

Pro gradu -tutkielma

**Ilmastonmuutoksen vaikutukset siikakalojen
varhaiskehitykseen: Kokeellinen tutkimus
Konneveden muikulla**

Mikko Mäkinen



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Akvaattiset tieteet

25.04.2020

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta
Bio- ja ympäristötieteiden laitos
Akvaattiset tieteet

Mikko Mäkinen: Ilmastonmuutoksen vaikutukset siikakalojen
varhaiskehitykseen: Kokeellinen tutkimus Konneveden
muikulla.
Pro gradu -tutkielma: 24 s., 6 liitettä
Työn ohjaajat: Prof. Juha Karjalainen
Tarkastajat: Dos. Timo J. Marjomäki, prof. Juha Karjalainen
Huhtikuu 2020

Hakusanat: *Coregonus albula*, vanhempien vaikutus, vakiolämpötila

Ilmastonmuutoksen aikaansaama lämpötilan nousu asettaa haasteita pohjoisille lajeille. Syyskutuisten kalojen lisääntymiskierto on vaikuttavasti viivästyvä talven tulot ja aikaistuvat kevät jäiden lähtöineen. Tässä tutkimuksessa testattiin kokeellisesti lämpötilan ja emokalojen vaikutusta muikun (*Coregonus albula*) alkion kasvuun (pituus, paino ja ruskuaisen määrä), kuoriutumisaikaan ja säilyvyyteen. Kokeessa muodostettiin kolme hedelmöitysr ryhmää, joissa kussakin kolmen naaraan mätimunia hedelmöitettiin ristiin neljään koiraan maidilla yksilöllisesti. Haudonta tapahtui neljässä eri koelämpötilassa (8,0 °C; 6,9 °C; 4,0 °C ja 2,2 °C). Hedelmöitysr ryhmien tilastollisten analyysien tulokset yhdistettiin Fisherin menetelmää käyttäen. Lämpötila ja emokalot, sekä naaras että koira, vaikuttivat merkitsevästi alkion kasvuun, kuoriutumisaikaan ja säilyvyyteen. Keskimäärin alhaisinta säilyvyys oli 8,0 °C käsittelyssä. Poikaset saavuttivat 50 % kuoriutumisen 8,0 °C käsittelyssä 97 vuorokauden jälkeen, kun 4,0 °C käsittelyssä siihen kului 179 vuorokautta. Perheiden (yhden naaraan ja koiraan alkiot) välistä vaihtelua havaittiin säilyvydessä, kuoriutumisaikassa, poikasen pituudessa, ruskuaisen määrässä ja poikasen kuivapainossa. Vaihtelu eri ominaisuuksien välillä kuvastaa muikun hyvää sopeutuvuutta ja joustavuutta yksilö- ja populaatiotasolla pohjoisiin vaihteleviin oloihin.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Mathematics and Science

Department of Biological and Environmental Science

Aquatic sciences

Mikko Mäkinen: Effects of climate change to early development of coregonids: An experimental study on Lake Konnevesi vendace stock.

MSc thesis: 24 p., 6 appendices

Supervisors: Prof. Juha Karjalainen

Inspectors: Dos. Timo J. Marjomäki, prof. Juha Karjalainen

April 2020

Keywords: constant temperature, *Coregonus albula*, parental effect

The rise of temperature caused by the climate change challenges the cold-adapted fishes in the northern regions. Late winters and early spring ice-outs affect the reproduction cycle of the autumn spawning fishes. In this experimental study, we examined the effects of temperature and parental effects on the growth (length, weight and yolk volume), hatching time and survival of vendace (*Coregonus albula*) embryos. The experiment contained three fertilization groups which consisted three females and four males which were cross fertilized individually. Incubation took place at four different experimental temperatures (8,0 °C; 6,9 °C; 4,0 °C and 2,2 °C). Statistical results from different fertilization groups were combined utilizing Fishers method. Temperature and parents, both female and male, had statistically significant effect on growth, hatching time and survival of the embryos. On average lowest survival was recorded in 8,0 °C. The larvae attained 50 % hatch in 8,0 °C after 97 days post fertilization, when in 4,0 °C in was 179 days. The variation was recorded between families (embryos of one female and male) in survival, hatching time, larvae length, yolk volume and dry weight. This variation in different properties illustrates good adaptability and flexibility in the reproduction of vendace on individual and population level.

SISÄLLYS

1 JOHDANTO	1
2 AINEISTO JA MENETELMÄT	3
2.1 Emokalot.....	3
2.2 Veden laatu	3
2.3 Risteytyskoe	4
2.4 Poikasmittaukset	8
2.5 Tilastolliset menetelmät	8
3 TULOKSET	9
3.1 Kuoriutuminen	9
3.2 Säilyvyys.....	11
3.3 Poikasen pituus, ruskuaisen tilavuus ja kuivapaino	13
4 TULOSTEN TARKASTELU	19
4.1 Kehittymisaika ja säilyvyys	19
4.2 Poikasten ominaisuudet	22
4.3 Yhteenveto.....	23
KIITOKSET	24
KIRJALLISUUS	25
LIITTEET	28
Liite 1 Päiväkertymän GLM-taulu	28
Liite 2 Säilyvyyden GLM-taulu.....	29
Liite 3 Poikasen pituuden GLM-taulu.....	30
Liite 4 Ruskuaisen tilavuuden GLM-taulu	31
Liite 5 Poikasen kuivapainon GLM-taulu	32
Liite 6 Päiväasteet ja kertyneiden päivien lukumäärä	33

1 JOHDANTO

Maapallolla tapahtuvalla ilmastonmuutoksella tulee olemaan toteutuvasta ennusteesta riippuen vaikutuksia niin terrestrisiin kuin akvaattisiin ekosysteemeihin. Tuoreimman IPCC:n arviointiraportin (IPCC 2014) ja erikoisraportin (IPCC 2018) mukaan vuotuinen keskilämpötila nousee suurella todennäköisyydellä 1,5–2 °C:lla kuluvan vuosisadan puoliväliin mennessä. Lämpötila ei kuitenkaan nouse tasaisesti, vaan vaikutus korostuu siirryttäessä päiväntasaajalta napojen suuntaa. Mallien mukaan kesäkuukausien keskilämpötilat nousevat voimakkaimmin keskileveysasteilla (23°–66°), missä kasvu olisi ennusteiden mukaan noin 3 °C luokkaa. Puolestaan talvikuukausien ennustettu muutos tulee olemaan voimakkainta pohjoisilla leveysasteilla (>66°), missä lämpötila voi kohota jopa 4,5 °C tavanomaisesta. Ennustettu muutos asettaakin sopeutumispaineita pohjoisten alueiden ekosysteemeille.

Lämpötilalla on merkittävä rooli vaihtolämpöisten kalojen kannalta, sillä muutokset ympäröivässä lämpötilassa vaikuttavat suoraan niiden aineenvaihdunnan tasoon. Kaloja esiintyy hyvin erilaisissa olosuhteissa, mitkä määrittävät niiden elämän kulkua. Lämpötilan suhteen kaloilla on lajista riippuen omat sietoalueensa, joiden puitteissa kala selviää yhtäjaksoisesti. Vesi luo kuitenkin kaloille tasaiset olosuhteet suojaten niitä äkkinäisiltä muutoksilta ja tasoittaen lämpötilan vaihteluita, varsinkin isommissa järvissä ja merissä. Toisaalta tämä tekee yleensä kapeaan lämpötilansietoalueeseen sopeutuneista kaloista haavoittuvaisia pitkäkestoisille ja kokonaisvaltaisille ympäristön lämpötilan muutoksille (Blaxter 1992). Herkimmillään ympäristön vaikutuksille kala on alkio- ja poikasvaiheessa. Aiemmat tutkimukset ovat osoittaneet lämpötilan vaikuttavan suoraan alkion kehitysnopeuteen, kuoriutumisen ajankohtaan, kuoriutuneen poikasen kokoon ja ruskuaisen kulutukseen (Brooke 1975, Brooke ja Colby 1980, Laurence ja Howell

1981, Luczynski ja Kirklewska 1984, Blaxter 1992, Kamler 1992). Poikkeamat sietoalueesta alkiokehityksen aikana johtavat epänormaaliin kehittymiseen, viivästyneeseen tai ennenaikaiseen kuoriutumiseen sekä kohonneeseen kuolleisuuteen hedelmöityksen ja kuoriutumisen yhteydessä (Avakul ja Jutagate 2015, Kupren ym. 2008, Thépot ja Jerry 2015). Lämpötilan noustessa sietoalueen sisällä alkionkehitys kiihtyy ja lämpötilan laskiessa se hidastuu. Kylmiin oloihin sopeutuneilla lajeilla kylmän jakson aikainen kehitys pysähtyy lähes kokonaan ja käynnistyy jälleen ympäristön lämmentyessä.

Emokaloilla on vaikutusta poikasen kehityksen ja säilyvyyden kannalta. Vanhempien on havaittu vaikuttavan alkiovaiheen kuolleisuuteen, kuoriutuneen poikasen kokoon, kasvunopeuteen ja käytettävissä olevan ruskuaisen määrään (Wedekind ym. 2001, Wedekind ja Müller 2004, Karjalainen ym. 2015). Naaraan on uskottu vaikuttavan poikasen ominaisuuksiin enemmän kuin koiraan, johtuen sen mätimunien tuotantoon käyttämästä energiasta (Viljanen ja Koho 1991, Kamler 2005).

Siikakalat kuuluvat lohikalojen lahkoon ja sen edustajia esiintyy pääasiassa pohjoisen pallonpuoliskon vesistöissä. Tämä tutkimus oli osa suurempaa kokonaisuutta, jonka tarkoituksena oli vertailla siikakalakantojen eroja Euroopan ja Pohjois-Amerikan välillä. Euroopan osalta mukana olivat Suomesta Konneveden muikku (*Coregonus albula*) sekä siika (*C. lavaretus*) ja Keski-Euroopasta Boden-, Bourget- ja Genevenjärven siika. Pohjois-Amerikassa tutkimus suoritettiin Ontario- ja Yläjärven amerikanmuikulla (*C. artedi*). Samaa koeasetelmaa käytettiin jokaisen lajin ja populaation kohdalla. Tässä työssä kuitenkin keskitytään tarkastelemaan muikun alkiokehitystä eri vakiolämpötiloissa ja emokalojen vaikutusta ilmiöön. Muikkua tavataan Suomessa maan pohjoisosia myöten, missä ne ovat levinneisyysalueensa äärirajoilla (Smith 1957, Salonen 1999). Muikku on siian tavoin syyskutuinen laji, joka kutee myöhään syksyllä vesien viilentyessä, ennen jäiden muodostumista. Poikasten kuoriutuminen puolestaan tapahtuu keväällä jäiden lähdön aikoihin (Chernyaev 2007, Karjalainen ym. 2015). Ennusteet

ilmastonmuutoksen aikaansaamasta lämpötilan kohoamisesta toteutuessaan johtaa tulevaisuudessa lyhyisiin talviin sekä jääpeitteisen ajan keston. Tämä muutos asettaa haasteita varsinkin kaloille, joiden kehityskaareen kylmä jakso kuuluu luontaisena osana (Chernyaev 2007, Cingi ym. 2010, Karjalainen ym. 2015).

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1 Emokalat

Kokeessa käytetyt kalat oli pyydystetty Etelä-Konnevedestä nuotalla paikallisen kalastajan toimesta lokakuun aikana ennen kudun alkamista. Kalat säilytettiin Konneveden tutkimusasemalla kalankasvatukseen tarkoitettussa altaassa. Altaaseen tuleva vesi otettiin suoraan järvestä, joten lämpötila vastasi sen hetkistä järven lämpötilaa. Kokeet aloitettiin, kun havaittiin altaan pohjalle kertyneen mätimunua, mistä voitiin päätellä kalojen olevan valmiita kutuun.

2.2 Veden laatu

Kokeessa käytettiin OECD:n ISO 6341:2012-standardin mukaan valmistettua keinotekoista makeaa vettä. Vettä käytettiin hedelmöityksessä, ja sitä lisättiin aluksi kuoppalevyille mihin mätimunat sijoitettiin. Myöhemmin haihdunnan korvaamiseksi levyihin lisättiin ultrapuhdasta vettä väkevöitymisen ehkäisemiseksi. Valmistetusta vedestä ja kuoppalevyistä kerätystä vesinäytteestä määritettiin pH sekä joukko kemiallisia ominaisuuksia (Taulukko 1). Vertailuksi tutkimusaseman kalankasvatushalliin tulevasta vedestä suoritettiin vastaavat määritykset. Konneveden pH katsottiin Syken Hertta-tietokannasta.

Taulukko 1. Konneveden vedestä sekä keinotekoisesta makeasta vedestä määritetyt alkuainepitoisuudet ja pH.

Pitoisuudet mg l ⁻¹	pH	Ca	K	Mg	Na	S	Cl
Konneveden vesi	7,1	2,92	1,11	1,15	2,28	1,46	4,04
ISO 6341 vesi	7,9	78,29	2,98	12,02	19,17	16,14	151,43
Kuoppalevyistä kerätty (16.5.)	8,1	108,01	3,74	17,26	27,37	22,31	221,99

2.3 Risteytyskoe

Parinmuodostus toteutettiin jakamalla kokeessa käytettävät kalat kolmeen hedelmöitysr ryhmään. Yksi ryhmä käsitti kolme naarasta ja neljä koirasta. Jokaisen naaraan mätimunat hedelmöitettiin erikseen jokaisen koiraan maidilla (Kuva 1). Hedelmöitystä varten kalat haavittiin säilytysaltaasta pienempään säiliöön ja eroteltiin edelleen naaraisiin ja koiraisiin. Hedelmöitykset toteutettiin ryhmä kerrallaan sukusolujen säilyvyyden varmistamiseksi. Naaraiden mäti kerättiin valmiiksi 50 ml koeputkiin ja säilytettiin 4 °C lämpötilassa. Naaraan munista annosteltiin noin 200 kappaletta jokaista ryhmän koirasta kohden omille petrimaljoilleen. Tämän jälkeen valittiin satunnaisesti koiras ja testattiin, onko sen maiti juoksevaa, puristamalla kevyesti vatsaa.

Koiraasta lypettyä maitia pipetoitiin petrimaljalla olevien yhden naaraan mätimunien päälle noin 10 µl. Maidin lisäämisen jälkeen maljoihin lisättiin keinotekoista makeaa vettä sukusolujen aktivoimiseksi ja sekoitettiin maljaa kevyesti pyörittämällä noin minuutin ajan. Maljan vesi vaihdettiin 2-3 kertaa kunnes se oli kirkasta. Kaikki maljat siirrettiin vuorokauden ajaksi 4,5 °C koehuoneeseen, jotta mätimunat kovettuvat. Emokaloista mitattiin ennen sukusolujen keräämistä pituus ja tuoremassa sekä somaattinen massa sukusolujen keräämisen jälkeen (Taulukko 2).

Vuorokauden kuluttua jokaisesta perheestä otettiin 10 munaa, joista määritettiin mikroskoopilla hedelmöityksen onnistuminen. Perheellä tässä tarkoitetaan yhden naaraan ja koiraan sukusoluista hedelmöitettyjä alkioita. Mikäli hedelmöittyneiden

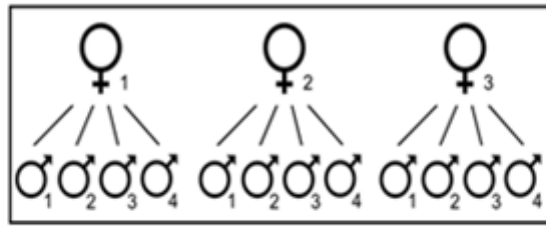
munien määrä oli alhainen (< 30 %), poistettiin naaras koeasetelmasta. Hedelmöittymisen tarkistuksen jälkeen mätimunat siirrettiin pasteur-pipetillä 24-kaivoiselle kuoppalevyille perheittäin, siten että jokaisesta perheestä tuli 36 mätimunaa jaettuna kolmelle eri levyille jokaiseen koelämpötilaan (Kuva 1). Ennen mätimunien lisäämistä jokaiseen kaivoon lisättiin 2 ml keinotekoista makeaa vettä ja annettiin lämpötilan tasaantua vuorokauden oikeassa koelämpötilassa. Levyt laitettiin naaraskohtaisesti tarjottimille. Koehuoneina toimivat Konneveden tutkimusaseman maaperähuoneet, jotka oli asetettu neljään koelämpötilaan. Koehuoneiden keskilämpötilat kokeen aikana olivat 8,0 °C (SD = 0,6); 6,9 °C (SD = 0,5); 4,0 °C (SD = 0,7) ja 2,2 °C (SD = 1,5).

Huoneiden lämpötilaa ohjasi huoneiden ulkopuolelta säädettävä termostaatti. Huoneisiin asennettiin lisäksi tuulettimet kierrättämään sisäilmaa ja häivyttämään mahdollisia lämpötilaeroja. Tarjottimet sijoitettiin koehuoneissa hyllyille, jotka peitettiin muoviverhoilla lämpötilan tasaamiseksi. Koehuoneisiin asennettiin ilmanlämpötilaa mittaavat loggerit sekä ylimääräinen kuoppalevy vedenlämpötilan seurantaan varten. Haudonta tapahtui pimeässä lukuun ottamatta lyhyitä huoltojaksoja, jolloin laskettiin kuolleet mätimunat ja lisättiin tarvittaessa vettä sekä mitattiin veden happipitoisuutta.

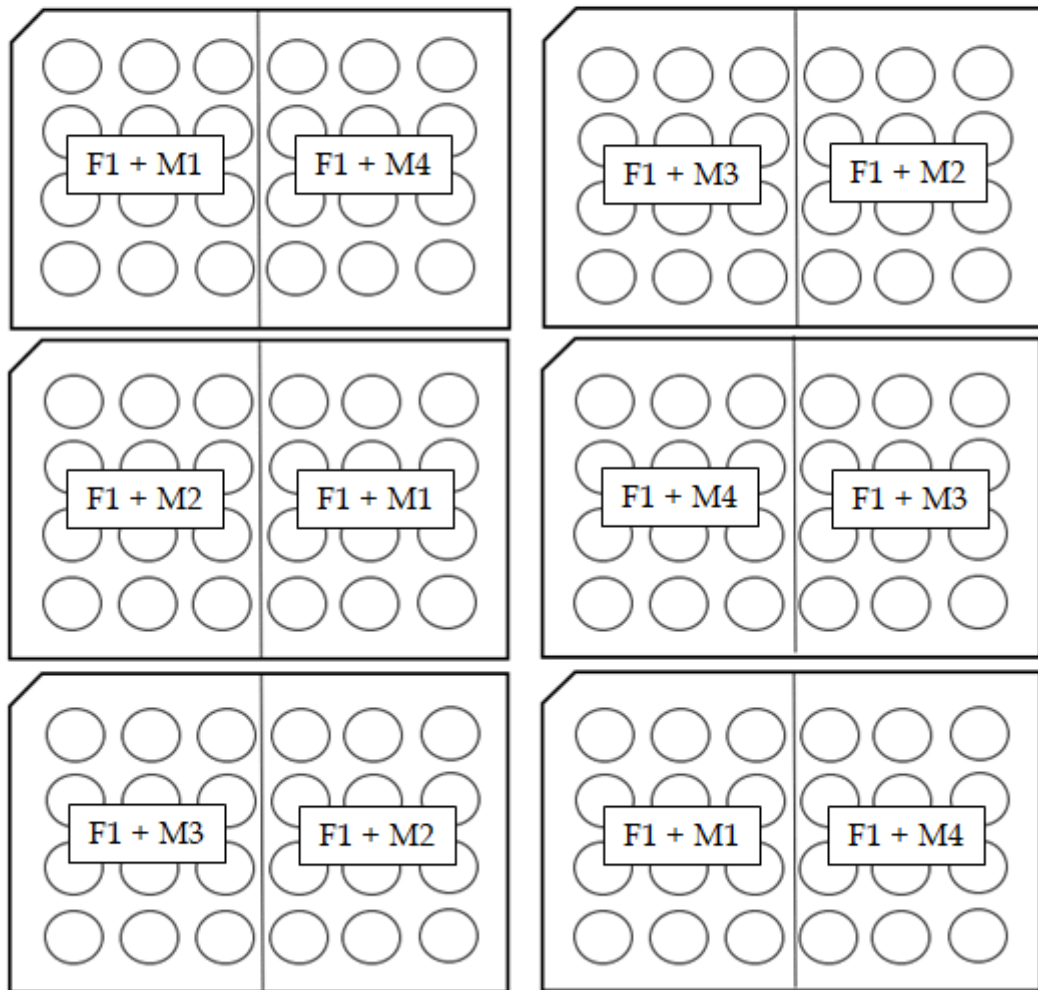
Kokeen aikana kuoppalevyjen kaivoihin lisättiin ultrapuhdasta vettä korvaamaan haihtumista ja ehkäisemään sen seurauksena johtuvaa liuoksen väkevöitymistä. Veden lämpötilaa ja happipitoisuutta seurattiin säännöllisesti lisämittauksin. Hedelmöittymättömät mätimunat poistettiin perheiden saavutettua silmäpisteasteen, ja niiden osuus merkittiin alkukuolleisuutena (Taulukko 2). Kuoriutumisen käynnistyttyä kuoriutuneet poikaset kerättiin kuoriutumispäivänä perheittäin omiin eppendorf-putkiin ja säilöttiin etanoliin sekä samalla poistettiin kuolleet yksilöt. Poikanen merkattiin kuoriutuneeksi, mikäli se oli kokonaan kyennyt poistumaan munasta, vaikka olisikin kuollut miltei heti sen jälkeen. Koe lopetettiin lämpötiloittain, kun lämpötilakäsittelyn poikasista oli kuoriutunut vähintään 95 %.

A

Hedelmöityksryhmä



B



Kuva 1. Hedelmöityksessä noudatettu risteytyskaavio (A) ja koiraiden jaottelu kuoppalevyihin (B) naaraskohtaisesti. Yksi perhe sisältää yhden naaraan munat, jotka on hedelmöitetty yhden koiraan siittiöllä.

Poikasen kuoriutumisaikaa tarkasteltiin kahdella muuttujalla: päivien lukumäärällä hedelmöityksestä kuoriutumiseen ja kertyneiden päiväasteiden

summana. Päiväasteet määriteltiin kerran tunnissa veden lämpötilan tallentaneiden tallentimien avulla (Escort iMini). Jokaiselle kuoriutumiseen johtaneelle vuorokaudelle laskettiin vuorokausikeskiarvo ja niiden summasta saatiin kertynyt päiväastemäärä.

Taulukko 2. Kokeissa käytettyjen naaraiden (F) ja koiraiden (M) kokonaispituudet (TL), tuoremassat (FM) ja somaattiset massat (SM) sekä taulukossa on alkukuolleisuuden osuus ja kokeessa käytettyjen munasolujen määrä emokalaa kohden (n).

Emokalat	Ryhmä	ID	TL (mm)	FM (g)	SM (g)	alkukuolleisuus (%)	n
Naaraat	A	F1	125	11,5	8,6	18	528
		F2	167	25,9	19,8	41	528
		F3	154	25,0	18,9	25	528
	B	F4	156	24,1	16,7	6	528
		F5	158	21,0	16,9	23	528
		F6	129	13,5	9,4	32	504
	C	F7	151	19,1	15,0	14	527
		F8	120	11,2	8,0	18	528
		F9	142	13,9	11,0	33	504
		Yhteensä			23	4703	
Koiraat	A	M1	151	15,9	15,0	30	396
		M2	142	14,1	13,6	26	396
		M3	137	13,2	13,1	23	396
		M4	140	12,0	11,5	33	396
	B	M5	153	18,0	17,5	9	384
		M6	144	14,0	13,4	13	384
		M7	151	16,9	16,2	26	396
		M8	134	12,3	11,7	32	396
	C	M9	147	13,9	13,2	10	384
		M10	137	13,6	13,4	25	384
		M11	133	12,7	12,3	30	396
		M12	121	9,6	9,4	21	395
		Yhteensä			23	4703	

2.4 Poikasmittaukset

Mittauksia varten valittiin perheistä 5 poikasta lämpötilaa kohden hetkeltä, jolloin perheen poikasista oli kuoriutunut 50 %. Poikasista mitattiin pituus (mm), kuiva- ja märkápaino (mg) sekä ruskuaispussin tilavuus (mm³). Ennen mittausta poikasia liotettiin vedessä 15 minuutin ajan (Karjalainen 1992). Pituuden ja ruskuaisen tilavuuden mittaamiseen käytettiin preparointimikroskoopin mittaokulaaria suurennoksella 10:1. Ruskuaisesta mitattiin sen leveys sekä korkeus ja laskettiin tilavuus kaavalla (Blaxter & Hempel 1963)

$$V = \frac{\pi}{6}lh^2, \quad (1)$$

jossa l on ruskuaisen leveys (mm) ja h ruskuaisen korkeus (mm). Poikasen märkápaino punnittiin heti mittauksen jälkeen mikrova'alla. Ennen punnitusta ensin kosteus poistettiin asettamalla poikanen kostutetun paperipyhkeen päälle, jonka jälkeen se laitettiin ennalta punnittuun alumiinikuppiin. Kuivapainon mittaamista varten poikasia kuivattiin 40 °C uunissa 24 tunnin ajan, jonka jälkeen poikanen kuppeineen punnittiin uudestaan.

2.5 Tilastolliset menetelmät

Hedelmöitysryhmien eroja eri testisuureiden välillä testattiin yleistetyllä lineaarisella mallilla (GLM). Selittävinä muuttujina käytettiin emokalan sukupuolta, lämpötilakäsittelyä ja näiden eri interaktioita. Hedelmöitysryhmien tuloksia tarkasteltiin yhdistettynä Fisherin menetelmän (Sokal ja Rohlf 1981) avulla

$$X_{2k}^2 \sim -2 \sum_{i=1}^k \ln(p_i), \quad (2)$$

jossa p_i on tarkasteltavien itsenäisten testien p-arvo ja k on testien lukumäärä. Testin vapausaste määräytyy yhdistettävien testien lukumäärän perusteella. Menetelmä on meta-analyysi, jolla kyetään yhdistämään aiemmissa itsenäisissä testeissä saadut merkitsevyydet, jotka nojaavat samaan hypoteesiin, kuvastamaan suurempaa

kokonaisuutta. Yhdistetyille merkitsevyyksille saadaan χ^2 -arvo, jolle määritetään vapausasteen (df) avulla vastaava todennäköisyys χ^2 -taulukosta. Kaikki tilastolliset analyysit tehtiin IBM SPSS -tilasto-ohjelman (versio 24.0.0.0) avulla.

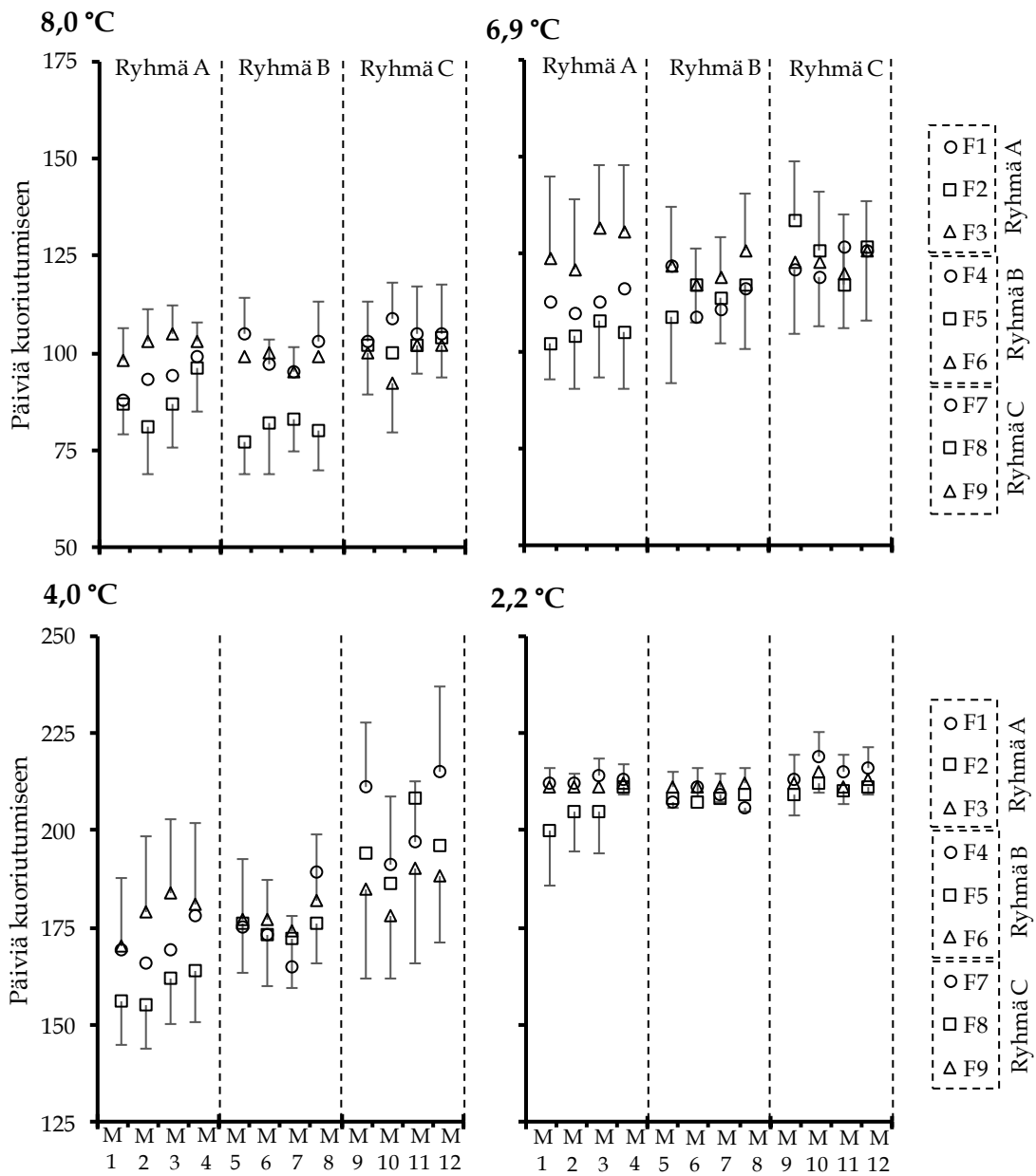
3 TULOKSET

3.1 Kuoriutuminen

Lämpötila ja vanhemmat, sekä naaras että koiras, vaikuttivat merkitsevästi kuoriutumiseen tarvittavaan vuorokausien lukumäärään (Kuva 2, Taulukko 3). Merkitsevät yhdysvaikutukset viittaavat siihen, että eri naarailta ja koirailta eri lämpötilat vaikuttavat eri tavalla haudonta-ajan pituuteen.

Naaraan ja koiraan yhdysvaikutus oli merkitsevä ryhmän B osalta. Lämpötilan, naaraan ja koiraan yhdysvaikutus oli myös osassa ryhmiä tilastollisesti merkitsevä (Taulukko 3, Liite 1).

Haudonta-ajan pituus oli keskimäärin lyhyin 8,0 °C käsittelyssä ja pisin 2,2 °C käsittelyssä (Kuva 2). Perheiden välillä oli eroja kuoriutumishetken suhteen, mutta eri perheiden poikaset kuoriutuivat keskimäärin samassa järjestyksessä lämpötiläkäsittelystä huolimatta. Esimerkiksi naaraan F2 poikaset ryhmässä A kuoriutuivat aikaisemmin jokaisessa lämpötiläkäsittelyssä kuin muiden sen ryhmän naaraiden poikaset. Puolestaan naaras F3 tuotti myöhään kuoriutuvia poikasia. Vaihtelu kuoriutumisaikassa kasvoi haudonta-ajan pidentyessä, ja osalla ryhmän C perheistä haudonta-aika venyi jopa yli 7 kuukauden mittaiseksi 4,0 °C käsittelyssä ja viimeiset poikaset kuoriutuivat vasta touko-kesäkuun vaihteessa (Liite 6). Käsittelystä riippuen 90 %:n kuoriutuneiden osuus saavutettiin noin 7-50 vuorokauden ajanjaksolla kuoriutumisen alkamisesta. Kylmälaitteiden toimintahäiriöstä johtuen 2,2 °C kuoriutuminen ajoittui lyhyelle ajanjaksolle (Kuva 2).



Kuva 2. Keskimääräiset kuoriutumisajankohdat perheittäin eri lämpötiläkäsittelyissä (n = 8-36). Kuvaan merkitty keskihajonta vain hedelmöitysryhmän aikaisimmalle (-) ja myöhäisimmälle (+) naaraalle selvyiden vuoksi.

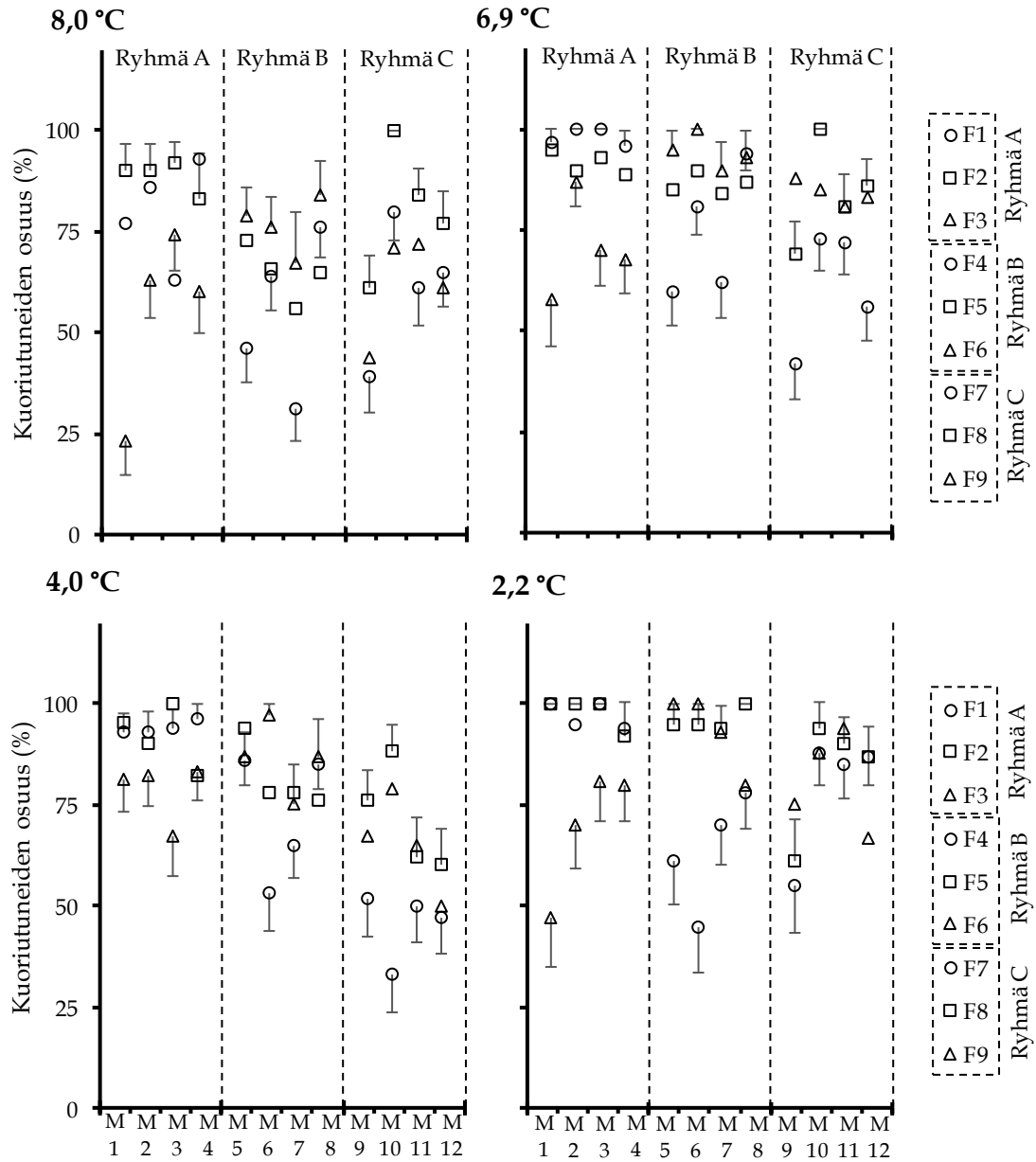
Taulukko 3. GLM-mallin muuttujien p -arvot kuoriutumiseen johtaneiden vuorokausien määriin hedelmöityksryhmittäin sekä Fisherin menetelmällä yhdistetty p -arvo.

	Hedelmöityksryhmä, p -arvot			Fisher		
	A	B	C	χ^2	df	p -arvo
Päivien lukumäärä						
lämpötila	<0,001	<0,001	<0,001	3786,23	6	<0,05
naaras	<0,001	<0,001	<0,001	263,75	6	<0,05
koiras	<0,001	0,002	0,008	56,29	6	<0,05
lämpötila*naaras	<0,001	<0,001	<0,001	106,29	6	<0,05
lämpötila*koiras	0,671	0,047	0,002	19,34	6	<0,05
naaras*koiras	0,488	0,037	0,829	8,40	6	>0,05
lämpötila*naaras*koiras	0,249	0,016	0,001	24,87	6	<0,05

3.2 Säilyvyys

Fisherin testin mukaan lämpötilalla, sekä naaraalla että koiraalla ja niiden eri yhdysvaikutuksilla oli merkitsevää vaikutusta poikasen säilyvyyteen. Ainoastaan lämpötilan, naaraan ja koiraan yhdysvaikutus ei osoittautunut tilastollisesti merkitseväksi (Kuva 3, Taulukko 4). Lämpötilan vaikutus ja vanhempien yhteensopivuus vaikuttivat merkitsevästi poikasen säilyvyyteen. Keskimääräiset säilyvyedet lämpötiloittain korkeimmasta matalimpaan olivat 68,4 %; 81,6 %; 75,6 % ja 83,7 %.

Säilyvyyden tarkastelussa ei otettu huomioon kokeen alkuvaiheessa tapahtunutta alkukuolleisuutta, vaan tulokset määritettiin silmäpisteasteen jälkeisen kuolleisuuden ja kuoriutuneiden poikasten perusteella. Ryhmissä näkyi selvästi samat naaraat lämpötilasta toiseen, millä oli alhainen säilyvyys, esimerkiksi ryhmässä A naaras F3 (Kuva 3).



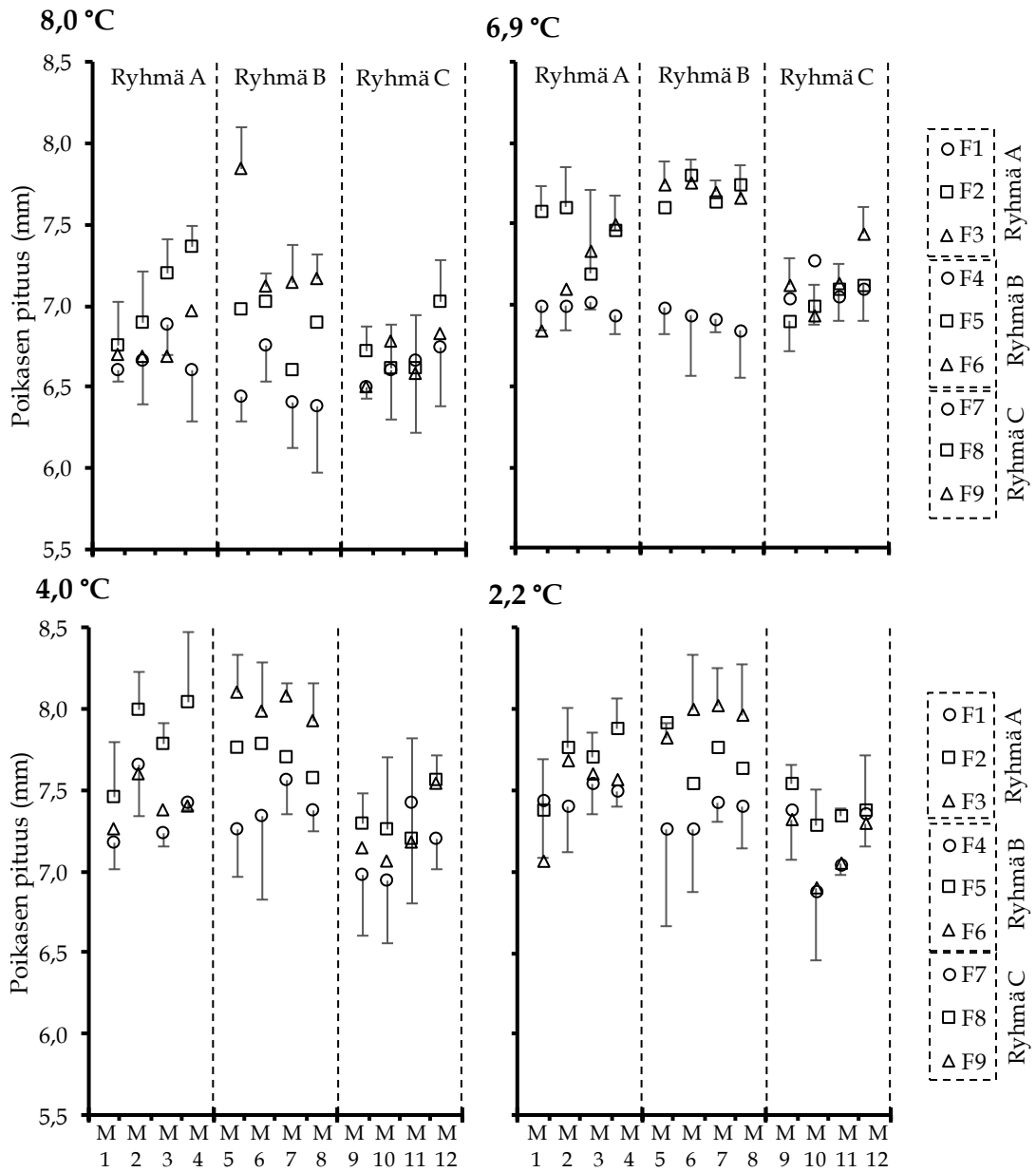
Kuva 3. Kuoriutuneiden poikasten osuudet ($n = 8-36$) perheittäin eri lämpötiläkäsittelyissä. Kuvassa esitetynä keskiarvon keskivirheet ryhmittäin korkeimman (+) ja matalimman (-) säilyvyyden omaaville naaraille.

Taulukko 4. GLM-mallin p -arvot säilyvyyteen hedelmöityksryhmittäin ja Fisherin menetelmällä määritetty χ^2 -arvo ja sitä vastaava p -arvo (Liite 2).

Muuttuja	Hedelmöityksryhmä, p -arvot			Fisher		
	A	B	C	χ^2	df	p
Säilyvyys						
lämpötila	<0,001	<0,001	<0,001	104,716	6	<0,05
naaras	<0,001	<0,001	<0,001	220,640	6	<0,05
koiras	0,054	0,008	<0,001	38,749	6	<0,05
lämpötila*naaras	0,047	0,086	0,030	18,035	6	<0,05
lämpötila*koiras	0,377	0,088	0,033	13,634	6	<0,05
naaras*koiras	<0,001	0,003	0,253	29,680	6	<0,05
lämpötila*naaras*koiras	0,013	0,269	0,602	12,327	6	>0,05

3.3 Poikasen pituus, ruskuaisen tilavuus ja kuivapaino

Fisherin testin mukaan lämpötila, naaras ja koiras vaikuttivat merkitsevästi kuoriutuneen poikasen pituuteen (Kuva 4, Taulukko 5). Myös lämpötilan yhdysvaikutukset koiraan ja naaraan kanssa olivat merkitseviä. Naaraan ja koiraan välinen yhdysvaikutus puolestaan ei osoittautunut merkitseväksi. Lämpötilalla ja vanhemmilla oli siis merkitsevää vaikutusta poikasen pituuteen, mutta vanhempien vaikutukset vaihtelivat eri käsittelylämpötiloissa keskenään. Lämpötila ja naaras olivat merkitseviä kaikissa ryhmissä (Taulukko 5, Liite 3).

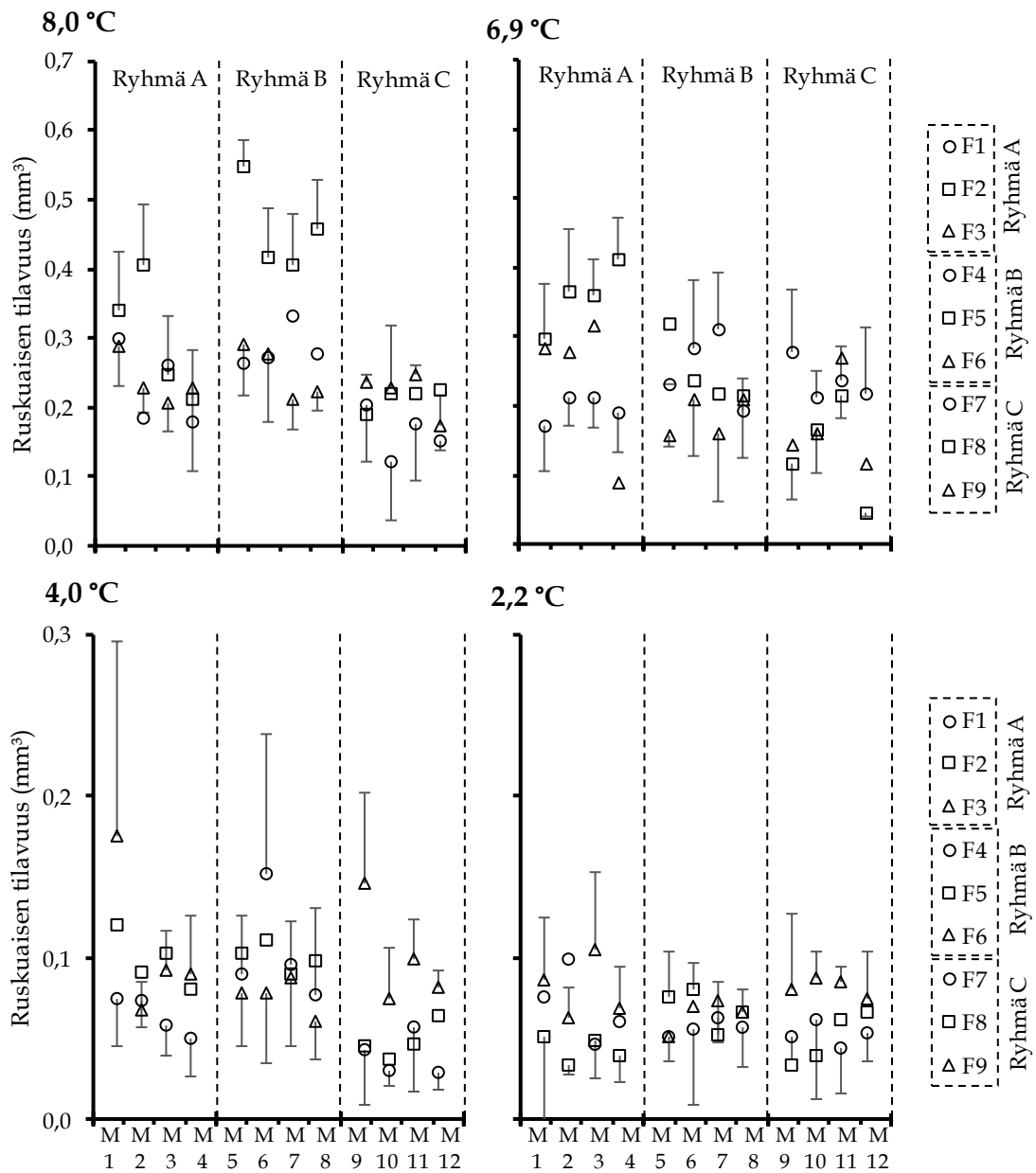


Kuva 4. Mitattujen poikasten pituudet (n = 2-5) perheittäin. Hedelmöityssryhmän sisällä esitetty keskihajonta naaraan poikasille, jotka olivat ryhmän suurimpia (+) ja pienimpiä (-) selkeyssyistä.

Taulukko 5. GLM-mallin muuttujien p -arvot hedelmöitysryhmä kohtaisesti poikasen pituuteen ja ryhmille Fisherin menetelmällä määritetty p -arvo kunkin muuttujan kohdalla (Liite 3).

Muuttuja	Hedelmöitysryhmä, p -arvot			Fisher		
	A	B	C	χ^2	df	p
Poikasen pituus						
lämpötila	<0,001	<0,001	<0,001	443,777	6	<0,05
naaras	<0,001	<0,001	0,054	238,853	6	<0,05
koiras	<0,001	0,291	<0,001	51,563	6	<0,05
lämpötila*naaras	0,293	0,002	0,121	19,108	6	<0,05
lämpötila*koiras	0,061	0,065	0,053	23,898	6	<0,05
naaras*koiras	0,108	0,344	0,689	7,331	6	>0,05
lämpötila*naaras*koiras	0,025	0,140	0,419	13,050	6	<0,05

Fisherin testin mukaan lämpötila, naaras ja koiras vaikuttivat kuoriutumishetkellä jäljellä olevan ruskuaisen määrään merkitsevästi (Kuva 5, Taulukko 6). Myös näiden tekijöiden eri yhdysvaikutukset osoittautuivat merkitseviksi.

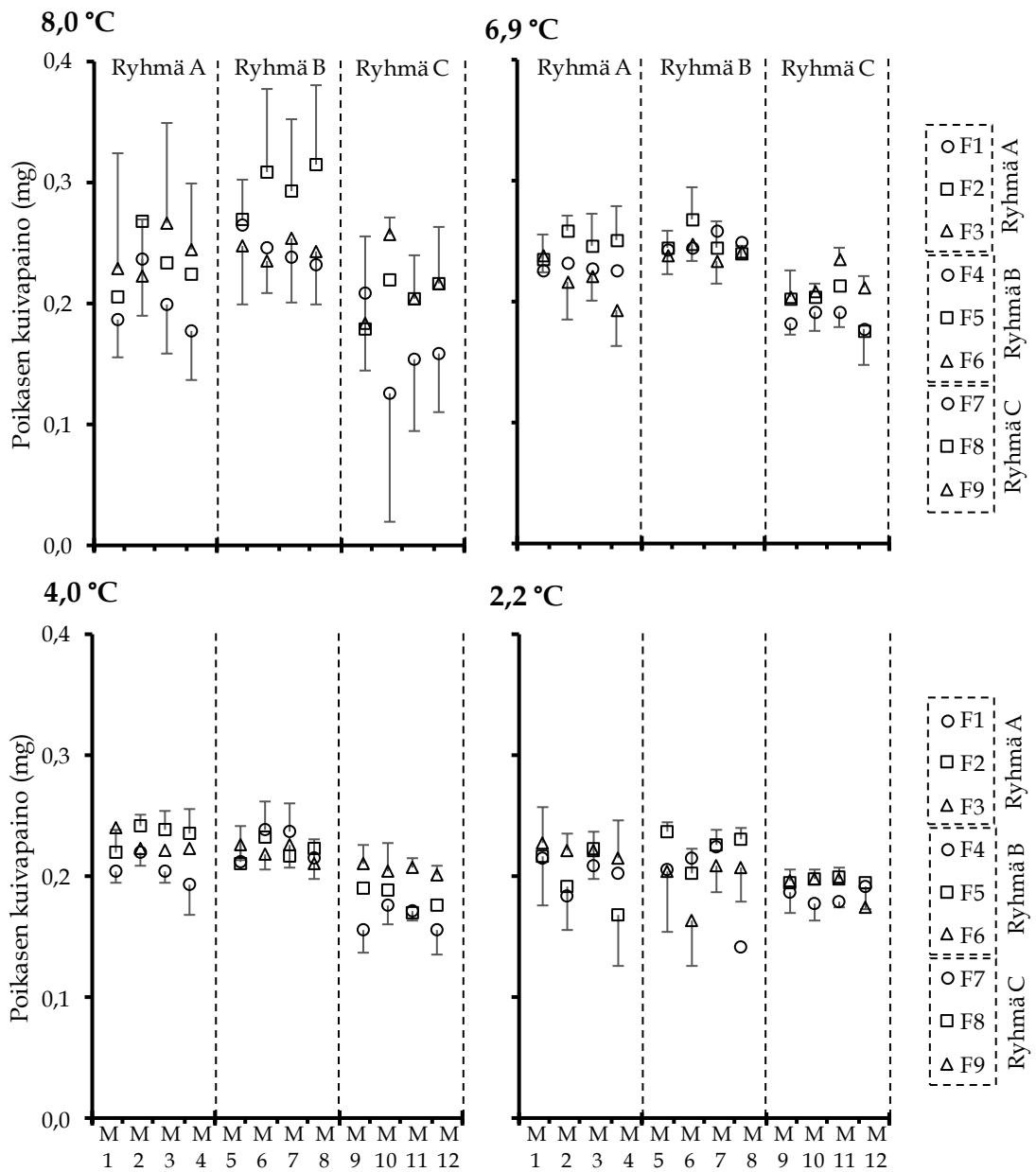


Kuva 5. Kuoriutuneiden poikasten (n = 2–5) ruskuaisen keskimääräiset tilavuudet perheittäin. Keskihajonta laitettu hedelmöityssryhmittäin naaraan mukaan, jonka jälkeläisillä mitattiin suurimmat (+) ja pienimmät (-) ruskuaisvarannot.

Taulukko 6. GLM-mallin muuttujien p -arvot ruskuaisen määrään hedelmöitysryhmittäin ja Fisherin menetelmällä yhdistetyt p -arvot.

Muuttuja	Hedelmöitysryhmä, p -arvot			Fisher		
	A	B	C	χ^2	df	p
Ruskuaisen tilavuus						
lämpötila	<0,001	<0,001	<0,001	815,719	6	<0,05
naaras	<0,001	<0,001	<0,001	119,176	6	<0,05
koiras	<0,001	0,089	0,001	35,163	6	<0,05
lämpötila*naaras	<0,001	<0,001	<0,001	167,836	6	<0,05
lämpötila*koiras	0,006	0,305	0,002	25,036	6	<0,05
naaras*koiras	0,045	<0,001	0,051	28,378	6	<0,05
lämpötila*naaras*koiras	<0,001	0,039	0,043	40,413	6	<0,05

Lämpötila ja naaras vaikuttivat merkitsevästi poikasen kuivapainoon (Kuva 6, Taulukko 7). Koiraan vaikutus ei ollut merkitsevä. Yhdysvaikutuksista lämpötilan ja naaraan yhdysvaikutus oli merkitsevä. Puolestaan lämpötilan ja koiraan sekä naaraan ja koiraan yhdysvaikutukset eivät olleet tilastollisesti merkitseviä. Koiraalla ei näiden tulosten valossa olisi vaikutusta poikasen kuivapainoon, vaan siihen vaikuttaisivat käsittelylämpötila ja naaras.



Kuva 6. Kuoriutuneiden poikasten (n = 2–5) keskimääräiset kuivapainot perheittäin eri lämpötiläkäsittelyissä. Hajonta ilmoitettu naaraille, joilla oli keskimääräisesti ryhmän painavimmat (+) ja kevyimmät (-) poikaset.

Taulukko 7. GLM-mallin muuttujien p -arvot kuoriutuneiden poikasten kuivapainoon hedelmöityssryhmittäin ja Fisherin menetelmällä yhdistetyt p -arvot (Liite 5).

Muuttuja	Hedelmöityssryhmä, p -arvot			Fisher		
	A	B	C	χ^2	df	p
Poikasen kuivapaino						
lämpötila	0,002	<0,001	0,029	101,730	6	<0.05
naaras	<0,001	<0,001	<0,001	115,073	6	<0.05
koiras	0,096	0,478	0,489	7,594	6	>0.05
lämpötila*naaras	0,002	0,001	0,025	33,622	6	<0.05
lämpötila*koiras	0,207	0,437	0,729	5,438	6	>0.05
naaras*koiras	0,477	0,059	0,278	9,701	6	>0.05
lämpötila*naaras*koiras	0,346	0,175	0,006	15,840	6	<0.05

4 TULOSTEN TARKASTELU

4.1 Kehittymisaika ja säilyvyys

Eri vanhempien alkiot kehittyivät eri nopeudella ja kuoriutuivat eri aikaan. Varsinkin hedelmöityssryhmässä A syntyi eroja, jotka olivat pääasiassa naaraiden välisiä, mutta myös koirasvaikutusta oli havaittavissa. Suhteellisesti vähiten poikasia kuoriutui 8,0 °C käsittelyssä. Vastaavia tuloksia korkean lämpötilan vaikutuksesta kuoriutumiseen havaittiin myös aiemmissa tutkimuksissa (Cingi ym. 2010, Lim ym. 2017). Brooken (1975) tutkimuksessa sillisiialla (*C. clupearformis*) kuoriutuminen heikkeni matalassa (0,5 °C, 2 °C) ja korkeassa (10 °C) koelämpötilassa optimilämpötilan ollessa 4–6 °C. Zuromska (1982) arvioi tutkimuksessaan muikun optimaaliseksi kehityslämpötilaksi 1,2–7,0 °C. Tässä kokeessa korkeinta säilyvyys oli 2,2 °C koelämpötilassa (83,7 %) ja 7,0 °C koelämpötilassa (81,6 %).

Kuoriutumiseen vaikuttavat poikasen liikkumisen aikaansaama mekaaninen rasitus ja poikasen erittämä kuoriutumisesentsyymi, korionaasi, joka vapautuessaan

katkoo kuoren proteiinisidoksia (Yamagami 1981). Korionaasin toiminta-lämpötila on 1–40 °C ja optimaalinen pH on noin 8,5. Alle 7 pH:ssa teho laskee jyrkästi ja on käytännössä olematon pH:ssa 6 (Luczynski ym. 1987). Tässä kokeessa haudontaveden pH oli lähellä optimialuetta.

Tässä kokeessa poikasten kuoriutuminen pitkittyi suhteessa aiempiin vakiolämpötiloilla suoritettuihin haudontakokeisiin (Colby ja Brooke 1973, Brooke 1975, Luczynski ja Kirklewska 1984, Viljanen ja Koho 1991). Esimerkiksi Luczynskin ja Kriklewskan (1984) kokeessa muikulla 90 % kuoriutumiseen 8,4 °C koelämpötilassa kesti 56 vuorokautta, kun vastaavasti tässä kokeessa 8,0 °C lämpötilassa keskimääräinen kuoriutumisaika oli 97 vuorokautta. Colbyn ja Brooken (1973) tutkimuksessa amerikanmuikulla (*C. artedii*) 3,4 °C koelämpötilassa 50 % kuoriutuminen saavutettiin 147 vuorokauden kuluttua ja Viljasen ja Kohon (1991) tutkimuksessa muikulla 3,0 °C lämpötilassa 50 % saavutettiin 144 vuorokauden jälkeen. Tässä tutkimuksessa 4,0 °C lämpötilassa keskimääräinen kuoriutumisaika oli 179 vuorokautta. Verrattuna aiempien kokeiden tuloksiin tässä kokeessa kuoriutuminen tapahtui noin kuukautta myöhemmin. Omassa kokeessa alkioita haudottiin koko haudontajakson pimeässä ja tämä on todennäköisesti keskeinen syy kuoriutumisen venymiseen. Valon määrän ja sen laadun merkitystä on tutkittu eri kalalajeilla ja havaittu, että erilaiset valojaksot rytmittävät alkion eri alkiovaiheiden kehitystä, vaikuttivat kuoriutumisen ajankohtaan sekä jatkokehitykseen poikasvaiheessa (Helvik ja Walther 1992, Chernyaev 2006, Villamizar ym. 2009, Villamizar ym. 2013). Kaloilla ja muilla selkärangkaisilla, lukuun ottamatta nisäkkäitä, kyky havaita valon intensiteetin muutoksia kehittyy hyvin aikaisessa vaiheessa, jopa ennen käpyrauhan muodostumista (Ziv ja Gothilf 2006). Valoherkät reseptorit ympäri eliön kehoa muodostavat sisäisen kellon, ja sen keskiössä toimivan käpyrauhan erittämän melatoniinin tasot saavat aikaan fysiologisia ja käyttäytymiseen liittyviä muutoksia (Andrew ym. 2009, Peirson ym. 2009, Falcón ym. 2010). Mikäli valoa ei ole saatavilla, voi sisäinen kello muodostua tulkitsemaan ajan kulkua lämpötilan (Lahiri ym. 2014) tai jopa

saatavilla olevan ravinnon muutosten perusteella (Villamizar ym. 2013). Kuitenkin tiedot käpyrauhaseen ja sisäisen kellon vaikutuksesta kalojen alkionkehitykseen ovat puutteellisia. Muikun kuoriutumisen on aiemmin esitetty olevan valon, lämpötilan nousun ja jäiden lähdön myötä tapahtuvien virtausten stimuloimaa (Karjalainen ym. 2015). Tässä kokeessa vain lämpötila vaikutti ja kuoriutuminen viivästy, joten valon vaikutusta muikunkin kehittymiseen tulisi tutkia tarkemmin jatkossa.

Lämpötilan ja vanhempien vaikutus alkioiden säilyvyyteen ja kuoriutumisaikojen pituuteen oli selvää. Naaraan ja koiraan vaikutukset näkyivät jokaisen hedelmöitysr ryhmän kohdalla. Tässä kokeessa päädyttiin olemaan ottamatta huomioon heti hedelmöityksen jälkeistä kuolleisuutta siihen liittyvien epävarmuustekijöiden vuoksi, joita ovat esimerkiksi hedelmöityslämpötila tai emokalojen lähisukulaisuus (Cingi ym. 2010, Geßner ym. 2017). Kuolleisuus ennen silmäpisteastetta oli suurta, ja alkukuolleisuus pitää sisällään sekä hedelmöitysmättömät munat että alkionkehityksen alkuvaiheen kuolleisuuden. Kuolleisuus väheni silmäpisteasteen jälkeen ja nousi taas hieman ennen kuoriutumista. Tämä ilmiö kuolleisuuden jaksottumisen suhteen on raportoitu aiemmissa tutkimuksissa (Viljanen ja Koho 1991, Wedekind ja Müller 2004, Kamler 2005). Wedekind ym. (2001) havaitsivat tutkimuksessaan sekä merkitsevää koiras- että naarasvaikutusta jälkeläisten kuolleisuuteen ja kehityshäiriöihin. Koiraan maidin laadulla on havaittu olevan merkittävä vaikutus hedelmöityksen ja myöhemmin kuoriutumisen onnistumiseen. Naaraan vaikutus ilmenee puolestaan mätimunaa koon kautta, joka vaikuttaa alkiokehityksen aikaiseen säilyvyyteen (Kamler 2005). Karjalaisen ym. (2016) muikulla suorittamassa tutkimuksessa havaittiin emokaloilla, sekä naarailla että koirilla, olevan merkitsevää vaikutusta poikasen kuoriutumisaikaan, mutta naaraan ja koiraan yhdysvaikutukselle tilastollista merkitsevyyttä ei havaittu. Tutkimuksen tulosten perusteella Karjalainen ym. (2016) arvioivat perheiden saavuttavan 50 % kuoriutumisen noin 2 - 3 viikon sisällä toisistaan. Aiemmassa tutkimuksessa Karjalainen ym. (2015) totesivat mallinnettujen lyhyiden ja pitkien talvien kuoriutumisaikojen perusteella

perheiden kuoriutumisen ajoittuvan lyhyen ja pitkän talven välillä 79 vuorokauden ajanjaksolle. Tässä tutkimuksessa perheiden kuoriutuminen käsittelyittäin ajoittui noin 7–50 vuorokauden ajanjaksolle (Liite 6).

Matalien lämpötilojen tarkastelua hankaloitti tässä kokeessa tapahtunut laitevika. Kylmälaitteet jäätyivät huhtikuun lopulla ja 2,2 °C koehuoneessa lämpötila nousi äkillisesti, mikä sai aikaan poikasten massakuoriutumisen nousua seuranneina vuorokausina. Luultavasti poikasten kuoriutuminen olisi tapahtunut huomattavasti pidemmällä aikavälillä ilman laiteongelmia. Lisäksi valoton ja vakiolämpötiloilla toteutettu koejärjestely omalta osaltaan saa aikaan olosuhteet, jotka poikkeavat luonnollisista (esim. keväinen lämpötilan nousu).

4.2 Poikasten ominaisuudet

Kuoriutuneeseen poikaseen liittyvien fysiologisten ominaisuuksien suhteen tämän kokeen tulokset vahvistivat aiempien tutkimuksien havaintoja. Korkeammassa lämpötilassa poikaset kuoriutuivat lyhyemmän haudonta-ajan jälkeen, poikaset olivat keskimäärin lyhyempiä ja kuoriutuivat isomman ruskuaispussin kera kuin alhaisemmissa lämpötiloissa kuoriutuneet poikaset. Vastaavista havainnoista raportoi tutkimuksessaan mm. Blaxter (1992), jonka mukaan lämpötilan vaikutus poikasen pituuteen liittyy muutoksiin kudosten kasvu- ja eriytymisvaiheissa. Lämpötilan vaikutuksesta aineenvaihdunnan tasoon ja siten ruskuaisen määrään raportoivat työssään Blaxter ja Hempel (1963). Sekä poikasen koon että ruskuaisen määrän muutosta vakiolämpötiloilla suoritetuissa tutkimuksissa havaitsivat myös Cingi ym. (2010) ja Lim ym. (2017). Luonnollisia lämpötiloja mallintavassa kokeessa Karjalainen ym. (2015) havaitsivat, että lyhyen talven aikana poikaset kuoriutuivat aiemmin ja pienempinä kuin pitkän talven aikana.

Poikasen pituudessa ja ruskuaisen määrässä oli suurta vaihtelua perheiden välillä. Kuivapainon suhteen erot eivät olleet yhtä selviä. Varsinkin 8,0 °C käsittelyssä havaittiin suurta vaihtelua kuivapainossa johtuen eroista poikasen koossa ja jäljellä

olevan ruskuaisen määrästä. Aiemmassa risteytystutkimuksessa Karjalainen ym. (2016) havaitsivat naaraalla sekä naaraan ja koiraan yhdysvaikutuksella olevan tilastollisesti merkitsevää eroa kuoriutuneen poikasen kuivapainoon. Tässä tutkimuksessa puolestaan naaraan vaikutus oli merkitsevä kuivapainon kannalta. Isolla ruskuaisella lyhyen haudonta-ajan jälkeen kuoriutuneilla poikasilla vaikuttaa kokonaispainoon (alkio ja ruskuainen) myös se, kuinka paljon emo on alun perin vararavintoa kyennyt tankkaamaan munaan (Karjalainen ym. 2015). Isommista munista kuoriutuu kokonaispainoltaan suurempia ruskuaispussipoikasia. Matalammilla lämpötiloilla ruskuaisen määrä oli vähentynyt jo siihen pisteeseen, ettei se aiheuttanut vaihtelua poikasten kuivapainossa. On mahdollista, että koiras vaikuttaa jollain tasolla poikasen aineenvaihduntaan.

Mielenkiintoinen seikka oli, että poikasen pituudessa ei ollut eroa 2,2 °C ja 4,0 °C lämpötilakäsittelyjen välillä vaan poikaset vaikuttivat saavuttaneen maksimipituuden, joka vararavinnon avulla oli pitkän haudonnan aikana saavutettavissa. Nagler ym. (2000) mainitsee naaraan vaikutuksen merkitseväksi poikasen kehittymisen kannalta koiraan vaikutuksen tullessa ilmi voimakkaammin vasta kuoriutumisen jälkeen. Myös Kamler (2005) mainitsee poikasen koon kannalta merkitseväksi tekijäksi naaraan tuottaman mätimunän koon ja sen laadun. Tämä on oletettavaa, sillä mätimunän sisältämät rasvat toimivat ainoana energian lähteenä ja rakennusaineena kasvavalle alkiole ennen kuoriutumista ja ulkoisen ruokailun aloittamista. Mätimunän ja poikasen koon välillä on todettu useimmissa tapauksissa positiivinen korrelaatio, mutta lajien välisiä eroja esiintyy. Viljanen ja Koho (1991) havainnoivat myös omassa muikulla suorittamassaan tutkimuksessa, että mätimunän koko ja poikasen pituus korreloivat positiivisesti keskenään.

4.3 Yhteenveto

Tutkimuksessa havaittiin eroja säilyvyyden, kuoriutumisaajan ja poikasen fysiologisten ominaisuuksien suhteen eri käsittelylämpötiloissa. Nämä tulokset olivat linjassa aiempien tutkimusten kanssa ja siten vahvistivat niissä havaittuja

ilmiöitä. Vanhempien vaikutuksesta poikasten ominaisuuksiin naaraan merkitys jälkikasvuun vaikutti olevan korostuneempaa, mutta myös koiraan vaikutusta eri ominaisuuksiin havaittiin. Lisäksi vaikutusten voimakkuudet vaihtelivat lämpötilakäsittelyittäin. Karjalainen ym. (2015, 2016) totesivat muikun olevan hyvin sopeutuvainen muuttuviin lämpötilaoloihin, ja perheiden välinen vaihtelu ominaisuuksissa tuo joustavuutta sekä yksilö- että populaatiotasolla pohjoisessa vaihtelevassa ympäristössä.

Tämä tutkimus antoi hyödyllistä lisätietoa emokalojen vaikutuksesta poikasiin ja vahvisti aiempia havaintoja lämpötilan vaikutuksesta alkionkehittymiseen. Kuoriutuneiden poikasten pituus- ja painomittausten osalta mitattujen poikasten alhainen määrä (vain 5 poikasta per perhe) ja satunnaiset poikkeavat yksilöt aiheuttivat vaihtelua tuloksiin. Naaraiden vaikutusta poikasen alkiokehitykseen on havainnoitu useissa aiemmissä tutkimuksissa, mutta tiedot koiraan merkityksestä ovat vielä osittain puutteellisia. Lämpötilan vaikutus alkiokehitykseen on kiistaton, mutta tiedot valon vaikutuksesta ovat myös joltain osin tuntemattomia varsinkin pohjoisilla lajeilla. Näiden tietojen pohjalta olisi suotavaa suorittaa lisätutkimuksia aiheen tiimoilta.

KIITOKSET

Haluan kiittää ohjaajaani Juha Karjalaista arvokkaasta ja pitkäjänteisestä opastuksesta kokeiden ja kirjoitusprosessin aikana. Lisäksi haluan kiittää Konneveden tutkimuslaitoksen henkilökuntaa ja Hanna Suoniaa, jotka avustivat suuresti tämän pitkän kokeen toteuttamisessa ja Antti Kytölää sekä Eric Hadadia avusta mittausten tekemisessä. Lopuksi haluan kiittää työtovereitani tuesta ja kannustuksesta prosessin aikana. Tämä tutkielma oli osa Global Coregonid Groupin yhteistyöhanketta.

KIRJALLISUUS

- Andrew R.J., Osorio D. & Budaev S. 2009. Light during embryonic development modulates patterns of lateralization strongly and similarly in both zebrafish and chick. *Phil. Trans. R. Soc. B* 364: 983–989.
- Avakul P. & Jutagate T. 2015. Effects of water temperature on embryonic development, hatching success and survival of larvae of Siamese mud carp *Henicorhynchus siamensis* (Sauvage 1881). *Asian Fish. Sci.* 28: 143–153.
- Blaxter J.H.S. & Hempel G. 1963. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). *ICES J. Mar. Sci.* 28: 211–240.
- Blaxter J.H.S. 1992. The effect of temperature on larval fishes. *Neth. J. Zool.* 42: 336–357.
- Brooke L.T. 1975. Effect of different constant incubation temperatures on egg survival and embryonic development in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Trans. Am. Fish. Soc.* 104: 555–559.
- Brooke L.T. & Colby P.J. 1980. Development and survival of embryos of lake herring at different constant oxygen concentrations and temperatures. *Prog. fish-cult.* 42: 3–9.
- Chernyaev Zh.A. 2007. Factors and possible mechanisms causing changes in the rate of embryonic development of bony fish (with reference to coregonidae). *J. Ichthyol.* 47: 475–485.
- 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.
- Eckmann R. 1987. A comparative study on the temperature dependence of embryogenesis in three coregonids (*Coregonus* spp.) from Lake Constance. *Schweiz. Z. Hydrol.* 49: 353–362.
- Falcón J., Migaud H., Muñoz-Cueto J.A. & Carrillo M. 2010. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165: 469–482.
- Geßner C., Johnson S.L., Fisher P. Clarke S., Rutherford K. Symonds J. & Gemmill N.J. 2017. Male–female relatedness at specific SNP-linkage groups influences cryptic female choice in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Proc. R. Soc. B* 284: 20170853.
- Helvik J.V. & Walther B.T. 1992. Photo-regulation of the hatching process of halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs. *J. Exp. Zool.* 263: 204–209.
- IPCC. 2014: *Climate Change 2014: Synthesis Report, Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate*

Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland. 151 pp.

- IPCC. 2018: *Global Warming of 1.5°C, An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty* [Masson-Delmotte, V. P. Zhai, H.-O. Pörtner, D. Roberts, J. Skea, P.R. Shukla, A. Pirani, W. Moufouma-Okia, C. Péan, R. Pidcock, S. Connors, J.B.R. Matthews, Y. Chen, X. Zhou, M.I. Gomis, E. Lonnoy, T. Maycock, M. Tignor, and T. Waterfield (eds.)]
- Kamler E. 1992. *Early life history of fish: an energetics approach*. Chapman & Hall, London.
- Kamler E. 2005. Parent-egg-progeny relationships in teleost fishes: an energetic perspective. *Rev. Fish Biol. Fisher.* 15: 399–421.
- 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.
- Karjalainen J., Jokinen L., Keskinen T. & Marjomäki T.J. 2016. Environmental and genetic effects on larval hatching time in two coregonids. *Hydrobiol.* 780: 135–143.
- Kupren K., Mamcarz A., Kucharczyk D., Prusinska M. & Krejszeff S. 2008. Influence of water temperature on eggs incubation time and embryonic development of fish from genus *Leuciscus*. *Pol. J. Natur. Sc.* 23: 461–481.
- Lahiri K., Froehlich N., Heyd A., Foulkes N.S. & Vallone D. 2014. Development stage-specific regulation of the circadian clock by temperature in zebrafish. *Biomed Res. Int.* 2014 ID 930308.
- Laurence G.C. & Howell W.H. 1981. Embryology and influence of temperature and salinity on early development and survival of yellowtail flounder *Limanda ferruginea*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 6: 11–18.
- 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. Part A* 214: 19–29.
- Luczynski M., Strzezek J. & Brzuzan P. Secretion of hatching enzyme and its proteolytic activity in Coregoninae (*Coregonus albula* L and *C. lavaretus* L) embryos. *Fish Physiol. Biochem.* 4: 57–62.
- Luczynski M. & Kirklewska A. 1984. Dependence of *Coregonus albula* embryogenesis rate on the incubation temperature. *Aquac.* 42: 43–55.

- Nagler J.J., Parsons J.E. & Cloud J.G. 2000. Single pair mating indicates maternal effects on embryo survival in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquac.* 184: 177–183.
- Peirson S.N., Halford S. & Foster R.G. 2009. The evolution of irradiance detection: melanopsin and the non-visual opsins. *Phil. Trans. R. Soc. B* 364: 2849–2865.
- Salonen E. 1999. The vendace stock and fisheries in Lake Inari. *Boreal Env. Res.* 3: 307–319.
- Smith S.H. 1957. Evolution and distribution of the coregonids. *J. Fish. Res. Bd. Canada* 14: 599–604.
- Sokal R. R. & Rohlf F. J. 1981. *Biometry*. W.H. Freeman and Company, New York.
- Thépot V. & Jerry D.R. 2015. The effects of temperature on the embryonic development of barramundi, the Australian strain of *Lates calcarifer* (Bloch) using current hatchery practices. *Aquacult. Rep.* 2: 132–138.
- Viljanen M. & Koho J. 1991. The effects of egg size and incubation conditions on life history of vendace (*Coregonus albula* L.). *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 24: 2418–2423.
- Villamizar N., García-Alcazar A. & Sánchez-Vázquez F.J. Effects of light spectrum and photoperiod on growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquac.* 292: 80–86.
- Villamizar N., Blanco-Vives B., Oliveira C., Dinis M.T., Di Rosa V., Negrini P., Bertolucci C. & Sánchez-Vázquez F.J. 2013. Circadian rhythms of embryonic development and hatching in fish: A comparative study of zebrafish (diurnal), senegalese sole (nocturnal), and somalian cavefish (blind). *Chronobiol. Int.* 30: 889–900.
- Wedekind C., Müller R. & Spicher H. 2001. Potential genetic benefits of mate selection in whitefish. *J. Evol. Biol.* 14: 980–986.
- Wedekind C. & Müller R. 2004. Parental characteristics versus egg: towards an improved genetic management in the supportive breeding of lake whitefish. *Ann. Zool. Fennici* 41: 105–115.
- Yamagami K. 1981. Mechanism of hatching in fish: Secretion of hatching enzyme and enzymatic choriolysis. *Amer. Zool.* 21: 459–471.
- Ziv L. & Gothilf Y. 2006. Circadian time-keeping during early stages of development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103: 4146–4151.
- Zuromska H. 1982. Egg mortality and its causes in *Coregonus albula* (L.) and *Coregonus lavaretus* (L.), in two Masurian lakes. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 29: 29–69.

LIITTEET

Liite 1 Päiväkertymän GLM-taulu

Lähde	df	MS	F	p-arvo
Päivien lukumäärä				
Ryhmä A				
korjattu malli	47	39325,802	256,089	<0,001
naaras	2	15296,408	99,610	<0,001
koiras	3	1954,730	12,729	<0,001
lämpötila	3	531363,795	3460,230	<0,001
naaras*koiras	6	139,513	0,909	0,488
naaras*lämpötila	6	1020,282	6,644	<0,001
koiras*lämpötila	9	113,903	0,742	0,671
naaras*koiras*lämpötila	18	185,019	1,205	0,249
virhe	911	153,563		
Ryhmä B				
korjattu malli	47	40295,920	257,571	<0,001
naaras	2	4375,332	27,967	<0,001
koiras	3	808,332	5,167	0,002
lämpötila	3	568360,562	3632,953	<0,001
naaras*koiras	6	351,362	2,246	0,037
naaras*lämpötila	6	1807,030	11,551	<0,001
koiras*lämpötila	9	299,296	1,913	0,047
naaras*koiras*lämpötila	18	290,298	1,856	0,016
virhe	908	156,446		
Ryhmä C				
korjattu malli	47	38797,072	199,461	<0,001
naaras	2	2902,656	14,923	<0,001
koiras	3	763,896	3,927	0,008
lämpötila	3	550811,039	2831,800	<0,001
naaras*koiras	6	91,866	0,472	0,829
naaras*lämpötila	6	1114,883	5,732	<0,001
koiras*lämpötila	9	566,350	2,912	0,002
naaras*koiras*lämpötila	18	462,432	2,377	0,001
virhe	806	194,509		

Liite 2 Säilyvyyden GLM-taulu

Lähde	df	MS	F	<i>p</i> -arvo
Säilyvyys				
Ryhmä A				
korjattu malli	47	0,622	5,523	<0,001
naaras	2	7,119	63,194	<0,001
koiras	3	0,288	2,556	0,054
lämpötila	3	1,217	10,804	<0,001
naaras*koiras	6	0,459	4,076	<0,001
naaras*lämpötila	6	0,240	2,133	0,047
koiras*lämpötila	9	0,121	1,077	0,377
naaras*koiras*lämpötila	18	0,214	1,899	0,013
virhe	911	0,113		
Ryhmä B				
korjattu malli	47	0,707	4,508	<0,001
naaras	2	5,171	32,956	<0,001
koiras	3	0,622	3,963	0,008
lämpötila	3	2,604	16,599	<0,001
naaras*koiras	6	0,528	3,368	0,003
naaras*lämpötila	6	0,291	1,852	0,086
koiras*lämpötila	9	0,265	1,686	0,088
naaras*koiras*lämpötila	18	0,185	1,181	0,269
virhe	908	0,157		
Ryhmä C				
korjattu malli	47	0,717	3,741	<0,001
naaras	2	3,589	18,737	<0,001
koiras	3	1,998	10,432	<0,001
lämpötila	3	2,177	11,364	<0,001
naaras*koiras	6	0,250	1,303	0,253
naaras*lämpötila	6	0,448	2,337	0,030
koiras*lämpötila	9	0,389	2,029	0,033
naaras*koiras*lämpötila	18	0,169	0,881	0,602
virhe	806	0,192		

Liite 3 Poikasen pituuden GLM-taulu

Lähde	df	MS	F	p-arvo
Poikasen pituus				
Ryhmä A				
korjattu malli	47	0,735	9,374	<0,001
naaras	2	3,106	39,614	<0,001
koiras	3	0,903	11,515	<0,001
lämpötila	3	6,774	86,413	<0,001
naaras*koiras	6	0,138	1,766	0,108
naaras*lämpötila	6	0,096	1,230	0,293
koiras*lämpötila	9	0,146	1,856	0,061
naaras*koiras*lämpötila	18	0,143	1,827	0,025
virhe	192	0,078		
Ryhmä B				
korjattu malli	47	1,104	13,995	<0,001
naaras	2	10,501	133,082	<0,001
koiras	3	0,099	1,256	0,291
lämpötila	3	8,322	105,467	<0,001
naaras*koiras	6	0,089	1,133	0,344
naaras*lämpötila	6	0,287	3,636	0,002
koiras*lämpötila	9	0,144	1,831	0,065
naaras*koiras*lämpötila	18	0,110	1,390	0,140
virhe	191	0,079		
Ryhmä C				
korjattu malli	47	0,410	4,792	<0,001
naaras	2	0,254	2,974	0,054
koiras	3	0,698	8,165	<0,001
lämpötila	3	4,033	47,187	<0,001
naaras*koiras	6	0,056	0,651	0,689
naaras*lämpötila	6	0,146	1,708	0,121
koiras*lämpötila	9	0,163	1,909	0,053
naaras*koiras*lämpötila	18	0,089	1,038	0,419
virhe	189	0,085		

Liite 4 Ruskuaisen tilavuuden GLM-taulu

Lähde	df	MS	F	p-arvo
Ruskuaisen tilavuus				
Ryhmä A				
korjattu malli	47	0,061	17,596	<0,001
naaras	2	0,073	20,972	<0,001
koiras	3	0,023	6,681	<0,001
lämpötila	3	0,684	197,265	<0,001
naaras*koiras	6	0,008	2,192	0,045
naaras*lämpötila	6	0,039	11,149	<0,001
koiras*lämpötila	9	0,009	2,694	0,006
naaras*koiras*lämpötila	18	0,013	3,830	<0,001
virhe	192	0,003		
Ryhmä B				
korjattu malli	47	0,075	26,407	<0,001
naaras	2	0,111	39,068	<0,001
koiras	3	0,006	2,203	0,089
lämpötila	3	0,919	323,500	<0,001
naaras*koiras	6	0,013	4,455	<0,001
naaras*lämpötila	6	0,055	19,374	<0,001
koiras*lämpötila	9	0,003	1,188	0,305
naaras*koiras*lämpötila	18	0,005	1,720	0,039
virhe	191	0,003		
Ryhmä C				
korjattu malli	47	0,030	12,394	<0,001
naaras	2	0,020	8,214	<0,001
koiras	3	0,015	6,141	0,001
lämpötila	3	0,322	133,007	<0,001
naaras*koiras	6	0,005	2,133	0,051
naaras*lämpötila	6	0,026	10,857	<0,001
koiras*lämpötila	9	0,007	3,014	0,002
naaras*koiras*lämpötila	18	0,004	1,695	0,043
virhe	189	0,002		

Liite 5 Poikasen kuivapainon GLM-taulu

Lähde	df	MS	F	<i>p</i> -arvo
Poikasen kuivapaino				
Ryhmä A				
korjattu malli	47	0,002	2,070	<0,001
naaras	2	0,009	8,213	<0,001
koiras	3	0,002	2,144	0,096
lämpötila	3	0,006	5,160	0,002
naaras*koiras	6	0,001	0,926	0,477
naaras*lämpötila	6	0,004	3,522	0,002
koiras*lämpötila	9	0,002	1,365	0,207
naaras*koiras*lämpötila	18	0,001	1,109	0,346
virhe	192	0,001		
Ryhmä B				
korjattu malli	47	0,004	4,289	<0,001
naaras	2	0,011	10,745	<0,001
koiras	3	0,001	0,832	0,478
lämpötila	3	0,038	36,226	<0,001
naaras*koiras	6	0,002	2,065	0,059
naaras*lämpötila	6	0,004	3,874	0,001
koiras*lämpötila	9	0,001	1,006	0,437
naaras*koiras*lämpötila	18	0,001	1,326	0,175
virhe	191	0,001		
Ryhmä C				
korjattu malli	47	0,003	2,750	<0,001
naaras	2	0,022	23,587	<0,001
koiras	3	0,001	0,811	0,489
lämpötila	3	0,003	3,084	0,029
naaras*koiras	6	0,001	1,259	0,278
naaras*lämpötila	6	0,002	2,478	0,025
koiras*lämpötila	9	0,001	0,678	0,729
naaras*koiras*lämpötila	18	0,002	2,157	0,006
virhe	189	0,001		

Liite 6 Päiväasteet ja kertyneiden päivien lukumäärä

Taulukossa esitettyinä perheen keskimääräinen kuoriutumishetken mennessä kertynyt päiväasteiden summa (d°) ja kertyneiden päivien lukumäärä (lkm) sekä niiden keskihajonnat (SD) käsittelylämpötiloittain. Hedelmöityserhmät jaettuna katkoviivalla.

Perhe	2,2 °C				4,0 °C				6,9 °C				8,0 °C			
	d°	SD	lkm	SD	d°	SD	lkm	SD	d°	SD	lkm	SD	d°	SD	lkm	SD
F1M1	402,9	17,0	212,3	3,9	627,1	64,7	168,8	14,8	751,9	89,5	112,8	12,4	679,5	65,1	87,9	8,6
F1M2	398,6	14,4	211,7	2,7	615,9	52,0	166,4	12,3	734,1	94,4	110,3	13,1	715,1	58,2	92,7	7,8
F1M3	410,5	25,0	213,8	4,3	628,3	61,2	169,1	14,1	754,8	81,7	113,2	11,3	726,3	67,0	94,4	8,4
F1M4	404,1	23,4	212,6	4,2	666,6	84,2	178,4	17,6	775,4	81,2	116,1	11,2	763,0	39,2	98,9	5,0
F2M1	364,8	33,4	199,6	14,3	572,3	47,7	156,1	11,3	674,9	66,7	102,2	9,3	672,9	61,7	87,1	8,1
F2M2	376,5	24,8	204,6	10,6	567,9	46,9	155,1	11,1	685,0	98,6	103,5	13,7	628,1	94,8	81,5	12,3
F2M3	378,7	26,7	205,1	11,0	599,1	50,0	162,4	11,8	713,9	106,6	107,5	14,8	669,8	88,7	86,8	11,5
F2M4	393,1	8,8	210,7	1,7	605,6	56,6	163,9	13,3	695,2	104,8	104,9	14,5	738,8	84,4	95,7	10,9
F3M1	395,4	14,2	211,0	3,1	634,3	80,0	170,3	17,6	830,8	152,7	123,6	21,0	759,2	91,4	98,2	8,4
F3M2	393,0	9,6	210,6	1,9	675,4	88,9	179,5	19,2	810,5	132,1	120,9	18,2	796,5	69,0	102,7	8,3
F3M3	393,9	12,1	210,8	2,7	696,7	88,3	184,2	18,9	892,6	113,8	132,2	15,7	815,0	61,6	104,9	7,1
F3M4	400,0	20,8	211,8	3,7	684,0	96,6	181,3	20,7	885,6	122,9	131,2	16,9	795,7	42,4	102,7	5,0
F4M5	386,4	27,3	206,6	8,8	655,5	121,7	174,5	26,9	820,4	98,4	122,2	13,5	819,8	80,1	105,3	9,4
F4M6	410,0	38,3	210,9	10,1	650,2	111,0	173,4	24,3	726,5	67,7	109,2	9,4	744,2	50,7	96,7	6,4
F4M7	392,6	29,2	209,0	5,0	614,9	85,9	165,1	19,0	736,9	97,4	110,7	13,5	727,3	49,5	94,6	6,3
F4M8	380,7	25,9	205,6	10,4	722,5	101,5	189,3	21,8	772,2	83,8	115,5	11,6	800,2	88,0	103,1	10,3
F5M5	381,3	5,5	208,2	1,1	658,2	58,6	175,9	12,8	728,1	125,8	109,4	17,4	590,8	64,9	76,8	8,3
F5M6	384,0	7,9	207,3	2,2	646,3	59,5	173,3	13,1	783,2	69,9	117,0	9,7	630,8	100,1	82,1	12,9
F5M7	388,7	7,6	208,4	1,6	641,1	55,9	172,1	12,4	761,5	85,8	114,1	11,8	641,6	62,6	83,2	8,2
F5M8	388,9	6,3	208,5	1,2	658,8	47,0	176,2	10,1	785,0	117,1	117,3	16,2	616,4	78,3	80,1	10,2
F6M5	401,4	22,9	210,8	4,1	662,4	71,7	176,7	15,4	818,9	110,5	122,0	15,2	763,3	75,6	98,9	9,1
F6M6	403,1	29,2	211,0	5,0	663,4	48,3	177,3	10,2	783,7	67,5	117,2	9,3	774,5	60,0	100,2	7,0
F6M7	402,7	20,1	211,1	3,5	646,2	17,6	173,6	4,0	794,5	76,1	118,6	10,5	734,5	63,6	95,3	8,3
F6M8	407,3	23,8	211,9	4,1	687,9	79,9	182,2	17,1	845,7	105,6	125,6	14,5	761,8	26,5	98,9	3,1
F7M9	412,9	26,7	213,2	5,2	826,8	103,6	211,1	22,0	809,9	132,2	120,7	18,2	802,4	101,6	103,2	12,3
F7M10	447,2	37,7	218,6	6,3	729,5	79,0	191,1	16,6	799,7	120,6	119,3	16,6	849,5	89,0	108,8	10,0
F7M11	425,0	36,7	214,8	6,2	758,1	82,8	197,0	17,4	853,3	89,6	126,7	12,3	818,6	80,2	105,3	9,2
F7M12	430,0	27,6	215,8	4,6	845,4	76,4	215,1	15,7	851,4	152,2	126,4	20,9	820,0	94,9	105,2	12,0
F8M9	393,3	9,1	209,4	1,8	743,8	113,8	193,8	24,1	909,6	83,6	134,4	11,4	788,7	34,9	102,0	3,9
F8M10	406,7	30,8	211,6	5,3	706,8	106,4	185,9	22,8	844,8	107,6	125,5	14,8	769,2	67,2	99,6	8,0
F8M11	396,3	12,0	209,9	2,3	812,4	105,5	208,1	22,3	786,1	111,2	117,4	15,3	789,9	50,3	102,1	5,7
F8M12	402,0	18,4	211,0	3,3	752,8	116,5	195,8	24,5	857,3	131,7	127,2	18,1	803,8	63,8	103,7	7,1
F9M9	404,8	30,9	211,5	5,1	700,1	79,4	184,8	17,0	826,4	110,8	123,0	15,3	769,1	66,7	99,5	8,2
F9M10	427,5	36,6	215,3	6,1	667,8	100,6	177,7	22,9	826,3	96,8	123,0	13,3	709,1	83,4	91,9	10,8
F9M11	402,8	23,9	210,9	4,4	723,6	77,0	189,9	16,1	805,6	108,0	120,1	14,8	789,2	106,8	101,6	12,5
F9M12	416,5	27,9	213,5	4,7	718,3	108,3	188,4	24,1	848,6	88,3	126,1	12,1	790,5	63,4	102,1	7,5