



Loppuraportti

Jouni Taskinen

EKTR-hanke, hankenro 100900

Microsporidi-loisen aiheuttamien haittojen vähentäminen Pohjois-Savossa

Hankkeen tarkoitus

Kuha on hyvin tärkeä saalislaji kalastajille Pohjois-Savossa. Hankkeen tavoitteena oli selvittää kuhassa ja ahvenessa esiintyvien Microsporidi-loisten taksonomista asemaa (mikä laji?) sekä loisen esiintymisen yleisyyttä eri järvissä ja vertailla esiintymistä pienissä, nuorissa, ja suurikokoisissa, vanhoissa kuhissa.

Menetelmät

Kuhanäytteitä kerättiin paikallisia kalastajia käyttäen, saatavuuden mukaan kuudesta eri järvestä; Koirusvedeltä Pohjois-Savosta, Pieliseltä ja Höytiäiseltä Pohjois-Karjalasta, Haukivedeltä Etelä-Savosta sekä Pohjois-Päijänteeltä ja Leppävedeltä Keski-Suomesta (Taulukko 1). Lisäksi yhden kuhan luonnonravintolammikon poikasia tutkittiin 133 kpl. Ahventilanteesta saatiin tietoa vastaavasti neljästä järvestä; Pieliseltä ja Pyhäselältä Pohjois-Karjalasta, Haukivedeltä sekä Konnevedeltä (K-Suomi/P-Savo) (Taulukko 2). Pielisen ja Pyhäselän esiintymistieto perustuu kalastajien ilmoittamiin havaintoihin. Kuhien lihakset tutkittiin mikroskooppisesti ja loisen itiötihentymät / kystit laskettiin. Ahventen lihakset fileoitiin ja itiötihentymät todettiin ja laskettiin paljain silmin. Löydetyistä microsporidi-itiöistä ja kysteistä säilöttiin näytteet alkoholiin geneettisiä tutkimuksia varten. Näytteistä eristettiin DNA:ta, josta monistettiin loisen ribosomaalista DNA:ta PCR-reaktiolla. Monistustuotteen määrän lisäämiseksi ja laadun parantamiseksi se liitettiin bakteeriplasmidiin. Tuote sekvensoitiin puhdistetusta plasmidista. Näytteistä saatuja sekvenssejä verrattiin keskenään (kuha vs. ahven) sekä geenipankista löytyneisiin tietoihin.

Tulokset

Microsporidi-loisen esiintyminen

Microsporidi-loinen esiintyi kuhalla yllättävän yleisenä, sitä tavattiin viidessä kuudesta tutkimusjärvestä. Korkeimmat loisinnan prevalenssit olivat Koirusvedellä ja Pohjois-Päijänteellä, missä noin joka neljäs kuha oli loisittu. Myös Pielisellä joka viidennellä kuhalla oli microsporidi-loista, mutta Haukivedellä vain 1-2:lla kalalla sadasta. Höytiäisen kuhista loista ei löytynyt. Löydettyjen microsporidi-tihentymien/kystien lukumäärien keskiarvot olivat korkeimmat Koirusvedellä ja Pielisellä, > 30 kpl per loisittu kala (Taulukko 1). Korkeimmat itötihentymä-/kystimäärät tavattiin keskikokoisilla kaloilla, mikä viittaa joko immuniteetin kehittymiseen vanhemmalla iällä taikka loisittujen kalojen korkeampaan kuolevuuteen. Loisittujen ja ei-loisittujen kuhien keskipituudet eivät eronneen tilastollisesti toisistaan missään järvessä. Myöskään yhden tutkitun luonnonravintolammikon kuhan poikasissa loista ei tavattu. Ahvenessa loista esiintyi kaikissa neljässä tutkimusjärvessä loisinnan prevalenssin ollessa noin 10% (Taulukko 2) Vuodenaikojen suhteen ei loisten esiintymisessä havaittu mitään säännönmukaisuutta.

Loisen esiintymismuoto kalan lihaksessa vaihteli. Yleisimmin loinen esiintyi kystimuodossa. Jonkin verran loinen esiintyi kuhassa myös itiõtihentyminä, läiskinä, jotka erottuvat paljain silmin (Kuva 1). Kystimuodossa esiintyessään loisen pystyy havaitsemaan vain mikroskooppisesti. Kystimuodossa loinen esiintyi kuhassa erityisesti Pohjois-Päijänteellä. Ahvenessa loista tavattiin vain itiõtihentyminä.

Taulukko 1. Tutkittujen ja loisittujen kuhien lukumäärät sekä loisinnan prevalenssi (Microsporidi-loisittujen kalojen osuudet, %) ja loisinnan intensiteetti (itiõtihentymien/kystien lukumäärän keskiarvo per loisittu kala).

	Koirusvesi	Pielinen	Höytiäinen	Haukivesi	P-Päijänne	Leppävesi
N tutkittu	30	71	46	68	94	27
N loisittu	7	15	0	1	24	1
Prevalenssi	23.3 %	21.1 %	-	1.5 %	25.5 %	3.7 %
Intensiteetti	32.5	33.0			22.3	

Taulukko 2. Tutkittujen ja loisittujen ahventen lukumäärät ja Microsporidi-Loisittujen kalojen osuudet (%).

	Konnevesi	Pielinen	Pyhäselkä	Haukivesi
N tutkittu	11			190
N loisittu	1			19
Loisittu	9.1 %	esiintyy	esiintyy	10.0 %



Kuva: Jouni Taskinen



Kuva: Heikki Hupli

Kuva 1. Microsporidi-loisen itiõtihentymiä ("läiskä") ahvenen lihaksessa.

Geneettiset tulokset

Kuhasta ja ahvenesta eristetyt, itiötiheydestä otettujen loisnäytteiden sekvenssit olivat identtiset. Myöskään morfologisesti tarkasteltuna kuhasta ja ahvenesta eristetyt itiöt eivät poikenneet toisistaan. Tulosten perusteella kuhassa ja ahvenessa esiintyvä mikrosporidi-loinen edustaa samaa mikrosporidi-lajia. Lisäksi kuhan itiötiheydestä ja kystistä eristetyt näytteet eivät poikenneet toisistaan geneettisen sekvenssinsä suhteen, mikä viittaa siihen, että loisen kaksi eri esiintymismuotoa kuhassa ovat samaa Mikrosporidi-lajia. Tietokantoihin tehdyt kirjallisuushaut eivät viitanneet siihen, että kyseistä loista olisi aikaisemmin tutkittu. Vertailu geenipankista löytyneisiin geenisekvensseihin paljasti 93 %:n geneettisen yhtäläisyyden kuhan ja ahvenen mikrosporidiloisen sekä *Pseudoloma neurophilia* –lajin kanssa (pääjakso Microsporidia). Vaikka *P. neurophilia* –laji oli geneettisesti lähin geenipankista löytynyt laji, ei kuhan ja ahvenen loinen mitään todennäköisimmin ole tämä seeparakalalta aikaisemmin löydetty loislaji, koska yhteensopivuus oli vain 93 % ja koska isäntälaji seeparakala (särkikalat, Cyprinidae) edustaa hyvin erilaista kalaryhmää kuin kuha/ahven (ahvenkalat, Percidae). Todennäköisesti kyseessä on tieteelle aiemmin tuntematon, uusi *Pseudoloma*-sukuun kuuluva mikrosporidilolaji.

Tulosten tarkastelu

Loista esiintyi yllättävän yleisesti sekä ahvenella että kuhalla. Esiintyminen oli yleistä suurissa tutkimusjärjestyksissä. Erikoista oli loisen esiintyminen kahdessa eri muodossa kuhalla, sekä paljain silmin nähtävänä tiheydenä (yleisin muoto) että vain mikroskooppisesti havaittavina kysteinä. Geneettiset tulokset osoittivat kuhan ja ahvenen loisen kuuluvan samaan lajiin, sekä sen, että kuhassa esiintyvä läiskämuoto ja paljain-silmin-näkymätön kystiamuoto ovat samaa lajia. Kyseessä on mitään todennäköisimmin tieteelle uusi, aikaisemmin kuvaamaton (*Pseudoloma*-suvun) loislaji.

Mitä seuraavaksi?

Kuhalla ja ahvenella loisivien, uuden Mikrosporidi-lajin kuvaamiseksi tehdään yhteistyötä tsekkiläisen ekspertin, Prof. Iva Dykovan kanssa. Lajinkuvaus on tärkeää, jotta tietäisimme, esiintyykö loista myös muualla, vai onko kyseessä vain Suomessa esiintyvä loinen. Miksi loinen esiintyy sekä näkyvinä itiöläiskinä että kystimuodossa? Tätä kysymystä joudutaan selvittämään lajinkuvauksen yhteydessä. Kysymys on kalataloudellisesti tärkeä, sillä kystimuotoa ei voi havaita paljain silmin, jolloin se ei muodosta kalataloudellista ongelmaa. Toinen kalataloudellisesti tärkeä, alustava havainto tutkimustemme yhteydessä oli se, että taloudellisesti haitallisen, läiskämuotoisen mikrosporidinfektion havaitseminen paljain silmin saattaa heikentyä kalaa säilytettäessä. Tapahtuuko näin todella, kuinka nopeasti tämä tapahtuu ja mikä on säilytysolosuhteiden vaikutus tähän prosessiin? Näiden kysymysten selvittäminen tulevaisuudessa olisi kalataloudellisesti ensiarvoisen tärkeää.

Tulosten vaikuttavuus

Hanke tuotti paljon uutta tietoa kuhan ja ahvenen lihaksissa esiintyvistä, uudesta mikrosporidiloisesta. Hankkeen tulokset muodostavat hyvän vertailupohjan loisen esiintymisen ja yleistymisen/vähenemisen seurannalle tulevaisuudessa, varsinkin kalataloudellisesti tärkeiden kuhapopulaatioiden kohdalla (esim. Koirusvesi). Hankkeen seurauksena alkanut tieteellinen, kansainvälinen (Suomi/Tseki) sekä kansallinen (Jyväskylän yliopisto/Itä-Suomen yliopisto) yhteistyö muodostaa niinkään erinomaisen pohjan kyseisen loisongelman jatkotutkimuksille. Tekemämme alustava havainto kalan säilytysteknisten tekijöiden vaikutuksesta ongelman ratkaisussa voi osoittautua kalataloudellisesti merkittäväksi tulevaisuudessa.