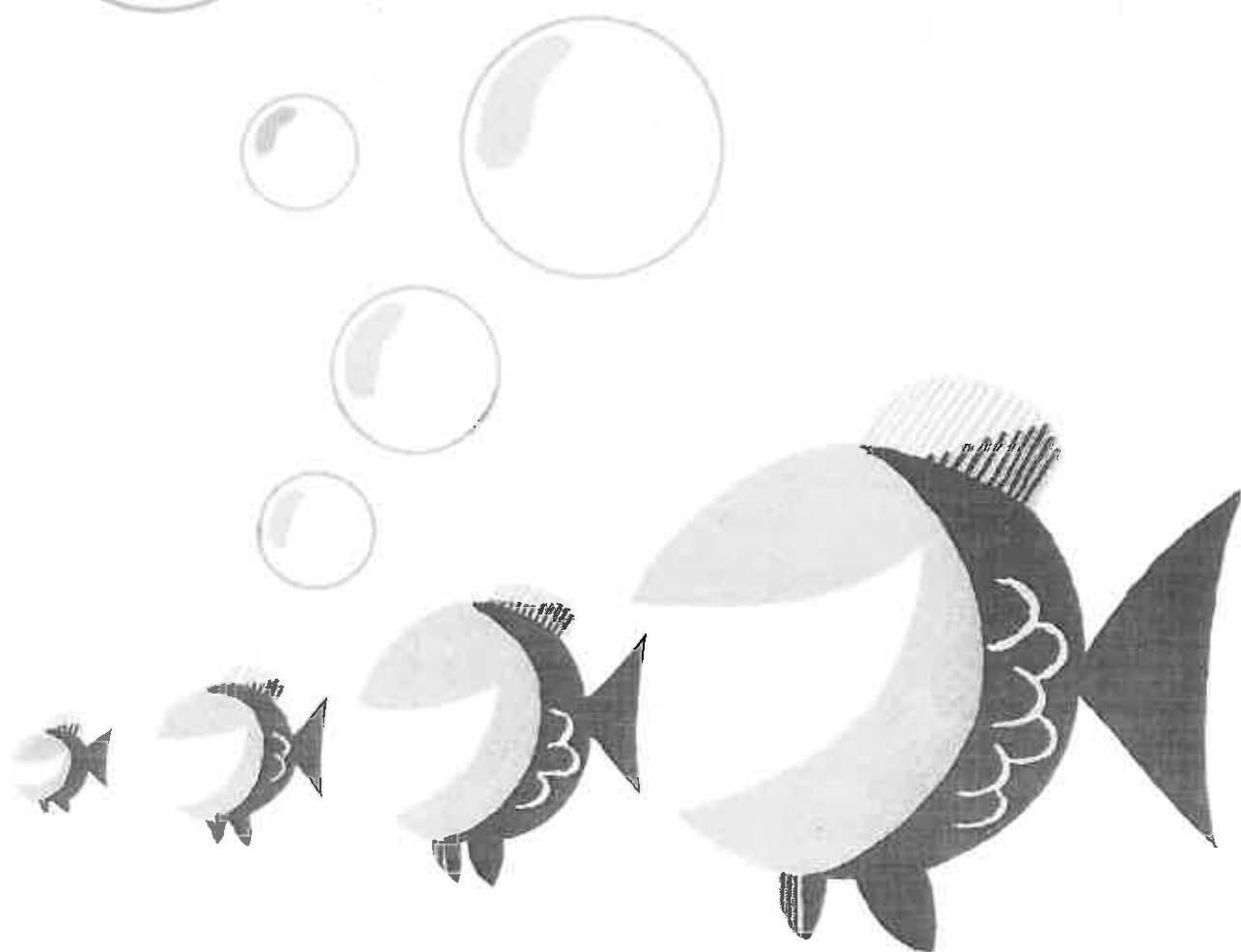


RIISTA- JA KALATALOUDEN TUTKIMUSLAITOS
KALANTUTKIMUSOSASTO



MONISTETTUJA JULKAISUJA

55
1986





RIISTA- JA KALATALOUDEN TUTKIMUSLAITOS
KALANTUTKIMUSOSASTO

MONISTETTUA JULKAISUJA

Toimittaja: Viljo Nylund. Toimitussihteerit: Marja-Liisa Koljonen, Petri Suuronen.

Julkaisun jakelusta päätetään kunkin numeron osalta erikseen.

Julkaisua koskevat tiedustelut osoitetaan Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen kalantutkimusosaston kirjastolle, PL 193, 00131 Helsinki 13.

Monistettuja julkaisuja on jatkoa sarjalle: "Maataloushallituksen kalataloudellinen tutkimustoimisto. Monistettuja julkaisuja". Kalantutkimusosaston muut julkaisusarjat ovat "Finnish Fisheries Research", "Suomen kalatalous", "Tiedonantoja" ja "Meddelanden".

Redaktör: Viljo Nylund. Redaktionssekreterare: Marja-Liisa Koljonen, Petri Suuronen.

Publikationens distribuering fastställs skilt för varje nummer.

Förfrågningar angående tidskriften riktas till bibliotekarien, Vilt- och fiskeriforskningsinstitutet, fiskeriforskningsavdelningen, PB 193, 00131 Helsingfors 13.

Tidskriften är fortsättning på "Maataloushallituksen kalataloudellinen tutkimustoimisto. Monistettuja julkaisuja". Övriga publikationsserier från fiskeriforskningsavdelningen är "Finnish Fisheries Research", "Suomen kalatalous", "Tiedonantoja" och "Meddelanden".

RIISTA- JA KALATALOUDEN TUTKIMUSLAITOS, KALANTUTKIMUSOSASTO
MONISTETTUJA JULKAISUJA

No 55

1986

RAVUN LOISEN, PSOROSPERMIUM HAECKELI HILGENDORF RAKENNE,
HAITTAVAIKUTUKSET JA TAKSONOMINEN ASEMA

Viljo Nylund

HELSINKI 1986

ISBN 951-9092-84-6
ISSN 0358-4623
Helsinki 1986
Yliopistopaino

RAVUN LOISEN, PSOROSPERMIUM HAECKELI HILGENDORF RAKENNE,
HAITTAVAIKUTUKSET JA TAKSONOMINEN ASEMA

Viljo Nylund¹

Sisälllys	Sivu
1. JOHDANTO	3
2. LOISEN MAANTIETEELLINEN ESIINTYMINEN	6
3. LOISEN ESIINTYMINEN RAVUSSA	7
4. LOISEN KEHITYSVAIHEET	8
5. AINEISTO JA MENETELMÄT	10
5.1. Näyteravut	10
5.2. Rakennetutkimukset	11
5.3. Kokomittaukset	12
5.4. Elektronimikroskooppiset tutkimukset	12
5.5. Haittavaikutuskokeet	14
6. TULOKSET	15
6.1. Fiksointi- ja värjäyskokeet	15
6.2. Happokäsittelykoe	15
6.3. Rakenne	16
6.3.1. Yleiskuvaus	16
6.3.2. Koko	17
6.3.3. Kuoren rakenne	17
6.3.4. Sisärakenne	19

¹) Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos, kalantutkimusosasto,
PL 193, 00131 Helsinki

6.4.	Esiintyminen ravuissa	19
6.5.	Haittavaikutukset	20
6.6.	Taksonominen asema	21
7.	TULOSTEN TARKASTELU	32
7.1.	Fiksointi- ja värjäyskokeet	32
7.2.	Koko	33
7.3.	Rakenne	35
7.4.	Esiintyminen	39
7.5.	Haittavaikutukset	40
7.6.	Taksonominen asema	44
8.	TIIVISTELMÄ	49
	Kiitokset	52
9.	KIRJALLISUUS	53
	LIITTEET	58

1. JOHDANTO

HAECKEL (1857) kuvasi ensimmäisenä ravun (Astacus astacus L.) kudoksista uuden tuntemattoman organismin, josta käytti nimitystä "loiseliö". Vuonna 1883 HILGENDORF ehdotti loiselle nimeä Psorospermium haeckeli. Loinen mainittiin lisäksi muutamia kertoja 1800 -luvun loppupuolella etsittäessä vuonna 1860 Pohjois-Amerikasta Eurooppaan levinneen rapuruton aiheuttajaa (ZACHARIAS 1888, GURLEY 1894, LABBÉ 1899). WIERZEJSKI (1888) esitti, että P. haeckelillä ei olisi yhteyttä rapuruttoon. Vuonna 1934 GRABDA julkaisi laajan selvityksen loisen rakenteesta ja kehitysvaiheista. Kun rapuruton aiheuttajaksi lopulta varmistettiin leväsieni (Aphanomyces astaci) (SCHÄPERCLAUS 1935, NYBELIN 1936), Psorospermium haeckeli unohtui pitkäksi aikaa.

Vuonna 1968 Ruotsissa todettiin ravusta loinen, jota epäiltiin sukkulamadon (Nematoda) muniksi (LJUNGBERG ja MONNÉ 1968). Suomessa löydettiin Pojanjärven (Hyvinkää) ravuista vuonna 1975 myös tuntemattomia eliöitä. Myöhemmissä tutkimuksissa todettiin, että molemmissa tapauksissa oli kyse HAECKELIN vuonna 1857 kuvaamasta Psorospermium haeckeli -loisesta (NYLUND ja WESTMAN 1977, 1978, WESTMAN ja NYLUND 1978a). Havainnot johtivat huonosti tunnetun loisen tutkimusten aloittamiseen uudelleen (NYLUND ja WESTMAN 1979, NYLUND ym. 1983, VEY 1979, WESTMAN ja NYLUND 1985, VRANCKX ja DURLIAT 1981).

P. haeckeliä on todettu viidessä makeanveden rapulajissa Euroopassa ja Yhdysvalloissa sekä lisäksi Psorospermium sp. järvikat-kassa (Gammarus lacustris) Neuvostoliitossa.

Suomessa Psorospermium haeckeli -loista on löydetty kymmenen järven ravuista: Pojanjärvestä (Hyvinkää) ja Valkeavesi -järvestä (Loppi) vuonna 1975 ja Hirvijärvestä (Riihimäki) vuonna 1977 (NYLUND ja WESTMAN 1977, 1978, WESTMAN ja NYLUND 1978a, 1978b). Yleisön Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitokselle lähettämien rapunäytteiden perusteella loista on todettu Ylinen -järvässä (Kihtelysvaara) ja Iso-Kivijärvestä (Ylöjärvi) vuonna 1984 sekä Sorsamojärvestä (Loppi), Iso-Korppinen -järvestä (Pielavesi), Muurikaisjärvestä (Jyväskylän mlk), Pyhäjärvestä (Yläne) ja Sumiaisjärvestä (Sumiainen) vuonna 1986.

Psorospermium -loista on yleensä hyvin suuressa osassa järven rapukantaa ja usein runsaasti tartunnan saaneen ravun eri kudoksissa (GRABDA 1934, NYLUND ja WESTMAN 1977, 1979).

P. haeckeli on pitkänomaisen soikea ja poikkileikkaukseltaan pyöreähkö läpinäkyvä muodostuma. Sen epämääräisen muotoisista levyistä muodostuva kuori on hyvin paksu ja monikerroksinen. Suuren osan loisen sisällöstä täyttävät soluliman ympäröimät erikokoiset pyöreät rakkulat (HAECKEL 1857, NYLUND ja WESTMAN 1979, NYLUND ym. 1983). Loisen rakenteen selvittämistä on suuresti vaikeuttanut paksusta ja kovasta kuoresta johtuvat fiksointi- ja värjäysongelmat (GRABDA 1934, VEY 1979).

P. haeckeliä koskevat tiedot ovat edelleen suurelta osin hyvin puutteellisia. Raputalouden kannalta tärkeitä selvitettäviä kysymyksiä ovat mm. loisen taksonominen asema, elämänkierto, erityisesti sen leviämistä ja tartuntaa koskevat seikat, haittavaikutukset ravussa, merkitys rapukannoille ja ravunviljelylle sekä

torjuntakeinot. Tämän tutkimuksen tarkoituksena on pyrkiä selvittämään P. haeckelin hienorakennetta, taksonomista asemaa ja haittavaikutuksia, jotta voitaisiin arvioida loisen merkitystä rapukannoille ja ravunviljelylle. Työ liittyy Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksessa vuonna 1967 aloitettuihin rapujen tauti- ja loistutkimuksiin.

2. LOISEN MAANTIETEELLINEN ESIINTYMINEN

P. haeckeliä on kirjallisuustietojen mukaan todettu Suomen lisäksi kuudessa maassa ja viidessä makeanveden rapulajissa seuraavasti:

- Saksassa Berliinin ympäristössä ravussa (Astacus astacus L.) (HAECKEL 1857)
- Puolassa ravussa, kapeasaksiravussa (Astacus leptodactylus Esch.) ja pohjois-amerikkalaisessa lajissa Orconectes limosus Rafinesque (WIERZEJSKI 1888, GRABDA 1934, KRUCINSKA ja SIMON 1968)
- Ruotsissa ravussa ja täpläravussa (Pacifastacus leniusculus Dana (LJUNGBERG ja MONNÉ 1968, UNESTAM 1973)
- Neuvostoliitossa Liettuan SNT:ssa ravussa (CUKERZIS 1970, MAZYLIS 1975)
- Ranskassa kapeasaksiravussa ja täpläravussa (VEY 1979, VRANCKX ja DURLIAT 1981)
- Yhdysvaltojen keskiosassa pohjois-amerikkalaisessa lajissa Cambarus (Lacunicambarus) diogenes diogenes Girard (OVERSTREET 1983).

Psorospermium -loista on todettu myös silloisessa Sleesiassa ja Galitsiassa (WIERZEJSKI 1888, ZACHARIAS 1888) sekä Itä-Preussissa (WELLMER 1911).

Lisäksi Psorospermium sp. -lajia on todettu Neuvostoliitossa Baikalin seudulla järvikatossa (Gammarus lacustris) (VORONIN 1975) ja P. lucernariae -lajia Englannissa pikarimeduusoissa (Lucernaria auricula ja L. cyathiformis) (VALLENTIN 1888).

Puolassa P. haeckeli on yleinen ja laajalle levinnyt loinen.

WIERZEJSKI (1888) ja ZACHARIAKSEN (1888) mukaan loista esiintyi ravussa yleisesti Etelä-Puolassa ja GRABDAN (1934) mukaan Keski-Puolassa Varsovan, Radomin ja Wieluńin ympäristössä. Useista järvistä kerätystä 330 ravun erästä oli 50,6 % saanut tartunnan (naaraista 50,4 % ja koiraista 50,7 %) (GRABDA 1934). KRUCINSKA ja SIMON (1968) totesivat Psorospermium -tartunnan saaneiden rapujen osuuden olevan tutkimissaan kapeasaksiravuissa 100 % ja Orconectes limosus -ravuissa 50 % Wroclavin alueella.

Ruotsissa Psorospermium -loista oli yleisesti Tukholman ympäristön järvissä. Tukholman kaupungin alueella viidestä järvestä pyydetyissä ravuissa (yhteensä 13 kpl) todettiin kaikissa P. haeckeliä. Lisäksi tutkittiin kolmessa muussa kunnassa useiden järvien rapuja. Pyydetyistä 15 ravusta 7 oli saanut Psorospermium -tartunnan (LJUNGBERG ja MONNÉ 1968).

Neuvostoliitossa Liettuan SNT:ssa P. haeckeliä todettiin 36:lla Juodisjärven 40:stä tutkitusta ravusta. Vaisetisjärvessä 19 rapua 25:stä tutkitusta oli saanut tartunnan (MAZYLIŠ 1975).

3. LOISEN ESIINTYMINEN RAVUSSA

HAECKELIN (1857) mukaan Psorospermium -loisia on ravussa eniten verisuoniston ja ruoansulatuskanavan, erityisesti suolen ympäristön sidekudoksessa. Loisia on todettu myös siittiörauhasissa (GROBBEN 1878), keskiruumiin hermosolmukkeissa (HILGENDORF 1883), silmien sidekudoksessa (WIERZEJSKI 1888), tuntosarvissa (ZACHARIAS 1888) ja hemolymfassa (SCHEER 1934). GRABDAN (1934)

mukaan loisia on ravun kaikissa kudoksissa. GRABDA vertasi lois-
ten lukumääriä ravun mahalaukun ja leukojen lihaksissa sekä
pyrstölihaksessa. Loisia oli selvästi eniten leukojen lihaksissa
ja vähiten pyrstölihaksessa. Koirilla loisia oli em. lihaksissa
2-5 kertaa enemmän kuin naarailla. Psorospermium -loisia on
harvoin saksien lihaksissa, vihreissä rauhasissa, kiduksissa,
sydämessä tai mahalaukun ja suolen seinämässä (GRABDA 1934).
P. haeckelin yleisyys ravuissa riippuu GRABDAN (1934) mukaan
rapujen koosta. Tutkimissaan ravuissa (330 kpl) loisia ei löyty-
nyt lainkaan 3 cm:ä pienemmissä yksilöissä ja 3-5 cm:n kokoluokas-
sa vain 13-17 % tutkituista ravuista oli saanut tartunnan. Tätä
suurempikokoisissa ravuissa sairastuneiden yksilöiden osuus oli
50-88 %. Myös WIERZEJSKI (1888), ZACHARIAS (1888) ja MAZYLIS
(1975) ovat todenneet, että P. haeckeliä on harvemmin pienissä
kuin suurissa ravuissa. VEY (1979) on todennut loisia kapea-
saksiravuissa sekä kolmen kuukauden että kolmen vuoden ikäisissä
yksilöissä.

4. LOISEN KEHITYSVAIHEET

Useimmiten P. haeckeli on ravun kudoksissa soikeassa, paksukuori-
sessä muodossaan, jossa kuoren sisällä on erikokoisia rakkuloita.
Tätä muotoa on tartunnan saaneissa ravuissa massoittain kaikkina
vuodenaikoina. Osa loisista on edellistä muotoa pienempiä ja pyö-
reämpiä. Nämä saattavat olla loisen nuoria kehitysvaiheita
(GRABDA 1934). HAECKEL (1857) ei todennut soikean, paksukuorisen
elämänvaiheen lisäksi muita kehitysvaiheita huolimatta laajoista
ravun kudosten rakennetta koskevista tutkimuksistaan.

ZACHARIAKSEN (1888) havaintojen mukaan P. haeckelin kuoren toinen pää aukeaa loisen ollessa kypsä. Tällöin kuoren keskikerroksesta kehittyneet rakkulat (8-10 kpl) purkautuvat ulos. Kussakin "lisääntymisitiössä" on tuma. Vähitellen pituuskasvun ja kuoren kehittymisen jälkeen "itiö" alkaa muistuttaa emoyksilöä.

ZACHARIAS (1888) piti loisen yksinkertaista elämänkiertoa selvitettyinä. GRABDA (1934) totesi P. haeckelillä yksi- ja kaksitumaisen "amebamaisen" kehitysvaiheen. Yksitumaiset muodot olivat kooltaan 7,5 x 9,6 µm. Suuremmissa muodoissa tumia oli kaksi, halkaisijaltaan 20-25 µm. Tuman jakautumisen jälkeen kuori alkaa vähitellen kehittyä. GRABDA löysi amebamaisia kehitysvaiheita vain kahden koirasravun vatsalihaksista syyskuussa ja tammikuussa. Ravuissa oli kaikkia loisen elämänvaiheita yhtäaikaa. Loinen lisääntyy ilmeisesti syksyllä ja kehitys on pysähdyksissä talvelle. Eniten loisia oli ravuissa huhti- toukokuussa ja elo- marraskuussa (GRABDA 1934).

GRABDA (1934) ei mainitse mistä P. haeckelin amebamaiset nuoret kehitysvaiheet syntyvät ja miten loinen leviää ravusta toiseen. VEYN (1979) mukaan P. haeckeli siirtyy tartuntakokeissa huonosti terveisiin rapuihin. Tehdyissä kokeissa murskattua loismassaa ruiskutettiin terveisiin rapuihin, syötettiin sairaita rapuja terveille ja pidettiin terveitä ja sairaita rapuja samassa altaassa. Koeravuista yhdellä prosentilla kehittyi heikko tartunta ruiske- ja syöttömenetelmillä. SCHEER (1934) syötti sairaita rapuja Orconectes limosus -ravulle, mutta tartuntaa ei tapahtunut.

5. AINEISTO JA MENETELMÄT

5.1. Näyteravut

Tutkimus on tehty Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen kalantutkimusosastossa osana laitoksen rapujen tautien ja loisten tutkimusohjelmaa. Työ sai alkunsa tutkimuslaitokselle heinäkuussa 1975 tuodusta ravusta ja heinäkuussa 1976 tutkittavaksi toimitetuista kolmesta ravusta, jotka oli pyydetty Pojanjärvestä (Hyvinkää). Syynä tutkimuspyyntöön oli rapujen selkäkilven reiät.

Tutkimuksessa käytettyjä rapuja pyydettiin ja näytteitä käsiteltiin useana vuotena eri vuodenaikoina. Koeravut pyydettiin Pojanjärvestä, joka on rehevöityvä 32 ha:n järvi. Sen suurin syvyys on noin 6,5 m ja rannoista noin 3/4 on matalahkoa, pehmeäpohjaista ruovikkoa. Järven vesianalyysitulokset on esitetty liitteessä 1. Eräissä kokeissa käytetyt terveet kontrolliravut pyydettiin Kauhajärvestä (Luopioinen). Koeravustuksissa käytetyt merrat olivat teräsrousirunkoisia putkimertoja, joissa käytettiin särki-syöttiä. Pyydykset asetettiin selkäsiimassa 5 m:n välein 0,5-1,2 m:n syvyiseen rantaveteen. Pieniä rapuja pyydettiin sähkökalastuslaitteella, jota käytettiin 750 V:n jännitteellä. Koeravustuksia tehtiin Pojanjärvestä 17.-18.11.1977, 5.-7.6.1978, 4.-7.9.1978 ja 12.-14.10.1981. Rapuja saatiin yhteensä 141 kpl (liite 2). Lisäksi suoritettiin 17.-18.1977 koeravustus Pojanjärven läheisyydessä olevassa Hirvijärvestä (Riihimäki). Rapuja saatiin 20 kpl (liite 2). Koeravut säilytettiin 1 ja 2 m²:n lasikuitualtaisissa Evon kalastuskoeasemalla ja kalanviljelylaitoksella sekä Porlan kalanviljelylaitoksella.

5.2. Rakennetutkimukset

P. haeckelin paksusta kuoresta johtuvien fiksointi- ja värjäysvaikeuksien vuoksi kokeiltiin useita menetelmiä. Ensimmäisessä kokeessa näytteet otettiin 7.9.1978 pyydetyistä ravusta (koiras, selkakilven pituus 40 mm) 14.7.1979. Näytteet otettiin ravun selkakilven sisäpinnalta ja ne fiksoitiin 4 %:lla formaliinissa, (2 tuntia), Bouinin liuoksessa (3 vrk) ja Carnoy'n liuoksessa (3 vrk). Heidenhainin Susa liuoksessa näytteitä fiksoitiin sekä huoneenlämmössä että 95 °C:ssa 5 ja 12 tuntia (GRABDA 1934, BURCK 1969). Tavanomaisen alkoholidehydraation jälkeen näytteet valettiin paraffiiniin ja leikattiin mikrotomilla 4, 6 ja 8 µm:n paksuiksi leikkeiksi. Ne värjättiin Giemsa -liuoksella, Heidenhainin Azan liuoksella, Heidenhainin hematoksyliinillä ja Mayerin hemalumilla, jossa leikkeitä pidettiin 1 tunti ja 16 vrk (GRABDA 1934, WELCHER 1942, GURR 1962). Nousevan alkoholisarjan kautta leikkeet vietiin ksyleeniin. Peitinlasi kiinnitettiin Entellanilla. Toisessa kokeessa ravusta (koiras, selkakilven pituus 55 mm, pyydetty 14.10.1981) 28.3.1982 otetut näytteet fiksoitiin 4 %:ssa formaliinissa, formaliinissa, johon lisättiin 2 % detergenttiä Triton X-100 ja 1 % kaliumkloridia, formaliinissa (4 %), johon lisättiin 2 % dimetylsulfoksidia sekä kaliumpermanganaatissa (1 %), johon lisättiin 2 % Triton X-100:aa. Fiksointiaika formaliinipohjaisissa liuoksissa oli 24 tuntia ja kaliumpermanganaatissa 30 min (GARRISON, R. 9.9.1981, kirjeellinen tiedonanto). Leikkeet värjättiin alsiansini-PAS -menetelmällä (PEARSE 1968). Dehydrointi, paraffiinivalu, nouseva alkoholisarja ja peittäminen suoritettiin kuten edellisessä kokeessa.

Loisen paksun ja kovan kuoren kestävyuden selvittämiseksi tehtiin happokäsittelykoe. Loisia sisältävää sidekudosta ravun selkakilven sisäpinnalta asetettiin petrimaljoihin, joissa oli 65 %:sta typpihappoa, 10 %:sta natriumhypokloriittia tai Pojanjärven vettä. Näytteet tutkittiin mikroskoopissa ennen koetta, sekä tunnin, kahden tunnin, vuorokauden ja kahden vuorokauden kuluttua kokeen alkamisesta.

5.3. Kokomittaukset

P. haeckelin koko mitattiin (n = 216) 7.9.1978 pyydetyistä ravusta (koiras, selkakilven pituus 59 mm) 19.1.1979 otetuista näytteistä. Ravun selkakilven sisäpinnalta otetut elävät loiset mitattiin niiden kuoren selvästi näkyvästä toisesta kerroksesta, ns. halkeilleesta kerroksesta. Mittaukset tehtiin vesipreparaatista tutkimusmikroskoopin okulaarimikrometrillä 360 -kertaisella suurennuksella.

5.4. Elektronimikroskooppiset tutkimukset

Psorospermium -loisen elektronimikroskooppisen rakenteen kuvaus perustuu 18.11.1977 pyydetyyn ravun (koiras, selkakilven pituus 56 mm) selkakilven sisäpinnalta otettuun näytteeseen. Loisnäytteitä fiksoitiin EM -tutkimuksia varten myös 9.5., 29.6., 14.7. 1979 ja 14.4.1982, mutta tulokset olivat huonompia kuin vuonna 1977. Näytteet esifiksoitiin 1,5 tuntia 3 % glutaraldehydillä 0,1 M fosfaattipuskurissa (pH 7,2). Läpivalaisuelektronimikroskopiaa (TEM) varten näytteitä jälkifiksoitiin kolminkertaisen puskurilla tehdyn pesun jälkeen 2 tuntia 1 % osmiumtetroksidilla

samassa puskurissa. Nousevan alkoholisarjan kautta näytteet vietiin propylenoksidin ja valettiin muoviin (Epon 812). Ultramikrotomilla (LKB I) muovista leikatut ohutleikkeet jälkivärjättiin uranyyliasetaatilla ja lyijysitraatilla. Pyyhkäisyelektronimikroskopiaa (SEM) varten näytteet esifiksoitiin kuten edellä ja nousevassa alkoholi- ja amyliasetaatissarjassa tehdyn dehydroinnin jälkeen suoritettiin lopullinen kuivaus "critical-point"-menetelmää (ANDERSON 1951) käyttäen Aminco -laitteessa. Näytteiden pinnan hiilestys ja kultaus tehtiin Balzersin laitteella (Micro-BA 3). TEM -kuvat otettiin JEM-100B elektronimikroskoopilla 80 kV:n kiihdytysjännitteellä ja SEM -kuvat JSM-U3 elektronimikroskoopilla 15 kV:n kiihdytysjännitteellä.

Läpivalaisuelektronimikroskopiassa käytetty fiksointimenetelmä johti harvoin tyydyttäviin tuloksiin. Tämän vuoksi kokeiltiin kolmea muuta menetelmää. Näytteet otettiin 14.10.1981 pyydetyistä ravusta (koiras, selkakilven pituus 59 mm) 14.4.1982. Näytteet fiksoitiin glutaraldehydillä, johon lisättiin 2 % Triton X-100:aa ja 1 % kaliumkloridia, glutaraldehydillä, johon lisättiin 2 % dimetylsulfoksidia ja kaliumpermanganaatilla, johon lisättiin 2 % Triton X-100:aa. Fiksointiaika glutaraldehydillä oli 75 min. ja kaliumpermanganaatilla 30 min. (GARRISON, R. 9.9.1981, kirjeellinen tiedonanto). Jälkifiksointi tehtiin osmiumtetroksidilla. Leikkeet käsiteltiin PATAg -värjäyksellä (THIERY 1967). Tutkimukset tehtiin Helsingin yliopiston elektronimikroskopian laitoksessa.

5.5. Haittavaikutuskokeet

Mahdollisuuksia ottaa toistuvia loisnäytteitä elävistä ravuista sekä P. haeckelin ravussa mahdollisesti aiheuttamia haittavaikutuksia tutkittiin ns. rapsutuskokeella. Kuuden Psorospermium-tartunnan saaneen Pojanjärven ravun selkäkilven sisäpinnan sidekudoksesta otettiin varovasti pieni näyte (noin 4 mm²) ohuilla pinseteillä. Vastaavat näytteet otettiin kuudesta terveestä Kauhajärven ravusta. P. haeckelin esiintyminen tarkistettiin näytteistä ennen koetta ja ravuista kokeen jälkeen. Rapuja säilytettiin 1 m²:n lasikuitualtaassa Evon kalastuskoeasemalla ja kalanviljelylaitoksella. Veden läpivirtaus oli noin 20 litraa tunnissa ja veden lämpötila vaihteli kokeen aikana 0,1 ja 21 °C:n välillä. Koe aloitettiin 26.4.1978 ja lopetettiin 17.1.1979. Myöhemmin koe toistettiin Helsingissä. Rapuja pidettiin 112 litran akvaarioissa, joissa käytettiin aktiivihiihliisuodattimella suodatettua Helsingin vesijohtovettä. Veden läpivirtaus akvaarioissa oli noin 10 litraa tunnissa. Veden lämpötila oli kokeen aikana 8,2 - 19,1 °C. Ravut käsiteltiin kuten edellisessä kokeessa. Yhdessä akvaariossa oli 8 sairasta Pojanjärven rapua ja 11 tervettä Kauhajärven rapua ja toisessa akvaariossa vastaavasti 7 sairasta ja 8 tervettä kontrollirapua. Kolmannessa akvaariossa oli 15 Pojanjärven sairasta rapua, joista ei otettu näytettä. Koe aloitettiin 13.4.1982 ja lopetettiin 15.9.1982.

Valokuvat tekijän, lukuunottamatta kuvia 16 ja 17.

6. TULOKSET

6.1. Fiksointi- ja värjäyskokeet

Kokeilluista fiksointinesteistä millään ei saatu hyvää ja aina onnistuvaa tulosta. Suuresta leikemäärästä huolimatta vain muutama loisyksilö säilyi edes osittain koossa. Useimmiten loisten kuori hajosi pieniksi sirpaleiksi ja sisältö hävisi leikkeistä täysin. Parhaiten onnistuneissa leikkeissä sisältö oli osittain kuoren sisällä tai vieressä. Bouinin ja Carnoyn liuokset fiksoivat loisen kuoren ja kaliumpermanganaatti fiksoi sisällön hieman paremmin kuin muut fiksointinesteet. Leikkeiden paksuudella ei ollut havaittavaa vaikutusta tuloksiin. Myöskään fiksointinesteisiin lisätyt dimetylsulfoksidi tai Triton X-100 eivät parantaneet fiksointitulosta. Käytetyistä värjäysaineista kaikilla saatiin tyydyttävät tulokset. Havainnollisimpia olivat Heidenhain Azan- ja alsiansini-PAS -menetelmillä värjätyt leikkeet. Elektronimikroskooppisissa tutkimuksissa käytetyllä glutaraldehydillä ei yleensä saatu parempia fiksointituloksia kuin em. fiksointinesteillä. Vain yhdessä näytteessä muutamat poikkileikkautuneet loiset säilyivät lähes täysin ehjinä. PATAg -värjäyksestä ei saatu tulosta, koska glutaraldehydillä ja kaliumpermanganaatilla (nesteisiin lisätty dimetylsulfoksidia tai Triton X-100:aa) fiksoidut loiset hajosivat täysin pieniksi sirpaleiksi.

6.2. Happokäsittelykoe

Typpihappoon ja natriumhypokloriittiin asetettujen Psorospermium

-loisten sisällön erikokoiset rakkulat hajosivat välittömästi ja kuoren uloin hauras kerros tuhoutui. Kerros hävisi myös vedessä olevista loisista, jotka muuten säilyivät ennallaan. Tunnin kuluttua typpihapossa olevat loiset olivat ennallaan ja niitä ympäröivä ravun kudosisäilyminen oli alkanut hajota. Natriumhypokloriitissa loiset olivat ennallaan, mutta niitä ympäröivä kudosisäilyminen oli lähes täysin liuennut. Vedessä loisten sisällön rakkulat olivat hajonneet. Kahden tunnin kuluttua typpihapossa ja natriumhypokloriitissa loisten kuori oli puhjennut, sisältö purkautunut ulos ja liuennut. Loisten kuorella näkyi epäsäännöllinen verkkomainen kuvio ja kuori oli täysin lasinkirkas. Kuoren kerroksista oli jäljellä vain toinen, ns. halkeillut kerros. Loisia ympäröivästä ravun kudosisäilymisestä ei ollut mitään jäljellä. Vedessä loiset ja ympäröivä kudosisäilyminen olivat ennallaan. Kahden vuorokauden kuluttua happoliuoksissa oli edelleen jäljellä loisten läpinäkyvät kapselit, jotka eivät olleet muuttuneet edellisestä tarkistuksesta. Vedessä loiset olivat edelleen ennallaan, mutta ne olivat ilmeisesti kuolleet sisällön hajottua.

6.3. Rakenne

6.3.1. Yleiskuvaus

P. haeckeli on pitkänomaisen soikea ja poikkileikkaukseltaan pyöreähkö muodostuma. Sen kuori on hyvin paksu ja monikerroksinen ja suuren osan loisen sisällöstä muodostavat vähäisen soluliman ympäröivät erikokoiset pyöreät rakkulat (kuva 1). Loinen on kooltaan varsin suuri, pituudeltaan noin 1/10 mm. Osa loisista on

pienempiä ja muodoltaan pyöreähköjä. Joskus loisten kuoressa näkyy epäsäännöllinen verkkomainen kuvio (kuvat 2-4) ja kuori näyttää koostuvan epäsäännöllisistä levyistä. Mahdollisia muita elämänvaiheita ei havaittu.

6.3.2. Koko

P. haeckelin pituusjakautuma oli kaksihuippuinen (kuva 5). Loisis-
ta 83,3 % kuului suurempikokoisten ryhmään. Loisten koko oli keskimäärin 57,6 x 98,1 μm . Pienempikokoisten loisten ryhmän keskimääräinen koko oli 45,8 x 73,5 μm (taulukko 1). Nämä saattavat olla loisen nuoria kehitysvaiheita. Kaikkien loisten leveyden ääriarvot olivat 38,4 - 64,0 μm ja pituuden 60,8 - 112,0 μm . Suurempikokoisten loisten ryhmän pituuden ja leveyden suhde oli 1,70. Pienempikokoiset loiset olivat hieman pyöreämpiä (taulukko 1).

6.3.3. Kuoren rakenne

Psorospermium -loisen kuori on tasapaksu, yhtenäinen ja paksuudeltaan noin 10 μm :n kapseli. Kuori koostuu viidestä kerroksesta (kuvat 6-7). Ulkokuori on ohuehko (noin 2,0 μm), vaikeasti havaittava ja helposti tuhoutuva kerros. Toinen kerros on paksu (noin 2,8 μm), tiivis ja jyväsekäs, elektronimikroskooppisessa leikkeessä hyvin tummana näkyvä kerros (kuva 7). Se on kuoren näkyvin ja pysyvin osa ja loisen rakenteen tyypillisin piirre. Kerros ohenee paikoitellen ja se koostuukin epäsäännöllisen muotoisista paksuista levyistä, joiden saumat näkyvät joskus kuoren

verkkomaisena kuviona (kuvat 2-3, 6). Saumat näkyvät hyvin huonosti elävässä loisessa, mutta kuoren puhjetessa ja sisällön purkautuessa ulos, ne tulevat näkyviin. Kuoren rikkoutuminen saattaa johtua mekaanisesta vauriosta tai mahdollisesti jostakin loisen elämänvaiheeseen liittyvästä tapahtumasta. Kolmas kerros on kuoren paksuin osa (noin 4,2 μm), joka on edellistä kerrosta läpinäkyvämpi ja rakenteeltaan säikeinen. Se ulottuu toisen kerroksen saumakohdissa ulkokerrokseen saakka (kuva 7-8). Neljäs kerros on hyvin ohut (noin 0,5 μm), läpinäkyvä ja rakenteettomalta näyttävä kerros. Se saattaa olla näytteen kuivumisesta johtuva artefakti. Viides kerros on myös hyvin ohut (noin 0,5 μm), kolmatta kerrosta muistuttava. Se sisältää ehkä solukalvon, joka ympäröi loisen koko sisältöä (kuva 7,9). Histologisissa leikkeissä todettiin kuoren kolme ulointa kerrosta. Kaksi sisintä kerrosta oli hävinnyt leikkeistä. Formaliinilla tai kaliumpermanganaatilla fiksoiduissa ja alsiansini-PAS -menetelmällä värjäytyissä leikkeissä loisen kuoren uloin ja kolmas kerros on sininen (alsiansini-positiivinen ja PAS -negatiivinen). Uloimman kerroksen näkyminen leikkeissä on epävarmaa kuoren hajoamisen vuoksi. Kerrokset sisältävät happamia mukopolysakkarideja. Kuoren toinen, halkeillut kerros on sini-purppuran värinen (alsiansini-positiivinen ja PAS-positiivinen). Värjäystuloksen perusteella kerros mahdollisesti sisältää mm. neutraaleja mukopolysakkarideja, glykogeenia, mukoproteiineja, glykoproteiineja tai glykolipideja. Bouinin ja Carnoy'n nesteillä fiksoiduissa ja Heidenhain Azan liuoksella värjäytyissä leikkeissä kuoren uloin kerros on sininen, toinen on purppuranpunainen ja kolmas sininen. Tuloksen perusteella siniseksi värjäytyvät kerrokset sisältävät lima-aineita.

6.3.4. Sisärakenne

Suurin osa loisen sisällöstä koostuu erikokoisista homogeenisistä rakkuloista (kuva 6). Niiden ympärillä ei ole kalvoa ja ne saattavat olla vararavintoa. Sekä suuret että pienet rakkulat ovat rakenteeltaan samannäköisiä. Solulimassa, josta suurin osa on keskittynyt kuoren läheisyyteen, on pieniä jyväsiä, ilmeisesti glykogeeni-jyväsiä ja ribosomeja (kuva 10). Paikoitellen solulimassa, kuoren lähellä on pyöreähköjä tummia muodostumia, joissa on vakuoli ja tummia pieniä jyväsiä. Muodostumat ovat ilmeisesti eriterakkuloita (kuvat 10, 11). Solulimassa on runsaasti mitokondrioita ryhmissä eriterakkuloiden ja kuoren lähellä (kuva 12). Loisen keskiosassa on vierekkäin kaksi samankokoista tumaa. Niiden halkaisija on noin 9,5 µm. Suuren tumajyväsen halkaisija on noin 4 µm (kuva 13). Alsiansini-PAS -menetelmällä värjätyissä leikkeissä loisten sisältö on tummanpunainen (alsiansini-neg. ja PAS-pos.) ja Heidenhain Azan menetelmällä värjätyissä oranssinpunainen. Sisällön rakkulat ovat useimmiten hajonneet, mutta säilyneet rakkulat värjäytyvät Heidenhain Azan menetelmällä sinipunaisiksi ja niitä ympäröivä solulima punaiseksi osoittaen sen olevan asidofiilistä. Tumat ovat punaruskeita ja tumajyväset kirkkaanpunaisia.

6.4. Esiintyminen ravuissa

Psorospermium -loisia todettiin massoittain kaikissa tutkituissa Pojanjärvestä pyydetyissä ravuissa (yhteensä 145 rapua). Eri vuodenaikoina tutkituissa ravuissa ei silmämääräisesti arvioiden havaittu muutoksia loisten määrissä eri kudoksissa. Loisia todettiin vaihtelevia määriä kaikkialla ravuissa. Hyvin runsaasti

loisia oli yleensä selkakilven sisäpinnan sidekudoksessa, suun ja mahalaukun lihaksissa ja verisuoniston ja suolen ympäristössä. Vähäisempiä määriä loisia oli silmissä, pyrstölihaksessa ja kiduksissa. Hirvijärvestä vuonna 1977 pyydetyissä 20 ravussa todettiin kaikissa Psorospermium -loisia, mutta niitä oli silmämääräisesti arvioiden selvästi vähemmän kuin Pojanjärven ravuissa. Myös tutkituissa kolmessa Valkeavesi -järvestä pyydetyssä ravussa oli kaikissa vähäisiä määriä P. haeckeliä.

6.5. Haittavaikutukset

P. haeckelin ei todettu aiheuttavan isäntäravuissa ulkoisia, paljain silmin havaittavia muutoksia. Loisesta johtuvat sisäiset vastareaktiot ravun kudoksissa ovat hyvin pieniä, vaikka loisia on kudoksissa massoittain. Hyvin harvoin loisten ympärillä todettiin melaniinia. Joskus loisten ympärillä on hemolymfan soluja, mutta niiden ei havaittu kerääntyneen loisia ympäröiväksi tiiviiksi kapseliksi (kuva 14).

Psorospermium -loisen aiheuttama tautitila näyttää kehittyvän hyvin hitaasti. Lasikuitualtaissa kalanviljelylaitoksessa säilytettyjen Pojanjärven rapujen aktiivisuus ja käyttäytyminen olivat pitkään normaaleja. Ravut saattoivat elää altaissa useita kuukausia, jopa yli vuoden, erityisesti talviaikana. Vähitellen ravut kuitenkin kuolivat, useimmiten kuorenvaihdon aikana.

Vuonna 1978 tehdyssä näytteenottokokeessa kaikille P. haeckeli -tartunnan saaneille ravuille syöpyi kuoren näytteenottokohtaan

reikä, joka vähitellen suureni ja selkäkilven toinen puoli syöpyi pois. Kahden kuukauden kuluessa viisi sairasta rapua kuoli ja kuudes kuoli seitsemän kuukauden kuluttua kokeen aloittamisesta. Kokeen loppuessa lähes kahdeksan kuukauden kuluttua oli neljä samalla tavoin käsiteltyä tervettä rapua edelleen elossa. Niiden näytteenotossa saama vaurio parani normaalisti eikä kuoreen syntynyt reikää. Sairaats P. haeckelin heikentämät ravut saivat tois-sijaisen bakteeritartunnan, joka aiheutti kuoren reiät ja rapu-jen kuoleman (kuva 15).

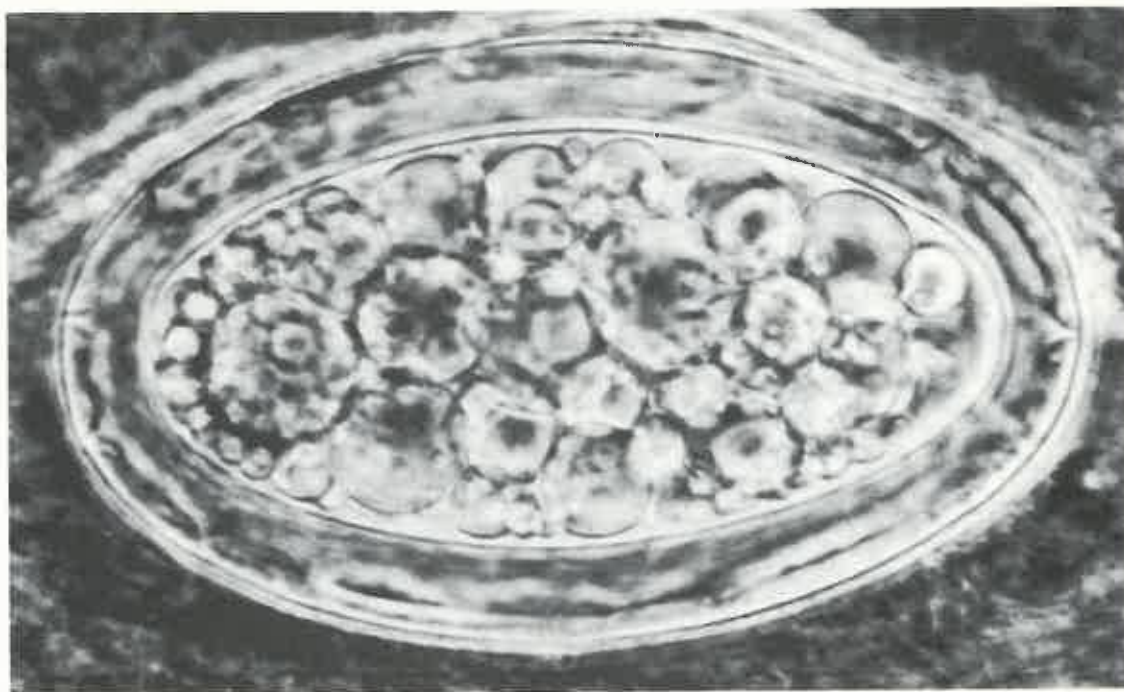
Koetta toistettaessa vuonna 1982 kaikkien viidentoista sairaan ravun näytteenottokohtaan syöpyi reikä 2,5 kuukauden kuluessa kokeen alkamisesta. Reikien koko oli 4-8 mm. Terveiden rapujen näytteenottokohtaan ei tullut reikää. Sairaats ravut kuolivat vähitellen viiden kuukauden kuluessa kokeen alusta, kun taas terveet ravut elivät normaalisti. Pojanjärven kontrolliravut, joilta ei otettu näytettä elivät normaalisti, eikä niiden kuoreen tullut reikää. Rapu, jolla oli kuoreessaan halkaisijaltaan 8 mm:n reikä toimitettiin tutkittavaksi Valtion eläinlääketieteelliselle laitokselle. Tutkimuksissa reiän ympäristöstä eristettiin Aeromonas hydrophila -bakteeri.

6.6. Taksonominen asema

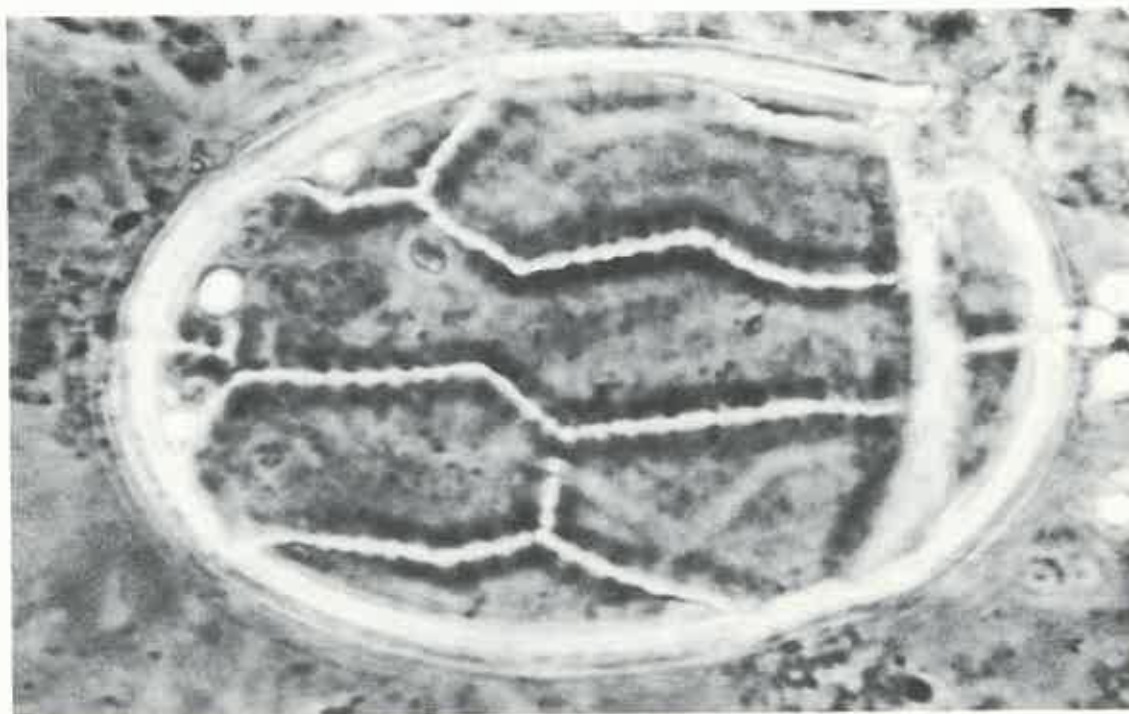
P. haeckelin rakenteen todettiin muistuttavan dimorfisten pato-geenisten sienten konidiota. Näille sienille (mm. Blastomyces dermatitidis) ominaisia rakennepiirteitä ovat mm. hyvin paksu, ainakin nelikerroksinen kuori, sisällön kaksi tumaa, suuret

rasvarakkulat ja mitokondriot (GARRISON ja BOYD 1978), kuten Psorospermium -loisellekin (kuvat 16 ja 6 sekä 17 ja 7). Myös P. haeckelin kuoren kemiallinen rakenne viittaa loisen kuuluvan todennäköisemmin kasveihin kuin eläimiin.

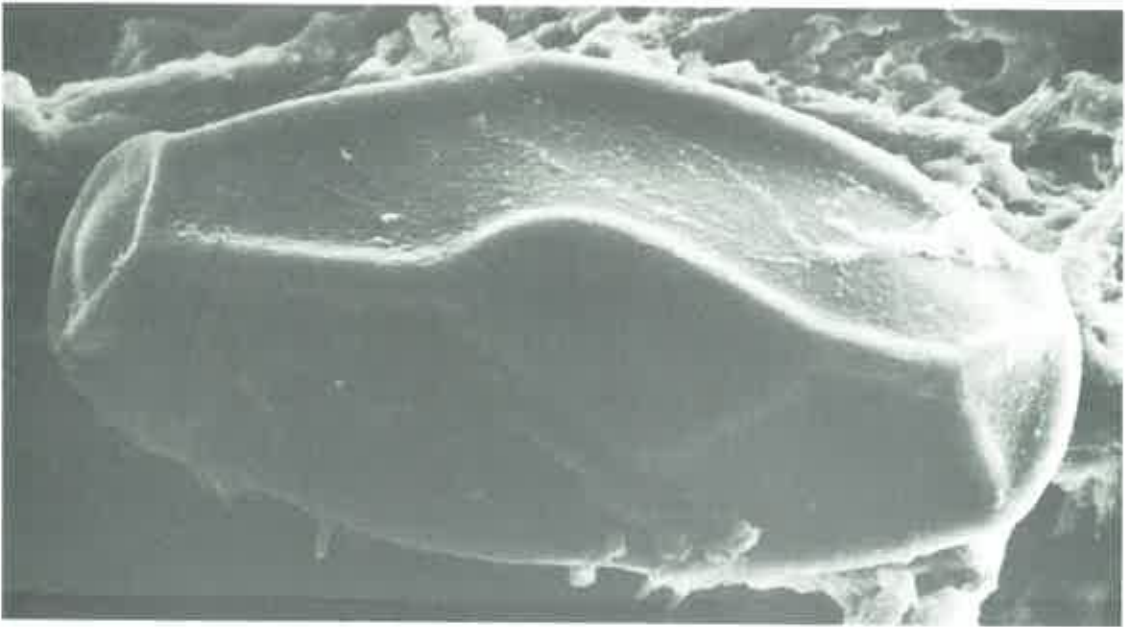
On myös mahdollista, että P. haeckeli saattaisi olla levä, lähinnä piilevä, koska kuoren toinen kerros kestää happokäsittelyn.



Kuva 1. Elävä Psorospermium haeckeli -loinen ravun selkäkilven sisäpinnan sidekudoksessa. Valtaosa ravun eri kudoksissa massoittain olevista loisista on tässä pitkänomaisen soikeassa, paksukuorisessa muodossa, jonka sisällä on erikokoisia rakkuloita. (Valomikroskooppikuva, 1600 x).



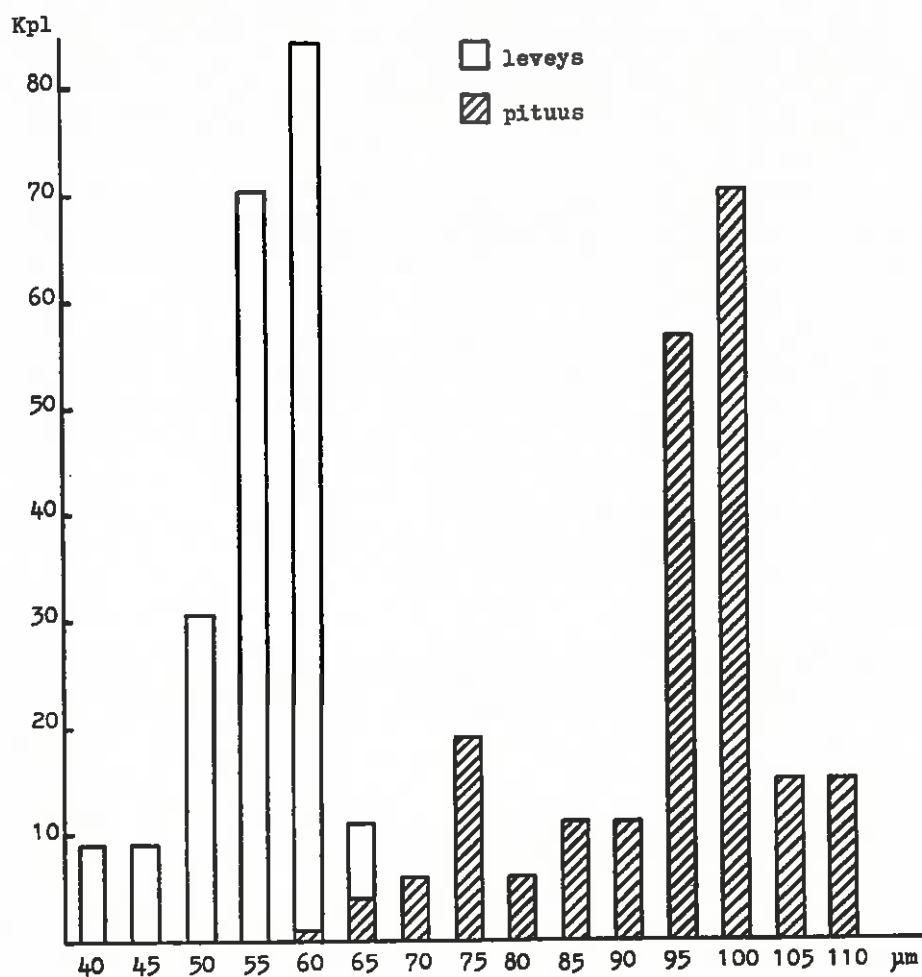
Kuva 2. P. haeckelin kuoren verkkomainen kuvio on tullut näkyviin sisällön purkauduttua ulos rikkoutuneesta kuoresta. (Valomikroskooppikuva, 1600 x).



Kuva 3. Pyyhkäiselektronimikroskoopilla (SEM) tutkitussa näytteessä P. haeckelin kuoren verkkomainen kuvio näkyy korostetusti. Kuori näyttää koostuvan epäsäännöllisen muotoisista levyistä. (1600 x).



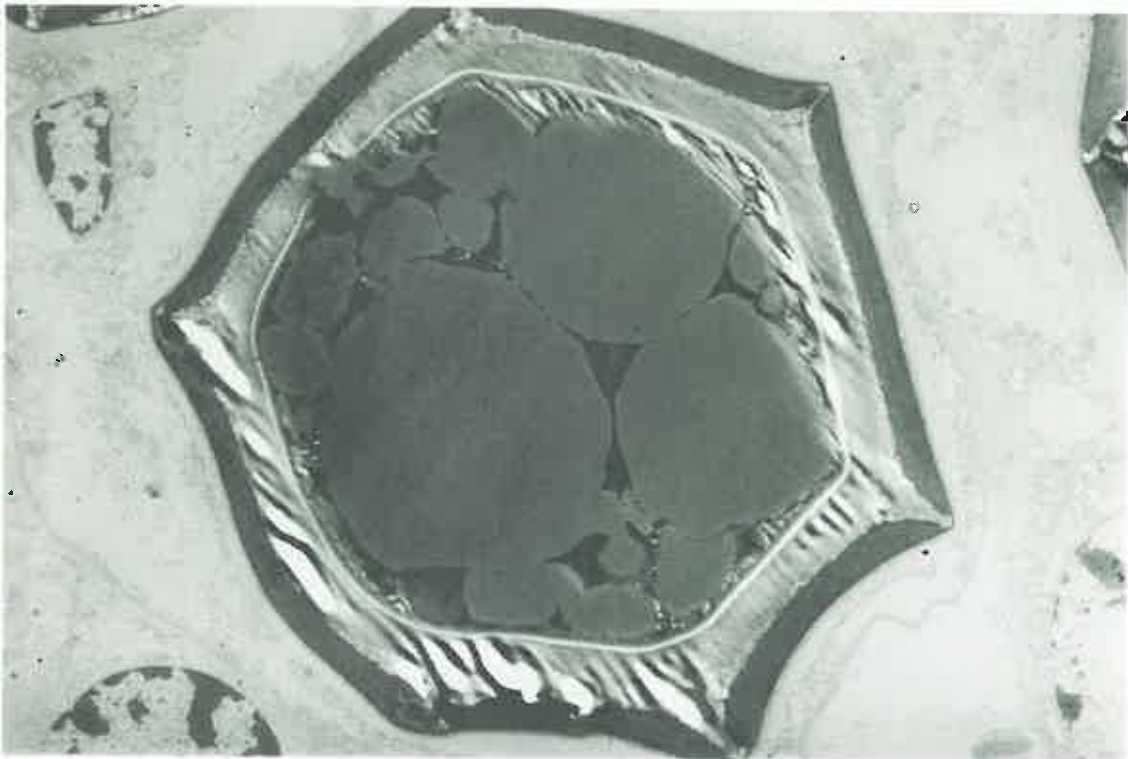
Kuva 4. Critical-point -menetelmällä kuivattu P. haeckeli säilyy varsin hyvin luonnollisessa muodossaan. (SEM -kuva, 1600 x).



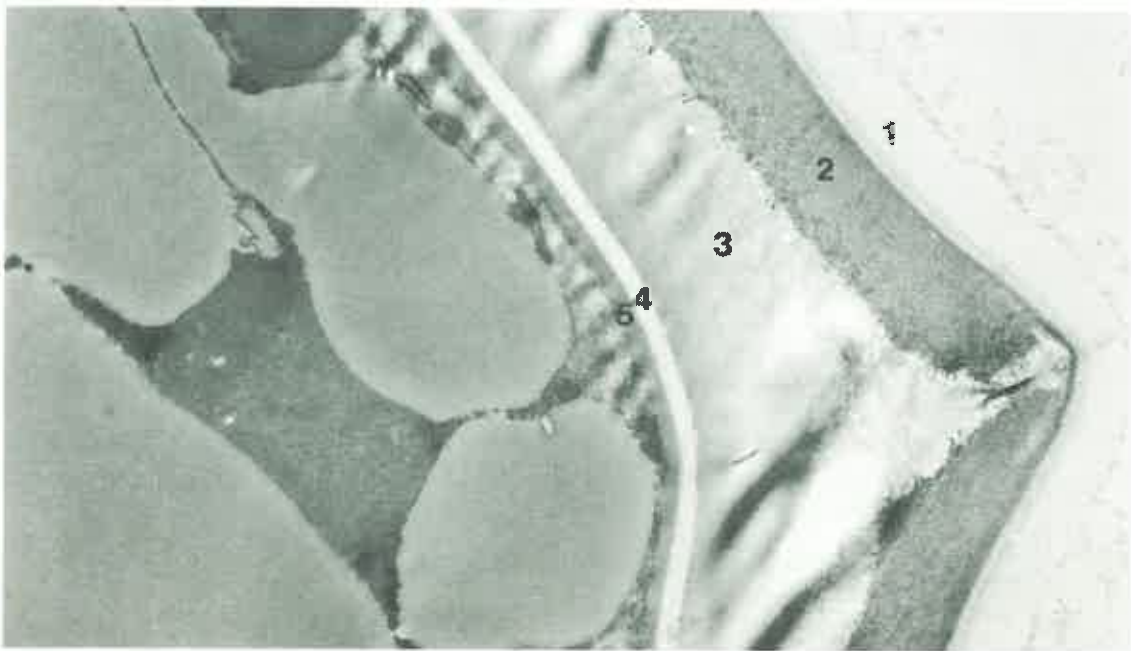
Kuva 5. P. haeckelin leveys- ja pituusjakautuma. Pituudeltaan 60-80 µm:n loiset kuuluvat nuorten muotojen ryhmään.

Taulukko 1. P. haeckelin koko sekä pituuden ja leveyden suhde.

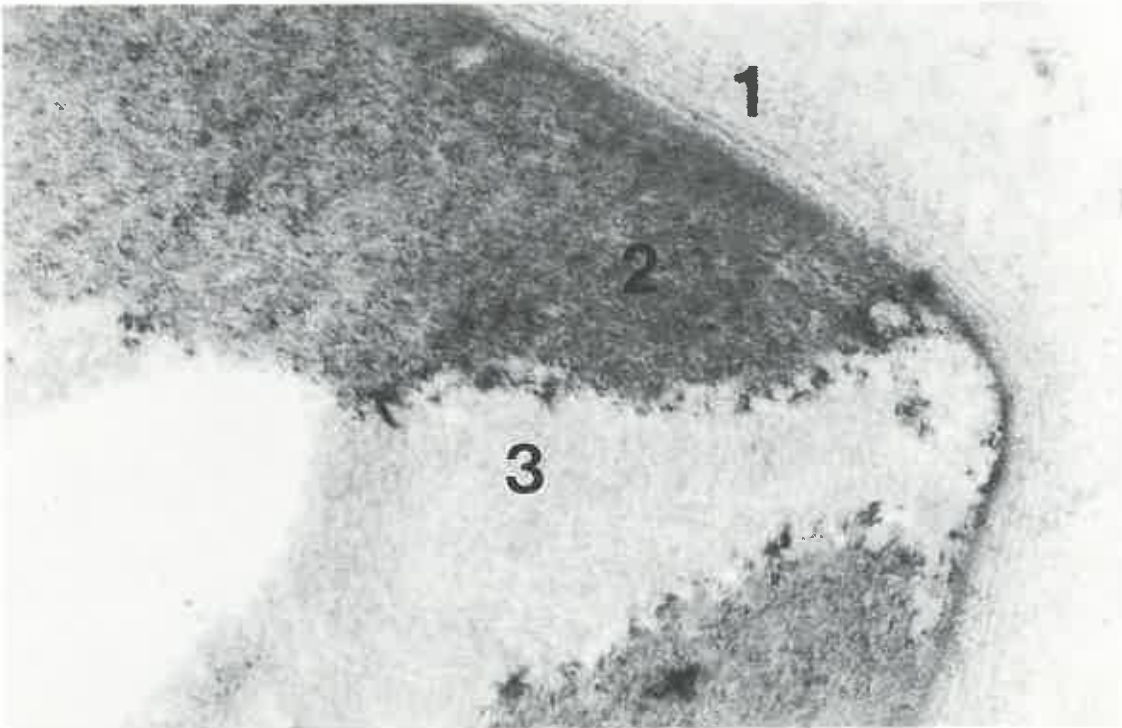
	N	%	Leveys (µm) ja keskiarvon keski- virhe sekä ääriarvot	Pituus (µm) ja keskiarvon keski- virhe sekä ääriarvot	Pituuden ja leveyden suhde
Isot	180	83,3	57,61±0,60 (48,0-64,0)	98,14±0,44 (83,2-112,0)	1,70
Pienet	36	16,7	45,83±0,73 (38,4-54,4)	73,47±0,82 (60,8-80,0)	1,60
Kaikki	216	100,0	55,72±0,38 (38,4-64,0)	94,03±0,74 (60,8-112,0)	1,69



Kuva 6. P. haeckelin poikkileikkaus osoittaa monikerroksisen kuoren verkkomaisen kuvion syntyvän erillisistä levyistä koostuvan toisen kerroksen saumoista. Loisen sisällöstä valtaosan täyttävät erikokoiset homogeeniset rakkulat. (TEM -kuva, 1600 x).



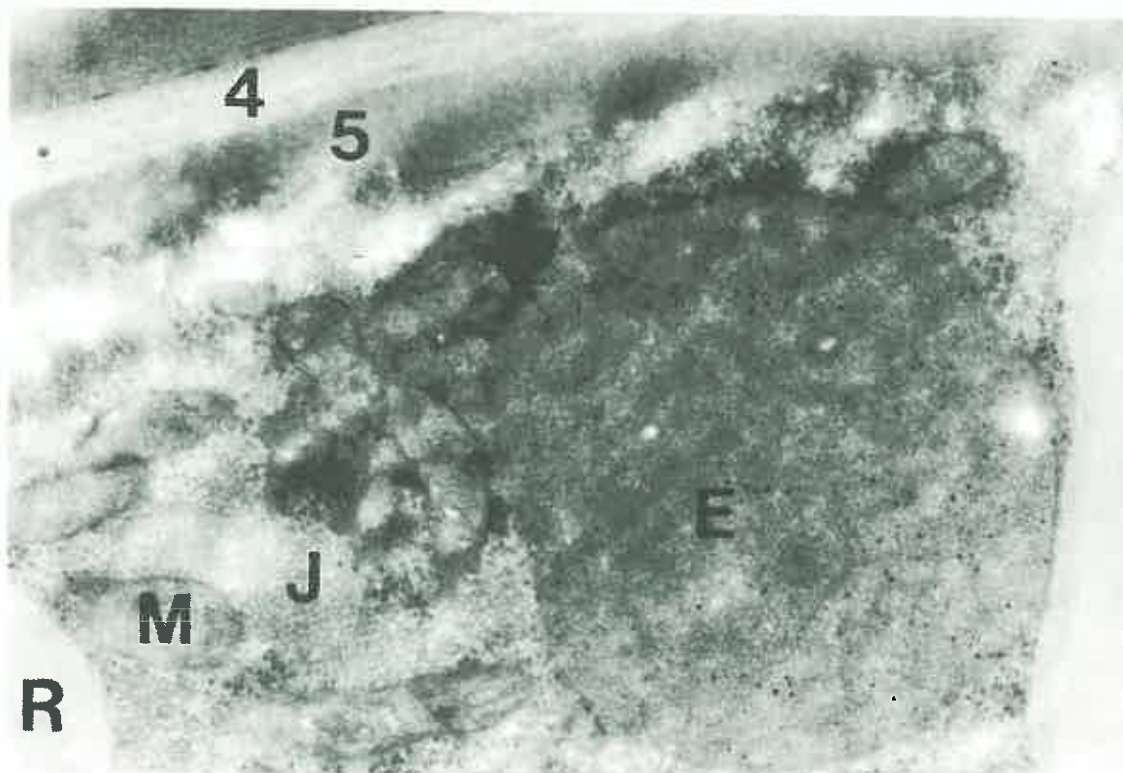
Kuva 7. P. haeckelin kuori koostuu mahdollisesti viidestä kerroksesta. Neljäs kerros saattaa olla kuivumisesta johtuva artefakti. Kuoren paksuus on noin 10 μm . (TEM -kuva, 10000 x).



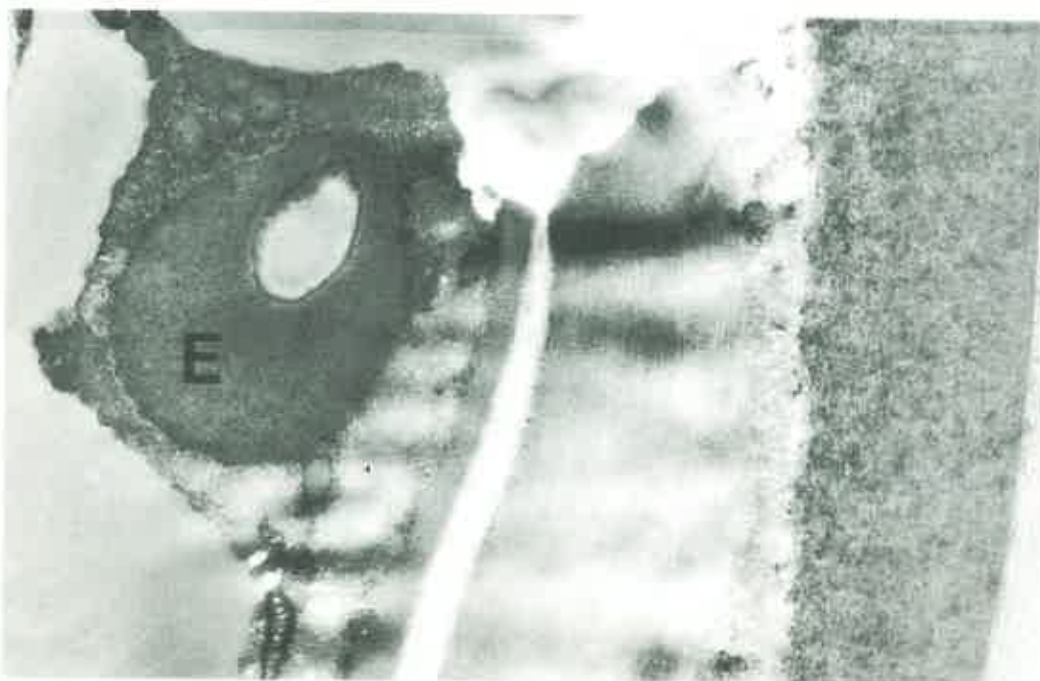
Kuva 8. P. haeckelin kuoren kolmas kerros ulottuu toisen, ns. halkeilleen kerroksen saumakohdissa ulkokerrokseen saakka. (TEM -kuva, 46 000 x).



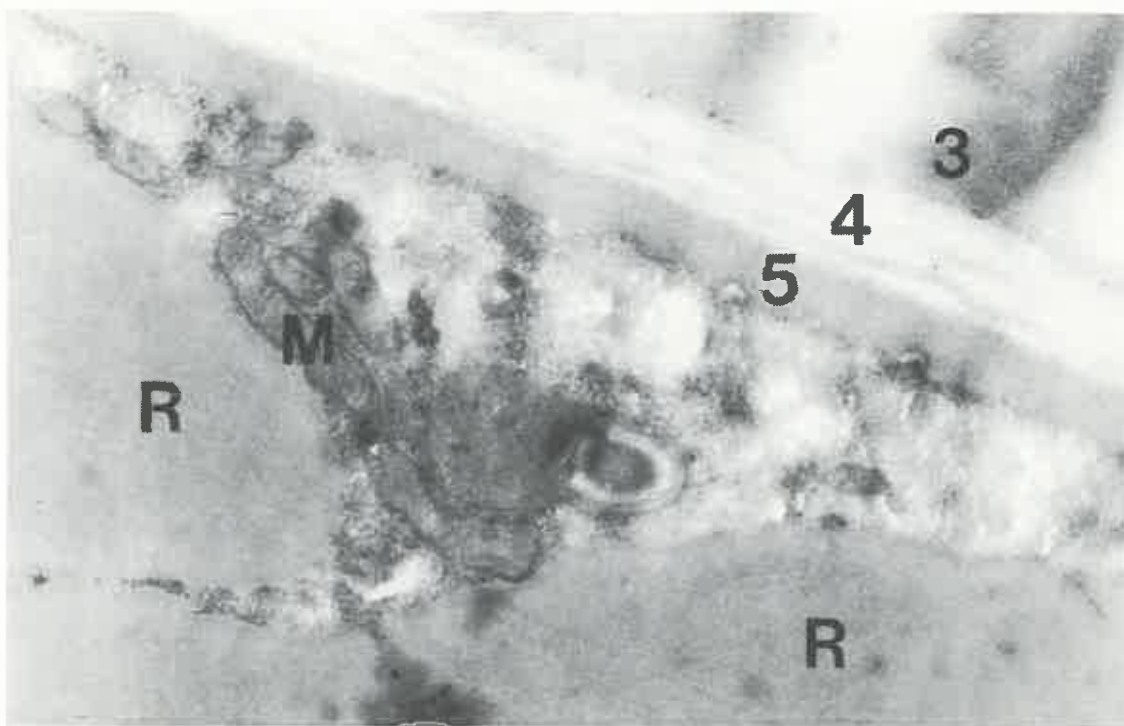
Kuva 9. P. haeckelin kuoren rikkouduttua on loisen koko sisältö purkautunut ulos. Sisältöä ympäröi kuoren viides kerros, joka ilmeisesti on solukalvo. Oikealla on ehjä, elävä loinen. (Valomikroskooppikuva, 600 x).



Kuva 10. P. haeckelin solulimassa, rakkuloiden (R) ja kuoren välissä, on pieniä jyväsiä (J), ilmeisesti ribosomeja ja glykogeenijyväsiä sekä mitokondrioita (M) ja eriterakkuloita (E). Kuvan yläreunassa ovat kuoren sisimmät kerrokset (4 ja 5). (TEM -kuva, 46 000 x).



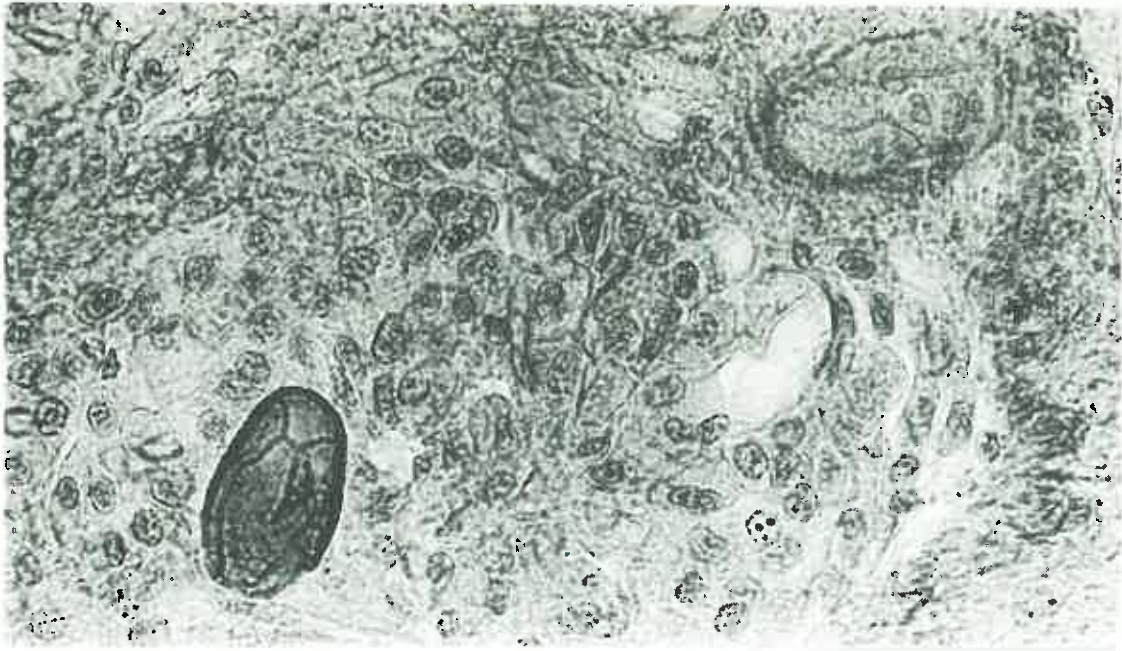
Kuva 11. P. haeckelin solulimassa on paikoitellen kuoren läheisyydessä pyöreähköjä muodostumia, joissa on tummia jyväsiä ja vakuoli. Muodostumat ovat ilmeisesti eriterakkuloita (E). (TEM -kuva, 23 000 x).



Kuva 12. *P. haeckelin* solulimassa on runsaasti mitokondrioita (M) ryhmissä rakkuloiden (R) ja kuoren välissä. (TEM -kuva, 34 000 x).



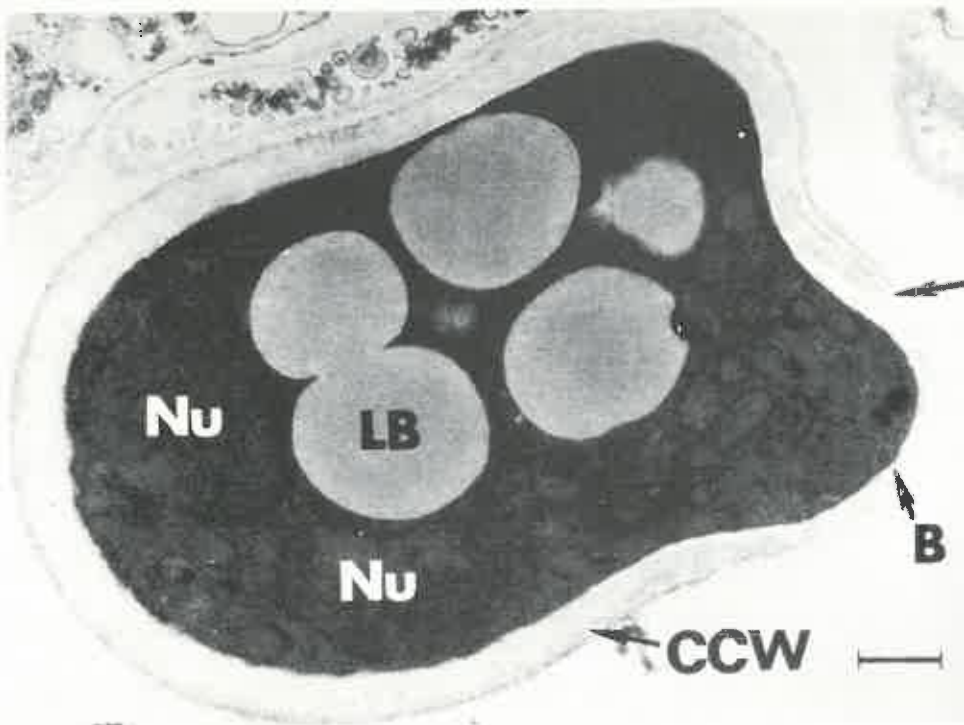
Kuva 13. *P. haeckelin* keskiosassa on vierekkäin kaksi samankokoista tumaa, joissa on suuri tumajyvänen. Näyte on fiksoitu Bouinin nesteellä ja värjätty Giemsa -liuoksella. (Valomikroskooppikuva, 800 x).



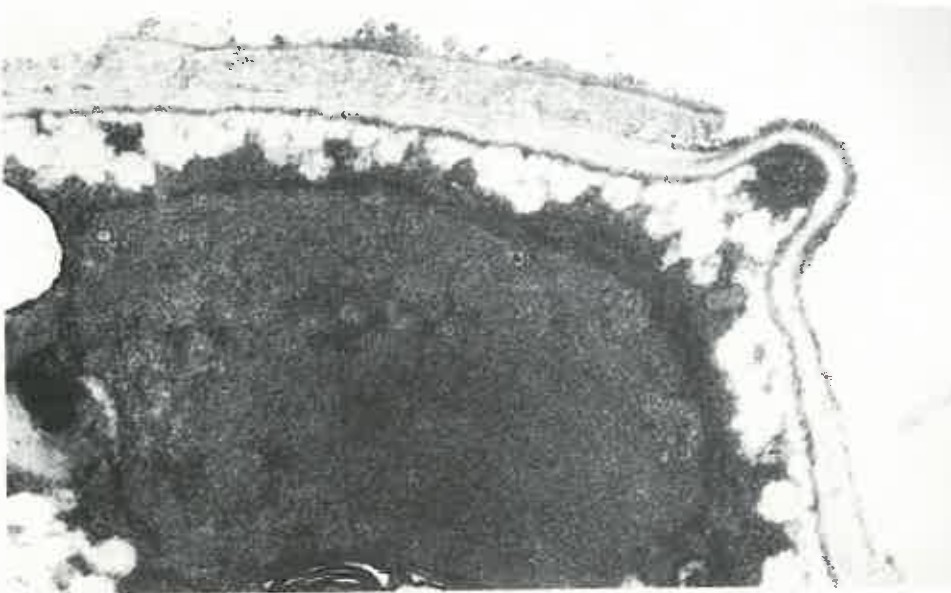
Kuva 14. P. haeckelin aiheuttama vastareaktio ravun kudoksissa on heikko. Loisten ympärillä olevat, halkaisijaltaan noin 20 um:n muodostumat ovat ilmeisesti hemolymfan soluja. Niiden ei havaittu kerääntyvän loisten ympärille tiiviiksi kapseliksi. Tuorenäyte selkäkilven sisäpinnalta. (Valomikroskooppikuva, 400 x).



Kuva 15. P. haeckelin heikentämät ravut saivat kuorta hieman vaurioitettaessa näytteenoton yhteydessä toissijaisen bakteeritartunnan (Aeromonas hydrophila). Tulehdus syövytti vauriokohtaan reiän ja aiheutti ravun kuoleman. Terveillä ravuilla vauriokohta parani normaalisti.



Kuva 16. Blastomyces dermatitidis -sienen konidiolla on paksu kuori (CCW), jonka sisällä on mm. erikokoisia lipidi-rakkuloita (LB), kaksi tumaa (Nu) ja mitokondrioita. Kuori on repeytymässä ja konidiosta on kuroutumassa silmumainen muodostuma (B). Jana vastaa 0,5 μ m. Kuva R. G. Garrison, käytetty tekijän luvalla.



Kuva 17. B. dermatitidis -sienen konidion kuori on nelikerroksinen. Konidion kuoren sisäkerroksesta muodostuu kuori juuri irtikuroutumassa olevalle hiivasolulle. Kuva R. G. Garrison, käytetty tekijän luvalla. (42300 x).

7. TULOSTEN TARKASTELO

7.1. Fiksointi- ja värjäyskokeet

Tehokasta fiksointimenetelmää ei useista kokeilluista aineista huolimatta löydetty. Tämä vaikeutti P. haeckelin histologisen ja kemiallisen rakenteen tutkimista. Samat ongelmat todettiin myös aikaisemmissa tutkimuksissa, joissa kokeiltiin monia eri menetelmiä (GRABDA 1934, VEY 1979). GRABDAN mukaan fiksointinesteet (mm. Carnoy'n liuos, Petrunkiewicz'in liuos, pikriinihappo, formoli) tunkeutuvat huonosti loiseen. Näytteitä leikattaessa eliön kuori hajoaa ja sisältö häviää leikkeestä. Kylmä trikloorihappo tunkeutui loiseen melko hyvin, mutta se aiheutti epämuodostumista. Myös yritykset pehmittää kuorta Javelin nesteellä, epäorgaanisilla hapoilla tai muilla kemikaleilla olivat turhia (GRABDA 1934). Parhaat fiksointitulokset GRABDA sai hyvin kuumalla Heidenhainin Susa liuoksella, johon oli lisätty 5 % etikkahappoa. Tehokkaimmat värjäysaineet olivat hemalum ja Delafieldin hematoksyliini. Loisen tumien värjäämiseksi leikkeitä oli pidettävä hemalumissa 15-20 päivää. Delafieldin hematoksyliini tunkeutui loiseen 2-5 päivässä, mutta käsittely epäonnistui usein (GRABDA 1934). Tässä tutkimuksessa eri fiksointinesteisiin lisätyt detergentit eivät parantaneet tulosta, vaikka ne dimorfisten sienten konidioita fiksoitaessa ovat hyödyllisiä (GARRISON ja BOYD 1978). Sienten konidiot tosin ovat yleensä huomattavasti P. haeckeliä pienempiä, mikä helpottaa niiden fiksoitumista. Sopivan fiksointimenetelmän löytämiseksi olisi pyrittävä selvittämään loisen kemiallinen rakenne mahdollisimman tarkoin. Lisäksi olisi tun-

netun kemiallisen rakenteen perusteella ehkä löydettävissä sopiva värjäysmenetelmä P. haeckelin mahdollisten kehitysvaiheiden havaitsemiseksi ja erottamiseksi ravun kudoksista.

7.2. Koko

Esitettyjen tietojen mukaan Psorospermium -loisten koko vaihtelee huomattavasti. Ravussa (Astacus astacus L.) loisten koko oli Ravussa (Astacus astacus L.) Psorospermium -loisten koko oli HAECKELin (1857) mukaan Saksassa keskimäärin 48 x 170 µm. HILGENDORF (1883) mainitsee loisen mitoiksi 51 x 185 µm ja ZACHARIAS (1888) 40-50 x 180 µm. GRABDAN (1934) mukaan loisten koko Puolassa oli keskimäärin 45 x 128 µm (ääriarvot 27-70 x 56-210 µm), SCHEERin (1934) ja SCHÄPERCLAUSin (1954) mukaan Saksassa keskimäärin 62 x 98 µm ja LJUNGBERGin ja MONNÉN (1968) mukaan Ruotsissa 60 x 110 µm. Kapeasaksiravussa (Astacus leptodactylus Esch.) loisten koko oli Puolassa keskimäärin 40 x 125 µm (KRUCINSKA ja SIMON 1968) ja Ranskassa 35 x 70 µm (VEY 1979). Loisten mitat lajilla Orconectes limosus Rafinesque (Cambarus affinis Say) olivat Puolassa 32-48 x 75-126 µm (KRUCINSKA ja SIMON 1968). Osa Psorospermium -loisista oli pyöreähköjä ja edellistä muotoa pienempiä, mitoiltaan 30-45 x 50-80 µm (GRABDA 1934). VORONINin (1975) mukaan Psorospermium -loiset olivat järvikatkassa (Gammarus lacustris) kooltaan 55x110 µm. Pituuden ja leveyden suhde oli ravun loisilla HAECKELin (1857), HILGENDORFin (1888) ja GRABDAN (1934) tietojen perusteella 2,8-3,6 ja SCHEERin (1934), SCHÄPERCLAUSin (1954) ja LJUNGBERGin ja MONNÉN (1968) tietojen mukaan 1,6-1,8. Kapeasaksiravulla vastaava suhde oli 2,0-3,1 KRUCINSKAN ja SIMONin (1968) ja VEYn (1979) tietojen mukaan.

Pojanjärven rapujen Psorospermium -loisten koko sekä pituuden ja leveyden suhde on samaa suuruusluokkaa kuin SCHEERin (1934), SCHÄPERCLAUSin (1954) ja LJUNGBERGin ja MONNÉN (1968) julkaisemissa tiedoissa. Näitä aikaisempien tutkimusten mukaan loinen oli selvästi suurempi ja pitkänomaisempi. Erot P. haeckelin kokotiedoissa saattavat johtua mm. eri Psorospermium -lajeista, ympäristöolojen vaikutuksesta, loisten eri kehitysvaiheista tai tutkimusaineistojen riittämättömyydestä. Kaikissa loisen kokoa koskevissa tiedoissa ei mainita mittausmenetelmää, joten on myös mahdollista, että mittaukset on tehty eri kuorikerroksesta tai säilytystä aineistosta. Tässä, samoinkuin GRABDAn (1934) tutkimuksessa, loisten koko mitattiin elävien loisten kuoren toisesta kerroksesta, koska ulkokerros on vaikeasti havaittava ja helposti tuhoutuva. Elektronimikroskooppisissa leikkeissä ulkokuoren paksuus oli noin 2,0 μm . Kerroksen aiheuttama lisä, noin 4 μm , loisen kokotietoihin ei selitä uudempien ja vanhempien kokotietojen eroa, joka on loisen pituuden osalta jopa lähes kaksinkertainen. Todennäköisimmin kokoerot johtuvat eri ympäristöoloista tai eri Psorospermium -lajeista. Useampien lajien olemassaoloon viittaa myös se, että VALLENTIN (1888) kuvasi P. lucernariae -lajin pikarimeduusoista ja että VORONIN (1975) löysi järvikatkasta loisen, joka näyttää hieman kulmikkaalta muihin Psorospermium -muotoihin verrattuna.

Pienempikokoisten ja pyöreähköjen loisten ryhmän koko oli samaa suuruusluokkaa kuin GRABDAn (1934) tiedoissa. Todennäköisesti ne ovat loisen nuoria kehitysvaiheita, mutta on myös mahdollista,

että ne ovat epämuodostuneita yksilöitä. GRABDA (1934) totesi joillakin loisilla kehityshäiriöitä, jolloin ne olivat muodoltaan ja rakenteeltaan eri tavoin poikkeavia.

7.3. Rakenne

Elektronimikroskooppisin ja valomikroskooppisin menetelmin saadut tulokset vahvistavat suurelta osin aikaisempia valomikroskooppisia havaintoja P. haeckelin rakenteesta. HAECKELin (1857) mukaan loisen kuori on hyvin paksu, rakenteeton ja lasinkirkas kapseli. Pojanjärven rapujen Psorospermium -loisten kuoren paksuus oli 10 μm . Aikaisemmissa tiedoissa kuoren paksuus oli samaa luokkaa: 12 μm (HAECKEL 1857), 7-11 μm (SCHEER 1934, SCHÄPERCLAUS 1954), 7 μm (LJUNGBERG ja MONNÉ 1968) ja 4-7 μm (VEY 1979). HAECKEL (1857) ja HILGENDORF (1888) kuvasivat Psorospermium -loisen muodon, jonka kuoressa oli verkkomaisia halkeamia ja säröjä. WIERZEJSKIn (1888) mukaan Psorospermium -loisen kuori koostuu kolmesta kerroksesta. Ulkokuori on ohut ja hyvin läpinäkyvä. Kerros on ilmeisesti syntynyt isäntäravun vastareaktion tuloksena. Keskikerros koostuu epäsäännöllisen muotoisista paksuista levyistä, joiden väliset kerroksen ohuet saumakohdat muodostavat HAECKELin (1857) mainitseman verkkomaisen kuvion. Kuoren ohut sisäkerros on välittömästi loisen ympärillä. GRABDA (1934) totesi kuoressa neljä kerrosta. Ulkokuori on vaikeasti havaittava ja helposti rikkoutuva. Se tuhoutuu nopeasti vedessä ja monissa fiksointinesteissä. Halkeillut kerros on kuoren näkyvin osa ja loisen tyypillisin piirre. Se vastaa WIERZEJSKIn (1888) kuvaamaa keskikerrosta. GRABDAn havaitsema keskikerros on kuoren paksuin osa ja muistuttaa

rakenteeltaan ulkokerrosta. Sisäkuori on ohut ja rakenteeton kerros. VEYN (1979) mukaan kuoren sisäpuolella on solukalvo. Kuoren paksuus ja monikerroksisuus tekee P. haeckelistä hyvin kestävän. Loinen saattaa elää ravun ulkopuolella vedessä useita kuukausia (WIERZEJSKI 1888, GRABDA 1934). Aikaisemmissa tutkimuksissa todettiin histologisissa leikkeissa loisen kuoressa kolme tai neljä kerrosta (GRABDA 1934, VEY 1979). Tässä työssä elektronimikroskooppisissa tutkimuksissa kuoressa todettiin viisi kerrosta. Niistä neljättä ei ole ennen todettu. On kuitenkin mahdollista, että se on syntynyt leikkeen valmistamisen yhteydessä loisen kuivumisen vuoksi. Kerros on läpinäkyvä, mutta siinä näkyy kuitenkin kaksi rinnakkaista ohutta juostetta (kuva 12). Loisen sisältöä ympäröivä sisin kerros, ilmeisesti solukalvo, irtoaa tämän neljännen kerroksen kohdalta. Ehjänä säilyneiden leikkeiden vähäisestä määrästä johtuen kerroksen esiintymistä ei voitu varmistaa.

P. haeckelin ulkokuori ei GRABDAN (1934) mukaan värjäydy millään värjäysliuoksella. GRABDA kokeili tuloksetta 18 liuosta ja useita niiden sekoituksia. Kuoren halkeillut kerros värjäytyy kaliumjodidilla ja rikkihappokäsittelyllä tummansiniseksi, osoittaen sen koostuvan selluloosasta (WIERZEJSKI 1888). Myös GRABDA (1934) totesi kerroksen olevan selluloosaa. Kerros värjäytyy monilla muillakin aineilla mm. aniliinilla, eosiinilla ja karminihapolla (GRABDA 1934). Sisäkuori värjäytyy aniliinilla ja karminihapolla (WIERZEJSKI 1888). VRANCKX ja DURLIAT (1981) totesivat P. haeckelin kuoren koostuvan polysakkarideista, mutta he eivät määritelleet missä kerroksessa niitä on. Tässä tutkimuksessa

alsiansini-PAS -menetelmällä värjätyissä leikkeissä loisen kuoren uloin ja kolmas kerros ovat sinisiä, PAS -negatiivisia sisältäen tämän perusteella happamia mukopolysakkarideja. VEYN (1979) mukaan uloin ja kolmas kerros ovat PAS -positiivisia sisältäen neutraaleja tai emäksisiä mukopolysakkarideja. VEYN (1979) mukaan tulos vahvistaa WIERZEJSKIn (1888) tiedon, jonka mukaan loisen kuoressa on selluloosaa. WIERZEJSKI (1888) kuitenkin totesi selluloosaa nimenomaan toisessa kerroksessa, joka VEYN (1979) mukaan on PAS -negatiivinen sisältäen valkuaisaineita. Syytä em. ristiriitaisiin tietoihin ei voitu selvittää. Tässä työssä saadut tulokset tukevat WIERZEJSKIn (1888) ja GRABDAN (1934) tietoja kuoren toisen kerroksen sisältämästä selluloosasta. Myös happokäsittelykokeen tulos osoittaa toisen kerroksen olevan hyvin kestävä aine, kuten esimerkiksi selluloosaa tai kitiiniä. Toisaalta Psorospermium -loiset läpäisevät SCHEERin (1934) mukaan muuttumattomina ravun ruoansulatuskanavan, jonka sellulaasi- ja kitinaasientsyymien kuitenkin olisi pitänyt sulattaa loisen kuoressa mahdollisesti olevat ko. aineet. Happokäsittelykoe antoi myös viitteitä siitä, että kuoren toinen kerros voisi sisältää piioksidia, jota on sienten ja piilevien seinämissä.

Psorospermium -loisen sisältö koostuu suurimmalta osin sekä pienistä että suurista (3-6 kpl) läpinäkyvistä rakkuloista. Osa loisista sisältää vain pieniä rakkuloita tai ryhmiksi kerääntyneitä pikkurakkuloita (HAECKEL 1857). Ne ovat GRABDAN (1934) mukaan vararavintona toimivaa rasvaa. Myös SCHEER (1934) totesi rakkuloiden olevan rasvaa, niiden värjäytyttyä Sudan III -nes-

teellä oranssinpunaisiksi. VEYn (1979) mukaan rakkulat sitä vastoin sisältävät runsaasti valkuaisaineita. Loisen sisällön suurten rakkuloiden halkaisija oli 10-14 μm ja pienten 2-7 μm (HAECKEL 1857) ja GRABDAn (1934) mukaan vastaavasti 7,5-16 μm ja 0,5-11 μm (keskimäärin 4 μm). Loisen sisällön sekä pienet että suuret rakkulat ovat elektronimikroskooppisten leikkeiden perusteella kaikki samannäköisiä homogeenisiä muodostumia. GRABDAn (1934) mukaan suurissa rakkuloissa on vakuoleja ja pieniä jyväsiä. Näitä rakenteita todettiin EM -leikkeissä kuitenkin vain eriterakkuloissa, joita GRABDA (1934) ei maininnut. Rasvaurakulat tuskin ovat loisen lisääntymisitiöitä, kuten ZACHARIAS (1888) esitti, koska niissä ei ole tumaa. Psorospermium -loisen kaksi samankokoista, pyöreää tumaa ovat vierekkäin sisällön keski-osassa rakkuloiden välissä. Tumissa on suurikokoinen tumajyvänen. Tumien halkaisija on keskimäärin 7,5 μm , vaihdellen 3,5 ja 8,5 μm ;n välillä. Tumajyvästen koko on 1,6-3,2 μm (GRABDA 1934). Loisen sisällön kokotiedot ovat samaa luokkaa kuin Pojanjärven rapujen loisissa. Rakkuloita ympäröivässä vähäisessä solulimassa on ribosomeja ja glykogeeni-jyväsiä. Nämä, samoin kuin eriterakkulat havaitsi myös VEY (1979). Solulimassa tässä tutkimuksessa todettuja mitokondrioita ei ole havaittu aikaisemmissa töissä.

7.4. Esiintyminen

P. haeckeliä todettiin massoittain kaikkialla tutkituissa ravuissa kuten aikaisemmissakin tutkimuksissa. Tämä osoittaa loisen leviävän tehokkaasti ravun eri kudoksiin mahdollisesti ravun avoimen verenkierron välityksellä. Loisia todettiin erityisen runsaasti selkakilven sisäpinnalla, missä niitä ei muissa tutkimuksissa ole todettu. Ilmeisesti loisia ei ole aikaisemmin etsitty tästä paikasta.

P. haeckelin esiintymisfrekvenssi saastuneissa rapukannoissa on huomattavan suuri, tässä työssä tutkituissa ravuissa 100 %. Myös muissa tutkimuksissa tartunnan saaneiden rapujen osuus oli suuri, 50-100 % (GRABDA 1934, LJUNGBERG ja MONNÉ 1968, MAZYLIS 1975). Tämän perusteella P. haeckelin leviämistapa on hyvin tehokas.

Psorospermium -loisen maantieteellinen levinneisyys on varsin laaja. Loisen esiintyminen keskittyy nykyisten tietojen perusteella Eurooppaan. Vasta äskettäin P. haeckeliä todettiin Pohjois-Amerikassa Yhdysvaltojen keskiosissa Cambarus diogenes -ravussa (OVERSTREET 1983). Loisen levinneisyys on ilmeisesti nykyisiä tietoja laajempi. Tähän viittaa mm. se, että Psorospermium -loinen voi tarttua moniin pohjois-amerikkalaisiin ja eurooppalaisiin rapulajeihin. P. haeckeliin on toistaiseksi kiinnitetty vähän huomiota, koska se ei yleensä aiheuta ulkoisia muutoksia ravuissa, loista on pidetty harmittomana ja rapujen joukkokuolemia ei ole havaittu.

7.5. Haittavaikutukset

Vanhoissa P. haeckeliä koskevissa tiedoissa loista pidettiin ravulle täysin vaarattomana (WIERZEJSKI 1888, ZACHARIAS 1888, GRABDA 1934). Vaikka Psorospermium -loista todettiin massoittain rapujen eri ruumiinosissa, ei loisen aiheuttamista vastareaktioista ravun kudoksissa ole mainintoja. GRABDA (1934) tosin havaitsi loisten ympärillä usein isäntäravun sidekudoksen ja hemolymfan soluja, muttei yhdistänyt niitä torjuntareaktioon. Sitä vastoin LJUNGBERG ja MONNÉ (1968) totesivat, että isäntärapujen sidekudos muodosti kapselin loisten ympärille. UNESTAMIN (1975) mukaan P. haeckelin ravussa aiheuttama vastareaktio on heikko. Loisten ympärillä on joskus hemolymfan soluja, mutta melaniinia on harvoin loisten pinnalla tai niitä ympäröivissä soluissa. Tämä viittaa UNESTAMIN (1975) mukaan siihen, että P. haeckeli on hyvin sopeutunut ravun loiseksi muistuttamalla isäntäravun kudosten rakennetta. Verisolujen ja melaniinin kerääntyminen vieraiden kappaleiden ympärille tiiviiksi kapseliksi on yleinen torjuntareaktio selkärangattomilla. Tämä ehkäisee useimpien loisten kuten esimerkiksi imumatojen, heisimatojen, sukkulamatojen ja sienten kehittymisen (UNESTAM ja NYLUND 1972). Tässä tutkimuksessa havaittu hemolymfan solujen ja melaniinin hyvin vähäinen esiintyminen loisten ympärillä tukee aikaisemmin esitettyjä tietoja.

Pojanjärven ravuissa ei havaittu ulkoisia Psorospermium -loisesta aiheutuvia muutoksia. VRANCKX ja DURLIAT (1981) eivät myöskään todenneet ulkoisia muutoksia tutkimissaan kapeasaksiravuissa.

Sitävastoin VEYn (1979) mukaan tartunnan saaneilla kapeasaksiravuilla on joskus kuoressa, erityisesti pyrstöosassa selviä oranssinpunaisia täpliä. Tämä viittaa siihen, että P. haeckeli saattaa joissakin olosuhteissa aiheuttaa häiriöitä ravun kuoressa, esimerkiksi kuorenvaihdon jossakin vaiheessa tai loisen tietyssä kehitysvaiheessa. Monimutkainen ja häiriöille herkkä kuorenvaihto näyttää olevan tapahtuma, jossa P. haeckeli voi aiheuttaa ravulle haittaa. Koerapuja kasvatettaessa havaittiin niiden usein kuolevan juuri kuorenvaihdon yhteydessä. Tämän totesi myös VEY (1979).

Täysin uusi havainto oli Psorospermium -tartunnan saaneiden rapujen kuoleminen vahingoittumisen seurauksena toissijaisen taudinaiheuttajan, bakteerin vuoksi. Molemmissa näytteenotto-kokeissa, jotka tehtiin eri olosuhteissa ja eri vesityksellä, kehittyi kaikille käsitellyille koeravuille bakteeritartunta. Aeromonas hydrophila -bakteeri on hyvin yleinen kaikissa vesissä, joten on hyvin todennäköistä, että myös luonnonvesissä esimerkiksi tappelussa tai parittelussa vahingoittuneet Psorospermium -tartunnan saaneet ravut voivat menehtyä bakteeritulehdukseen vuoksi. Ilmeisesti ravun vastustuskyky ei pysty torjumaan näitä taudinaiheuttajia ja vahingoittumista yhtä aikaa.

Psorospermium -loisen aiheuttama tautitila kehittyy hyvin hitaasti. Tartunnan saaneet ravut saattavat elää erityisesti talvikaudella useita kuukausia, jopa yli vuoden. Rapujen aktiivisuus ja käyttäytyminen on normaali hyvin pitkään (GRABDA 1934). Ravut kuolevat kuitenkin lopulta usein kuorenvaihdon yhteydessä (VEY 1979).

Vahingoittumisten ja kuorenvaihdon häiriöiden vuoksi P. haeckelisi-tä saattaa olla haittaa luonnonvesien rapukannoille. Loinen ei ilmeisesti aiheuta epidemialuonteisia rapujen joukkokuolemia muutamien päivien aikana kuten rapurutto. Sitävastoin rapuja saattaa kuolla jatkuvasti yksittäin. Kuolemia on vaikea havaita, koska aikuisten rapujen kuorenvaihto tapahtuu useiden viikkojen aikana kesä- heinäkuussa ennen ravustuskautta. Nuoret ravut vaihtavat kuorta useita kertoja vuodessa, mutta ne eivät jää pyydyksiin ja niitä on vaikea havaita vedessä. Vahingoittumisia tapahtuu usein paritteluajana loka- marraskuussa ravustuskauden loppupuolella. Mahdollisen bakteeritartunnan saaneet ravut kuolevat vähitellen talven ja kevään aikana koloihinsa. Kesällä yksittäin kuolleet ravut jäävät helposti huomaamatta, koska ne häviävät parissa päivässä näkyvistä pohjaainesten sekaan. P. haeckelin merkitystä rapukannoille lisää se, että loisen tartuntafrekvenssi on yleensä hyvin suuri, loisen leviämistapa on tehokas ja loisen maantieteellinen levinneisyys on laaja.

Neljässä vuosina 1984 ja 1986 todetuista seitsemästä uudesta Psorospermium -loisen esiintymispaikasta on osalla saaliiksi saaduista ravuista ollut kuoressa suuria reikiä. Ravuissa on Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen tutkimuksissa todettu sekä Psorospermium -loisia että vesibakteereja. On siis ilmeistä, että tässä tutkimuksessa akvaario-oloissa tehdyissä ns. rapsutus- kokeissa syntyneitä kuoren reikiä vastaavia oireita voi esiintyä tietyissä oloissa myös luonnossa P. haeckelin, vesibakteerien ja mahdollisen vahingoittumisen yhteisvaikutuksesta.

Pojanjärven rapusaaliiden romahtaminen 1970 -luvun alkupuolella saattaa ainakin osittain johtua P. haeckelistä. Järven vuotuinen rapusaalis väheni lähes samasta pyyntiponnistuksesta huolimatta vuoden 1970 noin 600 ravusta vuoden 1975 noin 50 rapuun (NYLUND ja WESTMAN 1977). P. haeckelin haitallisuuteen viittaa myös Pojanjärven koeravustuksissa saadut erittäin huonot rapusaaliit (0,07-0,31 rapua/merta/pyyntiyö) (liite 2). Osasyynä saattaa olla ravustusajat, alkukesä ja loppusyksy, jolloin ravut eivät ole aktiivisesti liikkeellä.

Rapujen vahingoittumisen ja kuorenvaihdon häiriöiden vuoksi P. haeckelillä saattaa olla merkitystä myös ravunviljelyssä, jossa raputiheydet ovat suuria. Suojapaikoista huolimatta rapujen tappelut ovat yleisiä. Tällöin kuoren vaurioituminen ja bakteeritartunnan leviäminen on hyvin mahdollista. VEYN (1979) mukaan erään ravunviljelyaltaan 1500 ravusta oli altaan tyhjennyksen yhteydessä jäljellä vain muutamia kymmeniä loisen aiheuttaman kuolleisuuden vuoksi.

SCHEER (1934) tutki P. haeckelin merkitystä kaloille syöttämällä tartunnan saaneen ravun lihaa ahvenille ja kiiskille. Loiset poistuivat kuitenkin muuttumattomina kaloista ulosteiden mukana, eikä loisia löydetty kaloista kuukautta myöhemmin kun kalat tutkittiin.

Tutkimuksessa saadut tulokset osoittavat, että aikaisemmin harmittomana pidetty P. haeckeli saattaa ainakin välillisesti aiheuttaa haittaa luonnonvesien rapukannoille ja ravunviljelylle.

Tämän vuoksi P. haeckelin levinneisyyden, leviämistavan ja merkityksen selvittämiseen olisi kiinnitettävä aikaisempaa suurempaa huomiota.

7.6. Taksonominen asema

P. haeckelin taksonominen asema on edelleen epäselvä. HAECKEL (1857) ja HILGENDORF (1883) eivät määritelleet loisen asemaa, mutta Psorospermium -nimi viittanee itiöeläimiin (Sporozoa). "Psorospermien" tai "Psorosperms" nimitystä käytettiin 1840-luvulla ryhmänimenä lähinnä alaluokkaan Myxosporidia kuuluvista kalojen itiöeläinloisista. Nimitystä ei tällöin kuitenkaan esitetty loissuvun nimeksi eikä siitä käytetty latinankielistä muotoa (GURLEY 1894). Psorospermium -nimeä käytettiin ensimmäisen kerran lajilla Psorospermium sciaenae-umbrae (ROBIN 1853, vrt. GURLEY 1894, s. 72). Itiöeläinluokan määritelmässä LEUCKART (1879-1886, s.241) mainitsi luokan lajien lisääntyvän enemmän tai vähemmän kovakuoristen itiöiden, "psorospermien" avulla. LABBÉ (1899) sijoitti P. haeckelin itiöeläimiä koskevassa laajassa katsauksessa ryhmään "species incertae", tarkemmin määrittelemättömät lajit. Ryhmään kuului myös laji P. lucernariae Vallentin, joka on pikarimeduusoihin (Stauromedusae) kuuluvan Lucernaria auricola Fabr. -lajin loinen (VALLENTIN 1888). GURLEY (1894) käsitteli P. haeckelin ja P. lucernariae itiöeläinten alaluokan Myxosporida yhteydessä, mutta mainitsi, että lajeilla ei ole mitään tekemistä Myxosporidien kanssa. Laajassa P. haeckeliä käsittelevässä tutkimuksessaan GRABDA (1934) ei käsitellyt lajin taksonomista asemaa. P. haeckelin on 1900-luvun puolenvälin jälkeen

esitetty kuuluvan moniin eri ryhmiin. Loisen on epäilty kuuluvan itiöeläimiin tai olevan imumatojen (Trematoda) munia (SCHEER 1934, SCHÄPERCLAUS 1954, 1979) tai sukkulamatojen (Nematoda) munia (LJUNGBERG ja MONNÉ 1968). Aikuisia sukkulamatoja on yleisesti rapujen kidusontelossa. SCHNEIDER (1932) on Saksassa todennut ravun kidusontelossa 12 ja Orconectes limosus -ravun kidusontelossa 2 sukkulamatojalajia, jotka myös lisääntyvät täällä. LAHSER (1975) löysi neljästä pohjois-amerikkalaisesta rapulajista 2 sukkulamatojalajia kidusontelosta ja yhden lajin kuoren pinnalta. Loismatoja ei löydetty rapujen sisäelimestä em. selvityksissä eikä myöskään P. haeckeliä koskevissa tutkimuksissa. UNESTAM (1975) on puolestaan epäillyt Psorospermium -loisen kuuluvan alkueläimiin (Protozoa). VEYN (1979) mukaan ranskalaiset asiantuntijat eivät ole havainneet yhteisiä piirteitä P. haeckelin ja alkueläinten tai sukkulamatojen munien välillä.

P. haeckelin taksonomista asemaa ei tutkimuksessa voitu selvittää. Saatujen tulosten ja aikaisempien tutkimusten perusteella näyttää kuitenkin siltä, että loinen ei kuuluisi alkueläimiin, imumatoihin tai sukkulamatoihin. P. haeckelin histologisen ja kemiallisen rakenteen ei voitu todeta muistuttavan em. eläinryhmiä. Sitävastoin loisen rakenne viittaa siihen, että se saattaisi kuulua kasvikuntaan, lähinnä sieniin tai leviin.

Loisen yksityiskohtainen kemiallinen rakenne on edelleen selvittämättä. Loisen kuoressa todettiin polysakkarideja kuten eräissä aikaisemmissakin tutkimuksissa (VEY 1979, VRANCKX ja DURLIAT 1981). Täten kuori saattaisi sisältää kasvikunnalle tyypillistä

selluloosaa, kuten WIERZEJSKI (1888) ja GRABDA (1934) ovat esittäneet.

P. haeckelin mahdollisesta kuulumisesta leviin saatiin myös viitteitä. ROBIN (1853) sijoitti kuvaamansa rumpukalan (*Sciaenidae*) loisen Psorospermium sciaenae-umbrae piileviin (*Diatomae*).

P. haeckelin kuoren kovuus ja säilyminen happokäsittelyssä osoittaa sen sisältävän hyvin kestävä ainetta, mahdollisesti piilevissä esiintyvää piioksidia. Tätä tukee myös se, että kuori ei sula rapujen suolistossa, sellulaasi- ja kitinaasientsyymien vaikutuksesta. Myös OVERSTREET (1983) esitti P. haeckelin olevan levä.

Tutkimuksessa ei havaittu loisen mahdollisia eri kehitysvaiheita, lukuunottamatta hieman pienikokoisempia ja pyöreähköjä muotoja. Näistä pienimmät olivat pituudeltaan 60,8 µm. GRABDAN (1934) löytämiä amebamaisia 1- ja kaksitumaisia, pituudeltaan 9,6-25 µm:n muotoja ei havaittu. Tämä saattaa johtua liian pienestä leikemäärästä tai huonosta fiksointi- ja värjäysmenetelmästä. Koska loisia esiintyy ravuissa massoittain, pitäisi myös nuorempia kehitysvaiheita olla ravuissa runsaasti. Kuitenkin GRABDA (1934) havaitsi niitä vain kahdessa tutkimistaan 330 ravusta. Matoloisia, jotka voisivat munia suurikokoisia munia ravun eri kudoksiin tai hemolyymfaan, ei ole todettu (SCHNEIDER 1932, SCHEER 1934, LAHSER 1975). On todennäköistä, että P. haeckeli leviää rapuun pienten, mahdollisesti amebamaisten "itiöiden" avulla. Esimerkiksi ravinnon tai hengitysveden mukana rapuun leviävät loiset voisivat kulkeutua avoimen verenkierron kautta kaikkialle rapuun ja kehittyä suuriksi, paksukuorisiksi muodoik-

si vasta ravun kudoksissa. P. haeckelin elämänkiertoon kuuluu ilmeisesti yksi- tai useampia väli-isäntiä ja pääisäntä. Rapu on todennäköisesti loisen väli-isäntä, koska se tuskin voi lisääntyä ja levitä edelleen ravun kudoksista, ellei rapu joudu jonkin toisen eläimen ravinnoksi. Ravun vihollisia ovat mm. ankerias, made, ahven, piisami ja minkki. Kannibalismilla tuskin on merkitystä leviämislle, koska loinen on tartuntakokeissa siirtynyt hyvin heikosti ravusta toiseen (GRABDA 1934, SCHEER 1934). Tämä osoittaa myös, että loisen elämänkierto edellyttää ravun lisäksi toista väli-isäntää tai pääisännän. ZACHARIAS (1888) tosin esitti, että P. haeckeli lisääntyy kuoren sisältä purkautuvien pienten itiöiden avulla, jotka vähitellen kasvavat emoyksilön kaltaisiksi. Tämä ei kuitenkaan selitä loisen tehokasta leviämistä ravusta toiseen. On tosin mahdollista, että loinen jossakin muuttuneissa olosuhteissa, esimerkiksi ravun kuollessa, alkaisi lisääntyä tai kasvaa ulos ravusta tuottaakseen itiöitä kuten rapuruttosieni tekee. Tätä pyrittiin selvittämään tutkilla useita päiviä vedessä kuolleen olleita rapuja. Loiset olivat rapujen kudoksissa kuitenkin ennallaan. Mahdolliset lois-itiöt, sieni-itiöt tai levät voisivat levitä rapuun joko veden välityksellä tai ravinnon, esimerkiksi pohjaeläinten tai kasviravinnon mukana.

P. haeckelin edelleen epäselvän taksonomisen aseman selvittäminen edellyttää loisen elämänkierron ja eri kehitysvaiheiden histologisen ja kemiallisen rakenteen selvittämistä. Ratkaisevia tulok-

sia olisikin ehkä mahdollisuus saada perusteellisilla historiallisilla analyyseillä. Tulosten perusteella loisen taksonomisesta asemasta voisi saada viitteitä vertaamalla niitä tunnettujen kasvi- ja eläinryhmien kemiallisen rakenteen kanssa.

8. TIIVISTELMÄ

Ravun loinen, Psorospermium haeckeli kuvattiin ensimmäisen kerran vuonna 1857 ja nimettiin vuonna 1883. Suomessa loinen löydettiin vuonna 1975 ja sitä on toistaiseksi todettu kymmenen järven ravuissa. P. haeckeliä koskevat tiedot ovat suurelta osin hyvin puutteelliset. Tämän työn tarkoituksena on pyrkiä selvittämään loisen rakennetta, taksonomista asemaa ja haittavaikutuksia, jotta voitaisiin arvioida P. haeckelin merkitystä rapukannoille.

Aikaisemmissa tutkimuksissa todettujen loisen fiksointiongelmien vuoksi kokeiltiin useita fiksointinesteitä, formaliinia, Bouinin liuosta, Carnoy'n liuosta, Heidenhainin Susa liuosta sekä formaliinia ja kaliumpermanganaattia, joihin oli lisätty detergenttejä Triton X-100 ja dimetylsulfoksidia. Näistä mikään ei tuottanut tyydyttävää fiksointitulosta. Kokeilluista värjäysmenetelmistä (Giemsa, Heidenhain Azan, Heidenhain hematoksyliini, Mayerin hemalum ja alsiansini-PAS) kaikki olivat varsin hyviä. Happokäsittelykokeessa typpihapossa ja natriumhypokloriitissa pidentyistä loisista säilyi vain kuoren toinen kerros. Elektronimikroskooppisin menetelmin saadut tulokset loisen rakenteesta vahvistavat suurelta osin aikaisempien valomikroskooppisten tutkimusten havainnot.

P. haeckeli on pitkänomaisen soikea ja poikkileikkaukseltaan pyöreähkö läpinäkyvä muodostuma. Sen kuori on hyvin paksu, kova ja 4- tai 5 -kerroksinen. Tässä tutkimuksessa todetun, aikaisem-

min tuntemattoman neljännen kerroksen esiintymisestä ei saatu varmuutta. Suuren osan loisen sisällöstä muodostavat soluliman ympäröivät erikokoiset pyöreät rakkulat, jotka ovat ilmeisesti vararavintoa. Solulimassa todettiin ribosomeja, glykogeeni-
jyväsiä, eriterakkuloita, mitokondrioita sekä kaksi vierekkäistä, samankokoista tumaa. Mitokondrioita ei ole aikaisemmin todettu. Loisen koko on vanhojen tietojen mukaan noin 50 x 180 µm ja uudempien tietojen mukaan noin 60 x 100 µm. Syynä kokoeroihin ovat mahdollisesti eri Psorospermium -lajit tai ympäristöolojen vaikutus. Osa loisista on pienempiä ja pyöreäköjiä, halkaisijaltaan noin 70 µm. Ne ovat mahdollisesti loisen nuoria kehitysvaiheita. Muita loisen elämänvaiheita ei todettu. P. haeckelilla on aikaisemmin todettu amebamainen 1- ja 2 -tumainen muoto, mutta tiedot loisen lisääntymisestä, elämäntierrosta ja leviämisestä ovat hyvin vähäisiä ja epävarmoja. Psorospermium -loisia on tartunnan saaneiden rapujen kaikissa kudoksissa yleensä massoittain. Eniten loisia oli verisuoniston ja ruoansulatuskanavan ympäristön ja selkäkilven sisäpinnan sidekudoksessa sekä suun ja mahalaukun lihaksissa.

Tartunnan saaneiden rapujen osuus tutkitussa rapusaaliissa oli 100 %. P. haeckelin aiheuttamat muutokset ravun kudoksissa ovat vähäiset. Loisen ympärille kerääntyy joskus hemolympfan soluja ja melaniinia. Loista on pidetty ravulle täysin harmittomana. Tutkimuksen merkittävin tulos oli havainto, jonka mukaan loinen voi ainakin välillisesti aiheuttaa ravun kuoleman kuorenvaihdon tai vahingoittumisen yhteydessä. Suoritetuissa kokeissa otettiin loisnäyte rapujen selkäkilven sisäpinnalta. Psorospermium

-tartunnan saaneilla ravuilla kehittyi toissijainen bakteeritartunta (Aeromonas hydrophila), jonka seurauksena näytteenottokohtaan syöpyi reikä. Tulehdus johti lopulta koerapujen kuolemaan, kun taas terveet samalla tavoin käsitellyt kontrolliravut elivät normaalisti. Kuorenvaihdon häiriöiden ja vahingoittumisen kautta P. haeckeli saattaa aiheuttaa vähittäistä, jatkuvaa kuolevuutta luonnonvesien rapukannoissa ja ravunviljelyssä.

P. haeckelin taksonominen asema on edelleen epäselvä. Loisen on esitetty kuuluvan alkueläimiin, itiöeläimiin, imumatoihin ja sukkulamatoihin. Tutkimuksessa saatiin viitteitä siitä, että loinen saattaisi kuulua kasvikuntaan, mahdollisesti sieniin tai leviin. P. haeckeli muistuttaa patogeenisen, dimorfisen sienen Blastomyces dermatitidis konidiota. Yhteisiä rakennepiirteitä ovat mm. paksu, ainakin nelikerroksinen kuori, sisällön kaksi tumaa, suuret rakkulat ja mitokondriot. Myös loisen kuoressa todetut polysakkaridit viittaavat P. haeckelin kuuluvan kasveihin. Toisaalta loisen erittäin kestävä, voimakkaissa hapoissa säilyvä kuori, viittaa sen sisältävän mahdollisesti piioksidia, jolloin P. haeckeli voisi kuulua leviin, lähinnä piileviin.

Kiitokset

Haluan kiittää kaikkia tutkimuksessa ja koeravustuksissa avustaneita henkilöitä Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitokselta sekä koerapuja hoitanutta Evon kalastuskoeaseman ja kalanviljelylaitoksen sekä Porlan kalanviljelylaitoksen henkilökuntaa. Työssä ovat arvokasta apua antaneet myös Helsingin yliopiston elektronimikroskopian laitoksen johtaja, apul. prof. Jorma Wartiovaara ja assistentti, FT Kari Lounatmaa opastamalla elektronimikroskooppisissa ongelmissa. Erityisesti olen kiitollinen hyödyllisistä neuvoista ja kannustuksesta FL Kai Westmanille Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitokselta ja FT Antti Soiviolle Helsingin yliopiston eläintieteen laitoksen fysiologisen eläintieteen osastolta.

9. KIRJALLISUUS

- ANDERSON, T. F. 1951: Techniques for the preservation of three-dimensional structure in preparing specimens for the electron microscope. - Trans. N. Y. Acad. Sci. 13: 130.
- BURCK, H.-C. 1969: Histologische Technik. - G. Thieme Verlag, Stuttgart.
- CUKERZIS, J. M. 1970: Plačiažnyplio vežio biologija (*Astacus astacus* L.). (Summary: The biology of crayfish (*Astacus astacus* L.)). - 206 s. Vilna.
- GARRISON, R. G. & BOYD, K. S. 1978: Role of the conidium in dimorphism of *Blastomyces dermatitidis*. - Mycopathologia 64 (1): 29-33.
- GRABDA, E. 1934: Recherches sur un parasite de l'écrevisse (*Potamobius fluviatilis* L.), connu sous le nom de *Psorospermium haeckeli* Hlgd. - Mém. Acad. Pol., Sér. B: Sci. nat. 6: 123-142. Cracovie.
- GROBBEN, C. 1878: Beiträge zur Kenntniss der männlichen Geschlechtsorgane der Dekapoden. - Arb. Zool. Inst. Univ. Wien 1: 57-150.
- GURLEY, R. R. 1894: The Myxosporidia, or Psorosperms of fishes and the epidemics produced by them. - Rep. U. S. Fish. Comm. 18: 71-73, 135-137.
- GURR, E. 1962: Staining animal tissues, practical and theoretical. - Leonard Hill Ltd, London. 631 s.
- HAECKEL, E. 1857: Ueber die Gewebe des Flusskrebsses. - Arch. Anat. Physiol. Med. 24: 561-562, pl. 19, fig. 25 a-c.

- HILGENDORF, F. 1883: Bemerkungen über die sogenannte Krebspest, insbesondere über *Psorospermium haeckelii* spec. nova.
- Sitzungsber. Ges. Naturf. Fr. Berlin 9: 179-183.
- KRUCINSKA, J. & SIMON, E. 1968: O pasozytach i epibiontach jamy skrezelowej raków z Wrocławia i okolic. (Summary: On the parasites and epibionts of the branchial cavity in crayfish at Wrocław and vicinity.). - Przegląd Zoologiczny 12 (3): 288-290.
- LABBÉ, A. 1899: Sporozoa. - Teoksessa: BÜTSCHLI, O. (toim.), Das Tierreich 5: 126-127. Berlin. 180 s.
- LAHSER, C. W. Jr. 1975: Epizoöites of crayfish I. Ectocommensals and parasites of crayfish of Brazos County, Texas. - Teoksessa: AVAULT, J. W. Jr. (toim.), Freshwater Crayfish II: 277-285. Baton Rouge, Louisiana, USA (1974). 676 s.
- LEUCKART, R. 1879-1886: Die Parasiten des Menschen und die von ihnen herrührenden Krankheiten. 2 vol. 2. p. s. 241. Winter, Leipzig und Heidelberg.
- LJUNGBERG, O. & MONNÉ, L. 1968: On the eggs of an enigmatic Nematode parasite encapsulated in the connective tissue of the European crayfish, *Astacus astacus* in Sweden.
- Bull. Off. Int. Epiz. 69 (7-8): 1231-1235.
- MAZYLIS, A. 1975: Diseases and parasites of *Astacus astacus* L. in some lakes of Lithuania. (venäjäksi). - Osnovy bioproduktivnosti vnutr. vod. Pribaltiki: Mat. XVIII nauch. conf., Vilnius, 319-321.
- NYBELIN, O. 1936: Untersuchungen über die Ursache der in Schweden gegenwärtig vorkommenden Krebspest. - Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm 9: 3-29

- NYLUND, V. & WESTMAN, K. 1977: *Psorospermium haeckeli* - ravun loistauti löydetty Suomesta. - Suomen Kalastuslehti 7: 162-165.
- NYLUND, V. & WESTMAN, K. 1978: *Thelohania contejeani* och *Psorospermium haeckeli* - två kräftparasiter. - Information från Sötvattenslaboratoriet, Drottningholm 14: 72-81.
- NYLUND, V. & WESTMAN, K. 1979: *Psorospermium haeckeli*, a parasite on the European crayfish, *Astacus astacus*, found in Finland. - Teoksessa: LAURENT, P. J. (toim.), Freshwater Crayfish IV: 385-390.
- NYLUND, V., WESTMAN, K. & LOUNATMAA, K. 1983: Ultrastructure and taxonomic position of the crayfish parasite *Psorospermium haeckeli* Hilgendorf. - Teoksessa: GOLDMAN, C. (toim.), Freshwater Crayfish V: 307-314.
- OVERSTREET, R. M. 1983: Metazoan symbionts of Crustaceans. - Teoksessa: BLISS, D. E. (toim.), The biology of Crustacea, Vol. 6: Pathobiology: 155-250. Academic Press. New York, London. 290 s.
- PEARSE, A. G. 1968: Histochemistry. Theoretical and applied. - Vol. I. 3. p. Churchill Livingstone, London. 759 s.
- ROBIN, C. 1853: Histoire naturelle des végétaux parasites. (Ref. GURLEY, R. R. 1894).
- SCHNEER, D. 1934: Über einen mutmasslichen Blutgefässparasiten des Flusskrebsses (*Potamobius astacus*). - Zeitschr. Parasitenkunde 6: 478-480.
- SCHNEIDER, W. von 1932: Nematoden aus der Kiemenhöhle des Flusskrebsses. - Arch. Hydrobiol. 24: 629-636.

- SCHÄPFERCLAUS, W. 1935: Die Ursache der pestartigen Krebssterben.
- Zeitschr. Fisherei 33: 343-366.
- 1954: Fischkrankheiten. - Akademie-Verlag, Berlin. 3. p.
s. 356, 378. 708 s.
- 1979: Fischkrankheiten. - Akademie-Verlag, Berlin. 4. p.
s. 606. 1089 s.
- THIÉRY, J.-P. 1967: Mise en évidence des polysaccharides sur
coupes fines en microscopie électronique. - J. Microscopie
6: 987-1018.
- UNESTAM, T. 1973: Significance of diseases on freshwater
crayfish. - Teoksessa: ABRAHAMSSON, S. (toim.), Fresh-
water Crayfish I: 135-150. Austria (1972). 252 s.
- 1975: Defence reactions in crayfish towards microbial
parasites, a review. Teoksessa: AVAULT, J. W. Jr. (toim.),
Freshwater Crayfish II: 327-336.
- UNESTAM, T. & NYLUND, J. E. 1972: Blood reactions in vitro in
crayfish against a fungal parasite *Aphanomyces astaci*.
- J. Invertebrate Pathol. 19: 94-106.
- VALLENTIN, R. 1888: *Psorospermium Lucernariae*. - Zool. Anz.
11: 622-623.
- WELCHER, F. 1942: Chemical solutions. Reagents useful to the
chemist, biologist and bacteriologist. - 3. p. D. van
Nostrand Company Inc., New York. 404 s.
- WELLMER, L. 1911: Sporozoen ostpreussischer Arthropoden.
- Schr. Phys.-Ökonom. Ges. Königsberg 52: 64-103.
- WESTMAN, K. & NYLUND, V. 1978a: Suomessa tavatut rapujen loiset
ja taudit. - RKTL kalantutkimusosasto. Tiedonantoja 11:
49-69.

- WESTMAN, K. & NYLUND, V. 1978b: I Finland påträffade parasiter och sjukdomar hos kräftor. - VFFI fiskeriforskningsavdelningen. Meddelanden 10: 48-68.
- WESTMAN, K. & NYLUND, V. 1985: Rapu ja ravustus. 173 s. Weilin + Göös. Espoo.
- VEY, A. 1979: Recherches sur un maladie des écrevisses due au parasite *Psorospermium haeckeli* Hilgendorf. - Teoksessa: LAURENT, P. J. (toim.), Freshwater Crayfish IV: 411-418.
- WIERZEJSKI, A. 1888: Kleiner Beitrag zur Kenntnis des *Psorospermium Haeckelii*. - Zool. Anz. 11: 230-231.
- VORONIN, V. N. 1975: O nahoždenii *Psorospermium* sp. v *Gammarus lacustris*. (Summary: On findings of *Psorospermium* sp. in *Gammarus lacustris*). - Izvestija GosNIORH, vol. 93: 125-126. Leningrad.
- VRANCKX, R. & DURLIAT, M. 1981: Encapsulation of *Psorospermium haeckeli* by the haemocytes of *Astacus leptodactylus*. - *Experientia* 37: 40-41.
- ZACHARIAS, O. 1888: Über *Psorospermium Haeckelii*. - Zool. Anz. 11: 49-51.

Liite 1. Pojanjärven vesianalyysitulokset vuosina 1978-1980. Näytteet on otettu järven pohjoispään keskiosasta, syvimmästä kohdasta.

	7.6. 1978		7.9. 1978		5.4. 1979		18.4. 1980	
	1	6	1	5,5	1	6	1	6,5
Syvyys, m								
Lämpötila, °C	19,1	7,5	14,2	9,3	1,5	4,1	3,5	3,7
pH	-	-	6,95	6,6	7,2	6,85	6,7	6,9
Väri, mg Pt/l	70	60	40	125	50	60	40	100
Johtokyky, µS	75	74	70	80	66	65	39	90
KMnO ₄ , mg/l	42,6	46,1	36,0	46,1	36,6	35,7	23,1	51,5
Kok. kovuus, °dH	1,81	1,79	1,80	2,24	1,92	2,06	1,12	2,24
Ca-kovuus, °dH	1,12	0,91	0,73	0,98	0,57	0,68	0,47	0,95
Fe, mg/l	0,41	0,10	0,09	1,70	0,09	0,30	0,12	2,00

Liite 1. Pojanjärven happitilanne vuosina 1978-1980. Näytteet otettu järven pohjois-
pään keskiosasta, syvimmästä kohdasta.

Aika	7.6. 1978			7.9. 1978			5.4. 1979			18.4. 1980		
	°C	O ₂ mg	O ₂ %	°C	O ₂ mg	O ₂ %	°C	O ₂ mg	O ₂ %	°C	O ₂ mg	O ₂ %
1	19,1	9,0	100,1	14,2	8,1	82,0	1,5	10,2	75,0	3,5	8,0	62,2
2	19,0	8,6	95,5	14,0	8,2	82,0	2,8	6,8	52,0	3,5	7,3	56,7
3	-	-	-	14,0	8,2	82,0	3,8	2,5	20,0	3,5	6,7	52,1
4	10,6	8,0	74,3	14,0	7,8	78,0	3,9	1,0	8,0	3,5	5,5	42,7
5	-	-	-	12,2	1,5	14,0	4,0	0,6	5,0	3,5	0,4	3,1
6	7,5	4,0	34,5	9,3	0,2	2,0	4,1	0,4	3,0	3,7	0,3	2,3

Liite 2. Pojanjärven ja Hirvijärven koeravustustulokset ja saalisrapujen selkäkilven pituus ja sen keskiarvon keskiarvo vuosina 1977, 1978, 1979 ja 1981. Selkäkilven pituus on noin puolet ravun kokonaispituudesta.

Aika	Pyynti- öitä	Mertoja kpl	Pyynti- alue, m	♀♀ kpl	Selkä- kilpi, mm	♂♂ kpl	Saalis		Yht. kpl	Selkä- kilpi, mm	Selkä- kilpi, mm	Saalis/ merta/ yö, kpl
							♀♀ kpl	♂♂ kpl				
Pojanjärvi												
17.-18.11. 1977	1	73	365	1	53,0	5	56,6±4,3	6	56,0±3,5			0,082
5.-7.6. 1978	2	75	375	4	54,5±1,4	7	54,1±1,4	11	54,3±1,0			0,074
4.-7.9. 1978	3	100	500	28	52,5±1,2	17	51,8±1,8	45	52,2±0,8			0,150
5.9. 1978	1	Sähkö- kalastus- laite	120	8	20,0±1,9	10	22,7±1,9	18	21,5±1,4			-
12.-14.10. 1981	2	100	500	34	49,2±0,6	27	51,3±1,0	61	50,1±0,6			0,305
Hirvijärvi												
17.-18.11. 1977	1	15	75	9	42,2±1,8	11	44,1±1,0	20	43,3±1,0			1,333

LIITE 2

**RIISTA- JA KALATALOUDEN TUTKIMUSLAITOS,
KALANTUTKIMUSOSASTO**

MONISTETTUJA JULKAISUJA

- No 37. KOLJONEN, M.-L.: Suomen lohikantojen entsyymigeneettinen muuntelu. Helsinki 1985. 94 s.
- No 38. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen kalantutkimusosaston tutkimus-, palvelu-, tiedotus- ja julkaisutoiminta vuonna 1983. Helsinki 1985. 133 s.
- No 39. Suunnitelma Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen kalantutkimusosaston toiminnaksi vuodelle 1985. Helsinki 1985. 155 s.
- No 40. SALOJÄRVI, K., PARTANEN, H., AUVINEN, H., JURVELIUS, J., JÄNTTI-HUHTANEN, N. ja RAJAKALLIO, R.: Oulujärven kalatalouden kehittämissuunnitelma. Osa I: Nykytila. Helsinki 1985. 278 s.
- No 41. SALOJÄRVI, K. ja PARTANEN, H.: Oulujärven kalatalouden kehittämissuunnitelma. Osa II: Suunnitelma. Helsinki 1985. 116 s.
- No 42. PURSIAINEN, M., ASLA, I., KANNEL, R. ja WESTMAN, K.: Lohenpoikasten vapautusallaskokeet Selkämeren rannikolla vuosina 1983—1984. 1—28.
NAARMINEN, M.: Lohi- ja taimenmerkintöjen yhteydessä tapahtuvasta kalojen käsittelystä, kuljetuksesta ja istutuksesta. 29—62. Helsinki 1985.
- No 43. SALMI, P.: Ammattikalastuksen investointien, vuosiansioiden ja saaliiden aikasarja-analyysi vuosilta 1978—1982. Helsinki 1986. 46 s.
- No 44. KALLIO, I.: Vaelluskalakantojen nykyinen tila ja hoito. 1—51.
KALLIO, I.: Istutettujen ja luonnonkudusta peräisin olevien emolohien (Salmo salar L.) fekunditeetti ja mätimunien koko. 53—74. Helsinki 1986.
- No 45. LOUHIMO, J. ja HONKASALO, L.: Taimenkanta ja taimenen ympäristövaatimukset Evön Luutajoessa. 1—74.
JUTILA, E.: Vaikkojoen kunnostussuunnitelmaa koskeva tarkastus- ja selvitystyö. 75—96.
JUTILA, E.: Selvitys Vieksinjoen vesistön uittolaitteiden ja -rakenteiden kalataloudelle aiheuttamista haitoista sekä niiden poistamiseksi tarvittavista toimenpiteistä. 97—112.
JUTILA, E.: Hossanjoen uittoperkauksien aiheuttamat kalataloudelliset vahingot sekä niiden poistamiseksi tarvittavat toimenpiteet. Hossanjoen uittosäännön kumoamiseen liittyvä kalataloudellinen selvitys. 113—126. Helsinki 1986.
- No 46. Nahkiainen-nejonögon -symposiumin, 17.—18.10.1979 Kalajoki. Toim. T. Järvenpää ja K. Westman. Helsinki 1986. 107 s.
- No 47. LEHTONEN, H., BÖHLING, P. och HUDD, R.: Siken och sikkfisket i Kvarkenområdet. Helsinki 1986. 76 s.
- No 48. Suunnitelma Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen kalantutkimusosaston toiminnaksi vuodelle 1986. Helsinki 1986. 178 s.
- No 49. ERONEN, T., HANSKI, A., HYYTINEN, L. ja KAIJOMAA, V.-M.: Vuoksen vesistöalueen lohi- ja taimenkantojen hoidon puiteohjelma. Helsinki 1986. 117 s.
- No 50. TUUNAINEN, P., VUORINEN, P., RASK, M., JÄRVENPÄÄ, T. ja VUORINEN, M.: Happaman laskeuman vaikutukset kaloihin. Raportti vuodelta 1985. English summary: Effects of acidic deposition on fish, Report 1985. 1—39.
TIKKA, J. ja PAASIVIRTA, L.: Ahvenen populaattiorakenne, kasvu ja tuotanto kahdessa eteläsuomalaisessa metsäjärvässä. 40—63. Helsinki 1986.
- No 51. Valtion kalanviljelyn VII neuvottelupäivät 12.—14.4. 1983 Punkaharjulla. Toim. A. Vihervuori. Helsinki 1986. 119 s.
- No 52. NIKINMAA, B.: Inverkan av ljus och insekttillskott till födan på tillväxten hos laxyngel Salmo salar. Helsinki 1986. 79 s.
- No 53. Papers presented at ICES Statutory Meetings in 1984—86 by Finnish participants. Helsinki 1986. 260 pp.
- No 54. JÄRVENPÄÄ, T.: Veden vähähappisuuden ja happamuuden vaikutukset ravun hemolyymfaan. Helsinki 1986. 64 s.

SISÄLTÖ

NYLUND, V.: Ravun loisen, *Psorospermium haeckeli* Hilgendorf rakenne, haittavaikutukset ja taksonominen asema. 60 s.

ISBN 951-9092-84-6
ISSN 0358-4623