een asti, sitä pidempinä ja painavampina alkiot kuoriutuvat (Ojanguren & Braña 2003). Syrjänen ym. (2008) toteavat ruskuaisen kuluvaan kuoriutumiseen mennessä eniten tutkimuspaikoilla, joissa alkioiden kasvu on nopeinta. Ennen kuoriutumista alkioille kehittyä päähän rauhaset, jotka erittävät chorionaasientsyymiä, jota tarvitaan munan kuoren hajottamiseen kuoriutumisen aikana (Jeziarska ym. 2009). Alkiot kuoriutuvat, kun lämpötilaan perustuva

päivästekertymä saavuttaa tietyn pisteen (Jonsson & Jonsson 2011). Syrjänen ym. (2008) havaitsivat 50 % taimenalkioista kuoriutuneen päivästekertymän ollessa 230–353 d° C. Kuoriutuminen voi kestää viikosta kuukauteen lämpötilasta riippuen (Syrjänen ym. 2008). Lämpötilan lisäksi kalojen alkionkehitysnopeuteen ja kuoriutumiseen vaikuttavat muun muassa happi, suolaisuus, pH ja valo (Kamler 2002). Happivaje hidastaa alkionkehitystä ja voi aiheuttaa ennen aikaista kuoriutumista (Kamler 2002). Liian matala tai korkea suolapitoisuus tai pH saattavat sen sijaan viivästyttää kuoriutumista (Kamler 2002). Korkea sähkönjohtavuus pienentää perivitelliinitilan kokoa, mikä vähentää alkion liikkumista ja haittaa kuoriutumista (Kamler 2002). Myös poikkeava pH voi vähentää alkion liikkumista sekä estää chorionaasi-entsyymin toimintaa (Kamler 2002). Vaste valolle liittyy ympäristöön sopeutumiseen ja on laji- ja ikäkohtaista (Kamler 2002).

Keski-Suomessa veden lämpötilan vaihdellessa marras-joulukuusta maaliskuuhun 0–1°C:ssa taimenen poikaset alkavat kuoriutua keväällä noin 140 vrk kuluttua hedelmöityksestä soran sisään ja elävät siellä useita viikkoja (Syrjänen ym. 2008). Taimenen ruskuaispussi-poikasten kehitys jatkuu soran sisällä (Killeen ym. 1999, Jonsson & Jonsson 2011). Tuolloin evät poimuttuvat, kylkiin ilmaantuvat poikaslaikut (Killeen ym. 1999) ja tukirakenteet vahvistuvat (Balon 1985). Alkionkehitys päättyy ja poikaset nousevat avoveteen noin kuukauden kuluttua kuoriutumisesta, kun ruskuaispussin ravinto on lähes loppuun käytetty (Jonsson & Jonsson 2011). Killeen ym. (1999) toteavat taimenen aloittavan ulkoisen ravinnon hankinnan 127 vrk kuluttua hedelmöityksestä 6 °C:en vakiohaudontalämpötilassa. Suomessa sorastanousu ajoittuu toukokuun lopusta kesäkuun loppupuolelle (Syrjänen ym. 2014) kestäen keskimäärin 20 vrk (Syrjänen ym. 2019). Poikaset ovat tällöin kokonaispituudeltaan noin 20 mm (Klemetsen ym. 2003) tai 24–33 mm (Syrjänen ym. 2019).

Cingi ym. (2010) tutkivat anadromisen siian varhaiskehitystä eri lämpöolosuhteissa, ja havaitsivat alkioiden saavuttavan gastrulavaiheen 41 päiväasteessa (d° C) veden lämpötilan ollessa 3,9 °C. Samassa kokeessa pyrstön kaareutuminen ja kehon liikkeet ilmaantuivat 94 d° C:ssa ja sydän alkoi lyödä 105 d° C:ssa. Alkiot kehittyivät silmäpisteasteelle 133 d° C:ssa ja niiden verenkierto alkoi näkyä 161 d° C:ssa. Puolet alkioista oli kuoriutunut 455 d° C kuluttua hedelmöityksestä. Lim ym. (2017) puolestaan havaitsivat 50 % sillisiika-alkioista (*Coregonus clupeaformis*) kuoriutuneen 176 vrk:ssa 2 °C:een vakiohaudontalämpötilassa. Karjalainen ym. (2015) selvittivät siian alkioiden hautoutumisen kestoa eri haudontalämpötilamallien avulla ja totesivat, että 50 % alkioista oli kuoriutunut 366–433 d° C:ssa veden keskilämpötilan ollessa 2,4–4,2 °C. Alkioiden kuoriutuminen kesti laboratorioskokeissa 4–14 vrk (Karjalainen ym. 2015). Luonnonolosuhteissa kuoriutuminen tapahtui 2–3 viikon kuluessa heti jäiden lähdön jälkeen (Urpanen ym. 2005). Lämpötila on merkittävin kuoriutumisaikakohtaa säätelevä tekijä (Salojärvi 1982, Karjalainen ym. 2015). Jos talven haudonta-aika on ollut pitkä ja päiväasteita on kertynyt riittävästi, voi veden lämpötilan nousu käynnistää alkioiden kuoriutumisen (Karjalainen ym. 2015). Jos talviaika jää lyhyeksi, kuoriutumiseen tarvitaan suuri määrä veden lämpenemisen tuomia päiväasteita (Karjalainen ym. 2015). Tällöin poikaset kuoriutuvat aikaisemmin, ovat kooltaan pienempiä ja niillä on paljon ruskuasta jäljellä (Karjalainen ym. 2015). Koska kuoriutuminen ei ole vaihe alkionkehityksessä (Balon 1985), voi alkioiden kuoriutuminen, kuoriutumishetken kehitysvaihe ja kuoriutumiskoko vaihdella jopa 3 kuukauden aikaikkunan sisällä, ja mahdollistaa näin syömisaloiutushetken ajoituksen sopivaksi ulkoisen ravinnonhankinnan kannalta ihanteellisiin olosuhteisiin (Karjalainen ym. 2015). Haakana & Huuskonen (2012) puolestaan toteavat, että keväällä lumen sulamisen aikaansaaman veden virtauksen kasvun on havaittu käynnistävän kuoriutumista virtavesikutuisilla siioilla. Urpanen ym. (2005) laskivat takautuvasti

vastakuoriutuneiden siikojen keskipituudeksi 8,8–11,0 mm. Luczynski & Kolman (1987) mittasivat vastaavaksi pituudeksi 11,9 mm tutkiessaan laboratorioissa siika-alkioiden kuoriutumista eri kehitysvaiheissa. He havaitsivat, että kuoriuduttuaan poikaset elävät ruskuaispussin sisällöllä 0–7 vrk, jonka jälkeen ne alkavat syödä ulkoista ravintoa. Vastakuoriutuneiden siianpoikasten kuolevuus on suurta johtuen ravintokilpailusta, ravinnon niukkuudesta ja saalistuksesta (Salojärvi 1982). Pienpoikaset elävät parvina rantavedessä ja suojaisissa lahdissa noin kuukauden, jonka jälkeen ne siirtyvät syvemmälle jatkamaan kasvuaan (Lehtonen 2003).

2.2. Talvivaara

2.2.1. Alueen erityispiirteet

Talvivaaran (nykyisin Terrafame) kaivosalue on perustettu mustaliuskemuodostumaan, joka sijaitsee varhaisproterotsooisen Kainuun liuskejakson eteläosassa (Riekkola-Vanhanen 2013) Sotkamon kunnan ja Kajaanin kaupungin alueella (Kekkonen ym. 2012). Mustaliuske-esiintymä on 15 km pitkä, 1–2 km leveä ja jopa 400 m paksu (Loukola-Ruskeeniemi & Heino 1996). Mustaliuskeet ovat syntyneet 1960–1970 milj. vuotta sitten runsaasti hiiltä ja rikkiä sisältävistä merenpohjan sedimenteistä ja kerrostuneet tektonisten prosessien seurauksena (Loukola-Ruskeeniemi & Heino 1996, Uutela ym. 1996, Loukola-Ruskeeniemi ym. 1998). Noin 90 % malmista on sitoutuneena mustaliuskeisiin (Riekkola-Vanhanen 2013) sulfidimineraaleina eli metallin ja rikin yhdisteinä (Kauppila ym. 2011). Malmista on keskimäärin 0,22 % nikkeliä, 0,13 % kuparia, 0,49 % sinkkiä, 0,02 % kobolttia ja 0,35 % mangaania sekä rikkiä 9 % (Kekkonen ym. 2012). Talvivaaran mustaliuske sisältää myös uraania (Kekkonen ym. 2012). Kaivosalueeseen kuuluu kaksi erillistä mineraaliesiintymää, Kuusilampi ja Kolmisoppi, jotka muodostavat yhden maailman suurimmista sulfidisen nikkelin varannoista kooltaan 1121 Mt (Riekkola-Vanhanen 2013). Malmin louhinta aloitettiin Talvivaaran kaivoksella vuonna 2008 (Riekkola-Vanhanen 2013).

Talvivaaran kaivospiiri sijaitsee Oulujoen ja Vuoksen vesistöjen vedenjakaja-alueella (Kekkonen ym. 2012). Alueen maaperä on suurelta osin moreenia ja peruskallion päällä oleva maakerros on yleensä ohut (Kekkonen ym. 2012). Alavat maat ovat monin paikoin soistuneet, ja niissä on vaihtelevan paksuinen kerros turvetta (Kekkonen ym. 2012). Maaperä imee huonosti vettä, joten sadanta kulkeutuu enimmäkseen pintavaluntana alueen ojiin ja puroihin (Kekkonen ym. 2012). Joet ovat pääasiassa humuspitoisia pieniä tai keskisuuria turvemaiden jokia (Kekkonen ym. 2012). Talvivaaran mustaliuskealueella virtavesien nikkeli-, kupari-, sinkki-, kadmium- ja mangaanipitoisuudet ovat luonnostaan korkeammat kuin viereisen vertailualueen ja Suomen mediaaniarvot (Loukola-Ruskeeniemi ym. 1998). Mustaliuske rapautuu helposti, jolloin ympäristöön liukenee metalleja ja vetyioneja, jotka happamoittavat alueen vesiä (Uutela ym. 1996). Kaivostoiminnan lisäksi turvemaiden ojituksen ovat lisänneet hapanta valuntaa vesistöihin (Mäkilä ym. 2012). Suomessa vesistöjen puskurikapasiteetti happamuutta vastaan on luontaisesti usein heikko, ja erityisen alhainen se on muun muassa mustaliuskealueiden vesissä (Kekkonen ym. 2012).

2.2.2. Biokasaliuotusteknologia

Talvivaaran monimetallikaivoksessa metallien erottamiseen malmikivestä käytetään biokasaliuotusteknologiaa (bioheapleaching) (Riekkola-Vanhanen 2013). Menetelmässä irrotetaan avolouhintana malmipitoinen kiviaines, joka murskataan, seulotaan, agglomeroidaan eli rakeistetaan ja kootaan ensimmäisen vaiheen bioliuotukseen eli

primäärikasaksi (Kekkonen ym. 2012). Kasaa kastellaan happamalla liuoksella (pH 1,5–3,5) ja ilmastetaan sen sisään asennetun putkiston avulla (Kekkonen ym. 2012). Malmassa elävät mikrobit katalysoivat metallisulfidien muuntumista vesiliukoiksi metallisulfaateiksi, mikä on voimakkaasti lämpöä tuottava prosessi ja mahdollistaa menetelmän käytön myös Suomen ilmasto-olosuhteissa (Kekkonen ym. 2012). Liuosta kierrätetään kasojen lävitse siten, että 10 % liuoksesta johdetaan metallien talteenottoon ja 90 % ohjataan takaisin liuotukseen pH:n säädön kautta (Kekkonen ym. 2012). Malmia bioliuotetaan primäärikasoissa noin 1,5 vuotta, minkä jälkeen se siirretään kovettuneen malmin murskauksen jälkeen 2–3 vuodeksi sekundäärikasoihin, jotka ovat myös jäljelle jääneen kiviaineksen loppusijoituspaikka (Kekkonen ym. 2012). Koko bioliuotusprosessin aikana malmista saadaan irrotettua nikkelistä 90 %, sinkistä 90 %, kuparista 30–60 % ja koboltista 40–60 % (Kekkonen ym. 2012, Riekkola-Vanhanen 2013). Talteenottolaitoksella metallit saostetaan liuoksesta rikkivedyn avulla sakkamaisiksi metallisulfideiksi (Kekkonen ym. 2012). Jäljelle jäänyt hapan kiertoliuos palautetaan raffinaattina bioliuotuskasaan (Riekkola-Vanhanen 2013). Saostusprosesseista vapautuu kipsisakkaa ja puhdistettuja ylijäämävesiä, jotka johdetaan vesistöihin ympäristöluvan sallimissa rajoissa (Kekkonen ym. 2012).

2.2.3. Sulfaatti ja vesistövaikutukset

Talvivaaran kaivoksesta vapautuu vesiin sulfaattia sulfidimalmista ja bioliuotusprosessissa käytettävästä rikkihaposta (Kauppi ym. 2013). Sulfidimineraalien altistuminen ilmakehän hapelle ja vedelle kaivostoiminnan eri vaiheissa aiheuttaa niiden hapettumisen ja edelleen happamien, metalli- ja sulfaattipitoisten vesien muodostumisen (Kauppila ym. 2011), mikä näkyy kohonneina rikki-, sulfaatti-, nikkeli-, mangaani-, kadmium-, sinkki-, natrium- ja kalsiumpitoisuuksina (Salmelin ym. 2017). Kaivoksen vaikutuksen alaisissa järvissä sulfaatti voimistaa kerrostuneisuutta, mikä johtaa alusveden happikatoon (Kauppi ym. 2013). Leppänen ym. (2017) havaitsivat, että suolainen tiheä kaivosvesi on saanut Kivijärvessä aikaan selkeän kemokliinin, joka vuodesta 2011 lähtien on erottanut sekoittumattoman hapettoman pohjakerroksen yläpuolisesta sekoittuvasta kerroksesta ja vähentänyt valon määrää pohjassa. Tämän seurauksena ravinteiden kierto on estynyt vähentäen klorofylli a:n ja fosforin määrää päällysvedessä eli miksolimnionissa. Tämä on voinut heikentää vesikirppujen ravinnon määrää ja laatua johtaen niiden monimuotoisuuden vähenemiseen (Leppänen ym. 2017). Talvivaaran kaivoksen ympäristötarkkailuraporttien (Sopanen 2016) mukaan luontaisesti lievästi happamissa joissa on alkanut esiintyä alkalisuutta ja murtovettä suosivia piilevälajeja. Elphick ym. (2011) testasivat useiden vesieliöiden herkkyyttä sulfaattialtistukselle ja osoittivat toksisuuden vähenevän veden kovuuden kasvaessa. Esimerkiksi kirjolohen (*Oncorhynchus mykiss*) varhaiskehityksessä havaittiin haittavaikutuksia sulfaattipitoisuudessa 340 mg l⁻¹ veden kovuuden ollessa 15 mg l⁻¹ (Elphick ym. 2011). Wang ym. (2016) totesivat paksupäämutujen (*Pimephales promelas*) olevan hyvin herkkiä sulfaatille lyhytaikaisessa altistuksessa alkiosta kuoriutumiseen, ja kroonisessa altistuksessa herkempiä kuin vesikirppu (*Ceriodaphnia dubia*), surviaissääski (*Chironomus dilutus*) ja jokisimpukka (*Lampsilis abrupta*).

2.3. Metallien vaikutus kalojen varhaiskehitykseen

2.3.1. Altistuminen ja biosaatavuus

Veteen liuenneet metallit vaikuttavat kalojen fysiologisiin prosesseihin kuten lisääntymiseen ja kehitykseen (Jeziarska ym. 2009). Metallit voivat kertyä kalojen sukusoluihin tai vaikuttaa suoraan alkioihin (Jeziarska ym. 2009). Kalalajien herkkyyys

metalleille on erilaista ja riippuu kehitysvaiheesta sekä altistuksen kestosta (Kazlauskienė & Stasiūnaitė 1999). Herkkiä metallien myrkyllisyydelle ovat varhaiset kehitysvaiheet erityisesti heti hedelmöityksen jälkeinen aika sekä kuoriutumisjakso (Jeziarska ym. 2009). Kuori ja/tai perivitelliineste suojaa alkioita yksilönkehityksen aikana sitomalla metalleja itseensä (Norrgrén & Degerman 1993, Stouthart ym. 1994, Arola ym. 2017). Luonnossa eliöt altistuvat yleensä myrkkujen tai niiden sekoitusten pitkäaikaiselle vaikutukselle alhaisissa pitoisuuksissa (Kazlauskienė & Stasiūnaitė 1999).

Useiden metallien biokertyvyyteen ja myrkyllisyyteen vaikuttavat veden pH, alkaliteetti, kovuus ja orgaaninen aines (Norrgrén & Degerman 1993). Vesien happamoitumisen seurauksena metalleja liukenee pohjasedimenteistä ja maaperästä (Norrgrén & Degerman 1993). Skandinaviassa happamille vesistöille on luonteenomaista alhainen kalsiumpitoisuus ja korkeat metallipitoisuudet (Norrgrén & Degerman 1993). Wang ym. (2016) tuovat esille pH:n vaihtelun kolme vaikutustapaa metallien myrkyllisyyteen vesieliöille: myrkyllisyys kasvaa pH:n laskiessa, noustessa tai muuttuessa kumpaan suuntaan tahansa optimiarvosta. Veden pH:n laskiessa esimerkiksi lyijyn (Stouthart ym. 1994) ja kuparin (Stouthart ym. 1996) biosaatavuus kasvaa eli ne siirtyvät alkioihin tehokkaammin esiintyessään liukoisessa kationisessa muodossa (Kauppila ym. 2011). Metallit, kuten alumiini, rauta ja mangaani, voivat vaikuttaa yhdessä toistensa ja veden pH:n kanssa lisäten osmoottista stressiä (Norrgrén & Degerman 1993). Erickson ym. (1996) havaitsivat kuparin ja Pyle ym. (2002) nikkelin myrkyllisyyden paksupäämutujen toukkavaiheille vähenevän veden kovuuden tai kiintoainemäärän kasvaessa johtuen kalsiumionien sitoutumisesta kidusten pinnalle metallien sijaan tai metalli-ionien sitoutumisesta kiintoaineeseen. Meinelt ym. (2001) puolestaan osoittivat kalsiumin ja humusaineiden suojaavan seeprakalan (*Danio rerio*) alkioita kadmiumin myrkyllisyydeltä, ja yhdessä ne antoivat paremman suojan kuin kumpikaan kalsium tai humusaineet erikseen.

2.3.2. Metallien vaikutukset kalojen varhaisiin kehitysvaiheisiin

Alkioiden altistuminen metalleille häiritsee alkionkehitystä muun muassa haitaten aineenvaihduntaprosesseja, mistä aiheutuu kehityksen viivästyminen, morfologisia ja toiminnallisia poikkeavuuksia tai jopa kuolemaa (Jeziarska ym. 2009). Lisäksi myrkkujen poistaminen kuluttaa energiaa, jolloin sitä on vähemmän käytettävissä kasvuun (Luckenbach ym. 2001, Jeziarska ym. 2009). Turpoamisvaiheessa ennen kuoren kovettumista metalli-ionit voivat muuttaa suonikalvon rakennetta ja läpäisevyyttä tai kertyä munaan (Jeziarska ym. 2009). Alkioiden herkkyydessä metallien myrkyllisyydelle on hyvin suurta yksilöllistä vaihtelua (Jeziarska ym. 2009). Varhaiskehityksen aikainen metallialtistus voi vähentää poikasten kuoriutumismenestystä, hengissäsäilyvyyttä ja kokoa sekä lisätä epämuodostumien määrää (Jeziarska ym. 2009).

Kirjolohen altistuminen korkeille kuparipitoisuuksille varhaiskehityksen aikana aiheutti kuolevuutta, alensi sydämen sykettä ja hidasti kasvua toukkavaiheen ollessa alkiovaihetta herkempi (Stasiūnaitė 2005). Kuparialtistuksen kesto lisäsi myrkyllisyyttä, joka näkyi alhaisimmillaan pitoisuudessa 0,015 mg l⁻¹ (Stasiūnaitė 2005). Kazlauskienė & Stasiūnaitė (1999) tutkivat raskasmetalliseoksen (kupari, sinkki, kromi, nikkeli ja rauta) vaikutusta kirjolohen varhaiskehitykseen. Akuutissa 96 h:n altistuksessa alkioit sietivät metalleja blastulavaiheessa silmäpisteastetta paremmin sietokyvyn ollessa toukkavaiheessa kaikista heikoin (Kazlauskienė & Stasiūnaitė 1999). Alkioiden herkkyyden metalleille kasvoi altistuksen keston pidentyessä (Kazlauskienė & Stasiūnaitė 1999). Pitkäaikaisessa altistuksessa metallit aiheuttivat alkioille kuolevuutta herkemmin kuoriutumisen- ja passiivisyöntivaiheissa kuin blastula- ja morfogeneesivaiheissa (Kazlauskienė &

Stasiūnaitė 1999). Lisäksi metallit vähensivät alkioiden kasvua häiritsemällä niiden aineenvaihduntaa (Kazlauskienė & Stasiūnaitė 1999).

Karppialkioiden altistuminen kuparille pH:ssa 6,3 aiheutti pitoisuusriippuvaisesti epämuodostumia päähän ja selkäyttimeen sekä perivitelliiniproteiinien koaguloitumisesta johtuvaa kuolevuutta (Stouthart ym. 1996). Kuparialtistus vähensi alkioiden sydämen sykettä, pyrstön liikkeitä ja kuoriutumismenestystä sekä aiheutti ennen aikaista kuoriutumista (Stouthart ym. 1996). Kudostutkimusten perusteella kuparialtistuneiden alkioiden elimet olivat surkastuneita, ruskuaispussi ei ollut imeytynyt ja uimarakko oli pienempi kuin kontrolliyksilöillä (Stouthart ym. 1996). Lisäksi kuparialtistus pH:ssa 6,3 vähensi koko kehon kalium-, natrium-, magnesium- ja kalsiumpitoisuuksia (Stouthart ym. 1996). Kupari voi häiritä ioninvaihtoa perivitelliinimesteen ja veden välillä sekä kiduksissa karppialkioilla kehityksen aikana (Stouthart ym. 1996). Kuparin, kadmiumin ja lyijyn on havaittu vähentävän karpin (*Cyprinus carpio*) munien turpoamista noin 40 % verrattuna kontrolliryhmään (Jeziarska ym. 2009). Witeska ym. (1995) totesivat kadmiumaltistuksen vähentävän karpin alkioiden selviytymistä ja pidentävän niiden alkionkehitystä viivästyttämällä kuoriutumisen alkamista, mikä saattoi johtua kadmiumin vaikutuksesta chorionaasientsyymien toimintaan.

Keinänen ym. (2003) osoittivat happamuuden ja alumiinin häiritsevän siian munien vedenottokykyä ja siten kortikaalireaktiota eli turpoamista sitä enemmän, mitä alhaisempi pH oli. Epätäydellisellä kortikaalireaktiolla voi olla haitallisia vaikutuksia ionisäätelyyn ja aineenvaihduntatuotteiden eritykseen (Keinänen ym. 2003). Happamuuden ja alumiinin aiheuttamasta rajoittuneesta perivitelliinitalasta tai myös fysiologisista tai kehityksellisistä häiriöistä johtuen siika-alkiot eivät liikkuneet pH:ssa 4,5 lainkaan, liikkeet olivat hitaita ja harvinaisia pH:n ollessa 5,0, kun taas liikehdintä oli jatkuvaa pH:ssa 6,5 (Keinänen ym. 2003). Arola ym. (2017) havaitsivat mangaanisulfaatin lisäävän siika-alkioiden kokonaiskuolevuutta hedelmöityksestä toukkavaiheen alkuun asti kestäneissä jatkuvan altistuksen laboratorikokeissa.

Luckenbach ym. (2001) hautoivat taimenen alkioita sekä laboratorio-olosuhteissa että kahdessa metallien ja orgaanisten yhdisteiden saastuttamassa virrassa koejärjestelmässä, jossa veden lämpötila sekä virrannopeus olivat säädettyjä ja hiukkaskuormitusta poistettiin. He havaitsivat fysiologisen stressin aiheuttamaa kasvun hidastumista ja kehityksen viivästyymistä kahden eri virran sekä laboratorionäytteen välillä sekä lisääntynyttä kuolevuutta saastuneemman virran ja kontrolliryhmän välillä.

2.4. Mädinhaudontakoe tutkimusmenetelmänä luonnossa

Mädinhaudontakokeilla voidaan selvittää virtavesissä tutkimuskohteen soveltuvuutta lohikalojen mädille ja alkioille altistamalla ne vakioidulla menetelmällä vedenlaadun vaihtelulle (Eloranta & Syrjänen 2006). Pitkäaikainen syksystä kevääseen kestävä koe antaa varsin luotettavaa tietoa lohikalojen luontaisen lisääntymisen onnistumisesta ja kertoo myös muun suhteellisen puhdasta vettä vaativan virtavesieliöstön elinmahdollisuuksista (Syrjänen 2016). Mädinhaudontakokeita on tehty 1990–2010-luvuilla Järvi-Suomessa muun muassa Jyväskylän Tourujoessa, joten vertailuaineistoa tällaisille kokeille on saatavilla (Syrjänen 2016). Mädinhaudontakokeella voidaan tutkia esimerkiksi taimenen ekologiaa muun muassa ennustamalla poikasten sorastanousua (Kiljunen 2003, Syrjänen ym. 2008) tai kirjolohen lisääntymisedellytyksiä (Korsu & Huusko 2010), mutta sen avulla ei ole mahdollista saada tietoa vedenlaadun riittävydestä poikasten noustessa sorasta tai sen jälkeen (Syrjänen 2016). Toisin kuin mädinistutuksessa haudontakokeessa poikasia ei vapauteta vesistöön (Eloranta & Syrjänen 2006). Varhaisten elinvaiheiden käytöllä on useita etuja verrattuna aikuisten kalojen *in situ* -altistuskokeisiin

(Norrgrén & Degerman 1993). Kuolettavia vaikutuksia voidaan tällöin tutkia herkkien, monipuolisten ja helposti havaittavien muuttujien, kuten kehitysasteen, kuolevuuden, kasvun ja epämuodostumien avulla (Luckenbach ym. 2001). Lisäksi menetelmä mahdollistaa suurten yksilömäärien altistuksen todellisessa ympäristössä (Norrgrén & Degerman 1993).

Mädinhaudontakokeessa rakennetaan luonnon kutupesää jäljittelevä keinotekoinen kutupesä (Syrjänen 2016). Suomessa on käytetty kannellisia muovi- tai metalliverkosta valmistettuja mätisyliintereitä, joiden tilavuus on noin 2 dl, korkeus noin 9–10 cm, halkaisija noin 6–7 cm ja verkon solmuväli 1–2 mm (Eloranta & Syrjänen 2006, Syrjänen ym. 2008, Syrjänen 2016). Taimenen mädinhaudontakokeissa sylinterin pohjalle laitetaan sora, jonka päälle asetellaan tunnettu määrä mätimunia, jotka peitetään soralla (Syrjänen 2016). Sylinterit, joita on tyypillisesti 3–6 kpl, upotetaan soraan muovikorin sisälle (Syrjänen ym. 2008, Syrjänen 2016). Kori sijoitetaan uoman pohjaan kaivettuun pieneen kuoppaan veden syvyydeltä ja virrannopeudelta luonnollista kutupaikkaa vastaaviin olosuhteisiin lajin kutuajankohtana (Syrjänen 2016). Kori tuetaan pohjaan keskikokoisilla ja suurehkoilla kivillä (Syrjänen 2016). Mätisyliintereitä poistetaan koreista ennalta laaditun suunnitelman mukaan satunnaisesti (Eloranta & Syrjänen 2006, Syrjänen ym. 2008). Veden lämpötilaa seurataan yleensä koreihin sijoitetuilla automaattilämpötilamittareilla tutkimuksen ajan (Syrjänen ym. 2008, Syrjänen 2016).

Mädinhaudontakokeilla voidaan tutkia alkioiden kuolevuutta sylinterien nostoajankohtien välillä laskemalla elävät ja kuolleet yksilöt poistetuista sylintereistä (Eloranta & Syrjänen 2006, Syrjänen ym. 2008, Syrjänen 2016). Kuollut alkio muuttuu valkoiseksi, ja jos halutaan tietää tarkka kuolleisuusnajakkohta, edellyttää tämä alkion kirkastamista läpikuultavaksi Guilsonin-liuoksessa ja tarkan kehitysvaiheen määrittämistä (Eloranta & Syrjänen 2006). Alkioiden kehittymistä voidaan seurata mittaamalla tietyn lukumäärän, esimerkiksi 5 satunnaisesti valitun yksilön, pituudet millimetripaperin tai mikroskoopin avulla (Syrjänen 2016). Veden lämpötilakehityksestä saadaan laskettua päiväastekertymä (Syrjänen ym. 2008, Syrjänen 2016). Sylintereistä voidaan silmämääräisesti havainnoida pohjaeläinten esiintymistä (Eloranta & Syrjänen 2006) sekä hiekan ja orgaanisen aineksen kertymistä virtavesikohteessa (Syrjänen ym. 2008, Syrjänen 2016). Haudontakokeen aikana seurataan veden syvyyttä ja virrannopeutta korien yläpuolella (Syrjänen 2016). Paremman kokonaiskuvan saamiseksi vedenlaatuvaihteluista voidaan korien lähistön vedenlaatua seurata vesinäytteiden avulla (Eloranta & Syrjänen 2006).

Mädinhaudontakokeeseen tarvitaan lupa alueen omistajalta tai lupaviranomaiselta, ja siitä tulee ilmoittaa etukäteen kiinteistön omistajalle tai haltijalle (Vesilaki 587/2011). Mädinhaudontakokeen suunnittelussa on hyvä tiedostaa vastaavat toteutukselliset haasteet kuin mädin istutuksessakin. Kokeen valmistelussa ja paikkojen valinnassa tulee pyrkiä huomioimaan veden virtaamavaihtelut aliveden (Eloranta & Syrjänen 2006) ja kevättulvien aikaan (Syrjänen 2016) muun muassa välttämällä sylintereiden sijoittamista uoman keskelle päävirtaan sekä mahdollinen kiintoaineksen kertyminen koreihin ja sylintereihin (Janatuinen & Vainio 2014). Korit tulisi sijoittaa paikkoihin, joihin ei todennäköisesti muodostu jäätä (Eloranta & Syrjänen 2006). Tutkimuspaikkojen valinnassa tulee myös huomioida niiden saavutettavuus kokeen eri vaiheissa (Janatuinen & Vainio 2014). Korien paikat on merkittävä tarkasti rannalle maastoon, sekä kirjattava muistiin koordinaatein ja valokuvaten (Eloranta & Syrjänen 2006, Janatuinen & Vainio 2014).

3. AINEISTO JA MENETELMÄT

3.1. Tutkimuspaikat

Vedenjakaja-alueella sijaitseva Talvivaaran metallikaivos laskee jätevesiä pohjoista purkureittiä Oulujoen vesistöön ja eteläistä reittiä Vuoksen vesistöön. Tutkimukseen valittiin kummastakin vesistöstä 3 koepaikkaa eri etäisyyksiltä päästölähteestä sekä 6 referenssipaiikkaa, jotka sijaitsivat kaivoksen vaikutusalueen ulkopuolella (Kuva 1 ja 2). Altistusgradientin tarkastelemiseksi tutkimuspaikat jaettiin veden keskimääräisen sähkönjohtavuuden perusteella kolmeen ryhmään: korkea kaivosvaikutus ($> 600 \mu\text{S cm}^{-1}$), alhainen kaivosvaikutus ($< 600 \mu\text{S cm}^{-1}$) ja ei kaivosvaikutusta eli referenssipaiikat ($< 40 \mu\text{S cm}^{-1}$) (Liite 1). Korkean kaivosvaikutuksen koepaiikat sijoituivat eteläiselle ja alhaisen kaivosvaikutuksen paikat pohjoiselle purkureitille. Referenssipaiikoista Korentojoki (Oulujoen vesistö) sekä Välijoki ja Joutenjoki (Vuoksen vesistö) sijaitsevat Talvivaaran kaivosalueen läheisyydessä. Muut tutkimuskohteet ilman kaivosvaikutusta olivat Tervajoki (Oulujoen vesistö) Sotkamossa, Varisjoki (Oulujoen vesistö) Paltamossa ja Rutajoki (Kymijoen vesistö) Joutsassa (Kuva 2, Taulukko 1). Rutajoki otettiin täydennykseksi referenssiaineistoon, koska vedenlaatu siellä tiedettiin varmasti hyväksi ja joelta oli myös jo olemassa olevaa aineistoa taimenen mädinhaudontakokeista (Syrjänen ym. 2008). Tutkimuspaikoista Varisjoessa (A. Vainikka, Itä-Suomen yliopisto, suullinen tiedonanto) ja Rutajoessa (Sivonen 2015) esiintyy luontaisesti lisääntyvä taimenpopulaatio. Kaivosvaikutusalueen koepaikkojen Kalliojoen ja Jormasjoen välille sijoittuvassa Tuhkajoessa elää geneettisesti erillinen taimenkanta (Korhonen 2013). Oulujoen vesistöön Sotkamon reitille istutetaan vuosittain velvoiteistutuksina järvitaimenta ja planktonsiikaa (Taskila 2016). Lehtonen (2003) mukaan planktonsiikaa tavataan Sotkamon reitin Nuas-, Kiimas- ja Kiantajärvissä. Kalastajat ovat saaneet siikoja tutkimusalueella sijaitsevasta Jormasjärvestä vuosina 2013–2015 (Taskila 2014, Peltonen 2015, Peltonen ym. 2016).



Kuva 1. Näytteenottoa tutkimuspaikoilla Ylä-Lumijoki (A), Lumijoki (B), Joutenjoki (C ja D), Kalliojoki (E), Tervajoki (F) ja Salmisenpuro (G).



Kuva 2. Taimenen ja siian mätimunien haudontapaikat metallikaivoksen jätevesien vaikutusalueilla ja referenssipajoilla Kainuun alueella (A) ja Rutajoella Joutsassa (B). Referenssipajaikat on merkitty karttoihin tähdellä.

Kaivosalueelta ohjataan puhdistettuja ylijäämävesiä eteläiselle purkureitille Ylä-Lumijärveen, josta vedet virtaavat Ylä-Lumijokea pitkin Lumijokeen, Kivijärveen,

Kivijokeen ja Laakajärveen. Pohjoinen purkureitti kulkee Salminen-järven kautta Salmisenpuroa pitkin Kalliojärveen, mistä reitti jatkuu Kalliojoen, Kolmisopin, Tuhkajoen, Jormasjärven ja Jormasjoen kautta Nuasjärveen (Kekkonen ym. 2012). Tutkimuksessa Vuoksen vesistön koepaikat sijaitsivat Ylä-Lumijoessa, Lumijoessa sekä Kivijoessa ja Oulujoen vesistön koepaikat Salmisenpurossa, Kalliojoessa sekä Jormasjoessa (Kuva 2, Taulukko 1).

Taulukko 1. Järvitaimenen ja siian mädinhaudontakokeen 12 koepaikan ja joen ominaisuuksia Kainuun alueella sekä Rutajoella Joutsassa 2014–2015. ”Järvi” tarkoittaa lähintä yläpuolista järveä. Lev=leveyspiiri, Pit=pituuspiiri, Leveys=uoman keskileveys, V=Vuoksen valuma-alue, O=Oulujoen valuma-alue, Ky=Kymijoen valuma-alue, P=perattu, K=kunnostettu (Arola ym. 2019).

Joki	Valuma- alue	Etäisyys järveen (km)	Järven pinta-ala (km ²)	Lev (N)	Pit (E)	Leveys (m)	Joki- luokka	Tila
Kaivosvaikutuksen alaiset joet								
Ylä-Lumijoki	V	1,0	0,06	63° 57'	27° 57'	3	2	P
Lumijoki	V	3,0	0,07	63° 56'	27° 55'	4	2	P
Kivijoki	V	0,6	1,86	63° 55'	27° 55'	6	3	P
Salmisenpuro	O	0,2	0,08	64° 00'	28° 00'	3	2	P
Kalliojoki	O	3,0	0,28	64° 01'	28° 02'	11	3	P
Jormasjoki	O	4,0	21,80	64° 07'	28° 05'	23	4	K
Referenssijoet								
Joutenjoki	V	-	-	63° 54'	28° 07'	4	3	P
Välijoki	V	0,9	0,07	63° 54'	28° 00'	5	3	P
Korentojoki	O	-	-	64° 01'	27° 57'	4	3	P
Tervajoki	O	16,0	2,28	64° 09'	28° 35'	5	3	P
Varisjoki	O	0,7	27,77	64° 24'	27° 31'	20	3	K
Rutajoki	Ky	2,7	0,17	61° 59'	25° 58'	6	3	K

Alustavat koepaikkavalinnat tehtiin karttatyönä valumareittien perusteella. Tarkoituksena oli löytää 12 tutkimuspaikkaa keskenään samantyyppisistä joista ja samanlaisilta paikoilta. Paikallisten taimenkantojen olemassaoloa selvitettiin kirjallisuudesta sekä viranomaisilta tiedustelemalla. Kohteet valikoituivat lopulta paikan päällä tehtyjen tarkastuskäyntien ja käytettävissä olleiden vedenlaatutietojen perusteella. Myös kulkuyhteyksillä oli merkitystä, ja vedenkorkeuksien vaihtelu sekä virtapaikkojen sijainti huomioitiin. Mahdollinen luonnonsoraikko laskettiin eduksi. Siika- ja taimenkoepaikat sijoitettiin tutkimusteknisistä syistä lähemmäksi paitsi Joutenjoessa ja Kalliojoessa. Molempien lajien elinolosuhdevaatimuksia pyrittiin kuitenkin huomioimaan muun muassa viemällä taimenkorit voimakkaammin virtaaviin paikkoihin ja siikakorit tyvenempiin kohtiin (Liite 2). Taimenkorit olivat tutkimusjakson aikana keskisyvyydellä 28,0 cm (12,0–73,3 cm) ja siikakorit 30,5 cm (5,5–61,3 cm). Virtausnopeus oli tutkimusjakson aikana pohjassa korien yläpuolella taimenella keskimäärin 16,1 cm s⁻¹ (0,5–48,5 cm s⁻¹) ja siialla 5,6 cm s⁻¹ (0,0–31,7 cm s⁻¹) (Liite 2).

3.2. Mäti

Tutkimuksessa käytettiin Oulujoen viljelykantaa olevaa järvitäinen mätiä. Naaraskalat (n = 20) hedelmöitettiin koirailta (n = 20) 14.10.2014 emopari kerrallaan, ja kaikki mäti sekoitettiin samaan astiaan (vesi 5,3 °C) Luonnonvarakeskuksen Kainuun kalantutkimusasemalla Paltamossa. Desinfioidut munat (n = 3600) vietiin Varisjoen vettä (lähtölämpötila 5,2 °C) sisältäneissä purkeissa (n = 72) tutkimusjokiin kahden seuraavan vuorokauden kuluessa hedelmöityksestä 15.–16.10.2014. Mätipurkkeja (0,5 l) kuljetettiin ja säilytettiin sekä kylmälaukuissa että saaveissa jäihin pakattuina. Mädin säilytyslämpötila laskettiin 15.10. aikana noin 1 °C:een ja pidettiin siinä istutushetkeen asti.

Planktonsiian mäti oli Koitajoen kantaa ja peräisin Luonnonvarakeskuksen Saimaan kalantutkimus- ja vesiviljelylaitokselta Enonkoskelta. Planktonsiikanaaraiden (n = 10) ja koiraiden (n = 20) sukusolut sekoitettiin keskenään jo hedelmöityksessä 11.11.2014. Jokaiseen tutkimuskohteeseen vietiin 12.–13.11.2014 välisenä aikana 6 x 50 mätimunaa 0,5 l:n pulloissa (n = 72), jotka sisälsivät Enonveden vettä (pakkaushetkellä 3,6 °C). Mädin säilytyslämpötila istutukseen saakka oli 0–3 °C.

3.3. Mädinhaudontakoe

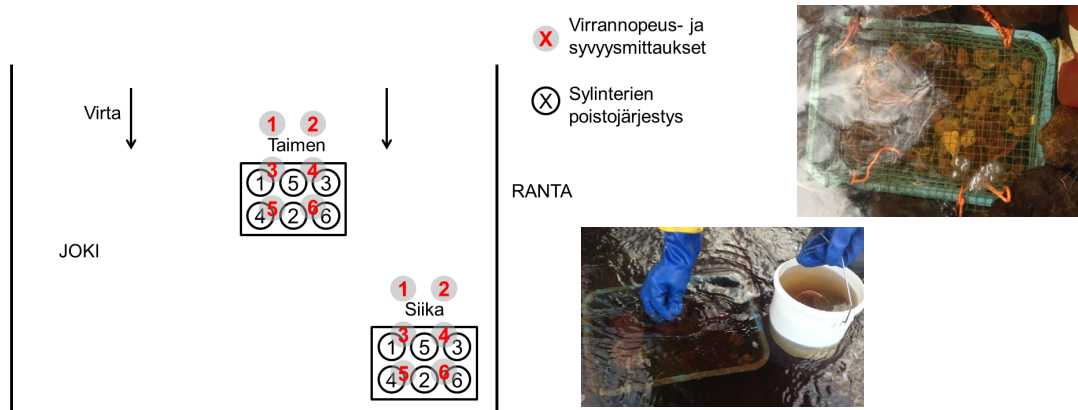
Mätikoreihin ja -sylintereihin laitettiin karkeasti jaoteltuna kahta eri sorakokoluokkaa sekä hiekkää. Näistä alkuperäissorista ja hiekasta otetut näytteet (2977 g, 1811 g ja 1541 g) seulottiin tarkkojen raekokojakaumien määrittämiseksi. Näytteistä pestiin pois hienoin pöly, joka olisi huuhtoutunut myös joissa virtauksen mukana, ne kuivatettiin sanomalehtien päällä ja kokonaismassat punnittiin vaa'alla (Dayton Rapido ja AND). Näytteet seulottiin käyttämällä seulakokoja 32 (Oy Santasalo-Sohlberg Ab), 24 (itse tehty), 22,4 (Retsch), 16 (Oy Santasalo-Sohlberg AB), 11,2 (Retsch), 8 (Oy Santasalo-Sohlberg AB), 2 (Oy Santasalo-Sohlberg Ab), 1 (Oy Scanteknik Ab), 0,5 (Oy Scanteknik Ab), 0,25 (Oy Scanteknik Ab) ja 0,125 mm (Oy Scanteknik Ab) sekä erikokoisia muovilaatikoita. Seulakoot oli valittu muunnellun Wentworthin asteikon (Mäki-Petäys ym. 2002) ja halutun jakaumatarkkuuden perusteella. Näytettä seulottiin niin kauan, ettei kiviainesta enää mennyt seulan lävitse. Näytemäärä pidettiin seulassa kerrallaan sen verran pienenä, että aines levittäytyi verkolle tasaisesti ja jokaisella rakeella olisi ollut teoreettinen mahdollisuus läpäistä seulaverkko. Kullekin seulakoolle jäänyt materiaali punnittiin, ja sen osuus kokonaismassasta laskettiin. Yleisimmät raekoot ilmoitettiin Wentworthin luokissa: 5 = 64–32 mm, 4 = 32–16 mm, 3 = 16–8 mm, 2 = 8–2 mm ja 1 = < 2 mm. On kuitenkin huomioitava, että seulonnalla määritetty raekoko kuvaa sorarakeen pienentä ulottuvuutta, mikä ei ole suoraan vertailukelpoinen suurimpaan mitattuun halkaisijaan, jota käytetään Wentworthin asteikon yhteydessä.

Mädinhaudontakokeessa käytettiin nylonverkosta (solmuväli 2 mm) valmistettuja kannellisia sylintereitä (V = 2,7 dl), joiden läpi kulki naru (Kuva 4A). Solmut naran molemmissa päissä varmistivat kannen pysymisen paikoillaan. Taimenella sylinterin pohjalle laitettiin huuhdeltua soraa (raekoko 3, 2, 4), jonka pinnalle mätimunat (n = 50) aseteltiin. Sylinteri täytettiin vastaavalla soralla. Siialla sylinteri täytettiin 2/3:lla (raekoko 3, 1, 2) siten, että puhdistetun soran pinnalle lisättiin ohut kerros huuhdeltua hiekkää, jonka pinnalle mäti (n = 50) varovasti kaadettiin. Sylinteri pujotettiin nylonsukkaan (20 den), joka solmittiin molemmista päistä. Tällä haluttiin estää munien poishuuhtoutuminen ja ensimmäisten kuoriutuvien poikasten karkaaminen.

Taimenen mätisylinterit (n = 6) laitettiin muovikoriin (Kuva 3), jonka pohjalla oli soraa. Sylinterit haudattiin soraan (raekoko 4, 3, 2), ja koko kori upotettiin laitojaan myöten joen pohjasoraikkoon ja tuettiin suuremmilla kivillä. Jos luonnonsoraikkaa oli

valmiina, sitä hyödynnettiin. Muutoin käytettiin mukana tuotua puhdistettua soraa (raekoko 4, 3, 2). Siian mätisylinterit (n = 6) upotettiin muovikoreihin siten, että niiden kannet jäivät soran (raekoko 4, 3, 2) pinnan tasolle näkyviin. Lisäksi koreihin kiinnitettiin narulla tai nippusiteillä muovipäällysteisestä metalliverkosta valmistettu kansi, jottei virta missään olosuhteissa voisi viedä sylintereitä mennessään. Korit upotettiin sylintereiden kansiensa tasolle pohjaan ja tuettiin kivillä.

Jokaiseen tutkimusjokeen jäi talven ajaksi hautoutumaan yksi kori kummankin lajin mätisylintereitä. Korit sijoitettiin siten, että niiden yläpuolella olisi matalallakin vedenkorkeudella vähintään 10–20 cm vettä. Taimenen mätikoreihin asennettiin nippusiteillä automaattilämpömittarit (Eclo Thermochron iButton), jotka mittasivat ja tallensivat korien sisälämpötilat 4 tunnin välein koko tutkimusjakson ajan. Korien sijainneista kirjoitettiin kuvaukset ja paikat valokuvattiin. Itse korit ja niiden sijoittuminen maastossa merkittiin lisäksi lippunauhoilla. Tutkimuspaikoille tehtiin tarkastuskäynti joulukuussa 2014 veden minimikorkeuksien arvioimiseksi. Kaikille koe- ja referenssipakoille ei tuolloin kuitenkaan päästy. Siian mätikoreja siirrettiin Kalliojoessa, Joutenjoessa, Tervajoessa ja Varisjoessa syvemmälle, koska ilman tätä riskinä olisi ollut korien jäätyminen rantapenkkaan aliveden aikana.



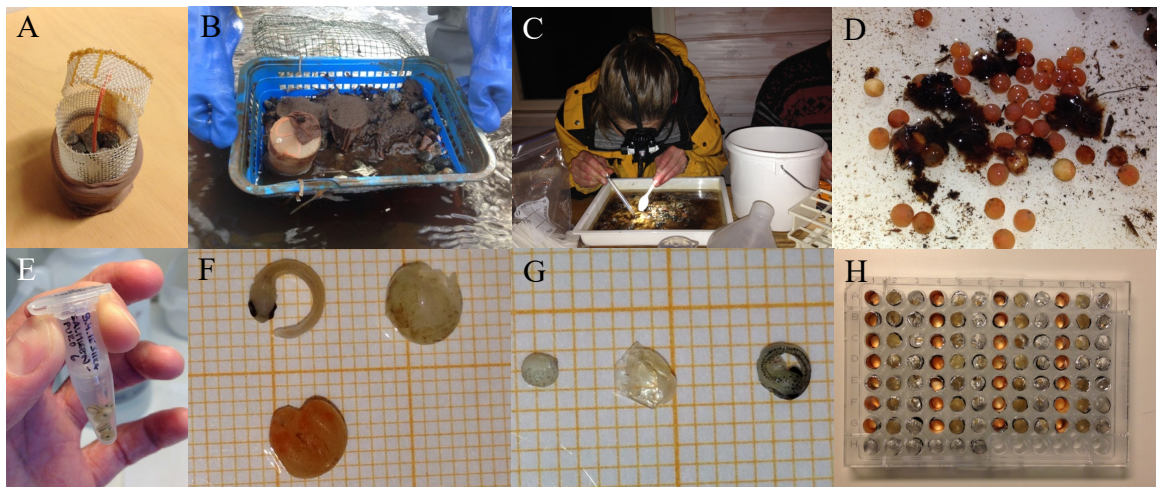
Kuva 3. Taimenen ja siian mädinhautontakokeessa veden virrannopeus- ja syvyysmittaukset aloitettiin aina ylävirrasta ja keskeltä. Sylinterit poistettiin vasemmalta oikealle: 1–3 välinäytteenotossa ja 4–6 loppunäytteenotossa.

Tutkimuspaikoilta määritettiin veden fysikaalisia ominaisuuksia ja otettiin vesinäytteet kartoituskäynnin, taimenen ja siian mätikorien jokiin laitojen, vedenkorkeuksien tarkastuskäynnin sekä välinäytteenoton ja korien poisoton yhteydessä. Veden syvyys mitattiin mittakepillä jokaisen korin edestä ja päältä yhteensä kuudesta kohdasta ja virrannopeus puolestaan siivikolla kuuden sekunnin keskiarvona samoista pisteistä pohjasta (Kuva 2). Veden happipitoisuus (YSI ProODO tai YSI 6600) sekä sähkönjohtavuus, pH ja veden lämpötila (YSI Prosessional Plus tai YSI 6600 sondi) mitattiin korien päältä (Taulukko 3). Jokaisesta tutkimuspaikasta otettiin suodatettu vesinäyte alkuaineanalyysiin sekä liuennan orgaanisen hiilen vesinäyte (Arola ym. 2019). Vesianalyysitulokset ovat tässä työssä taustatietona liitteissä 3–5, ja analysointimenetelmät on esittänyt tarkemmin Arola ym. 2019. Joutenjoella korit sijaitsivat kauempana toisistaan, joten molemmille paikoille tehtiin erilliset vedenlaatumittaukset ja otettiin omat vesinäytteet. Jokikohtaisia tuloksia laskettaessa käytettiin molempien paikkojen mittaustulosten keskiarvoja.

Välinäytteenotossa 2.–5.3.2015 jokaisesta taimenen ja siian korista poistettiin yksitellen kolme mätisylinteriä samassa järjestyksessä ja loppunäytteenotossa 6.–10.4.2015 kolme jäljelle jäänyttä sylinteriä. Sylinterit numeroitiin 1–6 poisottojärjestyksen mukaan (Kuva 3). Lopuksi kaikki korit tyhjennettiin ja automaattilämpömittarit kerättiin talteen.

Välinäytteenoton aikaan Varisjoki, Jormasjoki, Kivijoki ja Rutajoki olivat sulia siian ja taimenen mätikorien yllä. Korentojoessa, Lumijoessa, Tervajoessa, Salmisenpurossa ja Välijoessa sekä taimenen osalta Joutenjoessa ja siian suhteen Kalliojoessa korit sijaittivat paksun jää- ja lumikannen alla. Ylä-Lumijoessa, siian osalta Joutenjoessa ja taimenen suhteen Kalliojoessa oli sylinterikorien yläpuolella koko joen peittävä jääkansi ja lumipeite. Väli- ja loppunäytteenottojen välillä jäätilanteessa oli tapahtunut sulamista ja edellisen käynnin aikana jäähän tehtyjen aukkojen laajenemista pääasiassa Kalliojoessa, Ylä-Lumijoessa sekä Välijoessa. Välinäytteenottokäynnillä havaittiin Lumijoen siikasylinterikorin jäätyneen rantapenkkaan kiinni, joten koko kori sylintereineen otettiin pois. Loppunäytteenotossa todettiin Välijoen siian korin ja kolmen viimeisen sylinterin olevan umpijäässä. Sekä väli- että loppunäytteenotoissa sylinterit kaivettiin varovasti soran sisältä ja nostettiin veden alla ämpäriin (3 l), joka oli täytetty piripintaan kohdejoen vedellä. Vastaavat numerot siika- ja taimensylintereistä laitettiin samaan nimikoituun ämpäriin, joka kuljetettiin kylmälaukussa maastolaboratorioon. Välinäytteenotossa koriin syntyneisiin tyhjiin kohtiin lisättiin saman tien mukana tuotua soraa (raekoko 4, 3, 2), jotta muodostunut tyhjä tila ei aiheuttaisi jäljelle jääneiden sylintereiden liikkumista tai kellahtamista ja sorapinnan korkeus koreissa pysyisi samana kuin kokeen alussa. Sylintereiden lämpötila pidettiin tasaisena alkioiden käsittelyyn asti, joka tehtiin aina poistopäivän iltana.

Taimen- ja siikasylinterit avattiin yksi kerrallaan, ja niiden sisältö kaadettiin tarjottimelle (Kuva 4C ja D). Elävät ja erotettavissa olevat kuolleet alkioit laskettiin. Osa kuolleista alkioista oli takertunut homeiseksi vaikeasti eroteltavaksi klumpiksi ja osa oli hajonnut osittain tai kokonaan. Sekä väli- että loppunäytteenotossa taimenen ja siian jokaisesta sylinteristä valittiin satunnaisesti enintään 5 elävää yksilöä alkion pituusmittauksia sekä ruskuaisen ja alkion massamäärityksiä varten. Taimenalkiot ($n = 5$) poimittiin katkaistulla kertakäyttöpipetillä tai kertakäyttölusikalla koeputkiin (15 ml) ja siika-alkiot ($n = 5$) kerättiin kertakäyttöpipetillä (3,5 ml) eppendorffputkiin (1,5 ml) (Kuva 4E). Ylimääräinen vesi imettiin pipetillä putkista pois. Taimenalkiot kestäväitettiin noin 5 ml ja siika-alkiot noin 1 ml neutraloitua formaliinia (formaliini 10 %, vesi ja dinatriumvetyfosfaatti) ja laitettiin pakastimeen. Eppendorffputkia säilytettiin pystyasennossa telineessä. Paikkakohtaiset elävien ja kuolleiden lukumäärät, sylinterien likaisuus sekä käsittelyssä tehdyt havainnot kirjattiin muistiin. Alkiot säilytettiin pakastettuina niiden käsittelyyn saakka.



Kuva 4. Sylinteri (A), puhdas ja likainen sylinteri näytteenotossa (B), elävien ja kuolleiden alkioiden erottelu (C), taimenalkioita tarjottimella (D), siika-alkioita eppendorffputkessa (E), taimenalkio (F), siika-alkio (G) ja kuoppalevy (H).

3.4. Aineiston käsittely ja tilastolliset analyysit

Ohuesta alumiinifoliosta taiteltiin kuppeja 99-paikkaisiin kannellisiin kuoppalevyihin, jotka kuivattiin lämpökaapissa (Memmert Modell 500) 40 °C lämpötilassa ja säilytettiin eksikaattorissa (Nalgene 5317–0180). Kuoppalevyt numeroitiin ja jokainen alumiinikuppi punnittiin tyhjänä. Alkiot sulatettiin hitaasti joko kylmiössä tai jäämurskassa huonelämpötilassa. Formaliiniliuos korvattiin ultrapuhtaalla vedellä vetokaapissa. Kun yhtä alkiota käsiteltiin, loput pidettiin jäissä kylmälaukussa. Taimenen ja siian kehittyneet munat avattiin yksitellen preparointiveistä, piikkiä ja pinsettejä apuna käyttäen petrimaljan päällä. Kuori, ruskuainen ja alkio eroteltiin toisistaan (Kuva 4F ja G). Alkio suoristettiin pinsettien avulla, ja sen pituus mitattiin preparointimikroskoopin (MBS-10) mitta-asteikolla. Tarvittaessa käytettiin tippa ultrapuhdasta vettä avaamisen ja erottelun helpottamiseksi ja etteivät osat kuivu liikaa preparointimikroskoopin lampun lämmittävästä vaikutuksesta. Ylimääräinen vesi kuivattiin paperiin ja alkio, ruskuainen ja kuori laitettiin omiin alumiinikuppeihinsa, joissa niiden tuoremmat punnittiin päivittäin kalibroidulla tarkkuusvaa’alla (Sartorius Pro 11) yksitellen (Kuva 4H). Alkiot, ruskuaiset ja kuoret kuivattiin lämpökaapissa 40 °C lämpötilassa keskimäärin 37 h ajan. Kuivattujen näytteiden lämpötilat tasattiin, ja niitä säilytettiin eksikaattorissa kuivamassojen punnitsemiseen saakka. Alkiot käsiteltiin 26.3.–2.9.2015, ja tuloksista sekä muusta huomionarvoisesta pidettiin mittauspöytäkirjaa (Liite 6). Lopuksi preparointimikroskoopin okulaarimitta-asteikko kalibroitiin millimetreiksi millimetripaperin avulla.

Mittauspöytäkirjatulokset (Liite 6) taulukoitiin Exceliin. Kirjausten oikeellisuus tarkistettiin. Mittausten laadunvarmistus tehtiin vertailemalla alkion pituustietoja massamittaustietoihin. Selkeästi virheelliset tai vääristyneet arvot poistettiin. Virheellisiä lukuarvoja aiheuttivat lähinnä epämuodostuneet alkiot ja alkioiden hajoaminen mittauksen yhteydessä. Ruskuainen pidettiin mukana tulosten käsittelyssä, jos ainoastaan alkio todettiin poikkeavaksi. Virheellisinä poistettuja mittauksia oli taimenella 6 kpl kaikista 328 käsitellystä alkiosta ja siialla 3 kpl 340 yksilöstä. Alkion, ruskuaisen ja kuoren lopulliset kuivamassat saatiin, kun niiden kupillisista kuivamassoista vähennettiin kupprien kuivamassat. Alkioiden mikroskoopin okulaarimitta-asteikolla mitatut pituudet muunnettiin millimetreiksi 0,1 mm tarkkuudella kalibroitukertoimella ($y = 0,2x$, jossa y = pituus millimetreinä ja x = pituus mikroskoopin mitta-asteikolla). Tilastollista analysointia varten yksilöiden mittaustuloksista laskettiin sylinterikohtainen (koeyksikkö) keskiarvo.

Lämpötilat vaihtelivat eri tutkimuspaikkojen välillä, ja automaattilämpömittareita ei oltu etukäteen interkalibroitu. Päiväastekertymien laskemista varten automaattilämpömittarien tallentamat jokien lämpötilat yhdenmukaistettiin paikan päällä eri käyntien yhteydessä YSI Professional Plussalla ja YSI 6600:lla tehtyjen lämpötilamittausten (4–5 kpl / joki) avulla. Mitattujen lämpötilojen ja automaattilämpömittarien vastaavina ajankohtina tallentamien lämpötilojen välille sovitettiin lineaarinen trendiviiva, jonka yhtälöllä lämpötilat kalibroitiin. Lineaarinen malli oli vaihtoehtoista yksinkertaisin, ja sille saatiin korkea selitysaste. Kunkin joen taimenelle ja siialle käytettiin samaa kalibroituyhtälöä. Joutenjoessa ja Salmisenpurossa osa automaattilämpömittarin tallentamista lämpötiloista oli negatiivisia. Negatiiviset lämpötilat pidettiin mukana kalibroituyhtälön sovittamisessa, koska ne saattoivat johtua automaattilämpömittarin mittaustarkkuudesta tai alijäähtyneestä vedestä. Sen sijaan mitään viitteitä taimenkorien jäätymisestä ei havaittu. Kalibroidut lämpötilat, jotka jäivät edelleen negatiivisiksi, korjattiin 0:ksi ennen vuorokausikohtaisten keskilämpötilojen laskemista. Jokaisen taimen- ja siikasylinterin päiväastekertymä laskettiin veden vuorokausikohtaisten

korjattujen keskilämpötilojen summana mädinhaudontakokeen aloitusajankohdasta sylinterin poistoon asti.

Sylinterit luokiteltiin joko puhtaiksi tai likaisiksi (Kuva 4B). Likaisuudella tarkoitetaan kaikkea mahdollista joko sylinterin sisälle tai ulkopinnalle kertynyttä ylimääräistä epäorgaanista tai orgaanista ainesta, kuten hiekkaa, humuslietettä tai hienoa puujaetta. Sylinterin likaisuuden vaikutusta alkioiden kasvuun ja kuolevuuteen tarkasteltiin tilastollisissa analyysissä erikseen. Suuret määrät kaivosalueelta poistettua alapuolisiin vesiin johdettua jätevettä voi aiheuttaa uoman kulumista ja huuhtoa sekä mineraaliperäistä että orgaanista kiintoainetta mukaansa. Kun kuitenkin samankaltaista sylinterien likaantumista tapahtui myös referenssipaikoilla eikä kiintoaineksen laadun mukaan voitu erottaa likaantumisen aiheuttajaa, jatkoanalyysissä käytettiin myös pelkästään puhtaiden sylinterien aineistoa arvioitaessa kaivosjäteveden vaikutusta alkioiden kuolevuuteen ja kasvuun.

Alkioiden säilyvyys (S) laskettiin sylinterikohtaisesti jakamalla elossa säilyneiden yksilöiden lukumäärä alkuperäisellä mätimunien lukumäärällä (alussa 50 kpl munia). Säilyvyydestä laskettiin hetkellinen kuolevuus (Z) kaavalla: $Z = -\ln(S + 0,01)$ (Ricker 1975). Lumijoen välinäytteenottokäynnillä kokonaan poistetun siikasyylinterikorin 5 kuolevuudessa mukana olevaa sylinteriä merkittiin analyyseissä välinäytteenottoon. Kuolevuutta tutkittaessa siian osalta on jätetty pois jäätyneet sylinterit, joita oli referenssipaikoissa 9 kpl ja korkean kaivosvaikutuksen koepaikoissa 1 kpl.

Tilastollinen analyysi toteutettiin taimenelle ja siialle kaksivaiheisina GLM-malleina (General Linear Model) IBM SPSS Statistics 22 -ohjelmalla. Tilastollisen merkitsevyyden rajana oli $p = 0,05$. Vastemuuttujina testattiin yksitellen alkion kuivamassa, ruskuaisen kuivamassa, alkion pituus ja kuolevuus. Kuivamassoja ja pituutta testattaessa malliin 1 valittiin faktoreiksi mädinhaudontapaikka johtokyvyn mukaan (kolme eri luokkaa: ei kaivosvaikutusta, alhainen kaivosvaikutus, korkea kaivosvaikutus) ja sylinterin likaisuus (likainen, puhdas) sekä kovariaateiksi päiväastekertymä ja minimi-pH. Mahdollista kaivosvaikutusta selittävinä muuttujina toimivat keskimääräisen johtokyvyn mukaan ryhmitellyt koe- ja referenssipaiikat sekä tutkimusjaksolta kohteista mitatut pH:n minimiarvot, jotka kuvaavat kohteiden ääriolosuhteita tutkimuksen aikana. Mikäli sylinterin likaisuus ei ollut merkitsevä mallissa 1 vastemuuttujan osalta, se jätettiin pois mallista 2. Kuolevuutta testattaessa malliin 1 otettiin mukaan faktoreiksi mädinhaudontapaikka johtokyvyn mukaan, sylinterin likaisuus ja näytteenottoajankohta sekä kovariaatiksi minimi-pH. Kun näytteenottoajankohtien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa, se jätettiin pois mallista 2. Sylinterin likaisuus vaikutti tilastollisesti merkitsevästi kuolevuuteen, joten toisessa vaiheessa tarkasteltiin kaivosvaikutusten esiin saamiseksi vain puhtaita sylintereitä. GLM-mallilla testattiin myös, vaikuttaako yksittäisen sylinterin sijainti korissa kuolevuuteen, mutta sitä ei todettu merkitseväksi kummallakaan tutkimuslajilla.

4. TULOKSET

4.1. Taimen

Koe- ja referenssipaiikkojen alkioiden kuivamassassa ja pituudessa sekä ruskuaisen kuivamassassa ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja (Taulukot 2 ja 3). Eri haudontapaikkojen erot lämpöoloissa vaikuttivat tilastollisesti merkitsevästi taimenen alkion kuivamassan kehitykseen (Taulukko 2, Kuva 5). Haudontapaikoilla, joissa veden lämpötila oli korkeampi, alkioit kehittyivät nopeammin ja niiden kuivamassa ja pituus

olivat suurempia kuin paikoilla, joissa vesi oli kylmempää. Tämä ei kuitenkaan näkynyt tilastollisesti merkitsevänä erona ruskuaisen kulumisessa taimenella. Varsinkin kylmissä oloissa taimenen alkioiden kehitys ja kasvu jäivät näytteenottoajankohtiin mennessä alkuvaiheeseen. Sylinteriin kertyneellä hiekalla tai orgaanisella aineksella ei ollut vaikutusta alkioiden ja ruskuaisen kuivamassoihin eikä pituuteen. Alhaisen pH:n ei havaittu vaikuttaneen alkioiden kehitykseen. Myöskään muuttujien välisiä yhdysvaikutuksia ei todettu (Taulukko 2).

Taulukko 2. Mädinhaudontapaikan (kaivosaltistus), sylinterin likaisuuden, päiväastekertymän ja minimi-pH:n merkitys taimenen alkioiden kasvuun. Koska sylinterin likaisuus ei ollut tilastollisesti merkitsevä minkään vastemuuttujan osalta (malli 1, $p > 0,05$), se on jätetty pois mallissa 2. Sylinterien kokonaislukumäärä malleissa on n kpl.

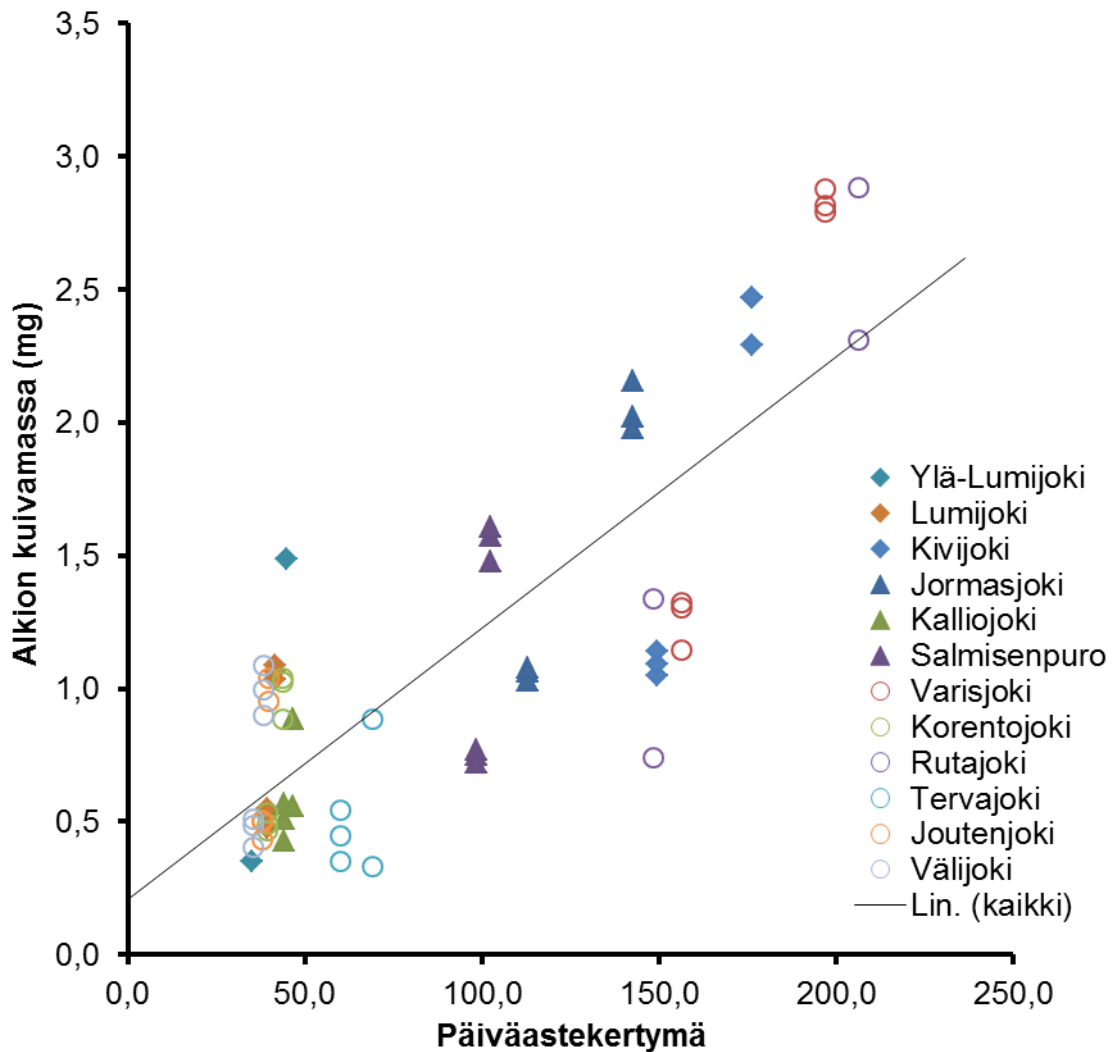
Vastemuuttuja	Selittävä muuttuja	Malli 1			Malli 2		
		df	F-arvo	p-arvo	df	F-arvo	p-arvo
Alkion kuivamassa	Kaivosaltistus ¹	2	1,377	0,261	2	1,135	0,328
	Sylinterin likaisuus ²	1	< 0,001	0,995			
	Päiväastekertymä	1	64,447	< 0,001	1	67,177	< 0,001
	Minimi-pH	1	1,402	0,241	1	2,793	0,100
	Paikka*Sylinterin likaisuus	2	0,922	0,404			
	n		64			64	
Ruskuaisen kuivamassa	Kaivosaltistus ¹	2	0,460	0,634	2	0,123	0,885
	Sylinterin likaisuus ²	1	0,115	0,736			
	Päiväastekertymä	1	0,063	0,802	1	0,116	0,735
	Minimi-pH	1	0,020	0,889	1	0,296	0,588
	Paikka*Sylinterin likaisuus	2	0,833	0,440			
	n		64			64	
Pituus	Kaivosaltistus ¹	2	1,076	0,348	2	0,894	0,414
	Sylinterin likaisuus ²	1	0,027	0,871			
	Päiväastekertymä	1	54,284	< 0,001	1	56,813	< 0,001
	Minimi-pH	1	1,537	0,220	1	2,685	0,107
	Paikka*Sylinterin likaisuus	2	0,664	0,519			
	n		64			64	

¹Ei kaivosvaikutusta, alhainen kaivosvaikutus tai korkea kaivosvaikutus

²Sylinteri puhdas tai likainen

Taulukko 3. Taimenen alkioiden kuivamassan, ruskuaisen kuivamassan, pituuden ja päiväastekertymän keskiarvot, keskihajonnat sekä sylinterien lukumäärät referenssi- ja koepaikoissa väli- ja loppunäytteenotoissa.

	Näytteenotto	Ei kaivosvaikutusta			Alhainen kaivosvaikutus			Korkea kaivosvaikutus		
		ka	SD	n	ka	SD	n	ka	SD	n
Alkion kuivamassa (mg)	Väli	0,68	0,35	17	0,77	0,24	9	0,74	0,34	7
Alkion kuivamassa (mg)	Loppu	1,52	0,92	15	1,46	0,57	9	1,70	0,68	7
Ruskuaisen kuivamassa (mg)	Väli	34,09	2,06	17	34,30	1,42	9	33,34	1,76	7
Ruskuaisen kuivamassa (mg)	Loppu	32,96	1,98	15	33,08	2,32	9	33,71	1,17	7
Pituus (mm)	Väli	8,92	1,19	17	9,28	0,89	9	9,11	1,40	7
Pituus (mm)	Loppu	11,11	2,00	15	11,22	1,85	9	11,51	1,24	7
Päiväastekertymä	Väli	75,50	52,44	17	85,00	31,39	9	85,80	59,42	7
Päiväastekertymä	Loppu	97,79	75,93	15	97,13	41,74	9	99,80	71,57	7



Kuva 5. Taimenen alkion kuivamassa mädinhautontakokeen 15.10.2014–10.4.2015 väli- ja loppunäytteenotossa eri mädinhautontapaikoilla. Vinoneliöt kuvaavat korkean kaivosvaikutuksen koepaikkoja, kolmiot alhaisen kaivosvaikutuksen koepaikkoja ja ympyrät referenssipaiikkoja ilman kaivosvaikutusta. Regressiosuora on sovitettu alkion kuivamassan ja päiväastekertymän välille mukaan lukien kaikki hautontapaikat.

Väli- ja loppunäytteenottoajankohtien kuolevuudet eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan mallissa 1, joten ne on analysoitu yhdessä mallissa 2 (Taulukko 4). Mädinhautontapaikka ja sylinterin likaisuus vaikuttivat taimenalkioiden kuolevuuteen merkitsevästi, ja näiden muuttujien välillä oli myös tilastollisesti merkitsevä yhdysvaikutus (Taulukko 4). Koko aineistossa (likaiset ja puhtaat) minimi-pH vaikutti suuntaa-antavasti ($p = 0,073$) taimenen kuolevuuteen, ja kuolevuus oli suurinta korkean kaivosvaikutuksen paikalla, joka erosi tilastollisesti merkitsevästi alhaisen kaivosvaikutuksen paikoista (Bonferroni, $p < 0,001$) ja suuntaa-antavasti referenssipaikan (Bonferroni, $p = 0,076$) kuolevuudesta (Kuva 6a). Alhainen pH lisäsi alkioiden kuolevuutta hautontajakson aikana. Jatkotarkasteluna kaivosvaikutusta selvitettiin mallissa 2 ainoastaan puhtaiden sylinterien perusteella. Mädinhautontapaikan havaittiin vaikuttavan tilastollisesti merkitsevästi taimenalkioiden hetkelliseen kuolevuuteen (Taulukko 4, Kuva 6b). Paikkakohtaisissa

vertailuissa puhtaissa sylintereissä referenssipaiikkojen kuolevuus oli korkeampi kuin alhaisen (Bonferroni, $p = 0,077$) tai korkean kaivosvaikutuksen (Bonferroni, $p = 0,149$) paikoissa, mutta erot eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä. Likaisten sylinterien karsiminen vähensi näissä analyyseissä toistojen määrää heikentäen testin voimakkuutta havaita eroja. Veden happamuus eri mädinhautontapaikoilla ei lisännyt taimenalkioiden kuolevuutta merkitsevästi puhtaissa sylintereissä (Taulukko 4). Alkioiden säilyvyydet ei kaivosvaikutuksen, alhaisen kaivosvaikutuksen ja korkean kaivosvaikutuksen paikoissa olivat kaikki sylinterit mukaan luettuina 33, 60 ja 46 % sekä vain puhtaissa sylintereissä 32, 67 ja 68 % mainitussa järjestyksessä.

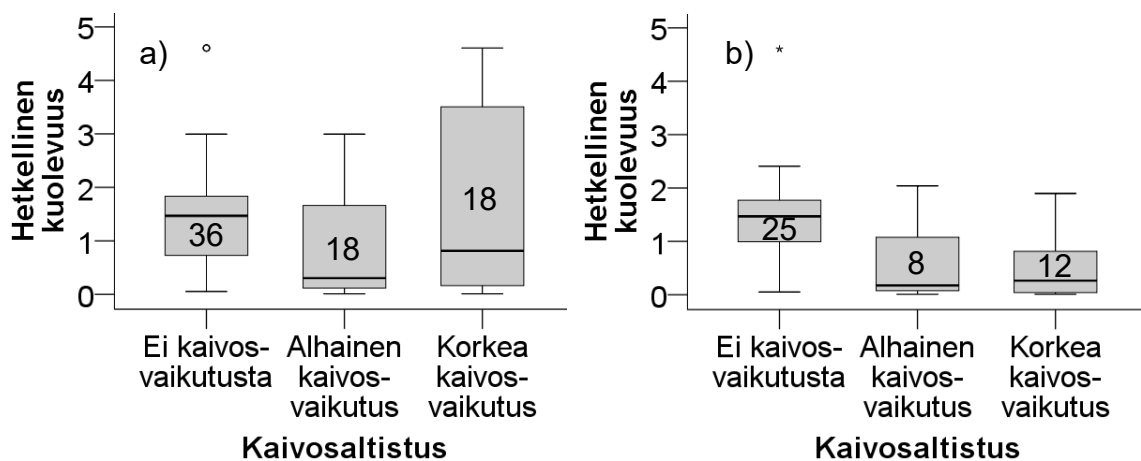
Taulukko 4. Mädinhautontapaikan (kaivosaltistus), sylinterin likaisuuden, näytteenottoajankohdan ja minimi-pH:n vaikutus taimenen hetkelliseen kuolevuuteen. Koska sylinterin likaisuudella oli merkitsevä vaikutus kuolevuuteen, testataan mallissa 2 vain puhtaita sylintereitä. Väli- ja loppunäytteenottoajankohtien kuolevuudet eivät eronneet ($p > 0,05$) toisistaan, joten ne analysoitiin yhdistettynä aineistona. Sylintereiden kokonaislukumäärä malleissa on n kpl.

Vastemuuttuja	Selittävä muuttuja	df	Malli 1		Malli 2		
			F-arvo	p-arvo	df	F-arvo	p-arvo
Kuolevuus	Kaivosaltistus ¹	2	10,054	< 0,001	2	3,690	0,034
	Sylinterin likaisuus ²	1	20,442	< 0,001			
	Näytteenottoajankohta ³	1	2,364	0,129			
	Minimi-pH	1	3,341	0,073	1	1,050	0,312
	Paikka*N_ajank.	2	1,012	0,370			
	Paikka*Syl_lik.	2	8,488	0,001			
	N_ajank.*Syl_lik.	1	0,734	0,395			
	Paikka*N_ajank.*Syl_lik.	2	1,497	0,232			
	n		72			45	

¹Ei kaivosvaikutusta, alhainen kaivosvaikutus tai korkea kaivosvaikutus

²Sylinteri puhdas tai likainen

³Väli- tai loppunäytteenotto



Kuva 6. Taimenalkioiden hetkellinen kuolevuus (minimi, alakvartiili, mediaani, yläkvartiili ja maksimi) eri mädinhautontapaikoilla (kaivosaltistus) a) kaikissa sylintereissä ja b) puhtaissa sylintereissä sisältäen sekä väli- että loppunäytteenottojen yksilöt. Viiksilatikoitten sisällä olevat numerot kertovat sylinterien lukumäärän kussakin kaivosaltistusryhmässä.

4.2. Siika

Alkioiden kuivamassat ja pituudet sekä ruskuaisen kuivamassat eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan koe- ja referenssipaikkojen välillä (Taulukot 5 ja 6). Mädinhaudontapaikkojen erilaisilla lämpöoloilla oli tilastollisesti merkitsevä vaikutus alkioiden kuivamassaan ja pituuteen. Tutkimusjakson aikana keskimäärin lämpimämmissä haudontapaikoissa alkiot kehittyivät nopeammin ja kasvoivat pidemmiksi kuin kylmemmässä vedessä hautoutuneet alkiot (Taulukko 5, Kuva 7). Siialla myös ruskuaisen kuivamassa väheni tilastollisesti merkitsevästi kehityksen edetessä (Taulukko 5, Kuva 8). Minimi-pH vaikutti tilastollisesti merkitsevästi alkioiden kasvuun ja alkiot olivat kookkaampia niillä kasvupaikoilla, joilla minimi-pH oli alhainen. Ruskuaisen kuivamassaan happamuudella ei ollut vaikutusta. Kiintoaineksen kertyminen (likaisuus) sylintereihin ei vaikuttanut alkioiden kehitykseen eikä selittävien muuttujien yhdysvaikutuksia havaittu (Taulukko 5).

Taulukko 5. Mädinhaudontapaikan (kaivosaltistus), sylinterin likaisuuden, päivästekertymän ja minimi-pH:n merkitys siian alkioiden kasvuun. Koska sylinterin likaisuus ei ollut tilastollisesti merkitsevä minkään vastemuuttujan osalta (malli 1, $p > 0.05$), se on jätetty pois mallissa 2. Sylintereiden kokonaislukumäärä malleissa on n kpl.

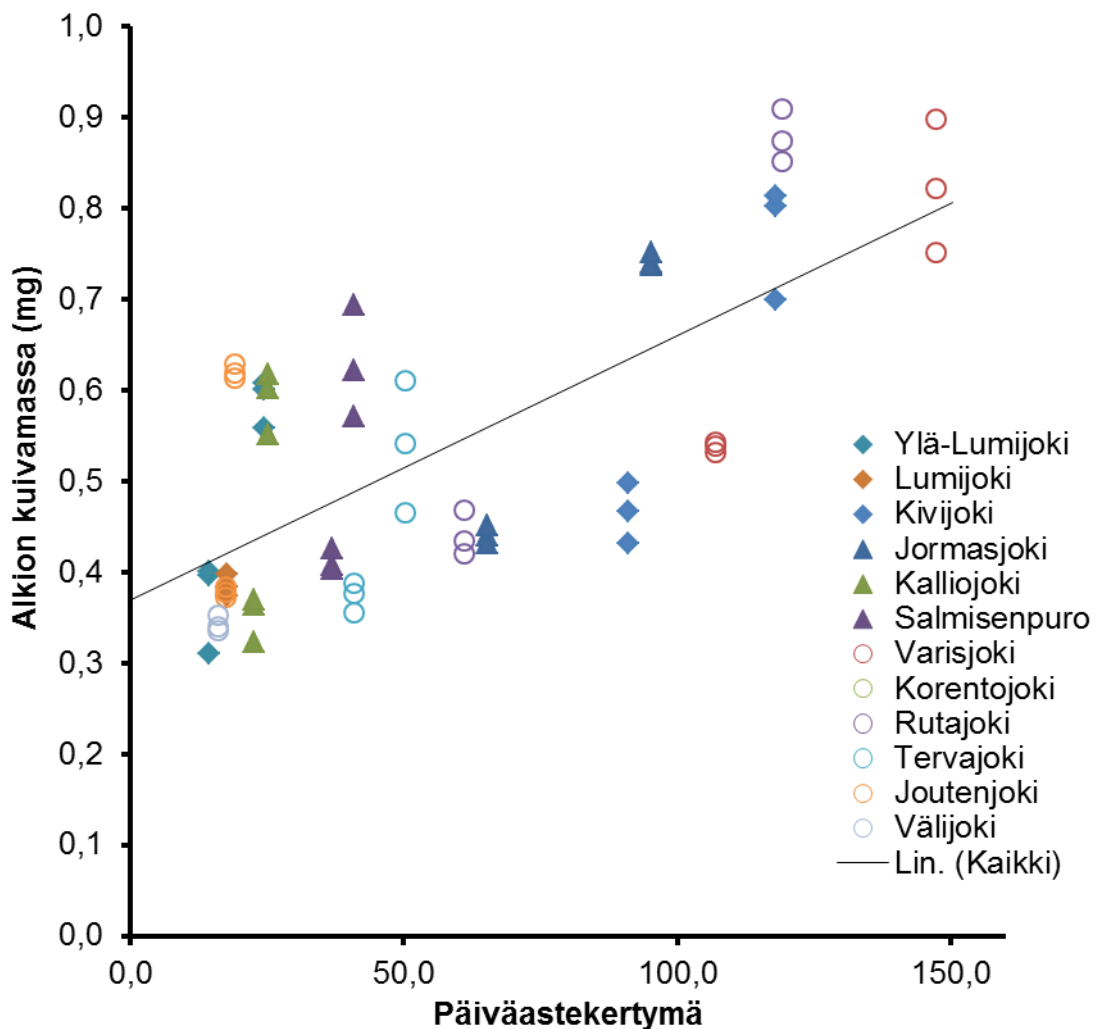
Vastemuuttuja	Selittävä muuttuja	df	Malli 1		Malli 2		
			F-arvo	p-arvo	df	F-arvo	p-arvo
Alkion kuivamassa	Kaivosaltistus ¹	2	0,063	0,939	2	0,213	0,809
	Sylinterin likaisuus ²	1	0,114	0,737			
	Päivästekertymä	1	44,375	< 0,001	1	46,393	< 0,001
	Minimi-pH	1	4,939	0,031	1	5,197	0,027
	Paikka*Sylinterin likaisuus	1	0,107	0,745			
	n		60			60	
Ruskuaisen kuivamassa	Kaivosaltistus ¹	2	0,567	0,571	2	0,200	0,819
	Sylinterin likaisuus ²	1	0,714	0,402			
	Päivästekertymä	1	16,632	< 0,001	1	16,956	< 0,001
	Minimi-pH	1	1,717	0,196	1	1,863	0,178
	Paikka*Sylinterin likaisuus	1	0,618	0,435			
	n		60			60	
Pituus	Kaivosaltistus ¹	2	0,972	0,385	2	1,420	0,250
	Sylinterin likaisuus ²	1	0,785	0,380			
	Päivästekertymä	1	46,811	< 0,001	1	48,630	< 0,001
	Minimi-pH	1	14,797	< 0,001	1	15,451	< 0,001
	Paikka*Sylinterin likaisuus	1	0,230	0,633			
	n		60			60	

¹Ei kaivosvaikutusta, alhainen kaivosvaikutus tai korkea kaivosvaikutus

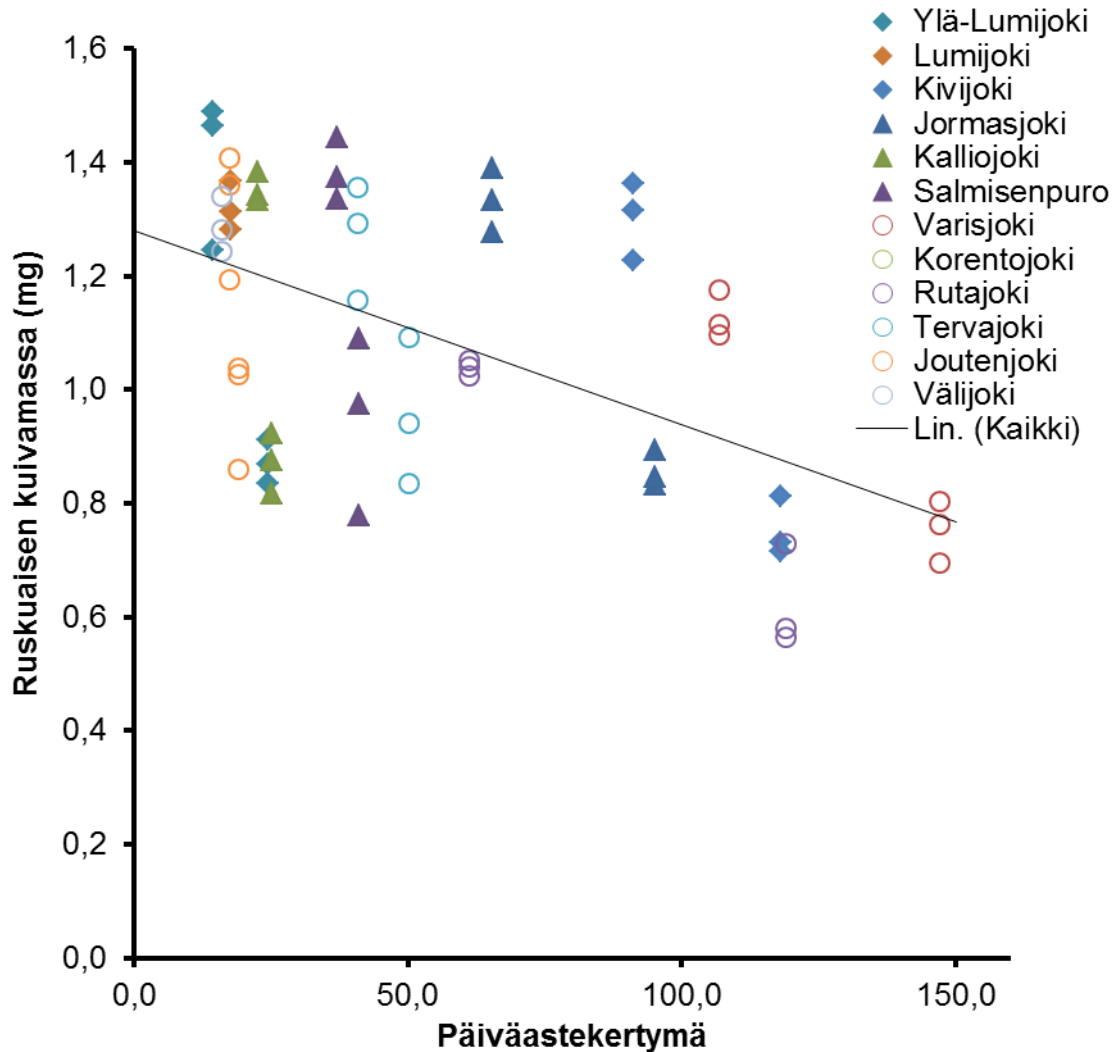
²Sylinteri puhdas tai likainen

Taulukko 6. Siian alkioiden ja ruskuaisten kuivamassojen sekä pituuden ja päiväastekertymän keskiarvot, keskihajonnat sekä sylinterien lukumäärät referenssi- ja koepaikoissa väli- ja loppunäytteenotoissa.

	Näytteenotto	Ei kaivosvaikutusta			Alhainen kaivosvaikutus			Korkea kaivosvaikutus		
		ka	SD	n	ka	SD	n	ka	SD	n
Alkion kuivamassa (mg)	Väli	0,41	0,07	15	0,40	0,04	9	0,41	0,06	9
Alkion kuivamassa (mg)	Loppu	0,72	0,15	12	0,65	0,08	9	0,68	0,11	6
Ruskuaisten kuivamassa (mg)	Väli	1,21	0,13	15	1,36	0,05	9	1,34	0,09	9
Ruskuaisten kuivamassa (mg)	Loppu	0,83	0,17	12	0,89	0,93	9	0,81	0,08	6
Pituus (mm)	Väli	8,06	0,43	15	8,28	0,25	9	8,38	0,46	9
Pituus (mm)	Loppu	9,76	0,60	12	9,48	0,52	9	9,52	0,40	6
Päiväastekertymä	Väli	48,44	34,80	15	41,67	18,78	9	41,07	37,56	9
Päiväastekertymä	Loppu	83,88	53,74	12	53,83	31,76	9	71,25	51,32	6



Kuva 7. Siian alkion kuivamassa mädinhautontakokeen 12.11.2014–10.4.2015 väli- ja loppunäytteenotossa eri mädinhautontapaikoilla. Vinoneliöt kuvaavat korkean kaivosvaikutuksen koepaikkoja, kolmiot alhaisen kaivosvaikutuksen koepaikkoja ja ympyrät referenssipaiikkoja ilman kaivosvaikutusta. Regressiosuora on sovitettu alkion kuivamassan ja päiväastekertymän välille mukaan lukien kaikki hautontapaikat.



Kuva 8. Siian ruskuaisen kuivamassa mädinhaudontakokeen 12.11.2014–10.4.2015 väli- ja loppunäytteenotossa eri mädinhaudontapaikoilla. Symbolien muoto kertoo paikan sijainnista suhteessa kaivosalueeseen: vinoneliö tarkoittaa korkeaa kaivosvaikutusta, kolmio alhaista kaivosvaikutusta ja ympyrä referenssiä eli ei kaivosvaikutusta. Kaikki haudontapaikat huomioon ottava regressiosuora kuvaa ruskuaisen kuivamassan ja päiväastekertymän suhdetta.

Väli- ja loppunäytteenottokertojen välillä ei mallissa 1 havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa siian alkioiden kuolevuudessa, joten aineisto voitiin analysoida yhdistettynä kuten taimenaineistokin. Kaikki sylinterit (likaiset ja puhtaat) mukaan lukien mädinhaudontapaikan todettiin vaikuttavan suuntaa antavasti siika-alkioiden kuolevuuteen ($p = 0,051$), mitä tuki sylinterin likaisuuden ja mädinhaudontapaikan tilastollisesti merkitsevä yhdysvaikutus. Mädinhaudontapaikkojen välinen vertailu antoi kuitenkin viitteitä korkeammasta kuolevuudesta referenssipajoilla suhteessa korkean kaivosvaikutuksen koepaikkoihin (Bonferroni, $p = 0,083$) (Kuva 9a). Näytteenottoajankohdan ja sylinterin likaisuuden välillä havaittiin suuntaa antava yhdysvaikutus ($p = 0,054$). Minimi-pH ei koko aineiston osalta vaikuttanut alkioiden kuolevuuteen. Sylintereiden likaisuus lisäsi alkioiden kuolevuutta merkitsevästi, minkä vuoksi mallissa 2 tutkittiin jatkoanalyysinä vain puhtaiden sylintereiden aineistolla

mädinhaudontapaikkojen välisiä eroja (Taulukko 7). Puhtaiden sylinterien osalta koe- ja referenssipaiikat eivät eronneet kuolevuudessa toisistaan merkitsevästi (Taulukko 7, Kuva 9b). Myöskään happamat olosuhteet hautoutumisvedessä eivät edelleen vaikuttaneet kuolevuuteen (Taulukko 7). Alkioiden säilyvyydet ei kaivosvaikutuksen, alhaisen kaivosvaikutuksen ja korkean kaivosvaikutuksen paikoissa olivat kaikki sylinterit mukaan luettuina 60, 59 ja 64 % sekä vain puhtaissa sylintereissä 63, 58 ja 64 % mainituissa järjestyksessä.

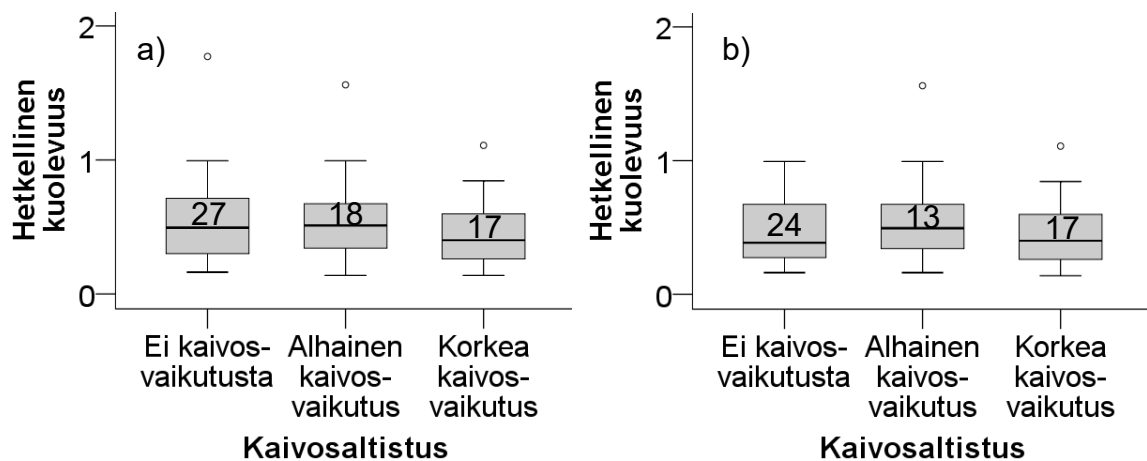
Taulukko 7. Mädinhaudontapaikan (kaivosaltistus), sylinterin likaisuuden, näytteenottoajankohdan ja minimi-pH:n vaikutus siian hetkelliseen kuolevuuteen. Koska sylinterin likaisuudella oli merkitsevä vaikutus kuolevuuteen ($p > 0.05$), testattiin mallissa 2 vain puhtaita sylintereitä. Väli- ja loppunäytteenottoajankohtien kuolevuudet eivät eronneet toisistaan, joten ne analysoitiin yhdistettynä aineistona. Sylintereiden kokonaislukumäärä malleissa on n kpl.

Vastemuuttuja	Selittävä muuttuja	df	Malli 1		Malli 2		
			F-arvo	p-arvo	df	F-arvo	p-arvo
Kuolevuus	Kaivosaltistus ¹	2	3,142	0,051	2	0,517	0,600
	Sylinterin likaisuus ²	1	4,336	0,042			
	Näytteenottoajankohta ³	1	0,707	0,404			
	Minimi-pH	1	0,172	0,680	1	0,473	0,495
	Paikka*N_ajank.	2	1,651	0,202			
	Paikka*Syl_lik.	1	10,862	0,002			
	N_ajank.*Syl_lik.	1	3,898	0,054			
	Paikka*N_ajank.*Syl_lik.	0					
n		62			54		

¹Ei kaivosvaikutusta, alhainen kaivosvaikutus tai korkea kaivosvaikutus

²Sylinteri puhdas tai likainen

³Väli- tai loppunäytteenotto



Kuva 9. Siika-alkioiden hetkellinen kuolevuus (minimi, alakvartiili, mediaani, yläkvartiili ja maksimi) eri mädinhaudontapaikoilla (kaivosaltistus) a) kaikissa sylintereissä ja b) puhtaissa sylintereissä sisältäen sekä väli- että loppunäytteenottojen yksilöt. Viiksilaatikoiden sisällä olevat numerot kertovat sylinterien lukumäärän kussakin kaivosaltistusrhmässä.

5. TULOSTEN TARKASTELU

5.1. Alkion varhaiskehitys

Taimenella ja siialla alkioden kuivamassassa ja pituudessa sekä ruskuaisen kuivamassassa ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja koe- ja referenssipaiikkojen välillä, mikä voi osittain selittyä kehitysvaiheella. Mätimunaa kuori ja/tai perivitelliineste suojaavat alkioita ja estävät altistumista vedessä oleville haitta-aineille (Norrgren & Degerman 1993, Hutchinson ym. 1998, Jezierska ym. 2009, Arola ym. 2017) mahdollista kaasujen vaihtoa ja lämmön siirtymisen veden ja alkion välillä. Esimerkiksi siika-alkioiden altistuminen mangaanisulfaatile johti mangaanin kertymiseen niiden kuoreen (Arola ym. 2017). Kuoreen kertyvien metallien, kuten kuparin ja lyijyn, on havaittu muuttavan sen läpäisevyyttä ja häiritsevän ioninvaihtoa (Stouthart ym. 1994, Stouthart ym. 1996). Korkeat metallipitoisuudet, alhainen pH tai niiden yhteisvaikutus eivät suoraan pääse häiritsemään alkiokehitystä ennen kuoriutumista. Toisaalta Stubblefield ym. (1997) toteavat mangaanialtistuksen heikentävän taimenalkioiden kasvua. Tutkimuksessa koepaikoilla veden mangaanipitoisuus (Liite 3) oli korkeampi (keskimäärin 718 ja 1008 $\mu\text{g l}^{-1}$, max 2889 ja 2390 $\mu\text{g l}^{-1}$) kuin referenssipaiikoilla (keskimäärin 63 $\mu\text{g l}^{-1}$, max 103 $\mu\text{g l}^{-1}$), mutta yleisesti ottaen pienempi kuin millä Arola ym. (2017) tai Stubblefield ym. (1997) altistuskokeissaan alhaisimmillaan havaitsivat vaikutuksia (40–12500 $\mu\text{g l}^{-1}$, 4410 $\mu\text{g l}^{-1}$ edellä mainitussa järjestyksessä). Jezierska ym. (2009) toteavat, että metallien voidaan olettaa häiritsevän alkiokehitystä myös matalina pitoisuuksina, mutta tällöin vaikutukset näkyvät vain pienemmässä osuudessa alkioista. Herkimmät kehitysvaiheet, eli heti hedelmöityksen jälkeisen ajan turpoamisvaihe ja kuoriutumisjakso (Jezierska ym. 2009), eivät sisällyneet tutkimukseen.

Eri haudontapaikkojen erot lämpöoloissa vaikuttivat sekä taimenella että siialla alkioden kuivamassan ja pituuden kehitykseen. Kokeessa taimenalkiot ehtivät kehittyä 38–206 ja siika-alkiot 19–147 päivästä, kun 50 %:n kuoriutumiseen on esitetty tarvittavan taimenella 230–353 (Syrjänen ym. 2008) ja siialla 366–433 $^{\circ}\text{C}$ (Karjalainen ym. 2015). Syrjänen ym. (2008) määrittivät kuoriutumishetken kuivamassaksi taimenelle keskimäärin 7,6–9,0 mg, kun tässä tutkimuksessa kuivamassa loppunäytteenotossa oli keskimäärin 1,5–1,7 mg ja pituus 11,3 mm. Toukokuussa ennen sorastanousua taimenpoikasten keskimääräiseksi pituudeksi on mitattu 26,5 mm (Syrjänen ym. 2019). Vastaavasti Lim ym. (2017) havaitsivat sillisiika-alkioiden kuivamassaksi niiden alkaessa kuoriutua noin 1,2 mg ja pituudeksi noin 11,2 mm ja Karjalainen ym. (2015) puolestaan eurooppalaisen siian kuivapainoksi noin 1 mg, kun mädinhaudontakokeessa kuivamassa oli keskimäärin 0,7 mg ja pituus 9,6 mm. Näin ollen taimen ja siika eivät olleet vielä lähelläkään kuoriutumista johtuen alhaisesta veden lämpötilasta koejaksoilla. Ei tiedetä, olisiko eri tutkimuspaikkojen alkioille muodostunut eroja kuivamassoissa tai pituudessa kuoriutumiseen tai varhaiskehityksen päättymiseen mennessä myöhemmin keväällä, kun nouseva veden lämpötila olisi kiihdyttänyt niiden kasvua (Syrjänen ym. 2008). Suuret paikkakohtaiset erot lämpöoloissa saattoivat peittää muiden tekijöiden vaikutusta alkioden kehitykseen, vaikka lämpötilaeroja pyrittiinkin hallitsemaan tilastollisissa analyysissä päiväastekertymän avulla. Eri haudontapaikkojen erot päiväastekertymissä olisivat myös saattaneet tasaantua kevään edetessä, kuten Kiljusen (2003) tutkimuksessa. Ei myöskään tiedetä, mitä vaikutuksia varhaiskehityksen aikaisella altistuksella tulisi mahdollisesti olemaan kalojen myöhemmissä elinvaiheissa. Weis (2014) toteaa, että viivästyneitä vaikutuksia saattaa ilmetä altistuneella yksilöllä myöhemmin esimerkiksi käyttäytymisessä, joskin aihetta on tutkittu niukasti. Toisaalta Brinkman & Hansen (2007) havaitsivat, että

kadmiumille altistetut taimenalkiot selviytyivät altistamattomia paremmin poikasvaiheessa metallipitoisessa vedessä akklimoitumisesta johtuen.

Taimenalkiot käyttivät ruskuaista mädinhaudontakokeen aikana vähän, kun taas siialla ruskuaisen kuivamassa kului kehityksen edetessä ollen välinäytteenotossa keskimäärin 1,3 mg ja loppunäytteenotossa 0,8 mg, mikä vastasi Lim ym. (2017) tutkimuksessa havaittua ruskuaisen kulutusta. Kuoriutumisen alkaessa ruskuaisen kuivamassaksi on mitattu keskimäärin 0,6 mg (Lim ym. 2017). Tosin metallialtistus on saattanut rajoittaa ruskuaisen käyttöä. Arola ym. (2017) havaitsivat mangaanisulfaattialtistuksen hidastavan hieman ruskuaisen kulutusta siika-alkioilla. Taimenella ja siialla kuoriutuminen ajoittuu eri suhteessa kehitysvaiheeseen. Suomessa siian poikaset kuoriutuvat pohjalla ja uivat valoa kohti vapaaseen veteen huhti-toukokuussa veden lämpötilan noustessa nopeasti (Urpanen ym. 2005). Siian poikaset käyttävät vararavintoa tasaisesti koko varhaiskehityksen ajan. Taimenalkiot sitä vastoin alkavat kuoriutua soran sisälle maaliskuussa, ja kuoriutuminen jatkuu 3–4 viikkoa (Syrjänen ym. 2008). Taimenella nopea kudosten kasvu ja ruskuaisen kulumisen ajoittuvat vasta kuoriutumisen jälkeiseen aikaan. Sorastanousu tapahtuu ruskuaispussin käytyä vähiin touko-kesäkuussa (Syrjänen ym. 2019). Siika siis hankkii ruskuaista kuluttamalla valmiuden nousta vapaaseen veteen taimenta aiemmin.

Taimenella alhaisen pH:n ei havaittu vaikuttaneen alkioiden kehitykseen, mutta siian alkioit olivat merkittävästi kookkaampia niillä kasvupaikoilla, joilla mitattiin matalimmat pH:t. Mitattu alhaisin pH ei laskenut liian alas häiritäkseen alkion varhaiskehitystä munan kuoren suojissa. Keinänen ym. (2003) esittävät siian lisääntymiselle edellytykseksi yli 5,5 pH:ta, mutta herkimpiä vaiheita alhaisen pH:n haitallisille vaikutuksille ovat hedelmöitys, munan kortikaalireaktio ja vastakuoriutunut poikanen. Hesthagen & Jonsson (1998) toteavat Norjassa elävän taimenpopulaatioita pH:ssa 4,9–5,5. Tutkimuksessa mitattujen pH-arvojen perusteella näyttäisi siltä, että kaivoksen jätevedet eivät happamoittaneet jokia luontaista ympäristöä enemmän. Matalimmat pH:t (3,9) mitattiin referenssipaikeilla Väli-, Jouten- ja Korentojoki, joissa happamuus aiheutuu mustaliuske-esiintymästä ja turvemaista (Loukola-Ruskeeniemi ym. 1998, Kekkonen ym. 2012). Tosin jätevesien voimakas kalkitseminen sekä Vuoksen että Oulujoen vesistöjen suuntiin on nostanut pH:ta kaivosvaikutuksen alaisissa koepaikoissa koejakson aikana (Jutila 2016). Kalkitseminen myös lisää veden kovuutta (Norrgrén & Degerman 1993), minkä on havaittu vähentävän metallien myrkyllisyyttä (Stubblefield ym. 1997). Lisäksi kalkitseminen voi aiheuttaa voimakkaita muutoksia veden laadussa ja vaihtelua pH:ssa (Norrgrén & Degerman 1993). Näin ollen pH:n todellista vaihtelua ja ääriarvoja tutkimusjakson aikana ei välttämättä saatu esiin tehdyillä pH-mittauksilla (n=4/joki).

Mädinhaudontakokeessa käytettiin taimenella Luonnonvarakeskuksen Kainuun kalantutkimusasemalla Paltamossa viljeltyä Oulujoen kannan mätiä. Kun verrataan alkioiden pituuksia, massoja ja ruskuaista Kiljusen (2003) tutkimustuloksiin Rautalammin reitin Laukaan toimipisteessä kasvatetulla kannalla, havaitaan suuria eroja. Huhtikuun alussa tämän haudontakokeen taimenalkiot olivat keskimäärin pituudeltaan 11,1–11,5 mm, kuivamassaltaan 1,5–1,7 mg ja ruskuaisen kuivamassaltaan 33,0–33,7 mg, kun Kiljusen (2003) tutkimuksessa vastaavat arvot samana ajankohtana olivat 13,5–21,0 mm, 3,7–11,0 mg ja 32,0–45,0 mg. Tämän perusteella näyttää siltä, että tässä tutkimuksessa käytetyt alkioit olivat jo alkujaan pienempiä ja kasvoivat hitaammin kuin Kiljusen (2003) kokeessa, jolloin myös ympäristötekijöistä aiheutuvien kehityserojen havaitseminen saattoi olla vaikeampaa. Näin ollen voidaan todeta myös, että eri tutkimustuloksia vertailtaessa on huomioitava käytetty kanta.

5.2. Kuolevuus

Mädinhaudontapaikka vaikutti taimenalkioiden hetkelliseen kuolevuuteen, kuitenkin siten, että referenssipaikeissa kuolevuus oli suuntaa antavasti suurempi kuin koepaikeissa. Sylinterien likaantuminen vähensi testattavaa aineistoa, joten tilastollinen varmuus jäi saavuttamatta. Siian kohdalla kuolevuudessa ei todettu eroja referenssi- ja koepaikkojen välillä. Tässä tutkimuksessa ei siis saatu näyttöä, että kaivostoiminta lisäisi alkioiden kuolevuutta. Myöskään Salmelin ym. (2017) eivät havainneet lyhytaikaisessa *in situ* -altistuskokeessa Talvivaaran jätevesillä vaikutusta selkärangattomien selviytymiseen Kallio-, Tuhka- ja Lumijoessa. Taimenen säilyvyys olivat yleisesti ottaen melko alhaisia (33–60 %) verrattuna Syrjäsen ym. (2008) hyvässä tai erinomaisessa vedenlaadussa toteutettuun tutkimukseen, jossa säilyvyys oli noin 90 %. Crisp (1993) toteaa, että ihanneolosuhteissa säilyvyys hedelmöityksestä sorastanousuun voi olla 90–100 %. Erityisesti taimenen referenssipaikan sekä korkean kaivosvaikutuksen koepaikkojen säilyvyys jäivät mataliksi vastaten kuitenkin muissa tutkimuksissa happamissa ja humuspitoisissa virtavesissä havaittuja huhtikuun säilyvyksiä (Syrjänen 2016). Planktonsiialla säilyvyys on arvioitu munien keruulla luonnosta 0–67 % ja havaittu *in situ* -haudontakokeella 42–100 % (Haakana & Huuskonen 2012). Näin ollen siian säilyvyys (59–64 %) tässä tutkimuksessa vastasivat aiemmin havaittua tasoa. Koalueen virtavesien pH:t ovat luontaisesti matalia, mutta kaivosvaikutuksen alaisten jokien kalkitseminen nosti pH:ta ja lisäsi veden kovuutta (Norrgren & Degerman 1993), mikä puolestaan saattoi vähentää metallien (Stubblefield ym. 1997) ja sulfaatin toksisuutta (Elphick ym. 2011). Taimenen kuolevuus oli siis kaiken kaikkiaan suurta esiintyen yhtä lailla kaikissa haudontapaikoissa ja aiheutuen todennäköisesti useista toisiinsa vaikuttaneista tekijöistä, joten kokeen voidaan ajatella näissä olosuhteissa kertovan enemmän alueen olojen sopivuudesta taimenen varhaiskehitykselle yleensä kuin antavan tietoa kaivostoiminnan suorista vaikutuksista.

Kaivostoiminnasta riippumaton sylinterien likaantuminen vaikutti molempien tutkimuslajien kuolevuuteen merkittävästi. Crisp (1993) toteaa, että säilyvyyden ja soran raakoostumuksen yhteyttä on vaikea määrittää johtuen muun muassa raekoon mittaamisen ja hienoaineksen määrittelyn vaihtelusta. Näytteenottojen yhteydessä tehdyllä havainnoinnilla ja siihen perustuneella luokittelulla likaisuuden vaikutus kuolevuuteen ei ollut täysin yksiselitteistä. Sylinterit jaettiin puhtaisiin ja likaisiin. Todennäköisesti kuolevuuteen kuitenkin vaikutti, oliko sylinteriin kertynyt hiekkaa ja/vai orgaanista ainesta sekä kertymän määrä kokonaisuudessaan. Ei varmasti tiedetä, onko likaantumisessa jokin tietty raja, jonka ylitys alkaa aiheuttaa tai lisätä kuolevuutta. Crisp (1993) esittää, että yli 10–15 %:n lisäys hienoaineksen määrässä saattaa johtaa huomattavasti alhaisempaan säilyvyyteen. Orgaaninen aines on tiivistä, kuluttaa happea (Crisp 1993) ja siihen takertuu helposti lisää materiaalia, kun hiekka sen sijaan on painavampaa, karkeampaa ja huokoisempaa. Liiallinen määrä silttiä voi laskeutua mätimunien pinnalle, ja vähentää niiden hapensaantia (Crisp 1993). Ei myöskään tiedetä, missä vaiheessa likaantuminen on tapahtunut, vai onko kiintoaines kertynyt sylintereihin vähitellen. Toisaalta likaantuminen voi peittää muista tekijöistä aiheutuvaa kuolevuutta. Tosin myös taimenen aidoissa kutupesissä hiekka ja savi täyttävät pesän rakosia ja vähentävät läpäisevyyttä, mikä voi heikentää poikasten selviytymistä (Jonsson & Jonsson 2011).

Eri kalalajeilla varhaisissa kehitysvaiheissa on havaittu metallien ja yhdisteiden aiheuttamaa kuolevuuden kasvua, mutta tutkimukset eivät välttämättä ole suoraan vertailukelpoisia johtuen muun muassa eroista altistuksen alkamisajankohdassa, kestossa ja veden kovuudessa. Haudontakokeessa sekä taimenen että siian mädit hedelmöitettiin kalanviljelylaitoksella, ja niiden altistus alkoi 1–2 vrk ikäisinä. Mädinhaudontakokeessa

koepaikoilla mitattiin keskimääräisiksi pitoisuuksiksi mangaanille 718 ja 1008 $\mu\text{g l}^{-1}$ (max 2889 ja 2390 $\mu\text{g l}^{-1}$), nikkeliä 19 ja 19 $\mu\text{g l}^{-1}$ (max 31 ja 46 $\mu\text{g l}^{-1}$), kuparille (7 ja 11 $\mu\text{g l}^{-1}$) (max 12 ja 11 $\mu\text{g l}^{-1}$) ja sulfaatile 172 ja 374 mg l^{-1} (max 484 ja 1047 mg l^{-1}). Muissa tutkimuksissa kuolevuutta aiheuttanut metallien pitoisuustaso on ollut korkeampi. Sen sijaan sulfaattipitoisuus ylitti tason, joka yhdessä mangaanin kanssa on aiheuttanut kuolevuutta. Kuoreen kertyvät haitalliset metallit ovat kationisessa muodossa, kun taas anioninen sulfaatti ei voi liittyä pintakalvoon, mutta se itsessään tiedetään toksiseksi vesieliöille (Elphick ym. 2011). Arola ym. (2017) tutkimuksessa heti hedelmöityksestä alkaneessa siika-alkioiden MnSO_4 -altistuksessa 3 vrk LC50 -arvoiksi saatiin mangaanille 11800–23700 $\mu\text{g l}^{-1}$ ja sulfaatile 30,2–60,9 mg l^{-1} . Brix ym. (2004) eivät havainneet vastahedelmöityksellä (< 4 h) kirjolohen alkioiden kroonisessa 28 vrk Ni-altistuksessa vaikutuksia kuolevuuteen korkeimmassa testatussa pitoisuudessa 466 $\mu\text{g l}^{-1}$. Stasiūnaitė (2005) määrittä kirjolohen alkioiden Cu-altistuksen alkaessa 24 h kuluttua hedelmöityksestä 96 h LC50-arvoksi 5660 $\mu\text{g l}^{-1}$. Verrattaessa mädinhautontakokeen koepaikkojen pitoisuuksia talousveden laatuvaatimukseen ja -suositukseen havaitaan, että mangaanipitoisuus oli selkeästi korkeampi kuin raja-arvo 50 $\mu\text{g l}^{-1}$, nikkelin keskimääräiset pitoisuudet alittivat 20 $\mu\text{g l}^{-1}$, kuparin pitoisuudet olivat huomattavasti alle 2000 $\mu\text{g l}^{-1}$ ja sulfaatin maksimipitoisuudet ylittivät merkittävästi 250 mg l^{-1} (Sosiaali- ja terveysministeriön asetus talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista 1352/2015). Tässä tutkimuksessa koe lopetettiin hyvissä ajoin ennen kuoriutumista. Jezierska ym. (2009) toteavat raskasmetallialtistuksen heikentävän alkiota, mikä näkyy korkeampana kuolevuutena energiaa kuluttavassa kuoriutumisvaiheessa. Happamassa, alumiinia (300 $\mu\text{g dm}^{-3}$) sisältävässä vedessä haudotuista puronierien alkioiden 50 % ei selviytynyt kuoriutumisen epäonnistuttua (Cleveland ym. 1986). Taimenalkioiden Cd-altistuskokeessa suurin osa kuolevuudesta ajoittui pian sorastaneen jälkeen (Brinkman & Hansen 2007).

5.3. Hautontakokeen käyttökelpoisuus arviointimenetelmänä

Mädinhautontakoetta sovellettiin onnistuneesti luonnonolosuhteissa ja osoitettiin, että menetelmää voidaan käyttää metallikaivoksen jätevesipäästöjen ympäristövaikutusten arvioinnissa. Hautoutumispaikkojen mikroympäristöt pystyttiin toteuttamaan siten, että ne vastasivat valtaosin taimenen ja siian luontaisia kutupaikkoja (Louhi ym. 2008, Haakana & Huuskonen 2012), joten tutkimuksen avulla saatiin tietoa koepaikkojen olosuhteiden soveltuvuudesta taimenen ja siian lisääntymiseen ja varhaiskehitykseen. Mädinhautontakoe summasi kumulatiivisesti pitkällä aikavälillä kaikkien eri ympäristötekijöiden ja niiden vaihtelun yhteisvaikutuksia. Syksystä kevääseen kestäneeseen altistuskokeeseen sisältyivät esimerkiksi lämpötilan, sadannan ja virtaaman kausivaihtelut, jotka vaikuttivat veden laatuun ja hautoutumisolosuhteisiin. Kokeen aikana virtaama nousi hieman marraskuussa laskien sen jälkeen talven tyypilliselle tasolle lähelle nolaa, kunnes mätisylinterit poistettiin ennen kevään virtaamahuippua (Anonyymi 2019). *In situ* -kokeessa käsittelyyn saatiin mukaan myös metallipitoisuuksien, happamuuden ja sulfaatin vallitsevat tasot ja ääriarvot sekä niiden yhteisvaikutukset muiden ympäristötekijöiden kanssa. Lisäksi tutkimuksessa saatiin summattua realistisesti eri vaikutusmekanismeja kuten lämpötilan kohoamisesta johtuva alkioiden lisääntynyt kasvu tai metallien mahdollisesti aiheuttama ioninvaihdon häiriintyminen. Tällaisten olosuhteiden ja vuorovaikutusten simulointi laboratoriossa on mahdotonta. Laboratoriotutkimuksiin verrattuna mädinhautontakoe ei juurikaan aiheuta ylläpitotyötä tai -kustannuksia.

Pitkäkestoisuus, muuttuvien ympäristötekijöiden suuri määrä ja niiden vaihtelevuus tuovat haasteita *in situ* -kokeisiin. Salmelin ym. (2017) esittävät vaativuuden aiheutuvan luonnon vesikemiasta ja kaivoksen vaihtelevista jätevesipäästöistä. Voi olla vaikeaa määrittää, johtuuko havaittu vaste yhdestä vai useammasta muuttujasta tai eri muuttujien yhteisvaikutuksesta. Käytettävissä olevat resurssit eivät yleensä mahdollista eri muuttujien jatkuvatoimisia mittauksia haudontapaikoilla, jolloin äkillisten muutosten merkitystä on vaikea erottaa keskimääräisesti vallinneiden olosuhteiden vaikutuksesta, tai poikkeamat saattavat jäädä kokonaan havaitsematta. Tämä voi jopa korostua, kun haudontakoetta käytetään metallikaivoksen jätevesipäästöjen vaikutuksen arvioimisessa. Menetelmässä ei ole käytännössä mahdollista hallita eri paikkojen erilaisia lämpöoloja kokeen aikana, mikä on pyrittävä huomioimaan kokeen suunnittelussa ja tilastollisissa analyysissä. Talvella sylinterien tai koko sylinterikorin jäätyminen on mahdollista (Arola 2019). Haudontakokeessa 2 siikasyylinterikoria ja yhteensä 10 siikasyylinteriä jäätivät rantapenkkaan. Tutkimuksen aikana sylintereihin kertyi hiekkaa ja orgaanista ainesta, mitä on tapahtunut muissakin vastaavissa haudontakokeissa (Syrjänen 2016, Sivonen ym. 2017, Arola 2019). Tässä työssä sylintereiden likaantuminen ei kuitenkaan noussut merkitseväksi tekijäksi alkioiden kehityksen kannalta. Mätisyylinterit ja korit altistuvat kausivaihtelusta aiheutuville veden virtaaman ja korkeuden muutoksille. Tämän takia tutkimuksessa osaa siian mätikoreista jouduttiin siirtämään syvemmälle ja haudontakoe oli lopetettava ennen kevättulvaa, joka olisi saattanut viedä koreja mennessään (Syrjänen 2016) tai estää niiden pois saamisen. Gauthey ym. (2015) toteavat taimenella mädin poishuuhtoutumisen olevan tärkeä mätimunien kuolevuutta aiheuttava yksittäinen tekijä. Virtavesissä vedenlaatu on yleensä heikoin keväällä (Syrjänen 2016). Kaivosvaikutuksen alaisten jokien vedenlaatuun vaikuttavat keväisin monet tekijät: juoksuettavien vesien määrä sekä niiden sisältämät metallit, sulfaatti ja muut epäpuhtaudet, pH, mahdollinen kalkitseminen, kiintoaines, humus, lämpötila ja jokien yläpuolisten järvien kevätkiertojen toteutuminen. Talvivaarassa kaivosalueelta juoksetetaan vettä eniten keväisin vesipäästötarkkailuraporttien (Jutila 2016, Marttila 2017, Marttila ym. 2018, Lampinen 2019) mukaan, ja esimerkiksi keväällä 2015 suurimmat juoksetukset ajoittuivat huhti-kesäkuulle (Jutila 2016), minkä vaikutukset jäivät mädinhaudontakokeen ulkopuolelle. Kiintoainesta olisi saattanut kertyä lisää sylintereihin tulvahuipun aikana, mikä olisi voinut heikentää alkioiden elinolosuhteita entisestään. Vaikka *in situ* -mädinhaudontakokeeseen saadaan suurin osa varhaiskehityksestä mukaan, niin alkion selviytymisen kannalta kriittisten hedelmöityksen ja kuoriutumisen sisällyttäminen kokeeseen on kuitenkin haastavaa ellei mahdotonta tai vaatisi ainakin toisenlaisen haudontavälineistön ja paikan päällä tapahtuvan hedelmöityksen.

Mädinhaudontakokeen käyttö tutkimusmenetelmänä on vähitellen kehittynyt ja käytännöt ovat yhtenäistyneet eri tutkimuksissa (Syrjänen ym. 2008, Syrjänen 2016, Sivonen ym. 2017, Arola 2019) saatujen kokemusten pohjalta. Haudontakoetta voisi edelleen kehittää vakioiduksi ja jopa standardoiduksi menetelmäksi virtavesien tilan seurantaan, ja toisaalta virtavesikutuisten kalojen lisääntymisedellytysten arviointiin. Käytettävissä olevat resurssit sanelevat suuresti tutkimuksen ja mädinhaudontakokeen laajuuden. Erityisen suositeltavaa on panostaa kokeen etukäteissuunnitteluun. Ideaalitulanteessa koalueen veden lämpötiloja ja tarkkoja mätikorien sijoituspaikkoja voisi kartoittaa jo edellisenä vuonna. Kustannustehokkainta olisi, jos kohde ja koetta toteuttava taho sijaitsisivat mahdollisimman lähellä toisiaan, mikä mahdollistaisi myös tutkimuksen tiiviin ja helpon seurannan. Tällöin myös kevättulvaan pystyisi reagoimaan tarvittaessa nopeasti, ja alkiot voisivat olla tutkimuspaikoilla mahdollisimman pitkään, mikä saattaisi antaa arvokasta lisätietoa kehityksestä. Kokeen suunnittelussa tulisi arvioida kriittisesti mahdolliset ongelmakohdat ja päättää, millä tarkkuudella esimerkiksi hiekan ja orgaanisen aineksen määrä arvioidaan tai kuolleet, klimppiytyneet tai hajonneet mätimunat lasketaan.

Rajatapauksissa alkioiden eläviksi tai kuolleiksi toteamiseen saattaisi mikroskoopin käyttö olla perusteltua. Myös epämuodostumien havainnointi alkioista voisi antaa lisätietoa varhaiskehityksen häiriöistä, vaikkakin tämä vaatisi erityisosaamista. Kohteissa, joissa vesi on savisameaa tai voimakkaasti humuspitoista, voi mätisyliinterikorien havaitseminen olla vaikeaa. Tähän saattaisi auttaa esimerkiksi valkoiseksi maalattu kivi korin päällä. *In situ* -kokeita ylipäätään on toteutettu maailmanlaajuisesti vähän kaloilla. Menetelmää voisi sovellettuna käyttää maissa, joissa veden lämpötilan vuodenaikaiserot eivät ole yhtä suuria kuin Suomessa eivätkä aiheuta muun muassa jäätä. *In situ* -tutkimus jättää mitä huolellisimmastakin suunnittelusta huolimatta esimerkiksi vuosittaisvaihtelusta aiheutuvia epävarmuustekijöitä, jotka saattavat vesittää koko hankkeen. Ratkaisuna voisi olla puolikenttäkoe, joka toteutettaisiin soveltaen Luckenbach ym. (2001) tutkimusta. Haudontakoe tehtäisiin luonnossa siten, että osa muuttujista, kuten lämpötila, vakioitaisiin koepaikkojen välillä olosuhteiden tasaamiseksi.

KIITOKSET

Haluan kiittää ohjaajiani, Hanna Arolaa, joka oli suurena tukena kokeellisessa osuudessa ja myöhemmin jaksoi kysellä kuulumisiani ollen aina käytettävissä ja tehden kaikkensa graduni etenemiseksi sekä Juha Karjalaista, joka jaksoi kärsivällisesti selittää monimutkaisiakin ilmiöitä ja oli aina valmiina auttamaan. Kiitokset tärkeästä tuesta ja kannustuksesta myös Janne Hannulalle. Lisäksi lämpimät kiitokset Jukka Syrjäselle, Anna Karjalaiselle sekä tekniselle ja laboratorion henkilökunnalle, erityisesti Mervi Koistiselle.

KIRJALLISUUS

- Anonyymi 2017. Kalaistutukset. Luonnonvarakeskus. <https://www.luke.fi/tietoa-luonnonvaroista/kalat-ja-kalatalous/kalaistutukset/>. Hakupäivä 20.7.2017.
- Anonyymi 2019. Vesistöjen virtaama. Suomen ympäristökeskus. <http://www.i3.ymparisto.fi/i3/paasivu/FIN/2015/Virtaama/Virtaama.htm>. Hakupäivä 17.9.2019.
- Armstrong J.D., Kemp P.S., Kennedy G.J.A., Ladle M. & Milner N.J. 2003. Habitat requirements of Atlantic salmon and brown trout in rivers and streams. *Fish. Res.* 62: 143–170.
- Arola H. 2019. Taimenen mädin säilyvyys ja alkioiden kasvu Savijoen kipsinlevitysalueella. *Jyväskylän yliopiston bio- ja ympäristötieteiden laitoksen tiedonantoja* 1/2019: 1–29.
- Arola H.E., Karjalainen A.K., Syrjänen J.T., Hannula M., Väisänen A. & Karjalainen J. 2019. Assessment of Fish Embryo Survival and Growth by In Situ Incubation in Acidic Boreal Streams Undergoing Biomining Effluents. *Environmental Contamination and Toxicology* 76: 51–65.
- Arola H.E., Karjalainen J., Vehniäinen E.-R., Väisänen A., Kukkonen V.K. & Karjalainen A.K. 2017. Tolerance of whitefish (*Coregonus lavaretus*) early life stages to manganese sulfate is affected by the parents. *Environ. Toxicol. Chem.* 36: 1343–1353.
- Balon E.K. 1985. *Early life histories of fishes: New developmental, ecological and evolutionary perspectives*. Dr W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Brinkman S.F. & Hansen D.L. 2007. Toxicity of cadmium to early life stages of brown trout (*Salmo trutta*) at multiple water hardnesses. *Environ. Toxicol. Chem.* 26: 1666–1671.
- Brix K.V., Keithly J., DeForest D.K. & Laughlin J. 2004. Acute and chronic toxicity of nickel to rainbow trout. *Environ. Toxicol. Chem.* 23: 2221–2228.
- Chapman D.W. 1988. Critical Review of Variables Used to Define Effects of Fines in Redds of Large Salmonids. *Trans. Am. Fish. Soc.* 117: 1–21.

- Cingi S., Keinänen M. & Vuorinen P.J. 2010. Elevated water temperature impairs fertilization and embryonic development of whitefish *Coregonus lavaretus*. *J. Fish Biol.* 76: 502–521.
- Cleveland L., Little E.E., Hamilton S.J., Buckler D. & Hunn J.B. 1986. Interactive Toxicity of Aluminum and Acidity to Early Life Stages of Brook Trout. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115: 610–620.
- Crisp D.T. 1993. The environmental requirements of salmon and trout in fresh water. *Freshw. Forum* 3: 176–202.
- Crisp D.T. 1996. Environmental requirements of common riverine European salmonid fish species in fresh water with particular reference to physical and chemical aspects. *Hydrobiologia* 323: 201–221.
- Crisp D.T. & Carling A. 1989. Observations on siting, dimensions and structure of salmonid redds. *J. Fish Biol.* 34: 119–134.
- Elliott J.M. 1994. *Quantitative Ecology and the Brown Trout*. Oxford University Press, Oxford.
- Eloranta A. & Syrjänen J. 2006. Mädin istutusmenetelmät virtavesien hoidossa. *Suomen Kalastuslehti* 113: 14–17.
- Elphick J.R., Davies M., Gilron G., Canaria E.C., Lo B. & Bailey H.C. 2011. An aquatic toxicological evaluation of sulfate: the case for considering hardness as a modifying factor in setting water quality guidelines. *Environ. Toxicol. Chem.* 30: 247–253.
- Erickson R.J., Benoit D.A., Mattson V.R., Nelson H.P. & Leonard E.N. 1996. The effects of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnows. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 181–193.
- Forseth T., Larsson S., Jensen A.J., Jonsson B., Näslund I. & Berglund I. 2009. Thermal growth performance of juvenile brown trout *Salmo trutta*: no support for thermal adaptation hypotheses. *J. Fish Biol.* 74: 133–149.
- Gauthey Z., Lang M., Elozegi A., Tentelier C., Rives J. & Labonne J. 2015. Brown trout spawning habitat selection and its effects on egg survival. *Ecol. Freshw. Fish* 26: 133–140.
- Gortázar J., Garcia de Jalón D., Alonso-González C., Vizcaino P., Baeza D. & Marchamalo M. 2007. Spawning period of a southern brown trout population in a highly unpredictable stream. *Ecol. Freshw. Fish* 16: 515–527.
- Haakana H. & Huuskonen H. 2008. Raportti Suomen Biologian Seura Vanamo ry:n v. 2008 myöntämän matka-apurahan käytöstä – Koitajoen planktonsiikakannan nykytila ja uhkatekijät. http://www.vanamo.fi/raportit/08_Haakana_Helena.pdf. Hakupäivä 26.7.2017.
- Haakana H. & Huuskonen H. 2012. The endangered whitefish (*Coregonus lavaretus pallasi*) population in the Koitajoki River, eastern Finland: the present state and threats. *Adv. Limnol.* 63: 519–533.
- Hesthagen T. & Jonsson B. 1998. The relative abundance of brown trout in acidic softwater lakes in relation to water quality in tributary streams. *J. Fish Biol.* 52: 419–429.
- Hutchinson T.H., Solbé J. & Kloepper-Sams P.J. 1998. Analysis of the ecetoc aquatic toxicity (eat) database III – Comparative toxicity of chemical substances to different life stages of aquatic organisms. *Chemosphere* 36: 129–142.
- Huusko A., Vainikka A., Syrjänen J.T., Orell P., Louhi P. & Vehanen T. 2017. Life-History of the Adfluvial Brown Trout (*Salmo trutta* L.) in Eastern Fennoscandia. Teoksessa: Lobón-Cervia J. & Sanz N. (toim.), *Brown Trout: Biology, Ecology and Management*. Wiley, Oxford, 267–295.
- Huuskonen H., Shikano T., Mehtälö L., Kettunen J., Eronen R., Toiviainen A. & Kekäläinen J. 2017. Anthropogenic environmental changes induce introgression in sympatric whitefish ecotypes. *Biol. J. Linn. Soc.* 121: 613–626.

- Janatuinen A. & Vainio S. 2014. Mäti-istuttajan opas. Lohikalojen istuttaminen Whitlock-Vibert -mätirasioissa – kokemuksia ja ohjeita. Virtavesien hoitoyhdistys.
- Jeziarska B., Lugowska K. & Witeska M. 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). *Fish Physiol. Biochem.* 35: 625–640.
- Johnson D.B. 2013. Development and application of biotechnologies in the metal mining industry. *Environ. Sci. Pollut. R.* 20: 7768–7776.
- Jonsson B. & Jonsson N. 2011. *Ecology of Atlantic Salmon and Brown Trout – Habitat as a Template for Life Histories*. Springer, London.
- Jutila T. 2016. *TerraFamen kaivoksen tarkkailu vuonna 2015, osa III: vesipäästöjen tarkkailu*. TerraFame Oy.
- Kahilainen K.K., Malinen T., Tuomaala A., Alajärvi E., Tolonen A. & Lehtonen H. 2007. *Biol. J. Linn. Soc.* 92: 561–572.
- Kallio-Nyberg I. & Koljonen M.-L. 1988. A stock registry for Finnish whitefish. *Finnish Fish. Res.* 9: 49–60.
- Kamler E. 2002. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Rev. Fish Biol. Fish.* 12: 79–103.
- Karjalainen J., Keskinen T., Pulkkanen M. & Marjomäki T.J. 2015. Climate change alters the egg development dynamics in cold-water adapted coregonids. *Environ. Biol. Fish.* 98: 979–991.
- Kauppi S., Mannio J., Hellsten S., Nystén T., Jouttijärvi T., Huttunen M., Ekholm P., Tuominen S., Porvari P., Karjalainen A., Sara-Aho T., Saukkoriipi J. & Maunula M. 2013. Arvio Talvivaaran kaivoksen kipsisakka-altaan vuoden haitoista ja riskeistä vesiympäristölle. *Suomen ympäristökeskuksen raportteja* 11/2013: 1–90.
- Kauppila P., Räisänen M.L. & Myllyoja S. 2011. Metallimalmikaivostoiminnan parhaat ympäristökäytännöt. *Suomen ympäristö* 29/2011: 1–213.
- Kazlauskienė N. & Stasiūnaitė P. 1999. The Lethal and Sublethal Effect of Heavy Metal Mixture on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in its Early Stages of Development. *Acta Zool. Lituanica* 9: 47–55.
- Keinänen M., Tigerstedt C., Kålx P. & Vuorinen P.J. 2003. Fertilization and embryonic development of whitefish (*Coregonus lavaretus lavaretus*) in acidic low-ionic-strength water with aluminum. *Ecotox. Environ. Safe.* 55: 314–329.
- Kekkonen J., Laksio A., Lehtinen K., Taipale T., Kettunen R., Sassi-Päkkilä P., Karjalainen J., Hosiokangas J., Ojala T., Virolainen M., Eerikäinen H., Sopanen S., Nurminen M., Kautto K., Tammivuori R., Lepola A., Kukkonen R., Kautto M., Herkkola H., Vyhtinen K., Hilla V.-M., Ruokonen E., Väänänen A.-M., Sirviö V., Hämäläinen A., Palmu L., Tuoma J., Pekkala P., Tyni A., Hyppölä T. & Voutilainen J. 2012. *Kaivoksen laajennuksen ympäristövaikutusohjelma*. Talvivaaran Kaivososakeyhtiö Oyj.
- Kiljunen M. 2003. Kosken yläpuolisen järven vaikutus taimenen (*Salmo trutta* L.) alkion kehitykseen ja energiankäyttöön. Pro gradu -tutkielma. Bio- ja ympäristötieteiden laitos, Jyväskylän yliopisto. 40s.
- Killeen J., McLay H.A. & I.A. Johnston. 1999. Development in *Salmo trutta* at different temperatures, with a quantitative scoring method for intraspecific comparisons. *J. Fish Biol.* 55: 382–404.
- Klemetsen A., Amundsen P.-A., Dempson J.B., Jonsson B., Jonsson N., O’Connell M.F. & Mortensen E. 2003. Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects of their life histories. *Ecol. Freshw. Fish* 12: 1–59.
- Koli L. 1998. *Suomen kalat*. WSOY, Porvoo.

- Koli L. 2005. *Otavan kalakirja*. Kustannusosakeyhtiö Otava, Helsinki.
- Korhonen P. 2013. Taimenet evakkoon Talvivaarasta. *Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen asiakaslehti Apaja* 2/2013.
- Korsu K. & Huusko A. 2010. Are environmental conditions in Finnish streams limiting to early life-history survival in the nonnative rainbow trout? *Fish Sci.* 76: 901–907.
- Lampinen E. 2019. *Terrafamen kaivoksen tarkkailu vuonna 2018, osa III: vesipäästöjen tarkkailu*. Terrafame Oy.
- Lehtonen H. 2003. *Iso kalakirja – Ahvenesta vimpaan*. WSOY, Porvoo.
- Lehtonen H. & Nyberg K. 2016. *Suomen kalojen tunnistusopas*. Kalatalouden Keskusliitto, Helsinki.
- Leppänen J.J., Weckström J. & Korhola A. 2017. Multiple mining impacts induce widespread changes in ecosystem dynamics in a boreal lake. *Nature* 7: 1–11.
- Lim M.Y.-T., Manzon R.G., Somers C.M., Boreham D.R. & Wilson J.Y. 2017. The effects of fluctuating temperature regimes on the embryonic development of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Comp. Biochem. Physiol.* 214: 19–29.
- Louhi P. & Mäki-Petäys A. 2003. Elämää soraikon ulkopuolella ja sisällä – lohen ja taimenen kutupaikan valinta sekä mädin elinympäristövaatimukset. *Kalatatutkimuksia* 191: 1–23.
- Louhi P., Mäki-Petäys A. & Erkinaro J. 2008. Spawning Habitat of Atlantic Salmon and Brown Trout: General Criteria and Intragravel Factors. *River Res. Appl.* 24: 330–339.
- Loukola-Ruskeeniemi K. & Heino T. 1996. Geochemistry and Genesis of the Black Shale-Hosted Ni-Cu-Zn Deposit at Talvivaara, Finland. *Econ. Geol.* 91: 80–110.
- Loukola-Ruskeeniemi K., Uutela A., Tenhola M. & Paukola T. 1998. Environmental impact of metalliferous black shales at Talvivaara in Finland, with indication of lake acidification 9000 years ago. *J. Geochem. Explor.* 64: 395–407.
- Luckenbach T., Triebskorn R., Müller E. & Oberemm A. 2001. Toxicity of waters from two streams to early life stages of brown trout (*Salmo trutta* f. *fario* L.), tested under semi-field conditions. *Chemosphere* 45: 571–579.
- Luczynski M. & Kolman R. 1987. Hatching of *Coregonus albula* and *C. lavaretus* embryos at different stages of development. *Environ. Biol. Fish.* 19: 309–315.
- Marttila T. 2017. *Terrafamen kaivoksen tarkkailu vuonna 2016, osa III: vesipäästöjen tarkkailu*. Terrafame Oy.
- Marttila T., Haaranen P. & Jokiniemi A. 2018 *Terrafamen kaivoksen tarkkailu vuonna 2017, osa III: vesipäästöjen tarkkailu*. Terrafame Oy.
- Marttila T. & Hakala A. 2016. *Terrafamen kaivoksen tarkkailu vuonna 2015, osa V: Pintavesien laatu*. Terrafame Oy.
- Meinelt T., Playle R.C., Pietrock M., Burnison B.K., Wienke A. & Steinberg C.E.W. 2001. Interaction of cadmium toxicity in embryos and larvae of zebrafish (*Danio rerio*) with calcium and humic substances. *Aquat. Toxicol.* 54: 205–215.
- Meng H.J. & Müller R. 1988. Assessment of the functioning of a whitefish (*Coregonus* sp.) and char (*Salvelinus alpinus* L.) spawning ground modified by gravel extraction. *Finnish Fish. Res.* 9: 477–484.
- Mäki-Petäys A., Erkinaro J., Huusko A. & Muotka T. 2002. Transferability of habitat suitability criteria of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Limnol. Oceanogr.* 10: 88–95.

- Mäkilä M., Loukola-Ruskeeniemi K. & Säävuori H. 2012. *High pre-mining metal concentrations and conductivity in peat around the Talvivaara nickel deposit, eastern Finland*. Geologian tutkimuskeskus, Tutkimusraportti 196, 36 s.
- Norrgrén L. & Degerman E. 1993. Effects of Different Water Qualities on the Early Development of Atlantic Salmon and Brown Trout Exposed *in situ*. *Ambio* 22: 213–218.
- Ojanguren A.F. & Braña F. 2003. Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. *J. Fish Biol.* 62: 580–590.
- Ollakka H., Ruuska J. & Taskila S. 2016. The application of principal component analysis for bioheapleaching process – Case study: Talvivaara mine. *Miner. Eng.* 95: 48–58.
- Peltonen H. 2015. *Osa VII: Talvivaaran kaivoksen kalataloudellinen tarkkailu vuonna 2014*. Talvivaara Sotkamo Oy:n konkurssipesä.
- Peltonen H., Roikonen T. & Lintinen O. 2016. *Osa VII: Terrafamen kaivoksen kalataloudellinen tarkkailu vuonna 2015*. Terrafame Oy.
- Pyle G.G., Swanson S.M. & Lehmkuhl D.M. 2002. The influence of water hardness, pH, and suspended solids on nickel toxicity to larval fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Water Air Soil Poll.* 133: 215–226.
- Rawlings D.E., Dew D. & du Plessis C. 2003. Biomineralization of metal-containing ores and concentrates. *Trends Biotechnol.* 21: 38–44.
- Ricker W.E. 1975. *Computation and Interpretation of Biological Statistics of Fish Populations*. Department of the Environment Fisheries and Marine Service, Ottawa.
- Riekkola-Vanhanen M. 2013. Talvivaara mining company – From a project to a mine. *Miner. Eng.* 48: 2–9.
- Salmelin J.S., Leppänen M.T., Karjalainen A.K., Vuori K.-M., Gerhardt A. & Hämäläinen H. 2017. Assessing ecotoxicity of biomining effluents in stream ecosystems by *in situ* invertebrate bioassays: a case study in Talvivaara, Finland. *Environ. Toxicol. Chem.* 36: 147–155.
- Salojärvi K. 1982. Spawning ecology, larval food supplies and causes of larval mortality in the whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). *Pol. Arch. Hydrobiol.* 29: 159–178.
- Schier A.F. 2007. The Maternal-Zygotic Transition: Death and Birth of RNAs. *Science* 316: 406–407.
- Siikavuopio S.I., Knudsen R., Amundsen P.A., Saether B.S. & James P. 2013. Effects of high temperature on the growth of European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). *Aquac. Res.* 44: 8–12.
- Sivonen K., Syrjänen J., Kivinen J. & Sivonen O. 2017. Taimenen mädin ja poikasten säilyvyys sekä kasvu haudontakokeessa Äänekosken Kapeenkosken ja Laukaan Kuusaankosken vesistöissä talvella 2016–2017. *Osuuskunta kala- ja vesistötutkimus Vesi-Visio, tutkimukset ja selvitykset 2/2017*: 1–16.
- Sivonen O. 2015. Kutupesän ominaisuudet sekä mätimunien isotooppikoostumus kutuneiden taimenten (*Salmo trutta*) koon ja vaellusten arvioinnin työkaluna. Pro gradu -tutkielma. Bio- ja ympäristötieteiden laitos, Jyväskylän yliopisto. 31s.
- Sopanen S. 2016. *Osa VI: Terrafamen kaivoksen piilevätarkkailu vuonna 2015*. Terrafame Oy.
- Sosiaali- ja terveysministeriön asetus talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista 1352/2015. Annettu Helsingissä 17.11.2015.
- Stasiūnaitė P. 2005. Toxicity of Copper to Embryonic Development of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Zool. Lituanica* 15: 259–265.

- Stouthart A.J.H.X., Spanings F.A.T., Lock R.A.C. & Wendelaar Bonga S.E. 1994. Effects of low water pH on lead toxicity to early life stages of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquat. Toxicol.* 30: 137–151.
- Stouthart X.J.H.X., Haans J.L.M. Lock R.A.C. & Wendelaar Bonga S.E. 1996. Effects of water pH on copper toxicity to early life stages of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 376–383.
- Stubblefield W.A., Brinkman S.F., Davies P.H., Garrison T.D., Hockett J.R. & McIntyre M.W. 1997. Effects of water hardness on the toxicity of manganese to developing brown trout (*Salmo trutta*). *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 2082–2089.
- Syrjänen J. 2016. Taimenen mädin säilyvyys haudontakokeessa Jyväskylän Tourujoen vesistöissä talvella 2015–2016. *Konneveden kalatutkimus ry:n työraportteja 2/2016*: 1–14.
- Syrjänen J., Hannula M., Mäenpää T., Mäkinen C. & Sivonen K. 2019. Taimenen kutujakson ja sorastanousujakson ajankohta Suomessa syksyllä 2017 ja keväällä 2018.
- Syrjänen J.T., Kiljunen M., Karjalainen J., Eloranta A. & Muotka T. 2008. Survival and growth of brown trout *Salmo trutta* L. embryos and the timing of hatching and emergence in two boreal lake outlet streams. *J. Fish Biol.* 72: 985–1000.
- Syrjänen J.T., Ruokonen T.J., Ketola T. & Valkeajärvi P. 2015. The relationship between stocking eggs in boreal spawning rivers and the abundance of brown trout parr. *ICES J. Mar. Sci.*
- Syrjänen J.T., Vainikka A., Louhi P., Huusko A., Orell P. & Vehanen T. 2017. History, Conservation and Management of Adfluvial Brown Trout Stocks in Finland. Teoksessa: Lobón-Cervía J. & Sanz N. (toim.), *Brown Trout: Biology, Ecology and Management*. Wiley, Oxford, 697–733.
- Säisä M., Rönn J., Aho T., Björklund M., Pasanen P. & Koljonen M.-L. 2008. Genetic differentiation among European whitefish ecotypes based on microsatellite data. *Hereditas* 145: 69–83.
- Taskila E. 2014. *Talvivaaran kaivoksen tarkkailu v. 2013, osa IVc Kalataloustarkkailu*. Talvivaara Oy.
- Taskila E. 2016. *Sotkamon ja Hyrynsalmen reittien kalataloustarkkailu, yhteenvetoraportti vuosilta 2011–2015*. Fortum Power and Heat Oy.
- Thisse C. & Zon L.I. 2002. Organogenesis – Heart and Blood Formation from the Zebrafish Point of View. *Science* 295: 457–462.
- Urho L., Koljonen M.-L., Saura A., Savikko A., Veneranta L. & Janatuinen A. 2019. Kalat. Teoksessa: Hyvärinen E., Juslén A., Kemppainen E., Uddström A. & Liukko U.-M. (toim.), *Suomen lajien uhanalaisuus – Punainen kirja 2019*. Ympäristöministeriö & Suomen ympäristökeskus, Helsinki, 549–555.
- Urpanen O., Huuskonen H., Marjomäki T.J. & Karjalainen J. 2005. Growth and size-selective mortality of vendace (*Coregonus albula* (L.)) and whitefish (*C. lavaretus* L.) larvae. *Boreal Environ. Res.* 10: 225–238.
- Uutela A., Loukola-Ruskeeniemi K., Tenhola M. & Paukola T. 1996. Mustaliuskeiden vaikutus vesistöihin Sotkamon Talvivaarassa. *Vuoriteollisuus* 54: 49–53.
- Ventling-Schwank A.R. & Livingstone D.M. 1994. Transport and burial as a cause of whitefish (*Coregonus* sp.) egg mortality in a eutrophic lake. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 1908–1919.
- Vesilaki 2011/587. Annettu Helsingissä 27.5.2011.
- Wang N., Dorman R.A., Ingersoll C.G., Hardesty D.K., Brumbaugh W.G., Hammer E.J., Bauer C.R. & Mount D.R. 2016. Acute and chronic toxicity of sodium sulfate to four freshwater organisms in water-only exposures. *Environ. Toxicol. Chem.* 35: 115–127.

- Watling H.R. 2008. The bioleaching of nickel-copper sulfides. *Hydrometallurgy* 91: 70–88.
- Weis J.S. 2014. Delayed Behavioral Effects of Early Life Toxicant Exposures in Aquatic Biota. *Toxics* 2: 165–187.
- Witeska M., Jezierska B. & Chaber J. 1995. The influence of cadmium on common carp embryos and larvae. *Aquaculture* 129: 129–132.
- Witzel L.D. & Macrimmon H.R. 1983. Redd-Site Selection by Brook Trout and Brown Trout in Southwestern Ontario Streams. *Trans. Am. Fish. Soc.* 112: 760–771.
- Zuromska H. 1982. Conditions of natural reproduction of *Coregonus albula* (L.) and *Coregonus lavaretus* (L.). *Pol. Arch. Hydrobiol.* 29: 1–28.

Liite 1. Happipitoisuuden, pH:n, johtokyvyn ja DOC:n keskiarvot \pm SE sekä suluissa niiden min- ja max-arvot referenssipaikoilla ja Oulujoen ja Vuoksen valuma-alueiden koepaikoilla. Kustakin paikasta on 4 mittauslukua ottamatta Rutajokea, josta happipitoisuudet mitattiin 3 kertaa (Arola ym. 2019).

	O ₂ (mg l ⁻¹)	pH	Johtokyky (μ S cm ⁻¹)	DOC (mg l ⁻¹)
Referenssipaiikat				
Väljijoki	11,7 \pm 0,5 (10,3–12,8)	4,7 \pm 0,3 (3,9–5,4)	22,8 \pm 1,4 (20,3–26,4)	20,4 \pm 2,5 (15,1–26,0)
Joutenjoki	12,6 \pm 0,5 (11,2–13,3)	4,7 \pm 0,3 (3,9–5,1)	23,0 \pm 1,1 (20,9–25,9)	19,2 \pm 2,6 (14,1–25,2)
Korentojoki	12,1 \pm 0,2 (11,7–12,5)	4,8 \pm 0,4 (3,9–5,7)	27,7 \pm 1,2 (25,5–30,7)	19,3 \pm 2,0 (13,9–22,7)
Tervajoki	13,2 \pm 0,4 (12,0–13,8)	5,4 \pm 0,3 (4,7–5,9)	32,2 \pm 2,2 (26,7–37,1)	16,0 \pm 2,1 (12,8–22,0)
Varisjoki	13,1 \pm 0,5 (11,8–14,1)	6,0 \pm 0,1 (5,7–6,3)	26,6 \pm 0,6 (25,6–28,2)	10,0 \pm 1,1 (7,9–12,1)
Rutajoki	13,3 \pm 0,2 (13,1–13,7)	7,0 \pm 0,3 (6,1–7,7)	35,2 \pm 5,6 (18,6–43,0)	10,8 \pm 0,4 (9,8–11,7)
Oulujoen paikat				
Salmisenpuro	13,5 \pm 0,5 (12,1–14,2)	5,1 \pm 0,4 (4,4–5,7)	432,1 \pm 156,5 (102,3–846,1)	17,2 \pm 2,8 (12,5–24,8)
Kalliojoki	13,4 \pm 0,4 (12,4–14,0)	5,2 \pm 0,5 (4,1–6,2)	481,2 \pm 177,1 (198,3–997,0)	17,1 \pm 2,1 (11,2–20,9)
Jormasjoki	12,8 \pm 0,5 (11,4–13,7)	5,7 \pm 0,2 (5,4–6,0)	249,4 \pm 10,4 (229,1–274,0)	8,9 \pm 0,8 (7,1–10,3)
Vuoksen paikat				
Ylä-Lumijoki	13,8 \pm 0,4 (13,0–14,5)	5,7 \pm 0,5 (4,3–6,8)	870,2 \pm 436,6 (68,4–1828,0)	15,9 \pm 3,8 (7,4–25,5)
Lumijoki	12,9 \pm 0,6 (11,2–13,9)	6,0 \pm 0,3 (5,7–6,8)	631,9 \pm 305,0 (68,2–1346,0)	17,7 \pm 3,6 (8,8–26,4)
Kivijoki	11,1 \pm 0,7 (9,1–12,3)	6,0 \pm 0,2 (5,5–6,2)	629,8 \pm 125,1 (368,2–970,0)	15,2 \pm 1,4 (11,1–17,7)

Liite 2. Järvitaimenen ja siian haudontakokeessa Kainuun alueella sekä Joutsassa Rutajoella 2014–2015 käytettyjen 24 munakorin yläpuolisten mikroympäristöjen ominaisuudet. Raekoko=yleisimmät raekokoluokat uoman pohjassa 40 cm halkaisijalla korista, Syvyys=veden syvyys (cm), vaihteluväli mittauspisteissä korin yläpuolella, Vnp=virran nopeus pohjassa (cm s⁻¹), vaihteluväli mittauspisteissä korin yläpuolella, X=lokakuu 2014, XI=marraskuu, XII=joulukuu 2014, II=maaliskuu, IV=huhtikuu 2015, Jää=korissa jäätä. Korit luokitellaan, K=kaivosvaikutuksen alaiset joet, R=referenssijoet. Jää luokitellaan, Ei=korissa ei jäätä, Kyllä=jäätä korissa, mutta ei sylintereissä, Umpi=sylinterit ja munat jäätyneet, uudelleensijoitus luokitellaan, Kyllä=korin sijaintia joessa muutettu joulukuussa, Ei=alkuperäinen sijainti (Arola ym. 2019).

Joki	Raekoko	Syvyys X	Syvyys XI	Syvyys XII	Syvyys III	Syvyys IV	Vnp X	Vnp XI	Vnp XII	Vnp III	Vnp IV	Jää	Uudelleen- sijoitettu	
Järvitaimen														
Ylä-Lumijoki	K	7, 6, 8	8–10	44–46	-	34–45	19–22	14–26	23–76	-	1–19	5–45	Ei	Ei
Lumijoki	K	6, 7, 5	11–12	-	-	11–15	18–21	8–32	-	-	2–41	4–49	Ei	Ei
Kivijoki	K	6, 2, 7	16–19	59–61	-	9–16	18–19	7–23	5–11	-	10–45	33–47	Ei	Ei
Salmisenpuro	K	7, 6, 8	13–16	34–35	11–15	12–14	17–19	13–32	23–42	2–34	1–17	15–39	Ei	Ei
Kalliojoki	K	6, 7	14–20	-	21–24	18–21	29–32	8–26	-	1–17	0–5	4–14	Ei	Ei
Jormasjoki	K	5, 7, 4	28–30	70–73	52–58	38–40	40–45	4–25	14–36	2–21	3–25	9–39	Ei	Ei
Joutenjoki	R	6, 7, 5	10–12	-	15–19	10–13	15–16	23–39	-	1–7	0–5	3–7	Ei	Ei
Väljoki	R	6, 7, 8	12–16	-	-	17–21	18–20	7–22	-	-	0–1	1–6	Ei	Ei
Korentojoki	R	6, 5, 4	18	44–47	13–15	19–20	24–29	11–30	51–73	*	0–8	5–40	Ei	Ei
Tervajoki	R	6, 7	20–24	-	35–37	40–43	41–44	12–16	-	3–10	2–13	0–14	Ei	Ei
Varisjoki	R	6, 7, 5	20–22	-	38	16–22	22–28	4–19	-	5–38	1–41	1–28	Ei	Ei

Rutajoki	R	-	-	-	4-50	40-41	-	-	-	11-45	-	-	Ei	Ei
Siika														
Ylä-Lumijoki	K	-	-	49-55	-	37-47	28-32	-	31-46	-	6-17	0-4	Ei	Ei
Lumijoki	K	-	-	30-44	-	8-10	***	-	15-29	-	0	***	Kyllä	Ei
Kivijoki	K	-	-	48-51	-	0-3	3-8	-	7-23	-	0-36	1-39	Ei	Ei
Salmisenpuro	K	-	-	39-42	17-20	15-17	20-23	-	8-16	0-5	0-1	1-4	Ei	Ei
Kalliojoki	K	-	-	48-52	7-10/ 25-33	34-38	32-40	-	2-14	0/0-4	0	0-1	Ei	Kyllä
Jormasjoki	K	-	-	59-63	37-43	26-32	25-33	-	3-7	2-4	0-1	0-2	Ei	Ei
Joutenjoki	R	-	-	31-35	**/ 11-28	15-17	19-22	-	1-3	**/0-1	0-1	0-1	Ei	Kyllä
Väljoki	R	-	-	40-42	-	8-9	****	-	10-32	-	0	****	Umpi	Ei
Korentojoki	R	-	-	40-43	-	15-18	19-22	-	0-3	-	0	0-1	Umpi	Ei
Tervajoki	R	-	-	47-50	12-20/ 23-30	37-39	33-37	-	11-41	0-16/ 10-28	0	0-2	Ei	Kyllä
Varisjoki	R	-	-	50-54	15-18/ 31-34	12-14	20-22	-	1-11	0/0-1	0	0	Ei	Kyllä
Rutajoki	R	-	-	-	38-40	28-30	-	-	-	4-22	-	-	Ei	Ei

*Mittari jäässä

**Kori juuri ja juuri vedenpinnan alla, mutta mittauksia ei voitu tehdä

***Kori jäänyt rantapenkkaan ja poistettu maaliskuun näytteenotossa

****Kori jäänyt rantapenkkaan, ei mittauksia

Liite 3. Keskimääräiset alkuainepitoisuudet \pm SE ja suluissa niiden min- ja max-arvot referenssipaikeilla sekä Oulujoen ja Vuoksen koepaikeilla, n näytettä LOQ:n (kvantifointiraja) yläpuolella kun RSD (suhteellinen keskihajonta) < 10 %. Kalsium, K, Mg, Na, S ja SO₄ ovat mg l⁻¹ ja kaikki muut $\mu\text{g l}^{-1}$. LOQ kullekin alkuaineelle on esitetty sen lyhenteen alapuolella (Arola ym. 2019).

Paikkaryhmä	Referenssi	Oulujoki	Vuoksi
Yhteensä n näytettä	24	12	12
Al 6,0	152,4 \pm 15,1 24 (37,8–330,4)	253,9 \pm 66,6 12 (43,2–901,7)	175,1 \pm 34,3 12 (35,5–421,2)
As 8,2	< LOQ	< LOQ	41,1 \pm 5,2 2 (35,8–46,3)
Ca 16,0	2,6 \pm 0,1 24 (1,5–3,9)	26,9 \pm 6,5 12 (5,9–87,5)	89,6 \pm 25,6 12 (5,3–261,5)
Cd 0,8	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Co 1,6	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Cr 1,5	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Cu 2,7	8,8 \pm 2,0 10 (3,4–26,1)	6,9 \pm 1,4 5 (3,9–11,9)	11,3 1
Fe 0,5	970,3 \pm 88,8 24 (238,0–1725,4)	941,6 \pm 163,6 12 (83,6–1604,3)	841,2 \pm 91,9 12 (428,2–1436,3)
K 56,0	1,2 \pm 0,4 6 (0,4–2,6)	1,5 \pm 0,4 11 (0,2–5,1)	2,8 \pm 0,5 9 (0,4–5,0)
Mg 18,0	1,0 \pm 0,1 24 (0,6–1,6)	7,4 \pm 1,2 12 (2,7–16,4)	18,9 \pm 4,4 12 (2,2–53,1)
Mn 0,6	62,9 \pm 7,5 17 (17,3–103,4)	717,8 \pm 227,7 12 (88,3–2888,8)	1008,2 \pm 166,2 12 (239,5–2389,5)
Na 30,0	1,3 \pm 0,1 24 (0,3–3,2)	41,1 \pm 9,9 12 (8,3–110,1)	47,3 \pm 11,5 12 (2,5–114,9)

Ni 2,1	6,6 ± 1,1 6 (3,1–8,7)	18,7 ± 2,6 10 (7,8–31,4)	19,4 ± 3,8 9 (7,3–46,2)
P 16,0	212,4 ± 41,4 2 (171,1–253,8)	483,4 1	473,6 1
Pb 6,0	< LOQ	< LOQ	< LOQ
S 26,0	1,0 ± 0,1 24 (0,6–1,7)	57,3 ± 12,8 12 (11,7–161,6)	125,0 ± 33,4 12 (6,6–349,6)
SO ₄ [*]	3,0 ± 0,2 24 (1,8–5,0)	171,7 ± 38,4 12 (35,0–484,1)	374,4 ± 100,2 12 (19,8–1047,4)
Sr 0,6	16,3 ± 1,0 24 (11,3–28,0)	54,0 ± 9,4 12 (21,5–130,7)	118,4 ± 28,7 12 (19,4–326,5)
U 7,8	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Zn 0,5	55,8 ± 7,9 18 (4,8–162,5)	45,1 ± 11,2 12 (2,7–136,3)	44,2 ± 10,3 12 (1,3–136,4)

*Laskettu S:stä

Liite 4. Keskimääräiset alkuainepitoisuudet \pm SE ja suluissa niiden min- ja max-arvot kaivosvaikutuksen alaisissa koepaikoissa, n näytettä LOQ:n (kvantifointiraja) yläpuolella kun RSD (suhteellinen keskihajonta) < 10 %. Analysoitujen näytteiden kokonaismäärä n jokaiselta paikalta oli 4. Kalsium, K, Mg, Na, S ja SO₄ on annettu mg l⁻¹ ja kaikki muut μ g l⁻¹. Alkuaineiden LOQ:t (μ g l⁻¹) on esitetty niiden lyhenteiden alapuolella (Arola ym. 2019).

	Oulujoen paikat			Vuoksen paikat		
	Salmisenpuro	Kalliojoki	Jormasjoki	Ylä-Lumijoki	Lumijoki	Kivijoki
Al 6,0	447,5 \pm 152,7 4 (264,0–901,7)	237,8 \pm 48,0 4 (129,4–332,3)	76,6 \pm 12,2 4 (43,2–96,6)	207,4 \pm 63,2 4 (61,3–358,1)	206,1 \pm 77,9 4 (49,5–221,8)	112,0 \pm 29,3 4 (35,5–172,2)
As 8,2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	41,1 \pm 5,2 2 (35,8–46,3)
Ca 16,0	24,3 \pm 9,9 4 (5,9–52,3)	38,9 \pm 17,0 4 (15,0–87,5)	17,6 \pm 0,5 4 (16,4–18,7)	125,9 \pm 66,7 4 (5,3–261,5)	81,8 \pm 42,9 4 (6,4–185,6)	60,9 \pm 12,6 4 (35,5–95,7)
Cd 0,8	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Co 1,6	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Cr 1,5	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Cu 2,7	5,5 \pm 1,5 2 (3,9–7,0)	8,7 \pm 3,3 2 (5,4–11,9)	6,4 1	< LOQ	11,3 1	< LOQ
Fe 0,5	1309,4 \pm 57,9 4 (1197,3–1424,4)	1312,4 \pm 123,2 4 (1010,1–1604,3)	202,9 \pm 55,3 4 (83,6–306,2)	827 \pm 183,4 4 (428,2–1261,8)	988,4 \pm 198,3 4 (470,1–1436,3)	708,2 \pm 82,4 4 (495,1–874,6)
K 56,0	1,2 \pm 0,5 4 (0,4–2,6)	2,4 \pm 1,0 4 (0,6–5,1)	0,8 \pm 0,3 3 (0,2–1,0)	3,2 \pm 1,4 3 (0,4–5,0)	3,3 \pm 0,7 3 (2,0–4,2)	1,9 \pm 0,2 3 (1,6–2,2)
Mg 18,0	8,0 \pm 2,3 4 (2,7–12,7)	8,0 \pm 2,9 4 (3,1–16,4)	6,3 \pm 0,2 4 (5,9–6,9)	22,8 \pm 12,0 4 (2,2–53,1)	14,3 \pm 5,8 4 (3,4–25,7)	19,6 \pm 4,6 4 (10,2–32,3)
Mn 0,6	1341,7 \pm 535,6 4 (477,6–2888,8)	677,9 \pm 198,3 4 (346,8–1203,3)	133,7 \pm 15,2 4 (88,3–153,0)	533,1 \pm 163,4 4 (239,5–829,4)	970,2 \pm 142,6 4 (755,9–1363,4)	1521,4 \pm 305,6 4 (980,8–2389,5)
Na 30,0	51,9 \pm 21,4 4 (8,3–110,1)	50,4 \pm 20,2 4 (17,0–109,3)	21,2 \pm 1,1 4 (18,9–23,7)	58,5 \pm 29,4 4 (2,5–114,9)	39,5 \pm 20,7 4 (2,7–93,7)	43,9 \pm 9,7 4 (24,7–70,7)
Ni 2,1	20,2 \pm 5,5 3 (13,5–31,1)	26,0 \pm 3,2 3 (20,4–31,4)	12,1 \pm 1,7 4 (7,8–15,0)	16,8 \pm 5,9 3 (7,3–27,6)	27,5 \pm 9,4 3 (17,3–46,2)	14,0 \pm 0,8 3 (12,5–15,2)

P 16,0	< LOQ	483,4 1	< LOQ	< LOQ	473,6 1	< LOQ
Pb 6,0	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
S 26,0	63,8 ± 25,2 4 (11,7–130,9)	73,3 ± 30,1 4 (27,5–161,6)	34,9 ± 1,7 4 (31,9–39,2)	166,7 ± 88,1 4 (6,6–349,6)	107,1 ± 55,8 4 (6,9–240,7)	101,2 ± 23,5 4 (54,0–166,2)
SO ₄ *	191,0 ± 75,4 4 (35,0–392,2)	219,5 ± 90,2 4 (82,3–484,1)	104,5 ± 5,1 4 (95,5–117,3)	499,4 ± 263,9 4 (19,8–1047,4)	320,9 ± 167,3 4 (20,8–721,1)	303,0 ± 70,5 4 (161,7–497,9)
Sr 0,6	58,1 ± 18,6 4 (21,5–110,0)	65,6 ± 22,3 4 (31,6–130,7)	38,4 ± 0,6 4 (36,9–40,0)	158,5 ± 76,0 4 (21,0–326,5)	106,3 ± 46,3 4 (19,4–208,9)	90,4 ± 16,3 4 (57,4–135,3)
U 7,8	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Zn 0,5	21,8 ± 6,9 4 (2,7–35,4)	55,7 ± 29,2 4 (3,6–136,3)	57,7 ± 14,6 4 (15,9–83,8)	38,9 ± 13,1 4 (2,7–64,6)	59,5 ± 27,3 4 (9,7–136,4)	34,1 ± 11,2 4 (1,3–50,9)

*Laskettu S:stä

Liite 5. Veden keskimääräiset alkuainepitoisuudet \pm SE ja suluissa niiden min- ja max-arvot referenssipaiikoissa, n näytettä LOQ:n (kvantifiointiraja) yläpuolella kun RSD (suhteellinen keskihajonta) < 10 %. Analysoitujen näytteiden kokonaislukumäärä n kussakin paikassa oli 4. Kalsium, K, Mg, Na, S ja SO₄ on mg l⁻¹ ja kaikki muut µg l⁻¹. Alkuaineiden LOQ:t (µg l⁻¹) on esitetty niiden lyhenteiden alapuolella (Arola ym. 2019).

	Referenssipaiikat					
	Välijoki	Joutenjoki	Korentojoki	Tervajoki	Varisjoki	Rutajoki
Al 6,0	198,5 \pm 26,3 4 (148,2–257,5)	185,3 \pm 26,8 4 (135,6–240,9)	176,0 \pm 24,7 4 (112,1–221,8)	202,1 \pm 46,2 4 (116,2–330,4)	66,1 \pm 12,0 4 (37,8–86,7)	86,1 \pm 10,7 4 (65,9–113,0)
As 8,2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Ca 16,0	1,9 \pm 0,2 4 (1,5–2,2)	1,7 \pm 0,1 4 (1,5–2,1)	2,8 \pm 0,3 4 (2,0–3,3)	3,0 \pm 0,1 4 (2,6–3,2)	2,8 \pm 0,1 4 (2,6–3,0)	3,7 \pm 0,1 4 (3,5–3,9)
Cd 0,8	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Co 1,6	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Cr 1,5	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Cu 2,7	13,8 \pm 6,3 3 (5,4–26,1)	8,1 \pm 1,2 2 (6,8–9,3)	4,3 \pm 0,9 2 (3,4–5,2)	7,8 \pm 0,8 2 (7,0–8,5)	6,1 1	< LOQ
Fe 0,5	1284,5 \pm 132,3 4 (1020,0–1649,8)	1323,6 \pm 138,9 4 (1088,9–1725,4)	1184,8 \pm 95,4 4 (909,0–1315,4)	1185,9 \pm 29,7 4 (1145,9–1273,9)	519,2 \pm 44,7 4 (415,3–603,9)	323,8 \pm 34,9 4 (238,0–386,1)
K 56,0	< LOQ	1,9 1	0,5 1	1,8 \pm 0,7 2 (1,1–2,6)	0,4 1	0,5 1
Mg 18,0	0,8 \pm 0,1 4 (0,6–1,0)	0,8 \pm 0,1 4 (0,6–1,0)	1,0 \pm 0,1 4 (0,8–1,2)	1,5 \pm 0,1 4 (1,3–1,6)	1,0 \pm 0,0 4 (1,0–1,1)	0,9 \pm 0,0 4 (0,9–1,0)
Mn 0,6	84,0 \pm 11,0 2 (73,0–95,0)	82,4 \pm 20,8 3 (40,7–103,4)	69,5 \pm 11,3 3 (57,9–92,2)	79,1 \pm 10,4 4 (58,7–97,4)	32,7 \pm 3,4 2 (29,3–36,1)	21,5 \pm 2,2 3 (17,3–24,2)
Na 30,0	1,1 \pm 0,2 4 (0,5–1,4)	1,0 \pm 0,3 4 (0,3–1,5)	1,1 \pm 0,2 4 (0,5–1,5)	1,3 \pm 0,2 4 (0,7–1,8)	1,2 \pm 0,1 4 (1,0–1,4)	2,4 \pm 0,3 4 (2,0–3,2)
Ni 2,1	8,7 1	8,5 \pm 0,2 2 (8,3–8,7)	< LOQ	7,3 1	3,2 \pm 0,1 2 (3,1–3,3)	< LOQ

P 16,0	< LOQ	253,8 1	< LOQ	171,1 1	< LOQ	< LOQ
Pb 6,0	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
S 26,0	0,7 ± 0,1 4 (0,7–0,9)	0,8 ± 0,0 4 (0,7–0,8)	1,1 ± 0,1 4 (0,9–1,4)	1,2 ± 0,1 4 (1,0–1,4)	0,7 ± 0,0 4 (0,6–0,8)	1,5 ± 0,1 4 (1,4–1,7)
SO ₄ *	2,2 ± 0,2 4 (2,0–2,8)	2,3 ± 0,1 4 (2,2–2,5)	3,4 ± 0,3 4 (2,8–4,2)	3,7 ± 0,3 4 (3,0–4,3)	2,0 ± 0,1 4 (1,8–2,3)	4,5 ± 0,2 4 (4,3–5,0)
Sr 0,6	12,5 ± 0,6 4 (11,3–14,0)	12,4 ± 0,5 4 (11,6–13,8)	15,7 ± 1,0 4 (12,8–17,4)	18,5 ± 0,9 4 (16,6–20,9)	13,5 ± 0,6 4 (12,3–14,5)	24,9 ± 1,1 4 (23,1–28,0)
U 7,8	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Zn 0,5	38,0 ± 4,8 3 (32,7–47,6)	48,8 ± 9,4 3 (32,3–64,8)	37,6 ± 3,6 3 (30,9–43,4)	34,2 ± 14,7 3 (4,8–50,4)	75,4 ± 9,6 3 (56,7–88,4)	100,9 ± 31,4 3 (59,5–162,5)

*Laskettu S:stä

