

TARJA NAKARI

**KALOJEN SISÄISTEN BIOLOGISTEN RYTMIIEN JA
VUODENAJAN MERKITYS TOKSISUUSTUTKIMUKSISSA**

VESI- JA YMPÄRISTÖHALLITUS
Helsinki 1995

206

TARJA NAKARI

**KALOJEN SISÄISTEN BIOLOGISTEN RYTMIEN JA
VUODENAJAN MERKITYS TOKSISUUSTUTKIMUKSISSA**

Etukannen kuva: Jukka Järvi

Tekijä on vastuussa julkaisun sisällöstä, eikä siihen voida vedota vesi- ja ympäristöhallituksen virallisena kannanottona.

VESI- JA YMPÄRISTÖHALLINNON JULKAISUJA koskevat tilaukset:
Painatuskeskus Oy, PL 516, 00101 Helsinki
puh. (90) 566 0266

ISBN 951-53-0078-9
ISSN 0786-9592

Helsinki 1995

Julkaisija
Vesi- ja ympäristöhallitus

Julkaisun päivämäärä
Tammikuu 1995

Tekijä(t) (toimielimestä: nimi, puheenjohtaja, sihteeri)
Tarja Nakari

Julkaisun nimi (myös ruotsinkielinen)

Kalojen sisäisten biologisten rytmien ja vuodenajan merkitys toksisuustutkimuksissa
(Betydelsen av fiskens annuella biologiska rytmer på toxikologiska undersökningar)

Julkaisun laji
Tutkimusraportti

Toimeksiantaja

Toimielimen asettamispvm

Julkaisun osat

Tiivistelmä

Tutkimuksessa selvitettiin normaaleita vuotuisia muutoksia 2-vuotisten järvitaimenten osmoottisessa, energia-, vierasaine- ja hormoniaineenvaihdunnassa. Kaloja pidettiin viljelylaitoksessa ulkoaltaassa, normaaleissa vuotuisissa valaistus- ja lämpötilaolosuhteissa, ja laboratorioissa +10⁰:ssa ja tasaisessa valaistusrytmissä, 12L/12D. Tietoa pyrittiin saamaan myös luonnonahvenista. Saatujen tulosten mukaan mitatuissa aineenvaihduntamuuttujissa oli selvää vuotuista rytmikkäitä. Kalojen vierasaineaineenvaihduntaa kuvaavien entsyymien aktiivisuudet olivat huipussaan talvella. Ahvenilla entsyymiaktiivisuudet olivat merkitsevästi alhaisemmat kuin taimenilla. Vaikka kalat olivat nuoria, eivät lisääntymiskäisiä, kalanviljelylaitoksessa olleiden koiraiden joukossa oli osa, jotka näyttivät olevan sukukypsiä jo syksyllä 1992. Muissa ryhmissä ja naaraissa vastaavaa ei ollut havaittavissa. Mitatut suureet osoittivat, että kaikki ahvenet olivat sukukypsiä. Eri olosuhteissa pidetyillä taimenilla mitattujen aineenvaihduntamuuttujien vuosirytmikka oli hyvin samankaltainen. Aineiden pitoisuudet ja aktiivisuudet poikkesivat kuitenkin merkitsevästi toisistaan eri ryhmien ja eri laitosten välillä. Jopa saman lajin eri populaatioiden välillä (ahvenet) näyttää olevan merkittäviä aineenvaihdunnallisia eroja.

Asiasanat (avainsanat)

ekotoksikologia, kalat, fysiologinen vuosirytmikka

Muut tiedot

Sarjan nimi ja numero

Vesi- ja ympäristöhallinnon julkaisuja
- sarja A 206

ISBN

951-53-0078-9

ISSN

0786-9592

Kokonaissivumäärä

27

Kieli

Suomi

Hinta

Luottamuksellisuus

Julkinen

Jakaja

Painatuskeskus Oy
PL 516, 00101 Helsinki

Kustantaja

Vesi- ja ympäristöhallitus
PL 250, 00101 Helsinki

PRESENTATIONSBLAD

Utgivare
Vatten- och miljöstyrelsen

Utgivningsdatum
Januari 1995

Författare (uppgifter om organet: namn, ordförande, sekreterare)
Tarja Nakari

Publikation (även den finska titeln)
Betydelsen av fiskens årlig biologisk rytm på toxikologiska undersökningar
(Kalojen sisäisten biologisten rytmien ja vuodenajan merkitys toksisuustutkimuksissa)

Typ av publikation
Forskningsrapport

Uppdragsgivare

Datum för tillsättandet av organet

Publikationens delar

Referat

Undersökningen behandlar normala årliga fysiologiska förändringar i den osmotiska, energi-, hormonal- och detoxifikationsmetabolismen hos 2-åriga laxöringar. Fiskarna hölls både i en fiskodlingsanläggning i de normala årliga temperatur- och belysningsförhållandena, och i laboratorieförhållanden vid temperaturen +10 °C och belysningen 12L/12D. Vilda abborrar undersöktes också. Resultaten av de analyserade parametrarna visade, att det finns klara årliga fysiologiska rytmer hos juvenila laxöringars metabolism. Aktiviteten av detoxifikationsenzymer var högst under vinter tiden. Fast laxöringar var juvenila, det finns hanar i anläggningsgruppen, som var sexuellt färdiga redan i hösten 1992. Samma kunde inte konstateras om honor och om fisk i andra grupper. Fastän de yttre förhållandena i olika fisk grupper varierade mycket, fiskarnas årliga metabolism rytmer var ganska likadana. Koncentrationer och aktiviteter av de analyserade parameter i olika grupper skiljde sig ändå i betydande grad. Även mellan samma art av olika populationer (abborrar) det tycks vara betydande metabolism skillnader.

Sakord (nyckelord)
ekotoxikologi, fisk, årlig fysiologisk rytm

Övriga uppgifter

Seriens namn och nummer
Vatten- och miljöförvaltningens publikationer
- serie A 206

ISBN
951-53-0078-9

ISSN
0786-9592

Sidantal
27

Språk
Finska

Pris

Sekretessgrad
Offentlig

Distribution
Tryckericentralen Ab
PB 516, 00101 Helsingfors, Finland

Förlag
Vatten- och miljöstyrelsen
PB 250, 00101 Helsingfors, Finland

DOCUMENTATION PAGE

Published by
National Board of Waters and the Environment

Date of publication
January 1995

Author(s)
Tarja Nakari

Title of publication
The significance of annual life cycle of fish on the ecotoxicological response

Type of publication *Commissioned by*
Research report

Parts of publication

Abstract

Annual cycles of ionic-, osmotic- and energy metabolism, as well as detoxification and hormonal metabolism were measured for juvenile 2-year-old brown trout reared in a fish farm under natural lighting and temperature conditions, and in a laboratory with constant water temperature (+10°) and lighting (12L/12D). Some information was also gathered from feral perches. The results obtained indicated that in spite of the rearing conditions in different test groups, the annual changes in the measured parameters were quite similar. However, the quantitative values were significantly different. The values between perch and trout, like between two different perch populations, differed markedly. Infection had significant effects on these measured parameters. The EROD activities and GSH content were at their maxima during the winter time. In the GSH content, there was also a peak in late summer. The liver UDPGT activity showed similar courses as the GSH content, though the changes in the UDPGT activities were not as clear as in the GSH content. There were distinct annual changes in plasma testosterone, oestradiol-17 β and cholesterol concentrations. In females the changes were not so clear as in males. The maxima values were measured in the early winter. In the plasma cholesterol concentration the peak was a month later than in T or E₂ concentrations. Plasma osmotic concentrations were higher in winter and spring than in summer and autumn. The fish in the laboratory were more watery than those in the fish farm. The energy store values were highest during the early winter. The liver glycogen content of the fish farm group was significantly lower than that of the laboratory group fish, while the results for liver and muscle lipid and liver protein were opposite. During winter time the energy consumption of the laboratory group fish was faster than of the farm group fish.

Keywords

ecotoxicology, fish, annual physiological changes

Other information

Series (key title and no.)
Publications of the Water and Environment
Administration - series A 206

ISBN
951-53-0078-9

ISSN
0786-9592

Pages
27

Language
Finnish

Price

Confidentiality
Public

Distributed by
Painatuskeskus
P.O. Box 516
FIN-00101 Helsinki, Finland

Publisher
National Board of Waters and the Environment
P.O. Box 250
FIN-00101 Helsinki, Finland

ALKUSANAT

Kiitän kaikkia niitä henkilöitä, jotka ovat auttaneet minua tässä työssä. Kiitän lab. mest. Kaisa Heinosta ja laborantti Sirpa Paattakaista (VYH, biol. lab.) laboratorio- ja muusta avusta, tark. Pekka Pääkköstä (KSvy) teknisistä järjestelyistä sekä vesianalyysi tuloksia ja ahvenia koskevista tiedoista, dos. Marja Luotolaa (VYH, biol. lab.) hyvistä neuvoista ja hedelmällisestä kritiikistä. Erityisesti haluan myös kiittää Taimen Oy:n Lankamaan laitoksen henkilökuntaa heidän antamastaan suuresta avusta. Pasi Tuukkanen kalasti Lankajärven ahvenet ja FT Martti Rask järjesti Alisella Mustajärvellä ahventen pyynnin.

Työ on tehty ympäristöministeriön rahoituksella.

Helsinki 26.9.1994

Tarja Nakari

SISÄLLYS

ALKUSANAT	6
1 JOHDANTO	9
2 AINEISTO JA MENETELMÄT	9
2.1 Koejärjestelyt	9
2.2 Näytteenotto	10
3 TULOKSET	11
3.1 Taimenet	11
3.2 Ahvenet	12
4 YHTEENVETO	12
KIRJALLISUUS	13
LIITTEET	15

1 JOHDANTO

Arvioitaessa kemikaalien ja muiden haitallisten aineiden ympäristövaikutuksia ja riskejä, on olennaisen tärkeää, että käytettävissä on luotettavaa kokeellista sekä havaintoperäistä tietoa kyseessä olevista aineista. Kokeitten ja tutkimusten tuloksia on pystyttävä tarkastelemaan niin, että koetilanteessa tuloksiin vaikuttavat ympäristö- ja muut tekijät pystytään tunnistamaan ja niiden vaikutus koetuloksiin kyetään erottamaan tutkittavan aineen vaikutuksista.

Vesieläintoksikologian alueella on parhaillaan voimakas pyrkimys kehittää biokeemiallisia ja fysiologisia menetelmiä, joiden avulla haitallisten aineiden vaikutuksia ja riskejä voitaisiin tunnistaa (kts. Uthe ym. 1980, Lindström-Seppä 1990). Fysiologisten muuttujien normaaleista tausta-arvoista ja arvojen vuotuisista muutoksista on kuitenkin saatavilla hyvin vähän tietoa. Tällaisen tiedon tarve on varsinkin pohjoisilla alueilla (Suomi sijaitsee 60^oN-70^oN) hyvin suuri, koska esimerkiksi valaistus- ja lämpötila-olot vaihtelevat eri vuodenaikoina huomattavasti. Kesällä päivä on pitkä ja talvella on jään ja lumen alla lähes pimeää. Veden lämpötilan vuotuinen vaihtelu on välillä +22^o - +0,2^o C.

Tämä katsaus on yhteenveto ympäristöministeriön rahoittaman projektin "Kalojen sisäisten biologisten rytmien ja vuodenajan merkitys toksisuustutkimuksissa" tuloksista. Tutkimuksen yksityiskohtaiset tulokset tullaan julkaisemaan tieteellisissä aikakauslehdissä kolmena artikkelina (1. Annual cycle of plasma cholesterol, testosterone and oestradiol-17 β concentration of 2-year-old *Salmo trutta* m. *lacustris* L. maintained in a fish farm and in a laboratory conditions, 2. Annual cycle of liver ethoxyresorufin-O-deethylase and UDP-glucuronosyltransferase activities and glutathione content of 2-year-old *Salmo trutta* m. *lacustris* L. in laboratory and fish farm conditions, ja 3. Annual changes in some osmotic and energy store parameters of 2-year-old *Salmo trutta* m. *lacustris* L. in fish farm and laboratory conditions), joiden käsikirjoitukset ovat viimeisteltävinä.

Tutkimuksen tavoitteena oli tuottaa tietoa luonnonkalojen ja kalanviljelylaitoksessa luonnonmukaisissa oloissa kasvatettujen kalojen vierasaine-, hormoni-, vesi- ja ionisekä energia-aineenvaihdunnan normaaleista vuotuisista muutoksista. Lisäksi tarkoituksena oli selvittää laboratorio-olosuhteissa ja kalanviljelylaitoksessa pidettyjen kalojen elintoimintojen välisiä eroja. Tuloksia voidaan käyttää vertailu- ja tausta-aineistona kehitettäessä haitallisten aineiden tutkimusmenetelmiä sekä tulkittaessa kuorimitettujen vesialueiden kaloissa havaittuja muutoksia. Tuloksia sovelletaan vesien- ja ympäristöntutkimuslaitoksen biologian laboratorion jatkotutkimuksissa, joissa mm. selvitetään talvilämpötilojen vaikutusta kalojen lisääntymiseen ja vierasaineaineenvaihduntaan sekä tutkimuksessa lämpötilan vaikutuksesta kemikaalien bioakkumulaatioon.

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1 Koejärjestelyt

Työ tehtiin Taimen Oy:n Lankamaan kalanviljelylaitoksessa ja vesien- ja ympäristöntutkimuslaitoksen biologian laboratoriossa. Koekalaksi valittiin 2-vuotinen järvitai-

men (*Salmo trutta m. lacustris* L.), jota käytetään yleisesti myrkyllisyystutkimuksissa. Se on luonnossa esiintyvä laji, jota viljellään normaaleissa vuotuisissa valaistus- ja lämpötilaolosuhteissa.

Taimenet pidettiin kalanviljelylaitoksessa ulkona kattamattomassa maa-altaassa, ja niitä hoidettiin laitoksen normaalin rutiinin mukaisesti. Saman parven kaloja (sama mätierä) tuotiin biologian laboratorioon kahteen lasikuitualtaaseen (ryhmä I ja II), joissa oli läpivirtaus (käsittelemätön Päijännetunnelin vesi) ja jatkuva hapetus. Veden lämpötila oli kokeen aikana $+10^0 \pm 3^0$ C ja valaistus 12L/12D. Kaloja ruokittiin kolme kertaa viikossa samalla rehulla kuin kalanviljelylaitoksen kalojakin. Ryhmässä I kalatiheys oli lähes sama kuin kalanviljelylaitoksen ryhmässä, ryhmässä II se oli noin puolet pienempi.

Tarkoituksena oli tutkia myös luonnon ahvenia (*Perca fluviatilis* L.). Ahvenet pyydettiin Lankajärvestä (62^0 N $30'$; 26^0 E), josta kalanviljelylaitos ottaa käyttövetensä, ja Alisesta Mustajärvestä (61^0 13'N; 25^0 10'E). Ahvenista ei kuitenkaan voitu tutkia koko vuosiryntiä, koska niitä saatiin Lankajärvestä vain heinäkuusta syyskuuhun 1992. Alisen Mustajärven ahvenet pyydettiin vain heinäkuussa. Tämän osakokeen tarkoituksena oli verrata kahden järven ahvenpopulaatioiden aineenvaihdunnallisia eroja yhden kesäkuukauden aikana.

2.2 Näytteenotto

Taimenista otettiin näytteet kerran kuussa 13 kuukauden ajan. Näytteet otettiin aina samaan vuorokauden aikaan, jotta kalojen vuorokausirynti ei häiritse tulosten tulkintaa (Laidley ja Leatherland, 1988). Ensimmäiset näytteet otettiin maaliskuussa 1992, jolloin ryhmän I kalat tuotiin laboratorioon. Ryhmän II kalat tuotiin laboratorioon kesäkuun alussa.

Ennen näytteenottoa kalat saivat paastota kaksi päivää. Taimenet ja ahvenet käsiteltiin samalla tavoin. Näytteidenotossa (yksi kala kerrallaan) kala tainnutettiin iskulla päähän, mitattiin ja punnittiin. Verinäyte otettiin pyrstösuonesta heparinoituun ruiskuun (ammonium hepariini, Sigma). Plasma erotettiin välittömästi ja pakastettiin, kuten maksa- ja lihasnäytteetkin, nestetyypeen, jossa niitä säilytettiin analysointiin asti. Kudosisindeksin laskemista varten (kudosisindeksi = % ruumiinpainosta) tarvittavat kudokset punnittiin välittömästi ja paloitetiin eri analyyseja varten.

Plasmasta määritettiin kalsium-, magnesium- (Waco testikitti), proteiini- (Biuret menetelmä, Layne 1957), kolesteroli- (Boehringer testikitti, Monotest), testosteroni- ja estradiol-17 β -pitoisuudet. Hormonipitoisuudet määritettiin RIA-menetelmällä (Scott ym. 1982). Plasmasta määritettiin lisäksi sen osmolarisuus (Advanced Micro-Osmometer, modell 3MO).

Lihaksesta määritettiin vesi- (%) ja rasvapitoisuus (%), ja maksasta proteiini- (%), glykogeeni- (%) ja rasvapitoisuus (%) (Soivio ja Virtanen 1980). Maksasta määritettiin lisäksi etoksiresorufiini-O-detetylaasin (EROD), (Porter ym. 1989, mukaeltu menetelmä; 0,1 M Tris-puskuri ja inkubointilämpötila $+18^0$) ja uridiinidifosfoglukuronosyyli transferaasin (UDPGT) aktiivisuus (Castrén ja Oikari 1983), sekä glutationipitoisuus (GSH) (Saville 1958).

Koiraiden ja naaraiden tulokset on esitetty erikseen liitteinä olevissa kuvissa. Tulosten tilastollinen testaus on tehty Student's t-testillä (Siegel 1956).

Elokuun 1992 puolella välissä laboratorioryhmän I taimenet sairastuivat (*Flexibacter*, Järvi, suull. tieto) ja osa kaloista kuoli. Kaloja ei lääkitty ja infektio oli ohi syyskuun lopulla, jonka jälkeen yksikään kala ei kuollut. Muissa ryhmissä kalat olivat terveitä, kuolleisuus oli 0%.

3 TULOKSET

Tulokset on esitetty liitteinä olevissa kuvissa. Taulukossa 1 on esitetty eri testiryhmien veden laatu

Taulukko 1. Veden laatu eri testiryhmissä. Päijänneveden arvot ovat vuoden 1992 kuukausien keskiarvoja, muut arvot ovat vuosien 1991 ja 1992 aikana mitattujen arvojen raja-arvoja.

	Lankajärvi	Päijänne	Alinen Mustajärvi
pH	6,3-6,6	7,2	5,3-5,8
Väri	10	19	44-83
Johtokyky (mS/m)	2,3	7,9	1,5-1,8
Alkaliniteetti (mmol/l)	0,03-0,04	0,3	0,01-0,03
COD (mg/l)	2,1-2,6	5,2	-
Kok. N (µg/)	190-240	420	260-900
Kok. P (µg/l)	4	13	6-36
Fe (µg/l)	39-48	40	100-200
Mn (µg/l)	4-6	4	30
Al (µg/l)	13-20	20	-
Ca (mg/l)	1,6	5,7	1,8-2,0
K (mg/l)	0,4	1,4	0,4
Mg (mg/l)	0,4-0,5	1,6	0,4
Na (mg/l)	1,2	4,7	0,5

Syksyllä 1992 vedet jäätyivät hyvin hitaasti (kuva 1.) ja järvet jäätyivät ennen kuin vesi oli kunnolla jäähtynyt. Lankajärvi ja kalanviljelylaitoksen altaat saivat ensimmäisen jääpeitteensä marraskuussa. Jääpeite kuitenkin sulii ja vedet jäätyivät kunnolla vasta tammikuussa 1993. Jäät lähtivät maaliskuun puolivälissä.

3.1 Taimenet

Ensimmäisen puolen vuoden aikana (maaliskuu-heinäkuu 1992) taimenet kasvoivat kaikissa testiryhmissä samalla tavalla (kuva 2). Elokuusta lähtien kalanviljelylaitoksessa olleet kalat olivat merkittävästi painavampia kuin laboratorioryhmiin kalat.

Vuotuiset vesi- ja ionitasapainon muutokset on esitetty kuvissa 3-5. Plasman osmolarisuus oli suurin talvikuukausina. Laboratorio-oloissa pidetyt taimenet olivat vetisempiä kuin kalanviljelylaitoksen taimenet.

Kalat keräävät normaalisti energiavaroja lämpimän veden aikana kesällä. Myös tässä tutkimuksessa taimenten energiavarat (kuvat 6-7) olivat huipussaan alkutalvella. Laitoskalojen maksan glykogeenipitoisuus oli merkitsevästi pienempi kuin laboratorioskalojen. Maksan rasvapitoisuus samoin kuin lihaksen rasvapitoisuus sitävastoin olivat merkitsevästi suuremmat. Maksan painon (kuva 8) vuotuiset muutokset näyttävät oleellisesti liittyvän maksan glykogeenipitoisuuden muutoksiin. Tulosten mukaan laboratorioskalojen energiankulutus oli talvella suurempi kuin laitoskalojen.

Maksan EROD-aktiivisuus ja GSH pitoisuus olivat huipussaan talvella (kuvat 9.). EROD aktiivisuus oli alimmillaan kesäkuukausina, ja se oli laitoskaloilla merkitsevästi alhaisempi kuin laboratorioskaloilla ja koirailta alempi kuin naarailta. Kalanviljelylaitoksen koirailta maksan EROD aktiivisuus oli alimmillaan kalojen normaaliin kutu aikaan (loka-marraskuu). Tämä johtunee siitä, että osa näistä koiraista oli sukukypsiä jo tällöin. Muissa ryhmissä ja naarailta vastaavaa ei ollut havaittavissa.

GSH pitoisuuden ja UDPGT aktiivisuuden vuotuiset muutokset olivat samankaltaiset, vaikkakin UDPGT:n muutokset olivat vähäisempiä kuin GSH:n.

Plasman sukihormoni- ja kolesterolipitoisuuksissa ja sukurauhasten painossa (kuvat 11-13) oli havaittavissa selvä vuosirytmikka. Naarailta sykli ei ollut yhtä selväpiirteinen kuin koirailta. Sukukypsien kalojen plasman testosteronipitoisuus ja sukurauhasten paino on huipussaan juuri ennen kutua (Scott ym. 1980a ja b). Vaikka koekalat olivat vielä juveniileja, osalla kalanviljelylaitoksen koiraita maiti oli juoksevaa syksyllä 1992, ja ryhmän sisäiset hajonnat olivat suuret. Näillä koirailta plasman testosteronipitoisuus ja sukurauhasten paino oli samaa suuruusluokkaa kuin sukukypsien kalojen. Plasman kolesterolipitoisuuden huippu oli kuukautta myöhemmin kuin hormonipitoisuuksien. Laboratorioryhmiä kaloilla lisääntymisrytmi näytti viivästyneen.

Infektio laski merkittävästi ryhmän I kalojen aineenvaihduntaa, mikä näkyi lähes kaikissa mitatuissa muuttujissa. Infektion mentyä ohi kalat toipuivat kuitenkin hyvin, ja erot toisen laboratorioryhmän kaloihin eivät olleet enää merkitseviä. Suuri kalatiheys laboratorio-oloissa näyttää aiheuttavan kaloille stressiä, mikä johtaa kalojen sairastumiseen. Kalalaitoksessa samassa tiheydessä pidetyt kalat ja laboratoriossa harvemmassa pidetyt kalat olivat ulkoisesti täysin terveitä koko kokeen ajan.

3.2 Ahvenet

Vaikka ahvennäytteet saatiin vain kolme kertaa (heinäkuu-syyskuu 1992), ja ahvenet olivat sukukypsiä (5-6 vuotiaita, Pääkkönen henk. koht. tieto), tulokset antavat viitteitä siitä, että ahventen ja taimenten välillä on selviä aineenvaihdunnallisia eroja (kts. liitteinä olevat kuvat). Myös eri ahvenpopulaatioiden väliset erot olivat merkitseviä.

4 YHTEENVETO

Saatujen tulosten mukaan taimenien aineenvaihdunta noudattaa selvää vuotuista rytmiä ja eri oloissa pidettyjen kalojen vuosirytmii on hyvin samankaltainen. Mitattujen aineenvaihduntamuuttujien pitoisuuksissa ja aktiivisuuksissa oli kuitenkin merkitseviä

eroja eri ryhmien välillä. Merkittävää oli, että kalojen vierasaineaineenvaihdunta oli huipussaan talvella.

Vaikka kalat olivat nuoria, eivät vielä lisääntymiskäisiä, kalanviljelylaitoksessa olleiden koiraiden joukossa oli osa, jotka olivat sukukypsiä jo syksyllä 1992. Naaraissa ja laboratorioryhmiin kaloissa ei vastaavaa ollut havaittavissa. Laboratoriossa pidettyjen kalojen lisääntymisrytmi oli viivästynyt.

Kaikki käytetyt ahvenet olivat sukukypsiä. Tästä syystä ja koska anvenia saatiin vain rajoitettuna aikana, ei niiden ja taimenten aineenvaihdunnallista vuosirytmikkaa voi kunnolla verrata tämän tutkimuksen perusteella. Saadut tulokset osoittavat kuitenkin, että koejakson aikana ahventen vierasaineaineenvaihduntaa kuvaavat entsyymiaktiivisuudet olivat merkitsevästi alhaisemmat kuin taimenilla. Kaikenkaikkiaan aineenvaihdunnallisten muuttujien pitoisuus- ja aktiivisuuserot olivat merkitseviä tutkittujen kahden lajin välillä. Erot olivat merkitseviä myös kahden järven ahvenpopulaatioiden välillä.

Lajikohtaiset erot saattavat osittain johtua esimerkiksi eri lisääntymisajankohdasta; taimenet kutevat syksyllä, ahvenet keväällä. Kuluun liittyvä aineenvaihdunta on hyvin erilaista keväällä ja syksyllä. Tulokset osoittivat myös, että aineenvaihdunta on erilaista eri sukupuolilla. Kalojen sairastuminen heikensi niiden aineenvaihduntaa huomattavasti.

Veden laatutekijöillä ja maantieteellisillä eroilla osoittautui myös olevan vaikutusta. Eri ahvenpopulaatioiden väliset aineenvaihdunnalliset erot saattavat osittain johtua näistä tekijöistä.

Tulos osoitti, että kalojen elintoimintojen säätely on selvästi synnynnäistä, geneettistä. Tästä huolimatta hyvin monet ulkoiset tekijät vaikuttavat niiden aineenvaihduntaan. Näiden tekijöiden osuus tulee ottaa mahdollisimman tarkkaan huomioon, kun vertaillaan tai arvioidaan haitallisten aineiden tutkimuksista saatuja tuloksia.

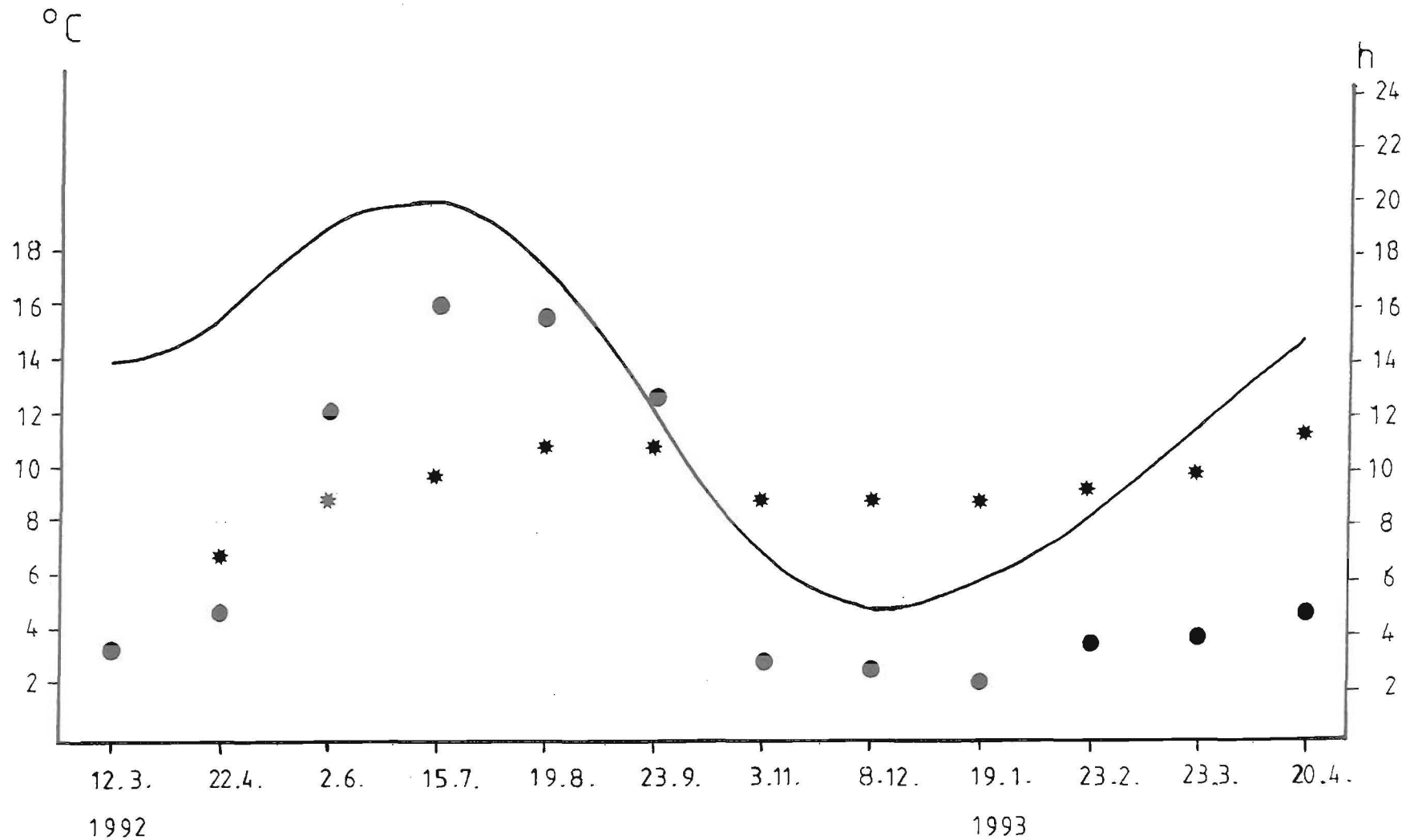
KIRJALLISUUS

- Castrén, M. & Oikari, A. 1983. Optimal assay conditions for liver UDP-glucuronosyltransferase from the rainbow trout *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol. 76C, 365-369.
- Layne, E. 1957. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. in Methods Enzymology, pp. 447-454. Colowick, S. ja Kaplan, N. toim., Academic Press, London.
- Laidley, C.V. & Leatherland, J.F. 1988. Circadian studies of plasma cortisol, thyroid hormone, protein, glucose and ion concentration, liver glycogen concentration and liver and spleen weight in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Comp. Biochem. Physiol. 89A: 495-502.
- Lindström-Seppä, P. 1990. Biotransformation in fish: Monitoring inland water pollution caused by pulp and paper mill effluent. Dr. Thesis, Publications of the University of Kuopio, Original reports 8/1990.






- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. 1951. Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Porter, E.L., Payne, J.F., Kiceniuk, J., Fancey, L. & Melvin, W. 1989. Assessment of the potential for the mixed-function oxygenase enzyme induction in the extrahepatic tissues of cunners (*Tautoglabrus adspersus*) during reproduction. *Mar. Environ. Res.* 28, 117-121.
- Saville, B. 1958. A scheme for the colorimetric determination of microgram amounts of thiols. *Analyst* 83, 670.
- Scott, A.P., Bye, V.J. Baynes, S.M. ja Springate, J.R.L. 1980a. Seasonal variations in plasma concentrations of 11-ketotestosterone and testosterone in male rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 17, 495-505.
- Scott, A.P., Bye, V.J. ja Baynes, S.M. 1980b. Seasonal variations in sex steroids in female rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *J. Fish Biol.* 17, 587-592.
- Scott, A.P., Sheldrick, E.L. & Flint, A.P.F. 1982. Measurement of $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in plasma of trout (*Salmo gairdneri* R.); seasonal changes and response to salmon pituitary extract. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 46, 444-451.
- Siegel, S. 1956. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. McGraw Hill, New York.
- Soivio, A. & Virtanen, E. 1980. Methods for physiological experiments on fish. *Ekotoxikologiska metoder för akvatisk miljö*. Rapport no. 16, Nordforsk.
- Uthe, J.F., Freeman, H.C. & McIntyre, A.D. 1980. The selection of sublethal testing procedures for assessment of chemical toxins in the aquatic environment and experiences in the use of steroid hormone metabolism. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 975, 231-242.

LIITE 1. VEDEN LÄMPÖTILAT, PÄIVÄN PITUUDET KESKI-SUOMESSA JA NÄYTTEENOTTOPÄIVÄT.

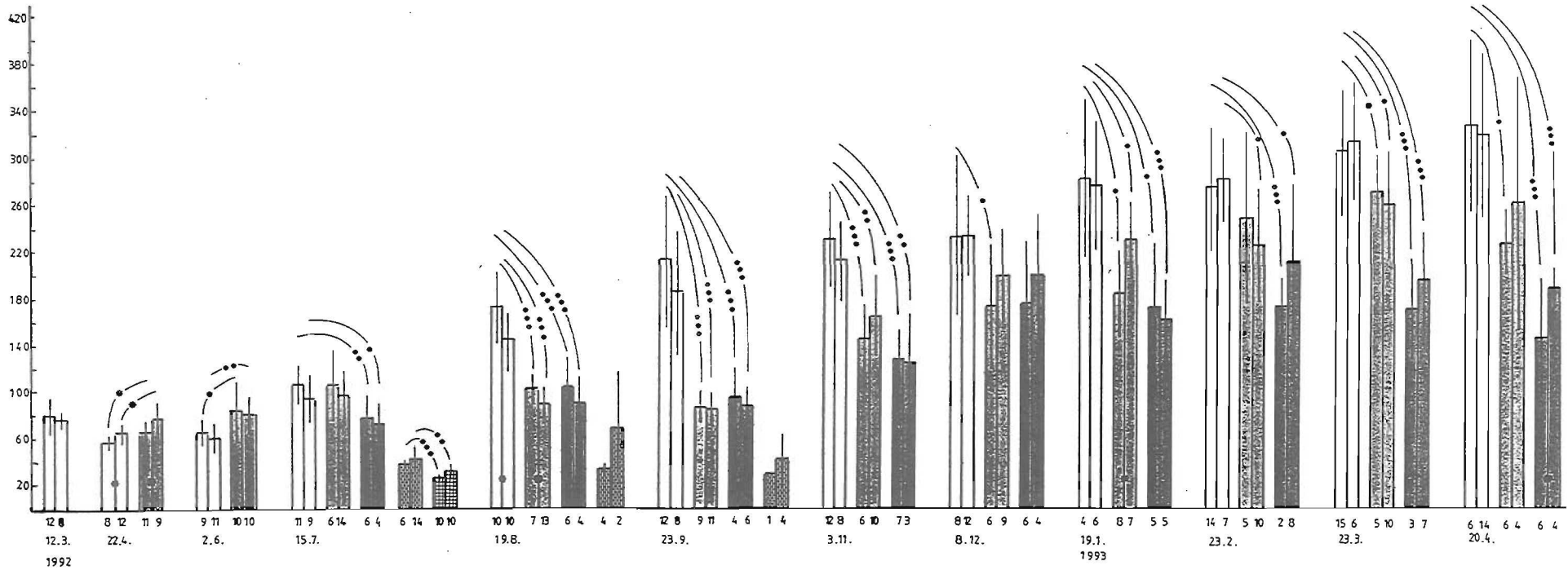
Veden lämpötilat (●●●) kalanviljelylaitoksessa, (***) laboratoriossa, päivän pituudet (—)



LIITE 2. TAIMENEN JA AHVENEN KASVU, ESITETTYNÄ PAINONMUUTOKSINA (g) ERI NÄYTTEENOTTOPÄIVINÄ.

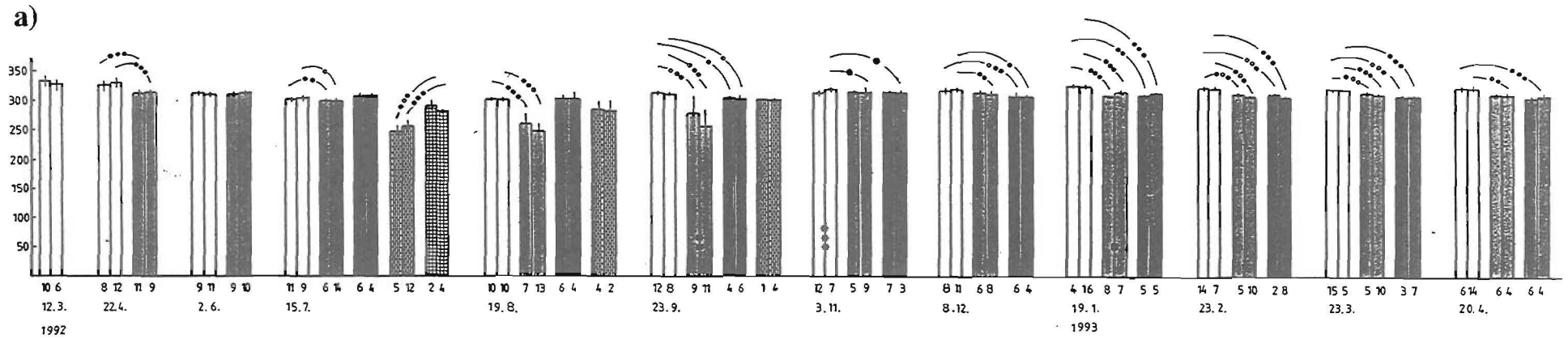
Kalanviljelylaitoksen ryhmä , ryhmä I , ryhmä II , Lankajärven ahvenet , Alisen Mustajärven ahvenet . Vasen pylväs esittää koiraiden ja oikea naaraiden tulosten keskiarvoja (\pm SD). Pylväiden alla on kalojen lukumäärä.

● P<0,1; * P<0,05; * * P<0,01; * * * P<0,001.

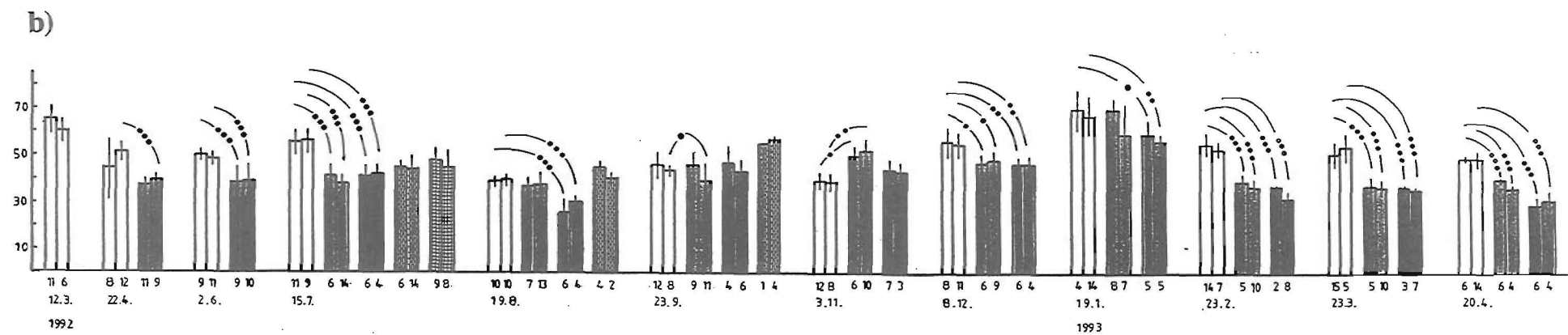


LIITE 3. KALOJEN PLASMAN a) OSMOLARISUUS (mOsm/kg), b) PROTEIINIPITOISUUS (g/l).

Katso selitykset liitteestä 2.



17

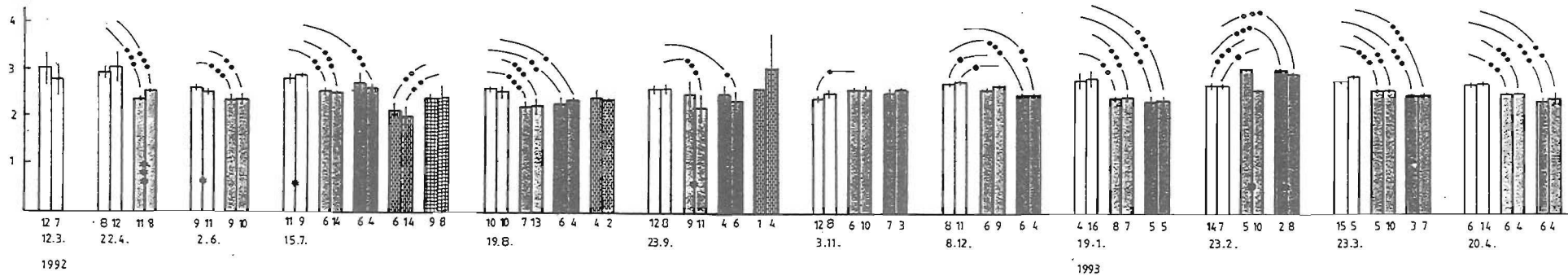


LIITE 3

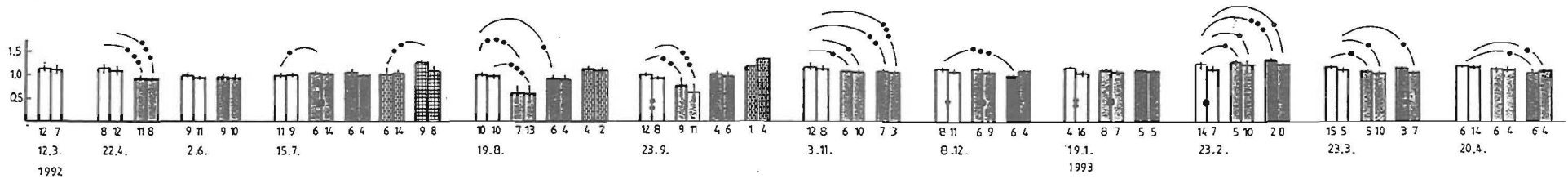
LIITE 4. KALOJEN PLASMAN a) KALSIUM-, b) MAGNESIUMPITOISUUS (mmol/l).

Katso selitykset liitteestä 2.

a)

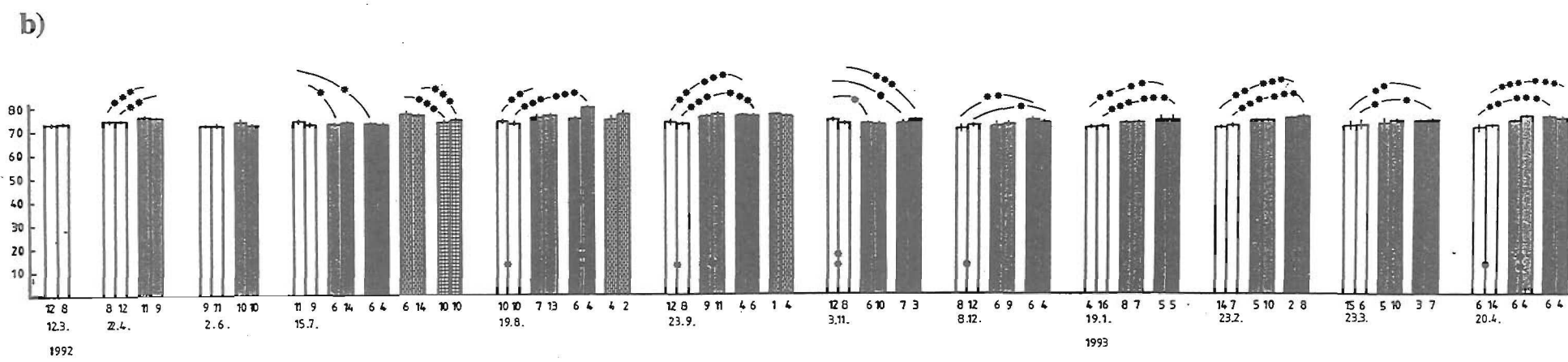
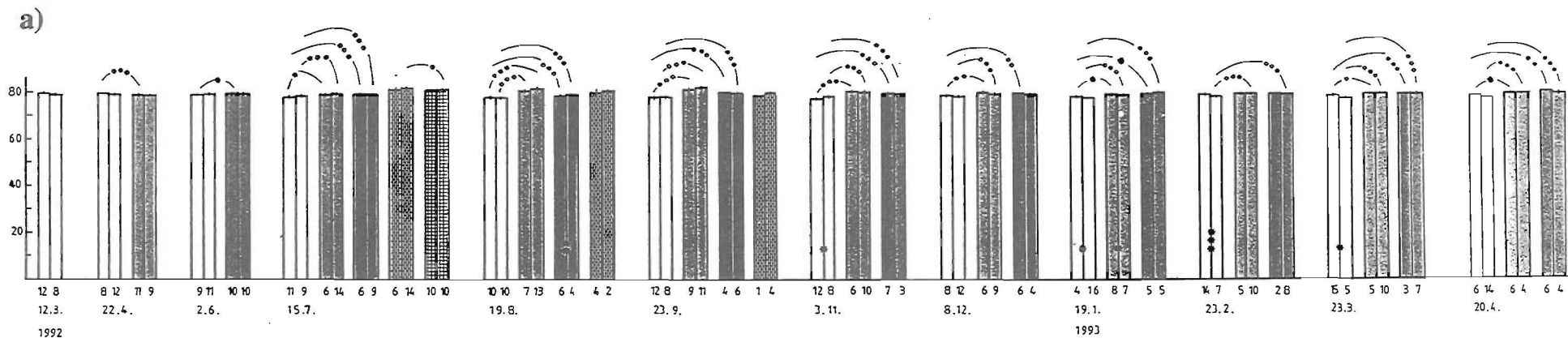


b)



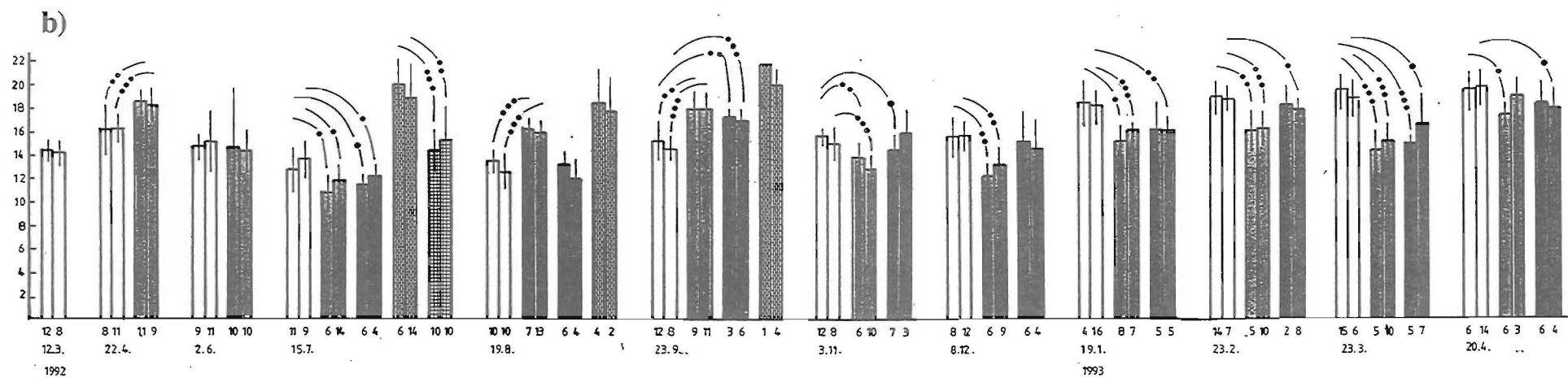
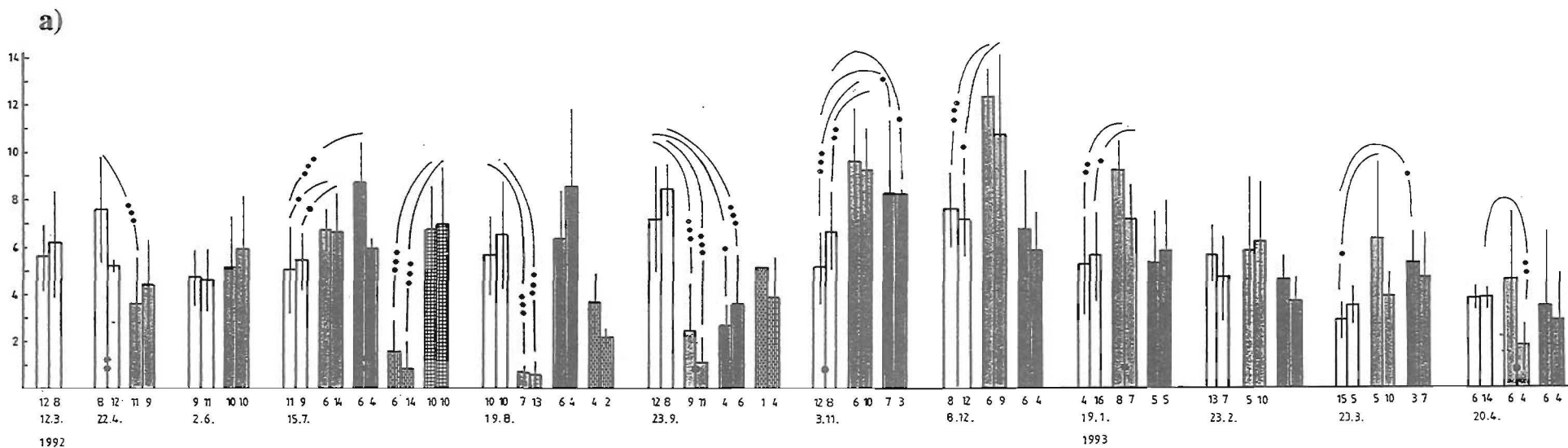
LIITE 5. KALOJEN a) VALKEAN LIHAKSEN, b) MAKSAN VESIPITOISUUS (%).

Katso selitykset liitteestä 2.



LIITE 6. KALOJEN MAKSAN a) GLYKOGEENI-, b) PROTEIINIPITOISUUS (%).

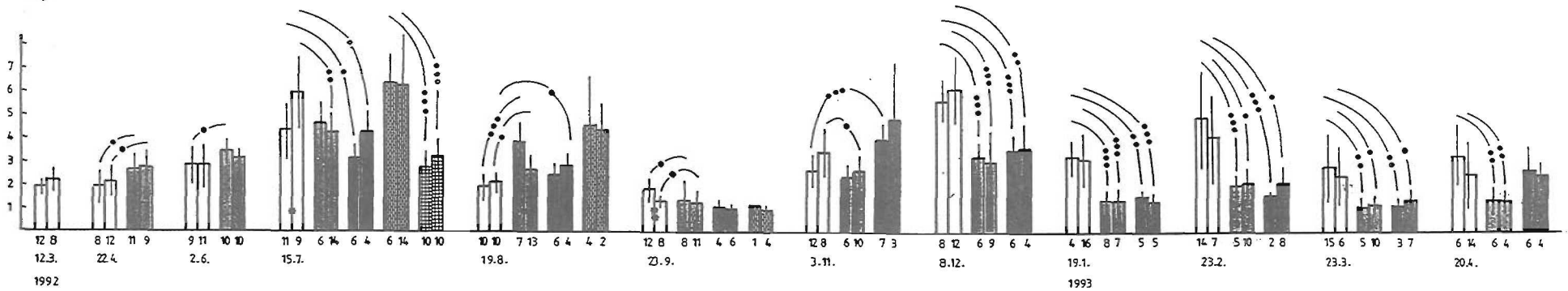
Katso selitykset liitteestä 2.



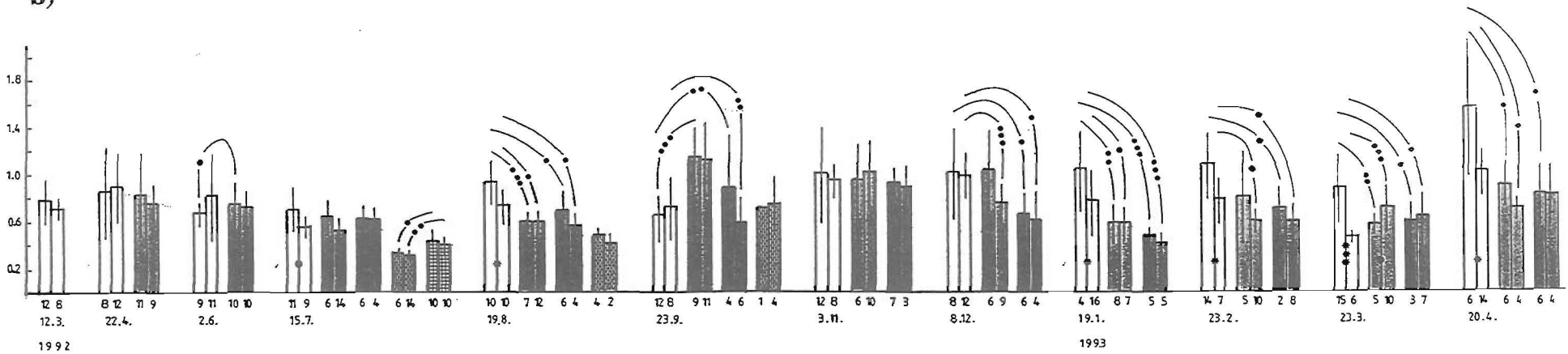
LIITE 7. KALOJEN a) MAKSAN, b) LIHAKSEN PROTEIINIPIITOISUUS (%).

Katso selitykset liitteestä 2.

a)

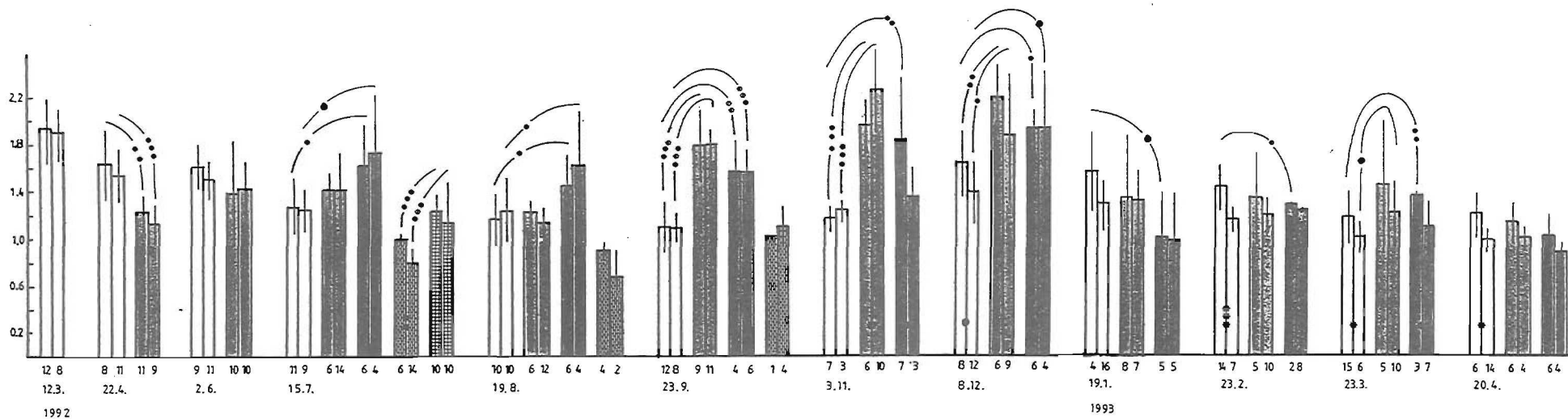


b)



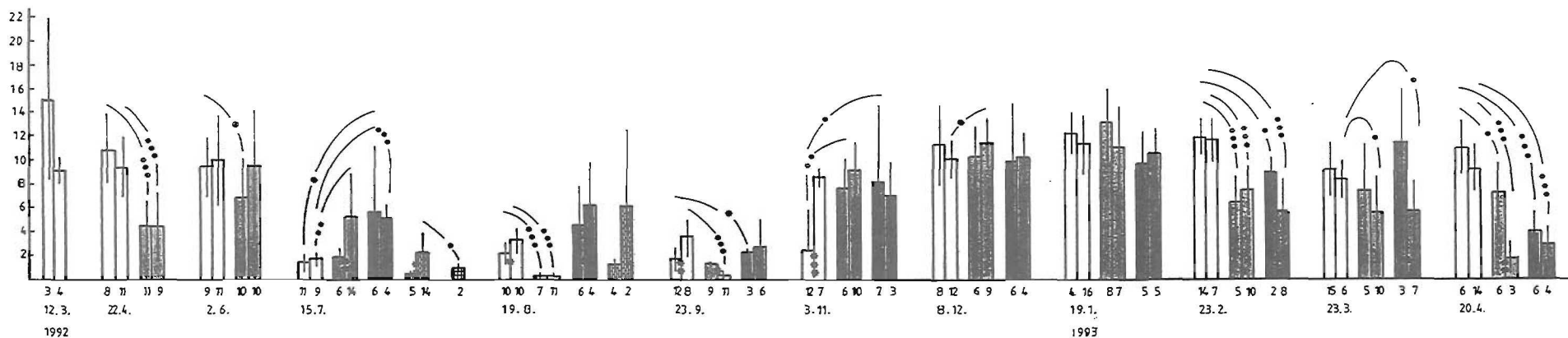
LIITE 8. KALOJEN MAKSAN PAINO ESITETTYNÄ KUDOSINDEKSINÄ (MSI = % kalan painosta).

Katso selitykset liitteestä 2.

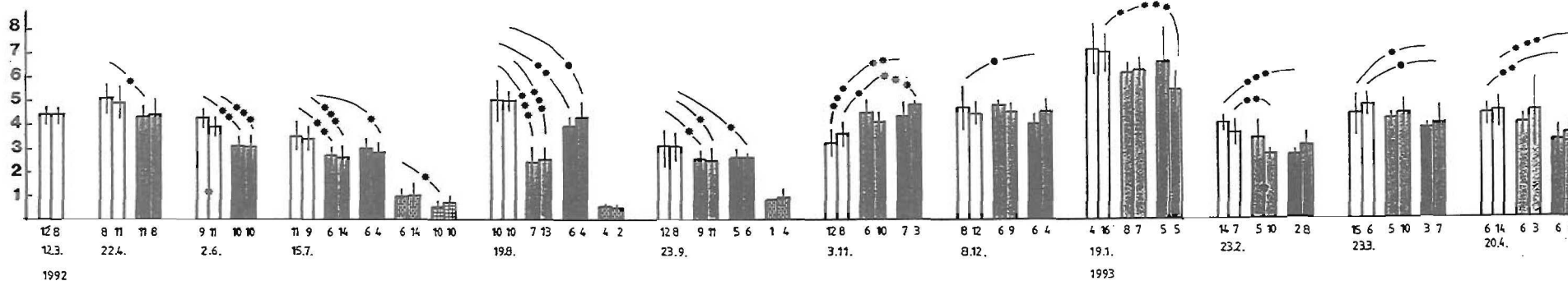


LIITE 9. KALOJEN MAKSAN a) EROD-AKTIIVISUUS (pmol/mg prot/min), b) GSH PITOISUUS ($\mu\text{mol/g ww}$).
 Katso selitykset liitteestä 2.

a)

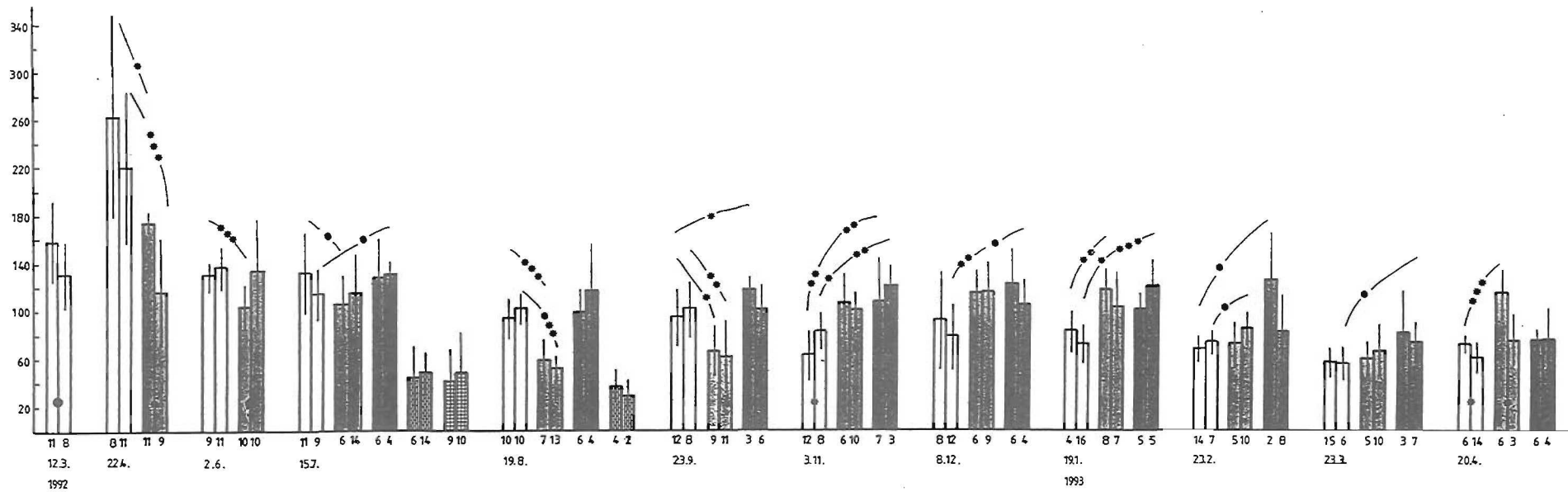


b)



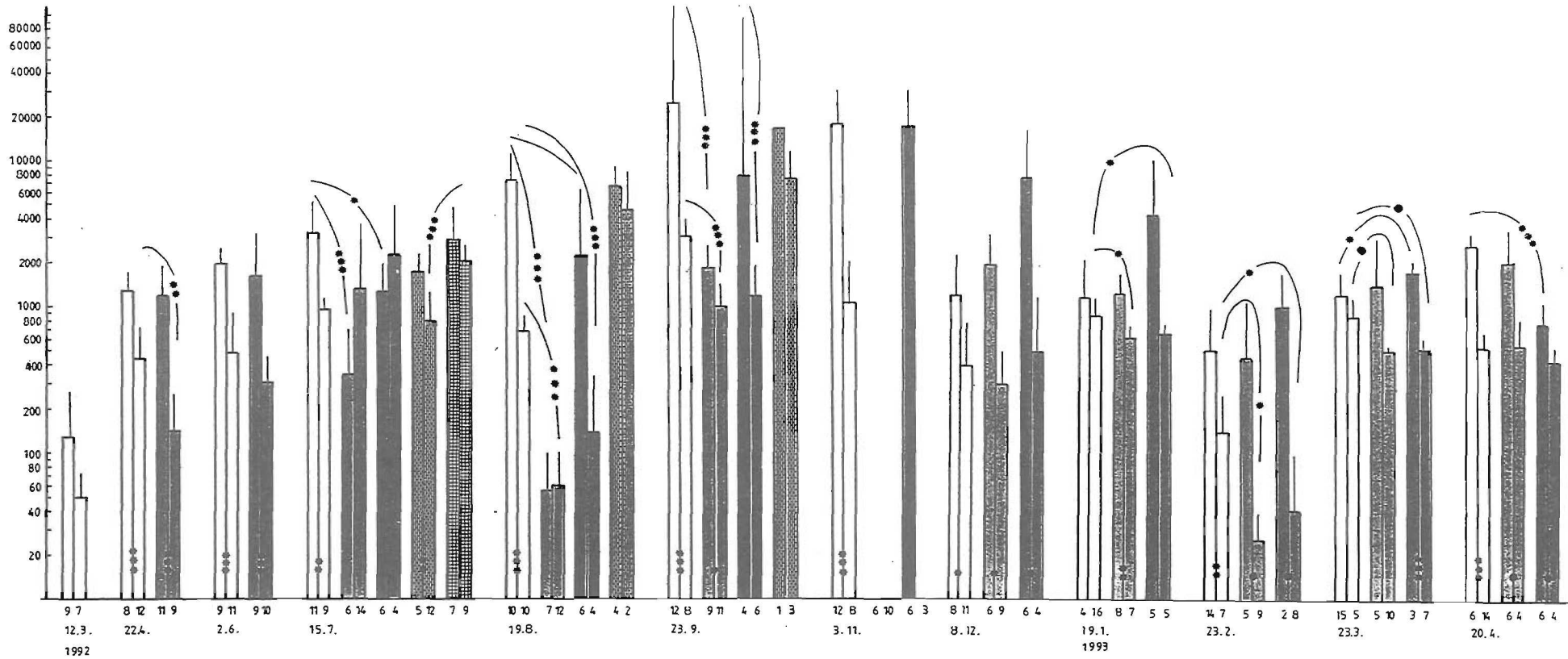
LIITE 10. KALOJEN MAKSAN UDPGT-AKTIIVISUUS (pmol/mg prot/min).

Katso selitykset liitteestä 2.



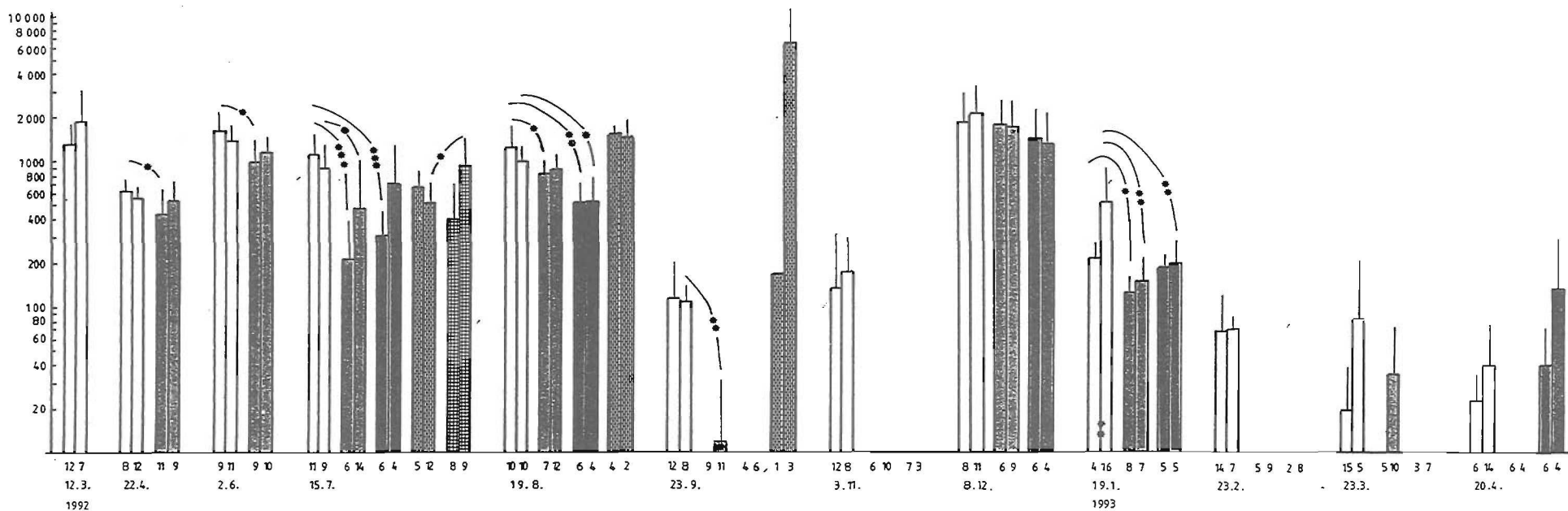
LIITE 11. KALOJEN PLASMAN TESTOSTERONIPITOISUUS (pg/ml).

Katso selitykset liitteestä 2.

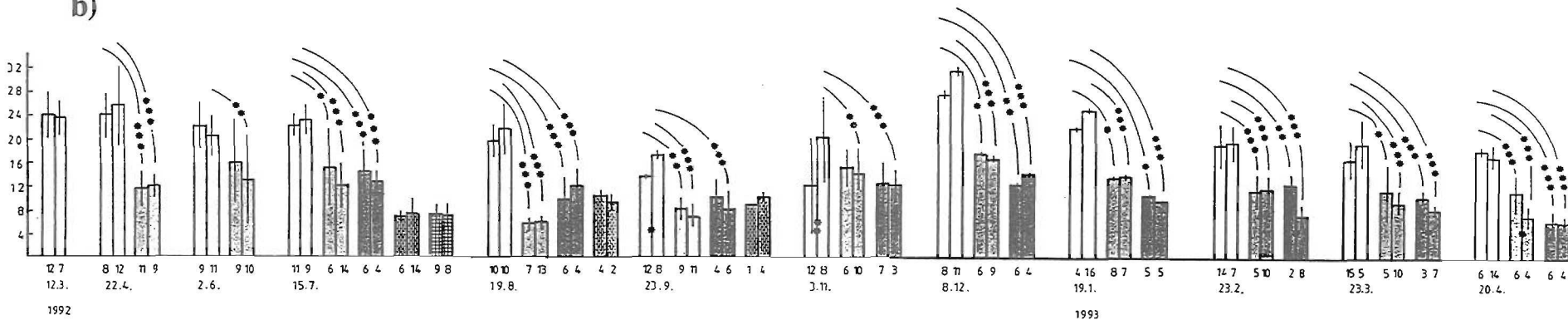


LIIITE 12. KALOJEN PLASMAN a) ESTRADIOLI-17 β - (pg/ml), b) KOLESTEROLIPITOISUUS (mmol/l).
 Katso selitykset liitteestä 2.

a)

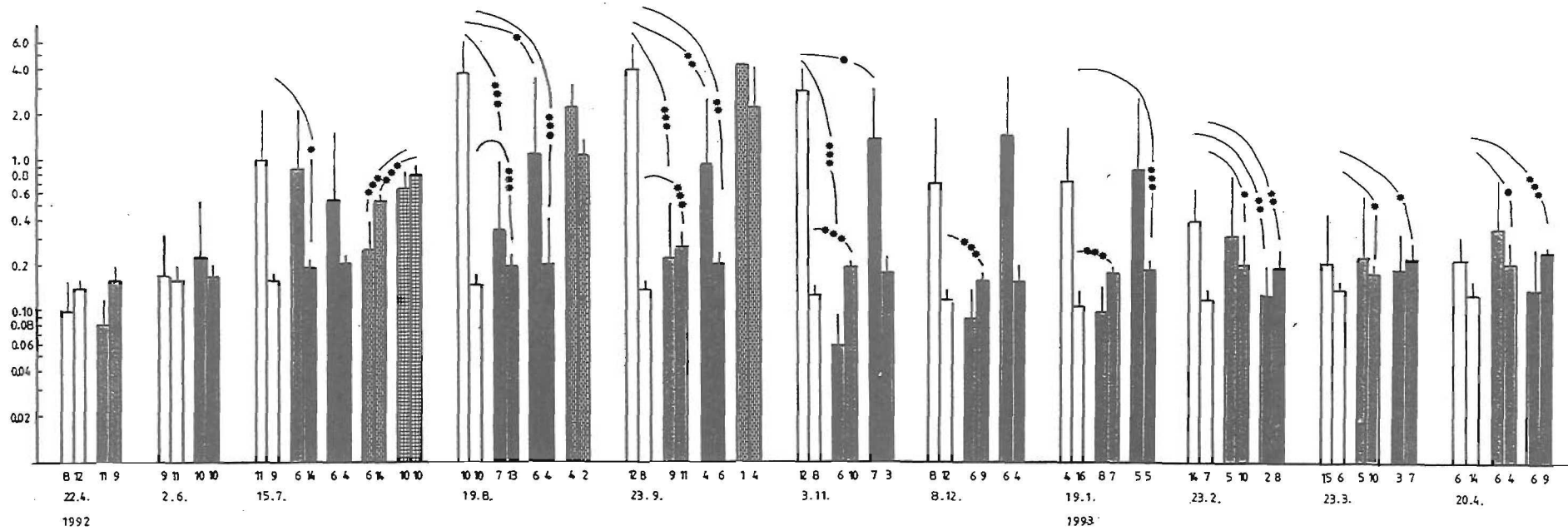


b)



LIITE 13. KALOJEN SUKURAUHASTEN PAINO ESITETTYNÄ KUDOSINDEKSINÄ (GSI = % kalan painosta).

Katso selitykset liitteestä 2.



VESI- JA YMPÄRISTÖHALLINNON JULKAISUJA - sarja A

83. Vesihuoltolaitokset 31.12.1988 ja 31.12.1989. Helsinki 1992.
84. Sandman, Olavi; Turkia, Jaana & Huttunen, Pertti: Paleolimnologinen tutkimus metsäojituksen ja -lannoituksen vesistövaikutuksista Juupajoen Kalliojärvässä. Helsinki 1992.
85. Helsingin vesi- ja ympäristöpiiri: Uudenmaan ja Etelä-Hämeen vedet. Helsinki 1991.
86. Roila, Tuija: Pienvesien happamoitumisen seuranta vuosina 1979 - 1989.
Roos, Jaana: Puskurikapasiteetin muutokset eräissä pienjärvissä vuosien 1937 - 48 ja 1988 välillä. Helsinki 1992.
87. Ollikainen, Minna: Karjalan Pyhäjärven tila 1980-luvulla sedimentin piilevien ilmentämänä. Helsinki 1992.
88. Lepistö, Liisa: Planktonlevien aiheuttamat haitat. Helsinki 1992.
89. Rantakangas, Jorma: Perkauksen aiheuttaman kiintoainevirtaaman ennakointi. Helsinki 1992.
90. Kaijalainen, Erkki (toim.): Sonkajärven reitin vesien käytön yleissuunnitelma. Helsinki 1992.
91. Salo, Simo: The fate of chemicals spilled on water. A literature review of physical and chemical processes. Helsinki 1992.
92. Mäkirinta, Urho & Tolonen, Pasi: Vaalan Järvikylän järvien kasvillisuus järvien tilan kuvaajana. Helsinki 1992.
93. Mäkirinta, Urho: Muutoksia Alavetelin Isojärven kasvillisuudessa 1973 - 1981. Helsinki 1992.
94. Nakari, Tarja: Porvoon edustan merialueen meriveden vaikutuksista sumpputettujen ja luonnonkalojen elintoimintoihin. Helsinki 1992.
95. Torpström, Heikki & Lappalainen, Matti: Järvien biomanipulaation perusteita ja käytännön mahdollisuuksia. Helsinki 1992.
96. Salonen, Seija; Frisk, Tom; Kärmeniemi, Tellervo; Niemi, Jorma; Pitkänen, Heikki; Silvo, Kimmo & Vuoristo, Heidi: Fosfori ja typpi vesien rehevittäjinä – vaikutusten arviointi. Helsinki 1992
97. Assmuth, Timo; Strandberg, Tapio; Joutti, Anneli & Kalevi, Kirsti: Kemiallisesti saastuneiden maa-alueiden tutkimusmenetelmät. Helsinki 1992.
98. Kivimäki, Anna-Liisa: Tekopohjavesilaitokset Suomessa. Helsinki 1992.
99. Tanninen, Risto: Arvot ja asenteet Pyhäjoen vesiensuojelusuunnittelussa. Helsinki 1992.
100. Kuopion vesi- ja ympäristöpiiri: Rautalammin reitin vene- ja retkisatamasuunnitelma. Helsinki 1992.
101. Eloheimo, Karri: Veneily ja sen ympäristövaikutukset. Helsinki 1992.
102. Sytyke 16. Sannholm, Gun & Söderström, Mirja: Entsyymikäsittelyn merkitys sulfaattimassan valkaisuissa. Helsinki 1992.
103. Sytyke 9. Raitio, Laura: Siistausprosessin ympäristökuormitus. Helsinki 1992.
104. Sytyke 17. Jantunen, Esko: Jätevesipäästötön paperitehdas. Helsinki 1992.
105. Sytyke 10. Lehtinen, K.-J. & Tana: Effects in mesocosms exposed to effluents from bleached hardwood kraft pulp mill. Helsinki 1992.
106. Hudd, Richard; Toivonen, Anna-Liisa & Wistbacka Ralf: Malax å fiskeriutredning. Helsinki 1992.
107. Rontu, Mika: Pohjaveden alkalointi kalkkikivisuodatuksella. Helsinki 1992.
108. Kuopion vesi- ja ympäristöpiiri: Rautalammin reitti - Kansallisvesi. Helsinki 1992.
109. Sytyke 11. Junttila, Vesa: Sellutehtaan ympäristökuormitusten pienentäminen ja hallinta uudella tehdaslaitteilla. Helsinki 1992.
110. Sytyke 20. Kara, Mikko: Natrium- ja rikkitasen säätömahdollisuuksia suomalaisessa sellutehtaassa. Helsinki 1992.
111. Kauppi, Marja: Repoveden alueen vesistöjen perusselvitys. Helsinki 1992.
112. Lindholm, Tapio (toim.): Sukkessiotutkimusten tuloksia Suomen ja SNTL:n luonnonsuojelualueilta. Helsinki 1992.
113. Sytyke 2. Hatakka, Annele; Valo, Marjatta & Lankinen, Pauliina: Puunjalostusteollisuuden jätevesien käsittely valkolahosienillä ja niiden entsyyneillä. Helsinki 1992.
114. Sytyke 19. Krogerus, Märten & Hynninen, Pertti: Sellu- ja paperiteollisuuden päästöjen käsittelyvaihtoehdot ja kustannukset. Helsinki 1992.
115. Hyvärinen, Pekka; Salojärvi, Kalervo; Pushkin, Sergei & Ahonen, Mikko: Kalojen vaellus Oulujärvestä Oulujokeen. Helsinki 1992.
116. Ettala, Matti & Koskela, Juhani: Kloorifenolipitoisten pohjavesien käsittely aktiivihiihluodatuksella ja aktiivilietemenetelmällä. Helsinki 1992.

150. Niinioja, Riitta: Lietelannan levitys ja ravinteiden huuhtoutuminen. Helsinki 1993.
151. Hynninen, Pekka (toim.): Pyhäjoen vesiensuojelun yleissuunnitelma. Helsinki 1993.
152. Pohjois-Karjalan vesi- ja ympäristöpiiri: Pohjois-Karjalan vedet ja ympäristö 1990-luvulla. Helsinki 1993.
153. Rathmayer, Hans & Juvankoski, Markku: Tiivistemattoina käytettävät geomembraanit - toiminta-vaatimukset ja materiaalinvalintakriteerit. Helsinki 1993.
154. Vertanen, Suvi: Elinkaarianalyysi ja pakkaukset. Helsinki 1993.
155. Ahtela, Irmeli: Porvoon edustan merialueen tila vuosina 1985 - 1991. Helsinki 1993.
156. Mroueh, Ulla-Maija: Orgaanisten liuotteiden käyttö Suomessa. Helsinki 1993.
157. Hudd, Richard; Leskelä, Ari & Kjellman, Jakob: Kyrönjoen alaosan kalatalousselvitykset vuosina 1980 - 1990. Helsinki 1993.
158. Hottola, Petri : Lintuvesiohjelma puntarissa - Linnustonselvitys Pohjois- Karjalan lintujärvillä. Helsinki 1993.
159. Luther, Annika: Muurahaiset ympäristön seurannassa. Kirjallisuusselvitys. Helsinki 1993.
160. Haatainen, Susanna; Hammar, Taina; Huovila, Juhani: Lahti, Erkki; Oksman, Heikki; Punju, Pirjo & Taipalinen, Irmeli: Hyalotheca dissiliens -koristelevän runsastumisen syistä Rautalammin reitillä. Helsinki 1993.
161. Turun vesi- ja ympäristöpiiri: Kiskonjoen luonnontaloudellinen kehittämissuunnitelma. Helsinki 1993.
162. Porvari, Petri; Verta, Matti: Elohopea ympäristössä ja tekoaltaissa - kirjallisuuskatsaus ja arvio Vuotoksen tekoaltaan hauen elohopeapitoisuuden kehittymisestä. Helsinki 1993.
163. Grönroos, Juha: Maatalouden ammoniakkipäästöjen vähentäminen. Vähentämismenetelmien arviointitutkimus. Helsinki 1993.
164. Heikkinen, Onni (toim.): Oulujärven vesiensuojelun yleissuunnitelma. Helsinki 1993.
165. Reuna, Marja, Perälä, Jaakko ja Aitamurto, Seppo: Lumen aluevesiarvoja Suomessa vuosina 1946 - 1993. Helsinki 1993.
166. Madekivi, Olli: Alusten aiheuttamien aaltojen ja virtausten ympäristövaikutukset. Helsinki 1993.
167. Shuibo, Pan (ed.) & Loukola, Erkki (ed.): Chinese-Finnish cooperative research work on dam break hydrodynamics. Helsinki 1993.
168. Vesihuoltolaitokset 1992. Helsinki 1993.
169. Virkanen, Juhani; Heikkilä, Raimo; Lindholm, Tapio: Kerrossammalten (*Hylocomium splendens*) raskasmetallipitoisuudet Kuhmossa 1989. Helsinki 1994.
170. Vuori, Kari-Matti: Hydropsychidae-heimon vesiperhostoukat ympäristökuormituksen mittareina virtaavissa vesissä. Helsinki 1993.
171. Keränen, Saara & Kokko Aira: Pesosjärven yhdennetyn seurannan alueen kasvillisuus vuosina 1989 ja 1990. Helsinki 1993.
172. Kärkkäinen, Sirpa: Kolin alueen lehdot. Helsinki 1994.
173. Marttunen, Mika & Hiedanpää, Juha: Etutahojen suhtautuminen Kokemäenjoen keskiosan ja Loimijoen tulvasuojeluun. Helsinki 1994.
174. Krogerus, Kirsti & Bilaletdin, Ämer: Kyrösjärven, Parkanonjärven ja Jämijärven vesiensuojelusuunnitelma. Helsinki 1994.
175. Rutanen, Ilpo: Etelä-Suomen vanhojen metsien kovakuoriaiset I. Helsinki 1994.
176. Rönkkömäki, Mauno: Hydrologisten mallien käyttö turvetuotantoalueiden vesiensuojelutekniikan kehittämisessä. Helsinki 1994.
177. Lindholm, Tapio & Airaksinen, Outi (toim.): Talaskankaan metsä- ja suoalueen luonnonsuojeluintoinnit. Helsinki 1994.
178. Dahlbo, Helena: Kiinteän yhdyskuntajätteen metallivirrat – tutkimuksen kokeellinen osa ja yhteen-veto. Helsinki 1994.
179. Sandman, Olavi; Kauppi, Lea & Tossavainen, Tarmo: Metsäojitusten ja -lannoitusten aiheuttamien ravinnehuuhtoutumien pidentyminen järvikerrostumiin.
Sandman, Olavi; Turkia, Jaana & Huttunen, Pertti: Metsätalouden pitkäaikaiset vaikutukset suurissa järvissä, Kuhmon Änättijärven ja Lentuan sedimenttitutkimus. Helsinki 1994.
180. Lapin vesi- ja ympäristöpiiri: Lapin vesistöt ja ympäristö 1990-luvulla. Lapin vesien käytön, hoidon ja suojelun kehittämissuunnitelma. Helsinki 1994.
181. Malve, Olli; Ekholm, Petri; Kirkkala, Teija; Huttula, Timo & Krogerus, Kirsti: Säskylän Pyhäjärven virtaukset, ravinnekuormitus ja rehevyystaso. Helsinki 1994.

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää normaaleita vuotuisia muutoksia kalojen elintoiminnoissa ja tuottaa tietoa luonnonkalojen samoin kuin sumputuskokeissa käytettävien kalojen elintoimintojen tausta-arvoista. Lisäksi tarkoituksena oli selvittää laboratorio-olosuhteissa ja "luonnossa" pidettyjen kalojen normaalien elintoimintojen välisiä eroja. Puhdasaine-
altistukset tehdään yleensä aina vakioituissa laboratorio-olosuhteissa, mutta tietoa kalojen normaaleista elintoiminnoista näissä olosuhteissa puuttuu. Tietoa tarvitaan vertailu- ja tausta-aineistoksi kehitettäessä haitta-aineiden vaikutustutkimuksia. Ympäristövaikutusten arvioinnissa on pystyttävä erottamaan haitta-aineiden vaikutukset kalan normaaleista aineenvaihduntareaktioiden ja luontaisten ympäristömuutosten aiheuttamista vaikutuksista.