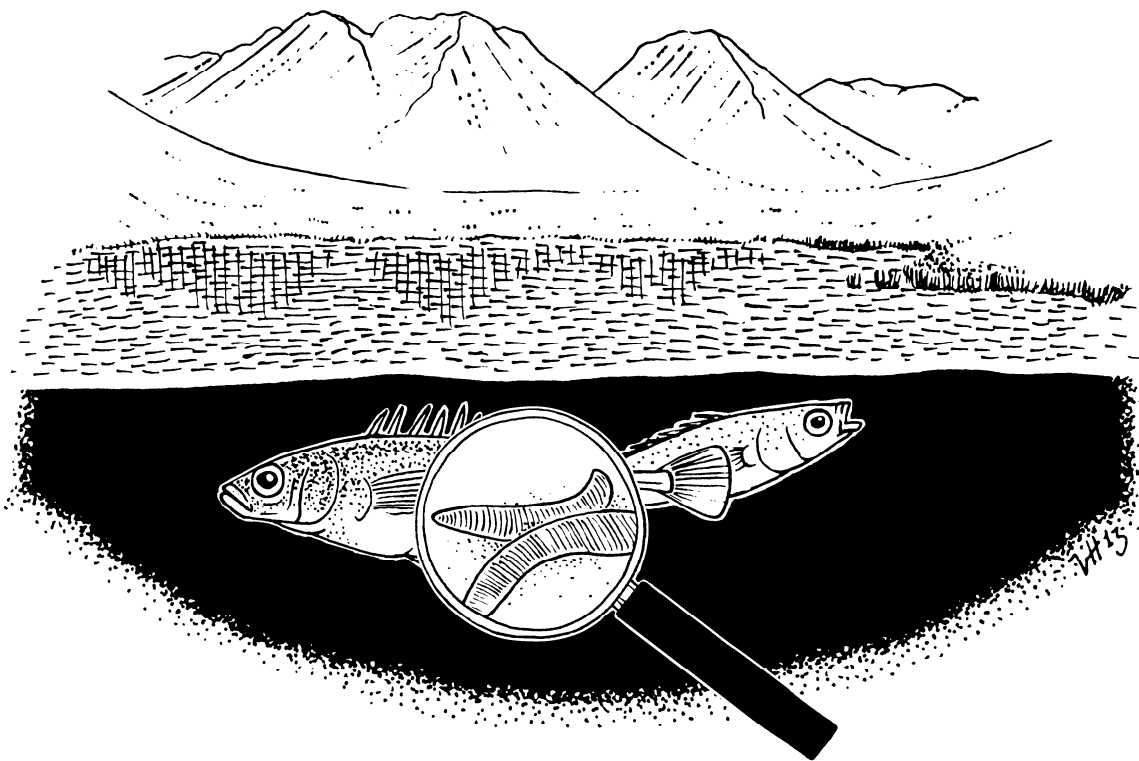


# Ekologian, ympäristön ja kalan sukupuolen vaikutus sympatristen kolmipiikkiekotyyppien loisyhteisöihin Islannissa

Maiju Lanki



Pro gradu -tutkielma

Ekologia ja evoluutiobiologia  
Biotieteiden laitos  
Helsingin yliopisto

Tammikuu 2013



Tiedekunta – Fakultet – Faculty Bio- ja ympäristötieteellinen tiedekunta		Laitos – Institution– Department Biotieteiden laitos	
Tekijä – Författare – Author Maiju Annika Lanki			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Ekologian, ympäristön ja sukupuolen vaikutus sympatristen kolmipiikkiekotyyppien loisyhteisöihin Islannissa			
Oppiaine – Läroämne – Subject Ekologia ja evoluutiobiologia			
Työn laji – Arbetets art – Level Pro gradu -tutkielma		Aika – Datum – Month and year Tammikuu 2013	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 47
Tiivistelmä – Referat – Abstract			
<p>Adaptiivinen radiaatio eli sopeutumislevittäytyminen on tärkeä evoluutiomekanismi, jonka seurauksena voi syntyä sympatrisia lajeja tai ekotyyppejä. Loisinta voi muiden biologisten interaktioiden ohella edesauttaa lajiutumisprosessia isännän kelpoisuuden heikentymisen ja luonnonvalinnan kautta. Loisyhteisöihin ja niiden aiheuttamiin valintapaineisiin vaikuttavat isännän ekologian (esimerkiksi habitaatin ja ravinnonkäytön) lisäksi abioottiset ympäristötekijät, kaloilla esimerkiksi veden laatu ja lämpötila. Näiden tekijöiden välisten vaikutussuhteiden merkitystä loisten aiheuttamassa lajiutumisprosessissa ei tunneta. Myös isännän sukupuolten loisyhteisöerot voivat vaikuttaa lajiutumiseen.</p> <p>Tässä tutkimuksessa tarkastelen sympatristen kolmipiikkiekotyyppien (<i>Gasterosteus aculeatus</i>) sekä kolmipiikin naaras- ja koirasyksilöiden välisiä loisyhteisöeroja Thingvallavatn- ja Mývatn-järvissä Islannissa. Sympatriset muta- ja laavaekotyyppit elävät järvissä ekotyypeittäin samanlaisissa habitaateissa, mutta päinvastaisissa veden lämpötiloissa. Tämä mahdollistaa loisyhteisörakenteen vertailun isännän ekologian ja veden lämpötilan suhteen. Thingvallavatn-järvessä elää edellisten lisäksi kylmän veden pelagiaalinen nitellaekotyyppi.</p> <p>Pyydystin molemmista järvistä otoksen kustakin kolmipiikkiekotyyppistä ja määritin kalojen loislajiston. Loiset kuuluivat viiteen eri sukuun: imumadot <i>Apatemon</i> ja <i>Diplostomum</i> sekä heisimadot <i>Diphyllobothrium</i>, <i>Proteocephalus</i> ja <i>Schistocephalus</i>. Havaitsemistani loisista suurimmalla osalla on haitallisia vaikutuksia kalan yleiskuntoon ja kelpoisuuteen.</p> <p>Veden lämpötila vaikutti samalla tavoin loisten kokonaismäärään molemmissa tutkimusjärvissä; lämpimämmässä vedessä elävillä kaloilla oli enemmän imu- ja heisimatoja ekotyyppistä riippumatta. Havaitsin myös, että Thingvallavatn-järven kylmän veden ekotyypeistä pelagiaalisella nitellaekotyyppillä oli enemmän loisia kuin laavaekotyyppillä. Kalan sukupuoli vaikutti loisten kokonaismäärään ainoastaan Thingvallavatn-järven laava- ja nitellaekotyypeillä siten, että koirailta oli naaraista enemmän heisimatoja.</p> <p>Tulokseni osoittivat samankaltaisuuksia yhtenevässä lämpötiloissa elävien kolmipiikkien loisyhteisöissä ekotyyppistä riippumatta, mikä osoittaa, että ympäristö vaikuttaa loisintaan enemmän kuin isännän ekologia. Järvissä on siis syntynyt samankaltaisia ekotyyppejä päinvastaisen loisintapaineen alla. Tämä taas tukee ajatusta, että loiset eivät todennäköisesti ole aloittaneet kolmipiikkiekotyyppien erilaistumisprosessia, vaan erot loisinnassa ovat syntyneet prosessin myöhemmässä vaiheessa. Tämä on yksi ensimmäisistä tutkimuksista, joka ottaa kantaa keskeiseen kysymykseen siitä, missä isännän eriytymisen vaiheessa loisyhteisöt erilaistuvat ja siten voivat vaikuttaa lajiutumisprosessiin. Kylmän veden nitella- ja laavaekotyyppien vertailu kuitenkin osoittaa, että myös isännän ekologialla on usein merkittävä rooli loisyhteisöjen muodostumisessa. Sukupuolten väliset erot loisaltistuksessa ovat taas todennäköisesti yhteydessä kunkin kalapopulaation ja järven erityispiirteisiin.</p> <p>Tutkimukseni tulokset viittaavat siihen, ettei loisten merkitystä evoluutiotekijänä voi määrittellä pelkästään ekologisten tai ympäristömuuttujien perusteella. Tulevaisuudessa onkin keskeistä selvittää yksityiskohtaisesti, missä lajiutumisprosessin vaiheessa loisyhteisöt alkavat eriytyä. Tämän tiedon avulla voidaan muodostaa ehempi kokonaiskuva loisten merkityksestä adaptiivisessa radiaatioissa.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Adaptiivinen radiaatio, <i>Gasterosteus aculeatus</i> , lois-isäntä-suhde, lajiutuminen, ekotyyppi, <i>Diplostomum</i>			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors Akatemiatutkija Anssi Karvonen, Bio- ja ympäristötieteiden laitos, Jyväskylän yliopisto			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Viikin tiedekirjasto, Helsingin yliopisto			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			



Tiedekunta – Fakultet – Faculty The Faculty of Biological and Environmental Sciences		Laitos – Institution– Department Department of Biosciences	
Tekijä – Författare – Author Maiju Annika Lanki			
Työn nimi – Arbetets titel – Title The effects of ecology, environment and sex on parasite communities of sympatric Icelandic three-spine stickleback			
Oppiaine – Läroämne – Subject Ecology and Evolutionary Biology			
Työn laji – Arbetets art – Level Master's Thesis		Aika – Datum – Month and year January 2013	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 47
Tiivistelmä – Referat – Abstract Adaptive radiation is an important mechanism of evolution, which can lead to emergence of sympatric species or morphotypes. Among other biological interactions, parasitic pressure can have significant evolutionary implications for host populations by reducing the fitness of the host individuals. Parasite community structure of fishes is typically strongly dependent on both host ecology (e.g. habitat and feeding behaviour) and environmental factors (e.g. water quality and temperature). However, the relative importance of these factors for parasite-mediated speciation is not known. Also, host gender-specific differences in parasite communities can have an effect on the differentiation of host morphs. In this Master's thesis, I focused on differences in parasite communities of sympatric morphs of three-spine stickleback ( <i>Gasterosteus aculeatus</i> ) in two large Icelandic lakes, Thingvallavatn and Mývatn. In these lakes, the habitats of sympatric mud and lava morphs are the same (soft/hard bottom), but the habitat water temperatures are opposite between the lakes. In this unique system, it is thus possible to compare between the effects of host ecology and water temperature on parasite community structure and strength of parasite-mediated selection. Additionally, I studied the effect of host sex on the parasitic pressure. There is also a third stickleback morph, Nitella morph, inhabiting the cold limnetic habitats in Lake Thingvallavatn. I sampled the stickleback morphs from both lakes and identified their parasite species. I discovered a total of five parasite genera: trematodes <i>Apatemon</i> and <i>Diplostomum</i> , and cestodes <i>Diphyllobothrium</i> , <i>Proteocephalus</i> and <i>Schistocephalus</i> . Most of the observed parasites have negative effects on health and fitness of the host. I found more parasites in sticklebacks living in higher temperature in both lakes regardless of the morph. When comparing the cold water morphs in Thingvallavatn, parasite abundance was higher in the limnetic Nitella morph than in the shallow water lava morph. Fish gender had an effect on parasitism only in Thingvallavatn as males of both lava and Nitella morphs were more heavily infected with cestodes. Similarities in parasite communities with water temperature indicate that water temperature mainly determines parasite infections in this system instead of host ecology. As similar fish morphotypes exist in different lakes under opposite parasitic pressure, parasitism has unlikely initiated host differentiation, but differences in infection probably have emerged secondary to the ecological specialization of the morphs to different habitats. These results are among the first to tackle the key question in parasite-mediated divergent selection: at which point of the speciation process parasite communities become differentiated and thus can have an effect on speciation. However, the comparison between the cold water morphs (lava and Nitella) indicates that although water temperature seems to be the main factor controlling infections in this system, its effect may still be over ridden by host ecology. Sex-dependent differences in parasitic pressure, on the other hand, are likely to reflect specific characteristics of each fish population and lake. These results suggest complex interactions between host ecology and abiotic environment, such as water temperature, in determining the parasite community structure. Hence both factors have to take into consideration when studying the role of parasites in speciation processes. In future, it is necessary to pinpoint the stage of the host speciation process when parasite infections become differentiated in replicated systems to gain comprehensive understanding of the role of parasites in adaptive radiations.			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Adaptive radiation, <i>Gasterosteus aculeatus</i> , host-parasite interactions, speciation, morphotype, <i>Diplostomum</i>			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors Academy researcher Anssi Karvonen, Dept. of Biological and Environmental Science, University of Jyväskylä			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Viikki Science Library, University of Helsinki			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

# Sisällysluettelo

1. JOHDANTO .....	2
1.1 Adaptiivinen radiaatio ja lajiutuminen.....	2
1.2 Kalojen adaptiivinen radiaatio.....	3
1.3 Loisten merkitys lajiutumisessa .....	4
1.4 Loisyhteisöjen erot isännän eri sukupuolilla.....	6
1.5 Tutkimuksen tavoitteet.....	7
2. AINEISTO JA MENETELMÄT .....	8
2.1 Tutkimusalue: Islanti.....	8
2.2 Tutkimusjärvien kuvaus .....	9
2.2.1 Thingvallavatn.....	9
2.2.2 Mývatn .....	10
2.3 Kolmipiikki <i>Gasterosteus aculeatus</i> L. ....	11
2.3.1 Islannin sisävesien kolmipiikkiekotyyppien kuvaus.....	12
2.4 Tutkimusmenetelmät .....	13
2.4.1 Kolmipiikkien pyynti.....	13
2.4.2 Kalojen käsittely ja laboratoriomenetelmät .....	16
2.4.3 Tilastomenetelmät.....	17
3. TULOKSET .....	19
3.1 Kolmipiikin loisyhteisöt.....	19
3.1.1 Thingvallavatn.....	21
3.1.2 Mývatn .....	22
3.2 Ekotyypin ja lämpötilan vaikutus loisintaan .....	23
3.3 Sukupuolten väliset erot loisinnassa .....	29
4. TULOSTEN TARKASTELU .....	31
4.1 Järvien väliset erot kolmipiikkiekotyyppien loisyhteisöissä .....	31
4.2 Ekotyypin ja veden lämpötilan vaikutus loisintaan.....	34
4.3 Sukupuolten väliset erot loisinnassa .....	37
4.4 Johtopäätökset .....	39
KIITOKSET .....	40
KIRJALLISUUS.....	41

# 1. Johdanto

## 1.1 Adaptiivinen radiaatio ja lajiutuminen

Evoluutiolla tarkoitetaan sukupolvien aikana tapahtuvia muutoksia populaation periytyvissä ominaisuuksissa, kuten yksilöiden ulkomuodossa ja käyttäytymisessä. Adaptiivinen radiaatio eli sopeutumislevittäytyminen on tärkeä evoluutiomekanismi. Sillä tarkoitetaan kantalajin tai -lajiryhmän jakautumista uusiksi lajeiksi, jotka ovat sopeutuneet toisistaan poikkeaviin elinympäristöihin tai ekologiisiin lokeroihin. Lajiutuminen voi saada alkunsa kantalajin levittäytymisestä uuteen ympäristöön, jossa kilpailu on vähäistä ja yksilöt voivat hyödyntää uusia ravinto- ja ympäristöresursseja. Lajiutumista voi edistää myös kantalajin omassa elinympäristössä tapahtuvat muutokset, jolloin resursseista kilpailevien lajien populaatio saattaa romahtaa tai kantalaji voi vahvistua ylivoimaiseksi muiden lajien kustannuksella. Kilpailun väheneminen voi tehostaa alkuperäisen lajin jakautumista useiksi uusiksi lajeiksi. Myös joidenkin ominaisuuksien ja sopeutumien yleistyminen populaatiossa voi parantaa lajienvälistä kilpailumenestystä sekä tehostaa jo olemassa olevien resurssien hyödyntämistä ja siten johtaa uusien lajien syntyyn (Schluter 2000; Ridley 2004; Freeman & Herron 2007).

Lajiutuminen vaatii kahden populaation välille kehittyvän lisääntymisestä, joka voi syntyä joko maantieteellisen isolaation, yksilöiden ominaisuuksien monimuotoisuuden kasvun tai luonnonvalinnan seurauksena. *Allopatrisella lajiutumisella* tarkoitetaan tilannetta, jossa maantieteellisesti eriytyneet populaatiot kehittyvät omiksi lajeikseen. Geenien vaihdunta allopatristen populaatioiden välillä on joko rajoittunutta tai täysin estynyttä. *Parapatrisen lajiutuminen* tapahtuu maantieteellisesti jatkuvan populaation ääripäiden välillä. Syntyneitä lajeja saattaa erottaa hybridivyöhyke, jonka yksilöiden elinkelpoisuus on heikko. *Sympatrisella lajiutumisella* tarkoitetaan lajiutumista ilman maantieteellistä eriytymistä. Tässä tapauksessa lisääntymisisolaatio kehittyy yksilöiden monimuotoisuuden ja sitä seuraavan luonnonvalinnan seurauksena. Esimerkiksi erilaiset ekologiset lokerot tai pariumista edeltävät käyttäytymismallit voivat poiketa toisistaan siten, ettei pariumista tapahdu (Ridley 2004; Tirri ym. 2006).

Adaptiivisen radiaation tunnusmerkkejä ovat lajeille yhteinen esi-isä sekä sellaiset morfologiset ja fysiologiset piirteet, jotka edesauttavat ympäristön tehokasta hyödyntämistä, ja toisaalta näiden ominaisuuksien muuntuminen ympäröiviin resursseihin sopiviksi. Lisäksi lajiutuminen on yleensä nopeaa (Smith & Skúlason 1996; Schluter 2000). Ennen varsinaisen uuden lajin syntyä populaation sisällä tavataan erilaisia adaptaatioita ja

vähitellen kantalajista erkaantuvia ekotyyppejä (engl. morph/ecotype), jotka ovat geneettisesti sopeutuneita tiettyyn, usein rajoittuneeseen habitaattiin, mutta kykenevät vielä risteytymään toisiin ekotyyppeihin kuuluvien yksilöiden kanssa (West-Eberhart 1986; Ridley 2004; Tirri 2006). Ekotyyppien säilyminen on riippuvaista ekologisista ja fysiologisista lisääntymisesteistä (Gow ym. 2007), jotka ovat yleisimmin habitaatti- ja käyttäytymiseroja (Ridley 2004; Foster ym. 2008). Hyvin tunnettuja sekä paljon käytettyjä ja tutkittuja esimerkkejä adaptiivisesta radiaatiosta ovat jo Charles Darwinin (1859) kuvaamat lukuisat Galápagossaarten sirkkulajit sekä Afrikan Victoriajärven yli 250 kirjoahvenlajia (esim. Van Oijen 1981; Seehausen 2006).

## 1.2 Kalojen adaptiivinen radiaatio

Samankaltaisten ekotyyppien kehittyminen toistuvasti ja toisistaan riippumatta samankaltaisissa ympäristöolosuhteissa elävissä populaatioissa on esimerkki paralleelisesta evoluutiosta (Schluter & Nagel 1995; Rundle ym. 2000). Eriytymistä ekotyypeiksi on tutkittu useilla eri kalalajeilla, ja nämä tutkimukset tarjoavat erinomaisia esimerkkejä adaptiivisesta radiaatiosta.

Jääkausi jätti jälkeensä monimutkaisia, toisistaan eristyneitä sisävesiä. Mereistä kantamuotoa olleet kalat levisivät sisävesiin useita eri kertoja eri puolella pohjoista pallonpuoliskoa. Aiemmin kolonisoimaton ympäristö käyttämättömine resursseineen edesauttoi tehokkaasti lajiutumista (Smith & Skúlason 1996). Nopeita lajiutumistapahtumia on kuvattu erityisesti nieriöillä (*Salvelinus alpinus*) (esim. Magnusson & Ferguson 1987; Sandlund ym. 1992a; Skúlason ym. 1999; Knudsen ym. 2006, 2008, 2010) sekä kolmipiikeillä (*Gasterosteus aculeatus*) (esim. Lavin & McPhail 1985; Schluter 1993; Bell & Foster 1994; Cresko & Baker 1996; Kristjánsson ym. 2002a; McKinnon & Rundle 2002), joilla samanlaisia ekotyyppejä on kehittynyt useita kertoja toisistaan riippumatta. Sveitsissä siikojen (*Coregonus* sp.) luonnonpopulaatioissa esiintyvät ekotyypit ovat olleet niin ikään viimeaikaisten tarkastelujen kohteena (Vonlanthen ym. 2009; Hudson ym. 2011). Maailmanlaajuisestikin ainutlaatuinen adaptiivisen radiaation malli on Afrikan järvien kirjoahvenlajien valtava monimuotoisuus (Van Oijen ym. 1981; Seehausen 2006; Wagner ym. 2012).

Ympäröivien resurssien erilaiset hyödyntämistavat ovat keskeisiä kalojen adaptiivisessa radiaatiossa (Smith & Skúlason 1996). Knudsen ym. (2006, 2010) havaitsivat nieriän yksilöiden erikoistumisen eri ravinnonkäyttötapoihin edesauttavan sympatristen ekotyyppien

syntyä ja siten alkavaa lajiutumista. Samankaltaiseen tulokseen päätyivät Snorrason ym. (1994) ja Amundsen ym. (2008) tutkiessaan nieriäekotyyppien ravinnonkäyttöeroja. Vastaavia eroja ekotyyppien ravinnonkäytössä ovat havainneet kolmipiikkeillä mm. Bentzen & MacPhail (1984), Lavin & McPhail (1985) ja Schluter (1993) ja sioilla Vonlanthen ym. (2008).

Viime vuosina evoluutiotutkimuksessa on kiinnostuttu myös MHC-ryhmän geenien vaikutuksesta lajiutumiseen. MHC eli major histocompatibility complex tarkoittaa selkärankaisilla eläimillä esiintyvää geeniperhettä, joka koostuu lukuisista kudosityhteensopivuuden geeneistä. MHC-molekyylit ovat tärkeässä osassa selkärankaisten vastustuskyvyn muodostumisessa sekä autoimmunitetissä (Tirri ym. 2006). MHC-geeneillä on merkittävä rooli myös seksuaalivalinnassa (Milinski 2006) ja siten mahdollisesti myös lajiutumisessa. Makeanveden kaloilla tehdyt tutkimukset (Wegner ym. 2003; Blais ym. 2007; Eizaguirre ym. 2009a, 2009b) tukevat tätä teoriaa.

### **1.3 Loisten merkitys lajiutumisessa**

Lajien väliset interaktiot ovat keskeisiä evoluution ja lajiutumisen kannalta. Kilpailun lisäksi on viime aikoina alettu huomioida myös muita tekijöitä, kuten predaation ja loisinnan merkitystä (Schluter 2000; Buckling & Rainey 2002; Gandon 2002; Doucette ym. 2004). Loisinnan vaikutus on kuitenkin huomioitu evoluutiotutkimuksissa vain harvoin, vaikka loisten monimuotoisuus, vaikutukset isäntäeliöön ja yleisyys kaikilla luonnonvaraisilla eliölajeilla ovatkin itsessään hyvin tiedostettuja tutkimuskohteita. Summers ym. (2003) totesivat yksiselitteisesti loisinnan edistävän isäntälajiensisäistä geneettistä ja fenotyyppistä monimuotoisuutta ja siten mahdollisesti vaikuttavan lajiutumiseen. Teoriaa tukee myös tutkimus, jossa MacColl (2009b) tarkasteli loisten vaikutusta kolmipiikkien adaptiiviseen radiaatioon. Hän löysi viitteitä siitä, että loisinta saattaa vaikuttaa kolmipiikkien perimään ja ulkomuotoon, ja siten edistää lisääntymisisolaatiota ja lajiutumista. Wegner ym. (2003) havaintojen mukaan loisaltistus edistää MHC-genotyyppien monimuotoisuutta sekä yksilö-että populaatiotasolla. Myös Buckling & Rainey (2002) havaitsivat loisten lisäävän diversiteettiä ja siten kiihdyttävän eliölajien sympatrista ja allopatrista evoluutiota. On mahdollista, että loisten aikaansaama valintapaine edistää muutoksia isäntäeläimen seksuaalivalinnassa ja lisääntymiskäyttäytymisessä (Barber ym. 2001), immunologiassa (Kalbe & Kurtz 2005; Scharsack ym. 2007), fenotyyppissä (mm. LoBue & Bell 1993; MacColl 2009b) ja jopa koko elinkaareissa (Agnew ym. 2000).

Jotta loisten voidaan olettaa vaikuttavan lajiutumiseen, toisistaan eriytyvässä olevien isäntäpopulaatioiden (kuten ekotyypin) loisyhteisöissä täytyy olla pysyviä eroja (Karvonen & Seehausen 2012). Lisäksi ekotyypin loisyhteisöiden samankaltaisuus eri populaatioissa voi tarkoittaa, että loiset ovat toimineet lajiutusprosessin alullepanijoina (MacColl 2009a). Tunnetusta teoriasta huolimatta vain hyvin harvoissa tutkimuksissa on kuvattu loisinnan eroja läheisillä lajeilla tai ekotyypeillä saman maantieteellisen alueen sisällä. Kalaekotyypin loisyhteisöeroista ovat raportoineet MacColl (2009a), Eizaguirre ym. (2011) ja Natsopoulou ym. (2012) kolmipiikeillä, Knudsen ym. nieriöillä (1997), Knudsen ym. (2003) ja Karvonen ym. (2012) siioilla sekä Blais ym. (2007) ja Maan ym. (2008) kirjoahvenilla. Vielä harvemmin (Knudsen ym. 2003; MacColl 2009a, Natsopoulou ym. 2012; Karvonen ym. 2012) on kuvattu loisyhteisöeroja samankaltaisten ekotyypin välillä eri järvissä. Tutkimusten vähäisyyden vuoksi tulokset ekotyypin loisinnan eroista eivät vielä ole yleistettävissä, eikä loisten merkitystä lajiutusprosessin eri vaiheissa tunneta kovin hyvin. Monet edellä mainituista tutkimuksista ovat korostaneet isännän ekologian vaikutusta kalaekotyypin erilaisiin loisyhteisöihin. Esimerkiksi isännän habitaatti, ravinnonkäyttö ja sijainti ravintoketjussa sekä ekologinen kilpailu vaikuttavat keskeisesti loisyhteisöihin (Poulin 2007). Lisäksi loisten väli-isäntien esiintyminen on laikuttaista (Jokela & Lively 1995; Byers ym. 2008; Faltýnková ym. 2008), minkä vuoksi eri ympäristöissä elävät ja erilaisia resursseja hyödyntävät ekotyypit altistuvat eri tavoin loisille.

Loisyhteisöihin vaikuttavat isännän ekologian lisäksi myös lukuisat abioottiset ympäristötekijät. Akvaattisessa ympäristössä veden laatu ja lämpötila ovat keskeisiä loislajistoon ja loisten runsauteen vaikuttavia tekijöitä (esim. Marcogliese & Cone 1996; Halmetoja ym. 2000). Myös ihmisen aiheuttamat muutokset vesiympäristössä (happamoituminen ja rehevöityminen, saasteet) heijastuvat loisyhteisöjen rakenteeseen (esim. Khan & Thulin 1991, Lafferty 1997, Valtonen ym. 1997, Karvonen ym. 2012). Muutokset veden lämpötilassa vaikuttavat suoraan loisten lisääntymiseen, vapautumiseen selkärangattomista väli-isännistä ja transmissioon eri isäntien välillä. Kylmässä vedessä loisia kehittyä ja siirtyä uusiin isäntiin huomattavasti lämmintä vettä vähemmän (Karvonen ym. 2004a, Poulin 2006, 2007). Ympäristötekijöiden vaikutusta sympatristen tai allopatristen kalaekotyypin loisyhteisöihin ei sen sijaan ole juurikaan tutkittu, minkä vuoksi isäntäkalan ekologian ja ympäristötekijöiden välisten vuorovaikutusten merkitystä lajiutusprosessiin ei tunneta. On viitteitä siitä, että loiset voivat vaikuttaa esimerkiksi ekotyypin eriytymiseen ja kolmipiikkien nopeaan lajiutumiseen (MacColl 2009b; Karvonen & Seehausen 2012), mutta teorian testaamiseksi tarvitaan tutkimustietoa loisinnasta eri kalalajeilla replikoiduissa populaatioissa ja erilaisissa ympäristöoloissa.



## 1.4 Loisyhteisöjen erot isännän eri sukupuolilla

Saman lajin naaraiden ja koiraiden erilainen panostus lisääntymiseen sekä sukupuolten väliset erot ravinnonkäytössä, fysiologiassa ja immunokompetenssissa saattavat johtaa merkittäviin eroihin eri sukupuolten loistaakassa. Loiserot sukupuolten välillä voivat vaikuttaa voimakkaasti parinvalintaan. Esimerkiksi naaraiden on todettu välttävän loisittuja koiraita (Milinski & Bakker 1990; Møller ym. 1999). Lisäksi Eizaguirre ym. (2009b) havaitsivat, että MHC-genotyyppi vaikutti koiraiden loisimmunitettiin, ja että naaraat suosivat paremman vastustuskyvyn omaavia koiraita. Loisten aikaansaama seksuaalikäyttäytymisen muuttuminen voi siten ainakin teoriassa edesauttaa lisääntymisisolaation syntyä ja adaptiivista radiaatiota.

Selkärankaisilla koiraiden on sekä kokeellisesti että luonnonpopulaatioissa havaittu olevan naaraita alttiimpia loisinfektioille ja kantavan suurempaa loistaakkaa (Zuk 1990; Poulin 1996; Zuk & McKean 1996; Reimchen & Nosil 2001). Koiraiden alttius loisinfektioille voi johtua korkeamman testosteronitason heikentämästä immunitetista (Folstad & Karter 1992; Zuk & McKean 1996). Useilla lajeilla koiraat ovat myös naaraita kookkaampia, ja pystyvät siten toimimaan isäntänä suuremmalle loismäärälle. Poulin (1996) esitti, että suuren koon kasvattamiseen ja ylläpitoon tarvitaan paljon ravintoa, jolloin kookas isäntäyksilö tarjoaa pienempää yksilöä enemmän ravintoaineita myös ruuansulatuskanavan loisille. Tällöin loiset kasvavat nopeammin ja pystyvät tehokkaammin vastustamaan isännän immuunipuolustusta.

Myös kaloilla sukupuolten toisistaan poikkeava panostus lisääntymiseen voi johtaa eroihin loistartunnoissa. Esimerkiksi kolmipiikkikoiraiden lisääntymiskustannukset ovat korkeat, sillä ne vastaavat yksin pesänrakennuksesta, poikashuollosta ja reviirin vartioinnista. Reimchen & Nosil (2001) raportoivat pitkäaikaistutkimuksessa loisten kokonaismäärän olevan kolmipiikkikoirailta naaraita suurempi, mutta eri sukupuolten loisyhteisöiden lajikoostumuksessa oli myös selkeitä eroja. Tähän voivat vaikuttaa koiraiden ja naaraiden osin erilaiset ekologiset lokerot, eli erot niin lisääntymisstrategioissa kuin ravinnonkäytössäkin.

Sukupuolten välisiä eroja kolmipiikin loisyhteisöissä on toistaiseksi tutkittu hyvin vähän, eivätkä tulokset siksi ole vielä yleistettävissä. Erityisesti erot naaraiden ja koiraiden loisinnassa eri populaatioissa ja ekotyypeillä ovat huonosti tunnettuja. Tämä tieto loisyhteisöjen rakenteesta on kuitenkin välttämätöntä arvioitaessa loisten merkitystä kalojen seksuaalivalinnassa ja lajiutumisosprosessin eri vaiheissa.

## 1.5 Tutkimuksen tavoitteet

Pro gradu -työni tavoitteena on tarkastella sympatristen kolmipiikkiekotyyppien sekä naaras- ja koirasyksilöiden välisiä loisyhteisöeroja. Työssäni tutkin Islannin Thingvallavatn- ja Mývatn -järvissä tavattavien muta- ja laavaekotyyppien kolmipiikkien loisyhteisöjä. Nämä sympatriset ekotyypit elävät samanlaisissa habitaateissa, mutta järvien geologian ja vulkaanisen toiminnan seurauksena päinvastaisissa veden lämpötiloissa. Thingvallavatn-järven mutaekotyyppiä tavataan lämpimässä vedessä, kun taas Mývatn-järvellä mutaekotyyppien kalojen elinalueella vesi on kylmää. Laavaekotyyppi elää Thingvallavatn-järvellä kylmän veden alueella, mutta Mývatn-järvellä laavaekotyyppiä tavataan lämpimässä vedessä. Tämä luonnollinen koeasetelma tarjoaa ainutlaatuisen tilaisuuden vertailla isäntäkalan ekologian (ekotyyppi) ja ympäristötekijöiden (veden lämpötila) vaikutusta kalojen loisintaan. Mikäli toisiaan vastaavien sympatristen ekotyyppien loisyhteisöt ovat samankaltaiset eri järvissä, voidaan kalan ekologialla katsoa olevan ympäristötekijöitä suurempi merkitys loisyhteisön rakenteeseen. Tällöin tulos tukee ajatusta loisten aikaansaamasta lajiutumisosprosessista (Karvonen & Seehausen 2012). Jos taas loisinta on yhdenmukaista veden lämpötilan suhteen ekotyypistä riippumatta, tämä osoittaa ympäristötekijöiden olevan kalan ekologiaa merkittävämpi tekijä loisyhteisön säätelyssä. Tällöin ekotyyppien eriytymisen alkuvaiheiden ei voida katsoa olevan suoraan yhteydessä loisintaan. Lisäksi tarkastelen kalan sukupuolen vaikutusta loisyhteisöihin Thingvallavatn- ja Mývatn-järvissä esiintyvillä kolmipiikkiekotyypeillä. Keskityn erityisesti mahdollisten loisinnan sukupuolierojen yhdenmukaisuuteen järvien välillä.

Tutkimuksessani pyrin selvittämään

1. mitkä tekijät voivat selittää loisyhteisöjen mahdollisia eroja eri ekotyyppien ja järvien välillä
2. onko isännän ekologialla (kalan ekotyyppi) vai ympäristöllä (veden lämpötila) voimakkaampi vaikutus kolmipiikkien loisintaan
3. vaikuttaako kalan sukupuoli loisyhteisöihin ja ovatko mahdolliset erot yhdenmukaisia eri ekotyyppien välillä
4. millainen merkitys edellä mainituilla havainnoilla voi olla tarkasteltaessa kolmipiikkien adaptiivista radiaatiota.

## 2. Aineisto ja menetelmät

### 2.1 Tutkimusalue: Islanti

Pohjois-Atlantilla sijaitseva Islanti tarjoaa erinomaiset olosuhteet evolutiiviselle *in situ* -loistutkimukselle. Alue on biologisesti mielenkiintoinen: maantieteellisen eristyneisyyden seurauksena saarelle on kehittynyt subarktinen eliöstö, joka muistuttaa lajistoltaan pohjoisen Skandinavian flooraa ja faunaa, mutta on lyhyen levinneisyshistoriansa vuoksi vähälajisempi ja osin sekoitus Euraasian ja Pohjois-Amerikan lajistoa. Islannin koko eliöstö on peräisin viimeisintä jääkautta seuraavalta ajalta (< 10 000 v.), ja on osittain edelleen kolonisaatiovaiheessa (Skúlason ym. 1999). Makeassa vedessä eläviä kaloja on ainoastaan viisi: kolmipiikki (*Gasterosteus aculeatus*) sekä petokalat nieriä (*Salvelinus alpinus*), taimen (*Salmo trutta*), lohi (*Salmo salar*) ja ankerias (*Anguilla anguilla*). Kalat esiintyvät järvissä ja joissa lähes kaikissa mahdollisissa lajikombinaatioissa, mutta useimmiten lajienvälinen kilpailu on vähäistä. Osa järvistä on kalattomia tai niissä tavataan vain yhtä lajia. Ravinnonkäytön erikoistumisen myötä syntyvä polymorfismi on tavallista makeanveden kaloilla (Smith & Skúlason 1996), ja niinpä myös Islannissa on tapahtunut ja tapahtuu nopeaa lajiutumista (Kristjánsson ym. 2002b).

Islannissa on laaja sisävesiverkosto ja lukuisia toisistaan eristyneitä järviä. Useat järvet saavat vesitäydennystä lähteistä, minkä seurauksena veden lämpötila, korkeus ja vesikemialliset ominaisuudet ovat hyvin stabiileja. Suuret järvet, kuten Lounais-Islannissa sijaitseva Thingvallavatn ja Pohjois-Islannin Mývatn, ovat poikkeuksellisia lämpötilan suhteen: lämpimät ja kylmät lähteet aiheuttavat järviin pysyvän lämpötilaeron, joka saattaa olla useita asteita järven eri osien välillä (Jónasson 1979, 1992).

Islannin geomorfologiaa leimaa vulkaaninen aktiivisuus, jonka seurauksena suuri osa järviältaista on muodostunut peruskallion päällä ja ohessa olevasta laavakivestä. Nuoret hioutumattomat laavakerrostumat onkaloineen ja halkeamineen tarjoavat niin kaloille kuin selkärangattomille vesieliöille suoja-, lisääntymis- ja ravinnonhankintapaikkoja (Malmquist ym. 1999). Hieno muta muodostaa toisen tyypillisen pohjanlaadun, jonka eliöstö koostuu pääosin putkilokasveista ja kaivautuvista pohjaeläimistä. Nämä samassakin järvessä esiintyvät, olosuhteiltaan hyvin erityyppiset ympäristöt tarjoavat kaloille toisistaan poikkeavia ravinnonkäyttömahdollisuuksia ja toisaalta eri loisille väli-isäntiä, sillä selkärangattomien lajidiiversiteetti on hyvin riippuvainen ympäristöstä (esim. Lindegaard 1979, 1992; Kairesalo ym. 1992; Malmquist ym. 1999).

## 2.2 Tutkimusjärvien kuvaus

### 2.2.1 Thingvallavatn

Subarktinen Thingvallavatn (N64°10', W21°10' [WGS84 ], Kuva 1) sijaitsee Lounais-Islandissa Euraasian ja Amerikan mannerlaattojen erkanemiskohdassa. Thingvallavatn on pinta-alaltaan maan suurin luonnollisesti syntynyt järvi (83 km<sup>2</sup>), ja sen valuma-alue on noin 1 000 km<sup>2</sup>. Järven keskisyvyys on 34 metriä ja syvimmillään vettä on 114 metriä. Alkunsa järviällä on saanut viimeisimmän jääkauden jälkeen noin 10 000 vuotta sitten, jonka jälkeen lukuisat maanjäristykset ja tulivuorenpurkaukset ovat muokanneet aluetta (Adalsteinsson ym. 1992).

Thingvallavatn-järven vedestä 90 % on peräisin pohjavesilähteistä, ja vain 10 % on valuma-alueen pintavettä. Koska alue on vulkaanisesti aktiivinen, maaperän ja siten myös lähteiden lämpötila vaihtelee. Valtaosa vedestä on peräisin järven pohjoisosan kylmistä pohjavesilähteistä, joissa lämpötila on ympäri vuoden 2,8–3,5 °C. Veden lämpötila nousee etelää kohti luonnollisen lämpenemisen sekä järven eteläosassa sijaitsevan Hengillin geotermaalisen alueen 7,5–10,7 -asteisen lähdeveden vaikutuksesta (Adalsteinsson ym. 1992). Matalat alueet ja eteläiset alueet saattavat kesäaikaan lämmitä huomattavasti. Thingvallavatn-järvessä on siis pysyvä lämpötilagradientti pohjois-eteläsuunnassa, mutta järvi kuitenkin jäätyy talvisin tuulen jäähdyttäessä pintavettä. Vähäisestä valumavedestä johtuen Thingvallavatn on oligotrofinen ja hyvin kirkasvetinen. Rantavyöhyke on pohjoisessa laavakiveä noin kahdeksan metrin syvyyteen asti, ja se muodostaa hyvin monimuotoisen elinympäristön. Sen sijaan suojaisten lahtien pohjanlaatu on hienoa hiekkaa tai pehmeää sedimenttiä. Syvempien alueiden pohja koostuu yksinomaan hienosta mudasta (Thors 1992).

Järven pelagiaalinen eliöyhteisö koostuu vain muutamista avainlajeista, mutta pohjaeliöstö on huomattavasti monipuolisempi (Jónasson 1992). Suurin syvyys, jossa valon määrä on riittävä yhteyttämiseen, ulottuu jäiden lähdon jälkeisestä 20 metristä kesän 40 metrin syvyyteen (Adalsteinsson ym. 1992). Pehmeällä pohjalla 10–20 metrin syvyydessä kasvaa *Nitella opaca* -näkinpartaislevää, joka voi kasvukauden aikana muodostaa 50–90 cm:n korkuisia kasvustoja (Kairesalo ym. 1992). Järvessä elää kolme kalalajia: yksilömäärältään runsaat nieriä (*Salvelinus alpinus*) ja kolmipiikki (*Gasterosteus aculeatus*) sekä harvalukuinen taimen (*Salmo trutta*) (Sandlund ym. 1992b). Nieriä on eriytynyt neljään ekologisesti ja morfologisesti toisistaan poikkeavaan ekotyyppiin, joita ovat pohjaeläimiä

syövät pieni- ja isokokoinen benttinen ekotyyppi, planktonia syövä pelagiaalinen ekotyyppi sekä suurikokoinen kaloja saalistava ekotyyppi (Snorrason ym. 1994; Gíslason ym. 1999; Skúlason ym. 1999). Tämän tutkimuksen kohteena olevalta kolmipiikiltä on Thingvallavatnilla kuvattu kolme ekotyyppiä, joita kutsutaan muta-, laava- ja nitellaekotyypeiksi niiden elinympäristön mukaan (ks. 2.3.1 Islannin sisävesien kolmipiikkiekotyyppien kuvaus, s. 12).

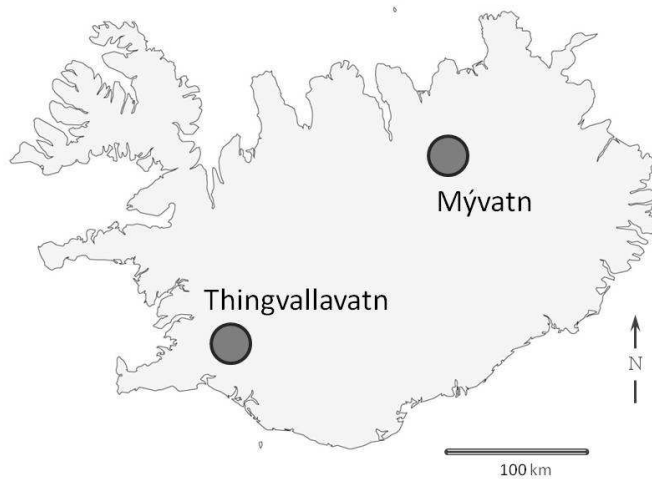
### 2.2.2 Mývatn

Mývatn on Islannin pohjoisosassa (N65°40', W17°00' [WGS84], Kuva 1) vulkaanisesti aktiivisella alueella sijaitseva subarktinen järvi. Järviällä on hyvin nuori: vanhimmat osat ovat muodostuneet laavasta noin 3 800 vuotta sitten, jonka jälkeen järven lähistöllä on tapahtunut useita tulivuorenpurkauksia. Viimeisin järven pohjaa voimakkaasti muokannut tulivuorenpurkaus ja sitä seurannut laavavirta tapahtui vuosina 1724–1729 (Thorarinsson 1979).

Mývatn on laaja (37,3 km<sup>2</sup>), mutta hyvin matala järvi, jonka keskisyvyys on vain 2,3 metriä ja syvin kohta 4,2 metriä. Järvi on jakautunut pohjoiseen ja eteläiseen altaaseen, joiden välillä on pysyvä ja voimakas lämpötilanvaihtelu. Koillisrannan lähteet tuovat järveen hyvin lämmintä vettä, jonka lämpötila on jopa 23,1 °C, kun taas kylmää (5,2 °C) vettä virtaa vesialtaaseen järven itä- ja kaakkoisrantojen lähteistä. Mataluuden vuoksi säätilasta johtuvat järviveden lämpötilamuutokset saattavat olla hyvinkin nopeita lähdealueiden ulkopuolella. Järvi jäätyy talvisin; pisimpään jääpeite pysyy järven länsiosassa. Mývatnin valuma-alue on laaja, 2150 km<sup>2</sup> (Ólafsson 1979).

Thingvallavatn-järven tavoin Mývatn on ollut intensiivisen tutkimuksen kohteena (mm. Jónasson 1979b). Valuma-alueen ravinteikkaan tuhkamaan, runsaan kasvillisuuden ja muun orgaanisen aineksen vuoksi järvi on eutrofinen. Järven pohjaa peittävät pääosin piileväkerrostumat ja lahoamisasteeltaan vaihteleva eloperäinen aines. Mataluuden vuoksi tuulella on suuri vaikutus järviveden korkeaan ravinnetasoon, sillä pohjan orgaaninen aines on jatkuvassa kierrossa. Mývatn-järven pohjoisosissa on biomassaltaan ja lajistoltaan runsaasti makrofyyttejä, kun taas eteläisessä osassa pohjaa peittää suurelta osin *Cladophora aegagrophila* -viiherlevämatto (Jónasson 1979b). Rehevyytensä, mataluutensa ja runsaan kasvillisuuden vuoksi Mývatnilla on subarktiseksi järveksi poikkeuksellisen runsaslukuinen pesimälinnusto, joka käsittää 24 lajia ja 10 000–15 000 pesivää paria (Gardarsson 1979; Gardarsson & Einarsson 2002).

Järvessä elää kolme kalalajia: erittäin runsaslukuinen kolmipiikki sekä petokalat nieriä ja taimen. Nieriä on eriytynyt morfologialtaan ja ravinnonkäytöltään kahteen ekotyyppiin, pienikokoiseen sekä normaalikokoiseen (Adalsteinsson 1979). Myös kolmipiikeiltä tunnetaan kaksi eri muotoa, morfologisesti ja geneettisesti toisistaan poikkeavat mutaekotyyppi ja laavaekotyyppi.



Kuva 1. Tutkimusjärvien sijainti Islannissa.

### 2.3 Kolmipiikki *Gasterosteus aculeatus* L.

Piikkikalojen (*Gasterosteidae*) heimoon kuuluva 4–7 cm:n pituinen kolmipiikki *Gasterosteus aculeatus* Linne 1758 on saanut nimensä selkävän etupuolella sijaitsevista kolmesta piikistä. Kolmipiikin levinneisyys kattaa pohjoisen pallonpuoliskon subarktisen ja lauhkean vyöhykkeen, ja laji on alkujaan mereinen ja anadrominen. Pienen kokonsa ja vähäisten ympäristövaatimuksiensa vuoksi kolmipiikki on suosittu mallilaji käyttäytymis- ja evoluutiobiologisissa tutkimuksissa.

Kolmipiikki tarjoaa erinomaisen mahdollisuuden tutkia populaatioiden evoluutiota, diversiteettiä ja jakautumista ekotyypeiksi, sillä lajin sisävesipopulaatioiden on todettu saaneen alkunsa useita erillisiä kertoja mereisestä kantamuodosta ja sopeutuneen vallitseviin ympäristöolosuhteisiin (Bell & Foster 1994; Pennisi 2004; Foster ym. 2008). Viimeisin kolonisaatioaalto tapahtui viime jääkauden jälkeen (Bell & Foster 1994). Kolmipiikkien mereinen muoto on jokseenkin samanlainen koko levinneisyysalueella (Bell & Foster 1994), mutta toisistaan poikkeavia makean veden ekotyyppisiä on kuvattu viime

vuosikymmeninä muun muassa Islannissa (Kristjánsson ym. 2002a; Ólafsdóttir ym. 2007a; Ólafsdóttir & Snorrason 2009), Kanadassa (Bentzen & McPhail 1984; McPhail 1994) ja Alaskassa (Cresko & Baker 1996). Kolmipiikin fenotyyppinen muuntelu on kuitenkin noteerattu jo aiemmin (Münzing 1963; Gross & Anderson 1984).

Kolmipiikin tunnetuilla ekotyypeillä on kaksi perusmuotoa: pelagiaalinen planktonin syöjä ja littoraalin pohjaeläimiä ravinnokseen käyttävä muoto. Oligotrofisissa järvissä, jotka ovat syviä ja jyrkkärantaisia, on muodostunut limneettisiä eli avovedessä eläviä populaatioita, kun taas etenkin matalissa, eutrofisissa järvissä on ollut hyvät edellytykset benttisten eli pohjan lähellä elävien kolmipiikkipopulaatioiden synnylle. Näiden sympatristen ekotyyppien ruumiinmuoto, elintavat, parinvalinta sekä ravinnonkäyttö poikkeavat toisistaan (Lavin & McPhail 1985, 1986, 1987; Walker 1997; Kristjánsson ym. 2002a; Foster ym. 2008).

### **2.3.1 Islannin sisävesien kolmipiikkiekotyyppien kuvaus**

Islannin järvissä tavataan kolmea kolmipiikkiekotyyppiä, "mud morph" (jatkossa mutaekotyyppi), "lava morph" (jatkossa laavaekotyyppi) sekä "Nitella morph" (jatkossa nitellaekotyyppi) (Kristjánsson ym. 2002a; Ólafsdóttir ym. 2007a; Ólafsdóttir & Snorrason 2009). Tässä tutkimuksessa keskityttiin muta- ja laavaekotyyppien kolmipiikkeihin, mutta tarkasteltiin myös Thingvallavatn-järven nitellaekotyyppiä.

#### Mutaekotyyppi

Mutaekotyyppien kolmipiikit elävät rantavyöhykkeessä mutapohjalla. Thingvallavatn-järvellä mutaekotyyppiä tavataan järven etelä- ja keskiosien matalilla ja suojaisilla rannoilla, joissa veden lämpötila saattaa kesäaikaan nousta lähelle 20 °C (Kristjánsson ym. 2002; Ólafsdóttir & Snorrason 2009). Mývatn-järvellä olosuhteet ovat päinvastaiset: mutaekotyyppien kalojen elinalueella järven eteläaltaassa vesi on ympäri vuoden kylmää (alle 10°C) (Kristjánsson ym. 2002; Ólafsdóttir ym. 2007b). Mutaekotyyppien kolmipiikeillä on pitkät selkä- ja rintaeväpiikit, mikä johtunee mutaympäristön suuresta saalistuspaineesta (Malmquist ym. 1992). Selkäevän ruodot ovat korkeammat kuin muilla ekotyypeillä ja pyrstö hieman lyhyempi. Mutaekotyyppien kolmipiikit ovat ravinnon suhteen generalisteja, minkä vuoksi ekotyyppien siivilähampaat ovat suhteellisen pitkät. Mývatn-järvellä tehdyssä ravinnonkäyttötutkimuksessa havaittiin mutaekotyyppien kolmipiikkien kuitenkin hyödyntävän enimmäkseen surviassääskentoukkia sekä hankajalkaisäyriäisiä (Adalsteinsson 1979).

### Laavaekotyyppi

Laavaekotyypin kaloja tavataan alle kahden metrin syvyydessä laavapohjalla. Thingvallavatn-järvellä laavaekotyypin elinalue on järven pohjoisosan kylmien lähteiden alueella, jossa veden lämpötila on ympäri vuoden 5–8 °C, kun taas Mývatn-järven laavaekotyyppi elää pohjoisaltaan lämpimässä vedessä (yli 15 °C) (Kristjánsson ym. 2002, Ólafsdóttir ym. 2007b). Laavaekotyypin piikit ja selkäevän ruodot ovat muita ekotyyppiä lyhyemmät ja pyrstö pidempi, mikä tekee kalasta virtaviivaisemmän ja helpottaa suojautumista laavan koloihin ja onkaloihin. Siivilähampaat ovat lyhyet. Mývatn-järvellä laavaekotyypin kalojen on todettu mutaekotyyppiä useammin käyttävän ravinnokseen *Lymnaea peregra* -kotioloita sekä muun ravinnon puutteessa omia mätimuniaan ja huonosti sulavaa detritusta (Adalsteinsson 1979).

### Nitellaekotyyppi

Nitellaekotyypin kolmipiikkejä on kuvattu Islannissa vain Thingvallavatn-järveltä, mutta vastaavia vesipatsaassa eläviä pelagiaalisia kolmipiikkimuotoja tavataan myös Pohjois-Amerikan järvissä (Bentzen & McPhail 1984; Rundle ym. 2000). Thingvallavatn-järven nitellaekotyypin kalat elävät kylmässä vedessä järven keskiosissa, 10–20 metrin syvyydessä. Niiden tiedetään suojautuvan *Nitella opaca* -näkinpartaisleväkasvustoihin, joissa ne myös lisääntyvät. Nitellaekotyypin kalojen ravinto koostuu Thingvallavatn-järvellä pääosin benttisistä vesikirpuista, surviaissääsken toukista, raakkuäyriäisistä ja etenkin loppukesästä hankajalkaisäyriäisistä (Sandlund ym. 1992b). Pelagiaaliset nitellaekotyypin kalat ovat ruumiinmuodoltaan pohjan lähellä eläviä ekotyyppiä solakampia, keskimäärin pienikokoisempia ja pitkäpiikkisempiä. Nämä ominaisuudet edesauttavat saalistusta, predaation välttämistä sekä liikkumista vesipatsaassa.

## **2.4 Tutkimusmenetelmät**

### **2.4.1 Kolmipiikkien pyynti**

Kolmipiikkien pyyntiajankohta oli Thingvallavatn-järvellä 21.5.2009 ja Mývatn-järvellä 5.6.2009. Kalat pyydettiin elävinä pyytävillä, syöttömillä pyydyksillä (minnow traps, valmistaja Dynamic Aqua-Supply Ltd), joiden verkon silmäkoko oli 6,35 mm tai 3,20 mm (Kuva 2). Käytin kunkin kolmipiikkiekotyypin pyydystämiseen 15 loukkua, jotka sijoitin muutaman kymmenen metrin päähän toisistaan kalojen loismäärissä mahdollisesti esiintyvien pienen mittakaavan vaihtelujen huomioimiseksi. Laskin loukut veteen iltapäivällä tai illalla ja tyhjensin ne seuraavana aamuna.





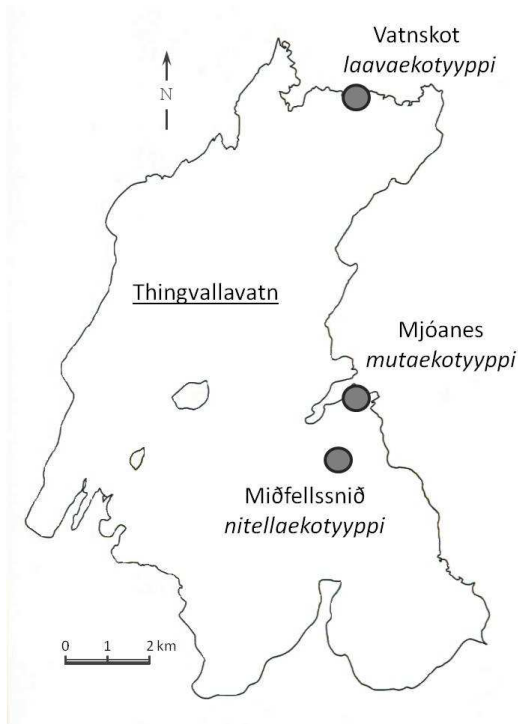
**Kuva 2.** Kalojen pyynnissä käytetty elävänä pyytävä pyydys, minnow trap.

### **Thingvallavatn**

Mutaekotyypin kolmipiikit pyydettiin järven keskivaiheilla sijaitsevan Mjóanes-niemen rantavedestä (Kuva 3), jossa veden lämpötila oli noin 15 °C. Pohjanlaatu oli pääosin mutaa. Yksittäisistä putkilokasveista muodostunut vesikasvillisuus oli niukkaa. Kolmipiikkitiheydet olivat silminnähtävien korkeita ja havaitsin pyyntipaikalla runsaasti kaloja. Laskin pyydykset rannasta muutaman kymmenen metrin välein alle metrin syvyyseen veteen. Asetin loukut kolmipiikkien suosimien suojapaikkojen eli vesikasvien ja rantapenkereen läheisyyteen.

Laavaekotyypin kalat pyydettiin järven koillisosasta (Vatnskot), jossa veden lämpötila oli noin 5–8 °C (Kuva 3). Pohjanlaatu pyyntipaikalla oli laavakiveä, jossa oli paljon epätasaisuuksia ja onkaloita. Vesikasvillisuus oli erittäin vähäistä, ja koostui lähinnä muutamista määrittämättömistä vesisammalista. Laskin pyydykset 100–200 metrin rantaviivalla matalaan, alle puolen metrin syvyyseen veteen. Kalatiheys oli silmämääräisesti arvioituna selvästi pienempi kuin mutaekotyypillä.

Nitellaekotyypin kolmipiikit käyttivät *Nitella*-näkinpartaisleväkasvustoja suojapaikkoinaan, ja liikkuvat vesipatsaassa enimmäkseen yöaikaan. Tämän ekotyypin pyyntipaikka oli Miðfellssnið lähellä Mjóanesin 80 metrin syvännettä (Kuva 3). Jaoin pyydykset 3 x 5 kalaloukun sarjoihin siten, että liitin yhteen pintapoijuilla varustettuun köyteen viisi loukua muutaman metrin päähän toisistaan. Yhteen sarjoista liitin myös lämpömittarin. Laskin pyydyssarjat kolmeen eri kohtaan, jotka olivat noin 100–200 metrin päässä toisistaan. Pyyntisyvyys oli 14–16 metriä ja veden lämpötila 4,4 °C.

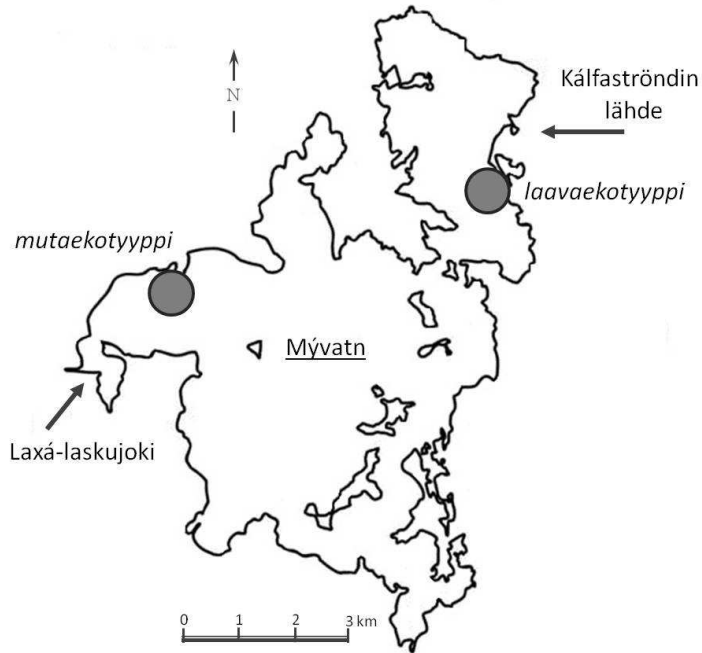


**Kuva 3.** Thingvallavatn-järven näytteenottoaikat.

### **Mývatn**

Mutaekotyypin kolmipiikit pyydettiin Mývatn-järven länsiosasta, läheltä Laxá-laskujoen suuta (Kuva 4). Alue oli rehevä, pohjanlaatu pehmeää mutaa ja makrofyyttejä oli runsaasti. Pyydykset laskettiin alle metrin syvyiseen veteen, jonka lämpötila oli alle 10 °C.

Laavaekotyypin kolmipiikkien pyyntipaikka oli Mývatnin koillisrannalla, lähellä Kálfaströndin lämminvesilähdettä (Kuva 4). Pohja-aines oli nuorta laavakiveä, jossa oli paljon onkaloita. Vesikasvillisuus oli niukkaa. Kalat pyydettiin matalasta vedestä, jonka lämpötila oli noin 20 °C. Mývatn-järven kolmipiikkien pyynti toteutettiin yhteistyössä toisen kolmipiikkitutkimusryhmän kanssa.



**Kuva 4.** Mývatn-järven näytteenottoaikat.

#### 2.4.2 Kalojen käsittely ja laboratoriomenetelmät

Tyhjensin Thingvallavatn-järven samaan ekotyyppiin kuuluvat kolmipiikit pyydyksistä yhteen järvisedellä täytettyyn sankoon. Lopetin kalat muutama yksilö kerrallaan käyttämällä hiilidioksidiliuosta (CO<sub>2</sub>). Kaikki pyydyksiin joutuneet kalat kuljetettiin laboratorioon jäiden seassa. Mývatn-järveltä pyydettiin satoja kolmipiikkejä pääasiassa toisen kolmipiikkitutkimusryhmän käyttöön, ja siksi kalat kuljetettiin elävänä laboratorioon. Kuljetuksen aikana kalat olivat suurissa järvisedellä täytetyissä säiliöissä, jotka oli varustettu jatkuvalla hapetuksella. Kaloja ei kuollut kuljetuksen aikana. Kolmipiikkien kuljetus elävänä ei myöskään vaikuttanut niiden loismääriin, sillä suoraan kalasta kalaan tarttuvia loislajeja (esim. kidusmadot, ks. alla) ei tutkittu. Laboratoriossa otin kolmipiikeistä tätä tutkimusta varten satunnaisnäytteen, jonka kalat lopetin kuten edellä.

Laboratoriossa valitsin kaloista satunnaisesti yhtä monta naarasta ja koirasta ulkoisten sukupuolituntomerkkien avulla, mikäli eri sukupuolten edustajia oli näytteessä riittävästi. Rajasin nuoret ja ei-sukukypsät kalat tutkimuksen ulkopuolelle. Punnitsin kalat laboratoriova'alla ja mittasin ne yhden millimetrin tarkkuudella. Varmistin sukupuolen määrittämisen sukurauhasista kalojen preparoinnin yhteydessä (ks. alla). Tutkittujen

kolmipiikkien kokonaismäärä oli 246. Kunkin kolmipiikkiekotyypin lukumäärät on esitetty taulukossa 1.

**Taulukko 1.** Thingvallavatn- ja Mývatn-järviltä tutkittujen kolmipiikkien lukumäärät ekotyypin ja kalan sukupuolen mukaan. Tutkimukseen käytettiin vain yksilöitä, joiden sukupuoli pystyttiin luotettavasti määrittämään. Lämmin/kylmä viittaa kunkin habitaatin veden lämpötilaan.

Sukupuoli	Thingvallavatn			Mývatn	
	Mutaekotyyppi <i>lämmin</i>	Nitellaekotyyppi <i>kylmä</i>	Laavaekotyyppi <i>kylmä</i>	Mutaekotyyppi <i>kylmä</i>	Laavaekotyyppi <i>lämmin</i>
naaras	21	63	35	14	14
koiras	18	15	38	15	13
<i>yhteensä</i>	<b>39</b>	<b>78</b>	<b>73</b>	<b>29</b>	<b>27</b>

Tarkastin kolmipiikit ensin ulkoisesti paljain silmin näkyvien loisten osalta. Kalojen silmien linssit tutkittiin rakovalomikroskoopilla (Kowa SL-15) *Diplostomum* spp. -imumatojen aiheuttaman loiskaihin toteamiseksi. Loiskaihin peittävyys linssissä arvioitiin kymmenen prosentin tarkkuudella (Karvonen ym. 2004b). Tämän jälkeen preparoin jokaisesta kalasta erikseen molemmat silmät, sisäelimet sekä kidukset. Tutkin elimet preparointimikroskoopilla kahden lasin väliin puristettuina. Silmistä tutkin erikseen kummankin silmän lasiaiset ja linssit.

Määritin loiset lajilleen tai suvulleen, ja laskin niiden yksilömäärät. Mikroparasiitteja ja kidusmatoinfektioita (Monogenea) ei tutkittu. *Apatemon*-suvun imumadot tutkittiin Thingvallavatn-järven näytteistä vain laavaekotyypiltä ja Mývatn-järven osalta kaikista kaloista. *Diplostomum baeri* -metakerkariat tunnistin lajilleen sijaintinsa perusteella (silman lasiainen). Merkitsin kaikki silmän linssin metakerkariat ryhmään *Diplostomum* spp., koska tämä loisryhmä käsittää useita lajeja, jotka voidaan erottaa vain molekyylogeneettisten menetelmien avulla (Locke ym. 2010). Myöskään ruumiinontelon *Diphyllobothrium*-heisimatoja (lokkilapamato *D. dentriticum* ja sukeltajasorsien lapamato *D. ditremum*) ei erotettu lajilleen. Samoin kalojen suolessa loisivat *Proteocephalus*-heisimadot tunnistettiin sukutasolla.

### 2.4.3 Tilastomenetelmät

Aineiston analyysissä käytetyt termit prevalenssi ja abundanssi on laskettu Bushin (1997) määritelmien mukaan: prevalenssilla tarkoitetaan loisittujen kalayksilöiden osuutta koko

näytteessä, ja abundanssilla keskimääräistä loisyksilöiden määrää yhdessä kalassa. Aineiston analysoinnin yksinkertaistamiseksi myös loisten kokonaisabundanssi (kaikkien loislajien kaikki yksilöt) laskettiin jokaista kalayksilöä kohden. Puutteellisesti tutkitut *Apatemon*-suvun imumadot jätettiin pois kaikista analyyseistä.

Ekotyypin ja veden lämpötilan vaikutusta loisten kokonaisabundanssiin testattiin kahdella GLM (Generalized linear model) -analyysillä, joissa käytettiin oletusjakaumana negatiivista binomijakaumaa sekä loglink-funktiota. Binomijakauma sopi aineistoon, koska suurimmat loismäärät olivat pienessä osassa isäntäyksilöitä loisten aggregaation vuoksi. Ensimmäisessä analyysissä tarkasteltiin ekotyypin (muta- ja laavaekotyyppi) vaikutusta loisten kokonaisabundanssiin. Toisessa testissä analysoitiin veden lämpötilan vaikutusta kokonaisabundanssiin jakamalla ekotyypit elinympäristönsä veden lämpötilan mukaan kylmässä ja lämpimässä vedessä esiintyviin ryhmiin. Kylmän veden ekotyyppeihin kuuluivat siis Thingvallavatn-järven laavaekotyyppi ja Mývatn-järven mutaekotyyppi, kun taas lämpimän veden ekotyyppinä olivat Thingvallavatn-järven mutaekotyyppi ja Mývatn-järven laavaekotyyppi. Molemmissa analyyseissä käytettiin lisäksi selittävinä muuttujina (fixed factors) järveä ja kalan sukupuolta. Kovariaattina oli kalan pituus.

Aineisto analysoitiin myös yhdistämällä kaloissa esiintyneet loislajit kahteen luokkaan, imumatoihin (Trematoda) ja heisimatoihin (Cestoda). Nämä loisluokat poikkeavat toisistaan transmissiotavan suhteen: imumadot (ensimmäinen väli-isäntä nilviäinen) siirtyvät kalaan suoraan vedestä tunkeutumalla toukkina kalan ihon läpi, kun taas heisimadot (ensimmäinen väli-isäntä äyriäinen) tartuttavat kalan planktonravinnon kautta. Analysoimalla nämä loisluokat erikseen pyrittiin selvittämään, miten kalaisännän ekologia ja/tai veden lämpötila vaikuttavat kalojen alttiuteen infektoitua kaloihin eri tavoin siirtyvillä loisryhmillä. Molempien loisryhmien abundanssit testattiin erikseen GLM-mallien avulla kuten edellä.

Viimeisessä GLM-analyysissä tarkasteltiin loisten kokonaisabundanssien eroja Thingvallavatn-järven laava- ja nitellaekotyypeillä, jotka molemmat elävät kylmässä vedessä, mutta erilaisissa habitaateissa. Analyysi suoritettiin kuten edellä käyttämällä selittävinä muuttujina ekotyyppiä ja kalan sukupuolta sekä kovariaattina kalan pituutta. Kaikki tilastoanalyysit tehtiin PASW Statistics 18.0 -ohjelmalla.

### 3. Tulokset

#### 3.1 Kolmipiikin loisyhteisöt

Thingvallavatn- ja Mývatn -järvien kolmipiikeistä löydetty loiset kuuluivat yhteensä viiteen eri sukuun: imumadot *Apatemon* ja *Diplostomum* sekä heisimadot *Diphyllobothrium*, *Proteocephalus* ja *Schistocephalus* (Taulukko 2). Yleisin loislaji molemmissa järvissä oli *Diplostomum baeri*, jonka havaitsin 89,7–100 prosentilla kaikista tutkituista kaloista. *D. baeri* oli myös lukumäärältään runsain loislaji, joka käsitti 65,5 % Thingvallavatnin ja 89,2 % Mývatnin kaikista havaituista loisyksilöistä (Taulukko 3, Kuvat 5 ja 6).

Heisimadot olivat yleisempiä Thingvallavatn-järvellä (prevalenssi vähintään 54,8 % ekotyypistä riippuen) kuin Mývatn-järvellä (prevalenssi enintään 25,9 %) (Taulukko 2). Myös heisimatojen abundanssi oli Thingvallavatnilla noin neljä kertaa suurempi kuin Mývatnilla: edeltävässä järvestä oli keskimäärin 4,5 ja jälkimmäisessä järvestä 1,1 heisimatoa kalaa kohden (Taulukko 3, Kuvat 5 ja 6).

Kalojen silmän linssissä loisiva *Diplostomum* sp. puuttui kokonaan Thingvallavatn-järven kaloista, mutta oli yleinen etenkin Mývatn-järven laavaekotyypin kolmipiikeillä (prevalenssi 40,7 %). Loisinnan seurauksena kaloilla esiintyi loiskaihia, joka peitti enimmillään 60 % linssin pinta-alasta. *Apatemon* sp. tutkittiin Thingvallavatnilla vain laavaekotyypiltä, jolla sitä esiintyi suurimmalla osalla tutkituista kaloista. Myös Mývatnilla *Apatemon*-imumadon prevalenssi oli korkea, 62,1 ja 63,0 % (Taulukko 2).

*Diphyllobothrium*-suvun heisimatoja ei tavattu Mývatn-järven kaloista, vaikka ne olivat kohtalaisen yleisiä Thingvallavatn-järven kaikilla ekotyypeillä (prevalenssi 41,1–65,4 %). *Schistocephalus solidus* -heisimato puuttui kokonaan Thingvallavatnin muta- ja nitellaekotyypeiltä, ja oli hyvin harvinainen myös laavaekotyypillä (prevalenssi 2,7 %). Mývatnilla *Schistocephalus solidus* -heisimatoa löydettiin 6,9 prosentilta mutaekotyypin kolmipiikeistä ja 25,9 prosentilta laavaekotyypin kaloista.

**Taulukko 2.** Loislajien prevalenssit (loisittujen kalojen osuus, % tutkituista kaloista) kolmipiikki-ekotyypeillä Thingvallavatn- ja Mývatn-järvissä. *Apatemon* sp. -imumatoja ei tutkittu Thingvallavatn-järven muta- ja nitellaekotyypeiltä.

Taksoni	Laji	Sijainti kalassa	Thingvallavatn			Mývatn	
			Muta	Nitella	Laava	Muta	Laava
Trematoda (imumadot)	<i>Apatemon</i> sp.	silmän lasiainen	-	-	79.7	62.1	63.0
	<i>Diplostomum baeri</i>	silmän lasiainen	97.4	98.7	90.4	89.7	100.0
	<i>Diplostomum</i> spp.	silmän linssi	0	0	0	3.4	40.7
	<b>Imumadot yhteensä</b>		<b>97.4</b>	<b>98.7</b>	<b>97.3</b>	<b>96.6</b>	<b>100.0</b>
Cestoda (heisimadot)	<i>Diphylobothrium</i> spp.	ruumiinontelo	56.4	65.4	41.1	0	0
	<i>Proteocephalus</i> sp.	suoli	15.4	74.4	30.1	3.4	3.7
	<i>Schistocephalus solidus</i>	ruumiinontelo	0	0	2.7	6.9	25.9
	<b>Heisimadot yhteensä</b>		<b>61.5</b>	<b>92.3</b>	<b>54.8</b>	<b>6.9</b>	<b>25.9</b>

**Taulukko 3.** Loislajien abundanssit (loisten lkm / kala) ja keskiarvon keskivirhe kolmipiikki-ekotyypeillä Thingvallavatn- ja Mývatn-järvissä. *Apatemon* sp. -imumatoja ei tutkittu Thingvallavatn-järven muta- ja nitellaekotyypeiltä.

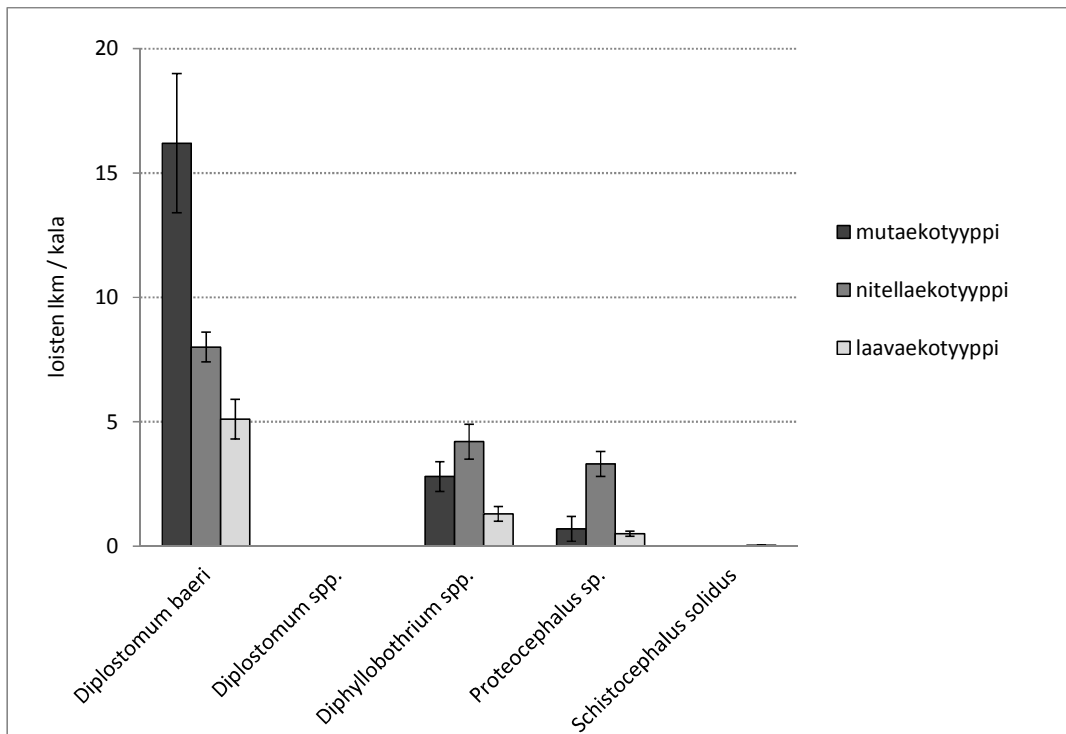
Taksoni	Laji	Sijainti kalassa	Thingvallavatn			Mývatn	
			Muta	Nitella	Laava	Muta	Laava
Trematoda (imumadot)	<i>Apatemon</i> sp.	silmän lasiainen	-	-	2.3 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.2
	<i>Diplostomum baeri</i>	silmän lasiainen	16.2 ± 2.8	8.0 ± 0.6	5.1 ± 0.8	8.5 ± 1.9	37.1 ± 5.3
	<i>Diplostomum</i> spp.	silmän linssi	0	0	0	0.03 ± 0.03	1.0 ± 0.3
	<b>Imumadot yhteensä</b>		<b>16.2 ± 2.8</b>	<b>7.9 ± 0.6</b>	<b>7.2 ± 0.9</b>	<b>9.7 ± 1.9</b>	<b>39.0 ± 5.3</b>
Cestoda (heisimadot)	<i>Diphylobothrium</i> spp.	ruumiinontelo	2.8 ± 0.6	4.2 ± 0.7	1.3 ± 0.3	0	0
	<i>Proteocephalus</i> sp.	suoli	0.7 ± 0.5	3.3 ± 0.5	0.5 ± 0.1	0.03 ± 0.03	0.04 ± 0.04
	<i>Schistocephalus solidus</i>	ruumiinontelo	0	0	0.03 ± 0.02	0.07 ± 0.05	2.2 ± 1.0
	<b>Heisimadot yhteensä</b>		<b>3.4 ± 1.0</b>	<b>7.5 ± 0.9</b>	<b>1.8 ± 0.4</b>	<b>0.1 ± 0.1</b>	<b>2.3 ± 1.1</b>

### 3.1.1 Thingvallavatn

Imumadot olivat yleisiä kaikilla kolmella Thingvallavatn-järven kolmipiikkiekotyypillä (Taulukko 2). *Diplostomum baeri*-imumato oli selkeästi yleisin loislaji. *Apatemon*-imumadon prevalenssi oli korkea (79,7 %) tutkitulla laavaekotyypillä. Nitellaekotyyppi poikkesi kahdesta muusta ekotyypistä heisimatojen suhteen: heisimatoja tavattiin yli 92 prosentilla nitellaekotyypin kaloista, kun taas mutaekotyypillä niiden prevalenssi oli 61,5 % ja laavaekotyypillä 54,8 % (Taulukko 2).

Mutaekotyypin kolmipiikkeillä oli määrällisesti eniten imumatoja, keskimäärin 16,2 *Diplostomum baeri*-loista kalaa kohden. Nitella- ja laavaekotyypin imumatomäärät olivat keskenään samaa suuruusluokkaa: loisituissa kaloissa oli keskimäärin hiukan yli seitsemän loisen metakerkariaa (Taulukko 3, Kuva 5). Kaikilla ekotyypeillä imumatojen prevalenssi oli heisimatojen prevalenssia suurempi (Taulukko 2).

Heisimatojen abundanssi oli nitellaekotyypillä keskimäärin 7,5 heisimatoa kalaa kohden (Taulukko 3, Kuva 5), kun taas muta- ja laavaekotyypien kaloilla heisimatojen määrä oli selvästi pienempi, keskimäärin 3,4 ja 1,8 loista kalaa kohden. Valtaosa kaikkien ekotyyppien heisimadoista kuului *Diphyllbothrium*- ja *Proteocephalus*-sukuihin (Kuva 5).



**Kuva 5.** Loislajien abundanssi ja keskiarvon keskivirhe kolmipiikkiekotyypeillä Thingvallavatn-järvellä. Kuvassa ei ole mukana *Apatemon* sp. -imumatoja, jotka tutkittiin vain laavaekotyypiltä.

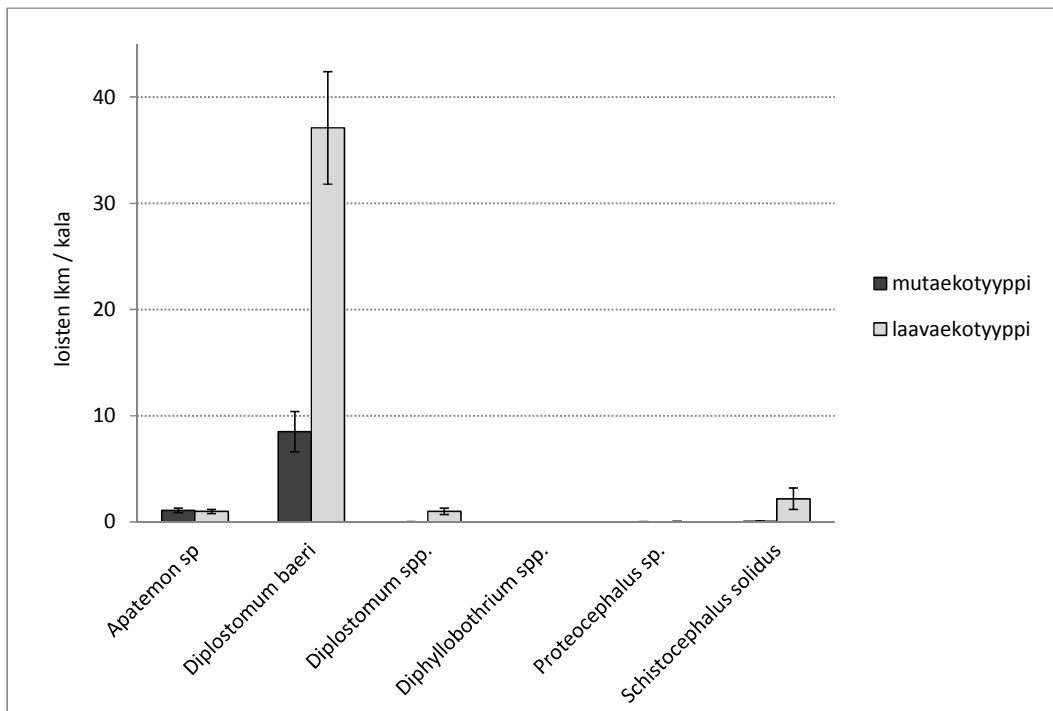


### 3.1.2 Mývatn

Mývatn-järvellä imumadot olivat erittäin yleisiä sekä muta- että laavaekotyypin kaloilla. Mutaekotyypin kaloilla loisintaprosentti oli 96,6 % ja laavaekotyypillä 100 %. *Diplostomum baeri* oli yleisin loinen molemmilla ekotyypeillä, mutta myös *Apatemon* sp. -imumadon prevalenssi oli molemmilla yli 60 %. Molemmilla ekotyypeillä imumatojen prevalenssi oli heisimatojen prevalenssia suurempi (Taulukko 2).

Laavaekotyypin kaloilla oli heisimatoja mutaekotyyppeä useammin (Taulukko 2). Thingvallavatnista poiketen Mývatnin kalojen heisimadot olivat lähes yksinomaan *Schistocephalus solidus* -heisimatoja. *Proteocephalus*-heisimatoa tavattiin molemmissa ekotyypeissä vain yhdeltä kalalta.

Laavaekotyypillä imumatojen abundanssi oli 39,0 loista kalaa kohden, mutaekotyypillä huomattavasti vähemmän (9,7) (Taulukko 3, Kuva 6). Erot ekotyypien välillä johtuivat lähes yksinomaan huomattavista eroista *Diplostomum baeri* -loisen määrissä. *Apatemon* sp. ja linssin *Diplostomum* spp. -imumatoja löytyi yksittäisistä kaloista korkeintaan muutamia. Heisimatojen abundanssit olivat hyvin pieniä: mutaekotyypillä keskimäärin 0,1 ja laavaekotyypillä 2,3 loista kalaa kohden (Taulukko 3, Kuva 6). *Schistocephalus solidus* -loisinta oli keskittynyt yksittäisiin kaloihin, ja yhdessä kolmipiikissä saattoi olla lukuisia *S. solidus* -toukkia.



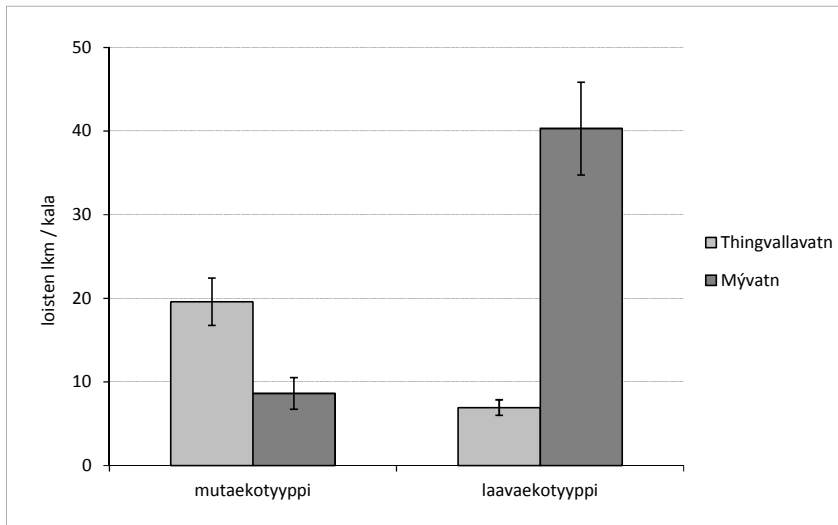
Kuva 6. Loislajien abundanssi ja keskiarvon keskivirhe kolmipiikkiekotyypeillä Mývatn-järvellä.

### 3.2 Ekotyypin ja lämpötilan vaikutus loisintaan

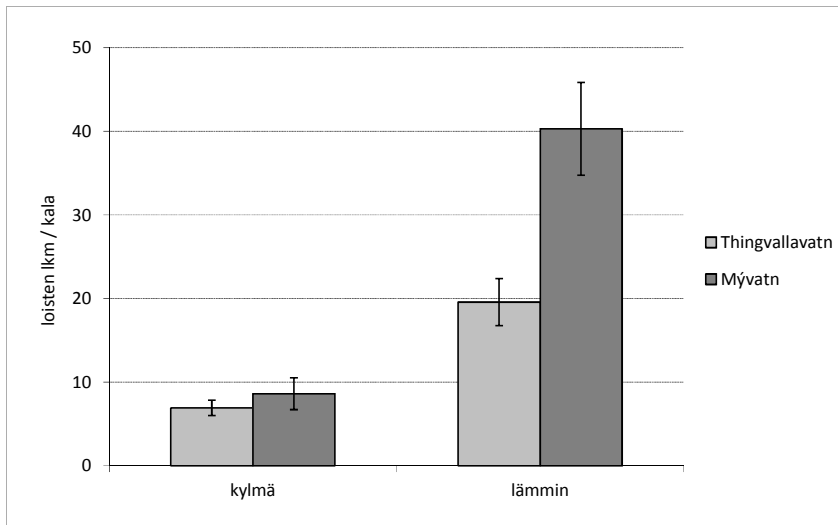
Thingvallavatn-järven mutaekotyypillä oli merkittävästi enemmän loisia kuin laavaekotyypillä, kun taas Mývatn-järvellä laavaekotyyppi kantoi mutaekotyyppeä suurempaa loistaakkaa (Kuva 7). Nämä päinvastaiset loismäärät ekotyyppien välillä eri järvissä aiheuttivat tilastollisesti erittäin merkitsevän interaktion GLM-analyysissä ekotyypin ja järven välillä (Taulukko 4). Veden lämpötila taas vaikutti samalla tavoin loisten kokonaisabundanssiin molemmissa tutkimusjärvissä; lämpimämmässä elävillä kaloilla oli enemmän loisia ekotyypistä riippumatta (Kuva 8, Taulukko 4). Kovariaattina käytetyllä kalan pituudella oli myös tilastollisesti merkitsevä vaikutus loisten kokonaisabundanssiin. Tämä johtui ennen kaikkea siitä, että imumatojen (etenkin *Diplostomum baeri*) määrä kasvoi kalan koon kasvaessa molemmilla ekotyypeillä kummassakin järvessä.

**Taulukko 4.** GLM-analyysin tulokset loisten kokonaisabundanssin suhteen Thingvallavatn- ja Mývatn-järvien muta- ja laavaekotyyppien (testi 1) sekä lämpimän ja kylmän veden (testi 2) kolmi-  
piikeillä. Analyyseissä käytettiin oletusjakaumana negatiivista binomijakaumaa sekä loglink -  
funktioita. Selittävät muuttujat olivat ekotyyppi (testi 1) tai veden lämpötila (lämmin/kylmä, testi 2)  
sekä järvi ja kalan sukupuoli. Kalan pituutta käytettiin kovariaattina.

Testi	Parametri	Wald Chi-Square	df	p
<b>1. Ekotyyppi</b>	pituus	23.784	1	< 0.001
	ekotyyppi	3.832	1	0.05
	järvi	3.416	1	0.065
	sukupuoli	0.014	1	0.906
	ekotyyppi x järvi	60.655	1	< 0.001
	ekotyyppi x sukupuoli	0.112	1	0.738
	järvi x sukupuoli	0.0007	1	0.993
	ekotyyppi x järvi x sukupuoli	1.246	1	0.264
<b>2. Lämpötila</b>	pituus	23.784	1	< 0.001
	lämpötila	60.655	1	< 0.001
	järvi	3.416	1	0.065
	sukupuoli	0.014	1	0.906
	lämpötila x järvi	3.832	1	0.05
	lämpötila x sukupuoli	1.246	1	0.264
	järvi x sukupuoli	0.0007	1	0.993
	lämpötila x järvi x sukupuoli	0.112	1	0.738



**Kuva 7.** Loisten kokonaisabundanssi ja keskiarvon keskivirhe muta- ja laavaekotyypeillä Thingvallavatn- ja Mývatn-järvissä.

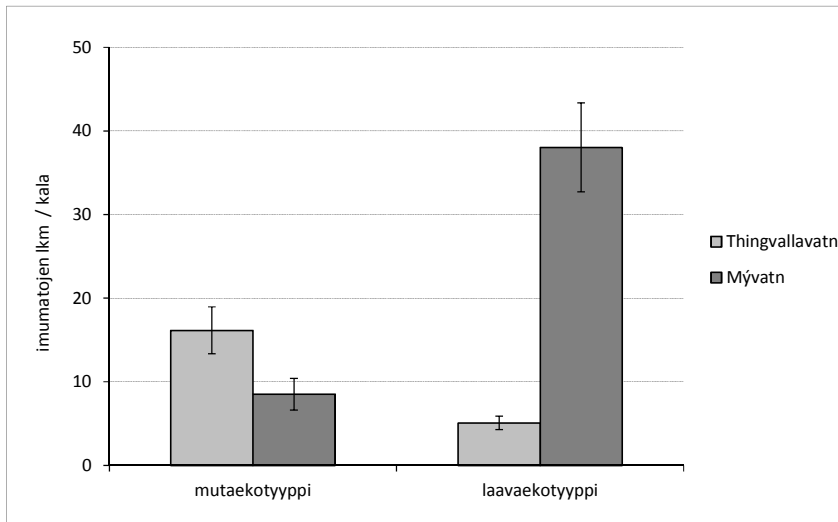


**Kuva 8.** Loisten kokonaisabundanssi ja keskiarvon keskivirhe kylmässä ja lämpimässä vedessä elävillä kolmipiikeillä Thingvallavatn- ja Mývatn-järvissä.

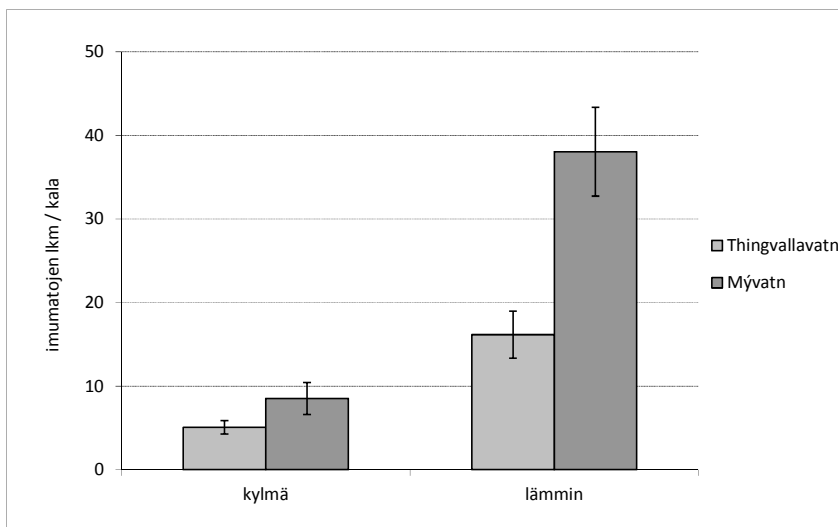
Veden lämpötila vaikutti samalla tavoin sekä imu- että heisimatojen määriin. Imumatojen abundanssit muta- ja laavaekotyypeillä olivat päinvastaiset eri tutkimusjärvissä. Toisin sanoen loisten lukumäärä oli suurempi Thingvallavatn-järven mutaekotyypin ja Mývatn-järven laavaekotyypin kaloilla (Kuva 9), mikä aiheutti jälleen merkitsevän interaktion ekotyypin ja järven välille. Myös järvien välillä oli merkitsevä ero (Taulukko 5), mikä johtui Mývatnin korkeammasta loismäärästä. Lämpimässä vedessä elävillä ekotyypeillä tavattiin enemmän imumatoja molemmissa järvissä (Taulukko 5, Kuva 10).

**Taulukko 5.** GLM-analyysin tulokset imumatojen abundanssin suhteen Thingvallavatn- ja Mývatn-järvien muta- ja laavaekotyyppien (testi 1) sekä kylmän ja lämpimän veden (testi 2) kolmipiikeillä. Analyyseissä käytettiin oletusjakautumana negatiivista binomijakaumaa sekä loglink -funktiota. Selittävät muuttujat olivat ekotyyppi (testi 1) tai veden lämpötila (kylmä/lämmin, testi 2) sekä järvi ja kalan sukupuoli. Kalan pituutta käytettiin kovariaattina.

Testi	Parametri	Wald Chi-Square	df	p
<b>1. Ekotyyppi</b>	pituus	30.361	1	< 0.001
	ekotyyppi	2.648	1	0.104
	järvi	10.627	1	0.001
	sukupuoli	0.028	1	0.866
	ekotyyppi x järvi	61.747	1	< 0.001
	ekotyyppi x sukupuoli	0.582	1	0.445
	järvi x sukupuoli	0.043	1	0.836
	ekotyyppi x järvi x sukupuoli	0.517	1	0.472
<b>2. Lämpötila</b>	pituus	30.361	1	< 0.001
	lämpötila	61.747	1	< 0.001
	järvi	10.627	1	0.001
	sukupuoli	0.028	1	0.866
	lämpötila x järvi	2.648	1	0.104
	lämpötila x sukupuoli	0.517	1	0.472
	järvi x sukupuoli	0.043	1	0.836
	lämpötila x järvi x sukupuoli	0.582	1	0.445



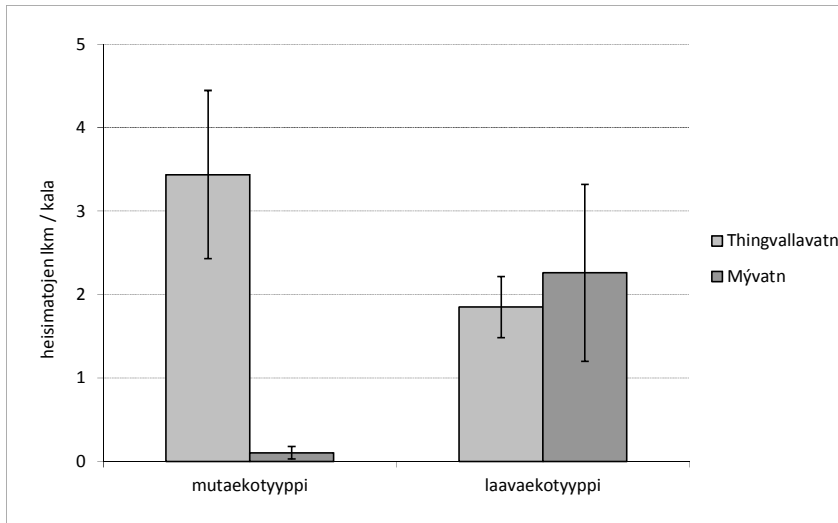
**Kuva 9.** Imumatotien abundanssi ja keskiarvon keskivirhe muta- ja laavaekotyypeillä Thingvallavatn- ja Mývatn-järvillä.



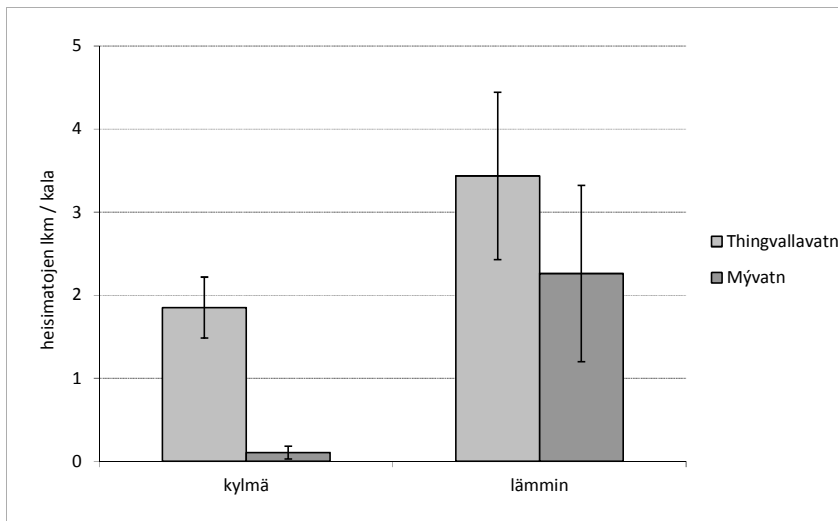
**Kuva 10.** Imumatotien abundanssi ja keskiarvon keskivirhe kylmän ja lämpimän veden kolmipiikkiekotyypeillä Thingvallavatn- ja Mývatn-järvillä.

Ekotyyppin ja veden lämpötilan vaikutusta heisimatotien määrään ei voitu testata GLM-analyysillä mallin huonon sopivuuden takia. Imumatotien tavoin heisimatotien abundanssit muta- ja laavaekotyypeillä olivat kuitenkin päinvastaiset eri tutkimusjärvissä.

Laavaekotyyppillä oli enemmän loisia Mývatn-järvellä (Mann-Whitneyn U-testi:  $U = 471.0$ ,  $p = 0.041$ ), kun taas Thingvallavatn-järvellä mutaekotyyppin loismäärä oli korkeampi, vaikka tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevää ( $U = 1230.5$ ,  $p = 0.217$ ) (Kuva 11). Heisimatotien määrä oli samalla tavoin suurempi molemmissa järvissä lämpimässä vedessä elävillä ekotyypeillä (Mann-Whitneyn U-testi:  $U = 471.0$ ,  $p = 0.041$  (Mývatn);  $U = 1230.5$ ,  $p = 0.217$  (Thingvallavatn)) (Kuva 12). Tämä osoittaa, että lämpötilalla oli ekotyyppiä merkitsevämpi vaikutus myös heisimatotien määrään.

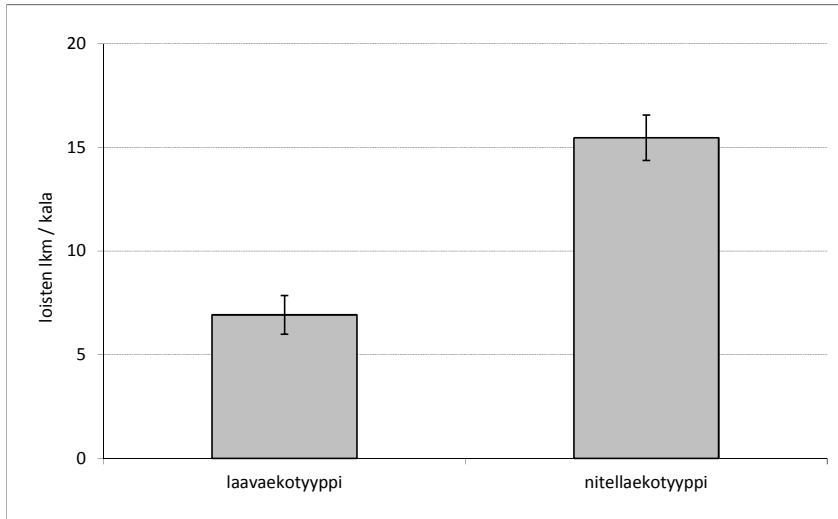


**Kuva 11.** Heisimatosten abundanssi ja keskiarvon keskivirhe muta- ja laavaekotyypeillä Thingvallavatn- ja Mývatn-järvillä.



**Kuva 12.** Heisimatosten abundanssi ja keskiarvon keskivirhe kylmän ja lämpimän veden kolmipiikkiekotyypeillä Thingvallavatn- ja Mývatn-järvillä.

Analysoin loismäärien eroja myös Thingvallavatn-järven laava- ja nitellaekotyyppien välillä. Niiden elinympäristöt ja ekologia ovat erilaisia, mutta molemmat elävät kylmän veden alueilla. Havaittiin, että pelagiaalisella nitellaekotyypillä oli merkitsevästi enemmän loisia kuin matalassa vedessä elävällä laavaekotyypillä (Kuva 13). Tulos oli samanlainen sekä imumadoilla että heisimadoilla (Taulukko 6).



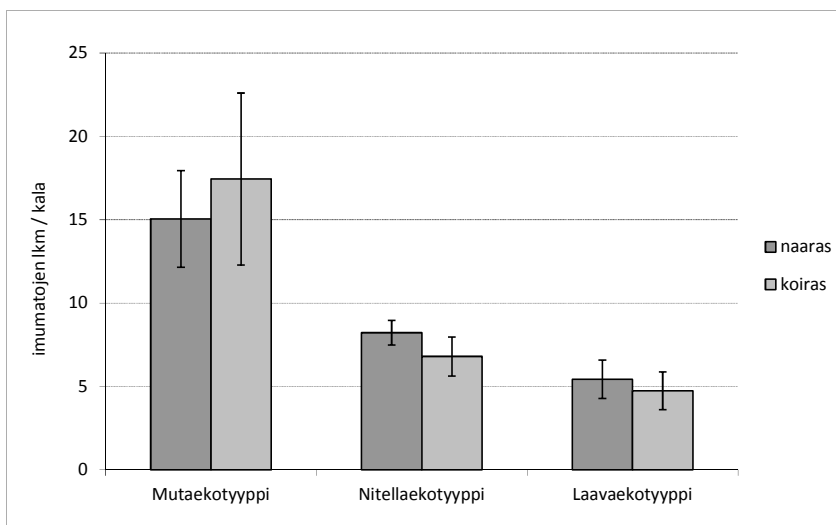
**Kuva 13.** Loisten kokonaisabundanssi ja keskiarvon keskivirhe kolmipiikin laava- ja nitellaekotyypeillä Thingvallavatn-järvellä.

**Taulukko 6.** GLM-analyysin tulokset loisten kokonaisabundanssin (testi 1), imumatojen abundanssin (testi 2) ja heisimatojen abundanssin (testi 3) suhteen Thingvallavatn-järven laava- ja nitellaekotyypeillä. Analyysissä käytettiin oletusjakautumana negatiivista binomijakaumaa sekä loglink-funktiota. Selittävät muuttujat olivat kaikissa testeissä ekotyyppi ja kalan sukupuoli. Kalan pituutta käytettiin kovariaattina.

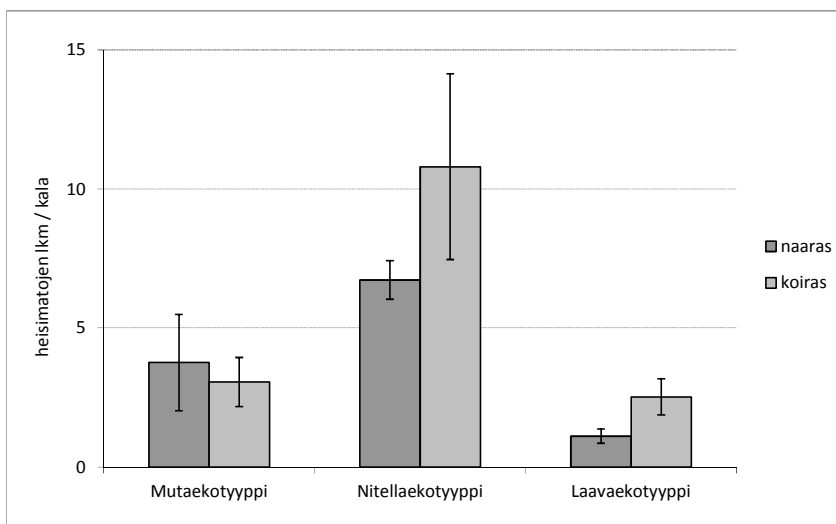
Testi	Parametri	Wald Chi-Square	df	p
<b>1. Kaikki loiset</b>	pituus	10.586	1	0.001
	ekotyyppi	24.730	1	< 0.001
	sukupuoli	0.682	1	0.409
	ekotyyppi x sukupuoli	0.000	1	0.998
<b>2. Imumadot</b>	pituus	16.786	1	< 0.001
	ekotyyppi	7.448	1	0.006
	sukupuoli	0.204	1	0.652
	ekotyyppi x sukupuoli	0.009	1	0.923
<b>3. Heisimadot</b>	pituus	0.357	1	0.55
	ekotyyppi	58.256	1	< 0.001
	sukupuoli	9.005	1	0.003
	ekotyyppi x sukupuoli	0.718	1	0.397

### 3.3 Sukupuolten väliset erot loisinnassa

Kalan sukupuoli ei vaikuttanut loisten kokonaismäärään Thingvallavatn- ja Mývatn-järvien muta- ja laavaekotyypeillä (Taulukot 4, 5 ja 6), eikä vaikutusta havaittu myöskään tarkasteltaessa erikseen imumatoja (Taulukko 5) ja heisimatoja (Mann-Whitneyn U-testi:  $p < 0.1$ ) (Kuvat 14–17). Naarailta ja koirailta oli siis yhtä paljon loisia ekotyypistä riippumatta. Sen sijaan verrattaessa Thingvallavatn-järven kylmässä vedessä eläviä laava- sekä nitellaekotyypin kolmipiikkejä havaitsin, että koirailta oli naaraita enemmän heisimatoja (Kuva 15, Taulukko 6). Ero sukupuolten loismäärissä oli havaittavissa molemmilla ekotyypeillä.

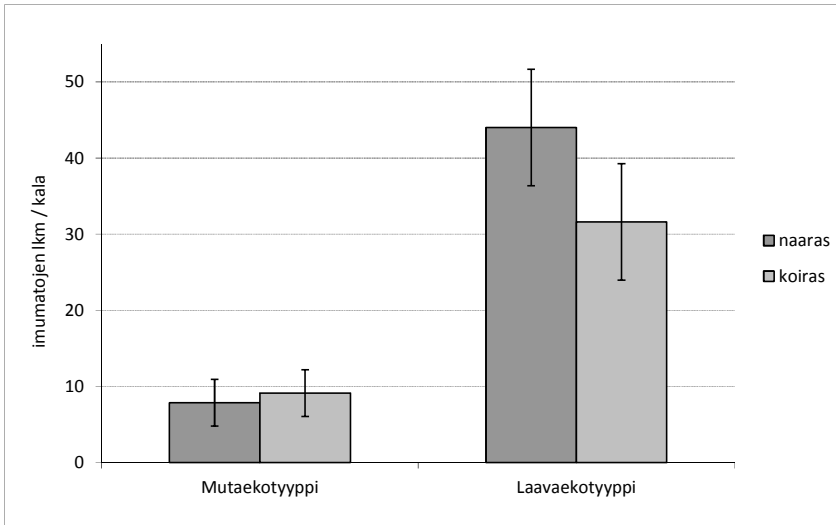


**Kuva 14.** Imumatojen abundanssi ja keskiarvon keskivirhe eri sukupuolilla kolmipiikkiekotyypeittäin Thingvallavatn-järvellä.

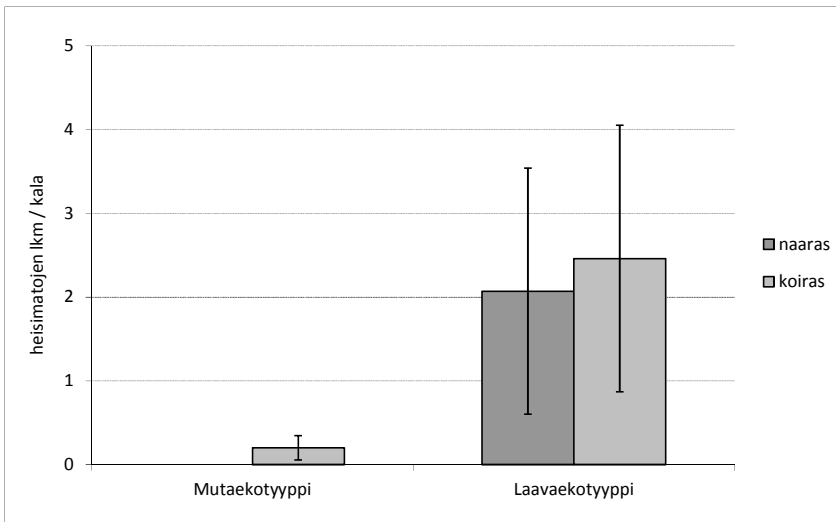


**Kuva 15.** Heisimatojen abundanssi ja keskiarvon keskivirhe eri sukupuolilla kolmipiikkiekotyypeittäin Thingvallavatn-järvellä.





**Kuva 16.** Imumatojen abundanssi ja keskiarvon keskivirhe eri sukupuolilla kolmipiikkiekotyypeittäin Mývatn-järvellä



**Kuva 17.** Heisimatojen abundanssi ja keskiarvon keskivirhe eri sukupuolilla kolmipiikkiekotyypeittäin Mývatn-järvellä

## 4. Tulosten tarkastelu

Lajien väliset interaktiot ovat merkittäviä evoluutiotekijöitä (Schluter 2000). Loisinnan merkitystä adaptiivisessa radiaatiossa on toistaiseksi tutkittu vähän, vaikka loisten merkitys ulottuu jopa ekosysteemitasolle asti (esim. Poulin 2007). Viimeaikaiset tutkimukset ovat antaneet viitteitä siitä, että loisinta edistää isäntälajien geneettistä ja fenotyypistä monimuotoisuutta ja saattaa siten toimia lajiutumista edistävänä ja nopeuttavana tekijänä (Summers ym. 2003; Karvonen & Seehausen 2012). Arvioitaessa loisinnan merkitystä teoriassa hyvin tunnettuun lajiutumisprosessiin on olennaista, että loisyhteisöissä on eroja toisistaan eriytyvässä olevien isäntäpopulaatioiden välillä (Karvonen & Seehausen 2012). Loiset voivat myös periaatteessa antaa alkusysäyksen lajiutumisoselle. Tätä ajatusta tukee loisintaerojen johdonmukaisuus eri populaatioissa elävien samanlaisten ekotyypiparien välillä. Lisäksi loiseröjen tulee säilyä samanlaisena riittävän pitkään. Loisinnan täytyy myös aiheuttaa muutoksia isännän ominaisuuksissa eli vaikuttaa isännän kelpoisuuteen (MacColl 2009a, Karvonen & Seehausen 2012).

Kaloilta on kuvattu useita adaptiivisen radiaation seurauksena syntyneitä sympatrisia ja parapatrisia lajeja ja ekotyyppejä (esim. Van Oijen ym. 1981; Schluter 1993; Skúlason ym. 1999). Kuitenkin vain hyvin harvoissa tutkimuksissa on selvitetty sympatristen lajien tai ekotyyppien loisyhteisöjä. Etenkin maantieteellisesti eri ympäristöissä elävien, mutta toisiaan vastaavien ekotyyppien välillä on tehty hyvin vähän loisvertailua (Knudsen ym. 2003; MacColl 2009a, Karvonen ym. 2012, Natsopoulou ym. 2012). Havainnot lajiutumisen eri vaiheissa olevista populaatioista ovat niin ikään välttämättömiä loisyhteisöjen evoluutiovaikutusten ymmärtämiseksi. Toistaiseksi tutkimusten määrä ei kuitenkaan ole riittävä, jotta tuloksia voitaisiin yleistää. Aiemmat tutkimukset ovat keskittyneet pääosin isännän ekologian vaikutukseen loisyhteisön rakenteessa, eikä abioottisia ympäristötekijöitä ole juuri huomioitu. Tämän vuoksi eri ekotyyppien ekologian ja ympäristötekijöiden suhteellista vaikutusta loisintaan ja siitä syntyviin valintapaineisiin ei vielä tunneta.

### 4.1 Järvien väliset erot kolmipiikkiekotyyppien loisyhteisöissä

Yksi keskeisimmistä vaatimuksista loisten aiheuttamalle evolutiiviselle valintapaineelle on, että loisinnan täytyy vaikuttaa isännän kelpoisuuteen (Agnew ym. 2000; Summers ym. 2003). Kaikki tässä tutkimuksessa havaitsemani loisilajit saattavat vahingoittaa kalaa ja heikentää sen yleiskuntoa. Monet loiset olivat yleisiä, mutta isännän kelpoisuuden kannalta

ratkaisevaa on yleensä loisinfection voimakkuus, sillä loisten lukumäärän kasvaessa niiden vaikutus isännän kelpoisuuteen kasvaa. Sekä Thingvallavatn- että Mývatn-järvellä yleisin ja runsain loislaji oli kalan silmän lasiaisessa loisiva *Diplostomum baeri* -imumato, jota havaitsin erityisen runsaasti lämpimässä vedessä elävillä kolmipiikkiekotyypeillä. Aiempien kolmipiikkitutkimusten (mm. Pennycuik 1971; Owen ym. 1993) perusteella *D.baeri* (synonyymi *D. gasteroste*) saattaa etenkin suurina määrinä ja linssin *Diplostomum*-loisten kanssa esiintyessään heikentää isännän näkökykyä ja siten vaikeuttaa kalan ravinnonhankintaa, parinvalintaa sekä hidastaa pakoreaktioita.

Havaitsin samaan sukuun kuuluvia imumatoja (*Diplostomum* spp.) myös kalan silmän linssissä. Näiden loisten tiedetään vaikuttavan voimakkaasti muun muassa kalan ravinnonhankintaan, kasvuun ja predaatioalttiuteen (esim. Crowden & Broom 1980; Seppälä ym. 2005; Karvonen & Seppälä 2008). *Diplostomum* spp. -imumadot aiheuttavat silmän linssin sameutumisen (loiskaihi), ja loisten sokeuttamat kalat joutuvat helposti pääisännän eli vesilinnun saaliiksi (Seppälä ym. 2004). Jo lievän linssin *Diplostomum*-infektion on todettu heikentävän kolmipiikkien näkökykyä (Owen ym. 1993). Tutkimuksessani *Diplostomum* spp. -imumatoja löydettiin pääasiassa Mývatn-järven laavaekotyypin kolmipiikeiltä. Osalla näistä kaloista loiskaihi saavutti tason, jonka on kokeellisissa töissä osoitettu vaikuttavan kalaisännän käyttäytymiseen ja kelpoisuuteen (Seppälä ym. 2005). Loiskaihistä kärsivien kolmipiikkien suhteellinen osuus koko kalapopulaatiossa saattaa olla jopa suurempi kuin tutkimukseen pyydytyissä kaloissa, sillä on todennäköistä, että näkökyvyn heikkeneminen vaikuttaa negatiivisesti myös kalan alttiuteen uida pyydykseen.

Kolmipiikillä silmän lasiaiseen lepomuodon (kystin) muodostavat *Apatemon*-suvun imumadot olivat molemmissa järvissä kohtalaisen yleisiä niillä ekotyypeillä, joista kyseinen loinen tutkittiin. Tämän loislajin vaikutuksesta kolmipiikkiin on hyvin vähän tutkimuksia, mutta muilla piikkikalalajeilla sen on todettu mahdollisesti lisäävän kuolleisuutta (Gordon & Rau 1982).

Kaikkien kaloissa havaittujen imumatojen kalaa edeltävä väli-isäntä on nilviäinen. Mahdollisia nilviäisväli-isäntälajeja on Islannissa hyvin vähän. Usein isäntänä toimii *Radix peregra* -kotilo, joka on yleinen muun muassa Thingvallavatn-järven matalassa rantavyöhykkeessä (Snorrason 1982). *Diplostomum*- ja *Apatemon*-sukujen imumatojen pääisäntä on vesilintu, jotka ovat etenkin Mývatn-järvellä runsaslukuisia (Gardarsson 1979; Gardarsson & Einarsson 2002). Tämä voi osaltaan selittää Mývatn-järven korkeammat imumatojen määrät.

Havaitsin Mývatn-järven kolmipiikeillä lukuisia *Schistocephalus solidus* -heisimatoja, joka on ehkä tunnetuin kolmipiikin loinen. Ruumiinontelossa loisiva plerokerkoiditoukka saattaa painaa jopa enemmän kuin isäntäkalansa. Suuren kokonsa vuoksi sen on todettu voimakkaasti heikentävän isäntäkalan kelpoisuutta (esim. Barber & Svensson 2003). Esimerkiksi Pennycuick (1971), LoBue & Bell (1993) sekä Ness & Foster (1999) osoittivat *S. solidus* -tartunnan saavan aikaan fenotyypistä muuntelua kolmipiikillä (vatsan huomattava pullistuminen ja mahdolliset värimuutokset), heikentävän kalan lisääntymiskykyä ja vaikuttavan voimakkaasti sen alttiuteen joutua petojen saaliiksi. *S. solidus* -loisen ensimmäinen väli-isäntä on planktonissa elävä hankajalkaisäyriäinen, toinen väli-isäntä kolmipiikki ja pääisäntä lähes mikä tahansa kalaa syövä vesilintu (Smyth 1962). On siis todennäköistä, että myös *S. solidus* -loisittujen kalojen määrä on yhteydessä Mývatn-järvellä runsaslukuisiin vesilintuihin (Gardarsson 1979; Gardarsson & Einarsson 2002).

Muita heisimatolajeja (*Diphyllobothrium dentriticum*, *D. ditremum* ja *Proteocephalus* sp.) löysin etenkin Thingvallavatn-järven pelagiaaliselta nitellaekotyypiltä. Näidenkin heisimatojen ensimmäinen väli-isäntä on planktoninen hankajalkaisäyriäinen.

*Diphyllobothrium*-heisimatojen toinen väli-isäntä on lohikala tai kolmipiikki ja pääisäntä lokkilintu (*D. dendriticum*) tai koskeloihin, kuikkiin, merimetsoihin tai haikaroihin kuuluva (*D. ditremum*) kalaa syövä vesilintu (Vik 1964). Sen sijaan *Proteocephalus*-heisimatojen elinkierrossa ei ole hankajalkaisen lisäksi muita väli-isäntiä. Loisen pääisäntänä toimii kala, esimerkiksi kolmipiikki tai nieriä, ja osa suvun loisista on hyvin isäntäpesifejä (Scholz 1999). Todennäköisesti löytämäni heisimadot kuuluivat *Proteocephalus filicollis* -lajiin, jonka pääisäntä on yksinomaan kolmipiikki (Scholz 1999), mutta tarkka lajinmääritys ei ollut käyttämilläni menetelmillä mahdollista. Heisimatojen runsaus nitellaekotyypillä selitty todennäköisesti ekotyypin ravinnonkäytöllä: nitellaekotyypin kolmipiikit käyttävät ravinnokseen pääasiassa hankajalkaisia ja muita planktoneläimiä, kun taas matalassa vedessä elävät ekotyypit syövät suhteessa enemmän pohjaeläimiä.

*Diphyllobothrium* -suvun heisimatoja oli runsaasti Thingvallavatn-järvellä, mutta ei lainkaan Mývatn-järvellä. Tulos on yllättävä, sillä näiden loisten pääisäntiä eli vesilintuja on Mývatn-järvellä paljon (Gardarsson 1979; Gardarsson & Einarsson 2002). Loisen puuttuminen kolmipiikeistä saattaa johtua joko hankajalkaisväli-isäntien yhteisörakenteesta tai Mývatn-järveltä pyydettyjen kalojen mahdollisesti pohjaeläimiä suosivassa ravinnonkäytössä. Myös *Proteocephalus*-heisimatoja oli kaikilla Thingvallavatn-järven ekotyypeillä selvästi enemmän kuin Mývatn-järven kolmipiikeillä, mikä saattaa myös selittyä edellä mainituilla tekijöillä.

Tutkimuksessani havaittujen loisten lajimäärä oli suhteellisen vähäinen (6), mikä on linjassa Islannin yleisesti matalan lajiversiteetin kanssa (ks. 2.1 Tutkimusalue: Islanti, s. 8). Myös Natsopoulou ym. (2012) tekivät vastaavan havainnon tutkiessaan Islannin kolmipiikkien loisia. Sen sijaan mantereilla tehdyissä tutkimuksissa kolmipiikin loislajimäärä on huomattavasti suurempi. Esimerkiksi MacColl (2009a) havaitsi kanadalaisilla kolmipiikeillä tätä tutkimusta selvästi suurempia loismääriä. Hän löysi yhteensä 16 loislajia, joista monisoluisia oli 14 lajia. Oman tutkimukseni kanssa yhteisiä lajeja oli neljä. Myös Wegner ym. (2003b) raportoivat tutkimuksessaan Saksan pohjoisosan järvien kolmipiikeiltä yhteensä 15 loislajia, joista 12 oli monisoluisia. Tässä tutkimuksessa oli omaani verrattuna yhteisiä lajeja *Diplostomum* spp. sekä *Proteocephalus* sp. Oman työni matalampi loisdiversiteetti selittyi osittain sillä, että jätin käytännön syistä tarkoituksella tutkimatta joitain pienikokoisia loisia. Esimerkiksi alkueläimet ja kidusmadot (Monogenea) tulisi tutkia kalasta välittömästi vedestä noston jälkeen, mikä ei tässä tutkimuksessa ollut logistisesti mahdollista pitkien etäisyyksien vuoksi. En kuitenkaan löytänyt lainkaan sukkulamatojen, väkäkärsämatojen ja äyriäisten kaltaisia suuria loisryhmiä, joita oli havaittu aiemmissa manneralueilla tehdyissä tutkimuksissa. Loislajien vähäisyys Islannissa siis todennäköisesti heijastaa loisten rajoitettuja kolonisaatiomahdollisuuksia viimeisimmän jääkauden jälkeen.

Islannin kolmipiikkien loislajisto vastasi kuitenkin melko hyvin Länsi-Kanadassa tehdyssä tutkimuksessa havaittuja loisyhteisöjä (MacColl 2009a). Molemmissa tutkimuksissa *Diplostomum* ja *Schistocephalus* -suvut muodostivat selkeitä eroja eri kolmipiikkiekotyyppien välillä. Lisäksi havaitsemistani loislajeista *Apatemon* sp. sekä *Proteocephalus* sp. on myös löydetty Kanadasta. Loiset ovat usein hyvin kosmopoliitteja, ja samat lajit esiintyvät siellä missä isäntälajitkin (Poulin 2007). Kuitenkin lajiyhteisöissä voi olla merkittäviä eroja, ja esimerkiksi Poulin ym. (2011) totesivat kolmipiikin loislajiston erilaistuvan tutkimusalueiden välimatkan kasvaessa. Tämän tutkimuksen ja MacColl (2009a) havaintojen perusteella kolmipiikin loisten lajiyhteisöissä ja siten myös loisten aiheuttamassa valintapaineessa saattaa silti olla samankaltaisuuksia jopa mantereiden välillä. Vaikka yksittäisten populaatioiden sisällä olisikin eroja loisten yleisyydessä ja runsaudessa, saattaa tällainen yhdenmukaisuus loislajien yhteisörakenteessa tukea loisten merkitystä kolmipiikkien sympatrisessa evoluutiossa.

## 4.2 Ekotyypin ja veden lämpötilan vaikutus loisintaan

Thingvallavatn- ja Mývatn-järvien samankaltaiset kolmipiikkiekotyypit elävät toisiinsa nähden päinvastaisissa lämpötiloissa, mikä mahdollisti vertailun kalan ekologian ja

abioottisen ympäristön vaikutuksesta loisintaan. Havaittiin, että veden lämpötila korreloi molemmissa järvissä voimakkaasti loismäärän kanssa ja ekotyypikohtaiset loismäärät olivat päinvastaisia eri järvissä. Veden lämpötilalla oli siis isännän ekologiaa suurempi vaikutus loisyhteisöihin. Loisten suurempaan määrään lämpimillä alueilla voi olla useita syitä. Esimerkiksi levät ja vesikasvit menestyvät lämpimässä vedessä, jolloin myös nilviäisiä eli imumatojen ensimmäisiä väli-isäntiä on todennäköisesti enemmän. Lämpötilan noustessa imumatojen kerkariatoukat monistuvat tehokkaammin nilviäisväli-isännässä, ja niitä myös vapautuu enemmän ja nopeammin ympäröivään veteen. Siten imumatojen transmissio eli siirtyminen kalaväli-isäntään tehostuu (Karvonen ym. 2004a; Poulin 2006, 2007). Transmissiota voi helpottaa myös lämpimän veden alueiden tiheämpi kolmipiikkipopulaatio (ks. 2.4.1 Kolmipiikkien pyynti, s.13), jossa imumatojen vapaana uivilla kerkariatoukilla on suurempi todennäköisyys kohdata kalaisäntä.

Tutkittaessa loisten merkitystä adaptiivisessa radiaatioissa on keskeistä selvittää, missä vaiheessa isäntäeliön lajiutumisosuutta eri ekotyyppien loisyhteisöt alkavat eriytyä toisistaan (Karvonen & Seehausen 2012). Vain tällä tavoin voidaan tutkia, toimivatko loiset prosessin alkuunpanijoina vai täydentävätkö ne joistain muista syistä alkunsa saanutta lajiutumista. MacColl (2009a) oletti loisten olevan merkittävä tekijä jo lajiutumisen varhaisessa vaiheessa, sillä hänen tutkimuksessaan kahden eri järven toisiaan vastaavien kolmipiikkiekotyyppien loisyhteisöt olivat hyvin samankaltaisia. Omat tulokseni sen sijaan osoittivat samankaltaisten, mutta eri lämpötiloissa elävien ekotyyppien loisyhteisöissä suuria eroja, ja toisaalta samankaltaisuuksia yhtenevissä lämpötiloissa elävien kolmipiikkien loisyhteisöissä ekotyypistä riippumatta. Järvissä on siis syntynyt samankaltaisia ekotyyppisiä päinvastaisen loisintapaineen alla. On siis epätodennäköistä, että erot loisinnassa ovat aloittaneet isäntälajin erilaistumisprosessin uusiksi lajeiksi. Luultavimmin jotkin muut evoluutiotekijät ovatkin edesauttaneet lajiutumisen alkamista, ja erot loisinnassa ovat seuranneet tätä alkavaa muutosta myöhemmässä vaiheessa. Havainto on merkittävä, sillä se osoittaa, että loisten merkitys lajiutumisosuudessa voi olla hyvin erilainen vaihtelevissa ympäristöolosuhteissa. Isännän ekologian lisäksi ympäristö vaikuttaa voimakkaasti loisyhteisöihin, eikä päätelmiä loisten merkityksestä isäntälajien evoluutiosta voi tehdä huomioimatta myös näitä tekijöitä.

Vaikka loiset eivät suoranaisesti aloittaisikaan lajiutumisosuutta, ne saattavat silti edesauttaa isäntälajin eriytymistä uusiksi lajeiksi myöhemmässä vaiheessa (Karvonen & Seehausen 2012). Loislaitus saattaa esimerkiksi edistää MHC-genotyyppien erilaistumista eriytyneissä olevissa isäntäpopulaatioissa (Wegner ym. 2003b). MHC-geeneillä on merkittävä rooli sekä eläinten vastustuskyvyn muodostumisessa että seksuaalivalinnassa.

Eizaguirre ym. (2009a, 2009b) tutkivat kolmipiikeillä loisinnan ja MHC-geenien välistä yhteyttä ja havaitsivat, että MHC-genotyypiltään eroavilla ekotyypeillä oli myös eroja vastustuskyvyssä loisia vastaan. Tämä vaikutti voimakkaasti kolmipiikin parinvalintaan. Lisäksi ekotyypihybrideillä oli muita huonompi loisimmunitaetti, mikä voi edesauttaa lajiutumista hybridien heikomman kelpoisuuden kautta. Myöhemmin Eizaguirre ym. (2012a) havaitsivat kokeellisessa tutkimuksessaan, että kolmipiikin MHC-alleelit voivat muuttua jopa yhden sukupolven aikana ja kasvattaa populaation vastustuskykyä loislajeille, joille edellinen sukupolvi on altistunut. Populaatioiden väliset erot loislajeille voivat siis johtaa nopeaan MHC-profiilien eriytymiseen. On mahdollista, että tämän tutkimuksen muta- ja laavahabitaattien erilaiset loisintaolosuhteet saavat aikaan eroja kolmipiikkien MHC-alleelien esiintymistiheyksissä ja siten edesauttavat ekotyyppien ekologista ja geneettistä eriytymisestä uusiksi lajeiksi. Tässä tutkimuksessa MHC-geenejä ei tarkasteltu ja siten niiden roolia ekotyyppien eriytymisessä ei tiedetä. Mahdolliset muutokset eivät kuitenkaan olisi paralleelisia, koska eri järvien ekotyyppien loisyhteisöt ja -runsaudet olivat päinvastaisia. Loisten tulee myös vaikuttaa kalan kelpoisuuteen, jotta lajiutumista edistävät muutokset MHC-immunogeeneissä olisivat mahdollisia (ks. edellä). Lisäksi on olennaista huomata, että loisten kelpoisuusvaikutusten arvioiminen luonnonkaloilla ei ole kovin yksiselitteistä, koska puolustusjärjestelmän geeneihin vaikuttavat samanaikaisesti useiden eri loislajien yhteisinfektiot (Wegner ym. 2003b).

Tutkimuksessani havaitsin siis veden lämpötilan vaikuttavan merkittävästi samankaltaisten ekotyyppien loisyhteisöihin siten, että lämpimässä vedessä elävillä ekotyypeillä oli kylmän veden ekotyyppiä enemmän loisia. Havaitsin kuitenkin myös, että Thingvallavatn-järvessä elävien laava- ja nitellaekotyyppien loisyhteisöt poikkesivat toisistaan: nitellaekotyypillä oli merkittävästi enemmän loisia. Näillä kahdella ekotyypillä on erilaiset habitaatit ja ravinnonkäyttötavat, mutta molemmat elävät kylmässä vedessä (ks. 2.3.1 Islannin sisävesien kolmipiikkiekotyyppien kuvaus, s. 12). Syvällä vesipatsaassa elävän nitellaekotyypin pääasiallista ravintoa ovat heisimatojen väli-isäntänä toimivat hankajalkaiset ja muut planktoneläimet (Sandlund ym. 1992b), minkä vuoksi kaloissa oli paljon heisimatoja. Laavaekotyypin kalat syövät enimmäkseen surviaissääsken toukkia ja muita pohjaeläimiä (Kristjánsson ym. 2002a), eivätkä näin ollen altistu nitellaekotyypin tavoin heisimadoille. Nitellaekotyypin kaloilla oli myös enemmän imumatoja kuin laavaekotyypillä. Tämä saattaa johtua siitä, että nämä kalat altistuvat imumatojen kerkariatoukille joko käydessään satunnaisesti lämpimissä rantavesissä tai kohdatessaan syvällä virtausten mukanaan kuljettamia imumatotoukkia. Lisäksi Kairesalo ym. (1992) raportoivat tutkimuksessaan löytäneensä Thingvallavatn-järven syvällä kasvavista *Nitella opaca* -kasvustoista *Lymnea peregra* -kotiloita, jotka voivat muiden vesikotiloiden tavoin toimia imumatojen

ensimmäisenä väli-isäntänä. Näiden tekijöiden osuutta kalojen imumatomääriin ei kuitenkaan tunneta. Myös kalojen elinikä saattaa vaikuttaa loisintaan, sillä lyhytikäisillä kaloilla on todettu olevan pitkäikäisiä heikompi immuniteetti (Miller ym. 2007; MacColl 2009b). Laavaekotyypin verrattuna nitellaekotyypin kolmipiikit ovat lyhytikäisempiä (vain yksi lisääntymiskausi) (B.K. Kristjánsson, suullinen tiedonanto), mikä saattaa vaikuttaa ekotyypin vastustuskykyyn. Nitella- ja laavaekotyyppien vertailu osoittaa, että samanlaisissa lämpötilaoloissa isännän ekologialla voi niin ikään olla merkittävä rooli loisyhteisöjen muodostumisessa.

### **4.3 Sukupuolten väliset erot loisinnassa**

Isännän sukupuoli ei vaikuttanut loisten kokonaismäärään useimmissa vertailuissa. Ainoastaan Thingvallavatn-järven laava- ja nitellaekotyypin koirailta oli naaraita enemmän heisimatoja. Sukupuolisidonnaiset erot loisinfektioissa ovat yleensä seurausta eri sukupuolten erilaisesta immunokompetenssista (eli eroista vastustuskyvyssä) tai erilaisista elintavoista ja siten erilaisesta altistumisesta loisille (esim. Slatkin 1984; Tinsley 1989). Esimerkiksi Reimchen & Nosil (2001) raportoivat pitkäaikaistutkimuksessaan kolmipiikkikoiraiden kärsivän loistartunnoista naaraita useammin ja raskaammin. Kolmipiikeillä koiraan panostus lisääntymiseen on suuri: se rakentaa pesän, puolustaa reviiriä ja huolehtii mätimunista ja poikasista yksin (Foster ym. 2008). Lisääntymisaikaan koiraan kunto heikkenee huomattavasti muun muassa testosteronitason nousun ja ravinnonpuutteen vuoksi, mikä vaikuttaa sen loisinfektioalttiuteen (Folstad & Karter 1992). Koiras myös pysyy pesällään, eikä siten voi paeta ympäristön loisia. Naaraat sen sijaan tyyppillisesti siirtyvät habitaatista toiseen (Foster ym. 2008). Reimchen & Nosil (2001) esittivät tulostensa johtuvan ennen kaikkea sukupuolten erilaisesta käyttäytymisestä ja altistumisesta loisille, eikä niinkään vastustuskyvyn eroista.

Koiraiden naaraita suurempi loistaakka saattaa toimia evoluutiotekijänä. Esimerkiksi Milinski & Bakker (1990) sekä Møller ym. (1999) havaitsivat kolmipiikkinaaraiden välttävän pariutuessaan loisittuja koiraita. Parinvalinnan taustalla vaikuttavat usein kalojen MHC-alleelit, joiden frekvenssit muuttuvat evolutiivisesti loisinnan vaikutuksesta (Eizaguirre ym. 2009a, 2009b, 2012a). Heikentynyt yleiskunto, muuntunut fenotyyppi sekä loiselle edulliseksi muuttunut isännän käyttäytyminen kasvattavat riskiä joutua saalistetuksi ja heikentävät lisääntymismenestystä. Riippuen haitallisten loistartuntojen yleisyydestä isäntäpopulaatiossa loisilla voi siis olla merkittävä vaikutus parinvalintaan ja parinvalinnan



kautta tapahtuvaan ekotyypin eriytymiseen eri populaatioissa (Karvonen & Seehausen 2012).

Loislajiston sukupuolierojen ilmeneminen Thingvallavatn-järven laava- ja nitellaekotyypeillä saattaa selittyä näiden kalojen ekologisilla erityispiirteillä, esimerkiksi yleisesti voimakkaammalla heisimatoaltistuksella. Sukupuolten väliset erot loisaltistuksessa ovat todennäköisesti yhteydessä kunkin kalapopulaation ja järven erityispiirteisiin. Tämä saattaa osaltaan selittää, miksi sukupuolieroja loisinnan suhteen ei havaita kaikkialla. On myös mahdollista, että loisinnan sukupuolieroissa esiintyy ajallista vaihtelua (Chappell 1969; Reimchen & Nosil 2001). Kuten tässäkin tutkimuksessa, useimpien luonnonvaraisilla kolmipiikeillä tehtävien tutkimusten aineisto kerätään lisääntymisaikana, sillä kaloja on silloin helposti saatavilla. Kalojen käyttäytyminen ja loisaltistus saattavat kuitenkin muuttua lisääntymiskauden ulkopuolella. Kesällä kolmipiikit liikkuvat parvissa ja pareittain, mutta niiden liikkeistä syksyllä ja talvikaudella ei juuri tiedetä. Myös kalojen ravinnonkäyttö saattaa olla erilainen eri vuodenaikoina. Lisäksi loisten kaloihin tunkeutuvien toukka-asteiden määrät voivat vaihdella voimakkaasti sekä vuodenajan mukaan että vuosien välillä, vaikka monet loiset ovat pitkäikäisiä päästyään kalaisäntäänsä (Pennycuick 1971; Poulin 2007). Ajallinen ja paikallinen vaihtelu sukupuolisidonnaisissa loiserossa korostaa sitä, että myös näiden erojen evolutiivinen merkitys todennäköisesti vaihtelee populaatioiden ja ympäristön erityispiirteiden mukaan. Jotta sukupuolten välisistä loisintaeroista voitaisiin tehdä yleispäteviä päätelmiä, tulisi jatkossa selvittää loisinnan vuodenaikaisvaihtelua eri sukupuolilla sekä kartoittaa eri olosuhteissa eläviä kolmipiikkiekotyyppejä ja -populaatioita.

#### 4.4 Johtopäätökset

Tutkimuksessani havaitsin sympatristen kolmipiikkiekotyyppien loisyhteisöissä merkittäviä eroja, jotka olivat yhteydessä eri järvien vastakkaisiin veden lämpötilaprofiileihin. On todennäköistä, että nämä erot loisyhteisöissä ovat syntyneet vasta toissijaisesti ekotyyppien lajituduttua erilaisten elinympäristöjen seurauksena. Havainto on uusi, ja ottaa kantaa kysymykseen siitä, missä vaiheessa loisinta voi vaikuttaa isäntäpopulaatioiden evoluutiiviseen eriytymiseen. Tulokset myös tukevat teoriaa, että loiset saattavat edesauttaa isäntälajien populaatioiden eriytymistä lajiutumisosprosessin myöhemmässä vaiheessa. Tämä on linjassa aiempien makeanveden kalaekotyyppien loislajistotutkimusten tulosten kanssa.

Havaitsin myös, että samassa järvestä samanlaisessa lämpötilassa elävien eri ekotyyppien loisyhteisöt eroavat toisistaan. Tämä havainto on tärkeä, sillä se osoittaa, että loisinteraktiot ovat monimutkaisia: vaikka veden lämpötila vaikuttaisikin olevan ensisijainen loisinfektioiden määrää säätelevä tekijä, saattavat kalaisännän ekologian erityispiirteet kumota lämpötilan vaikutuksen. Johtopäätöksiä tehtäessä on myös muistettava, että loisyhteisöjä tarkasteltaessa kyse on usean eri loisen samanaikaisesta vaikutuksesta isäntäänsä. Siten pienetkin erot loislajistossa saattavat olla merkityksellisiä.

Tutkimuksessani isännän sukupuoli vaikutti kahden kolmipiikkiekotyypin loisyhteisöihin, mutta muilla ekotyypeillä vastaavia eroja ei havaittu. Tulos osoittaa, että sukupuolten väliset erot loisaltistuksessa ja -herkkydessä eivät välttämättä ole johdonmukaisia, vaan ne ovat yhteydessä kalapopulaation ja elinympäristön erityispiirteisiin. Tämä on olennaista arvioitaessa loisinnan sukupuolierojen vaikutusta populaatioiden eriytymiseen.

Kaiken kaikkiaan tutkimukseni tulokset viittaavat siihen, ettei loisten merkitystä evoluutiotekijänä voi määrittellä pelkästään ekologisten tai ympäristömuuttujien perusteella, vaan molemmat tekijät täytyy ottaa entistä paremmin huomioon. Tulevaisuudessa onkin keskeistä selvittää kokeellisten tutkimusten avulla, missä lajiutumisosprosessin vaiheessa loisyhteisöt alkavat eriytyä. Tämän tiedon avulla voidaan muodostaa ehyempi kokonaiskuva loisten merkityksestä adaptiivisessa radiaatiossa.

## Kiitokset

Suurimmat kiitokseni kuuluvat ohjaajalleni, akatemiaturkija Anssi Karvoselle. Olet ollut käsittämättömän kärsivällinen näiden vuosien aikana. Tämän työn loppuun saattaminen ei ole ollut itsestänselvyys, mutta lukuisista vastoinkäymisistä ja ajan kulusta huolimatta olet aina ollut täydellisen kannustava ohjaaja ja varauksetta tukenani. Olet jaksanut lukea lukuisia graduversioitani niin juhannuksena kuin joulunpyhinäkin. Olen oppinut sinulta paljon tutkimuksen teosta, ja palava mielenkiintosi loisten kiehtovaa maailmaa kohtaan on inspiroivaa. Kiitos myös lukuisista hyvistä hetkistä Islannissa!

Kenttäjakson aikana kiinnyin syvästi Islantiin. Dr. Bjarni K. Kristjánsson opetti minulle paljon kolmipiikeistä. Prof. Skuli Skúlason teki näkemyksellään, kokemuksellaan ja ystävällisyydellään vaikutuksen suomalaiseen graduntekijään. Sveitsiläinen Mike Senn auttoi minua Mývatn-järven kalojen pyydystämisessä oman graduaineistonsa ohessa. Sydämellisimmät hetket vietin Dr. Katja Räsäsen kanssa; en ikinä unohda islantilaista juhannusyötä koivuineen, kiitos näistä muistoista! Lampaat, islanninhevoset, kukkivat kukkulat, punakylkirastaat ja virta-allit, teitte pesän sydämeeni.

Muutammat tosiystävät ovat jaksaneet vuodesta toiseen seurata ja kannustaa niin opinnoissani kuin kaikessa muussakin. Kiitos Lasse, Jussi, Sanna, Tero ja Emmi. Ville Heimalalle lämmin kiitos kansikuvan toteutuksesta.

Äiti ja isi, te olette uskoneet minuun aina ja varauksetta. Olen onnekas, että minulla on kaltaisenne vanhemmat, jotka ovat kannustaneet minua pienestä pitäen tutkimaan ja löytämään – ja uskomaan itseeni. En löydä tarpeeksi vahvoja sanoja, joilla kiittää monipuolisesta ja kaiken antavasta tuestanne tällä pitkällä matkalla. Rakastan teitä.

Mikko, rakkaani, tulit elämäni juuri, kun sitä eniten kaipasin. Se Oikea on siis todellakin olemassa. Tämä ei olisi valmistunut ilman sinua. Kiitos kaikesta.

Tutkimukseni rahoittajana ja mahdollistajana oli Jyväskylän yliopiston Evoluutiotutkimuksen huippuyksikkö, Centre of Excellence in Evolutionary Research (2006-2011). Islannin kenttäjakson mainiona tukikohtana toimi Hólar University College.

## Kirjallisuus

- Adalsteinsson, H. 1979: Size and food of arctic char *Salvelinus alpinus* and stickleback *Gasterosteus aculeatus* in Lake Myvatn. — *Oikos* 32: 228–231.
- Adalsteinsson, H., Jónasson, P.M. & Rist, S. 1992: Physical characteristics of Thingvallavatn, Iceland. — *Oikos* 64: 121–135.
- Agnew, P., Koellaa, J.C & Michalakisa, Y. 2000: Review: Host life history responses to parasitism. — *Microbes and Infection* 2: 891–896.
- Barber, I., Arnott, S.A., Braithwaite, V.A., Andrew, J. & Huntingford, F.A. 2001: Indirect fitness consequences of mate choice in sticklebacks: offspring of brighter males grow slowly but resist parasitic infections. — *Proceedings of the Royal Society of London B* 268, 71–76.
- Barber, I. & Svensson, P.A. 2003: Effects of experimental *Schistocephalus solidus* infections on growth, morphology and sexual development of female three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*. — *Parasitology* 126: 359–367.
- Bell, M.A. & Foster, S.A.(toim.) 1994: *The evolutionary biology of the threespine stickleback*. — Oxford University Press. 571 s.
- Bentzen, P. & McPhail, J.D. 1984: Ecology and evolution of sympatric sticklebacks (*Gasterosteus*): specialization for alternative trophic niches in the Enos Lake species pair. — *Canadian Journal of Zoology* 62: 2280–2286.
- Blais, J., Rico, C., van Oosterhout, C., Cable, J., Turner, G.F. & Bernatchez, L. 2007: MHC Adaptive divergence between closely related and sympatric African Cichlids. — *PLoS ONE* 2(8): e734.
- Buckling, A. & Rainey, P.B. 2002: The role of parasites in sympatric and allopatric host diversification. — *Nature* 420: 496–499.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M. & Shostak, A.W. 1997: Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. — *The Journal of Parasitology* 83(4): 575–583.
- Byers, J. E., Blakeslee, A.M.H., Linder, E., Cooper, A.B. & Maguire, T.J. 2008: Controls of spatial variation in the prevalence of trematode parasites infecting a marine snail. — *Ecology* 89: 439–451.
- Chappell, L.H. 1969: The Parasites of the three-spined Stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. from a Yorkshire Pond II. Variation of the parasite fauna with sex and size of fish. — *Journal of Fish Biology* 1: 339–347.
- Cresko, W.A. & Baker, J.A. 1996: Two morphotypes of lacustrine threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, in Benka Lake, Alaska. — *Environmental Biology of Fishes* 45: 343–350.
- Crowden, A. E. & Broom, D. M. 1980: Effects of the eyefluke, *Diplostomum spathaceum*, on the behaviour of dace (*Leuciscus leuciscus*). — *Animal Behaviour* 28: 287–294.
- Darwin, C. 1859: *On the origin of the species by means of natural selection, or the preservation of the favoured races in the struggle of life*. — London: John Murray.
- Doucette, L.I., Skúlason, S. & Snorrason, S.S. 2004: Risk of predation as a promoting factor of species divergence in threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.). — *Biological Journal of the Linnean Society* 82: 189–203.

- Eizaguirre, C., Lenz, T.L., Kalbe, M. & Milinski, M. 2012a: Rapid and adaptive evolution of MHC genes under parasite selection in experimental vertebrate populations. — *Nature Communications* 3: 621.
- Eizaguirre, C., Lenz, T.L., Kalbe, M. & Milinski, M. 2012b: Divergent selection on locally adapted major histocompatibility complex immune genes experimentally proven in the field. — *Ecology Letters* 15: 723–731.
- Eizaguirre, C., Lenz, T.L., Sommerfeld, R.D., Harrod, C., Kalbe, M. & Milinski, M. 2011: Parasite diversity, patterns of MHC II variation and olfactory based mate choice in diverging three-spined stickleback ecotypes. — *Evolutionary Ecology* 25: 605–622.
- Eizaguirre, C., Lenz, T.L., Traulsen, A. & Milinski, M. 2009a: Speciation accelerated and stabilized by pleiotropic major histocompatibility complex immunogenes. — *Ecology Letters* 12: 5–12.
- Eizaguirre, C., Yeates, S.E., Lenz, T.L., Kalbe, M. & Milinski, M. 2009b: MHC-based mate choice combines good genes and maintenance of MHC polymorphism. — *Molecular Ecology* 18: 3316–3329.
- Faltýnková, A., Valtonen, E.T. & Karvonen, A. 2008: Spatial and temporal structure of the trematode component community in *Valvata macrostoma* (Gastropoda, Prosobranchia). — *Parasitology* 135: 1691–1699.
- Folstad, I. & Karter, A.J. 1992: Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. — *American Naturalist* 139: 603–622.
- Foster, S.A., Shaw, K.A., Robert, K.L. & Baker, J.A. 2008: Benthic, limnetic and oceanic threespine stickleback: profiles of reproductive behaviour. — *Behaviour* 145, 485–508.
- Freeman, S. & Herron, J.C. 2007: *Evolutionary Analysis*. — 4<sup>th</sup> edition. Pearson Education Ltd. 834 s.
- Gandon, S. 2002: Local adaptation and the geometry of host–parasite coevolution. — *Ecology Letters* 5: 246–256.
- Gardarsson, A. 1979. Waterfowl Populations of Lake Mývatn and Recent Changes in Numbers and Food Habits. — *Oikos* 32: 250–270.
- Gardarsson, A. & Einarsson, A. 2002: Monitoring waterfowl at Myvatn. — Sivut 3–20 teoksessa: Comin, F.A., Herrera, J.A. & Ramírez, J. (toim.). *Limnology and Aquatic Birds. Monitoring, Modelling and Management*. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida (México).
- Gíslason, D., Ferguson, M.M., Skúlason, S. & Snorrason, S.S. 1999: Rapid and coupled phenotypic and genetic divergence in Icelandic Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). — *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences* 56: 2229–2234.
- Gordon, D.M. & Rau, M.E. 1982: Possible evidence for mortality induced by the parasite *Apatemon gracilis* in a population of brook sticklebacks (*Culaea inconstans*). — *Parasitology* 84: 41–47.
- Gow, J.L., Peichel, C.L. & Taylor, E.B. 2007. Ecological selection against hybrids in natural populations of sympatric threespine sticklebacks. — *Journal of Evolutionary Biology* 20(6): 2173–2180.
- Gross, H.P. & Anderson, J.M. 1984: Geographic variation in the gillrakers and diet of European threespine sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*. — *Copeia* 1984: 87–97.
- Halmetoja, A., Valtonen, E.T. & Koskeniemi E. 2000: Perch (*Perca fluviatilis* L.) parasites reflect ecosystem conditions: a comparison of a natural lake and two acidic reservoirs in Finland. — *International Journal of Parasitology* 30: 1437–1444.

- Harmon, L.J., Matthews, B., Des Roches, S., Chase, J.M., Shurin, J.B. & Dolph Schluter, D. 2009: Evolutionary diversification in stickleback affects ecosystem functioning. — *Nature* 458: 1167–1170.
- Hudson, A.G., Vonlanthen, P. & Seehausen, O. 2011: Rapid parallel adaptive radiations from a single hybridogenic ancestral population. — *Proceedings of the Royal Society B* 278: 58–66.
- Jokela, J. & Lively, C. M. 1995: Spatial variation in infection by digenetic trematodes in a population of fresh-water snails (*Potamopyrgus antipodarum*). — *Oecologia* 103: 509–517.
- Jónasson, P.M. (toim.) 1979a: Ecology of eutrophic, subarctic Mývatn and the river Laxá. — *Oikos* 32, 308 s.
- Jónasson, P.M. 1979b: The Lake Mývatn ecosystem, Iceland. — *Oikos* 32: 289–305.
- Jónasson, P.M. (toim.) 1992: Ecology of oligotrophic, subarctic Thingvallavatn. — *Oikos* 64, 437 s.
- Kairesalo, T., Jónsson, G.St., Gunnarsson, K., Lindegaard, C. & Jónasson, P.M. 1992: Metabolism and community dynamics within *Nitella opaca* (Charophyceae) beds in Thingvallavatn. — *Oikos* 64: 241–256.
- Kalbe, M. & Kurtz, J. 2005: Local differences in immunocompetence reflect resistance of sticklebacks against the eye fluke *Diplostomum pseudospathaceum*. — *Parasitology* 132: 105–116.
- Karvonen, A., Lundsgaard-Hansen, B., Jokela, J. & Seehausen, O. 2012: Differentiation in parasitism among ecotypes of whitefish segregating along depth gradients. — *Oikos* 000: 001–007
- Karvonen, A. & Seehausen, O. 2012: Review Article. The Role of Parasitism in Adaptive Radiations —When Might Parasites Promote and When Might They Constrain Ecological Speciation? — *International Journal of Ecology* Vol 2012: Article ID 208169.
- Karvonen, A. & Seppälä, O. 2008: Effect of eye fluke infection on the growth of whitefish (*Coregonus lavaretus*) – An experimental approach. — *Aquaculture* 279: 6–10.
- Karvonen, A., Seppälä, O. & Valtonen, E.T. 2004a: Parasite resistance and avoidance behaviour in preventing eye fluke infections in fish. — *Parasitology* 129: 159–164.
- Karvonen, A., Seppälä, O. & Valtonen, E.T. 2004b: Eye fluke-induced cataract formation in fish: quantitative analysis using an ophthalmological microscope. — *Parasitology* 129: 473–478.
- Khan, R. A. and Thulin, J. 1991: Influence of pollution on parasites of aquatic animals. — *Advances in Parasitology* 30: 201–238.
- Knudsen, R., Amundsen, P-A. & Klemetsen, A. 2003: Inter- and intra-morph patterns in helminth communities of sympatric whitefish morphs. — *Journal of Fish Biology* 62: 847–859.
- Knudsen, R., Amundsen, P-A., Nilsen, R., Kristoffersen, R. & Klemetsen, A. 2008: Food borne parasites as indicators of trophic segregation between Arctic charr and brown trout. — *Environmental Biology of Fishes* 83: 107–116.
- Knudsen, R., Klemetsen, A., Amundsen, P-A. & Hermansen, B. 2006: Incipient speciation through niche expansion: an example from the Arctic charr in a subarctic lake. — *Proceedings of the Royal Society B* 273: 2291–2298.
- Knudsen, R., Kristoffersen, R. & Amundsen, P-A. 1997: Parasite communities in two sympatric morphs of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), in northern Norway. — *Canadian Journal of Zoology* 75: 2003–2009.
- Knudsen, R., Primicerio, R., Amundsen, P-A. & Klemetsen, A. 2010: Temporal stability of individual feeding specialization may promote speciation. — *Journal of Animal Ecology* 79: 161–168.

- Kristjánsson, B.K., Noakes, D.L.G. & Skúlason, S. 2002a: Morphological segregation of Icelandic threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L). — *Biological Journal of Linnean Society* 76: 247–257.
- Kristjánsson, B.K., Skúlason, S. & Noakes, D.L.G. 2002b: Rapid divergence in a recently isolated population of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L). — *Evolutionary Ecology Research* 4: 659–672.
- Lafferty, K.D. & Kuris, A.M. 1999: How environmental stress affects the impacts of parasites. — *Limnology and Oceanography* 44(3): 925–931.
- Lavin, P.A. & McPhail, J.D. 1985: The evolution of freshwater diversity in the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): site-specific differentiation of trophic morphology. — *Canadian Journal of Zoology* 63: 2632–2638.
- Lavin, P.A. & McPhail, J.D. 1986: Adaptive divergence of trophic phenotype among freshwater populations of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). — *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 43: 2455–2463.
- Lavin, P.A. & McPhail, J.D. 1987: Morphological divergence and the organization of trophic characters among lacustrine populations of the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). — *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 44: 1820–1829.
- Lindegaard, C. 1979: The invertebrate fauna of Lake Mývatn, Iceland. — *Oikos* 32: 151–161.
- Lindegaard, C. 1992: Zoobenthos ecology of Thingvallavatn: vertical distribution, abundance, population dynamics and production. — *Oikos* 64: 257–304.
- LoBue, C.P. & Bell, M.A. 1993: Phenotypic Manipulation by the Cestode Parasite *Schistocephalus solidus* of Its Intermediate Host, *Gasterosteus aculeatus*, the Threespine Stickleback. — *The American Naturalist* 142(4): 725–735.
- Locke, S., McLaughlin, J.D., Dayanandan, S. & Marcogliese, D.J. 2010: Diversity and specificity in *Diplostomum* spp. metacercariae in freshwater fishes revealed by cytochrome c oxidase I and internal transcribed spacer sequences. — *International Journal for Parasitology* 40: 333–343.
- Maan, M.E., van Rooijen, A.M.C., van Alphen, J.J.M. & Seehausen, O. 2008: Parasite-mediated sexual selection and species divergence in Lake Victoria cichlid fish. — *Biological Journal of the Linnean Society* 94: 53–60.
- MacColl, A.D.C. 2009a: Parasite burdens differ between sympatric three-spined stickleback species. — *Ecography* 32: 153–160.
- MacColl, A.D.C. 2009b: Parasites may contribute to ‘magic trait’ evolution in the adaptive radiation of three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* (Gasterosteiformes: Gasterosteidae). — *Biological Journal of the Linnean Society* 96: 425–433.
- Magnusson, K.P. & Ferguson, M.M. 1987: Genetic analysis of four sympatric morphs of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, from Thingvallavatn, Iceland. — *Environmental Biology of Fishes* 20: 67–73.
- Malmquist, H.J., Antonsson, T., Guðbergsson, G., Skúlason, S. & Snorrason, S.S. 1999: Biodiversity of macroinvertebrates on rocky substrate in the surf zone of Icelandic lakes. — *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Limnologie* 27:1–7.
- Marcogliese, D.J. & Cone, D.K. 1996: On the distribution and abundance of eel parasites in Nova Scotia: influence of pH. — *Journal of Parasitology* 82: 389–399.
- Markevich, A. 1951: *Parasitic fauna of freshwater fish of the Ukrainian S.S.R.* — Izdatel'stvo Akademii Nauk Ukrainskoi SSR, Kiev. 388 s.

- McKinnon, J.S. & Rundle, H.D. 2002: Speciation in nature: the threespine stickleback model systems. — *Trends in Ecology & Evolution* 17: 480–488.
- McPhail, J.D. 1994: Speciation and the evolution of reproductive isolation in the sticklebacks (*Gasterosteus*) of south-western British Columbia. — Sivut 399-437 teoksessa Bell, M.A. & Foster, S.A. (toim.) *The evolutionary biology of the threespine stickleback*. Oxford University Press.
- Milinski, M. 2006: The major histocompatibility complex, sexual selection, and mate choice. — *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematic* 37: 159–186.
- Milinski, M. & Bakker, T.C.M. 1990: Female sticklebacks use male coloration in mate choice and hence avoid parasitized males. — *Nature* 344: 330–333.
- Miller, M.R., White, A. & Boots, M. 2007: Host life span and the evolution of resistance characteristics. — *Evolution* 61: 2–14.
- Münzing, J. 1963: The evolution of variation and distributional patterns in European populations of the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. — *Evolution* 17: 320–332.
- Møller, A.P., Christe, P. & Lux, E. 1999: Parasitism, Host Immune Function, and Sexual Selection. — *The Quarterly Review of Biology* 74: 3–20.
- Natsopoulou, M. E., Pálsson, S. & Ólafsdóttir, G.Á. 2012: Parasites and parallel divergence of the number of individual MHC alleles between sympatric three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* morphs in Iceland. — *Journal of Fish Biology* 81: 1696–1714.
- Ness, J.H. & Foster, S.A. 1999: Parasite-associated phenotype modifications in threespine stickleback. — *Oikos* 85: 127–134.
- Ólafsdóttir, G.Á. & Snorrason, S.S. 2009: Parallels, nonparallels, and plasticity in population differentiation of threespine stickleback within a lake. — *Biological Journal of the Linnean Society* 98: 803–813.
- Ólafsdóttir, G.Á., Snorrason, S.S. & Ritchie, M.G. 2007a: Morphological and genetic divergence of intralacustrine stickleback morphs in Iceland: a case for selective differentiation? — *Journal of Evolutionary Biology* 20( 2): 603–616.
- Ólafsdóttir, G.Á., Snorrason, S.S. & Ritchie, M.G. 2007b: Postglacial intra-lacustrine divergence of Icelandic threespine stickleback morphs in three neovolcanic lakes. — *Journal of Evolutionary Biology* 20(5): 1870–1881.
- Ólafsson, J. 1979: Physical characteristics of Lake Mývatn and River Laxá. — *Oikos* 32: 38–66.
- Owen, S.F., Barber, I. & Hart, P.J.B. 1993: Low level infection by eye fluke, *Diplostomum* spp., affects the vision of three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*. — *Journal of Fish Biology* 42: 803–806.
- Pennisi, E. 2004: Changing a fish's bony armor in the wink of a gene. — *Science* 304: 1736–1739.
- Pennycuik, L. 1971: Quantitative effects of three species of parasites on a population of Three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*. — *Journal of Zoology* 165: 143–162.
- Poulin, R. 1996: Helminth growth in vertebrate hosts: Does host sex matter? — *International Journal for Parasitology* 26: 1311–1315.
- Poulin, R. 2006: Global warming and temperature-mediated increases in cercarial emergence in trematode parasites. — *Parasitology* 132: 143–151.
- Poulin, R. 2007: *Evolutionary Ecology of Parasites*. — 2<sup>nd</sup> edition. Princeton University Press. 332 s.



- Poulin, R., Blanan, C.A., Thieltges, D.W. & Marcogliese, D.J. 2011: The biogeography of parasitism in sticklebacks: distance, habitat differences and the similarity in parasite occurrence and abundance. — *Ecography* 34: 540–551.
- Reimchen, T.E. & Nosil, P. 2001: Ecological causes of sex-biased parasitism in threespine stickleback. — *Biological Journal of Linnean Society* 73: 51–63.
- Ridley, M. 2004: *Evolution*. — 3<sup>rd</sup> edition. Blackwell Science Ltd. 751 s.
- Rundle, H.D., Nagel, L., Boughman, J.W. & Schluter, D. 2000: Natural selection and parallel speciation in sympatric sticklebacks. — *Science* 287: 306–308.
- Sandlund, O.T., Gunnarsson, K., Jónasson, P.M., Jonsson, B., Lindem, T., Magnfisson, K.P., Malmquist, H.J., Sigurjónsdóttir, H., Skúlason, S. & Snorrason, S.S. 1992a: The Arctic charr *Salvelinus alpinus* in Thingvallavatn. — *Oikos* 64: 305–351.
- Sandlund, O.T., Jonasson, P.M., Jonsson, B., Malmquist, H.J., Skulason, S. & Snorrason, S.S. 1992b: Threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* in Thingvallavatn: habitat and food in a lake dominated by arctic charr *Salvelinus alpinus*. — *Oikos* 64: 365–370.
- Scharsack, J.P., Kalbe, M., Harrod, C. & Rauch, G. 2007: Habitat-specific adaptation of immune responses of stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) lake and river ecotypes. — *Proceedings of the Royal Society B* 274: 1523–1532.
- Schluter, D. 1993: Adaptive Radiation in Sticklebacks: Size, Shape, and Habitat Use Efficiency. — *Ecology* 74: 699–709.
- Schluter, D. 2000: *The ecology of adaptive radiation*. — Oxford University Press. 288 s.
- Schluter, D. & Nagel L.M. 1995: Parallel speciation by natural selection. — *American Naturalist* 146: 292–301.
- Scholz, T. 1999: Life cycles of species of Proteocephalus, parasites of fishes in the Palearctic Region: a review. — *Journal of Helminthology* 73: 1–19.
- Seehausen, O. 2006: Review. African cichlid fish: a model system in adaptive radiation research. — *Proceedings of the Royal Society B* 273: 1987–1998.
- Seppälä, O., Karvonen, A. & Valtonen, E.T. 2004: Parasite induced change in host behaviour and susceptibility to predation in an eye fluke – fish interaction. — *Animal Behaviour* 68: 257–263.
- Seppälä, O., Karvonen, A. & Valtonen, E.T. 2005: Manipulation of fish hosts by eye flukes in relation to cataract formation and parasite infectivity. — *Animal Behaviour* 70: 889–894.
- Skúlason, S., Snorrason, S.S. & Jónsson, B. 1999: Sympatric morphs, population and speciation in freshwater fish with emphasis on arctic charr. — Sivut 70–92 teoksessa Magurran, A. & May, R. (toim.) *Evolution of biological diversity: From population to species*. Oxford University Press.
- Slatkin, M. 1984: Ecological causes of sexual dimorphism. — *Evolution* 38: 622–630.
- Smith, T.B. & Skulason, S. 1996: Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes, amphibians, and birds. — *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 111–33.
- Smyth, J.D. 1962: *Introduction to animal parasitology*. — Thomas, Springfield, Illinois.
- Snorrason, S. S. 1982: *The littoral ecosystem and the ecology of Lymnaea peregra in Lake Thingvallavatn*. — PhD Thesis, University of Liverpool, Liverpool, UK.

- Snorrason, S.S., Skúlason, S., Jónsson, B., Malmquist, H.J., Jónasson, P.M., Sandlund, O.T. & Lindem, T. 1994: Trophic specialization in Arctic charr *Salvelinus alpinus* (Pisces; Salmonidae): morphological divergence and ontogenetic niche shifts. — *Biological Journal of the Linnean Society* 52: 1–18.
- Summers, K., McKeon, S., Sellars, J., Keusenkothen, M., Morris, J., Gloeckner, D., Pressley, C., Price, B. & Snow, H. 2003: Parasitic exploitation as an engine of diversity. — *Biological Reviews* 78: 639–675.
- Thorarinsson, S. 1979: The postglacial history of the Myvatn area. — *Oikos* 32: 17–28.
- Thors, K. 1992: Bedrock, sediments, and faults in Thingvallavatn. — *Oikos* 64: 69–79.
- Tinsley, R.C. 1989: The effects of host sex on transmission success. — *Parasitology Today* 5: 190–195.
- Tirri, R., Lehtonen, J., Lemmetyinen, R., Pihakaski, S. & Portin, P. 2006: *Biologian sanakirja*. — 3.painos. Otava. 888 s.
- Valtonen, E.T., Holmes, J.C. & Koskivaara, M. 1997: Eutrophication, pollution, and fragmentation: effects on parasite communities in roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in four lakes in central Finland. — *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 572–585.
- Van Oijen M.J.P., Witte F. & Witte-Maas E.L.M. 1981: An introduction to ecological and taxonomie investigations on the haplochromine cichlids from Mwanza Gulf of Lake Victoria. — *Netherlands Journal of Zoology* 31: 149–174.
- Vik, R. 1964: The genus *Diphyllobothrium*, an example of interdependence of systematic and experimental biology. — *Experimental Parasitology* 15: 361–380.
- Vonlanthen, P., Roy, D., Hudson, A.G., Largiadèr, C.R., Bittner D., Seehausen O. 2009: Divergence along a steep ecological gradient in lake whitefish (*Coregonus* sp.). — *Journal of Evolutionary Biology* 22(3): 498–514.
- Wagner, C. E., Harmon, L.J. & Seehausen, O. 2012: Ecological opportunity and sexual selection together predict adaptive radiation. — *Nature* 487: 366–369.
- Walker, J.A. 1997: Ecological morphology of lacustrine threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. (Gasterosteidae) body shape. — *Biological Journal of Linnean Society* 61: 3–50.
- Wegner, K.M., Reusch, T.B.H. & Kalbe, M. 2003: Multiple parasites are driving major histocompatibility complex polymorphism in the wild. — *Journal of Evolutionary Biology* 16: 224–232.
- West-Eberhard, M.J. 1986: Alternative adaptations, speciation, and phylogeny (a review). — *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83: 1388–1392.
- Zuk, M. 1990: Reproductive strategies and disease susceptibility: an evolutionary viewpoint. — *Parasitology Today* 6: 231–233.
- Zuk M. & McKean K. A. 1996: Sex differences in parasite infections: patterns and processes. — *International Journal for Parasitology* 26: 1009–1024.