MAATALOUSHALLITUKSEN KALATALOUDELLINEN TUTKIMUSTOIMISTO

Monistettuja julkaisuja N:o 42

POHJALIETTEEN MIKROBIOLOGIASTA MUIKUN KUTUPAIKOILLA PURUVEDESSÄ

TOIVO NISSINEN

HELSINKI 1971

MAATALOUSHALLITUS KALATALOUDELLINEN TUTKIMUSTOIMISTO

Monistettuja julkaisuja № 42

Pohjalietteen mikrobiologiasta muikun kutupaikoilla Puruvedessä

Toivo Nissinen

(Tämän tutkimuksen mikrobiologinen osa on tehty Helsingin Yliopiston Mikrobiologian laitoksessa opinnäytteenä laudatur-arvosanaa varten.)

Helsinki 1971

Pohjalietteen mikrobiologiasta muikun kutupaikoilla

Puruvedessä.

SISÄLLYS

		sivu
I	Johdanto	1
II	Tutkimusalueesta ja sen limnologiasta	3
III	Muikun kutupaikkojen yleispiirteistä	9
	1. Kehittyvän mädin hapentarve	9
	2. Muikun kutupaikat	10
	3. Veden happipitoisuuden mikrokerrostuneisuus	20
IV	Pohjalietteen mikrobiologiasta	25
	1. Työmenetelmät	25
	a. Tutkimusalue ja näytteenottoajat	25
	b. Pohjanäytteiden ottolaitteista	27
	c. Näytteenotto	31
	d. Alustat ja sterilointi	33
	2. Tulokset	40
	a. Bakteereiden kokonaismäärä pohjalietteessä	40
	b. Pitkä inkubointi	44
	c. Proteolyyttiset bakteerit	46
	d. Sädesienet	47
	e. Thiobacillus-alusta	51
	f. Anaerobit	52
	g. Bakteereiden kokonaismäärä MPN-menetelmällä	53
V	Pohjalietteen ominaisuuksista	58
	1. Yleistä	58

2. Menetelmät ja materiaali 60

a. Lietekerroksen paksuus ja kerroksellisuus 60

b. Lietteen kuiva-aine ja sen koostumus 61

c. Ferrorauta hapetus-pelkistysasteen indikaattorina 64

d. Hapetus-pelkistysasteen elektrometriset mittaukset 70

3. Lietteen pinnan ja hapetus-pelkistysasteen kerrostuneisuuden eroista 76

VI Tulosten tarkastelu 82

VII Tiivistelmä 88

Kirjallisuutta 89

Liitteet 93

I JOHDANTO

Kalataloudellisen tutkimuksen eräs päätehtäviä on uuden ikäluokan syntymiseen vaikuttavien ympäristötekijöiden selvittely. Kutualueilla tapahtuvan alkiokehityksen tutkiminen on tässä mielessä varsin keskeisessä asemassa. Useiden kalalajien jaksottaisuusilmiöön, s.o. hyvien ja huonojen vuosiluokkien rytmilliseen vaihteluun, katsotaan mädin kehityskauden ja poikasten ensimmäisten elinviikkojen ympäristöolosuhteilla olevan varsin tärkeä vaikutus. Yksityiskohtainen tutkimusaineisto on kuitenkin vielä verraten suppea rajoittuen pääasiassa lohikalojen kutujokiin. Selviä, yksiselitteisiä perusteita, joiden avulla voitaisiin ennustaa vuosiluokkien vaihteluita yleispätevästi, ei ole riittävästi käytettävissä.

Nyt esilläolevan tutkimuksen tarkoituksena on pyrkiä selvittämään muikun kutupaikkojen laadullisia ominaisuuksia ja pyrkiä kartoittamaan tätä tietä niitä mahdollisia syitä, jotka ovat vaikuttamassa runsaiden vuosiluokkien syntymiseen.

Pohjalietteen mikrobiologinen hajoitustoiminta määrää aivan ratkaisevasti pohjalietteen ja veden rajakerroksen olosuhteet. Tästä syystä on tässä työssä pyritty saamaan yleiskäsitys harjoitustapahtumista pohjalietteen pintakerroksessa mikrobiologian keinoin ja selvitelty pohjan laatua vertailevasti kutualustalla ja sen ulkopuolella.

Järvien pohja-aineksen kemiallis-fysikaaliset ominaisuudet määräävät mikrobiologisten toimintojen mahdollisuudet siinä. Pohjalietteen pintakerroksen muodostaa normaalisti kaksi komponenttia, autoktoninen, eli järven omasta tuotannosta peräisinoleva, ja alloktoninen, ympäristöstä, vesistöalueelta huuhtoutunut, laskeuma. Mikrobiologisen hajoitustoiminnan myötävaikutuksella näistä aines-

osasista muodostuu kullekin järvelle tai järvityypille ominainen pohjaliete.

Osa pohjaan laskeutuneesta aineksesta hajaantuu täydellisesti vedeksi, mineraalisuoloiksi ja hiilidioksidiksi, t.s. mineralisoituu, verraten nopeasti. Lietemassaan jää jäljelle vaikeasti hajoavia orgaanisia kasvien ja eläinten tukirunkoja, humuskomplekseja ja mikrobiologisesti hajaantumattomia mineraaliaineksia kuten hiekkaa, hiesua, savea jne. Piilevien kuoret ja hyytelömäiset tai rakeiset rautasaostumat ovat usein leimaa-antava osa peruskallioalueen järvien pohjalietteessä. Virtausten ja aallokon vaikutuksesta on osa järvien pohja-alueesta puhtaita kivennäismaalajeja.

Orgaanisen aineen hajoitustoiminta pohjalietteessä kuluttaa happea, jonka riittävä määrä on toisaalta välttämätön pohjan pinnalla olevien mätimunien normaalille kehitykselle. On siis tärkeää tietää pohjalietteen laadulliset mahdollisuudet mikrobitoiminnalle. Tiettävästi ei ole koottu sellaista tutkimusaineistoa, jossa olisi pyritty vertaamaan muikun kutualueiden pohjan laatua kutupaikkojen ulkopuolella oleviin alueisiin. Nyt esilläolevassa tutkimuksessa on mikrobiologisilla havainnoilla pyritty valaisemaan hajoitustoiminnan vilkkautta. Pohjalietteen aineskoostumuksesta tehdyillä havainnoilla on pyritty osoittamaan mikrobiologisen toiminnan mahdollisuudet pohjalietteessä eri vertailualueilla. Kootun havaintoaineiston perusteella on pyritty selvittämään niitä kalatalouden kannalta varsin keskeisiä ongelmia, jotka liittyvät muikun kutupaikan valintaan ja mädin kehityksen onnistumiseen.

II TUTKIMUSALUEESTA JA SEN LIMNOLOGIASTA

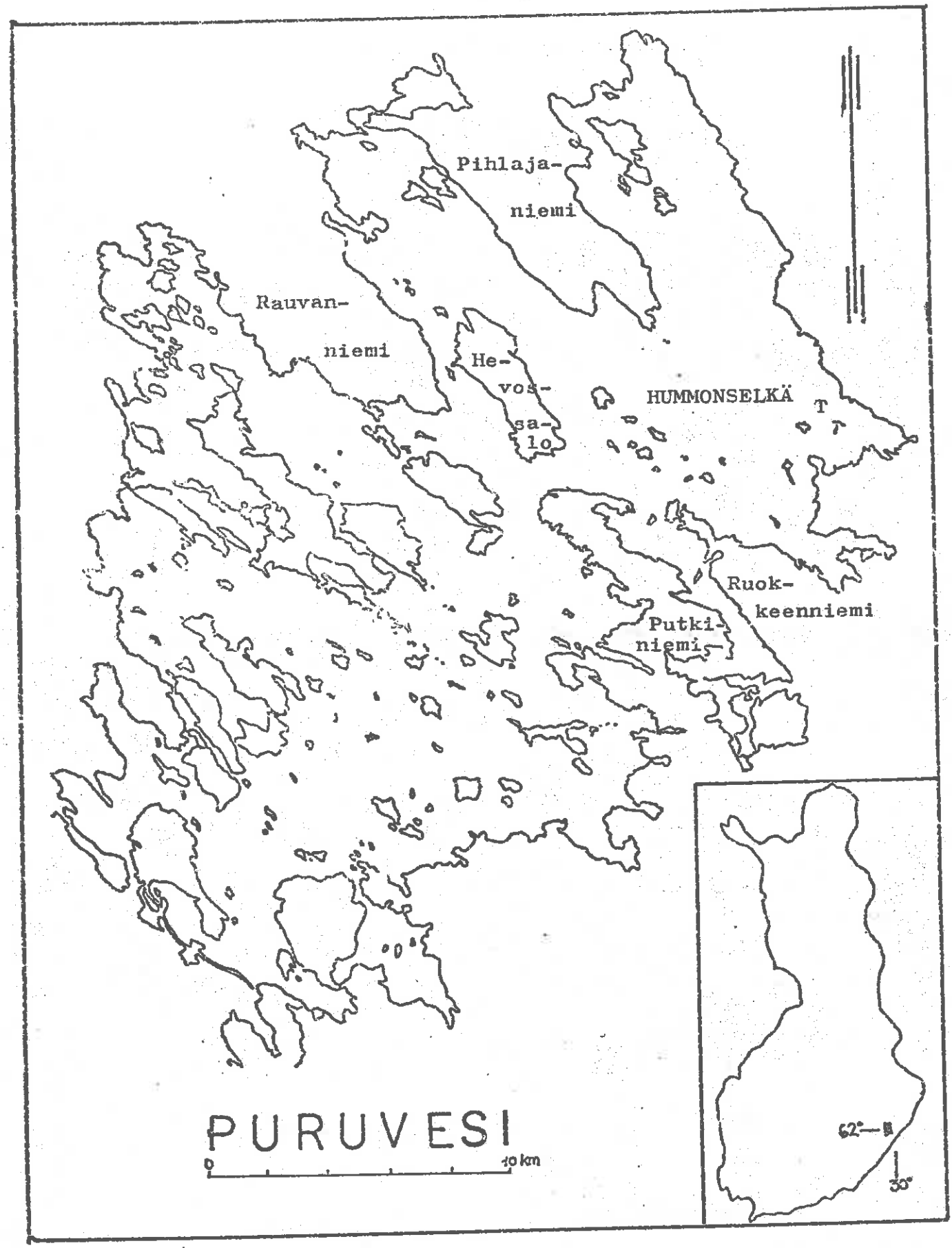
Kalataloudellisessa tutkimustoimistossa on suoritettu muikun kalastusta, kannan vaihtelua ja mädin ja poikasten kehitystä selvitteleviä tutkimuksia Suur-Saimaaseen kuuluvassa Puruvedessä (Kuva 1) vuodesta 1961 alkaen (NISSINEN 1969). Nyt esilläolevan tutkimuksen aineisto on koottu siten, että se mahdollisimman johdonmukaisesti liittyisi muikun kutupaikoista koottuihin aikaisempiin havaintoihin ja täydentäisi niitä nimenomaan kutualustan laatuun liittyvän aineiston osalta. Aikaisempaa havaintomateriaalia on otettu mukaan myös tähän tutkimukseen sen mukaan, kun sen on katsottu oleellisesti liittyvän tämän työn asiayhteyteen.

Limnologisilta pääpiirteiltään Puruvesi on tyypillisen oligotroginen. Veden happipitoisuus on korkea sekä kesällä että talvella myös alusvedessä (Kuva 2, Taulukko 1). Vesi on kirkasta; näkösyvyys noin 12 m, veden väri 5-10 Pt mg/l. Veden sähkönjohtokyky on noin 35 μS, kalsiumpitoisuus 3-4 mg/l ja kokonaiselektrolyyttipitoisuus hehkutusjäännöksenä 20-25 mg/l (VESIENSUOJELUTOIMISTON TIEDONANTOJA 1967 ja 1968, LAAKSONEN 1964).

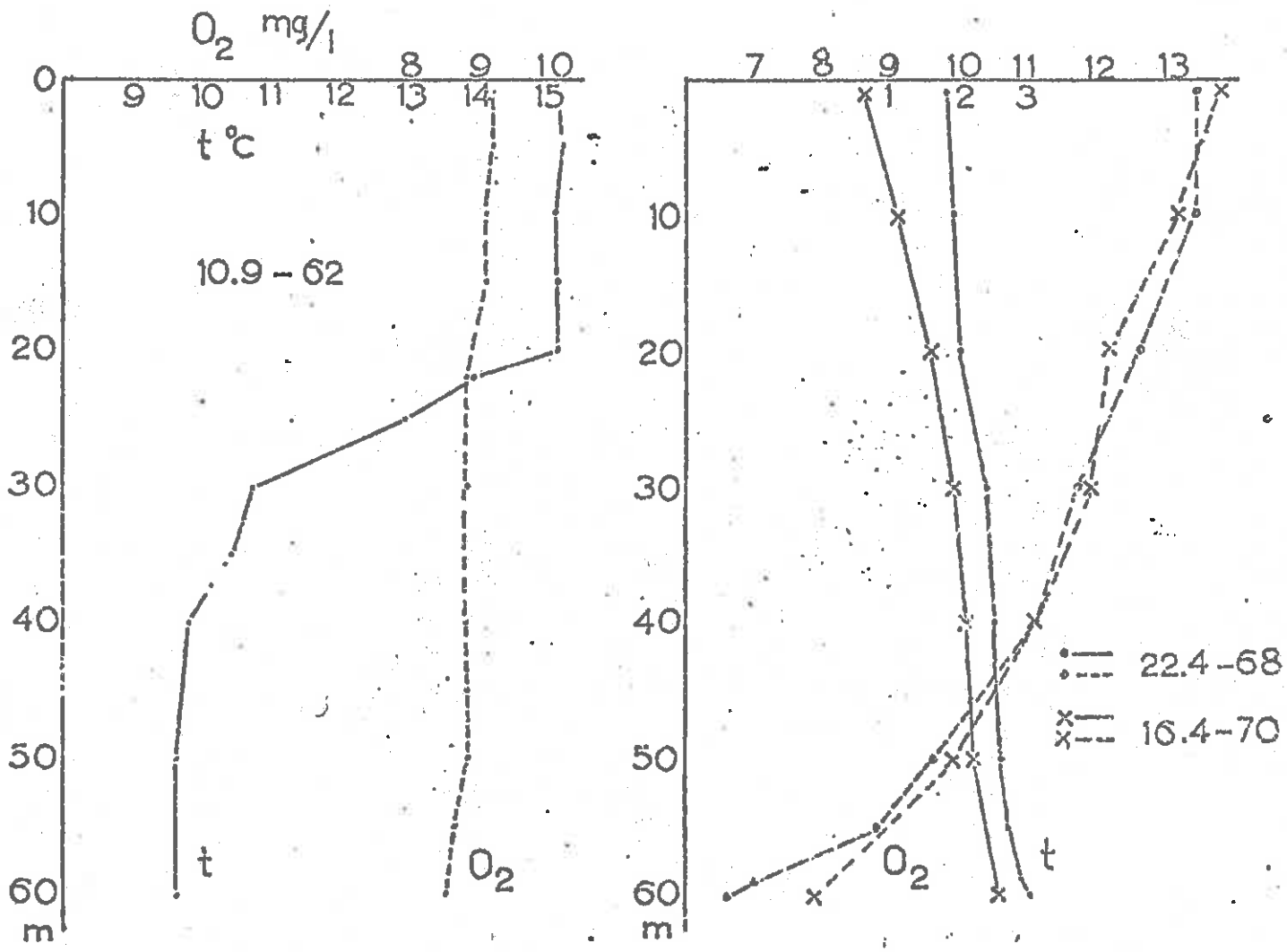
Saimaan vesistöalueen muista osista Puruvesi poikkeaa varsin selvästi vähäisen humuspitoisuutensa vuoksi. Tämä erikoispiirre johtuu siiä, että järven vesistöalue on verraten pieni, 960 km^2 (SIRÈN 1955), josta Puruveden osuus on 407 km^2 (42 %). Järven vesistöalueella on soita varsin vähän. Maataloutta lukuunottamatta likaavaa asutusta tai teollisuutta ei ole järven ympäristössä.

Varsinainen tutkimusalue, Hummonselkä, on noin 140 km^2 laaja verraten yhtenäinen selkä (Kuva 3). Lounaassa ja etelässä se rajoittuu Rauvanniemeen, Hevossalon saareen, Putkiniemeen ja Ruokkeenniemeen. Salmet niemien ja saarien välillä ovat kapeita ja

matalia. Hummonselkä on kauttaaltaan verraten syvää ja eroaa tässä suhteessa selvästi Puruveden länsi- ja lounaisosasta. Yli 10 m syvää aluetta Hummonselällä on 57 % pinta-alasta (JÄRVI 1950, NISSINEN 1969).



Kuva 1. Puruvesi. Mikrobiologinen tutkimusalue = T.

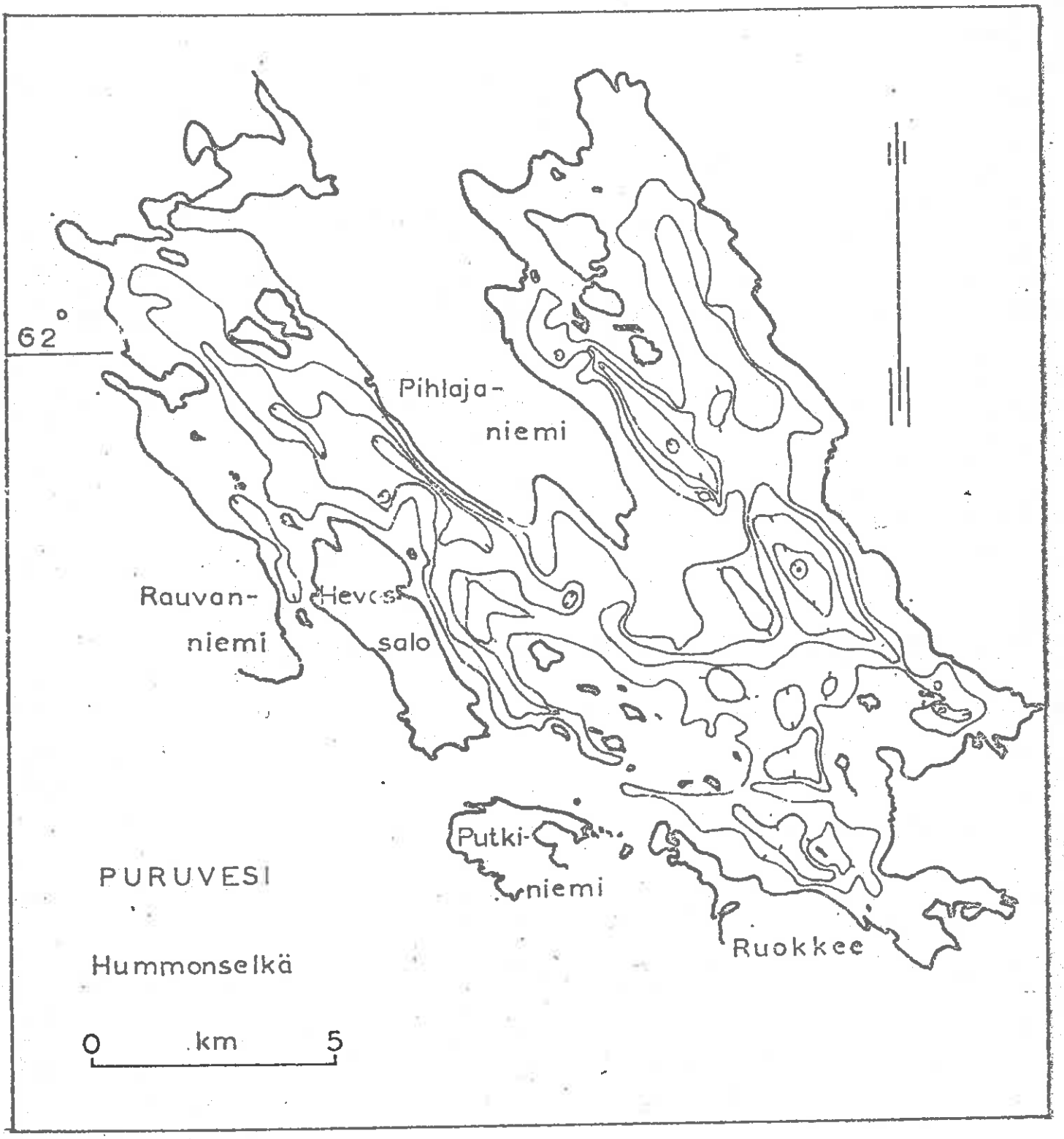


Kuva 2. Puruvesi, Hummonselkä. Lämpötila- (t°C) ja happipitoisuuskerrostuneisuus.

Taulukko 1. Puruvesi, Hummonselkä. Lämpötila- ja happikerrostuneisuus.

Syv m	Lämpöt. t°C	Happi O_2 mg/l	Lämpötila t°C (kevättalvi)				Happipitoisuus mg/l (kevättalvi)			
	10. 9. -62		-68	-69a	-69b	-70	-68	-69a	-69b	-70
1	15,1	9,2	1,8	0,4	1,5	0,6	13,4	12,9	13,1	13,8
5	15,2	9,2		1,3						
10	15,1	9,1	1,9	2,1	1,5	1,1	13,4	13,1	13,1	13,2
15	15,1	9,1								
20	15,1		2,0	2,6	2,0	1,6	12,6	11,6	10,7	12,2
22	13,9	8,8								
25	12,9									
30	10,7	8,8	2,4	2,7	2,2	1,9	11,7	10,5	10,0	11,9
35	10,4									
40	9,8	8,8	2,5	2,9	2,3	2,1	11,1	10,6	9,9	11,1
45		8,8								
50	9,6	8,8	2,6	3,0	2,5	2,2	9,6	9,4	9,2	9,9
55		8,6	2,7				8,8			
58					2,5			7,8	6,0	
59			2,9				7,0			
60	9,6	8,5	3,0			2,6	6,6			7,9

Kevättalven näytteet otettu 22.4. -68, 13.3. -69 (a), 24.4.-69 ja 16.4.-70.



Kuva 3. Hummonselän syvyyskartta. Syvyyskäyrät 10 m välein.
K = Selkärinteen kutupaikka, M = Mäntyrannan kutupaikka
S = Syvänne 30 m.

III MUIKUN KUTUPAIKKOJEN YLEISPIIRTEISTÄ

1. Kehittyvän mädin hapentarve.

Lohensukuisten kalojen mätijyväset kehittyvät pohjasorassa tai pohjalietteen pinnalla koko talvikauden muutamaa poikkeusta lukuunottamatta (esim. kirjolohi ja harjus). Useiden tavallisimmin virtaavassa vedessä kutevien lohilajien kutualustan pohjan laatu tunnetaan varsin hyvin, koska kutupaikat ovat matalassa vedessä. Tietoja veden kemiallis-fysikaalisista ominaisuuksista kutualustassa on myös kohtalaisen runsaasti käytettävissä.

Onnistuneen haudontatuloksen saavuttamiseksi veden happipitoisuuden kutupohjan vedessä täytyy pysyä verraten korkeana. Alaskan joissa Tyynenmeren lohien kutupaikkoja tutkittaessa on todettu, että happipitoisuus normaalisti on 6-8 mg/l kutupaikan sorapohjan vedessä. Kun eräänä kautena pohjasoran veden happipitoisuus aleni 3-4 mg/l, mätimunia kuoli runsaasti heti kudun jälkeen (McNEIL ym 1964). PHILLIPS ja CAMPBELL (1962) ovat myös todenneet, että 8 mg/l alhaisempi happipitoisuus kutupohjassa aiheuttaa huomattavan runsasta mädin tuhoutumista. Happipitoisuusarvojen on todettu olevan yllättävän korkeita laboratoriossa saatuihin koetuloksiin verrattuna (PHILLIPS & CAMPBELL 1962). Luonnollisilla kutupaikoilla alhainen happipitoisuus on yleensä osoituksena vilkastuneesta orgaanisen aineksen hajoituksesta, jolloin veteen joutuu myös pelkistyneitä ja mätimunille myrkyllisiä hajaantumistuotteita kuten ammoniakkia. Lohien kutupaikkatutkimuksissa on havaittu, että pohjasoran vedessä esiintyy todella suhteellisen korkeita ammoniakki- ja hiilidioksiidipitoisuuksia happipitoisuuden alentuessa. Nämä mätimunien kehitystä vahingoittavat hajaan-

tumistulokset saattavat osittain olla peräisin kutupaikoille jääneiden kuolleiden mätimunien hajaantumisjätteistä.

Järvissä kutevista siiasta ja muikusta ei tiettävästi ole olemassa tutkimusaineistoa, jossa luonnollisilla kutupaikoilla olisi selvitetty mädin hapentarpeen minimivaatimuksia. Lohien kutupaikoilla tehtyjä havaintoja voidaan pitää kuitenkin varsin hyvin perusteltuna lähtökohtana. Siian ja muikun osalta kysymyksenasettelu on kuitenkin oleellisesti toisenlainen virrassa kuteviin lohilajeihin verrattuna. Siika ja muikku laskevat mätinsä pohjan pinnalle kun taas tyypilliset lohet rakentavat "pesän", kutukuopan, ja hautaavat mädin muutamien senttimetrien syvyyteen pohjasoraan.

2. Muikun kutupaikat.

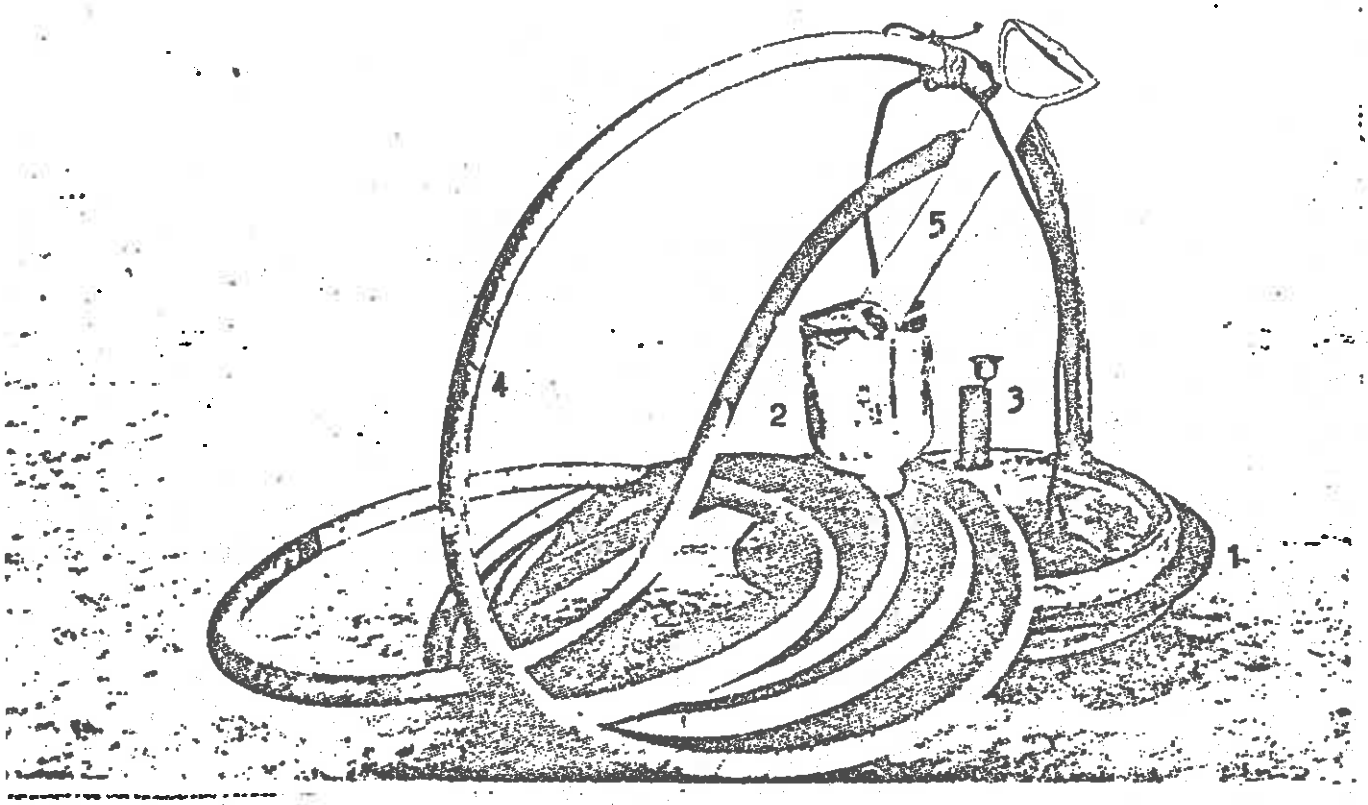
Muikun kutupaikat eri järvissä ovat varsin vaihtelevassa syvyydessä noin 2 m aina 30 m syvyyteen saakka. Harvoissa erikoistapauksissa muikun tiedetään kutevan virtaavassa vedessä. Suomen järvissä muikun tavallisin kutusyvyys kirjallisuustietojen perusteella arvioiden on 3-8 m. Muikun kutupaikat ovat tavallisimmin rinteillä, "vedenalaisten vuonojen päissä" (JÄRVI 1919, HAKKARAINEN 1965).

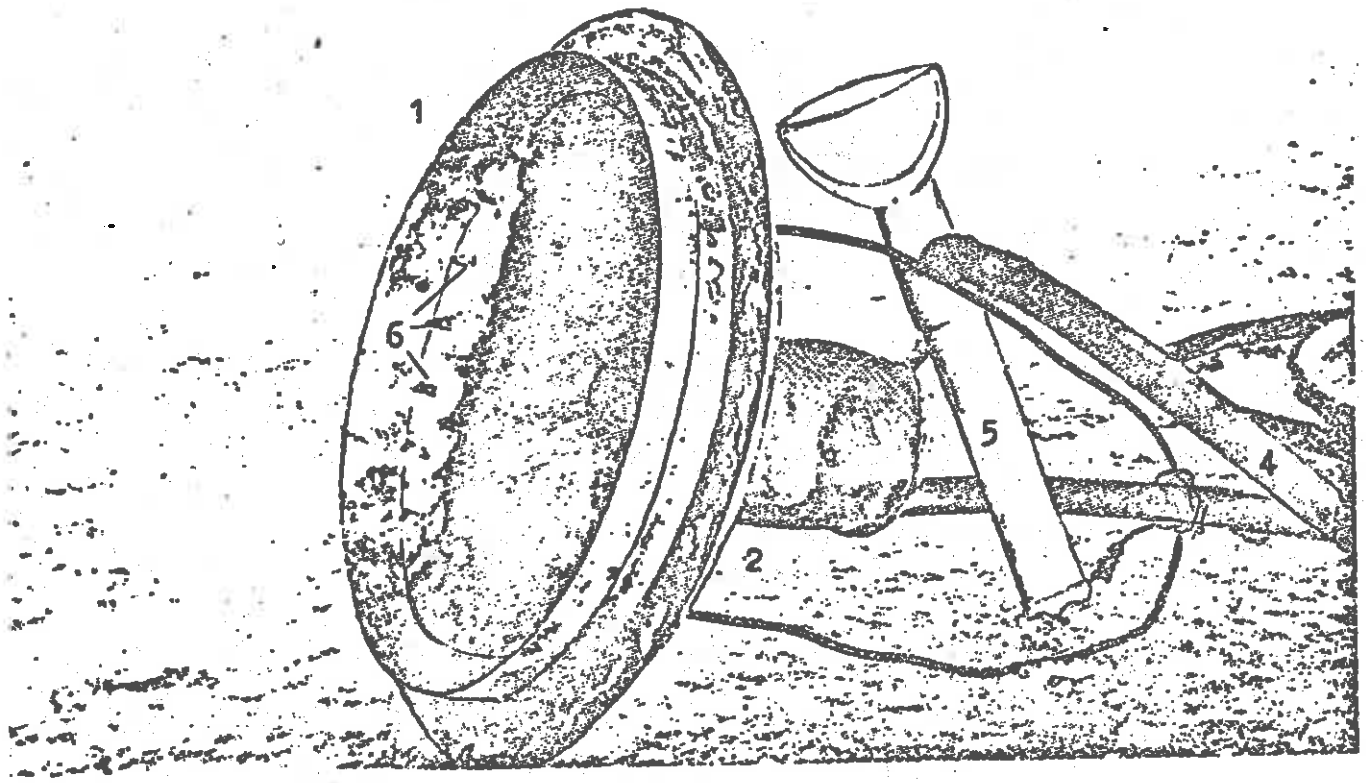
Muikun kutualustan laatua selvitteleviä yksityiskohtaisia tutkimuksia ei tiettävästi ole tehty. Yleisluontoisten mainintojen perusteella voidaan kuitenkin arvioida, että usein kutupaikat lienevät verraten pehmeäpohjaista lietettä. Toisaalta on ilmeistä, että joissakin järvissä muikun kutupaikat ovat varsin puhtaita mineraalipohjia, savea, soraa ja hiekkaa, runsaasti järvimalmia sisältävää ainesta jne.

Yleisluontoinen otaksuma, että muikun kutupaikat ovat enemmän tai vähemmän kovia pohjia, on johdonmukaisesti perusteltavissa. On aihetta olettaa, että pehmeä, orgaanista ainetta sisältävä liete vilkkaasta mikrobitoiminnasta johtuen kuluttaa happea lietteen pinnan läheisestä vesikerroksesta siinä määrin, että mätimunat näyttävät olevan vaarassa tuhoutua. Toisaalta kutupaikat sijaitsevat yleensä rinteillä, missä pohja-aines verraten kapealla vyöhykkeellä muuttuu pehmeästä lietteestä lähes puhtaaksi mineraalipohjaksi. Verkkokalastuksen perusteella kutualueiden määrittely jää epämääräiseksi. Voidaanhan olettaa, että kutuparvet käyvät verkkoon rinteen alapuolella pehmeällä pohjalla, kun ne ovat siirtymässä kutualueelle tai sieltä pois.

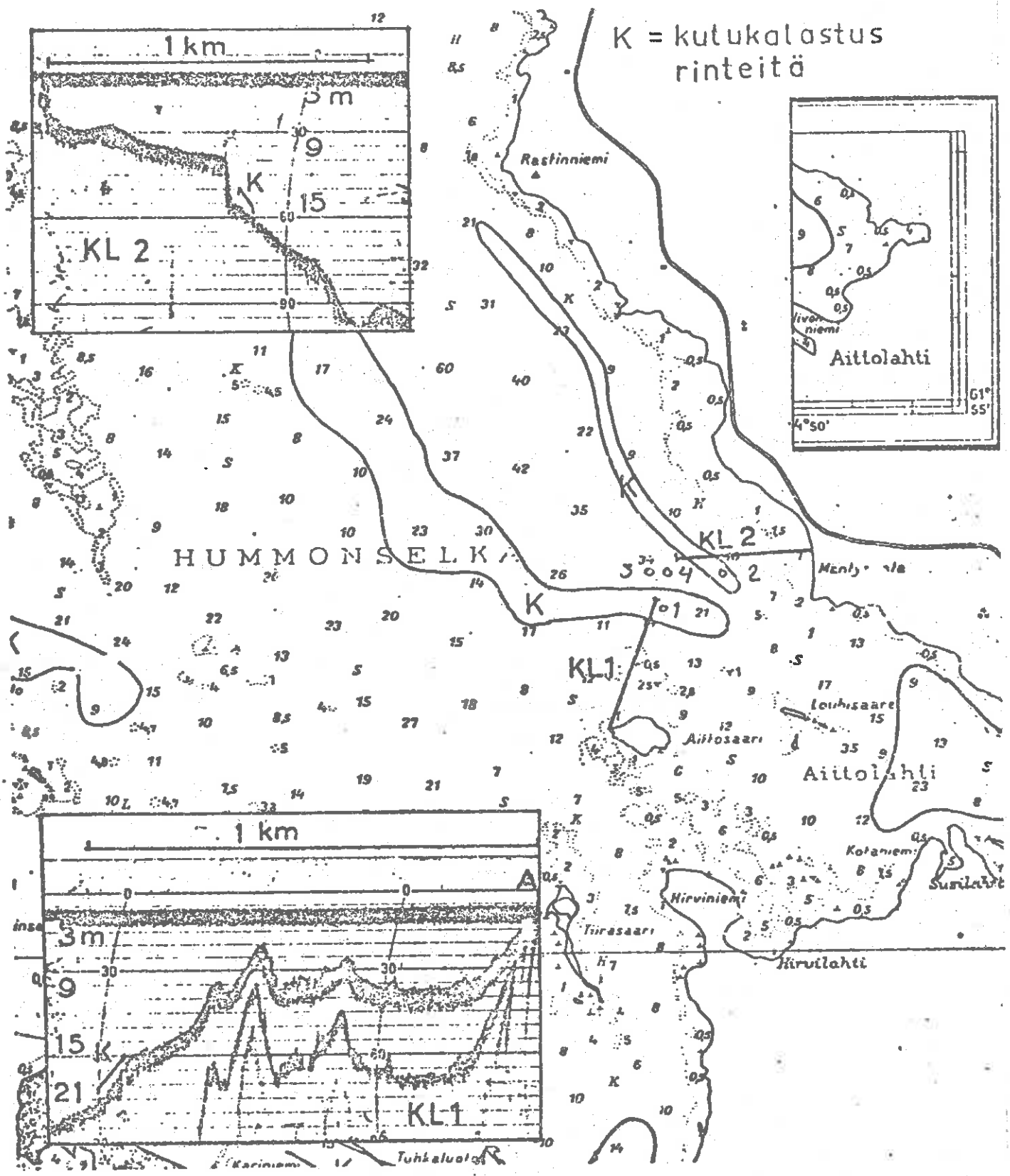
Muikun kutupaikkojen laatua ja sijaintia koskevia tutkimuksia Puruvedellä on kalataloudellisessa tutkimustoimistossa tehty vuodesta 1964 alkaen. Kutualueet on määritelty sekä verkkokalastuksesta saatujen tietojen että näytteenoton perusteella (Kuva 5). Nyt esilläolevan tutkimuksen perusaiheen huomioonottaen lienee asiallista selostaa yksityiskohtia kutualueiden sijainnin määrittämismenettelystä pohjanäyteaineistoon nojautuen, koska mikrobiologisten havaintopaikkojen suunnittelu perustuu juuri tähän aineistoon.

Mätinäytteet kutupaikoilta on otettu Puruveden tutkimusten yhteydessä kehitetyllä n.s. suolavesinoutimella (NISSINEN 1964). Noutimen toiminta perustuu siihen, että kyllästetty ruokasuolaliuos nostaa ominaispainoltaan sitä keveämmät hiukkaset, mm mätijyvät, pohjalietteen pintakerroksesta. Metallinen (Kuva 4) noin 10 cm suorilla reunuksilla varustettu noudinsuppilo lasketaan tutkittavaan pohjaan. Kumiletkun kautta pumpataan käsipumpulla kumollaan





ıva 4. Suolavesipohjanoudin. 1 = noudinsuppilo, 2 = mädin keräyshäkki, 3 = nieluputki sulkuventtiileineen, 4 = suolavesiletku, 5 = käsipumppu, 6 = suolaveden jakeluputket suppilon alla.



Kuva 5. Hummonselän tutkimusalueen syvyyskartta (syvyys metreinä). Tutkimusalueet: 1 = K_{1-5}, 2 = M_{1-5}, 3 = S_{1-5} ja 4 = S_{6-10}. Kaikuluotainkäyräkuvioissa (KL1 ja KL2) kutupaikka on rinnealueella = K. Kaksoiskaiku on osoituksena kovasta pohja-aineksesta, kivikko, hietikko, savi (KL1).

olevan suppilon alle kyllästettyä ruokasuolaliuosta. Suppilon reunoja kiertävä jakeluputkisto levittää liuoksen tasaisesti suppilon leikkaamalle pohja-alalle. Sekä virtauksen että suolaveden nostokyvyn vaikutuksesta mätijyvien ohella myös muuta keveätä pohjaainesta ajautuu suppilon keskiosaan, josta se putkea pitkin pääsee nousemaan metalliverkosta valmistettuun keräilyhäkkiin. Hieno liete huuhtoutuu silmien läpi; mätijyvät ja muu karkeampi aines sekä monet pohjaeläimet jäävät häkkiin. Keräilyhäkin tiheys, silmä noin 1 mm, valittiin siten, että muikun mätijyvät pysyvät siinä hyvin. Näytteenottolaite näyttää toimivan moitteettomasti pohjalla, missä on vähintäin 5-10 cm pehmeää pintalietettä. Tasaiselta verraten kovalta savipohjalta on myös voitu ottaa menestyksellisesti näytteitä. Kovalta ja karkearakeiselta pohjalta tällä noutimella ei saada näytteitä. Useiden näytesarjojen perusteella noutimen toiminta on voitu todeta varsin luotettavaksi Puruveden ja myös Oulujärven kutupaikkatutkimuksissa.

Kalataloudellisessa tutkimustoimistossa tehtyjen, julkaisemattomien havaintojen perusteella on voitu todeta, että Oulujärvessä muikun kutupaikat ovat rinteillä 3-8 m syvyydessä, missä pehmeän lietekerroksen paksuus on 15 cm tai sitä enemmän. Verkkokalastuksesta saatu käsitys kutualueesta vastaa varsin tarkoin pohjanäytteiden perusteella määriteltyä kutupaikkaa.

Taulukossa 2 on esitetty osa Puruveden näyteaineistosta Selkärinteen kutupaikalta, joka, kuten myöhemmin esitetään, on yksi mikrobiologisen tutkimuksen näytealueista. Otettu näyteaineisto on ryhmitelty sen mukaan, kuinka monta mätimunaa yksityinen näyte on sisältänyt.

Taulukko 2. Pohjanäytteitä Selkärinteen kutupaikalta 1967-70.

Mätiä kpl	Näytteiden lukumäärä eri vuosina ryhmiteltynä mädin kappaleluvun mukaan 1967	1968	1969	1970
0	11	37	11	6
1	7	3	16	3
2	3	1	6	3
3			6	
4			3	
5			2	
6				
7			1	
8			3	
9				
10			1	
Näyt.yht.	22	42	50	12
Mätiä yht.	21	5	109	9
Syvyys m	16-20	17-19	17-20	17-18

Sarakkeessa 0 on siis ilmoitettu niiden näytteiden lukumäärä, jotka eivät ole sisältäneet mätimunia. Tällä järjestelyllä on pyritty havainnollistamaan näyteaineiston luotettavuutta ja sen perusteella tehtäviä päätelmiä kutupaikkojen sijainnista. On syytä todeta, että näytteenottokohdat on pyritty sijoittamaan kuturinteen parhaaseen osaan. Näin on voitu menetellä, kun ensimmäisten havaintojen perusteella kävi ilmi, että kutualueella oli suhteellisen kapea rinnevyöhyke, josta näytteistä saadaan varsin säännöllisesti mätiä. Kutualueella pohjan muoto on kuitenkin melko vaihteleva. Jos rinne on hyvin jyrkkä, kutualue näyttää olevan ka-

pea. Loivalla rinteellä kutualue on leveämpi. Näytteenoton yhteydessä tehdyt havainnot viittaavat siihen, että kapealla ja jyrkällä kutualustalla mätitiheys pohjassa on suurempi kuin loivalla rinteellä. Loivilla rinteillä mätimunat näyttävät olevan verraten tasaisesti jakautuneet. Esimerkiksi keväällä 1969 näyteaineiston jakautuma sopii verraten hyvin tilastomatemaattiseen Poisson-jakautumaan; aivan erityisen hyvin silloin, kun aineistosta erotetaan näytteet, joissa on poikkeuksellisen paljon mätimunia, 7-10 kpl/näyte. Tämä ryhmittely on perusteltavissa, koska juuri jyrkiltä rinteiltä melko tarkoin määriteltävissä olevasta rinteen taitekohdasta saadaan usein poikkeuksellisen paljon mätimunia näytteissä. Näytteenotossa ei kuitenkaan vielä ole voitu koota niin laajaa aineistoa, että kuturinteen kaltevuuden ja mätitiheyden suhdetta voitaisiin tutkia luotettavilla perusteilla. Näyteaineisto on koottu noin puolen kilometrin matkalta kuturinteen keskeisimmältä kohdalta, jossa rinteen jyrkkyys vaihtelee.

Kutupaikat on alustavasti määritelty kutuaikana tapahtuvan verkkokalastuksen perusteella. Pohjanäytteet on siis sijoitettu näin määritellylle alueelle. Kutupaikkojen pohjan laatua koskevia yksityiskohtaisia tutkimuksia silmälläpitäen on kuitenkin tarpeellista osoittaa, että kutualueen ulkopuolella ei pohjanäytteissä ole mätimunia. Keväällä 1969 on otettu kutualueen ulkopuolelta näytesarja 29-30 m syvyydestä yhteensä 12 näytettä, joista tavattiin vain 1 mätimuna. Vertaamalla kutualueen ja syvänteen näytteistöä t-testillä, voidaan osoittaa, että ero mätitiheydessä on erittäin merkittävä.

Puruveden muikkukannassa on voitu todeta hyvin selvä kaksivuotinen jaksottaisuus (NISSINEN 1969). Kutevan muikkukannan vaih-

telu on tästä johtuen poikkeuksellisen suuri. Kahden vuoden välein on kudulla runsas kahden kasvukauden ikäinen ($1\frac{1}{2}$ v) vuosiluokka. Tutkimusjakson kuluessa runsaslukuiset vuosiluokat ovat olleet kudulla vuosina 1964, 1966 ja 1968. Joka toinen vuosi, siis vuosien 1965, 1967 ja 1969 syksyinä, kuteva kanta on muodostunut harvalukuisista kolmen ja osittain kahden kasvukauden ikäisistä kaloista. Kutevan kannan runsauden vaihtelu kuvastuu myös erittäin selvästi kutupaikoilla olevissa mätimäärissä. Taulukkoon 3 on koottu osa kutupaikkatutkimusten aineistosta.

Taulukko 3. Mätimunien tiheys kutupaikoilla kevättalvella.

Vuosi	Näytteitä kpl	Keskiarvo mätiä kpl/näyte	Hajonta	Keskivirhe
1965	18	1,78		
1966	25	0,12		
1967	22	0,91	1,7234	0,3675
1968	42	0,12	0,3901	0,0602
1969	75	1,97	2,3465	0,2710
1970	23	0,39	0,2234	0,0466

Aineisto ei ole täysin vertailukelpoinen johtuen lähinnä siitä, että tutkimuksen alussa pyrittiin pienillä näytesarjoilla kartoittamaan kutupaikkojen sijaintia verkkokalastuksesta saatujen tietojen pohjalta. Epäsuotuisista olosuhteista johtuen keväiden 1967 ja 1970 tulokset ovat ilmeisen virheellisiä. Keväällä 1967 näytesarja jouduttiin ottamaan paripäivää jäiden lähdön jälkeen, jolloin osa mätimunista oli kuoriutunut poikasiksi. Keväällä 1970 näytteet on otettu verraten suppealta alueelta.

Näytteenottoteknillisessä mielessä mahdollisimman vertailukelpoisia ovat keväällä 1968 ja 1969 otetut näytesarjat. Keskiarvojen eroja eri vuosina testattiin t-testillä. Mainittujen kahden vertailuvuoden välinen ero on merkitsevä 1 % riskillä. Merkitseväksi todettiin myös ero vuosien 1969 ja 1970. Merkitsevää eroa ei ole kahden hyvän mätivuoden, 1967 ja 1969, mätitiheydessä. Esitettyjen keskimääräisten lukujen voidaan siis katsoa kohtalaisen hyvin kuvaavan eri vuosien välistä vaihtelurytmiä mätitiheydessä kutupaikoilla, mikä rytmi on sama kuin kutevan kannan vaihtelussa todettu jaksottaisuus.

Kutupaikkojen sijainnin määrittely pohjanäytteiden perusteella on verraten luotettavasti suoritettavissa silloin, kun runsaslukuinen kuteva kanta on ollut kudulla. Harvalukuisen muikkukannan kudusta tuleva mätimäärä on niin pieni, että kutualueen määrittelemiseksi otettava näytemäärä tulee kohtuuttoman suureksi.

Huomattava osa kutupaikoille lasketusta mädistä tuhoutuu. Yleisesti on tunnettua, että monet pohjaeläimistöä syövät kalalajit käyttävät myös pohjaan laskettuja mätimunia ravinnokseen. Kudun loppupuolella saadaan muikkuverkoista aivan yleisesti kiiskiä, ahvenia ja nuoria siikoja, joilla on mahassa muutamasta kymmenestä muutamaan sataa muikun mätimunaa. Mädinsyöjien ohella on pohdittu myös muita mahdollisia mädin tuhoutumiseen vaikuttavia syitä. Varsin paljon on kiinnitetty huomiota kutuaikana vallitseviin sääolosuhteisiin (JÄRVI 1942). Lähtökohtana tässä on olettamus, että voimakkaiden myrskyjen liikkeeseenpanema pohjaliete peittää kutualustan ja mätimunat joutuvat liian syvälle lietekerrokseen. Pohjalietteessä tapahtuva hajoitustoiminta kuluttaa hapen liian vähiin mätimunien lähiympäristöstä tai mäti tuhoutuu hajoitustoiminnan

myrkyllisten välitulosten vuoksi. Kutuaikaisten sääsuhteiden vaikutusta kehittyvään mätiin ja sitä tietä muikkukannan vaihteluun ei kuitenkaan ole voitu selvästi osoittaa (JÄRVI 1942).

Sellaisia tutkimuksia, joilla olisi pyritty selvittämään mätimunien kuolemiseen vaikuttavien eri syiden osuutta muikun kutupaikoilla ei tiettävästi ole tehty. Kehityskautena 1968-69 koottiin Puruvedeltä aineistoa, joka jossakin määrin valaisee mädin kokonaiskuolleisuutta tutkittavana olevalla Selkärinteen kutupaikalla. Seuraavassa asetelmassa on tulokset syksyllä 1968 ja kevättalvella 1969 otetusta aineistosta.

	Näytteitä	Keskimääräinen mätimäärä/näyte	Hajonta	Keskivirhe
1968	42 (9)	6,46	4,7149	1,5716
1969	50 (10)	2,18	0,9953	0,3147

Näytteet syksyllä 1968 otettiin suurimmaksi osaksi viiden näytteen sarjoina. Yksityisten otosten tuloksia ei siis ole laskettu. Vertailun helpottamiseksi ryhmiteltiin myös kevättalven 1969 näyteaineisto vastaavasti viiden näytteen ryhmiin. Asetelmassa on ilmoitettu suluissa ryhmien lukumäärät. Ryhmien keskiarvoista laskettiin keskiarvo, hajonta ja keskivirhe. Mätitiheyden ero syksyllä ja keväällä on merkitsevästi erilainen keväällä ja syksyllä. Vaikka aineiston hajonta, varsinkin syksyn 1968 näytteissä, on suuri (yksityisissä näytteissä vaihteluväli syksyllä 1968 0-22 mätimunaa ja ryhmäkeskiarvoissa 1,6 - 16,7 kpl/näyte), voidaan tulosta kuitenkin pitää varsin havainnollisena. Talven kuluessa mädistä näyttää tuhoutuvan noin 2/3. Syksyn näytesarja on otettu noin viikon kuluttua kudusta. Mädinsyöjät ovat siis ehtineet aiheuttaa tuhoa, sillä muikunkudun viimeisinä päivinä mädinsyöjien on todettu olevan

erittäin aktiivisia.

Verraten harvoin pohjasta otetuissa mätinäytteissä on havaittu kuolleita tai havaittavasti viallisia alkioita, joiden perusteella voisi päätellä ympäristöolosuhteiden vaikutuksen osuutta kokonaiskuolleisuuteen. Kevättalven näytteissä vain muutama sadasta mätimunasta on osoittautunut vialliseksi. Syksyllä otetuissa näytteissä noin parissa prosentissa mätimunista on ollut havaittavissa kehityshäiriöitä. Tällöin syynä saattaa olla myös hedelmöittymisessä syntynyt alkion vioittuminen eikä ympäristöolosuhteista aiheutunut alkion kuolema.

Etsittäessä syitä muikkukannan vaihteluun on tärkeää tietää kutupaikoilla tapahtuvaan mädin tuhoutumiseen vaikuttavat tekijät. On aiheellista pyrkiä selvittämään kutualustan laatua ja siinä mahdollisesti tapahtuvia ympäristöolosuhteiden muutoksia mädin kehityskautena. Erityisesti asutuksen ja teollisuuden lisäämissä tai rehevöittömissä järvissä juuri kutupaikkojen pilaantuminen aiheuttanee vakavimmat vauriot muikkukannoissa.

3. Veden happipitoisuuden mikrokerrostuneisuus.

Pohjalietteen pinnalla kehittyvän mädin hengitys, hapenotto, on ymmärrettävästi paljon enemmän riippuvainen pohjalietteen pinnan lähellä olevan vesikerroksen happipitoisuudesta kuin koko vesimassan happipitoisuuden makrokerrostuneisuudesta. Pohjan läheisten vesikerrosten hapen mikrokerrostuneisuuden vertailemiseksi on koottu joukko näytesarjoja kuturinteiltä ja suhteellisen pienistä erillisistä syvänteistä (Kuva 6). Neljä havaintosarjaa on myös 60 m syvänteestä (Kuva 6 ja Taulukko 4), joka on tutkimusalueen laajan

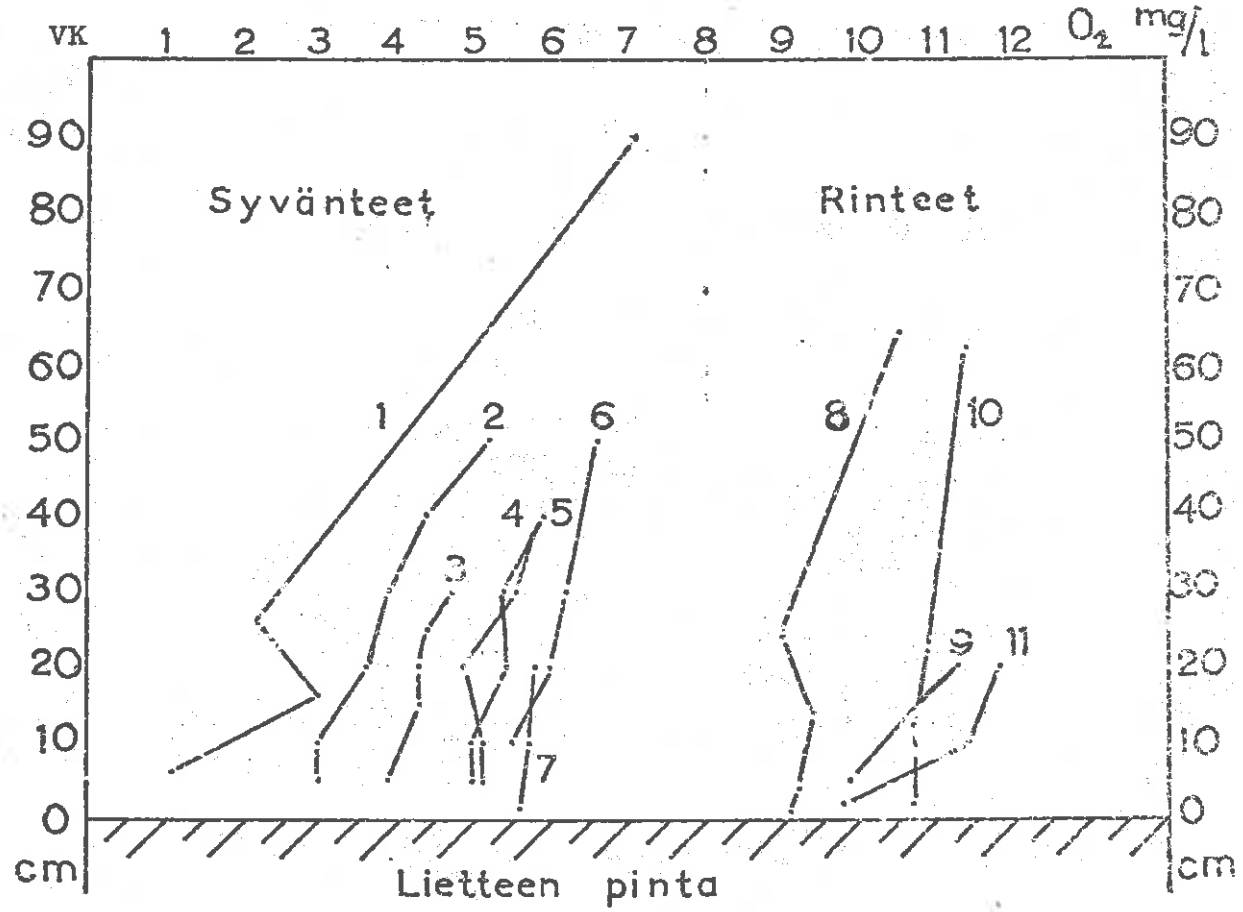
pääsyvänteen syvin kohta.

Taulukko 4. Hapen (O_2) mikrokerrostuneisuus 60 m syvänteessä kevättalvella 1968 ja 1969.

Näytteen etäisyys pohjasta cm	O_2 mg/l 1968 a	1968 b	1969 a	1969 b
50	5,2	6,6		
40	4,4		5,9	5,9
30	3,9	6,2	5,5	5,4
20	3,6	6,0	4,9	5,4
10	3,0	5,5	5,1	5,0
5	3,0		5,1	5,0

Näytteet pohjan läheisistä vesikerroksista on otettu putkinoutimella (malli SORMUNEN), joka lisäpainojen avulla saatiin painumaan lietteeseen noin 10-20 cm syvyyteen. Lyijypainolla laukaisten sekoittumaton lietteen ja veden rajakerros saatiin noutimeen. Happimääritykset tehtiin Winklerin menetelmällä 100 ml:n injektioruiskuissa, joihin näytteet imettiin noutimen seinään tehtyjen reikien kautta. Kukin näyte edustaa noin 5 cm paksuisen vesikerroksen happipitoisuutta.

Näytteenottomenettely ei ole ehdottoman luotettava. Eri kerrosten sekoittumista jossakin määrin on havaittavissa myös esitetyissä tuloksissa. On myös mahdollista, että pohjalietteen pelkistyneet hajaantumistuotteet saattavat jossakin määrin häiritä hapenmääritystä (VESIANALYYSITOIMIKUNNAN MIETINTÖ 1968). Useilla näytesarjoilla on kuitenkin voitu varmistaa selvät erot hapen mikrokerrostuneisuudessa syvänteissä ja rinnealueilla. Syvänteiden pohjan läheisissä vesikerroksissa happipitoisuus on alle 6 mg/l ja alenee



Kuva 6. Happipitoisuuden mikrokerrostuneisuus Hummonselän syvänteissä, 1-7, ja kuturinteillä, 8-11. Näytteenottopaikkojen syvyydet: 1 = 24 m, 2 = 60 m (1968), 3 = 24 m, 4 ja 5 = 60 m (1969) 6 = 60 m (1960), 7 = 18 m. 1, 2 ja 3 otettu kevättalvella 1965 eri syvänteistä. Rinnenäytepaikkojen syvyydet: 8 = 16 m, 9 = 26 m, 10 = 30 m ja 11 = 18 m. VK = vesikerros, s.o. näytekohdan etäisyys pohjalietteen pinnasta cm.

varsin selvästi pohjaa lähestyttäessä. Jos näytteet voitaisiin ottaa ohuemmista vesikerroksista, on todennäköistä, että mikrokerrostuneisuus olisi vieläkin selvemmin havaittavissa 5 cm vesikerroksessa pohjan läheisyydessä. Myös kuturinteillä on havaittavissa happipitoisuuden selvää alenemista pohjan läheisissä vesikerroksissa. Noin 5-10 cm etäisyydellä pohjasta on kuitenkin happea selvästi enemmän (9-11 mg/l) kuin syvänteissä. Rinnenäytteistä on yksi sarja 30 m syvyydestä Selkärinteen alapuolelta, siis kutualueen ulkopuolelta. Happipitoisuus on pohjan lähellä varsin korkea (lähes 11 mg/l). Tämä näytepaikka on syvänteen päässä, josta pohja laskeutuu asteettain noin 3 km matkalla altaan syvimpään kohtaan päin (60 m syvänne). Eristettyjen syvänteiden keskellä hapenvajaus pohjan lähellä on sensijaan säännöllistä.

Hapenvajaus pohjalietteen läheisissä vesikerroksissa aiheutuu mikrobiologisesta hajoitustoiminnasta ja huonosta veden vaihtumisesta. Ei tunnu kuitenkaan luontevalta selitykseltä, että 30 m syvyydessä rinteellä ja 24-18 m syvyydessä syvänteen pohjalla olisi huomattava ero hajoitustoiminnan vilkkaudessa niinkuin mikrokerrostuneisuushavaintojen perusteella voisi päätellä. Syvänteiden pohjan selvän happikerrostuneisuuden syntymiseen saattaa olla syynä rinteiltä pohjan pintaa virtaava vesi. Välittömästi jäätymisen jälkeen pohjalietteen lämpötila on ollut havaintojen mukaan jopa 0,2 - 0,5°C korkeampi kuin sen yläpuolella olevan veden. Lämmön siirtyminen pohjalietteestä veteen aiheuttaa ilmeisesti sen, että ohut vesikerros "liukuu" alas rinnettä. Syvänteen

pohjalle kerääntyy siten rinteiltä valunutta vettä, josta liuennut happi on osittain kulunut. Hapen mikrokerrostuneisuus syvänteiden pohjalla ei siis syntyne yksinomaan suoraan alapuolella olevan pohjalietteen hajoitustapahtumien vaikutuksesta vaan rinteiltä valuva vähähappinen vesi vahvistaa sitä. Tämän ilmiön pohjalta olisi syvänteiden ja rinnealueiden selvät erot hapen mikrokerrostuneisuudessa selitettävissä.

IV POHJALIETTEEN MIKROBIOLOGIASTA

1. Työmenetelmät.

Näytteenottoa kutualueelta ja kemiallis-fysikaalisia määritysmenetelmiä on selostettu jo edellä muikun kutupaikkojen yleispiirteitä käsittelevässä osassa. Myöhemmin pohjalietteen ominaisuuksia käsittelevässä osassa käytettyjä työtapoja ja määritysmenetelmiä on käsitelty rinnan tulosten esittelyn kanssa. Mikrobiologiset työtavat tässä esitetty omana kokonaisuutena.

a. Tutkimusalue ja näytteenottoajat.

Mikrobiologisen tutkimuksen näytteenottopaikat valittiin Hummonselän tutkituilta kutupaikoilta siten, että näytealueista kaksi (K ja M Kuva 3 ja 5) edustavat kuturinteitä. Kahden syvännealuetta kutupaikan ulkopuolella edustavan näytteen aineisto on yhdistetty yhdeksi vertailunäytteeksi (S Kuva 3 ja 5).

Selkärinteen kutupaikalta, K, on näytteet otettu noin 17-17,5 m syvyydestä ja Mäntyrannan kutupaikalta, M, noin 13,5-14,5 m syvyydestä. Tutkimuksen kohteeksi valitut kutupaikat sijaitsevat saman syvänteen vastakkaisilla reunoilla Hummonselän pääsyvänteen eteläpäässä avoimen selän alueella (Kuva 3). Veden virtaukset pääsevät täällä vaikuttamaan pohjasedimentteihin varsin syvälle, koska matalikkoja tai saaria ei ole esteenä. Pohja on kovaa hiekkaa, järvimalmia tai savipohjaa usein 10 - 15 m syvyyteen. Joillakin alueilla hienoliete on huuhtoutunut pois kovan savialustan päältä yli 20 m syvyyteen saakka. Syvänteen näytteet on otettu noin 30 m syvyydestä kutualueiden välistä. Syvänteen pohjatasanne on näytteenottoalueella melko kapea. Kaksi erillistä näytesarjaa

on otettu noin 60 m etäisyydeltä toisistaan.

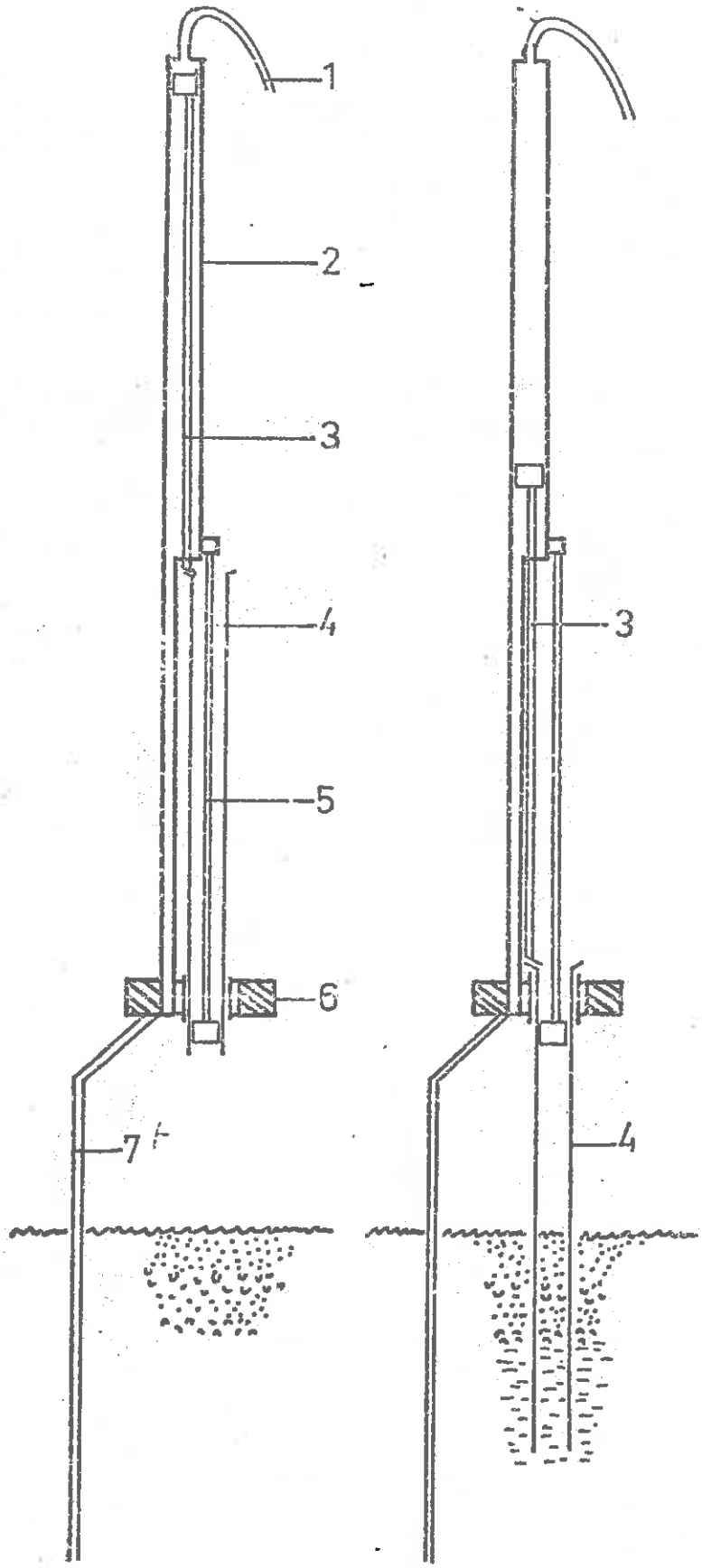
Pohjalietteen mikrobiologisen hajoitustoiminnan tutkimiseksi olisi ollut perusteltua valita syvänteen vertailupisteeksi Hummonselän syvin kohta tai jokin sitä suhteellisen lähellä oleva alue. Tämän tutkimuksen perusaiheen huomioonottaen tehty valinta on kuitenkin paremmin perusteltavissa. Syvänteen näytealueet sijaitsevat välittömästi kutupaikkojen alapuolella, jossa muikku ei tiettävästi kude. Pohjanäytteistä ei syvänteestä ole saatu mätiä kuten edellä on osoitettu (sivu 16). Valitun syvännealueen ja kutupaikkojen hapen mikrokerrostuneisuudessa ei ole havaittavissa asiallista eroa (vrt. sivu 23) kun taas 60 m syvänteessä happipitoisuus pohjan lähellä on alentunut siinä määrin, että sen voidaan olettaa vaikuttavan pohjalietteen mikrobikoostumukseen.

Työmenetelmien ja alustojen kokeilemiseksi otettiin yksi näyte Selkärinteen kutupaikalta marraskuun 20. pnä 1969. Näytesarjat e.m. kolmelta alueelta otettiin 12-18.12.-69, 19-21.2.-70 ja 25-27.4.-70. Ensimmäinen näytesarja on otettu noin puolitoista kuukautta muikun kudun jälkeen ja viimeinen noin kaksi viikkoa ennen poikasten kuoriutumista. Harjoitusluontoinen näytesarja otettiin sulasta vedestä. Tutkimusalue jäätyi joulukuun 10-13 päivinä. Ensimmäinen näytesarja otettiin siis välittömästi jäätymisen jälkeen. Tutkimusalue vapautui jäistä 9-13 päivinä toukokuuta 1970. Viimeistä näytesarjaa otettaessa jään paksuus oli noin 40-50 cm.

b. Pohjanäytteiden ottolaitteista.

Liejunäytteet pohjasta otetaan tavallisimmin Ekman-Birge-pohjanoutimella. Lyijypainoilla ja erityisellä yläventtiilillä varustettua putkea, n.s. pohjaluotia, käytetään myös yleisesti pohjan profiilinäytteiden ottoon (VESIANALYYSITOIMIKUNNAN MIETINTÖ 1968, NIEMISTÖ 1968). Mikrobiologiset näytteet voidaan Ekman-Birge-noutimesta ottaa joko kuorimalla pinnalta haluttu kerros tai leikkaamalla sopivalla näytesylinterillä lieteprofiili (HAYES ja ANTHONY 1959, MANTERE-ALHONEN 1969). Tutkimusten luonteesta riippuen edellämainituilla noudintyypeillä on tiettyjä heikkouksia mikrobiologista työskentelyä ajatellen. Laitteita on varsin vaikea steriloida ja pohjalietteen pinta saattaa näissä jossakin määrin sekoittua näytettä otettaessa. Pohjan pinnan sekoittumisella ei tosin katsota olevan kovin häiritsevää vaikutusta tuloksiin (HAYES ja ANTHONY 1959 s. 301).

Näytteenoton helpottamiseksi ja edellämainittujen haittojen eliminoimiseksi ainakin osittain kehitettiin tätä tutkimusta varten uudentyyppinen mäntänoudin (Kuva 8). Ilmanpaineella toimivan männän varsi painaa näytteenottoputken reunasta sen verraten hitaasti lietteeseen. Näytteenottoputken mäntä, joka pitää putkea yläasennossa, on lukittu yläpäästä hakasella paineilmasylinterin alareunaan. Näytteenottoputki on siis tavallaan mäntäpumppu, jonka kuoriosaa liikutetaan männän pysyessä liikkumattomana. Näytteenottoputken tiivis mäntä estää lieteprofiilin valumisen pois noston aikana aivan samoin kuin pohjaluotien venttiili tai suljettava kansi. Näytteenottoputkina käytettiin sisämitaltaan 19,0-19,3 mm paksuisia ja 350 mm pituisia lasi- tai akryylimuoviputkia.



Pohjalietenoudin

1 Ilmaletku
2 Paineilmasylinteri
3 Mäntä
4 Näyteputki
5 Näyteputken mäntä
6 Paino
7 Tukijalka

1:5

Kuva 8. Pohjalietteen mäntänoudin.

Kehitetyllä mäntänoutimella on eräitä huomionarvoisia etuja tavanomaisiin pohjanäytteenottolaitteisiin verrattuna. Veden ja lietteen rajapinta voidaan ottaa putkeen mahdollisimman sekoittumattomana. Näyteputki painuu lietteeseen suhteellisen hitaasti eikä liike ole riippuvainen noutimen laskunarun liikkeestä. Noudin on pohjassa tukijalan varassa. Näytteenottoputken reunat eivät ilmeisestikään mainittavasti pursuta lietettä sekaisin, koska kiintonainen mäntä aiheuttaa sen että leikattu vesi- ja lietepatsas "imeytyy" näyteputkeen. Lietteen pintakerrosta voivat sekoittaa vähäisessä määrin lietteen pinnalla olevat karkeammat pohja-ainekset, kasvisjätteet tms, ja putken reunojen edestä pursuava liete. Viimeksimainitusta syystä ilmeisesti johtuu, että laite näytteenottohetkellä hieman kohoaa, noin 1-2 cm, näytesylinterin painuessa verraten tiiviiseen pohjalietteeseen. Laitteen painolla ei ole merkitystä näytteenottotehoon kuten pohjaluodeissa. Näyteputki imeytyy varsin hyvin savi- ja hiesupohjaankin. Useissa tapauksissa noudinputki tarttui savipohjaan varsin lujasti ja se täytyi vetää irti pohjasta noin 3-5 kg voimalla, vaikka näytteenottolaite työkunnossa painaa vain 1-2 kg. Noudinta on kokeiltu menestyksellisesti aina 60 m syvyyteen saakka. Käsipumpulla työpaine todettiin mittauksissa noin 8+ksi kg:ksi/cm^2. Näyteputkea painaa siis lietteeseem 20 m syvyydessä 6 kg/cm^2 ylipaine, mikä 19 mm paksuisessa putkessa vastaa 18 kg työntövoimaa männän päässä.

Kovalla ja karkearakeisella, esimerkiksi järvimalmia sisältävällä pohjalla laite kohoaa ja näyteputkeen imeytyy vettä tai kevyttä pintalietettä. Profundaalin tavallisella lietepohjalla noudin toimii erittäin varmasti. Sekoittumattoman pintalietteen ohella saadaan kehitetyllä laitteella noin 20-25 cm pitkä profiili liet-

teestä, josta jo silmämääräisesti on helppo tehdä havaintoja lietteen kerroksellisuudesta (vrt. KUSNEZOW 1959).

Mikrobiologisia pohjanäytteitä otettaessa ei laitteita yleensä tarvitse steriloida, mikä onkin hankalaa suurikokoisia laitteita käytettäessä. Pintanäyte lietteestä, joka ei ole ollut kosketuksissa noutimen seinämiin, on esimerkiksi Ekman-Birge-pohjanoutimesta verraten helposti otettavissa. Vieraiden bakteerien joutuminen pohjanäytteeseen, jonka oma bakteeripopulaatio on yleensä verraten runsas, ei juuri koskaan käytännössä voine aiheuttaa mainittavia virheitä tuloksiin. Näytteenottolaitteiden pesu ja huolellinen huuhtelu on kuitenkin tarpeellista.

Edelläkuvatussa mäntänoutimessa pohjalietteen pintaa tulee näyteputkeen noin 3 cm^2. Näytteenottoputken seinämistä tulevat kontaminantit saattavat siis johtaa virheellisiin tuloksiin. Tästä syystä näyteputkien sterilointi katsottiin aiheelliseksi. Sterilointi suoritettiin höyrysuihkulla kenttälaboratoriossa välittömästi ennen näytteiden ottamista. Näyteputki asetettiin tavallisen kotitalouspainekattikan (Kope) paineensäätöputken päälle. Höyrysuihku purkautuu noin 0,5 ik. ylipaineella, joten höyryn lämpötila oli jonkin verran yli 100°C. Putkea pidettiin höyrysuihkussa muutama minuutti. Höyryn bakteereja tappavan vaikutuksen ohella putki puhdistuu seinämiin tiivistyvän ja alasvaluvan veden vaikutuksesta. Steriloitu näyteputki, jossa oli mukana steriloitu kuminen männän päätekappale, käärittiin alumiinifoolioon ja paperiin kumana. Näytteenoton yhteydessä kierrettiin näytteenottoputken männänvarsi paikoilleen ja putki sijoitettiin huuhtelemalla puhdistettuun laitteeseen.

Näytteenottoputken steriloinnin tehokkuus tarkistettiim huhtikuussa 1970 otetun näytesarjan yhteydessä. Steriloinnin jälkeen yksi näyteputkista täytettiin steriilillä vedellä ja suljettiin

kumisilla mäntätulpilla. Putkea kuljetettiin muiden näyteputkien mukana ja käsiteltiin suunnilleen samalla tavalla kuin varsinaisia näyteputkia. Tulppia ei kuitenkaan avattu. Kahden vuorokauden kuluttua tarkistusputki avattiin. Siitä tehtiin viljelmät kahdelle rinnakkaismaljalle 1 ml:n ja 0,1 ml:n siirroksilla THG-agarille. Maljat kasvatettiin muiden bakteeriviljelmien joukossa. Kahden viikon kuluttua maljoissa ei havaittu yhtään pesäkettä. Samalla kertaa suoritettiin putkien puhtauden tarkistus toisellakin menettelyllä. Steriloituun putkeen pipetoitiin 1 ml steriiliä vettä. Putken seinämiä huuhdeltiin tällä vesimäärällä. Huuhteluvesi kaadettiin petrimaljaan ja tehtiin viljelmä THG-agarille. Näin tarkistettiin kaksi näyteputkea. Toisesta putkesta tehtiin kolme perättäistä huuhtelua. Kolmannesta huuhteluvedestä tehdyssä viljelmässä todettiin kahden viikon inkubointiajan kuluttua yksi pesäke. Muissa viljelmissä ei ollut pesäkkeitä.

Vaikka näytteenottoputki on steriili näytteenottolaitteeseen asetettaessa, se kuitenkin kontaminoituu järvivedestä. Tällä kuitenkaan ei ole asiallista merkitystä, koska veden bakteerimäärä on varsin pieni pohjalietteen bakteerimäärään verrattuna (vrt. esim. SEPPÄNEN 1967). Samasta syystä koko näytteenottolaitteen kovin perusteellinen sterilointi tuntuu turhalta. Näytteenottolaitteen metalliosat puhdistettiin yleensä huuhtelemalla. Lievä sterilointi liekillä on kuitenkin mahdollista.

c. Näytteenotto.

Jokaiselta näytteenottoalueelta otettiin 5 erillistä profiilia noin 5-10 m etäisyydeltä toisistaan. Jos on haluttu erityisesti korostaa, että kysymyksessä on kokoomanäyte on käytetty näytepaikan

tunnuksena alaindeksejä (esim. K_{1-5}, S_{6-10} katso Liitteet). Joulukuun 1969 näytteenoton yhteydessä tutkimusalueet merkittiin kepein, joten kaksi myöhempää näytesarjaa voitiin ottaa muutaman metrin tarkkuudella samoilta paikoilta. Näytteitä ei kuitenkaan koskaan otettu samoista reiistä. Näin pyrittiin välttämään mahdollinen virhe, mikä saattaa aiheutua näytteenottolaitteen hieman sekoittaessa pohjalietteen pintakerrosta.

Mäntänoutimen tukijalka säädettiin pohjalietteen laadun mukaan siten, että näyteputkeen lietepinnan yläpuolelle jäi aina vähintäin 2-3 cm korkea vesipatsas. Näin saatiin sekoittumaton lietteen pintakerros näyteputkeen. Alunpitäen kolmijalalla varustettu noudin muutettiin talvikäyttöön sopivaksi yksijalkaiseksi. Näytteet voitiin ottaa tällä 5 tuuman jääkairan reiästä. Näytteenottolaite tasapainotettiin muovikohoilla niin, että näyteputki oli suunnilleen kohtisuorassa lietepintaan nähden, tukijalan ollessa pohjassa. Lieteprofiili tulee noin 5-7 cm etäisyydeltä tukijalasta.

Otetut näytteet käsiteltiin kenttälaboratoriossa tavallisesti muutaman tunnin kuluessa näytteen ottamisen jälkeen. Näyteputken lietepatsas puserrettiin kumimännällä varovasti alhaalta päin putken pään tasalle, jolloin päällä oleva vesi valui pois reunujen yli. Lietteen pinnalle jäi vettä vain ohut kalvomainen kerros. Muovisesta 2 ml injektioruiskusta leikattiin neulaistukka pois ja tällaisella steriloidulla sylinterillä otettiin näyte lietteen pinnasta painamalla ruiskusylinteri lietteeseen noin 1,5 cm syvyyteen. Liejunäytteestä mitattiin ruiskun asteikolla 1 ml erä steriloituun maljaan. Yhdistelmänäyte koottiin viidestä erästä, yksi kustakin näyteputkesta. Sekoitetusta yhdistelmänäytteestä otettiin 1 ml siirrostus 100 ml:an steriloitua vettä. Kutupaikkanäytteistä tehtiin

kummastakin kaksi erillistä siirrostusta ja laimennussarjaa. Syvänteen kahdesta näytesarjasta tehtiin erilliset yhdistelmät ja niistä erilliset laimennussarjat (S_{1-5} ja S_{6-10} Liitteet). Kokoomanäytteen jäännöksestä määritettiin lietteen kuiva-ainepitoisuus.

Kokoomanäytemenettelyllä pyrittiin mahdollisimman tarkoin eliminoimaan satunnaisia virheitä, joita voi aiheutua pohja-aineksen epähomogeenisuudesta.

d. Alustat ja sterilointi.

Bakteereiden kokonaismäärän laskemiseen käytettiin tryptonihiivauute-glukoosiagaria (THG), joka on havaittu hyväksi vesimikrobiologisiin tutkimuksiin. On voitu osoittaa, että vesibakteerien kasvatukseen on edullista käyttää suhteellisen laimeaa ravintoalustaa (SEPPÄNEN 1967). Pohjalietteessä bakteereiden elinympäristö on kuitenkin ymmärrettävästi rikkaampi ioneista ja hajoituskelpoisesta aineksesta kuin vedessä. Alustaa laimentamalla on mahdollista saavuttaa kaksi etua: ensiksikin alustan osmoottinen paine saadaan lähemmäksi bakteereiden elinympäristön olosuhteita ja toiseksi laimealla alustalla nopeakasvuiset bakteerit eivät kasva liian suuriksi, peittäviksi pesäkkeiksi.

Yleisesti käytetty perusalusta (5 g tryptonia, 2,5 g hiivauutetta, 1 g glukoosia ja 15 g agaria litrassa tislattua vettä) valmistettiin mikrobiologian laitoksen laboratoriossa. Happamuus säädettiin SEPPÄSEN (1967) suosituksen mukaisesti tutkittavan veden happamuutta vastaavaksi, pH 6,5:ksi. Perusalusta jaettiin 10 ml eriin, steriloitiin 1 atm. ylipaineessa, käärittiin muovi- tai alumiinifoliopeitteeseen ja säilytettiin kenttälaboratorion kaapissa noin 15°C lämpötilassa. Samaa valmistuserää käytettiin kaikilla

näytteenottokerroilla. Mitään kontaminoitumiseen viittaavaa kasvustoa tai alustojen kuivumista ei tutkimusaikana havaittu.

Perusalustasta laimennettiin varsinainen viljelyalusta kenttälaboratoriossa. Vesiagaralustaan 1,5 g agaria ja 90 ml tutkittavan järven pintavettä, lisättiin sulatettu 10 ml erä perusagaria. Alustat steriloitiin 100 ml erinä kotitalouspainekattilassa, joka oli varustettu painemittarilla. Sterilointia tarkistettiin useita kertoja myös indikaattoripaperiliuskoilla ("Steam Clock"). Käsittely suoritettiin ohjeiden mukaisesti 0,5 - 1 ik:n ylipaineessa 15-25 min alustasta riippuen. Aika laskettiin kattilan paineen kohottua niin, että paineensäätöventtiilistä alkoi tulla höyryä. Lämmitystä pienennettiin tässä vaiheessa niin, että höyryä virtasi mahdollisimman vähän paineensäätimestä. Liian voimakkaalla kuumennuksella paine käytetyssä kattilamallissa nousi noin 1,2 - 1,5 ik:än.

Proteolyyttisten bakteereiden määrän arvioimiseksi lisättiin THG-alustaan laimennuksen yhteydessä 0,04 % liivatetta. Tästä alustasta on käytetty merkintää LTHG. Alustavissa kasvatuskokeissa todettiin, että yleisesti käytetyllä liivateagarilla (0,4 % liivatetta) pesäkkeiden lukumäärä oli vain noin kymmenesosa THG-alustalla saadusta määrästä. Tästä syystä liivateagar muutettiin mainittuun kokoonpanoon, koska elohopeareagensillä liivate voitiin vielä kuta kuinkin selvästi osoittaa.

Alustavassa havaintosarjassa, marraskuussa 1969, pyrittiin kokonaisbakteerimäärän ohella valaisemaan pohjalietteen muitakin mahdollisia hajoitustapahtumia käyttämällä tiettyjä erikoisalustoja. Hiivojen esiintymistä tutkittiin happamella agaralustalla (glukoosia 2 %, peptonia 1 %, hiivauutetta 0,5 %, steriloinnin jälkeen pH säädettiin rikkihapolla 4,5:ksi). Tällä alustalla kasvoi

vain homepesäkkeitä. Vaikka pohjalietteessä tiedetään esiintyvän hiivoja joskus runsaastikin (VUORI 1969), niiden tutkiminen erikoisalustoin ei tuntunut tarpeelliselta tämän esikokeen jälkeen. Hiivojen esiintyminen näyttää ainakin osittain liittyvän järven kasviplanktonkukoistukseen, jolloin pohjaan tulee runsaammin hiivoille soveliaita hiilihydraatteja. Yksityiskohtia on kuitenkin vielä verraten niukasti tutkittu (VUORI 1969).

Thiobacillus-erikoisalustaa käyttäen pyrittiin selvittämään pistokokeen luontoisesti rikin kiertoa pohjalietteessä. Tämä alusta valmistettiin DIFCOn valmiista preparaatista järviveteen. Rikin kierron sulfaatin pelkistysvaihe tulee tässä työssä esille myös anaerobien erikoisalustalla, johon rikkivedyn muodostajien toteamiseksi lisättiin rautasuolaa ja natriumsulfiittia.

Anaerobien viljelyyn käytetään yleisesti tioglykolaattialustaa, jossa natriumtioglykolaatilla alustan hapetus-pelkistys-aste alennetaan niin, että aerobisten bakteereiden kasvu estyy. Tämä alusta valmistettiin OXOID-tehtaan valmiista preparaatista lisäämällä tarpeellinen määrä agaria. Valmiiksi punnittu erä tioglykolaattialustapreparaattia ja agaria liuotettiin järviveteen kenttälaboratoriossa ja steriloitiin tehtaan ohjeiden mukaan välittömästi ennen viljelmien valmistamista.

Anaerobien viljelyssä ja eristämisessä on käytettävä erikoistekniikkaa. Ilman hapen pääseminen alustaan estetään joko kasvattamalla viljelmiä hapettomassa kaasuseoksessa tiiviissä astiassa tai käyttämällä n.s. kääntömaljaviljelyä, anaerobien viljelyyn tarkoitettuja erikoismaljoja ja koeputkia tai molemmista päistä avoimia putkia, jotka suljetaan siirrostuksen jälkeen ilmatiiviisti kumitulpilla (TANNER 1950, DREWS 1968). Kenttätyöskentelyn helpot-

tamiseksi tässä työssä kokeiltiin muovisten, kertakäyttöisten injektioruiskujen käyttöä, joka suunnilleen vastaa molemmista päistään avointa lasiputkea yllämainituista menetelmistä. Steriloitu ja noin 50°C jäähdytetty tioglykolaattialusta imettiin paksua neulaa käyttäen injektioruiskuun (20 ml). 2 ml:n injektioruiskuilla annosteltiin alustaan steriilejä ferrisitraatti- ja Na-sulfiittiliuoksia 0,1 ml (MOSSELL ym. 1950). Siirrostus suoritettiin niin ikään 2 ml:n injektioruiskuilla. Alusta sekoitettiin varovasti siirrostuksen jälkeen ilmakuplien ja vaahdon muodostumista välttäen. Viljelyputken neulaistukkaan painettiin kertakäyttöinen ohut neula. Ilma poistettiin putkesta mäntää painaen ja neula täytettiin agarilla. Siirrostuksen jälkeen alustan sisältämät Eh-indikaattorit (resazurin ja "Ionar № 2") osoittivat, että alustaan oli liuennut jonkin verran happea. Muutaman kymmenen minuutin kuluessa alustan punertava väri hävisi ja alusta pysyi yleensä värittömänä, s.o. anaerobisena, koko inkubointiajan. Anaerobialustat säilytettiin muiden viljelmien joukossa. Pesäkkeiden lopullinen laskenta suoritettiin 14-16 vrk kuluttua.

Pohjalietteen sädesienistä on JOKINEN (1970) tehnyt erikoistutkimuksen. Hän ystävällisesti luovutti käytettäväksi valmiita sädesienten eristämiseen soveliaita erikoisalustoja. Varsinaiseen eritämiseen JOKINEN on käyttänyt DIFCOn suosittelemaa alustaa (glyserolia 5 g, Na-kaseinaattia 2 g, asparagiinia 0,1 g, K_2HPO_4 0ö5 g, $MgSO_4$ 0,1 g, $FeSO_4$ 0,001 g, agaria 15 g, 1000 ml tisl.vettä, pH 6,5). (DIFCOn Actinomycete Isolation-alustassa on edellisten lisäksi natriumpropionaattia). Tämän alustan ohella JOKINEN on tutkinut eristämiensä sädesienikantojen kitiininliuotuskykyä alustalla, jossa ainoan hiilenlähteenä on rikkihapolla

hydrolysoitu kitiini. Kitiinin on todettu olevan selektiivinen sädesienialusta (BAXBY ja GRAY 1968). Sen käyttäminen pohjalietteen sädesienten eristämiseen lietteen huomattavan suuren kitiinipitoisuuden vuoksi (LUNDQVIST 1927) tuntui erittäin perustellulta. Kitiinialustana käytettiin suurimmaksi osaksi JOKISEN luovuttamia valmiita alustoja (kitiiniä 15 g, agaria 15 g, 1000 ml tisl.vettä, pH 7). joihin haihtuneen veden tilalle lisättiin noin 10-20 % järvivettä ennen sulatusta ja steriilointia. Huhtikuun 1970 näytesarjaa varten valmistettiin uusi kitiinialusta, jossa kitiini jäi melko epätasaiseksi hyytelöksi. Sädesienipesäkkeet voitiin kuitenkin laskea jotakuinkin yhtä helposti kuin aikaisemmin käytetyltä alustalta, jota oli osittain mukana rinnakkaismaljoilla.

Sädesienten viljelymaljoihin valettiin pohjakerros, noin 10 ml, ja sen päälle siirrostettu alusta. Kitiinialustoissa oli pohjakerroksena vesiagar ja toisella sädesienialustalla pohjakerros oli samaa alustaa kuin siirrostettu kerroskin.

Kitiinialustaa sädesienten arvioimiseen käytettiin jokaisen näytteenoton yhteydessä; DIFCOn alustaa ei käytetty viimeistä näytesarjaa (huhtikuu 1970) tutkittaessa.

Typellisten aineiden hajoituksen intensiteettiä tutkittiin MPN-menetelmällä lihaliemi- ja nitraattiliemiviljelmissä. Viljelysalustana käytettiin ORIONin valmiita preparaatteja tai ORIONin reseptien mukaan valmistettuja alustoja (lihaliemi: 3 g lihaekstraktia, 5 g peptonia, 1000 ml vettä, pH 7, nitraattielatusaine: 5 g peptonia, 0,2 g kaliumnitraattia, 1000 ml vettä, pH 7,4). Valmiina saatavien alustojen käyttöä pidettiin tarkoituksenmukaisena siksi, että rutiiniluontoisissa tutkimuksissa voitaisiin näin säästää huomattavasti laboratoriotyötä. Tämän työn yhteydessä mainitulla periaatteella ei kuitenkaan ollut asiallista merkitystä.

Liemiviljelmien jakelu 3 ml eriin, pääosa alustoista ja kaikki viljelmät valmistettiin kenttälaboratoriossa, jona toimi maataloushallituksen kalataloudellisen tutkimustoimiston käytössä oleva laboratorioauto. Lopullinen sterilointi suoritettiin välittömästi ennen näytteiden ottoa aamupäivällä liemialustoja lukuunottamatta, jotka steriloitiin yhtenä eränä yhden näytekerran tarpeita varten. Kiinteät alustat sijoitettiin steriloinnin jälkeen yleensä 100 ml erinä 45-50 asteiseen automaattisäätöiseen vesihauteeseen. Tämän esivalmistelun jälkeen haettiin tutkittava näytesarja. Näytteenoton ja käsittelyn välinen aika voitiin näin menetellen saada mahdollisimman lyhyeksi (tavallisimmin noin 4 t enintäin 10 t) ja voitiin välttyä lämpötilan muutoksen aiheuttamilta ja muilta kuljetuksesta johtuvilta mahdollisilta muutoksilta pintalietteen bakteeripopulaatiossa.

Laimennussarjoihin käytetty järvivesi steriloitiin lasikorkilla varustetuissa pulloissa mitattuina erinä. Laimennusvesi saattaa aiheuttaa häiriöitä, jos viljelmien valmistaminen kestää pitkähkön ajan. Jäännöserä klooria tislatussa vedessä tai sen alhainen ioniväkevyys voi vaikuttaa bakteereja tappavasti. Järvivettä käytettäessä voidaan välttyä näiltä haitoilta.

Lasitavara steriloitiin aluksi kuumailmakaapissa mutta sen rikkouduttua turvauduttiin tavalliseen sähköuuniin. Lämpötila säädettiin siinä noin 160°C lämpötilaan. Lasitavaraa pidettiin tässä lämpötilassa 1-3 tuntia. Merkkejä steriloinnin epäonnistumisesta ei havaittu.

Viljelmiä inkuboitiin kenttälaboratoriossa noin viikon ajan, jonka jälkeen ne kuljetettiin eristemuovilaatikoissa mikrobiologian laitoksen tai kalataloudellisen tutkimustoimiston laborato-

rioon. Lämpötila vaihteli inkuboinnin aikana 15°-23° välillä. Maljaviljelmien pesäkkeiden laskenta ja liemiviljelmien kasvu ja reaktiot tutkittiin 13-15 vuorokauden kuluttua. Näitä tuloksia on käytetty kokonaisbakteerimäärän arvioinnin perusteena. Osa alustoista säilytettiin kostutetussa ja tuuletetussa säilytyslaatikossa 3-4 viikkoa. Sädesienten tuloksiin on otettu mukaan myös pitkän inkuboinnin jälkeen lasketut pesäkemäärät. Kahden viikon kuluessa eivät sädesienet ehtineet muodostaa niille luonteenomaista pesäketyyppiä. Kitiinialustalla kitiinin liuotusta ilmaiseva kirkas kehä pesäkkeen ympärillä ei ollut aina kyllin selvästi todettavissa kahden viikon inkuboinnin jälkeen.

Jos maljoja inkuboidaan yli kaksi viikkoa normaalissa huoneilmassa, alustat kuivuvat liikaa. SEPPÄNEN (1967) toteaa, että olisi pyrittävä estämään kuivuminen maljoja pitkään inkuboitaessa. Muovipussiin sulkemalla voidaan kuivumista hidastaa mutta tällöin on olemassa mahdollisuus, että kasvuympäristö muodostuu verraten nopeasti anaerobiseksi. Säilytyslaatikoiden, joissa ei ollut erityisiä tuuletusaukkoja, voimakas haju viittasi myös tähän mahdollisuuteen. Tästä syystä inkubointisäiliöihin järjestettiin tuuletus sähkökäyttöisellä akvaariopumpulla. Ilmavirta johdettiin hohkakivihajottajan läpi vesipulloon, joka sijoitettiin kasvatuslaatikkoon. Vesipullon kautta johdetussa ilmassa oli lähes 100 %:nen suhteellinen kosteus, joka määritettiin muovipussissa kostealla ja kuivalla lämpömittarilla. Inkubointisäiliön suhteellinen kosteus määritettiin mikrobiologian laitoksen hiushygrometrillä. Kostutetulla ilmalla tuuletetussa säiliössä suhteellinen kosteus nousi selvästi, noin 30-35 %:sta 75-85 %:in. Muutamissa tapauksissa ilmastusta jatkettiin lähes kaksi kuukautta. Alustojen

täydellistä kuivumista ei maljoissa havaittu: muutamassa maljassa oli alusta haljennut kuivumisen johdosta. Useihin maljoihin kerääntyi kostutetussa ilmaympäristössä kondensivettä, jota tavallisesti muodostuu vain inkuboinnin alkuaikoina. Huoneilmassa säilytetyt maljat olivat lähes kaikki kuivia 4-6 viikon kuluttua.

Ellei kostutetulla ilmalla inkuboidussa maljoissa ollut peittäviä homepesäkkeitä, olivat ne täysin laskentakelpoisia vielä yli kuukauden vanhoina.

2. Tulokset.

a. Bakteerien kokonaismäärä pohjalietteessä.

Bakteerien kokonaismäärää näytteistä voidaan arvioida paitsi nyt käytetyillä viljelymenetelmillä, maljahajoitusmenetelmällä ja liemiviljelmillä MPN-menetelmää soveltaen, myös mikroskooppisesti laskien. Muutamia näytteitä tutkittiin mikroskooppisen laskennan mahdollisuuksien kokeilemiseksi. Näytelaimennoksesta 1:100 suodatettiin 2-5 ml membraanifilterille (halkaisija 25 mm). Bakteereiden laskeminen tällaisesta preparaatista osoittautui kuitenkin hyvin vaikeaksi, koska pohjaliete jäi varsin rakeiseksi ja preparaatti liian paksuksi. Tämän työn yhteydessä erilaisten mikrobiologisten toimintojen vilkkauden arvostelu katsottiin tärkeämmäksi päämääräksi kuin mikrobien hiukkasluku lietteessä. Tästä ja e.m. teknisistä vaikeuksista johtuen ei bakteeristoa ole määritetty suoralla laskumenettelyllä.

Maljahajoitusviljelmät näyttävät antavan vesinäytteistä vain 1/10 - 1/100 osan (SEPPÄNEN 1967, HAYES ja ANTHONY 1959) bakteeristosta suoraan mikroskooppiseen laskuun verrattuna mutta menetel-

mien paremmuutta ei kuitenkaan voitane arvostella vain tätä kriteeriä silmälläpitäen. Mikroskooppisessa kokonaisbakteerimäärän laskemisessa ei voida erottaa toisistaan eläviä ja kuolleita mikrobeja eikä siinä myöskään voida määrittää mikrobiston erikoisryhmiä, jotka suorittavat jotakin spesifistä hajoitustoimintaa eivätkä kasva tavanomaisilla alustoilla. Tuntuu siltä, että mikroskooppista laskentaa on tarkoituksenmukaista soveltaa viljelymenetelmien rinnalla silloin, kun on tarpeellista määrittää myös mikroobiston koko biomassa tutkittavassa ympäristössä siinä tapahtuvien mikrobiologisten hajoitustapahtumien ohella.

Kokonaisbakteerimäärän arvioimiseen on tässä aineistossa tulokset kahdelta eri alustalta. THG-agarin perusteella laskien pohjalietteen kokonaisbakteerimäärä vaihtelee rajoissa 1,1 - 0,1 milj.kpl tuoretta lietegrammaa (= 1 ml) kohden (Taulukko 5).

Taulukko 5. Bakteereiden lukumäärä tuhansina g:aa kohti tuoretta lietettä THG-alustalta.

Aika	Näytepaikat		
	K	M	S
jouluk. 1969	510	665	388
helmik. 1970	675	102	540
huhtik. 1970	1100	1000	283

Liivatealustalta laskien pohjalietteen kokonaisbakteerimäärä on äärirajoissa 0,05 - 0,5 milj. kpl/g tuoretta lietettä (Taulukko 6).

Taulukko 6. Bakteereiden lukumäärä tuhansina g:aa kohti tuoretta lietettä LTHG-alustalta.

Aika	Näytepaikat		
	K	M	S
jouluk. 1969	445	93	250
helmik. 1970	545	52	233
huhtik. 1970	278	298	198

Bakteereiden kokonaismäärän arvioimiseen käytetyt kaksi alustaa, THG- ja LTHG-agarit, siinä määrin samanlaiset, että niiden antamat tulokset voidaan hyvin perustein yhdistää. Näin voidaan saada kohtalaisen laaja perusaineisto tilastomatemaattiseen tarkasteluun. Kokonaisbakteerimääristä saatua aineistoa käsiteltiin kolmen muuttujan, ajankohdan, näytteenottoalueen ja alustan, suhteen. Koetuloksien bakteerimääristä otettiin logritmit ja eri muuttujien vaikutusta tutkittiin varianssianalyysillä. Todettiin, että eri ajankohtina saatujen bakteerimäärien erot eivät ole merkitseviä. Pohjalietteen bakteeristo on siis pysynyt koko tutkimuskauden ajan muuttumattomana. Merkittäviä alueellisia eroja ei myöskään voitu todeta; t.s. kutupaikkojen ja syvänteen välillä ei ole havaittavaa eroa pohjan bakteeristossa. Sensijaan kahden kutualueen (K = Selkärinne ja M = Mäntyranta) oli todettavissa merkitsevä ero 5 % riskillä. Tähän on ilmeisenä syynä pohjalietteen laadulliset eroavuudet mainituilla alueilla kuten lieteanalyysien käsittelyn yhteydessä myöhemmin osoitetaan.

Käytettyjen alustojen välillä todettiin myös merkitsevä ero saaduissa bakteerimäärissä. Liivatealustalta saatiin säännöllisesti pienempiä kokonaisbakteerimääriä. Liivate näyttää siis vai-

kuttavan joidenkin bakteereiden kasvua ehkäisevästi, vaikka alustan liivateväkevyys on varsin alhainen (vrt. sivu 34).

Kootun aineiston yksityiskohtiin syventyminen, pitemmälle kuin edellä varianssianalyysissä, ei ole luotettavilla perusteilla. Tästä huolimatta lienee kuitenkin syytä tarkastella eräitä yksityiskohtia, joilla on tiettyä taustaa fysikaalisissa ympäristötekijöissä. Huhtikuun 1970 tulosten perusteella on todettavissa (Taulukko 5), että lietteen kokonaisbakteerimäärä on kohonnut talven tasosta lähes kaksinkertaiseksi. Selkärinteen alueen ja syvänteen tulokset talvikaudelta ovat verraten tasaisia molemmilla tarkastelun alaisina olevilla alustoilla (kokonaisbakteerimäärä THG:llä 0,4 - 0,7 milj. kpl/g, LTHG:llä 0,25-0,55 milj. kpl/g). Tasaisuutta voidaan pitää tässä luotettavuuden osoittimena. Tähän taustaan verraten kevättalvinen bakteerimäärän nousu kutualueilla on varsin selvä. Liivatealustalla on bakteerimäärän kohoaminen keväällä todettavissa Mäntyrannan kutupaikoilla. Syvänteen bakteerimäärässä ei sensijaan ole tapahtunut kohoamista keväällä; saadut tulokset ovat huomattavan tasaiset molemmilla alustoilla.

Näyttää siltä, että pohjalietteen bakteeritoiminta on vilkastunut matalilla kutupaikoilla kevättalvella. Tämä saattaa johtua siitä, että pohjalietteen lämpötila on selvästi kohonnut kutupaikoilla. On aivan tavallista, että pari kolme viikkoa ennen jäiden lähtöä pohjan läheisten vesikerrosten lämpötila kohoaa muutamia asteen kymmenesosia auringon säteilyn vaikutuksesta. Säteilyn lämmittävä vaikutus on todettu lähes 20 m syvyyteen saakka. Tutkimusajanjaksona lämpötila kutualueilla oli poikkeuksellisen alhainen, noin 1°C; huhtikuussa pohjan läheisten vesikerrosten lämpötila oli 1,6-1,7°C. Pohjan pintakerroksessa lämpötilan nousu on ilmei-

sesti edelläesitettyä eroa suurempi, sillä tumma pohjaliete imee säteilyä. On mahdollista, että myös säteily lämpötilan ohella stimuloi pohjalietteen bakteeritoimintaa. Syvänteen alueella ei säteilyllä ole voitu todeta olevan vaikutusta lämpötilaan. Näkösyvyyden (12 m) perusteella on pääteltävissä, että säteily 30 m syvyydessä onkin varsin vähäistä.

b. Pitkä inkubointi.

Omiin tutkimuksiinsa ja kirjallisuudesta saatuihin tietoihin nojautuen SEPPÄNEN (1967) katsoo, että vähintäin kahden viikon inkubointiaika on välttämätön vesibakteereiden kokonaismääriä laskettaessa. Pohjalietteestä bakteereja viljeltäessä on käytetty myös kolmen viikon pituista inkubointiaikaa (lämpötila 23°C) (WEEKS 1944). Jos inkubointiaika on kovin pitkä ja huoneilma kuivaa, normaalit maljaviljelmät (10 ml alustaa) kuivuvat laskentakelvottomiksi.

Ylipitkän inkuboinnin vaikutusta tuloksiin kokeiltiin helmikuun 1970 näytesarjalla. THG-alustan laskentakelpoisia maljoja säilytettiin kostealla ilmalla tuuletetussa säiliössä 40 vrk. Normaalin ja pitkän inkuboinnin tulosten lähempään tarkasteluun valittiin ne maljaparit, joista pesäkkeiden laskeminen oli luotettavasti suoritettavissa (Taulukko 7).

Taulukko 7. Pitkä inkubointi kostutetussa ympäristössä. Pesäkkeiden lukumäärä THG-maljoilla 14 ja 40 vrk kuluttua siirrostuksesta, lämpötila noin 20°C.

Laimennus	K_{1-5}		M_{1-5}		S_{1-5}	S_{6-10}
	Inkubointiaika 14/40 vrk					
-3			79/91	125/145		
-4	72/80	63/76	11/12	10/10	38/53	70/85
-5	9/11	7/9	1/2	2/3	3/3	11/13
-6	0/0	0/0	0/0	0/0	1/2	1/1

Kaikilta kolmelta tutkimusalueelta on otettu tähän vertailuun maljaparit. (Merkinnät K_{1-5}, M_{1-5} jne korostavat, että on kysymys kokoomanäytteistä. Näytepari S_{1-5} ja S_{6-10} om, kuten aikaisemmin on mainittu, yhdistetty kokonaisbakteerimääriä laskettaessa, jolloin käytetään merkintää S). Kuudella maljalla, joilla 14 vuorokauden inkubointiajan kuluttua on ollut 38-125 pesäkettä, keskimäärin 75, on 40 vuorokauden kuluttua todettu pesäkkeitä keskimäärin 88 maljaa kohden. Pitkä inkubointi on lisännyt pesäkemäärää keskimäärin 18,6 % (11-39 %). Samansuuntaisia ovat tulokset myöskin vähemmän pesäkkeitä sisältäneillä maljoilla. Laimennuksessa 10^{-6} ei kummallakaan kerralla ole ollut mainittavasti pesäkkeitä, minkä perusteella voidaan päätellä, että kontaminoitumisesta ei ole aiheutunut mainittavia virheellisyyksiä.

Pitkän inkuboinnin jälkeen suoritetussa laskennassa havaitut uudet pesäkkeet olivat yleensä hyvin pieniä. Ensimmäisessä laskennassa hvaitut pesäkkeet eivät yhdelläkään maljalla olleet kasvaneet häiritsevän suuriksi, joten tulokset tuntuivat luotettavilta. Näyttää siis siltä, että pohjalietteessä on huomattava määrä hitaasti

kasvavia bakteereja. Pohjalietteen kokonaisbakteerimäärää arvioitaessa voidaan inkubointiaikaa pidentämällä saada noin 10-20 % suurempia tuloksia.

c. Proteolyyttiset bakteerit.

Kuten alustojen esittelyn yhteydessä on jo mainittu, marraskuussa 1969 tehdyn edeltävän koesarjan perusteella oli ilmeistä, että THG-alustaan lisätty normaalisti käytetty liivatemäärä (0,4 %) esti monien pohjalietteen bakteereiden kasvun. Seuraavassa asetelmassa on esitetty marraskuun 1969 näytesarjan laskentatulokset rinnan THG- ja LTHG-maljapareille.

Laimennus	Pesäkkeet rinnakkaismaljoilla			
	THG		LTHG	0,4 % liivate
-3			39	48
-4	65	46	5	6
-5	6	5	1	0

Voidaan todeta, että liivatealustalla kasvaa vain noin 10 % pesäkkeistä THG-alustaan verrattuna. Maan mikrobiologisissa tutkimuksissa on voitu tehdä sama havainto (SUNDMAN, V, EKLUND, E., suullinen tiedonanto). Pienellä koesarjalla kokeiltiin, millainen liivatekonsentraatio olisi vielä havaittavissa elohopeareagensilla (15 g $HgCl_2$, 20 ml väk. HCl, 100 ml tisl.vettä). Vielä 0,04 %:n liivateväkevyys oli kuta kuinkin selvästi havaittavissa. Käytetty, jo varsin laimea liivatekonsentraatio, näyttää kuitenkin ehkäisevän joidenkin bakteerien kasvua. Kuten edellä kokonaisbakteerimäärien laskennan yhteydessä on osoitettu, liivatealustalta saadaan säännöllisesti hiukan alhaisempia bakteerimääriä kuin THG-alustalta.

Ero on tilastollisesti merkitsevä 5 % riskillä tämän tutkimuksen aineistossa (vrt. sivu 42).

Liivatteen liuotuksen tulkinta elohopeareagenssillä osoittautui kuitenkin verraten vaikeaksi 2 viikkoa inkuboiduista näytteistä. Jos maljalla oli pesäkkeitä 30-40 tai sitä enemmän, reagenssillä ei saatu yleensä mitään reaktiota liivatteesta. Jos pesäkkeitä maljoilla oli 25 tai sitä vähemmän, voitiin liivatetta liuottavien bakteereiden määrä joten kuten arvioida. Vähintäin puolet usein 3/4 pesäkkeistä osoittautui kykeneväksi liuottamaan liivatetta. (Käyttökelpoisia maljoja oli yhteensä 7 joulukuun 1969 ja helmikuun 1970 näytesarjoissa). Huhtikuun näytesarjan yhteydessä varmistettiin parin näytteen rinnakkaismaljasarja, joista pyrittiin toteamaan liivatteen liuotus niin aikaisin, että yksityisten pesäkkeiden liivatteenliuotuskyky olisi todettavissa. Noin viikon kuluttua siirrostuksesta vain muutamissa pesäkkeissä oli havaittavissa liivatteenliuotuskyky. Normaalin inkubointiajan kuluttua (2 viikkoa) liivate oli useimmissa maljoissa kokonaan hydrolysoitunut.

On ilmeistä, että proteolyyttisiä bakteereita esiintyy pohjalietteessä varsin yleisesti. Käytetyllä menettelyllä niiden lukumäärästä ei kuitenkaan ollut mahdollista saada muuta kuin varsin karkea yleiskuva.

d. Sädesienet.

Pohjalietteessä suorittavat sädesienet vaikeastihajoavien ainesten kuten kitiinin aerobista hajotusta. Sekä vapaassa vedessä että pohjalietteessä ja sen pinnalla elävien vesiäyriäisten kitiinikuoret ovat varsin tavallinen ainesosa pohjan orgaanisessa ai-

neessa jopa niin, että niiden perusteella paleolimnologiassa voidaan seurata järven kehityshistoriaa vuosituhansia taaksepäin. Vesiäyriäisten kuoria voi olla pohjalietteessä niin runsaasti, että voidaan puhua erityisestä kitiiniliejusta (LUNDQUIST 1927, JÄRNEFELT 1958). Kitiiniliejun syntymisen edellytyksenä täytynee olla sellaiset erikoisolosuhteet, joissa kitiinin hajoitus syystä tai toisesta estyy. Sädesienten hajoitustoiminta tapahtuu yleensä parhaiten aerobisissa olosuhteissa. Tästä syystä niitä voidaan pitää jonkinlaisena aerobisten ympäristöolosuhteiden mittarina.

Sädesienten runsauden määrittämiseen osoittautui varsin edulliseksi kitiinialusta. Kitiiniä liuottavia pesäkkeitä oli tutkituissa näytteissä säännöllisesti (Taulukko 8). Bakteeripesäkkeet eivät kasvaneet käytännöllisesti katsoen ensinkään kitiinialustalla. Homeen tyyppistä kasvustoa esiintyi maljoilla jonkin verran häiritsevästi.

Vaikka kitiiniliuotus pesäkkeiden ympärillä oli yleensä verraten selvä kahden viikon kuluttua siirrostuksesta, tehokkaimmat kitiininliuottajat muodostivat yleensä valkoisia bakteeripesäkkeiden näköisiä pesäkkeitä. Pitkän inkuboinnin jälkeenkin vain muutamat pesäkkeet voitiin tunnistaa silmämääräisesti sädesieniksi. Pesäkkeistä tehdyistä mikroskooppipreparaateista voitiin kuitenkin todeta, että kaikki tarkistetut pesäkkeet olivat ilmeisesti rihmastoa muodostavia sädesieniä.

Taulukko 8. Sädesienten lukumäärä tuhansina/1 g tuoretta lietettä kitiinialustalla.

Aika			
jouluk. 1969	10,8	3,5	10,0
helmik. 1970	2,3	1,2	2,0
huhtik. 1970	2,4	2,9	2,2

Joulukuussa 1969 oli sädesieniä selvästi runsaammin kuin seuraavalla kevättalvella, jolloin sädesienten määrä eri alueilla kummallakin näytekerralla on varsin tasainen, noin 2000 kpl/g tuoretta lietettä. Laimennus 10^{-2} oli useissa tapauksissa hieman liian suuri tilastollisesti tarkkojen tulosten saavuttamiseksi ja vähän pesäkkeitä sisältäneillä maljoilla homekasvusto oli muutamissa tapauksissa ilmeisen häiritsevä (Liite 3).

Sädesienten lukumäärät eivät ole vertailukelpoisia bakteerimäärien kanssa, koska sädesienet muodostavat itiöitä ja rihmastoa. Kasvualustalla havaittu pesäke on saattanut syntyä aktiivisesti toimivasta rihmankappaleesta, rihmakimpusta tai itiöstä. Itiöistä syntyneiden pesäkkeiden mahdollisuuteen viittaa helmikuun 1970 Mäntyrannan tutkimuspisteestä viljelty maljapari laimennuksesta 10-2. Tässä laimennuksessa todettiin poikkeuksellisen runsaasti (100-200) hyvin pieniä tummanvioletteja pesäkkeitä, jotka liuottivat kitiiniä vaaleisiin pesäkkeihin verraten varsin heikosti. Tummat pesäkkeet ovat tyypillisiä Micromonospora-sädesienisuvulle, joka kuuluu pohjalietteen tavalliseen sädesienilajistoon (WEEKS 1944, JOKINEN 1970). Näiden ohella oli molemmilla maljoilla "normaali" määrä tavanomaisia suuria, vaaleita pesäkkeitä, joiden perusteella laskettiin sädesienten määrä pohjalietteessä. Laimennuksessa 10^{-3} rinnakkaismaljoilla ei todettu pieniä pesäkkeitä odotettua määrää. Tämä epäjohdonmukaisuus voisi selittyä siten, että laimennussarjan teon ajan yhtenä ryhmänä ollut itiökasauma on hajonnut myöhemmin laimennuksessa 10^{-2} ja viljelmiä valmistettaessa tästä on aiheutunut suuri määrä samantyyppisiä pesäkkeitä maljoilla. Mainittakoon, että työjärjestyksessä sädesieniviljelmät tehtiin aina viimeisinä, joten laimennussarja joutui seisomaan

laboratorion pöydällä 4-6 tuntia ja pulloja ravisteltiin useita kertoja viljelmiä valmistettaessa.

Sädesieniviljelmillä pyrittiin saamaan vain suuntaa-antava yleiskäsitys kyseisen mikrobiryhmän esiintymisestä. Työmenetelmille asetetut tarkkuusvaatimukset ovat sen mukaisia. Kootun aineiston perusteella näyttää siltä, että heti veden jäätymisen jälkeen pohjalietteen pintakerroksessa esiintyy sädesieniä runsaammin kuin myöhemmin talvella. Varianssianalyysillä voitiin osoittaa, että ero joulukuun näytesarjan ja kevättalven tulosten välillä on merkitsevä 5 % riskillä. JOKINEN (1970) on myös todennut, että syksyllä sädesieniä pohjalietteessä näyttää olevan enemmän kuin talvella. Tämä johtuu ilmeisesti siitä, että sädesienet kasvavat parhaiten suhteellisen korkeissa lämpötiloissa (optimi 27°). Väitetään, että sädesienet eivät kasva ensinkään alle 7° C lämpötilassa (SILVEY & ROACH 1959, SEPPÄNEN & JOKINEN 1969 mukaan).

Syvänteen ja kutupaikkojen välillä ei aineistossa todeta mitään eroa sädesienimäärissä.

Actinomycete Isolation-alustaa (DIFCO) käytettiin sädesienten laskemiseen pohjalietteestä joulukuussa 1969 ja helmikuussa 1970. Pesäketyypin perusteella olivat sädesienet tällä JOKISEN käyttämällä alustalla vaikeasti tunnistettavissa. Syvänteen tutkimusalueelta joulukuussa 1969 todettiin laimennuksista 10^{-2} ja 10^{-3} kummastakin yksi jauhepintainen pesäke, jollainen on tyypillinen Streptomyces-suvun sädesienille. Saman ajankohdan Mäntyrannan näytteistä todettiin yksi pesäke laimennuksesta 10^{-2}. Helmikuun näytesarjan viljelmistä ei voitu tunnistaa yhtään tyypillistä sädesienipesäkettä. Yksityisiä pesäkkeitä ei tutkittu mikroskooppisesti tältä alustalta. Maljoilla kasvoi yleisesti hyvin suuria bakteeri-

pesäkkeen näköisiä pehmeitä pesäkkeitä ja usein homepesäkkeet peittivät kasvustot jo kahden viikon inkubointiajan kuluessa. JOKISEN käyttämältä alustalta voitiin saada vain varsin ylimalkainen käsitys sädesienten esiintymisestä pohjalietteessä. Pesäkkeiden eristäminen ja mikroskooppinen tutkimus olisivat olleet välttämättömiä tämän alustan tulosten toteamiseksi. Tämän työn yhteydessä käytettyjen alustojen eron tutkiminen ei kuitenkaan ollut tarkoituksenmukaista.

Eräät sädesienisuvut eivät liuota kitiiniä (JOKINEN 1970), joten kitiinialustan antamat tulokset ovat tältä osin puutteellisia. Kitiiniä liuottavien mikrobien toteaminen on perusteltua pohjan suuren kitiinipitoisuuden vuoksi. Samalla käytetyllä kitiinialustalla saadaan verraten helposti kohtalaisen hyvä käsitys sädesienten runsaudesta pohjalietteessä.

e. Thiobacillus-alusta.

Thiobacillus-alustalle tehtiin viljelmät vain joulukuun 1969 näytesarjan yhteydessä. Alustoilla oli jonkin verran pieniä pesäkkeitä, josta voitiin todeta tämän mikrobiryhmän olemassaolo pohjalietteessä. Kenttäolosuhteissa valmistettuihin alustoihin tuli kuitenkin sakkautuma, joka paitsi vaikeutti laskemista myös antoi aiheen epäillä alustan aineskoostumuksen muuttuneen. Saatuja tuloksia ei siis voitu pitää käyttökelpoisina.

f. Anaerobit.

Anaerobien viljelyssä käytetty ruiskumenettely ei tarkkuudeltaan vastaa aerobien maljaviljelyä, jossa luotettavan tuloksen saaminen edellyttää 30-300 pesäkettä laskettaviksi otettavilla maljoilla. Injektioruiskuista voitiin verrattain luotettavasti laskea noin 10-20 pesäkettä. Agaralusta puhallettiin pois putkista ja leikattiin noin ½ cm paksuiksi kiekoiksi ja pesäkkeet laskettiin stereomikroskoopilla.

Anaerobiviljelmät tehtiin pohjalietenäytteistä joulukuussa 1969 ja huhtikuussa 1970 (Taulukko 9).

Taulukko 9. Anaerobisten bakteereiden lukumäärä tuhansina/ 1 g tuoretta lietettä.

	K		M		S	
	Kaikki	Clostr.	Kaikki	Clostr.	Kaikki	Clostr.
jouluk. 1969	6,5	3,0	2,8	0,3	3,2	0,4
huhtik. 1970	2,1	0,2	3,6	0,6	2,8	1,5

Aivan yleisesti on todettavissa saadusta tuloksista, että anaerobisten bakteereiden kokonaismäärä on ollut kaikissa näytteissä samaa suuruusluokkaa, yleensä 2000-3000 kpl/g. Tätä voidaan pitää osoituksena käytetyn kasvatusmenettelyn luotettavuudesta. Rinnakkaisputkia lisäämällä lienee verraten vaivatonta päästä kohtalaisen luotettaviin tuloksiin. Rautasulfidia muodostavat bakteerit, jotka tavallisimmin ovat Clostridium-suvun edustajia, on laskettu erikseen. Niiden osuus kaikista anaerobeista on vaihdellut 1/10 - 1/2 välillä.

Anaerobialustalla kehittyi varsin yleisesti kaasua (Liite 4) mikä onkin anaerobisen hajoitustoiminnan eräs luonteenominaisia piirteitä. Kaasunmuodostus rajoittaa muuten hyväksi todetun putki-

menettelyn käyttökelpoisuutta (DREWS 1968). Usein kaasunmuodostus turmeli alustaputken käyttökelvottomaksi kahden viikon kuluessa. Inkubointiaika anaerobiviljelmille oli ilmeisesti liian pitkä. Jo noin 4-6 vrk kuluttua siirrostuksesta rautasulfidia muodostavat pesäkkeet olivat erittäin helposti laskettavissa eikä kaasunmuodostus ollut mainittavasti turmellut alustaa. Näitä välitarkistuksen tuloksia on osittain käytetty apuna lopullisia tuloksia laskettaessa. Pesäkkeitä, jotka eivät muodosta mustaa rautasulfidikehää ympärilleen, on vaikeahko laskea näyteputkien himmeästä seinämästä johtuen mutta havaintojen mukaan niitäkin on verraten runsaasti viikon inkubointiajan jälkeen.

g. Bakteereiden kokonaismäärä MPN-menetelmällä.

Lihaliemi- ja nitraattielatusaine viljelmillä on pyritty valaisemaan typellisten aineiden hajoitustoiminnan vilkkautta ja typen kiertoa pohjalietteessä. Kokonaismäärän arvioimiseen käytettiin kolmen laimennuksen ja viiden rinnakkaisputken MPN-menetelmää.

Planktisen laskeuman mukana joutuu pohjalietteeseen varsin runsaasti helposti hajoavia valkuaisaineita. On ilmeistä, että typpipitoisten orgaanisten aineiden hajoitustoiminta on pohjalietteen eräs keskeisimmistä mikrobiologisista tapahtumista.

Lihaliemiviljelmillä arvioidaan sellaisten bakteereiden määrää, jotka kykenevät hajoittamaan valkuaisaineita ja muodostamaan niistä ammoniakkia (ammonifikaatio).

Nitraattielatusaineviljelmillä todetaan nitraatteja pelkistävien bakteereiden määrä. Luonnossa nitraattien pelkistys tapahtuu asteettain ja lopputuloksena anaerobisissa ympäristöolosuhteissa saattaa muodostua kaasumaista typpeä (denitri-

fikaatio).

Tämän työn yhteydessä on kasvualustoista todettu kasvun lisäksi ammoniakin ja nitriitti-ionin muodostuminen sekä nitraatin pelkistyminen. Mainittakoon, että muutamissa tapauksissa havaittiin lihaliemiviljelmissä nitriitin muodostumista (Liite 5), mikä osoittaa nitrifikaatiotapahtumaa pohjalietteessä. Tämä denitrifikaatiolle käänteinen tapahtuma muuttaa valkuaisaineiden typpiyhdisteistä vapautuneen ammoniakin nitriitin kautta nitraatiksi. Nitrifikaatioon erikoistuneet kemosynteettiset bakteerit ovat hyvin tärkeä ryhmä vesien ja maaperän typenkierrossa.

Molempia liemiviljelmiä inkuboitiin kuten jähmeitäkin alustoja noin kaksi viikkoa, vaikka huomattavasti lyhyempikin aika riittää havaittavan kasvun toteamiseen. Nitraattielatusaineen reakrioista todettiin, että nitraatti on pelkistynyt useimmiten aina ammoniakkiin saakka. Nitriitin esiintyminen pitkään inkuboidussa alustoissa on satunnaista (Liite 6).

Ammoniakki todettiin viljelmissä Nesslerin reagensilla, nitriitti alfanaftylamini-sulfanilihapporeagensiyhdistelmällä. Nitraatin pelkistyminen ja sen mahdollinen esiintyminen lihaliemiviljelmissä tarkistettiin difenylamini-reagensilla.

MPN-menetelmää varten valmistettiin viljelmät laimennuksista 10^{-3} - 10^{-6}, joista kolmea laimeinta putkisarjaa on käytetty bakteereiden todennäköistä lukumäärää arvioitaessa (Taulukko 10). Alkuperäisen näytteen kahdesta erillisestä laimennussarjasta otettiin viiden putken rinnakkaissarjaan toisesta 3 ja toisesta 2 siirrostusta. Syvänteen kahden erillisen näytteen laimennussarjojen suhteen on menetelty vastaavalla tavalla: 2 putkea siirrostettiin näytteen S_{6-10} laimennuksilla.

Taulukko 10. Kokonaisbakteerimäärä MPN-menetelmällä tuhansina tuoretta lietettä

	Lihaliemi:		
	K_{1-5}	M_{1-5}	S_{1-10}
	12.12.-60	15.12.-69	18.12.-69
Kasvu	130	350	540
Ammon.	170	240	540
	19.2.-70	21.2.-70	20.2.-70
Kasvu	920	49	130
Ammon.	540	49	79
	25.4.-70	25.4.-70	27.4.-70
Kasvu	170	130	70
Ammon.	170	240	70
	Nitraattiliemi:		
	12.12.-69	15.12.-69	18.12.-69
Kasvu	540	140	130
Ammon.	350	110	79
Nitr.p.	13	23	23
	19.2.-70	21.2.-69	20.2.-70
Kasvu	130	34	240
Ammon.	170	49	240
Nitr.p.	110	22	79
	25.4.-70	25.4.-70	27.4.-70
Kasvu	170	240	350
Ammon.	170	79	350
Nitr.p.	70	49	17

Lihaliemen kasvutulosten perusteella laskettu bakteereiden todennäköinen lukumäärä on yleensä suhteellisen suppeissa vaihtelurajoissa, 0,1 - 0,5 milj.kpl tuoretta lietegrammaa kohden ja äärirajatkaan eivät menetelmän huomioonottaen ole mitenkään poikkeukselliset (o,o5 - 0,9 milj. kpl/g). Pienin todennäköinen lukumäärä todetaan Mäntyrannan kutupaikan keskitalven tuloksissa, mikä hyvin sopii maljaviljelmien antamiin tuloksiin. Lihaliemiviljelmissä on yleensä voimakas ammonifikaatio todettavissa kaikissa, missä esiintyy kasvua.

Nitraattiliemiviljelmien perusteella arvioidut bakteereiden todennäköiset lukumäärät ovat kutakuinkin samaa suuruusluokkaa kuin lihaliemiviljelmistä saadut tulokset. Poikkeukeellista Mäntyrannan helmikuun näytesarjaa lukuunottamatta bakteereiden todennäköinen lukumäärä on rajoissa 0,1 - 0,5 milj. kpl/g. Ammoniakin muodostuminen tässä alustassa noudattelee varsin tarkoin kasvun havaintotuloksia. Nitraatin pelkistäjien todennäköinen lukumäärä on sen sijaan selvästi alhaisempi, 0,01 - 0,1 milj. kpl/g tuoretta lietettä. Näiden bakteereiden lukumäärä on laskettu nitraatin häviämistä osoittavan reaktiotuloksen perusteella mutta nitriittiä esiintyy varsin yleisesti pelkistyksen välituloksena, mikä on tyypillistä denitrifikaatiotapahtumissa.

Yleisesti ottaen liemiviljelmien perusteella laskettu bakteereiden todennäköinen lukumäärä eri näytteissä vastaa varsin hyvin maljahajotusviljelmien tuloksia. Taulukkoon 11 on koottu rinnan THG- ja LTHG-alustoilta pesäkkeiden lukumäärän perusteella laskettu keskiarvo tuoretta lietegrammaa kohden ja vastaava keskiarvo liemiviljelmistä, joiden tuloksista on huomioitu sekä kasvun että

ammonifikaation perusteella arvioidut bakteereiden todennäköiset lukumäärät.

Taulukko 11. Bakteereiden kokonaismäärä maljahajoitusmenetelmällä ja MPN-menetelmällä tuhansina/1 g tuoretta lietettä.

Aika	Paikka	Maljahajoitus	MPN
jouluk. 1969	K	477	298
"	M	379	210
"	S	319	322
helmik. 1970	K	610	440
"	M	77	45
"	S	387	172
huhtik. 1970	K	689	170
"	M	649	172
"	S	240	210

Jos maljahajoitusmenetelmien tuloksia merkitään x:llä ja MPN-menetelmän tuloksia y:llä ja lasketaan regressiosuora molempien muuttujien suhteen saadaan yhtälöt:

$$y = 129 + 0{,}229\,x \quad \text{ja} \quad x = 259 + 0{,}732y$$

Vertailtujen menetelmien korrelaatiokerroin on 0,411.

Näyttää siltä, että muutamista satunnaisvaihteluista (huhtik. 1970 K ja M Taulukko 11) johtuen vertailtujen menetelmien suhde ei ole tässä aineistossa kovin selkeästi havaittavissa. Karkeasti ottaen liemiviljelmät antavat pienempiä kokonaisbakteerimääriä.

V POHJALIETTEEN OMINAISUUKSISTA

1. Yleistä.

Edellä on jo esitelty yleispiirteitä muikun kutupaikoista. Lienee kuitenkin vielä tässä yhteydessä aiheellista tarkastella eräitä pohjalietteen kemiallis-fysikaalisten ominaisuuksien tutkimisen kannalta oleellisimpia kohtia.

Muikun kutupaikkojen tutkimuksissa Puruvedellä on todettu, että kutualusta on yleensä vähintäin muutamia senttimetrejä paksun lietekerroksen peittämää. Tämä havainto näytti sopivan huonosti siihen käsitykseen, että muikun kutupaikat ovat tavallisesti kovanpuoleista pohjaa. On siis aiheellista pyrkiä selvittämään mahdollisimman monipuolisesti pohjan laatu ja kutupaikkojen tarkka sijainti. Vaikkakin kovapohjaisia kutualueita, verraten puhtaita savipohjia, ilmeisesti on, ohuen lietekerroksen peittämät rinteet ovat kuitenkin tutkimusalueella tyypillisiä kutualustoja.

Tähän tutkimukseen valitun alueen ohella on kutupaikkojen sijainnista ja mätitiheydestä tehty havaintoja eräiltä muiltakin alueilta mutta pohjan laatua valaisevia profiilinäytteitä on vain tässä työssä käsitellyltä alueelta.

Pohjalietteen ja veden rajakerroksen kemiallis-fysikaallisilla olosuhteilla on hyvin keskeinen merkitys järven aineskierroksessa. Tämän rajakerroksen hapetus-pelkistysasteen osoittimena on kaksiarvoisella raudalla "klassinen" asema (RUTTNER 1942, JÄRNEFELT 1958). MORTIMER (1942) on osoittanut, että rauta on pelkistyneessä ferromuodossa, jos veden tai lietekerroksen hapetus-pelkistyspotentiaali on +200 mV tai sitä alempi; hapettuneena ferrirautana sitä ylemmässä hapetus-pelkistysasteessa. Kun veden happipitoisuus

lietteen yläpuolella laskee alle 1 mg/l ja hapetus-pelkistyspotentiaali saavuttaa mainitun kriittisen rajan, liukenee pohjalietteestä rautaa veteen. Samalla pohjalietteestä vapautuu monien muiden pelkistystuotteiden ohella tuotantobiologiselta kannalta tärkeitä fosforiyhdisteitä, jotka ovat hapettuneessa lietteessä sitoutuneina rautakomplekseihin. Raudan liukeneminen ja saostuminen seuraa järven vuodenaikojen mukaista rytmiä. Vähäravinteisissa, oligotrofisissa järvissä, joissa lietepinta on kautta vuoden kosketuksissa happirikkaan veden kanssa, hapetus-pelkistystason muutokset tapahtuvat lietteen sisällä. Kaksiarvoisen raudan esiintymistaso lietteessä vaihtelee sen mukaan kuinka tehokkaasti lietteen pintakerrokseen pääsee liukenemaan vedestä happea.

Kutualustalla täytyy veden happipitoisuuden olla koko haudontakauden ajan suhteellisen korkean. Orgaanisen aineen pelkistyneet hajaantumistuotteet ovat myrkyllisiä kaloille ja kalan mädille. Jos niitä tunkeutuu lietteen pintakerrokseen, mäti tuhoutuu, vaikka vesi yläpuolella olisikin happirikasta. Pelkistynyt lietekerros kutupaikalla pitäisi olla siis suhteellisen syvällä.

Hapetus-pelkistystason kerrostuneisuutta tutkimalla pyrittiin tämän työn yhteydessä selvittelemään mahdollisia eroja kutualustan ja kutualueen ulkopuolella olevan syvänteen olosuhteissa. Tähän päämäärään pyrittiin kahta menettelyä käyttäen; määrittämällä ferrorauta eri lietekerroksissa ja mittaamalla elektrometrisesti lietekerrosten hapetus-pelkistyspotentiaali.

2. Menetelmät ja materiaali.

a. Lietekerroksen paksuus ja kerroksellisuus.

Selkärinteen kutupaikalla lietekerroksesta puhdas savi- tai järvimalmipitoinen hiekkapohja päättyy noin 15 m syvyydessä. Kutupaikalla 16-18 m syvyydessä pehmeän lietekerroksen paksuus savialustalla lisääntyy hyvin nopeasti muutaman kymmenen metrin matkalla syvemmälle siirryttäessä. Rinteen yläreunalla noin 16 m syvyydessä lietekerros on tavallisesti alle 10 cm. Pari metriä syvemmällä rinteen alla pintalietettä on 20-30 cm ja tämän kerroksen alla on tummanharmaa hiesulieju eikä savi.

Selvästi kivenmäispitoinen alusta pintalietteen alla ei ole tyypillistä Mäntyrannan kutupaikalla mutta jo silmämääräisesti on todettavissa karkeahkon mineraaliaineksen suuri osuus 15 - 20 cm syvyydessä lietepinnan alapuolella.

Lieteprofiileissa on helposti todettavissa selvä kerroksellisuus erityisesti Mäntyrannan alueella. Täällä on tyypillistä punaruskea, ilmeisesti ferrioksidin värjäämä kerros noin 4-6 cm syvyydessä lietteessä. Muutamia senttimetrejä syvemmällä liete on hyvin tummaa tai mustaa rautasulfidista johtuen. Noin 10 cm lietepinnan alapuolella pohja-aines on tummanharmaata tasaista massaa, jossa toisinaan on havaittavissa suuri hiekkapitoisuus. Selkärinteellä harmaanruskea pintakerros ulottuu hyvin vaaleaan savi- tai hiesukerrokseen saakka kuturinteen yläreunalla. Pintalietteen ja alustan rajalla on joskus ohut rautasulfidin värjäämä kerros. Harmaanruskeaa pintakerrosta lukuunottamatta syvänteen tutkimusalueella lieteprofiileissa ei havaittu mainittavaa kerroksellisuutta. Liete on syvemmällä tummanharmaata tasa-aineista massaa.

b. Lietteen kuiva-aine ja sen koostumus.

Mikroskooppisen tarkastelun perusteella pintaliete voitiin luokitella piileväliejun ja piileväokran seokseksi (LUNDQUIST 1927). Oleellisia eroja eri näytealueiden lietteen pintakerroksessa ei voitu havaita. Kun lietenäytteen orgaaninen aine hajoitettiin kaliumdikromaatin ja väkevän rikkihapon seoksella, valkoinen jäännös osoittautui mikroskooppisessa tarkastuksessa pääasiassa piilevien kuoria sisältäväksi jauheeksi. Hehkutusjäännös oli raudan runsaudesta johtuen punaruskeaa.

Lietteen kuiva-aine määritettiin joulukuun 1969 ja helmikuun 1970 näytesarjojen yhteydessä. Samasta kokoomanäytteestä, josta oli tehty mikrobiologisten viljelmien laimennussarjat, otettiin 2 ml (= 2 g) lietettä. Liete-erien annettiin jäätyä. Näytteet kuivattiin tyhjiössä noin 15°C lämpötilassa.

Taulukko 12. Lietteen kuiva-aine %

Tutkimusalue	Kuiva-aine %	
	huhtik. 1970	jouluk. 1969
K_{1-5}	9,5	7,8
M_{1-5}	12,9	11,9
S_{1-5}	7,6	9,6
S_{6-10}	9,0	10,2

Joulukuun 1969 näytteiden käsittely ei ollut aivan yhtä huolellista kuin talvella 1970 otettujen näytteiden. Kuiva-ainepitoisuus on kuitenkin molemmissa näytesarjoissa tyydyttävästi samaa suuruusluokkaa (Taulukko 12). Kaikkien näytteiden keskimääräinen kuiva-ainepitoisuus on noin 10 % (joulukuu 1969 keskimäärin 9,9 %, helmikuu 1970 9,8 %). Edellisten lisäksi tehtiin joukko kuiva-ainemäärityksiä yksittäisistä näytteistä eri alueilta. Tulokset vastasivat varsin hyvin edelläesitettyjä.

Maaliskuussa 1970 koottiin suurempia näytteitä lietteen kemiallisen koostumuksen määrittämiseksi. Tutkimusalueilta koottiin jokaisesta 5 näyteprofiilia. Näyteputkesta puserrettiin noin 1 cm paksuinen pintakerros ja kuivattiin tyhjiössä. Näytteitä pidettiin muutama vuorokausi kuivatuseksikaattorissa. Lämpökaappikuivatuksella tarkistettiin näin säilytettyjen näytteiden kosteus (105°C 1 t). Kuivatushäviö oli alle 1 % suuruusluokkaa, joten sitä ei ole laskelmissa tarpeellista huomioida.

Viiden näytteen sarjasta koottiin kultakin alueelta erikseen yhdistelmänäytteet. Yhdistelmänäytettä punnittiin 50-100 mg erät eri määrityksiin. Analyyseihin sovellettiin samoja menetelmiä, mitä käytetään vesitutkimuksissa (VESIANALYYSITOIMIKUNNAN MIETINTÖ 1968).

Orgaaninen aine määritettiin dikromaattihapetuksella. Aluksi käytettiin määrityksessä vertailumaata, jonka orgaanisen aineen määrä oli tunnettu. Dikromaatin kulutus määritettiin fotometrillä. Näytteiden sameus häiritsi kuitenkin määritystä, joten ryhdyttiin käyttämään titrausmenettelyä. Maaliskuun kokoomanäytteiden analyysitulosten (Taulukko 13) lisäksi on joukko määritystuloksia joulukuussa otetuista yksityisistä näytteistä (Taulukko 14).

Taulukko 13. Lietteen kuiva-aineen koostumus % k.a:sta (maaliskuu 1970).

Alue	Hehkutusjäännös	Org.aine	Kok.Fe	Kok.N	Kok.P
K_{1-5}	81,1	13-15	4,3	0,82	0,14
M_{1-5}	86,1	8-9	3,9	0,62	0,16
S_{1-5}	77,1	15-18	5,8	0,83	0,28

Kuiva-aineen koostumusta valaisevat tulokset on määritetty kokoomanäytteistä orgaanisen aineen määrää lukuunottamatta, josta on esitetty yksityisten profiilien pintalietteen tulosten ääriarvot. Kokoomanäytteestä tehdyt muutamat vertailusarjat osoittivat, että vaihtelu yksityisten analyysitulosten välillä oli noin yhden prosenttiyksikön suuruinen. On syytä todeta, että dikromaatti kulutus ilmaistaan tavallisesti kemiallisena hapenkulutuksena (O_2 mg/l vedessä). Orgaanista ainetta määritettäessä valmistettiin myös vertailusarja kokoomanäytteestä, johon oli punnittu eksikaattorissa kuivattua tärkkelysjauhetta sama määrä kuin näytteessä oli todettu orgaanista ainetta. Alkuperäistä näytettä punnittiin 100 mg määritykseen ja näytettä, johon oli lisätty tärkkelystä, 50 mg. Orgaanisen aineen määrä on siten saatu vertailukelpoiseksi tärkkelykseen. Joulukuun näytesarjaa tutkittaessa ei ole käytetty tärkkelyslisäystä.

Taulukko 14. Lietteen kuiva-ainekoostumus (% k.a:sta eräistä joulukuun 1969 näytteistä)

Alue	Hehkutus-jäännös	Org.aine	Kok.Fe
K	82	12	7
M	-	9	5
S_{9-10}	81	12	7
S_{1-5}	77		8
S_{34}	72	13	7

Pohjalietteen kuiva-aineesta on kivennäisaineita yli 80 % Selkärinteen kutupaikalla ja syvänteessä. Mäntyrannan kutupaikalla

kivennäisaineksen osuus on jonkin verran suurempi ja vastaavasti orgaanista ainetta selvästi vähemmän kuin kahdella muulla tutkimusalueella. Hehkutushäviöstä, joka on kuiva-aineesta 14-23 % eri näytteistä, on dikromaatilla hajoavaa orgaanista ainetta noin 2/3. Rautaa kuiva-aineessa on verraten runsaasti 4-6 %; joulukuun näytesarjan perusteella hieman enemmän 5-8 %.

Kokonaistyppipitoisuus Mäntyrannan kutupaikalla on hieman alhaisempi kuin Selkärinteellä ja syvänteessä. Kokonaisfosforituloksissa mielenkiintoinen havainto on, että syvänteen pintalietteessä on noin kaksi kertaa niin paljon fosforia kuin kuturinteillä. Muutamissa alustavissa määrityksissä oli todettavissa sama suhde. Kokonaisfosforin määritysten suhteen on huomattava kuitenkin, että määritystavasta riippuen saadaan varsin erilaisia kokonaisfosforimääriä. HAYESin työryhmä (1958) on todennut, että pohjanäytteen märkäpoltolla saadaan huomattavasti suurempia kokonaisfosforimääriä kuin hehkutusjäännöksestä määritettäessä. Nyt esitettyjä tuloksia voidaan kuitenkin pitää keskenään vertailukelpoisina.

c. Ferrorauta hapetus-pelkistysasteen indikaattorina.

Ferrorauta määritettiin 1 cm paksuisista lietekerroksista. Näyteputkesta puserrettiin lietekerrokset (1 cm kerros on noin 3 ml) dekanterilaseihin, joihin oli mitattu 50 ml vettä ja 1 ml 25 % suolahappoa. Näyte sekoitettiin lasisauvalla. Seoksen annettiin laskeutua 15-20 min, jona aikana lietesuspensio painui astian pohjalle ja uute päällä oli käytännöllisesti katsoen kirkasta. Kirkasta uutetta otettiin tutkittavaksi 10 ml. Ferrorauta määritettiin

fenantroliini-menetelmällä vesikemiallisia analyysiohjeita soveltaen (JUOMA- JA TALOUSVEDEN FYSIKAALISET JA KEMIALLISET ANALYYSIMENETELMÄT 1962, VESIANALYYSITOIMIKUNNAN MIETINTÖ 1968).

Ensimmäiset havaintosarjat otettiin tammikuussa 1970 menetelmän käyttökelpoisuuden testaamiseksi. Tällöin ei käytetty tunnetusta rautaliuoksesta valmistettua vertailusarjaa. Arviointi suoritettiin silmämääräisesti. Menettely osoittautui varsin lupaavaksi ja eri tutkimusalueiden välillä voitiin havaita selvät erot (Taulukko 15). Kevättalvella 1970 pohjalietteen ferroraudan määrittämiseksi valmistettiin ferroammoniumsulfaatista vertailusarja. Menettelyssä ei pyritty kvantitatiiviseen tarkkuuteen vaan pyrittiin toteamaan kerros, missä rautaa alkaa runsaasti esiintyä pelkistyneessä ferromuodossa. Taulukossa 16 esitetyt lukuarvot vastaavat suunnilleen liejunäytteen (3 ml) rautamäärää milligrammoina. Kevättalvella määrityksissä käytettiin uudemman suorituksen mukaisesti asetaattipuskuria kun se aikaisemmin oli ollut ammoniumsitraattipuskuri. Menetelmien erolla ei ole tässä asiallista merkitystä.

Taulukko 15. Ferroraudan kerrostuneisuus pohjalietteessä (tammik.1970)

Lietekerros	Selkärinne (K)		Mäntyranta (M)	Rinne 23	Syvänne (S)
cm	16,9 m	16,7 m	14 m	23 m	30 m
0-1	0	0	0	0	0+
2	0	0	0	0	+
3	0	0	0	+	+
4	0	0	0	++++	++
5	0	0	++	++++	+++
6	0	+	++	++++	++++
7	0	+	++	++++	++++
8	0	0+	++	++++	++++
9	0	0+	++	++++	++++
10	0+	+	++	++++	++++
11	+				
12	+				
13	+				
14	+				

Väri määritetty silmämääräisesti:

0 = ei havaittavaa väriä

\+ = heikosti punertava

++ = selvästi punertava

+++ = punainen

++++ = tummanpunainen

Selkärinteen alueelta on kaksi lieteprofiilia. Kovan hiesusavialustan päällä oli pehmeää lietettä 6 cm (16,7 m näyte) ja 12 cm (16,9 m näyte). Ferrorautaa pintalietteessä ei ole ensinkään ja hiesusavessakin verrattain vähän. Pehmeässä harmaassa liejussa syvänteessä ja rinteella 23 m syvyydessä ferrorautaa on runsaasti 4 cm syvyydestä alaspäin. Mäntyrannan kutupaikalla ferroraudan harp-

pauskerros on selvästi alempana kuin syvänteessä.

Taulukko 16. Ferroraudan kerrostuneisuus pohjaliettessä (maalis-huhtik. 1970)

Liete-kerros	Selkärinne (K) 17 m	17.3 m	Mäntyranta (M) 13,5 m	14,8 m	Syvänne (S) 30 m	30 m+)
0-1	0	0	0	0	0	0,1
2	0	0	0	0	0	0,1
3	0	0	0	0	0,04	0,15
4	0	0	0	0	0,3	0,15
5	0	0	0,1	0,7	0,6	0,45
6	0	0,02	0,3	0,7	0,7	0,45
7	0	0,1	0,6	0,7	0,7	
8	0	0,1	0,7	0,7	0,7	
9	-	0,1	0,7	0,7	0,7	
10	0,4	0,3	0,7	0,7	0,7	

Selkärinteen 17 m näyte: pintalietettä 10 cm alla savi. Selkärinteen 17.3 m näyte: 6 cm syvyydessä ruskehtava kerros, 7-9 cm harmaata hiesuliejua, 10-15 cm vaalea hiesu ja hiesusavi. +) Värin vertailu suoritettu 1 vrk kuluttua.

Muutamissa vapauksissa ferrorautamääritykset tarkastettiin noin vuorokauden kuluttua (Taulukko 16 Syvänne 30 m+)). Ensimmäisessä tarkastuksessa kirkkaisiin näytteisiin tuli eräissä tapauksissa selvä punainen väri. Puolen vuorokauden kuluessa värin muutos 0-arvosta oli noin 0,05-0,08 vertailuyksikköä. Tällä analyysiteknillisellä virheellä ei ole asiallista merkitystä lopputuloksen kannalta.

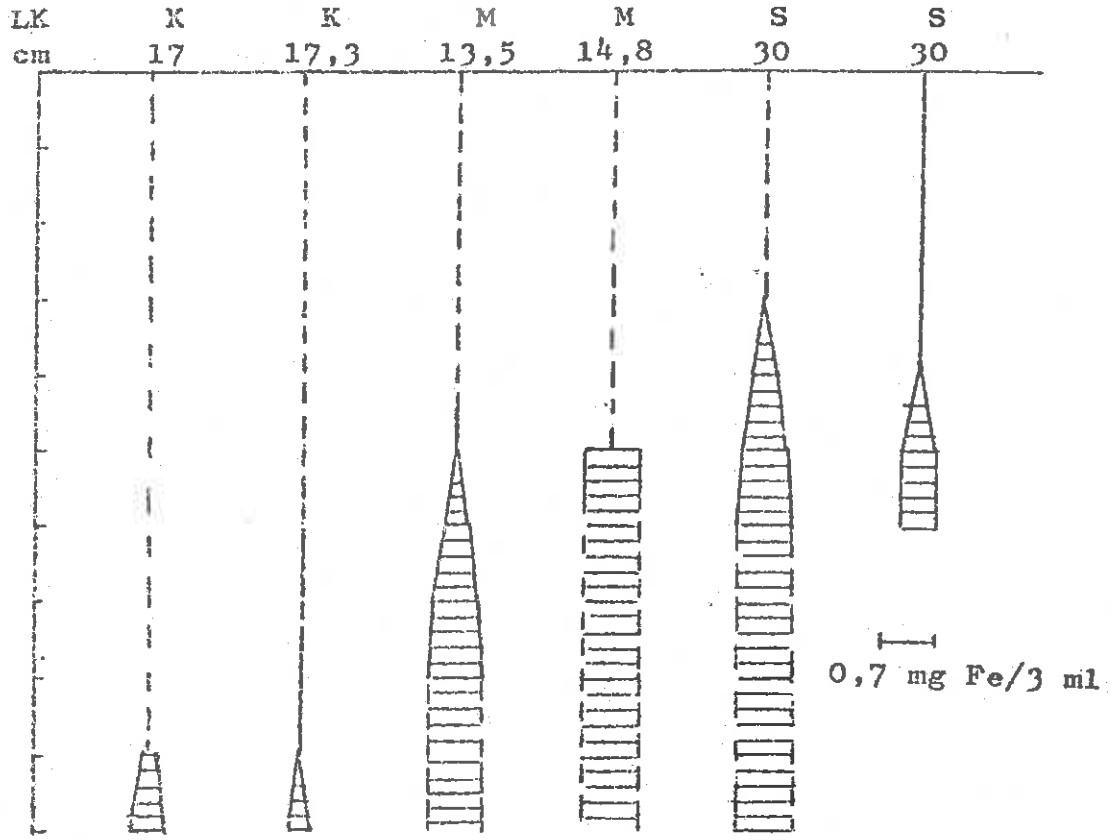
Ferroraudan kerrostuneisuus pohjalietteessä näytti olevan verraten lupaava hapetus-pelkistystason osoitin. Kutualueet ja syvänne eroavat tässä suhteessa selvästi toisistaan (Kuva 9). Tämän tarkistamiseksi tutkittiin muutamia lieteprofiileja Selkärinteen tutkimusalueelta syvänteeseen päin (Taulukko 17). Noin 30 m etäisyydellä Selkärinteen tutkimuskohteesta on veden syvyys 19 m; 50 m etäisyydellä 19,7 m. "Rinne 23" on noin 100 m päässä Selkärinteen tutkimuskohdasa (Kuva 10). Tällä alueella on erityistä mielenkiintoa siksi, että sieltä on saatu kohtalaisen runsaasti normaalisti kehittyneitä mätimunia kevättalvella 1969. Se on siis toistaiseksi syvin kutupaikka, mikä mätitutkimuksilla on Puruvedessä määritetty.

Taulukko 17. Ferroraudan kerrostuneisuus pohjalietteessä Selkärinteen alapuolella (maalis-huhtik. 1970)

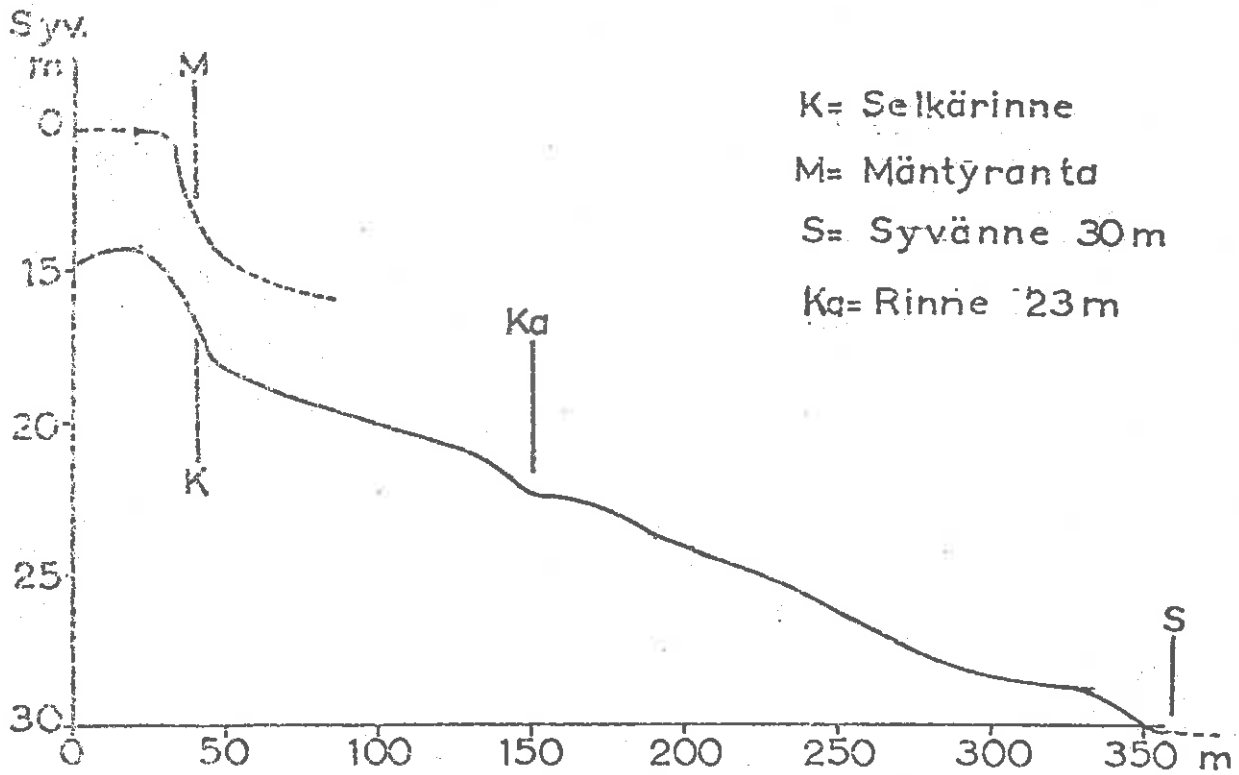
Liete-	Etäisyys	Selkärinteen (K)	tutkimuskohdasta m	
kerros	30	50	100 (=Rimne 23)	
	19 m	19,7 m	22,5 m	22,5 m+)
0-1	0	0	0	0,02
2	0	0	0	0,01
3	0	0	0	0,01
4	0,45	0,2	0	0,01
5	0,7	0,7	0,01	0,03
6	0,7	0,7	0,15	0,15
7			0,20	0,35

+) väri verrattu noin 1 vrk kuluttua (vert. Taulukko 16).

Kutupaikalla 22,5 m syvyydessä ferrorautaa alkaa esiintyä



Kuva 9. Ferrorautakerrostuneisuus pohjalietteessä. LK = lietekerroksen etäisyys lietteen pinnasta cm, K 17 (syvyys kirjaimen alla m) ja K 17.3 = Selkärinne, M 13.5 ja M 14,8 = Mäntyranta ja S 30 = Syvänne.



Kuva 10. Pohjan muoto tutkimusalueella (vert. Kuva 5).

runsaammin lietteessä noin 6 cm tasolta alaspäin (vert. myös Kuva 12). Ylempänä rinteella (19-19,7 m syvyisissä näytekohdissa) harppauskerros on 3-4 sm syvyydessä ja ferrorautaa esiintyy hyvin runsaasti sen alapuolella. Mädin esiintymisen tutkimuksissa on saatu viitteitä siitä, että 19-21 m syvyydessä Selkärinteen alapuolella ei ole kelvollista kutupohjaa. Oli siis yllättävää, kun mätiä löydettiin 22,5 m syvyydestä. Pohjan muodon perusteella tämä erikoisuus näytti kuitenkin olevan selvitettävissä (Kuva 10). 22,5 m syvyydessä pohja laskeutuu jyrkemmin syvänteeseen päin kuin siitä ylös ja alaspäin. On ilmeistä, että veden virtaukset jyrkässä rinteessä "tuulettavat" lietepintaa syvemmälle kuin loivalla rinteellä. Ferrorauta-analyysit tukevat tätä käsitystä.

d. Hapetus-pelkistysasteen elektrometriset mittaukset.

Pohjalietteen hapetus-pelkistyspotentiaalin mittaukset tehtiin Radiometerin pH-mV-mittarilla malli 22, platinaelektrodi P101 kalomelielektrodi K 401. Käytetyn elektrodiparin antamiin tuloksiin on lisättävä +249 mV, jos halutaan muuttaa tulokset vastaamaan normaalivetyelektrodin tuloksia. Taulukossa 18 mittaustulokset on esitetty mittarin antamina lukemina.

Mittausteknillisistä syistä johtuen eri kerroilla on tuloksissa varsin suuria tasoeroja. Lietteen pintakerroksen lukemat esim. vaihtelevat +282 - +506 mV rajoissa. Joulukuussa 1969 ja tammikuussa 1970 platinaelektrodi puhdistettiin hehkuttamalla. Elektrodin rikkouduttua käsittelytapaa oli välttämätöntä muuttaa. Uusi elektrodi puhdistettiin laimennetulla typpihapolla. Liekkipuhdistuksessa elektrodi jäi pelkistyneelle tasolle. Esim. Selkärinteen 16,2 m näytteessä (Taulukko 18) todettu nouseva hapetustaso

lietteen pinnasta syvemmälle päin (lietteen pinnassa +282 mV, 8 cm syvyydessä 380 mV) johtuu tästä mittausteknillisestä virheestä. Eri lieteprofiilien absoluuttisten potentiaalierojen tarkastelemineen ei tästä johtuen ole mielekästä.

Lieteprofiilin hapetus-pelkistyspotentiaalin mittaus suoritettiin seuraavasti: Lietepinta näyteputkessa puserrettiin noin 1-2 cm päähän putken reunasta. Elektrodit upotettiin muutamaksi minuutiksi lietteen päällä olevaan vesikerrokseen ja jännitteen annettiin tasaantua. Tämän jälkeen elektrodit upotettiin lietteeseen noin 0,5-1 cm syvyyteen ja mittarin annettiin tasaantua noin 1 t, jona aikana mittarilukeman aluksi nopea myöhemmin vähitellen hidastuva muuttuminen käytännöllisesti katsoen lakkasi. Lukeman muutos tunnin kuluessa oli yleensä muutamien kymmenien millivolttien suuruusluokkaa.

Ensimmäisen mittauksen jälkeen elektrodit upotettiin lietteeseen 1 cm syvemmälle ja lukema otettiin 15 min kuluttua. Tämä aika oli liian lyhyt hapetus-pelkistysasteen jyrkässä harppauskerroksessa, jotta lukemat olisivat olleet todella tarkkoja. Muutoskerroksen määrittämiseen mittausaika kuitenkin näytti olevan hyvin riittävä.

Noin 3-5 sm syvyydestä alaspäin mittaukset suoritettiin pusertamalla lieteprofiilia alhaaltapäin elektrodien ohi. Tätä menettelyä käyttämällä voitiin estää ilman hapen pääsy mitattavaan lietekerrokseen. Yleensä näytteet lämpenivät mittauksen aikana noin 15-20°C lämpötilaan. Muutamia näytteitä säilytettiin mittauksen aikana lumella jäähdytetyn suojuksen sisällä mutta mitään havaittavaa etua ei tästä menettelystä näyttänyt olevan tuloksia verrattaessa. Näytteet tutkittiin yleensä muutaman tunnin kuluessa näytteenotosta; muutamia on säilytetty sulavassa lumessa enintäin 1

vrk. Huoneen lämpötilassa yli yön säilytetyissä näytteissä mittaustulokset näyttivät poikkeavan siinä määrin, ettei niitä voitu pitää luotettavina.

Mittarin näyttämä tarkistettiin hydrokinonilla pH 6,5 puskurissa.

Hapetus-pelkistysmittausten suorittamisessa lietteestä on ilmennyt sellaisia mittausteknillisiä vaikeuksia, että verraten homogeeniseksi katsottavasta näytteestä saadaan mittauslaitteistosta riippuen varsin erilaisia tuloksia. MORTIMER (1942) ilmoittanut tulostensa tarkkuudeksi ± 10 mV mutta yksityisissä tapauksissa näyttää esiintyneen keskimääräistä suurempia vaihteluita HAYESin työryhmä (1958) käytti MORTIMERin kehittämää elektrodijärjestelmää mutta heidän mittauksissa vaihtelu oli suuruusluokkaa ± 50 mV. Satunnaisvaihteluita mittaustuloksiin aiheutuu paitsi itse mittaustekniikasta (platinaelektrodin koko, sen peittyminen pelkistyneillä ioneilla) myös siitä, että mittausolosuhteita ja elektrodin puhdistusta ei voida pitää tarkasti vakioina (GOTTSCHALDT 1970).

Mittausteknilliset vaikeudet huomioonottaen pohjalietteen hapetus-pelkistysasteen kerrostuneisuudesta saadut tulokset ovat varsin tyydyttävästi samansuuntaisia silloin, kun on kysymyksessä suhteellisen homogeeninen pohja. Hapettunutta pintalietettä Selkärinteellä on noin 6-8 cm kun hapettunut pintakerros syvänteessä on selvästi ohuempi, noin 2-4 cm. Yksityisten profiilien erot varsinkin syvemmissä lietekerroksissa (6-9 cm) Selkärinteen alueella johtuvat ennen muuta pohja-aineksen laadullisista eroista. Kovan savikerrostuman päällä oleva pintaliete näytti yleensä olevan hyvin hapettuneessa tilassa (esim. Selkärinne 16,2 m näyte). Syvänteen

Taulukko 18. Hapetus-pelkistyspotentiaalin mittaukset pohjalietteestä. (Selkärinne näytteet 16,2-18 m syvyydestä, Syvänne näytteet 30 m syv.)

Liete-	Selkärinne (K)						
kerros	16,2	17,3	17,4	18	17	17,5	17,3
cm	22.12	20.12	22.12	22.12	3	25.4	16.4
1	282	395	360		350	420	410
2	311	406			360	417	410
3	339	410			355	410	414
4	355	410			345	390	389
5	352	406	360		345	241	394
6	371	210	353		365	45	322
7	377	54	196	25	350	-16	306
8	380	-88	20	-23	312	-65	-162
9		-104	-45	-25	243	-92	-204
10		-125	-35	-55	195	-135	
11			-10	-75			

	Syvänne 30 m						
	17.12	21.12	21.12	.3	15.4	25.4	28.4
1	321	335	344	400	382	422	
2	326	217	354	400	375	284	
3	326	130	95	295	375	-30	
4	145	90	0	5	294	-95	
5	68	62	-60	-73	220	-125	
6	0	-21	-88	-113	55	-120	
7	-55	-104	-120	-160	-44	-118	
8	-80	-116	-140	-195	-89		
9	-104	-163	-176	-310	-152		
10	-140	-158	-180		-180		

profiileissa 7 cm tasolta alaspäin liete on varsin pelkistyneessä tilassa ja tulokset eri profiileissa varsin tasaisia.

Jos pintalietteen mittaustulokset korjataan normaalivety-elektroditasoon, on sen hapetus-pelkistyspotentiaali yleisimmin alueella +570 - +670 mV. Tulokset vastaavat verraten hyvin oligotrofisten järvien pohjan pintalietteestä kirjallisuudessa esitettyjä tuloksia (MORTIMER 1942, HAYES ja muut 1958, KUSNETSOW 1959).

Hapetus-pelkistyspotentiaaliin vaikuttaa varsin tuntuvasti happamuusaste seuraavan likimääräisen yhtälön mukaisesti (VARTIOVAARA 1953):

$$E'_h = E_h + \frac{RT}{F} \cdot 2{,}303\ (pH - pH')$$

jossa R= yleinen kaasuvakio, T = absoluuttinen lämpötila, F = Fardayn vakio, pH = mitattu happamuusaste ja pH'= se pH-taso, jolle mitatut E_h-arvot halutaan oikaista.

Pohjalietteen pH mitattiin e.m. Radiometer-mittarilla lasielektrodia G 202 käyttäen. Mittauksia ei voitu suorittaa yhtäaikaisesti E_h-mittausten kanssa. pH on mitattu muutamista lieteprofiileista erikseen samaa tekniikkaa käyttäen kuin E_h-mittauksessa. Taulukossa 19 esitettyjen profiilimittausten lisäksi pH mitattiin pohjalietteestä silloin tällöin näytteenoton yhteydessä. Mitään oleellisia eroja profiilinmittauksiin (Taulukko 19) verrattuna ei todettu.

Taulukko 19. Happamuusasteen kerrostuneisuus pohjalietteessä.

Liete-	Rinne 23	Syvänne 30 m		
kerros	22,5 m			
cm	14.4	21.12	21.12	15.4
vesi	6,6	6,6	6,6	6,5
1	6,3	6,2	6,0	6,2
2	6,1	6,1	6,0	6,1
3	6,1	6,0	6,0	6,1
4	6,0	6,0	6,0	6,1
5	6,0	6,1	6,2	6,4
6	6,0	6,1	6,2	6,4
7	6,0	6,1	6,3	6,6
8	6,1	6,2	6,4	6,6
9	6,1	6,2	6,5	6,7
10	6,1	6,2	6,5	6,7

Pintalietteen happamuusaste on varsin tasaisesti tasolla 6,0-6,1. Pelkistyneessä lietteessä pH nousee noin 0,5 pH-yksikköä. Jos hapetus-pelkistyspotentiaalimittaukset halutaan korjata pH 7-tasoon edellä esitetyn kaavan mukaisesti, korjatut arvot olisivat noin 60 mV mittauksilla saatuja arvoja alhaisempia.

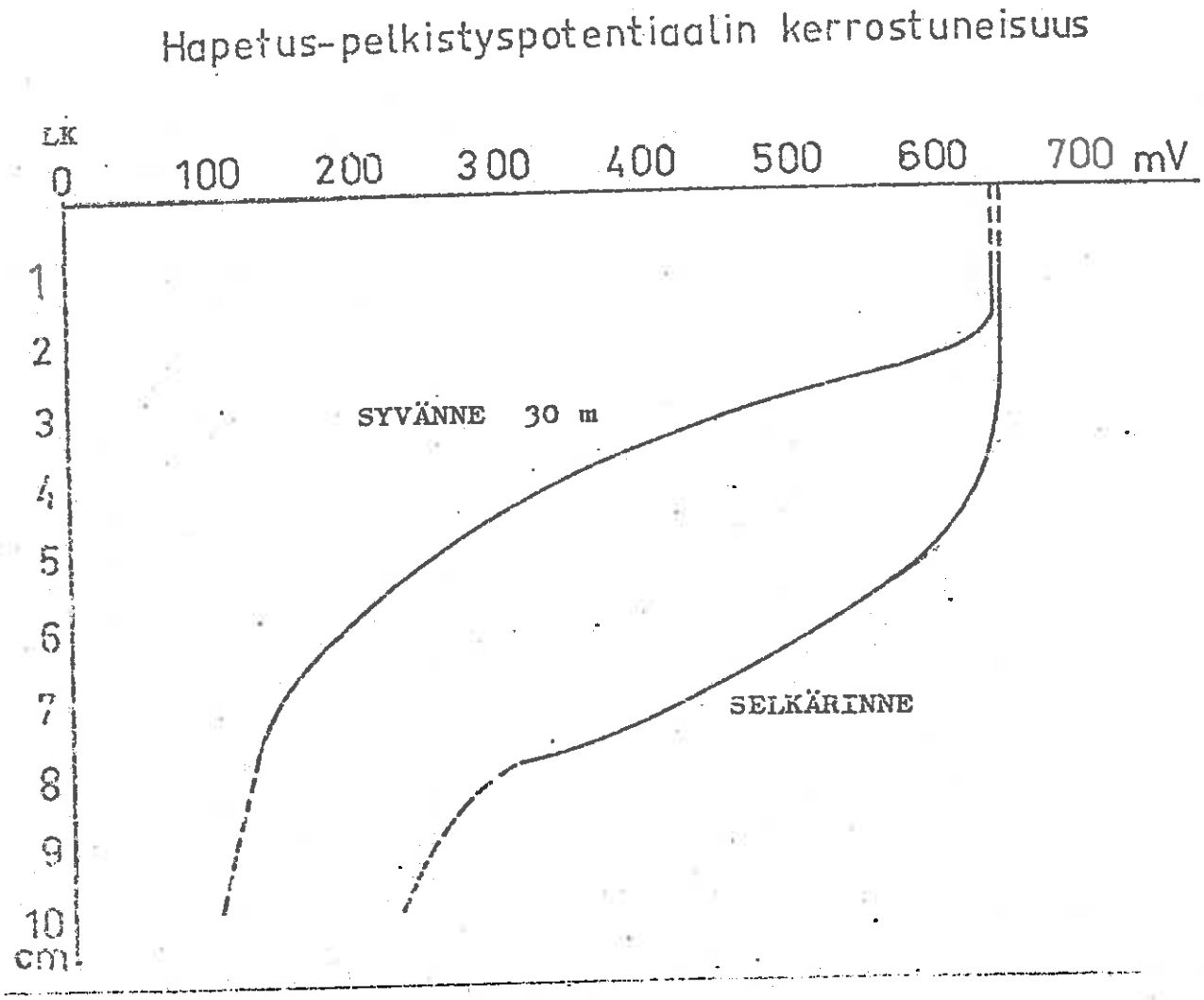
3. Lietteen pinnan ja hapetus-pelkistysasteen kerrostuneisuuden eroista.

Pohjalieteanalyysien tuloksissa ei ollut havaittavissa selviä eroja kutupaikkojen ja kutualueen ulkopuolella olevien alueiden välillä. Pohjan pintalietteen silmämääräisesti todettu samankaltaisuus ei ole näennäinen vaan ilmeisen todellinen. Vain Mäntyrannan alueella on orgaanisen aineen määrä havaittavasti vähäisempi, mikä ilmeisesti johtuu siitä, että tänne ajautuu mineraaliaineksia ylempää rinteeltä. Mikrobiologisen toiminnan edellytykset ovat siellä siis merkittävästi vähäisemmät, mikä on voitu todeta myös pohjalietteen kokonaisbakteerimäärässä. Selkärinteen kutupaikan ja syvänteen pintalietteessä ei kemiallis-fysikaalisesti eikä myöskään mikrobiologisesti ole käytännöllisesti katsoen mitään eroja, ei ainakaan sellaisia, joiden perusteella voitaisiin tehdä johtopäätöksiä muikun kutupaikan valintaan vaikuttavista tekijöistä.

Pohjalietteen ferrorautakerrostuneisuudessa on voitu osoittaa eroja kutupaikkojen ja niiden ulkopuolella olevien syvänteiden välillä. Sielläkin missä, kutupaikka on verraten syvällä, hapettuneessa tilassa oleva lietekerros on paksumpi kuin syvänteessä. Näyttää siltä, että rinteen muodolla ja virtausolosuhteilla on vaikutus syvällä olevan kutualustan kelvollisuuteen.

Kutualueen ja syvänteen keskinäinen ero on myös varsin havainnollisesti todettavissa lietteen hapetus-pelkistyskerrostuneisuudessa (Kuva 11).

MORTIMER (1942) on pyrkinyt osoittamaan, että pohjalietteen hapettuneen lietekerroksen paksuus talvella on suhteessa järven trofia-asteeseen. Oligotrofisessa järvessä on hapettunut liete-



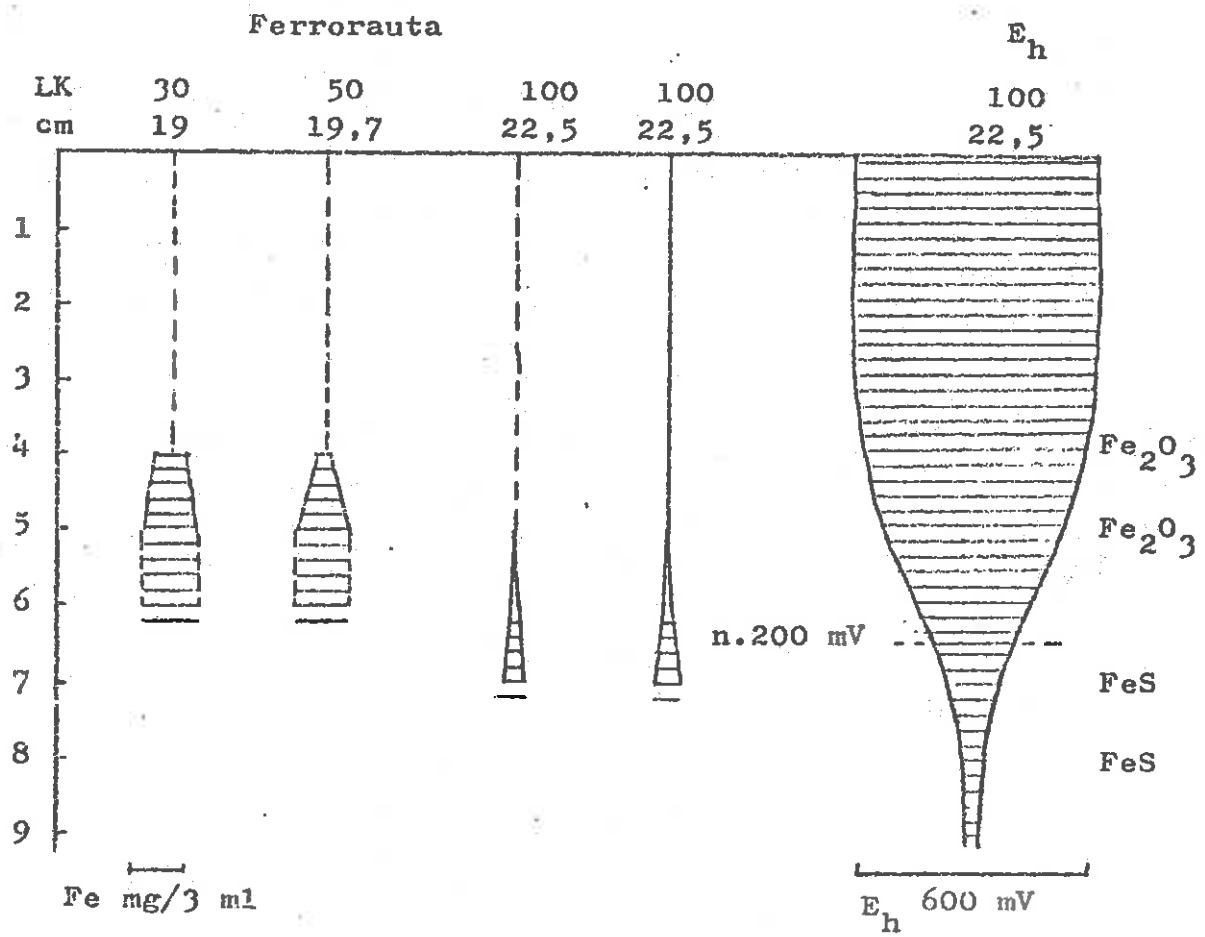
Kuva 11. Kaavapiirros hapetus-pelkistysasteen (mV) kerrostuneisuudesta kutualueella = Selkärinne ja kutualueen ulkopuolella = Syvänne 30 m. Mittaukset 1 cm välein lietteen pinnasta = LK.

kerros paksu (MORTIMERin aineistossa 4,0 cm) ja eutrofisissa ohut (MORTIMER 0,7 cm). Rajakerroksena hän on käyttänyt lietetasoa, missä hapetus-pelkistyspotentiaali on +200.

Puruveden kutupaikkojen ja syvänteen hapetus-pelkistysasteen kerrostuneisuuden kuvaajat on piirretty mittaustulosten keskiarvojen perusteella ja korjaus normaalivetyelektroditasoon on tehty lisäämällä keskiarvoon +250 mV (Kuva 11). Mittaustulosten keskimääräinen E_h-taso on karkeasti ottaen hieman yli 100 mV korkeampi kuin MORTIMERin ja HAYESin (1958) vastaavantyyppisistä järvistä julkaisemat mittaustulokset. Jos otetaan huomioon vielä edellämainittu happamuudesta aiheutuva tasoero, niin hapettuneen ja pelkistyneen lietteen voidaan määrittää MORTIMERin menettelyä vastaten noin + 300 mV potentiaalitason kohdalta. Hapettunut kerros Selkärinteen kutupaikalla on tätä menettelyä käyttäen noin 8 cm paksuinen ja syvänteessä noin 4 cm paksuinen.

MORTIMER on osoittanut, että hapettuneen ja pelkistyneen lietteen rajakerroksessa, siis tason +200 mV alapuolella, rauta esiintyy pelkistyneessä ferromuodossa. Tätä hyväksikäyttäen voidaan arvioida suoritettujen hapetus-pelkistyspotentiaalin mittausten tasoeroa MORTIMERin tuloksiin. Taulukossa 20 on esitetty havaintopari Selkärinteen alemmalta kuturinteeltä (22,5 m kuva 12), jossa lieteprofiilit ovat mahdollisimman tarkoin vertailukelpoiset.

Ferrorautaa alkaa esiintyä lietteessä 6 cm syvyydestä alkaen, jossa E_h elektrodikertoimella korjattuna on 282 mV. Jos otetaan huomioon vielä edellämainittu pH-tason summittainen korjaus (-60 mV) on ferroraudan esiintymistaso varsin lähellä E_7-tasoa + 200 mV (E_7 = tasolle pH 7 korjattu E_h).



Kuva 12. Ferrorauta- ja E_h-kerrostuneisuus pohjalietteessä Selkärinteen alapuolella. 30, 50 ja 100 ilmaisevat näytekohdan etäisyyden (m) tutkimusalueesta K (vert. kuva 10), 19, 19,7 ja 22,5 = näytekohtien syvyydet m, LK = lietekerroksen etäisyys lietteen pinnasta cm, Fe_2O_3 = punaruskea kerros, FeS = musta kerros.

Kyseisen alueen lieteprofiileissa oli jo silmämääräisesti helposti havaittavissa kerroksellisuus. Noin 4-5 sm syvyydessä oli pintalietteen vaaleasta sävystä selvästi poikkeava punaruskea kerros, joka ilmeisesti on ferrioksidia (HAYES ym 1958). Mustaa, ilmeisesti ferrosulfidin värjäämää lietettä esiintyy 7-8 sm syvyydessä, jossa hapetus-pelkistyspotentiaali laskee jyrkästi. Sulfaalin pelkistys sulfidiksi tapahtuu täydellisesti E_7-tason 60 mV alapuolella (MORTIMER 1942), joten E_h-mittaukset sopivat tässäkin suhteessa varsin hyvin kerroksellisuudesta tehtyihin havaintoihin.

Taulukko 20. Hapetus-pelkistyspotentiaali- ja ferrorautakerrostuneisuus kutualueella (Rinne 23 = Ka, 22,5 m, huhtik. 1970).

Liete-kerros cm	E_h mV	Ferro-rauta	Kerroksellisuus
1	640	0,02	
2	636	0,01	
3	634	0,01	
4	550	0,01	ferrioksidi
5	462	0,03	ferrioksidi
6	282	0,15	
7	114	0,35	ferrosulfidi
8	60		ferrosulfidi
9	41		
10	30		

Hapetus-pelkistyspotentiaalin ja ferroraudan kerrostuneisuuden toteamisella on varsin yhtäpitävästi voitu todeta, että hapettuneessa tilassa oleva pintalietekerros on selvästi paksumpi kutualueilla kuin syvänteessä. Kenttämenettelynä ferroraudan määrittäminen eri lietekerroksista näyttää tarjoavan verraten lupaavan menetelmän pohjalietteen hapetus-pelkistystilan arvosteluun. On mielenkiintoista todeta, että syvänteen profiileissa, joista 7 cm tason alapuolelta on saatu varsin alhaisia E_h-mittaustuloksia, esiintyy myös rautaa runsaasti. Kutualueilla vastaavalla lietetasolla ferrorautaa esiintyy selvästi vähemmän tai ei ensinkään lietteessä ja vastaavasti pelkistystaso ei ole yhtä alhainen kuin syvänteen profiileissa.

VI TULOSTEN TARKASTELU

Viljelymenetelmillä saadaan pohjalietteen bakteeripopulaatiosta esille suhteellisen pieni osa (HAYES ja ANTHONY 1959, RODINA 1963). Käsittelystä ja pohjalietteen epätasaisuudesta johtuen tulokset yleensä aina ovat karkeahkoja suuruusluokkaa osoittavia suureita. Puruveden pohjalietteestä saatuja tuloksia voidaan pitää varsin hyvin samaa suuruusluokkaa edustavina niissä tapauksissa, joissa pohjaliete on laadullisesti todettu vertailukelpoiseksi. Maljahajoitusmenetelmällä määritelty bakteeritiheys tutkimusalueen pohjalietteessä oli 0,1-1,0 milj. kpl/g tuoretta lietettä. THG-alustan kaikkien näytteiden keskimääräisen tuloksen perusteella saatiin tuoreen lietegramman bakteerimääräksi 0,675 milj. kpl; THG-alustalta vastaavasti 0,285 milj. kpl. Liemiviljelmien perusteella päädyttiin samaa suuruusluokkaa edustaviin bakteeritiheyksiin.

Kutupaikkojen ja syvänteen bakteerimäärissä ei voitu todeta merkittäviä eroavuuksia. Selkärinteen kutupaikalla kiinteiden elatusalustojen perusteella laskettu keskimääräinen bakteeritiheys on 0,6 milj. kpl/g tuoretta lietettä (vaihteluväli 0,3-1,1 milj.). Syvänteessä vastaava keskimääräinen bakteeritiheys on 0,3 milj. kpl/g (0,2 - 0,5 milj.). Mäntyrannan kutupaikalla pohjalietteen bakteerimäärä on merkittävästi pienempi kuin Selkärinteellä ja syvänteessä. Tämä johtuu ilmeisesti pohjalietteen laadussa todetuista eroista.

Pohjalietteen kuiva-ainepitoisuudeksi todettiin noin 10 %, joka tosin jonkin verran vaihtelee eri näytteissä. Mäntyrannan kutupaikalla pohjan pintalietteen kuiva-ainepitoisuus on hieman korkeampi kuin kahden muun tutkimusalueen pintalietteessä. Kuiva-

ainepitoisuuden erot eivät kuitenkaan oleellisesti muuta kokonaiskuvaa pohjalietteen bakteerimäärästä, vaikka käytetäänkin keskimääräistä kuiva-ainepitoisuutta laskettaessa bakteeripopulaatioita kuiva-ainegrammaa kohden. Bakteerimäärä kiinteiden alustojen keskiarvojen perusteella on siis 3-7 milj. kpl/g kuiva-ainetta; Selkärinteen kutupaikalla noin 6 milj. ja syvänteessä noin 3 milj. kpl/g k.a. Koko aineiston äärirajoina ovat arvot 1-10 milj. kpl/g k.a.

Järvien pohjalietteen kokonaisbakteerimääräksi on RODINA (1963) todennut pyöristettyinä ääriarvoina ilmaisten alaraja 0,2-1 milj. kpl/g ka. yläraja 1-10 milj. kpl/g ka. Suoralla laskennalla hän on päätynyt arvioihin, joissa pohjalietteen bakteerimäärä on tavallisimmin alueella 5-10 miljardia kpl/g ka. Eriejärven lietteen tutkimuksissa on saatu bakteerimäärät 7-18 milj. kpl/g ka lisäksi anaerobeja 0,1-0,3 milj. kpl/g ka (WEEKS 1944). Jokisedimenteistä ovat KAISER ja LAUREN (1964) saaneet 9-15 milj. bakteeria kuiva-ainegrammassa "puhtaiksi" määritellyistä lietteistä. " Likaantuneiksi" luokitelluissa lietteissä ja vertailuna olleessa puutarhamaassa laskettiin olleen bakteereita 250-450 milj. kpl/g ka. Viimeksimainitut tutkijat totesivat, että mikrobiologinen aktiivisuus, s.o. bakteereiden lukumäärä, ei näytä olevan riippuvainen lietteen orgaanisen aineen määrästä. RODINA (1963) on sitävastoin todennut, että bakteerimäärä järvisedimenteissä korreloi selvästi orgaanisen aineen suhteen. Orgaanisen aineen määrä hänen aineistossaan vaihteli 4-20 % kuiva-aineesta. Sädesieniä, Streptomyces- ja Micromonospora-sukuihin kuuluvia, Eriejärven aerobisesta mikrobipopulatiosta arvioitiin olevan noin 12 % (WEEKS 1944). Puruveden pohjalietteessä sädesieniä on todettu

noin 20.000 - 100.000 kpl/g ka. Anaerobisia bakteereita on lietteessä n. 20 000 - 60 000 kpl/g ka.

Varsin laajamittaisessa tutkimuksessaan Kanadan järvistä ovat HAYES ja ANTHONY (1959) arvioineet pohjalietteen bakteerimääriä 16 eri järvestä. Tutkimuksen kohteena olevat järvet ovat yleensä melko pieniä ja limnologisilta piirteiltään varsin erilaisia. Lietteen bakteerimäärä paria poikkeusta lukuunottamatta on välillä 0,1 - 1,4 milj. kpl/ml. Mikroskooppilaskennalla saatiin keskimäärin 111 kertaa suurempia bakteerimääriä. Suurimmassa tutkituista järvistä Grand-järvessä (1740 ha), pohjalietteen bakteeriston "standin crop" on vain 0,2 milj. kpl/g ka., vaikka järvi limnologisilta piirteiltään varsin hyvin vastaa Puruvettä.

Pohjalietteen bakteerimäärä on riippuvainen järven kemiallisfysikaalisista ominaisuuksista, jotka määräävät sen tuotantobiologisen tyypin. Tyyppiluokittelun kannalta eräitä tärkeimpiä suureita, kuten veden sisältämän mineraalisuolojen määrää, väriä ja sameutta, tarkastelemalla ja vertaamalla pohjalietteen bakteeristoa eri tyyppisissä järvissä, HAYES ja ANTHONY (1964) ovat esittäneet 25 järven aineiston nojalla seuraavan riippuvuussuhteen:

$$\log \text{bakteerit} = 0{,}568 + 0{,}513 \log \text{väri} + 0{,}019 \text{ alkaliniteetti}$$

jossa bakteerimäärä ilmaistaan pesäkkeinä lietteen kuiva-ainegrammaa kohden, väri Pt mg/l ja alkaliniteetti kalsiumkarbonaattina mg/l (titrattu metylioransilla). Puruveden pohjalietteen bakteeriston "standin crop" olisi tätä kaavaa käyttäen noin 0,01-0,02 milj. kpl/g ka. Nyt saadut bakteerimäärät ovat siis muutamia satoja kertoja "liian suuria" Pohjois-Amerikan järviin verrattuna. On

mielenkiintoista todeta, että e.m. tutkijat mikroskooppista laskumenettelyä käyttäen ovat päätyneet pohjalietteen bakteeristossa suuruusluokaltaan suunnilleen Puruveden tasoa vastaaviin tuloksiin, jotka saatiin viljelymenettelyllä ja talvisaikaan. On aivan ilmeistä, että Puruvedestä saadut huomattavan korkeat bakteerimäärät pohjalietteessä Pohjois-Amerikan järviin verrattuna johtuvat viljelytekniikan erilaisuudesta. Tässä työssä käytettyjä työmenetelmiä voidaan siis pitää varsin onnistuneina. Edellä lueteltuihin RODINAn, WEEKSin ja KAISER ja LAURENin tuloksiin verrattuna Puruvedestä saadut bakteerimäärät ovat korkeahkoja ottaen huomioon järven oligotrofisen luonteen ja sen, että näytteet otettiin talvella.

Muikun kutupaikkojen sijaintia arvosteltaessa on johdonmukaista lähteä olettamuksesta, että pohjalietteen laatu ratkaisevasti määräisi sen sijainnin. Tämän tutkimuksen perusideana oli taas pyrkiä pohjalietteen mikrobipopulaatiota tutkimalla toteamaan mahdollinen ero pohjan laadussa kutualueella ja sen ulkopuolella. Mikään tutkituista bakteeriryhmistä ei osoita selviä eroja vertailtaessa tuloksia po. suhteessa. Päinvastoin sekä bakteeritutkimusten että sädesieniviljelmien perusteella pohjan laatu Selkärinteen kutupaikalla ja syvänteessä kutualueen ulkopuolella on hyvin samanlaatuista. Pohjalietteen aineskoostumuksessa ei ole myöskään niin selviä eroja, että kutupaikan valinnan voisi olettaa tapahtuvan näköaistin perusteella.

Pohjalietteen hapetus-pelkistysasteen kerrostuneisuudessa sen sijaan on todettavissa selvät erot syvänteen ja kutualueiden välillä. Hapettunut lietekerros on selvästi paksumpi kutualueilla kuin syvänteessä. Tässä yhteydessä mainittakoon, että Oulujärvellä

hapettuneen lietekerroksen paksuus kutupaikalla oli vain noin 1 cm keväällä 1970 tehtyjen ferrorauta-analyysien perusteella arvioiden. Hapettuneen lietekerroksen paksuus ei ole siis ilmeisestikään muikun kutupaikkoja luonnehtiva vakiosuure vaan sen perusteella kunkin järven muut olosuhteet huomioonottaen voidaan arvioida kutupaikan valintaan vaikuttavia tekijöitä. Puruvedessä rinteen muodolla näyttää olevan tärkeä merkitys kutualueen määräytymisessä. Toistaiseksi ei kuitenkaan ole selviä tutkimustuloksia siitä, onko kutupaikka tietoisesti valittu rinteen lähiympäristöstä poikkeavan jyrkkyyden perusteella vai onko tietyt rinteet todettu kutualueiksi vain siitä syystä, että pohjan suotuisten olosuhteiden vuoksi mätimunat eivät ole tuhoutuneet. Yleisesti ottaen muikun kutupaikat ovat Puruvedessä suhteellisen suppeilla alueilla tietyntyyppisillä rinteillä. Mätitiheydestä tehdyt havainnot antavat jossakin määrin viitteitä myös siitä, että tärkein kutupaikka sijoittuu rinteen taitekohtaan, jossa pelkistynyt kerros on verraten syvällä lietteessä.

Syvänteessä ja tietyillä kohdilla lähellä kutupaikkaakin pelkistynyt kerros on suhteellisen lähellä pohjalietteen pintaa. On mahdollista ja suorastaan todennäköistä, että syvänteessä lietteen pintakerroksiin tulee alhaalta päin sellaisia mikrobiologisen hajoitustoiminnan välituotteita, jotka ovat joko suorastaan myrkyllisiä alkiolle tai aiheuttavat lietteen pinnassa sellaisia reaktioita, että mätimunat kuolevat hapenpuutteeseen. Pohjan typpiaineenvaihdunnassa on ammoniakin ja nitriitin esiintymisellä

keskeinen merkitys. Molemmat ovat kaloille verraten myrkyllisiä. Näitä yhdisteitä alkaa esiintyä vapaina huomattavasti korkeammalla hapetus-pelkistystasolla kuin ferrorautaa. Nitraatin pelkistymisen nitriitiksi ilmoitetaan tapahtuvan tasolla 450-400 mV (NO_3 - NO_2) ja siitä edelleen pelkistystuotteena alkaa esiintyä ammoniakkia 350 mV tasolta alaspäin (JÄRNEFELT 1958). Näyttää myös täysin mahdolliselta, että hajaantumistuotteiden perusteella kalat voivat aistia pohjan laatua ja valita kutualustan sen perusteella. Tältä pohjalta näyttäisi olevan kutupaikkojen valintaperusteet johdonmukaisesti selvitettävissä. Tämän tutkimuksen yhteydessä ei kuitenkaan voitu todeta pohjalietteen typenkierrossa sellaisia eroja, joiden perusteella voitaisiin päätellä syvänteen ja kutualueen erilaisuutta tässä suhteessa.

Kun pohjalietteen bakteerimäärä myös kutualueella on voitu todeta varsin suureksi, on ilmeistä, että pohjalietteen hapenkulutus myös kutualueilla on huomioonotettava vaara kehittyvälle mädille. Veden virtausolosuhteet kuturinteillä näyttävät aiheuttavan sen, että täällä vain verrattain harvoin on hapen mikrokerrostuneisuudessa todettavissa pohjalietteen mikrobitoiminnan tehokkuutta osoittavia merkkejä.

VII TIIVISTELMÄ

Tutkimuksen mikrobiologisessa osassa on voitu osoittaa, että kutualueella ja syvänteessä ei pohjan pintalietteen bakteerimäärissä ole merkittäviä eroja. Sädesienimäärissä ei myöskään todettu eroa vertailualueiden välillä.

Kutupaikoilla samoinkuin syvänteissäkin bakteereiden kokonaismäärä osoittautui verraten suureksi, 3-7 milj. kp kuiva-ainegrammaa kohden.

Pohjan pintalietteen kemiallis-fysikaalisilla tutkimuksilla ei myöskään voitu todeta selviä eroja kutualueiden ja syvänteen välillä. Pohjan pintalietteen kuiva-ainespitoisuus on noin 10 %. Kuiva-aineesta on kivennäisaineita yli 80 %, orgaanista ainetta 12-18 % ja rautaa 4-8 %.

Pohjalietteen hapetus-pelkistysasteen kerrostuneisuudesta tehdyillä havainnoilla voitiin todeta, että hapettuneessa tilassa oleva lietekerros kuturinteillä on selvästi paksumpi (noin 8 cm) kuin syvänteissä (noin 4 cm).

Tutkimusaineiston pohjalta on tarkasteltu mädin kehitykseen ja kutualueiden valintaan vaikuttavia tekijöitä.

KIRJALLISUUTTA

ANTHONY, E.H. and HAYES, F.R., 1964: Lake water and sediment. VII. Chemical and optical properties of water in relation to the bacterial counts in the sediments of twenty-five North American lakes. - Limnol. Oceanog., 9, 35-41.

BAXBY, P. & GRAY, T.R.G., 1968: Chitin decomposition in soil. - Trans. Br. mycol. Soc. 51, 287-292, 293-309.

DREWS, G.,1968: Mikrobiologische Praktikum für Naturwissenschaftler. - Berlin - Heidelberg - New York.

HAKKARAINEN, E., 1965: Muikusta, sen levinneisyydestä, ekologiasta ja taloudellisesta merkityksestä. - Suomen Kalastusyhdistys.

HAYES, F.R., and ANTHONY, E.H., 1959: Lake water and sediment. VI. The standing crop of bacteria in lake sediments and its place in the classification of lakes. - Limnol. Oceanog., 4, 299-315.

HAYES, F.R., and ANTHONY, E.H., 1958: Lake water and sediment. I. Characteristics and water chemistry of some Canadian east coast lakes. - Limnol.Oceanog.,3, 299-307.

HAYES, F.R., REID, B.L., and CAMERON, M.L., 1958: Lake water and sediment. II. Oxidation-reduction relations at mud-water interfase. - Limnol.Oceanog., 3, 308-317.

JOKINEN, S.,1970: Eräiden järvien pohjalietteen sädesienistä. - Laudaturtyö, Helsingin Yliopiston Mikrobiologian laitos.

JÄRNEFELT, H., 1958: Vesiemme luonnontalous. - Porvoo-Helsinki.

JÄRVI, T.H., 1919: Muikku ja muikkukannat. 1. Keitele.- Suomen Kalatalous 5, 1-289.

JÄRVI, T.H., 1942: Die Bestände der kleinen Maränen (Goregonus albula L.) und ihre Schwankungen 2. Ober- und Mittel-Keitele. - Suomen Kalatalous 17, 1-145.

JÄRVI, T.H., 1950: Die Kleinmaränenbestände in ihren Beziehungen zu der Umwelt. - Acta Zool.Fenn. 61, 1-99. (Suomen Kalatalous 20).

KAISER, P. & LAURENT, M., 1964: Evaluation des groupements fonctionnels dans cinq sédiments humiques d'eau douce. - Ann.Inst.Pasteur. Suppl. 3, 152.

KUSNETSOW, S.I., 1959: Die Rolle der Mikroorganismen im Stoffkreislauf der Seen. - Berlin 172.

LAAKSONEN, R., 1964: Vuoksen vesistön tutkimus 11.3-5.4.1963. - Vesiensuojelutoimiston tiedonantoja 8,

MANTERE-ALHONEN, S., 1969: Järvisedimenteissä esiintyvistä Athiorhodaceae-bakteerista ja niiden määrittämismetodiikasta. - Lisensiaattitutkimus, Helsingin Yliopiston Mikrobiologian laitos.

McNEIL, W.J., WELLS, R.A., and BRICKELL, D.C., 1964:Disappearance of dead pink salmon eggs and larvea from Sashin creek, Baranof Island, Alaska. - U.S. Fish and Wildlife Serv. Spec. Scient. Rep. - Fisheries 485.

MORTIMER, C.H., 1941 ja 42: The exchange of dissolved substances between mud and water in lakes. - J. Ecol., 29, 280-329 ja 30, 147-201.

NIEMISTÖ, L., 1968: Sedimenttihavainnot Helsingin merialueen pilaantumistutkimuksissa. - Limnologisymposion, 111-117 Helsinki 1969.

NISSINEN, T., 1964: Muikun kutupaikoista Puruvedessä. - Kalataloudellisen tutkimustoimiston tiedonantoja № 4, 23-28.

NISSINEN, T., 1969: Muikun kannanvaihtelu ja kasvu Puruvedessä vuosina 1960-69. (Edeltävä tiedonanto). - Kalataloudellisen tutkimustoimiston tiedonantoja, 3.

PHILLIPS, R.W., and CAMPBELL, H.J., 1962: The embryonic survival of coho salmon and steelhead trout as influenced by some enviromental conditions in gravel beds. - Fourteenth Annual Report of the Pasific Marine Fisheries Commission for the year 1961, 60-73.

RODINA, A.G., 1963: Microbiology of detritus of lakes. - Limnol. Oceanogr. 8, 388.

RUTNER, F., 1952: Grundriss der Limnologie. - Berlin.

SEPPÄNEN, H., 1967: Bakteerien merkityksestä humusvesien tuotannoss. - Limnologian lisensiaattityö.

SEPPÄNEN, P. & JOKINEN, S., 1968: Sädesienten merkityksestä sinilevien aiheuttamissa hajuilmiöissä. - Limnologisymposion, 69-87, Helsinki 1969.

SIREN, A., 1955: Suomen vesistöalueet ja keskimääräiset valumaarvot. - Hydrografisen toimiston tiedonantoja XV.

TANNER, F.W., 1950: Laboratory manual and work book in microbiology of foods. - Champaign, Illinois.

VARTIOVAARA, U., 1953: Mikrobiologian perusteita II. - Helsinki.

VESIANALYYSTOIMIKUNNAN MIETINTÖ, 1968: Komiteanmietintö 1968: B 19. - Helsinki.

VESIENSUOJELUTOIMISTON TIEDONANTOJA Nt 26, 33, 35, 1967 ja 1968, Syvännetutkimus I, II ja III.

VUORI, A., 1969: Vesistöissä esiintyvistä hiivoista. - Laudaturtyö.

WEEKS, O.B., 1944: Populations of heterotrophic bacteria in two sediment layers of Western Lake Erie. - J. Bacteriol. 47, 446.

Korjaus. Kuvien numeroinnissa virhe, kuva 7 puuttuu.

THG. Puruvesi, Hummonselkä. Pesäkkeiden lukumäärä kahdella rinnakkaismaljalla laimennuksissa -3 - -6 näytepisteittäin eri näytteenottokerroilla.

	K_{1-5} 12.12. -69		M_{1-5} 15.12. -69		S_{1-10} 18.12. -69	
-2						
-3	596	386	506	65+Hop+B.m.	336	369
-4	125	21	85	48	103	50
-5	22	9	6	3	14	4
-6	0	2	0	1	3	0
	19.2. -70		21.2. -70		20.2. -70	
-2						
-3	218+ Hop	454	79	125	B.m.	B.m.
-4	72	63	11	10	38	70
-5	9	7	1	2	3	11
-6	0	0	0	0	1	1
	25.4. -70		25.4. -70		27.4. -70	
-2						
-3					237	291
-4	105+2 Ho	115	105	96	54	41
-5	9	13	7	11	2	6
-6			1	1	1	0

Selityksiä: Ho = homepesäke, Hop = peittävä homekasvusto, B.m. = Bacillus-kasvusto

Liite 1.

Liite 2.

LTHG. Puruvesi, Hummonselkä. Pesäkkeiden lukumäärä maljoilla.

	K_{1-5}		M_{1-5}		S_{1-10}	
	12.12. -69		15.12. -69		18.12. -69	
-2						
-3	426	410	591	193 + B.m.	854	630+ B.m.
-4	49+ B.m.	94	102+Ho	53+2 Ho	257	214
-5	12+Hop	17	24	26	39	41
-6	2	1+ Ho				
	19.2. -70		21.2. -70		20.2. -70	
-2						
-3	369	Hop	36	68	245	161
-4	37	72	5	18	32	75
-5			0	1+ Ho	2	4
-6						
	25.4. -70		25.4. -70		27.4. -70	
-2					+B.m.	+B.m.
-3	245	226	322	187+ Hop	181	192
-4	73	67	54	92	34	28
-5					1+Ho	7
-6			2	0		

Selityksiä: Ho = peittävä homekasvusto, B.m. = Bacillus-kasvusto.

Liite 3.

SKit. Puruvesi, Hummonselkä. Kitiiniä liuottavien pesäkkeiden lukumäärä maljoilla

	K_{1-5}		M_{1-5}		S_{1-10}	
	12.12. 69		15.12. -69		18.12. -69	
-2	103	112	56	14+ Hop	75	98
-3	32	17	1	4+ Hop	32	15
-4	3	1	1	2	3	3
-5					1	0
	19.2. -70		21.2. -70		20.2. -70	
-2	28	18	5 (100-200)	15-20 (126)[1]	21	18
-3	3	2	1	1	5	3
-4	0	0	0	1	0	5
-5				0		
	25.4. -70		25.4. -70		27.4. -70	
-2	11+ Hop	32	45	3+ Hop	18	25
-3	1	10	10	5	1	4
-4	3	0	3	1	0	1
-5						

Selityksiä: Hop = peittävä homekasvusto. 1) Näytteen molemmilla rinnakkaismaljoilla todettiin vaikeastilaskettavia pieniä, mustan violettejä pesäkkeitä, jotka liuottivat heikosti kitiiniä. Näiden lukumäärä maljoilla on ilmoitettu sululissa.

Anaerobialusta. Puruvesi, Hummonselkä.

	K_{1-5}		M_{1-5}		S_{1-10}	
	12.12. -69		15.12. -69		18.12. -69	
-2	AN	AN	22/3 + k	34/3 + k	27/9	36
-3	7+k	7/6	8/3 + k	2	3	9/4
-4	/1	2	5 + k	0	1	3
	25.4. -70		25.4. -70		27.4. -70 S_{1-5}	
-2	16+k	16+k	21/1 +k	37/10 + k	19/12+k	
-3	7/5	8	9	13/3 +k	1	15
					27.4. -70 S_{6-10}	
-2					20	23
-3					5	7/2
-3					3	7/4

Selityksiä: AN = agaralusta liuennut nestemäiseksi, k = kaasunmuodostus rikkonut agaria. Kahdella luvulla merkityissä tuloksissa ensimmäinen tarkoittaa pesäkkeiden kokonaismäärää ja jälkimmäinen rautasulfidia muodostavia, mustia pesäkkeitä. Näytepaikasta S on huhtikuun näytesarjassa tavanomaista enemmän rinnakkaiskoeputkia, joiden yksityiskohtaiset tulokset on esitetty erillisinä.

Liite 5.

Lihaliemi. Viljelmien positiiviset kasvutulokset.

	K_{1-5} 12.12. -69				M_{1-5} 15.12. -69				S_{1-10} 18.12. -69			
	-3	-4	-5	-6	-3	-4	-5	-6	-3	-4	-5	-6
Kasvu	5	5	4	0	5	5	5	+1	4	5	5	2
NH_3	5	5	1+3	1	5	5	2+3	0	4	3+2	4+1	1+1
NO_2	0	2	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
NO_3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	19.2. -70				21.2. -70				20.2. -70			
Kasvu	5	5	5	3	5	5	2	0	5	5	4	0
NH_3	5	5	4+1	2	5	5	1+1	0	5	5	2+1	0
NO_2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NO_3												
	25.4. -70				25.4. -70				27.4. -70			
Kasvu	5	5	4	1	5	5	3+1	0	5	5	2	1
NH_3	5	5	4	1		5	4+1	0		5	2	1
NO_2	0	0	0	0		0	0	0		0	0	0
NO_3	0	0	0	0		0	0	0		0	0	0

Selityksiä: Jos kasvua ilmaiseva reaktio on ollut heikko, tulos on ilmaistu kahdella numerolla. Ensimmäinen numero ilmoittaa varmojen tapausten lukumäärän; + merkin jäljessä oleva numero epävarmat tapaukset. Todennäköistä bakteerien lukumäärää arvioitaessa myös epävarmat tapaukset on otettu positiivisina.

Kontrolliputkia on joka sarjassa ollut vähintäin 5. Niissä ei ole todettu yhtään kasvua osoittavaa putkea.

Liite 6.

Nitraattiliemi. Viljelmien positiiviset kasvutulokset.

	K_{1-5} 12.12. -69				M_{1-5} 15.12. -69				S_{1-10} 18.12. -69			
	-3	-4	-5	-6	-3	-4	-5	-6	-3	-4	-5	-6
Kasvu	5	5	5	2	5	5	3	2	5	5	4	0
NH_3	5	5	3+2	1	5	5	3	+1	5	5	3	0
NO_2		2	3	1+1	1	+1	4	1	1+1		2	0
NO_3	5	4	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0
	19.2. -70				21.2. -70				20.2. -70			
Kasvu	5	5	4	0	5	4	2+2	0	5	5	5	0
NH_3	5	5	2+2	+1	5	5	1+1	0	5	5	5	0
NO_2	0	0	+1	1	0	1	1	0	0	0	2+1	0
NO_3		5	3	1		4	2	0		5	3	0
	25.4. -70				25.4. -70				27.2. -70			
Kasvu	5	5	4	1	5	5	4+1	0	5	5	5	1
NH_3	5	5	4	1		5	3	0	5	5	5	+1
NO_2	0	0	2	0		0	1	0	0	1	3	1
NO_3	5	5	2	1		5	2	0	5	4	1	0

Selityksiä:

Nitraattiliemiputket, joista ei ole saatu nitraattireaktiota, on merkitty positiivisiksi putkiksi. Huomattakoon myös, että nitriitti-ioni antaa nitraattireagensilla positiivisen reaktion. Nitriitin läsnäolo on ilmoitettu reaktiotulosten mukaisena. Laimennuksissa -3 ja -4 nitraatin hajaantumistulos havaitaan useimmiten ammoniakkina; nitriittiä esiintyy yleisimmin laimennuksessa -5. Varmojen ja epäselvien reaktiotulosten merkinnässä on noudatettu samaa menettelyä kuin lihaliemiviljelmien yhteydessä on selostettu.

Kontrolliviljelmiä on kaikissa sarjoissa ollut vähintäin 5. Kasvua tai muita bakteeritoiminnan reaktiotuloksia ei näissä ole havaittu yhdessäkään tapauksessa.