

# Kryosfäärin muinaiset mikrobit ja niiden leviämismahdollisuus

Laura Säynäjoki

LuK-tutkielma

Biologian tutkinto-ohjelma

Oulun yliopisto

Helmikuu 2022

# Sisällysluettelo

Tiivistelmä.....	2
1. Johdanto.....	3
2. Muinaisten mikrobien tutkiminen.....	5
2.1 Näytteiden tutkimusmenetelmät.....	5
2.2 Kontaminaation poisto.....	7
3. Löydetyt mikrobit.....	9
3.1 Virukset.....	9
3.2 Bakteerit.....	11
3.3 Arkit.....	13
3.4 Sienet.....	13
4. Mikrobien leviäminen.....	15
5. Johtopäätökset.....	17
6. Viittaukset.....	19

## Tiivistelmä

Mikrobeja tavataan joka puolella maapalloa, mukaan lukien kryösfäärissä, eli pysyvästi jäätyneissä paikoissa. Jää on myös erinomainen ympäristö mikrobien säilymiselle, ja se pystyykin säilyttämään mikrobit jopa miljoonia vuosia suhteellisen hyvässä kunnossa. Ilmastonmuutoksen seurauksena nämä jääalueet sulavat, ja vapauttavat niihin taltioituneita muinaisia mikrobeja, jotka voivat herätä henkiin ja levitä ympäristöön.

Tässä tutkielmassa keskitytään arkkeihin, bakteereihin, sieniin ja viruksiin. Nämä jäästä löydetyt mikrobit ja virukset ovat olleet hyvin monimuotoisia, ja ne ovat yleensä olleet psykrotolerantteja, eli kylmää sietäviä, ja iältään sadoista jopa miljooniin vuosiin. Jotkut ovat myös olleet antibiooteille resistenttejä tai patogeenisiä. Lisäksi osa lajeista on ollut myös tuntemattomia, tai lajistaan poikkeavia. Vähiten on löydetty arkkeja, joka voi johtua niiden luonnostaan vähäisestä määrästä jäänäytteissä, tai pintapuolisesta tutkimuksesta. Löydetyt virukset ovat olleet hyvin monimuotoisia, ja useita uusia lajeja on löydetty. Sienistä eniten on tavattu hiivoja, kun taas bakteereista runsaimmin on esiintynyt proteobakteereja, aktinobakteereja, ja firmikuutteja.

Muinaisten mikrobien tutkimusmenetelmät vaihtelevat, ja yleensä päämenetelminä käytetään soluviljelyä ja sekvensointia. Käytettävät alukkeet ovat usein universaalisia, ja DNA:n eristämisessä suositaan erilaisia kaupallisia pakkauksia. Tutkimuksessa kontaminaatio on suuri riski, sillä jäänäytteiden tutkimuskelpoinen solupitoisuus on hyvin pieni, ja kontaminoituu helposti nykyajan lajien DNA:lla. Siksi steriloinnista on huolehdittu erityisen hyvin, ja erilaisten mikrobimarkkerikantojen käyttö kontaminaation tunnistamisessa on suosittua.

Mikrobien leviämällä voi olla useita seurauksia sekä bioottiseen, että abioottiseen ekosysteemiin. Patogeeniset mikrobit voivat aiheuttaa infektioita, joka voi johtaa epidemiaan. Lisäksi mikrobit voivat muuttaa populaatioiden alleelien tasapainoa, ja genomit voivat sekoittua keskenään. Ympäristön hiilikuorma lisääntyy, ravinteiden kierto voi kiihtyä, ja vesien happivarastot voivat vähentyä, mikä voi johtaa happikatoon. Näiden useiden seurausten takia on tärkeää tutkia muinaisia mikrobeja, ja etenkin patogeenisten mikrobien vuorovaikutusta eri isäntälajien kanssa, jotta voitaisiin pystyä ennakoimaan niiden eri toimintamekanismeja ja mahdollisten epidemioiden kulkua. Olisi tärkeää kehittää turvallisia tutkimuskäytäntöjä, ja varautua uhkaan esimerkiksi antibiooteilla, rokotteilla ja hyvällä tiedostamisella ja opetuksella.

# 1. Johdanto

Mikrobit ovat organismeja, joita ei pysty havaitsemaan paljaalla silmällä. Ne olivat ensimmäisiä organismeja maapallolla, ja nykyäänkin maapallon hallitseva elämänmuoto. Ne ovat myös ensimmäisiä eläviä olentoja, joita etsitään maapallon ulkopuolelta muilta planeetoilta. Mikrobit ovat hyvin monimuotoisia, ja niihin kuuluvat bakteerit ja arkit, sekä eräät eukaryootit, kuten levät, alkueläimet ja sienien hiivat ja homeet. Myös viruksista puhutaan usein mikrobien yhteydessä, vaikka ne eivät ole soluja, eivätkä luokiteta välttämättä eläviksi (Madigan ym., 2015).

Mikrobeilla on monenlaisia aineenvaihduntareittejä energiantuotossa. Eräät kykenevät käyttämään valoa energian tuottamiseen, kun taas toiset tarvitsevat joko orgaanisia tai epäorgaanisia yhdisteitä, kuten vetyä, typpeä, rikkiä, tai rautaa energianlähteekseen. Tiedetyt lajit myös hyödyntävät happea aineenvaihdunnassa ja osa ei sitä tarvitse ollenkaan. Hiilen lähteenä mikrobit puolestaan käyttävät joko hiilidioksidia, tai orgaanista hiiltä (Madigan ym., 2015).

Mikrobien joukossa on myös paljon ekstremofiilejä, jotka kykenevät kasvamaan hyvinkin äärimmäisissä olosuhteissa, kuten todella alhaisessa tai korkeassa pH:ssa, korkeassa suolapitoisuudessa, tai poikkeuksellisen kuumissa tai kylmissä olosuhteissa (Madigan ym., 2015). Mikrobeja voi siis elää hyvin erikoisissa ympäristöissä niiden monimuotoisten energiantuottoaineenvaihduntareittien vuoksi. Näin ollen niitä elää myös kryosfäärissä, eli niissä osissa maapalloa, missä vesi on pysyvästi jäätynyttä. Tällaisia alueita ovat esimerkiksi jäätiköt, jäävuoret, merijää ja ikirouta. Näissä jääympäristöissä elävien mikrobien aktiivisuus ja lisääntyminen on vähäistä, ja ne voivat selviytyä esimerkiksi jääkristallien välisissä nestemäisen veden täyttämässä raoissa, missä on tarpeeksi ravinteita pitämään mikrobit hengissä pitkän aikaa (Yarzabal ym., 2021). Kryosfäärissä oletettavasti esiintyy myös muinaisia mikrobeja, tai niiden jäämiä taltioituneena jääkerroksiin, sillä jääympäristöt ovat ideaalinen paikka mikrobien säilymiselle (Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Sajjad ym., 2020; Willerslev ym., 2004). Tämä johtuu näiden jääympäristöjen hyvin matalasta ja tasaisesta lämpötilasta, sekä vähäisestä hapen määrästä, ja pimeistä olosuhteista (Sajjad ym., 2020). Jää pystyykin taltioimaan muinaisen biodiversiteetin, ja esimerkiksi antamaan osviittaa eri lajien kehityksestä (Knowlton ym., 2013).

Kuten tiedetään, ilmaston lämpenemisen takia nämä pysyvästi jäätyneet alueet ovat alkaneet sulamaan (Houwenhuysen ym., 2018; Rogers, Starmer, ym., 2004; Sajjad ym., 2020; Yarzabal ym., 2021). On arvioitu, että vuosien 2002 ja 2016 välillä mannerjää on menettänyt noin

199 ± 32 miljardia tonnia niiden maailmanlaajuisesta massasta vuotta kohden, ja esimerkiksi eräät jäätiköt ovat sulaneet aivan kokonaan. Myös ikirouta lämpenee ja sulaa hälyttävää tahtia, ohentaen sen pysyvästi jäätynyttä maakerrosta (Yarzabal ym., 2021).

Tämän maailmanlaajuisen jääalueiden sulamisen takia niihin taltioituneet muinaiset mikrobit pääsevät vapautumaan jäästä ensimmäistä kertaa jopa miljooniin vuosiin (Houwenhuyse ym., 2018; Sajjad ym., 2020). Herääkin kysymys, että voivatko nämä jään tallettamat muinaiset mikrobit selvitä jäätymisestä ja myös sulamisesta, ja herätä takaisin eloon. Millaisia mikrobeja niiden joukossa voi olla, ja miten niitä voidaan tutkia? Voivatko ne levitä ympäristöön, ja millainen vaikutus niillä voi olla ekosysteemiin? Muun muassa näihin kysymyksiin aion pureutua tässä LuK-tutkielmassa, rajaten aiheeni erityisesti viruksiin, arkkeihin, bakteereihin, ja sieniin.

## 2. Muinaisten mikrobien tutkiminen

Useissa tutkimuksissa on löydetty muinaisia mikrobeja kryosfääristä, ja löydöt voivat muuttaa paljon käsitystämme mikrobien evoluutiosta, ekologiasta ja fysiologiasta (Willerslev ym., 2004). Mikrobeja tutkitaan yleensä soluviljelyllä ja sekvensoinnilla, mutta soluviljelyä ei voida kuitenkaan tehdä joka lajille, sillä vain noin 1% luonnon bakteereista muodostaa kolonioita ravinnealustoilla (Madigan ym., 2015). Muinaisten mikrobien löydöt ovat kuitenkin joskus kyseenalaisia, ja todennäköisesti kontaminaation seurausta. Muinaisten mikrobien soluviljely, ja niiden DNA:n ja RNA:n monistaminen ovatkin usein ongelmallisia niiden kontaminaation riskin vuoksi (Willerslev ym., 2004).

Lisäksi eliöiden genomit hajoavat ajan saatossa kuoleman jälkeen, joten niitä voidaan tutkia vain tiettyyn ikään asti. On arvioitu, että lyhyiden DNA-sekvenssien elinikä geosfäärissä on noin 10000 vuotta, mutta kylmemmissä oloissa jopa 100000 vuotta. RNA:n elinikä on lyhyempi kuin DNA:n, mikä johtuu RNA:n 2' OH-ryhmän puuttumisesta. Tämän rakenteellisen eron takia fosfodiesterisidosten hajoaminen on nopeampaa RNA-molekyyleillä. Yleisesti ottaen kaikille monistumaan kykeneville nukleiinihapoille voidaan arvioida eliniän ylärajaksi noin miljoona vuotta. Nukleiinihappojen hajoamistahtiin vaikuttavat niiden rakenteen lisäksi veden ja hapen määrä, sekä ympäristön lämpötila. Kylmät ympäristöt ovat parempia molekyylien säilymiseen, sillä reaktioiden aktiivisuus putoaa huomattavasti lämpötilan laskiessa (Willerslev ym., 2004).

### 2.1 Näytteiden tutkimusmenetelmät

Ensimmäinen vaihe muinaisten mikrobien tutkimisessä on näytteiden kerääminen. Yleensä kerääminen on suoritettu poraamalla (Castello ym., 1999; Kochkina ym., 2012; Legendre ym., 2014; Willerslev ym., 2004; Zhong ym., 2020), tai steriilein välinein (Brad ym., 2018; Edidin ym., 2016; Filippova ym., 2019). Näytteet ovat tutkimista varten sulatettu ja niitä on käytetty joko suoraan nukleiinihappojen eristämiseen (Ng ym., 2014; Zhong ym., 2020), tai niistä on tehty eristämistä ja tutkimista varten ensin soluviljelmiä (Brad ym., 2018; Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Kochkina ym., 2012). Soluviljelmiä on tehty lähinnä bakteeri- ja sieninäytteistä, mutta myös virusviljelmiä on tehty. Tällöin viruksia on kasvatettu sopivan isäntälajin soluviljelmässä, jonka jälkeen ne on voitu eristää isäntälajin soluista eri menetelmillä. Virusviljelyä on tehty esimerkiksi Legendren ym. tutkimuksissa vuosilta 2014 ja 2015, jolloin virusnäytteet lisättiin Prescott and James kasvatusliuokseen, ja tätä suspensiota

käytettiin infektoimaan ameebalajin *Acanthamoeba castellanii* soluviljelmää (Legendre ym., 2014, 2015).

Tutkimuksissa käytetyt kasvatusliuokset tai -alustat vaihtelevat paljon, kuten myös viljelyn kasvatuslämpötila ja -aika. Kasvatusalustana on käytetty usein kompleksista kasvatusalustaa (Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Kochkina ym., 2012), jonka tarkkaa kemiallista koostumusta ei tiedetä. Alusta sisältää yleensä esimerkiksi verta, hiivauutosta tai mallasuutosta, ja se sopii tuntemattomien mikrobien kasvatukseen erinomaisesti (Madigan ym., 2015). Viljelmät ovat yleensä kestäneet useita viikkoja tai kuukausia, ja niiden lämpötila on vaihdellut 4–30 °C välillä, ollen joko alhainen (0–10 °C), viileä (10–20 °C), tai lämmin (20–30 °C) (Brad ym., 2018; Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Kochkina ym., 2012). Usein samoja näytteitä on inkuboitu useilla eri kasvatusalustoilla eri lämpötiloissa ja eri pituisina aikoina, jotta on saatu kasvatettua mahdollisimman paljon eri lajeja (Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Kochkina ym., 2012). Soluviljelmistä on myös esimerkiksi testattu antibioottiresistenssiä (Filippova ym., 2019), ja elävien solujen olemassaoloa tutkimuksen aikana (Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013).

DNA tai RNA on yleensä eristetty sellaisella kaupallisella eristämispakkauksella, joka on sopinut parhaiten tarkoitukseen (Brad ym., 2018; Legendre ym., 2015; Ng ym., 2014; Zhong ym., 2020). Usein on suoritettu myös ylimääräisiä toimenpiteitä, kuten solujen hajottamista, ja vapaan DNA:n tai RNA:n poistamista (Brad ym., 2018; Zhong ym., 2020). Kaupallisten pakkausten eristämistehokkuus vaihtelee niiden saannon ja puhtauden osalta paljon, ja on epäselvää, saako samoilla pakkauksilla optimaalisia tuloksia joka kerralla (Saidi-Mehrabad ym., 2020). Jos ei ole käytetty kaupallisia pakkauksia, niin silloin on käytetty jotakin tunnettua eristysmenetelmää, kuten CTAB eli setrimoniumbromidi-eristysmenetelmää (Knowlton ym., 2013). Joskus on myös yhdistetty eri menetelmiä ja eristyspakkauksia keskenään (Legendre ym., 2014).

Eristettyä DNA:ta tai RNA:ta on monistettu seuraavaksi polymeraasiketjureaktio- eli PCR-menetelmällä ja sekvensoitu, joissa käytetyt alukkeet ovat yleensä kyseiselle eliölle tyypillisiä tai universaalisia (Brad ym., 2018; Filippova ym., 2019; Kochkina ym., 2012; Zhong ym., 2020). Tällaisia ovat esimerkiksi ribosomaaliset geenit, kuten 16S, 18S ja ITS geenit. Nämä geenit ovat hyviä sekvensointiin, sillä ne ovat yleisiä, ja ne muuntuvat hitaasti. Sekvensoitujen DNA- tai RNA-pätkien avulla voidaan tunnistaa kyseessä olevia lajeja näiden sekvenssien samankaltaisuuden avulla. OTU:jen, eli operatiivisten taksonomisten yksikköjen avulla

voidaan ryhmitellä läheisesti sukua olevia lajeja, ja selvittää löydettyjen lajien sukulaisuutta (Madigan ym., 2015).

Monistamiseen on käytetty yleensä tavallista PCR-tekniikkaa (Brad ym., 2018; Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Kochkina ym., 2012), mutta myös modernimpaa teknologiaa, kuten esimerkiksi reaaliaikaista qPCR-menetelmää (Zhong ym., 2020). Joissakin tutkimuksissa on kloonattu monistettuja sekvenssejä ennen sekvensointia (Knowlton ym., 2013; Kochkina ym., 2012), mutta myös suoraa sekvensointia on käytetty (Kochkina ym., 2012). Sekvensoinnissa on käytetty usein ensimmäisen sukupolven sekvensointia, Sanger-tekniikkaa (Brad ym., 2018; Filippova ym., 2019), ja myös uudemman sukupolven sekvensointia, kuten Illumina-tekniikkaa (Legendre ym., 2014; Zhong ym., 2020). Joissain tutkimuksissa on myös tutkittu PCR:n onnistumista DGGE-menetelmällä (Brad ym., 2018).

## 2.2 Kontaminaation ehkäisy

Näytteiden kontaminaatio on merkittävä ongelma muinaisten mikrobien tutkimisessa. Koska nykyajan mikrobeista tunnetaan arviolta vain noin 1–5%, voidaan ne helposti sekoittaa muinaisiin mikrobeihin. Suurimmat kontaminaation riskit tapahtuvat näytteiden keräämisvaiheessa, sekä tutkimusvaiheessa laboratorioissa. Koska jäässä ja ikiroudassa esiintyy hyvin vähän elinkelpoisia soluja ja nukleiinihappoja, niistä otettujen näytteiden kontaminaatio voisi vaikuttaa erittäin paljon tuloksiin. Erityisen herkkiä näytteiden pilaantumiselle ovat mikrobit, kun verrataan esimerkiksi eläin- ja kasvinäytteisiin (Willerslev ym., 2004).

Jo näytteiden keräämisen aikana on siis suuri riski kontaminoida näytteet. Ikiroutaa porataan usein nimenomaan mikrobien näytteiden ottoa varten, ja sitä varten on kehitetty omia poraustekniikoita, joihin ei tarvita kontaminoivia porausnesteitä. Sen sijaan jäätiköiden jäätä porataan usein ensisijaisesti muinaisen ilmaston tutkimista varten, jolloin porauksessa ei yleensä huolehdi kontaminaation välttämisestä. Poraustarvikkeet onkin hyvä päällystää jollakin tunnistettavalla mikrobilla, jotta voidaan seurata, mikä osa poratusta jäästä on mahdollisesti kontaminoitunutta (Willerslev ym., 2004). Tätä menetelmää on käytetty esimerkiksi Filippovan ym. (2019) tutkimuksessa, jossa kontaminaation havaitsemista varten tutkimusalueeseen kaadettiin ennen näytteiden keräämistä suspensiota, joka sisälsi tunnettua hiivalajin (*Yarrowia lipolytica*) Y-3603 markkerikantaa. Kannan solut sisälsivät punaista fluoresoivaa proteiinia, joka oli helposti havaittavissa, ja näin mahdollinen kontaminaatio kyettiin havaitsemaan. Samankaltaista menetelmää käytettiin myös muinaisten virusten



näytteiden otossa Legendren ym. tutkimuksissa vuosilta 2014 ja 2015, missä käytettiin fluoresoivia lateksisia mikropartikkeleita mikrobien korvikkeena mahdollisen kontaminaation seuraamiseen. Partikkeleita levitettiin tutkimusalueelle kolmella eri tapaa ennen näytteiden porauksen alkua. Fluoresoivia partikkeleita oli tämän jälkeen vaivatonta seurata jään pinnasta UV-valon avulla, ja mahdollinen kontaminaatio oli siten helposti havaittavissa ja poistettavissa steriilein välinein kaivertamalla ja poraamalla (Juck ym., 2005).

Näytepalojen sterilointi laboratoriossa on tehokkainta suorittaa laminaarissa alhaisissa lämpötiloissa (-20°C), jotta ilma on steriiliä, ja vettä ei muodostu näytteiden pinnalle. Pintakontaminaation poistamisessa erittäin toimiva käytäntö on raaputtaa muutama sentti pintakerrosta pois steriloidulla veitsellä. Veitsi ja muut mahdolliset välineet voidaan steriloida esimerkiksi autoklavoimalla, etanolilla ja 5% natriumhypokloriitilla (Willerslev ym., 2004).

Natriumhypokloriittia, eli valkaisuainetta, voidaan käyttää myös välineiden steriloinnin lisäksi suoraan näytteiden puhdistukseen. Sitä käytettiin esimerkiksi Knowltonin ym. (2013) tekemässä tutkimuksessa, jossa käytettiin 5.25% natriumhypokloriitti-puhdistusainetta nimeltä Clorox. Sterilointi tehtiin kastamalla näytteet liuokseen 10 sekunniksi, jonka jälkeen ne huuhdottiin steriilillä vedellä. Tämän käytännön todettiin tappavan kaikki pinnan kontaminaatiota aiheuttavat tekijät, sekä vähentävän hiukan myös jään sisäisiä kantoja (Rogers, Theraisnathan, ym., 2004). Valkaisuaine onkin erittäin hyvä poistamaan kontaminaatiota, ja esimerkiksi Saidi-Mehrabadin ym. (2020) tutkimuksen mukaan valkaisuaineella huuhteleminen oli ainoa tapa, jolla kaikki markkeribakteerit saatiin poistettua koepaloista, kun sitä seurasi pinnan raaputtaminen ja huuhtelu (Saidi-Mehrabad ym., 2020).

Näytepalojen pinnat voidaan puhdistaa myös kastamalla ne etanoliin, ja tämän jälkeen liekittämällä, kuten on tehty esimerkiksi Edidin ym. (2016) ja Filippovan ym. (2019) tehdyissä tutkimuksissa. Tutkimuksissa käytettiin samaa menetelmää myös välineiden sterilointiin niin laboratoriossa, kuin näytteiden keräysvaiheessa. Etanolia on käytetty näytteiden puhdistukseen myös Zhong ym. (2020) tekemässä tutkimuksessa, jossa jäänäytteiden pintaa raaputettiin vähitellen pois steriilin vannesahan avulla, jonka jälkeen pinta huuhdeltiin steriilillä etanolilla ja vedellä. Tutkimuksessa myös arvioitiin kyseisen puhdistusmenetelmän toimivuutta ottamalla näytteitä joka puhdistusvaiheesta ja arvioimalla niissä esiintyvien bakteerien määrää ja lajeja. Kontaminaation arvioitiin olleen hyvin vähäistä, ja se saatiin poistettua näytteistä hyvin. Eräiksi kontaminointibakteereiksi luettiin *Bacillus* ja *Vibrio* - sukujen lajeja, jotka on aiemminkin todettu kontaminanteiksi jäätiköiden näytteissä (Zhong ym., 2020).

### 3. Löydetyt mikrobit

Muinaisia mikrobeja on kerätty eri jäänäytteistä monista eri sijainneista maapallolla, kuten Etelämantereelta, arktisilta alueilta, vuorenhuipuilta ja ikiroudan peittämiltä maa-alueilta (Sajjad ym., 2020). Muinaiset mikrobit ovat päätyneet jäähän tuulen ja ilmakehän kiertoliikkeen takia (Knowlton ym., 2013), ja ne heijastavat jäätymisajankohtansa ilmasto-olosuhteita (Zhong ym., 2020). Jäänäytteiden biomassassa on yleensä hyvin vähäinen (Zhong ym., 2020), mutta niiden lajikoostumukset ovat ainutlaatuisia, ja eri paikoista kerätyt näytteet voivat sisältää eri lajeja, vaikka näytteet olisivatkin samanikäisiä. Näytteiden lajit ovat kuitenkin yleensä melko samankaltaisia ominaisuuksiltaan (Knowlton ym., 2013).

Useimmiten mikrobit ovat psykrotoleranteja enemmän kuin psykoofiilejä, eli ne kykenevät kestämään kylmää, mutta niiden optimaalinen lämpötila on kuitenkin reilusti nollan yläpuolella (Edidin ym., 2016; Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Zhong ym., 2020). Psykoofiilit sen sijaan menestyvät parhaiten alle 15 asteen lämpötilassa, eivätkä kasva yli 20 asteessa (Knowlton ym., 2013). Lisäksi löydetyt mikrobit usein täsmäävät parhaiten sellaisiin näytteisiin tietokannoissa, mitkä on löydetty jäisistä ympäristöistä ennenkin (Knowlton ym., 2013; Kochkina ym., 2012; Zhong ym., 2020). Osalla on myös patogeenisiä ominaisuuksia (Brad ym., 2018; Castello ym., 1999; Legendre ym., 2014, 2015; Ng ym., 2014; Sajjad ym., 2020; Yarzabal ym., 2021), ja joiltakin on löydetty antibioottiresistenssiä, tai niihin liittyviä geenejä (Filippova ym., 2019; Sajjad ym., 2020; Yarzabal ym., 2021). Myös tunnistamattomia, tai lajistaan poikkeavia mikrobeja on löydetty monista näytteistä (Knowlton ym., 2013; Legendre ym., 2014, 2015; Ng ym., 2014; Sajjad ym., 2020; Zhong ym., 2020).

#### 3.1 Virukset

Jääekosysteemeissä esiintyvien viruksien monimuotoisuus on runsasta, ja ne säätelevät bakteerien populaatioita esimerkiksi infektoimalla ja tappamalla niitä (Sajjad ym., 2020; Yarzabal ym., 2021), sekä osallistuvat ekosysteemin biogeokemiallisiin sykleihin. Jotkut viruksista kykenevät selviämään jäisissä ympäristöissä isäntälajien sisällä, kun taas muut voivat jäätyä ympäristöön (Yarzabal ym., 2021).

Esimerkiksi Grönlannista löydettiin tomaattimosaiikkiviruksen RNA:ta noin 500–140000 vuotta vanhasta jäästä. Laji on hyvin yleinen kasvien patogeeninen virus, joka kykenee

tartuttamaan monia koppisiemenisiä heimoja, ja sen tunnetaan olevan epätavallisen vakaa nukleoproteiini, mikä voi selittää sen kyvyn säilyä niin pitkään jäässä (Castello ym., 1999).

Lisäksi Siperian ikiroudasta löydettiin jopa 30000 vuotta vanhoja tunnistamattomia suuria DNA viruksia, jotka vielä kykenivät infektoimaan ameboja, kuten tutkimuksessa isäntälajina käytettyä *Acanthamoeba castellanii* - lajia (Legendre ym., 2014, 2015). Toiselle löydetylle viruslajille annettiin nimeksi *Pithovirus sibericum*, joka oli morfologialtaan pandoravirusten kaltainen, mutta hiukan suurempi. Pandoravirukset ovat isokokoisia, ovaalin muotoisia viruksia, joilla on suurikokoinen genomi ja joiden replikaatioon tarvitaan isäntälajin tumaa. Tästä poiketen *Pithovirus sibericum* kuitenkin kykeni replikoitumaan sytoplasmassa, ja sen genomi oli myös paljon pienempi. Se ei siis vaikuttanut olevan sukua pandoraviruksille, vaan ennemminkin ikosaedrisen muotoisille DNA viruksille. Lajin geenisisältö muistutti sukuja *Iridovirus* ja *Marseillevirus*, ja lisäksi sen sytoplasmisen replikaatio muistutti *Megaviridae* – heimon lajien replikaatiomekanismeja (Legendre ym., 2014). Toinen ikiroudan näytteestä löydetty virus nimettiin *Mollivirus sibericum* – lajiksi, joka ei vaikuttanut olevan sukua *Pithovirus*-lajille. Laji oli läheisintä sukua pandoraviruksille, vaikka sen morfologia olikin erilainen. Lisäksi lajista löydettiin paljon tutkimuksessa isäntälajina käytetyn *Acanthamoeba castellanii* – amebalajin genejä, mikä johtui todennäköisesti geenien horisontaalisesta siirtymisestä (Legendre ym., 2015).

Myös muita uusia viruslajeja on löydetty muinaisista jäänäytteistä. Esimerkiksi Kanadasta Selwyn vuorilta löydettiin kaksi uutta virusta 700 vuotta vanhasta jäätyneestä karibun lannasta. Löydetylle DNA virukselle annettiin nimeksi Ancient caribou feces associated virus, eli aCFV. Viruksen genomi oli pieni ja ympyränmuotoinen, ja se oli etäisesti sukua kasvien geminiviruksille, sekä eräälle sieniä tartuttavalle virukselle nimeltä *Sclerotinia sclerotiorum* hypovirulence-associated DNA virus 1 (SsHADV-1). Toiselle löydetylle virukselle, joka oli RNA virus, annettiin nimeksi Ancient Northwest Territories cripavirus, eli aNCV. aNCV oli läheistä sukua *Cripavirus*-sukuun kuuluville viruksille (Ng ym., 2014), jotka tartuttavat muun muassa hyödyllisiä hyönteisiä, kuten mehiläisiä, sekä useita lääketieteelle ja maataloudelle tärkeitä hyönteisiä (Houwenhuyse ym., 2018; Sajjad ym., 2020). Mielenkiintoista on, että viruslaji aCFV kykeni tartuttamaan *Nicotiana benthamiana* – kasvilajin laboratorio-olosuhteissa, mikä havaittiin viruksen DNA:n esiintyvyydellä uusissa lehdissä (Ng ym., 2014). Kyseinen kasvilaji ei kuitenkaan ole aCFV:n luonnollinen isäntälaji, sillä sitä tavataan pohjois-Australiassa (Houwenhuyse ym., 2018).

Myös hyvin suuria virusmääriä on löydetty näytteistä, kuten Guliyan mannerjäädästä Tiibetin ylängöltä. Kahdesta 520 ja 15000 vuotta vanhasta jäänäytteestä löydettiin 33 viruslajia, joista neljä kyettiin tunnistamaan heimotasolle, kaksi yhdistettiin jääpopulaatioihin ja loput 27 eivät vaikuttaneet olevan sukua millekään tunnetulle lajille. Tunnistetuista viruksista kolme sukua kuului *Siphoviridae*-heimoon ja yksi suku *Myoviridae*-heimoon. Lisäksi viruspopulaatioista 18 pystyttiin yhdistämään johonkin mahdolliseen isäntäbakteeriin, joita esiintyi samoissa näytteissä, kuten *Methylobacterium*, *Sphingomonas* ja *Janthinobacterium*, mikä viittaa siihen, että viruslajit saattoivat infektoida kyseisiä lajeja (Zhong ym., 2020).

### 3.2 Bakteerit

Suurin osa jäänäytteistä löydettyistä bakteereista ovat proteobakteereja, aktinobakteereja, ja firmikuutteja (Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Zhong ym., 2020). Esimerkiksi Mamontova Gorasta, eli ”Mammuttivuori” – nimiseltä tutkimusalueelta Jakutiasta löydettiin ikiroudasta erilaisia bakteereja, jotka kuuluivat edellä mainittuihin pääjaksoihin, ja joiden iän arvioitiin olevan tuhansista vuosista 16 miljoonaan vuoteen. Löydettyihin aktinobakteereihin kuului lajeja suvuista *Dietzia*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Nocardioidea* ja *Rothia*, ja löydetyt firmikuutit puolestaan kuuluivat sukuihin *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Planococcus*, *Carnobacterium*, ja *Staphylococcus*. Erilaisia proteobakteereja olivat *Methylobacterium*, *Moraxella* ja *Psychrobacter*. Nämä löydetty bakteerit kasvoivat parhaiten 8–20 asteen lämmössä, mikä on tyypillistä kylmässä viihtyvillä lajeilla. Lajit olivat myös herkkiä monille antibiooteille, paitsi gram-positiiviset bakteerit vaikuttivat olevan resistenttejä polymyksiinille, ja proteobakteerit olivat resistenttejä bentsyylipenisilliinille, sekä linkomysiinille (Filippova ym., 2019). Samalta alueelta on myös toisessa tutkimuksessa löydetty noin 70000 vuotta tai mahdollisesti jopa miljoonia vuosia vanhoja aerobisia ja anaerobisia bakteerikantoja, jotka kyettiin herättämään eloon vegetatiiviseen tilaan. Bakteerit olivat sopeutuneita kylmiin olosuhteisiin ja pystyivät olemaan aktiivisia jopa -5°C asteessa. Lajit kuuluivat *Bacillus*-sukuun, ja todennäköisesti olivat sukua lajeille *Bacillus cereus* ja *Bacillus pumilus* (Edidin ym., 2016).

Myös Grönlannista ja Etelämantereelta on löydetty paljon bakteereita eri-ikäisistä näytteistä. Näissä 500–157000 vuotta vanhoissa jäänäytteissä kaikista eniten esiintyi syanobakteereita, sekä firmikuutteja. Alueilta 10500 vuotta vanhasta jäänäytteestä löydettiin tunnistamattomia lajeja, jotka olivat samankaltaisia kuin *Microcoleus* ja *Halomonas* bakteerit, joita esiintyy

meriympäristöissä. 157000 vuotta vanhoista jäänäytteistä löydettiin myös tunnistamattomia lajeja, jotka muistuttivat bakteerisukuja *Geobacillus*, *Micrococcus*, *Microcoleus* ja *Pseudomonas*. Kolme sekvenssiä näistä vanhimmista näytteistä muistutti eniten lajeja *Microcoleus vaginatus* ja *Phormidium aurumnale*, joita on ennen löydetty maanäytteistä esimerkiksi Etelämantereelta. Kuusi sekvenssiä muodosti erillisen Syanobakteerien pääjakson, joista esimerkiksi kaksi sekvenssiä muistutti eniten lajia *Micrococcus luteus*. Neljä sekvenssiä muodosti firmikuuttien kladin, joista kaksi kuului *Bacillus*-sukuun. Vanhimmista näytteistä myös kaksi näytettä täsmäsivät eniten lajin *Sinococcus beijingensis* ja suvun *Marinococcus* kanssa. (Knowlton ym., 2013)

Bakteereista tehtyjen soluviljelmien määrä väheni, mitä vanhempia jäänäytteet olivat, poikkeuksena kuitenkin nuorimmat näytteet, mistä saatiin vain muutama viljelmä. Saatujen viljelmien määrään myös vaikutti jään kerrostumisen aikaiset ilmasto-olosuhteet, kuten hiilidioksidin määrä, lämpötila ja pölymäärä. Eniten bakteereita saatiin jääkerroksista, joiden aikainen hiilidioksidimäärä oli alle 240 ppmv, ja lämpötila 3 °C astetta vähemmän kuin nykyään, ja pölyn määrä oli alle 0.4 ppm (Knowlton ym., 2013).

Lisäksi esimerkiksi Kiinasta Tiibetin ylängöltä Guliyan mannerjäädästä löydettiin noin 70–15000 vuotta vanhoista jääkerroksista yhteensä 254 bakteerilajia, joista 118 pystyttiin tunnistamaan sukutasolle asti. Eniten esiintyviä sukuja sijainnin nuoremmista jäänäytteistä (70–300v.) olivat esimerkiksi *Janthinobacterium*, *Polaromonas*, ja *Flavobacterium*. Kaikista runsaimmin esiintyviin bakteereihin kuului myös *Comamonadaceae* ja *Microbacteriaceae* heimoihin kuuluvat tuntemattomat suvut. Vanhemmasta jäädästä (520–15000v.) otettujen näytteiden bakteerikannassa oli runsaasti monia samoja bakteerisukuja, kuin nuoremman jään näytteissä, kuten *Janthinobacterium*, *Herminiimonas* ja *Flavobacterium*. Näytteissä oli myös paljon sellaisia sukuja, joita ei nuoremmista jäänäytteissä esiintynyt juuri lainkaan, kuten *Sphingomonas* ja *Methylobacterium*, sekä eräs *Methylobacteriaceae*-heimoon kuuluva tuntematon suku (Zhong ym., 2020).

Samojen lajien toistuva ja runsas esiintyvyys alueen näytteissä viittaa siihen, että kyseiset bakteerit ovat sopeutuneet kylmiin olosuhteisiin. Lisäksi näytteet edustavat jäätymisajankohtansa aikaisia ilmasto-olosuhteita, sillä eri ikäiset näytteet eroavat toisistaan. Muun muassa kemiallinen koostumus, kuten kloridien, sulfaattien, ja natriumin konsentraatio poikkeaa eri näytteissä toisistaan (Zhong ym., 2020).

### 3.3 Arkit

Arkkeja on löydetty melko vähän jäänäytteistä verrattuna esimerkiksi bakteereihin (Rakitin ym., 2020). Tämä voi johtua esimerkiksi kilpailusta bakteerien kanssa, tai arkkien korkeasta hajoamisherkkyydestä jääympäristöissä (Simon ym., 2009). Lisäksi prokaryoottien tutkimisessa käytetään usein universaalisia alukkeita, jotka havaitsevat lähinnä vain bakteereja, ja hyvin vähän arkkeja, jolloin suuri osa mahdollisista arkeista voi helposti jäädä huomioimatta (Raymann ym., 2017).

Esimerkiksi Mammuttivuorelta (Mamontova Gora) tutkituista 13000–19000 vuotta vanhoista ikiroudan jäänäytteistä vain 0.6% oli arkkeja, vaikka bakteereita löydettiin huomattavasti enemmän. Arkit kuuluivat lähinnä pääjaksoihin *Euryarchaeota* ja *Thaumarchaeota* (Rakitin ym., 2020). Myös Siperian ikiroudasta on tutkittu samanaikaisesti sekä arkkeja että bakteereja, ja edelleen löydettyjen arkkien määrä oli pienempi kuin bakteerien. Arkit olivat noin 26000–120000 vuotta vanhoja, ja ne kuuluivat pääjaksoihin *Euryarchaeota*, *Bathyarchaeota*, ja *Heimdallarchaeota* (Liang ym., 2021).

Lisäksi esimerkiksi Romaniasta Scărișoara-jääluolasta on löydetty arkkeja 400–900 vuotta vanhasta jäästä. Ne kuuluivat pääjaksoihin *Euryarchaeota*, *Crenarchaeota*, ja *Thaumarchaeota*. Näytteissä runsaimmin esiintyvä taksoni oli puolestaan *Methanomicrobia* (Itcus ym., 2018).

### 3.4 Sienet

Jääympäristöissä on monimuotoisia sieniyhteisöjä, ja etenkin erilaiset hiivat ovat yleisiä (Brad ym., 2018). Hiivoja on löydettykin esimerkiksi Romaniasta Scărișoara-jääluolasta eri ikäisistä jääkerroksista. Runsaimmin esiintyi psykrofiilistä hiivalajia *Mrakia stokesii*, sekä muita jäässä viihtyviä sienilajeja, kuten hiivaa *Teberdinia hygrophila* (Brad ym., 2018). Myös patogeenisiä lajeja löydettiin, kuten *Aureobasidium pullulans*, minkä tunnetaan aiheuttavan vakavia ihoinfektioita (Sajjad ym., 2020). Näytteissä oli paljon kylmään sopeutuneita lajeja, ja lajeja saatiinkin viljeltyä enemmän 4 °C asteessa, kuin 15 °C asteessa. Soluviljelyllä saatiin kasvatettua jopa 50 sientä, ja näiden lisäksi löydettiin vielä 14 lajia, joista ei saatu kasvatettua viljelmiä (Brad ym., 2018).

Lisäksi Grönlannista ja Etelämantereelta löydettiin noin 500–157000 vuotta vanhoja sieniä, jotka kuuluivat kantasieniin ja kotelosieniin. Eniten esiintyi *Rhodotorula*-suvun lajeja, kuten *R.*

*mucilaginosa* ja *R. glutius*. Eräästä näytteestä löydettiin myös tuntematon laji, joka saattoi kuulua *Rhodotorula*-sukuun, ja joka oli erilainen kaikkiin muihin sukuun kuuluviin lajeihin verrattuna. Myös sukujen *Penicillium* ja *Aspergillus* lajeja löytyi paljon. Löydettiin myös eräs tuntematon sekvenssi, joka vaikutti kuuluvan *Dothioraceae*-heimoon, johon kuuluu esimerkiksi *Aureobasidium*-suku, mutta lajin sekvenssit erosivat paljon NBCI:n tietokannan sekvensseistä kyseisistä heimon lajeista. Eräs toinen löydetty näyte oli lähimpänä lajia *Alternaria tenuissima*, yksi näyte muistutti puolestaan *Fusarium*-sukua, ja jotkin näytteet muistuttivat eniten *Cladosporium*-sukua. Yksi näyte vastasi eniten erästä patogeenistä lajia *Cryptococcus magnus*. Kaikkien näytteiden sekvenssit vaikuttivat olevan samankaltaisimpia sellaisten NBCI:n tietokannan sekvenssien kanssa, joita on ennenkin löydetty kylmistä ympäristöistä, ja mahdollisesti myös kovasta paineesta (Knowlton ym., 2013).

Ikiroudasta löydettyillä sienillä on usein erilaisia suvuttomia sienirihmastoja, kuten Kochkinan ym. tutkimuksessa (2012) Etelämantereelta löydettyillä lajeilla. Tämän rakenteen omaavat sienet muistuttivat eniten *Venturia*-suvun lajeja sekä *Thanatephorus cucumeris* ja *Bjerkandera adusta* - lajeja. Myös joiltakin tuntemattomilta lajeilta löydettiin vastaava rakenne. Tutkimuksessa jäästä löydettiin soluviljelemällä kaiken kaikkiaan yli 26 sienisukua. Eniten esiintyviä mikrosienisukuja olivat *Penicillium* ja *Cladosporium*. Kyseiset suvut ovat hyvin yleisiä arktisissa ja antarktisisissa ikiroudan sieninäytteissä, ja erityisesti lajeja *Penicillium chrysogenum* ja *Penicillium minioluteum* tavataan usein (Kochkina ym., 2012). Näytteistä löydettiin myös patogeenisiä lajeja muistuttavia sieniä. Eräs laji oli hyvin läheistä sukua kasveille patogeeniselle *Diaporthe helianthi* – sienelle, ja eräs toinen muistutti puolestaan nisäkkäitä ja lintuja infektoivaa lajia *Candida albicans* (Sajjad ym., 2020).

## 4. Mikrobien leviäminen

Ilmastonmuutoksen edetessä, ja lämpötilan noustessa muinaiset mikrobit tulevat esille kryosfääristä jäiden sulassa. Koska jäät ovat valtava varasto useille muinaisille mikrobeille, niiden sulaminen johtaa minimissään näiden mikrobiarkistojen tuhoutumiseen, jolloin merkittävää tutkimusaineistoa voidaan menettää. Pahimmassa tapauksessa mikrobit kykenevät heräämään eloon, ja leviämään ympäristöön, mahdollisesti tartuttaen muita eliöitä (Zhong ym., 2020). Mikrobit vapautuvat sulamisveden mukana ympäristöön, ja vaikka ne eivät todennäköisesti kestä yhtäkkiä lämpötilan nousua, voivat ne silti sopeutua uusiin olosuhteisiin (Sajjad ym., 2020). On arvioitu, että joka vuosi noin  $10^{17}$ – $10^{21}$  mikrobisolua vapautuu jäästä, ja niiden joukossa voi olla jopa tuhansia lajeja (Rogers, Starmer, ym., 2004). Lisäksi suora ihmistoiminta voi lisätä mikrobien vapautumista jäästä, sillä arktisilla alueilla on runsaasti mineraaleja ja öljyä, jotka ovat hyvin kysytyjä raaka-aineita. Tämä voi houkutella lisää kaivannaistoimintaa alueille, joka lisää jään ja maan poraamista ja tulvia, jolloin lisää mikrobeja voi paljastua esiin jään alta (Houwenhuys ym., 2018).

Mikrobit kykenevät leviämään esimerkiksi eläinten, veden ja ilman välityksellä. Koska mikrobeja esiintyy myös ilmakehässä, sekä pilvissä, sumussa, ja sateessa, voivat ne levitä hyvinkin helposti. Etenkin jos sääolosuhteet ovat kohdallaan, voivat mikrobipartikkelit levitä maailmanlaajuisesti, mikä lisää mahdollisuutta siihen, että ne tartuttaisivat sopivia lajeja, joissa ne voisivat edelleen monistua (Rogers, Starmer, ym., 2004).

Jäältä vapautuvien mikrobien seassa voi olla patogeenisiä lajeja, kuten useat tutkimukset osoittavat. Ne voivat kyetä tartuttamaan isäntäeliöitä, kuten ihmisiä, eläimiä, kasveja ja muita mikrobeja, joilla ei ole minkäänlaista immuniteettia juuri näitä muinaisia mikrobeja vastaan, mikä puolestaan voi johtaa epidemiaan isäntäeliön populaatioissa (Sajjad ym., 2020). Konkreettinen esimerkki tällaisesta jäässä piilevien mikrobien leviämisestä ja sen aiheuttamasta epidemiasta on Venäjällä Jamalin Nenetsiällä tapahtunut pernaruttoepidemia vuonna 2016 (Houwenhuys ym., 2018). Monet ihmiset ja porot sairastuivat pernaruttoon, jolloin yli sata henkilöä joutui sairaalahoitoon ja yksi lapsi kuoli, sekä paikallinen poropopulaatio tuhoutui (Yarzabal ym., 2021). Taudin uskottiin aiheutuneen 75 vuotta sitten haudattujen pernaruttoa kantaneiden porojen hautapaikan sulamisen takia, mistä johtuen pernaruttoa aiheuttava bakteeri *Bacillus anthracis* oli päässyt uudelleen vapautumaan ja leviämään (Houwenhuys ym., 2018). Epidemian aiheuttanut bakteerikanta olikin identtinen hautapaikan porojen ruumiista löytyneiden bakteerikantojen kanssa, mikä vahvistaa sulaneen hautapaikan bakteerit taudin alkuperäksi (Yarzabal ym., 2021).



Patogeenisten mikrobien uhka on vielä suurempi, jos niillä on myös antibioottiresistenssiä, ja monen muinaisen mikrobin onkin havaittu omaavan vastustuskykyä antibiootteja vastaan. Lisäksi esimerkiksi horisontaalisen siirtymisen välityksellä antibioottiresistenssigeenit voivat siirtyä patogeenisille mikrobeille tai toisin päin. Elävät mikrobit voivat myös saada transformaation avulla jo jäässä hajonneiden mikrobien paljasta DNA:ta, joka voi sisältää patogeenisiä tai antibioottiresistenssiin liittyviä genejä (Sajjad ym., 2020).

Muinaisten mikrobien genomit voivat myös sekoittua nykyisten lajien genomeihin ”genome recycling” – nimisen prosessin avulla. Ilmiö syntyy, kun jäässä olevat vanhat mikrobit vapautuvat jäästä sen sulamisen takia, ja kulkeutuvat nykyisten lajien populaatioihin, joihin ne sekoittuvat. Mikrobipopulaatiot voivat suorittaa syklin loppuun kulkeutumalla esimerkiksi ilmakehän kautta tuulien mukana jääympäristöön, ja jäätyessä taas. Näin uusi sykli voi taas alkaa, jos jää sulaa. Genomien sekoittuminen voi tapahtua vain, jos elinkykyisiä mikrobeja vapautuu tarpeeksi jäästä, ja niiden geenit selviävät ja päätyvät populaatioiden geenijoukkoon. Sekoittumisen onnistuminen riippuu geenien kulkeutumistavasta, ympäristöolosuhteista, kohdepopulaation koosta, sekä alleelien kelpoisuudesta (Rogers, Starmer, ym., 2004).

Geenien sekoittumisesta voi syntyä useita seurauksia lajien populaatioille. Se voi johtaa alleelien tasapainon muuttumiseen populaatioissa, mikä voi vaikuttaa esimerkiksi mutaatioiden määrään, sekä elinkykyyn, selviytymiseen ja patogeenisyyteen (Rogers, Starmer, ym., 2004). Genomien sekoittuessa myös esimerkiksi patogeeniset geenit, ja antibioottiresistenssigeenit voivat siirtyä lajeille ja ne voivat aiheuttaa uusia ominaisuuksia mikrobipopulaatioissa (Sajjad ym., 2020).

Vapautuneet ja eloon heränneet mikrobit voivat geneettisen ja patogeenisen vaikutuksen lisäksi aiheuttaa muutoksia ekosysteemeihin laajamittaisella mikrobien biomassan lisääntymisellä, mikä aiheuttaa suuren hiilikuorman ja orgaanisen aineen taakan. Tämä voi aiheuttaa bakteerien kasvun pyrähdysten, jolloin erilaisten ravinteiden hajoaminen ja kierto bioottisen ja abiottisen ympäristön välillä lisääntyy. Tällöin myös kasvihuonekaasujen vapautumien ympäristöön lisääntyy, mikä puolestaan edesauttaa ilmastonmuutoksen etenemistä. Vapautuneet mikrobit saattavat käyttää myös vesien happivarastoja, mikä voi vaikuttaa negatiivisesti kalojen elinympäristöihin ja pahentaa merien hapettomia alueita. Lisäksi muinaiset mikrobit voivat häiritä paikallisten mikrobien monimuotoisuutta ja niiden optimaalista rakennetta ekosysteemissä (Sajjad ym., 2020).

## 5. Yhteenveto ja johtopäätökset

Ilmastonmuutos voi siis ilmiselvästi vaikuttaa niin ihmisiin, muihin eliöihin kuin myös abioottiseen ympäristöön ehkä hieman odottamattomalla tavalla: sulaneista jäämassoista vapautuneiden muinaisten mikrobien kautta.

Kuten tiedetään, ilmastonmuutoksen vaikutuksesta pitkään pysyvästi jäätyneet jääympäristöt sulavat, ja niihin taltioituneiden mikrobien heräämisen mahdollisuus myös kasvaa näiden mikrobien vapautuessa jäädästä yhä suuremmissa määrin (Sajjad ym., 2020). Kryosfääristä onkin löydetty hyvin monenlaisia muinaisia mikrobeja, joita on tutkittu lähinnä soluviljelemällä ja sekvensoimalla (Brad ym., 2018; Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Kochkina ym., 2012; Zhong ym., 2020). Mielenkiintoista on, että tuhansia vuosia vanhoja lajeja on voitu vielä kasvattaa ja lisätä soluviljelyllä, eli ne on voitu herättää henkiin, vaikkakin kontrolloiduissa olosuhteissa (Yarzabal ym., 2021). Voi siis myös olla mahdollista, että mikrobit kykenevät heräämään henkiin myös luonnossa, jos olosuhteet ovat hyvät. Aiemmin mainittu uudelleen heränneen bakteerin *Bacillus anthracis* aiheuttama pernaruttoepidemiakin tapahtui itsestään luonnossa (Houwenhuyse ym., 2018; Yarzabal ym., 2021), mikä osaltaan todistaa, että jäätyneiden mikrobien uudelleenherääminen ei ole mahdotonta. Olisi siis virhe olettaa, että entiset taudinaiheuttajat, jotka ovat joskus muinoin aiheuttaneet suuria epidemioita, voisivat kadota maapallolta, tai olla kykenemättömiä heräämään uudelleen henkiin (Sajjad ym., 2020).

Tutkimuksissa löydetyt muinaiset mikrobilajit ovat olleet usein psykrotoleranteja (Edidin ym., 2016; Filippova ym., 2019; Knowlton ym., 2013; Zhong ym., 2020), ja useita tuntemattomia, tai poikkeavia lajeja on myös löydetty (Knowlton ym., 2013; Legendre ym., 2014, 2015; Ng ym., 2014; Sajjad ym., 2020; Zhong ym., 2020). Vähiten on tavattu arkkeja, mikä voi johtua siitä, että niitä tutkitaan vähemmän tai väärillä menetelmillä (Raymann ym., 2017), tai siitä, että niitä esiintyy luonnostaan vähemmän jäänäytteissä (Simon ym., 2009). Päälimmäisenä kiinnostusta ja huolta herättävät patogeeniset ja antibiooteille resistentit lajit. Kyseiset lajit voivat mahdollisesti jopa aiheuttaa epidemian nykyisissä lajeissa, joilla ei ole minkäänlaista vastustusta muinaisia mikrobeja vastaan, mukaan lukien ihmisissä. Mikrobit voivat myös vaikuttaa populaatioiden monimuotoisuuteen ja muuttaa niiden alleelien tasapainoa genomien sekoituessa (Sajjad ym., 2020). Tämän lisäksi mikrobit voivat vaikuttaa ympäristöön muun muassa lisäämällä hiilikuormaa, ravinteiden hajoamista, ja vesien hapettomuutta (Houwenhuyse ym., 2018; Sajjad ym., 2020).

Vapautuvilla muinaisilla mikrobeilla on siis selkeästi useita vaikutuksia sekä bioottiseen että myös abioottiseen ympäristöön, jonka takia on tärkeää tutkia niitä, ja selvittää, mitkä niistä voivat olla suuri uhka niin ihmisille, kuin muillekin eliöille. Olisi kannattavaa tutkia patogeenien vuorovaikutusta muiden lajien kanssa, jotta voitaisiin oppia mahdollisimman paljon niiden toimintatavoista, ja osattaisiin ennakoida edes jonkin verran mahdollisten epidemioiden kulkua. Muinaisista mikrobeista olisikin hyvä tehdä esimerkiksi pitkäaikaisia tutkimuksia, joissa tutkittaisiin isäntälajien ja patogeenien rinnakkaisevoluution mekanismeja erilaisin menetelmin, ja tehtäisiin niiden pohjalta ennusteita. Piilevän uhkan lisäksi muinaisia mikrobeja on kannattavaa tutkia, sillä niistä voidaan löytää tärkeitä geenejä esimerkiksi lääkkeiden, ja rokotteiden suunnitteluun. Tällainen tutkimus on kuitenkin tehtävä varoen ja mikrobien uhka mielessä pitäen, sillä näytteiden poraaminen lisää niiden vapautumisriskiä. On myös mahdollista, että mikrobit pääsevät leviämään tutkijoiden, ja työntekijöiden mukana suurempaan väkijoukkoon. Olisi hyvin tärkeää siis varautua mahdollisiin infektioihin esimerkiksi antibiooteilla ja rokotteilla, sekä tiedostamalla ja opettamalla tästä muinaisten mikrobien mahdollisesta uhasta (Sajjad ym., 2020).

## 6. Viittaukset

- Brad, T., Itcus, C., Pascu, M.-D., Perşoiu, A., Hillebrand-Voiculescu, A., Iancu, L., & Purcarea, C. (2018). Fungi in perennial ice from Scărișoara Ice Cave (Romania). *Scientific Reports*, 8(1), 10096. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28401-1>
- Castello, J. D., Rogers, S. O., Starmer, W. T., Catranis, C. M., Ma, L., Bachand, G. D., Zhao, Y., & Smith, J. E. (1999). Detection of tomato mosaic tobamovirus RNA in ancient glacial ice. *Polar Biology*, 22(3), 207–212. <https://doi.org/10.1007/s0030000050411>
- Edidin, G. M., Brushkov, A. v, & Ignatov, S. G. (2016). Phylogenetic analysis of microorganisms from permafrost. *Moscow University Geology Bulletin*, 71(6), 462–465. <https://doi.org/10.3103/S0145875216060041>
- Filippova, S. N., Surgucheva, N. A., Kolganova, T. v, Cherbunina, M. Yu., Brushkov, A. v, Mulyukin, A. L., & Gal’chenko, V. F. (2019). Isolation and Identification of Bacteria from an Ice Wedge of the Mamontova Gora Glacial Complex (Central Yakutia). *Biology Bulletin*, 46(3), 234–241. <https://doi.org/10.1134/S1062359019030026>
- Houwenhuysse, S., Macke, E., Reyserhove, L., Bulteel, L., & Decaestecker, E. (2018). Back to the future in a petri dish: Origin and impact of resurrected microbes in natural populations. *Evolutionary Applications*, 11(1), 29–41. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/eva.12538>
- Itcus, C., Pascu, M. D., Lavin, P., Perşoiu, A., Iancu, L., & Purcarea, C. (2018). Bacterial and archaeal community structures in perennial cave ice. *Scientific Reports*, 8(1), 15671. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34106-2>
- Juck, D. F., Whissell, G., Steven, B., Pollard, W., McKay, C. P., Greer, C. W., & Whyte, L. G. (2005). Utilization of fluorescent microspheres and a green fluorescent protein-marked strain for assessment of microbiological contamination of permafrost and ground ice core samples from the Canadian High Arctic. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2), 1035–1041. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.2.1035-1041.2005>

- Knowlton, C., Veerapaneni, R., D'Elia, T., & Rogers, S. O. (2013). Microbial Analyses of Ancient Ice Core Sections from Greenland and Antarctica. *Biology*, 2(1), 206–232. <https://doi.org/10.3390/biology2010206>
- Kochkina, G., Ivanushkina, N., Ozerskaya, S., Chigineva, N., Vasilenko, O., Firsov, S., Spirina, E., & Gilichinsky, D. (2012). Ancient fungi in Antarctic permafrost environments. *FEMS Microbiology Ecology*, 82(2), 501–509. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01442.x>
- Legendre, M., Bartoli, J., Shmakova, L., Jeudy, S., Labadie, K., Adrait, A., Lescot, M., Poirot, O., Bertaux, L., Bruley, C., Couté, Y., Rivkina, E., Abergel, C., & Claverie, J.-M. (2014). Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a pandoravirus morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(11), 4274. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320670111>
- Legendre, M., Lartigue, A., Bertaux, L., Jeudy, S., Bartoli, J., Lescot, M., Alempic, J.-M., Ramus, C., Bruley, C., Labadie, K., Shmakova, L., Rivkina, E., Couté, Y., Abergel, C., & Claverie, J.-M. (2015). In-depth study of Mollivirus sibericum, a new 30,000-year-old giant virus infecting Acanthamoeba. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(38), E5327. <https://doi.org/10.1073/pnas.1510795112>
- Liang, R., Li, Z., Lau Vetter, M. C. Y., Vishnivetskaya, T. A., Zanina, O. G., Lloyd, K. G., Pfiffner, S. M., Rivkina, E. M., Wang, W., Wiggins, J., Miller, J., Hettich, R. L., & Onstott, T. C. (2021). Genomic reconstruction of fossil and living microorganisms in ancient Siberian permafrost. *Microbiome*, 9(1), 110. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01057-2>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock biology of microorganisms* (Fourteenth edition). Pearson.
- Ng, T. F. F., Chen, L.-F., Zhou, Y., Shapiro, B., Stiller, M., Heintzman, P. D., Varsani, A., Kondov, N. O., Wong, W., Deng, X., Andrews, T. D., Moorman, B. J., Meulendyk, T., MacKay, G., Gilbertson, R. L., & Delwart, E. (2014). Preservation of viral genomes in 700-y-old caribou feces from a subarctic ice patch. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(47), 16842–16847. <https://doi.org/10.1073/pnas.1410429111>

- Rakitin, A., Beletsky, A., Mardanov, A., Surgucheva, N., Sorokin, V., Cherbunina, M., Brouchkov, A., Mulyukin, A., & Filippova, S. (2020). Prokaryotic community in Pleistocene ice wedges of Mammoth Mountain. *Extremophiles*, *24*(1), 93–105. <https://doi.org/10.1007/s00792-019-01138-z>
- Raymann, K., Moeller, A. H., Goodman, A. L., & Ochman, H. (2017). Unexplored Archaeal Diversity in the Great Ape Gut Microbiome. *MSphere*, *2*(1), e00026-17. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00026-17>
- Rogers, S. O., Starmer, W. T., & Castello, J. D. (2004). Recycling of pathogenic microbes through survival in ice. *Medical Hypotheses*, *63*(5), 773–777. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mehy.2004.04.004>
- Rogers, S. O., Theraisnathan, V., Ma, L. J., Zhao, Y., Zhang, G., S.-G., S., Castello, J. D., & Starmer, W. T. (2004). Comparisons of Protocols for Decontamination of Environmental Ice Samples for Biological and Molecular Examinations. *Applied and Environmental Microbiology*, *70*(4), 2540–2544. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2540-2544.2004>
- Saidi-Mehrabad, A., Neuberger, P., Cavaco, M., Froese, D., & Lanoil, B. (2020). Optimization of subsampling, decontamination, and DNA extraction of difficult peat and silt permafrost samples. *Scientific Reports*, *10*(1), 14295. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71234-0>
- Sajjad, W., Rafiq, M., Din, G., Hasan, F., Iqbal, A., Zada, S., Ali, B., Hayat, M., Irfan, M., & Kang, S. (2020). Resurrection of inactive microbes and resistome present in the natural frozen world: Reality or myth? *Science of The Total Environment*, *735*, 139275. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139275>
- Simon, C., Wiezer, A., Strittmatter, A. W., & Daniel, R. (2009). Phylogenetic Diversity and Metabolic Potential Revealed in a Glacier Ice Metagenome. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*(23), 7519–7526. <https://doi.org/10.1128/AEM.00946-09>
- Willerslev, E., Hansen, A. J., & Poinar, H. N. (2004). Isolation of nucleic acids and cultures from fossil ice and permafrost. *Trends in Ecology & Evolution*, *19*(3), 141–147. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tree.2003.11.010>

- Yarzabal, L. A., Salazar, L. M. B., & Batista-García, R. A. (2021). Climate change, melting cryosphere and frozen pathogens: Should we worry...? *Environmental Sustainability*, 4(3), 489–501. <https://doi.org/10.1007/s42398-021-00184-8>
- Zhong, Z.-P., Solonenko, N. E., Li, Y.-F., Gazitúa, M. C., Roux, S., Davis, M. E., van Etten, J. L., Mosley-Thompson, E., Rich, V. I., Sullivan, M. B., & Thompson, L. G. (2020). Glacier ice archives fifteen-thousand-year-old viruses. *BioRxiv*, 2020.01.03.894675. <https://doi.org/10.1101/2020.01.03.894675>