

Miksi toiminnan tutkimus (fysiologia) on oleellinen osa ympäristöbiologiaa?

Mikko Nikinmaa

Ilmastonmuutos ja ympäristön pilaantuminen ovat nostaneet ympäristöbiologian yhdeksi keskeisistä luonnontieteiden tutkimusaloista. Perinteisesti ympäristöbiologia on mielletty ekologisteksi tutkimukseksi, joka on sujuvasti ottanut mukaan evoluution ja perinnöllisyyden näkökulmat. Kuitenkin ympäristö voi vaikuttaa eliöihin vain niiden toimintojen (fysiologian) kautta, joten myös elintoimintojen tutkimuksen pitäisi olla oleellinen osa ympäristöbiologiaa. Tässä kirjoituksessa perustelen, miksi näin on.

Johdanto

Biologia on oppi elämästä. Elollisen luonnon erottaa kivikunnasta toiminta. Vaikka elottomalla kivenmurikalla olisi täsmälleen samat DNA- ja proteiinimolekyylit kuin eliöllä, ilman toimintaa se olisi vain kivi. Lisääntyminen, liikkuminen, syöminen, yhteytys, hengitys – kaikki ne ovat elolliselle luonnolle ominaisia toimintoja. Biologian peruspilari on evoluutio, minkä ansiosta on syntynyt nykyinen biologinen lajikirjo – monimuotoisuus. Evoluutio on eliöiden perinnöllisten ominaisuuksien muutos sukupolvien saatossa. Jotta evoluutiota voisi olla, eliöiden on lisääntyttävä. Eliöt muodostavat yhteisöjä, joissa ne lisääntyvät, muuntuvat ja lajiutuvat.

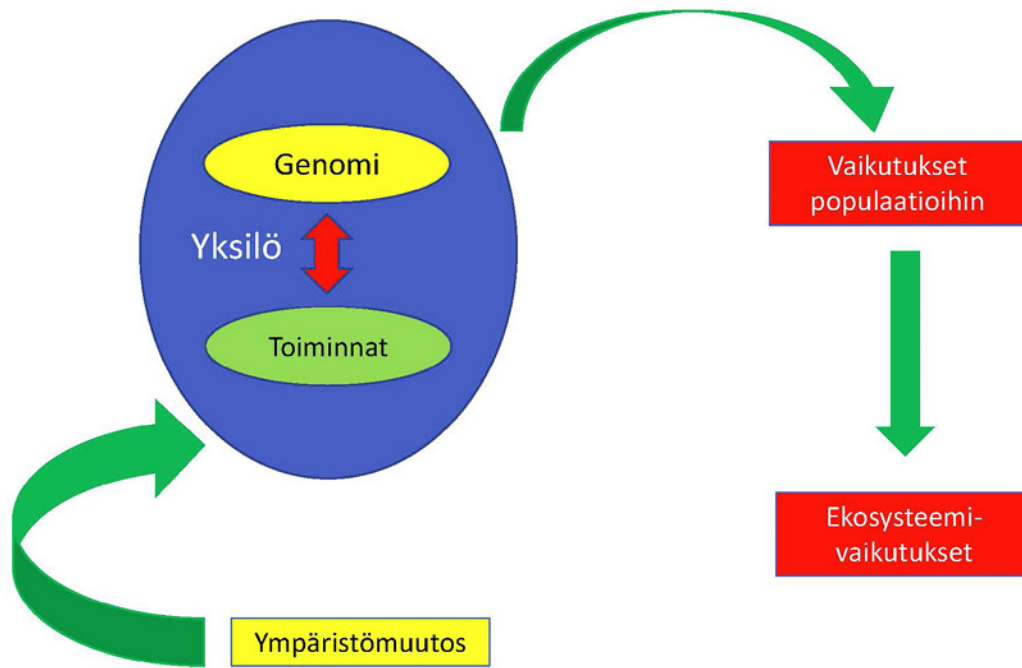
Ekologinen tutkimus selvittää eliöiden vuorovaikutuksia toistensa sekä niitä ympäröivän elottoman ympäristön kanssa. Kaikki vuorovaikutukset niin elollisen kuin elottoman ympäristön kanssa perustuvat toimintoihin: linnun muutto on aivotoimintoihin perustuvaa suunnistusta ja lentolihasien energia-ainevaihduntaa; peto-saalissuhteet ovat pakoreaktioita ja saalistusta eli aistintoimintoja ja lihaksen fysiologiaa; käyttäytymisen takana ovat monimutkaiset hermoverkot; selviytyminen eri lämpötiloissa perustuu pitkälti sydämen ja verenkierron toimintaan; sopeutuminen vähähappiseen ympäristöön riippuu hengityksen ominaisuuksista ja hapenkulutuksesta jne.

Siksi niin evoluutiobiologia kuin ekologinen

tutkimus edellyttää syvällistä eliöiden toimintojen (fysiologian) tuntemusta. Kuva 1 kuvaa periaatteellisella tasolla eri biologian alojen riippuvuuden toiminnasta. Tässä kirjoituksessa käsitelen sitä, miten eläinten vasteita ja sopeutumia muuttuvaan ympäristöön voi selvittää kunnolla vain eläinfysiologiaa ymmärtäen. Kirjoituksessa en käsittele kasvien ja mikro-organismien fysiologiaa.

Geenien ilmeneminen: mihin ympäristömuutokset voivat vaikuttaa?

Kuvassa 2 esitetään geenien ilmenemisen eri vaiheet. Eliöiden rakentumiseen tarvittava informaatio sisältyy tumassa olevaan DNA:han. Vain pari prosenttia DNA:sta on solujen valkuaisaineita koodaavia geenejä. Ennen ajateltiin, että loppu DNA olisi merkityksetöntä, mutta parin viime vuosikymmenen aikana on selvinnyt, että se tuottaa ei-koodaavia RNA-molekyylejä (mikroRNA, miR; long non-coding RNA, lncRNA), jotka vaikuttavat mRNA:n kohtaloon ja translaation tehokkuuteen, ja sisältää geenien säätelyalueita, jotka määräävät geenien luennan (transkription) tehokkuuden. Täten se osa DNA:ta, joka ei sisällä valkuaisaineita koodaavia geenejä, säätelee koodaavien geenien ilmenemistä aiheuttaen osaltaan esimerkiksi sen, että eri solutyypin valkuaisaineet ja sitä kautta ominaisuudet poikkeavat merkittävästi toisistaan.



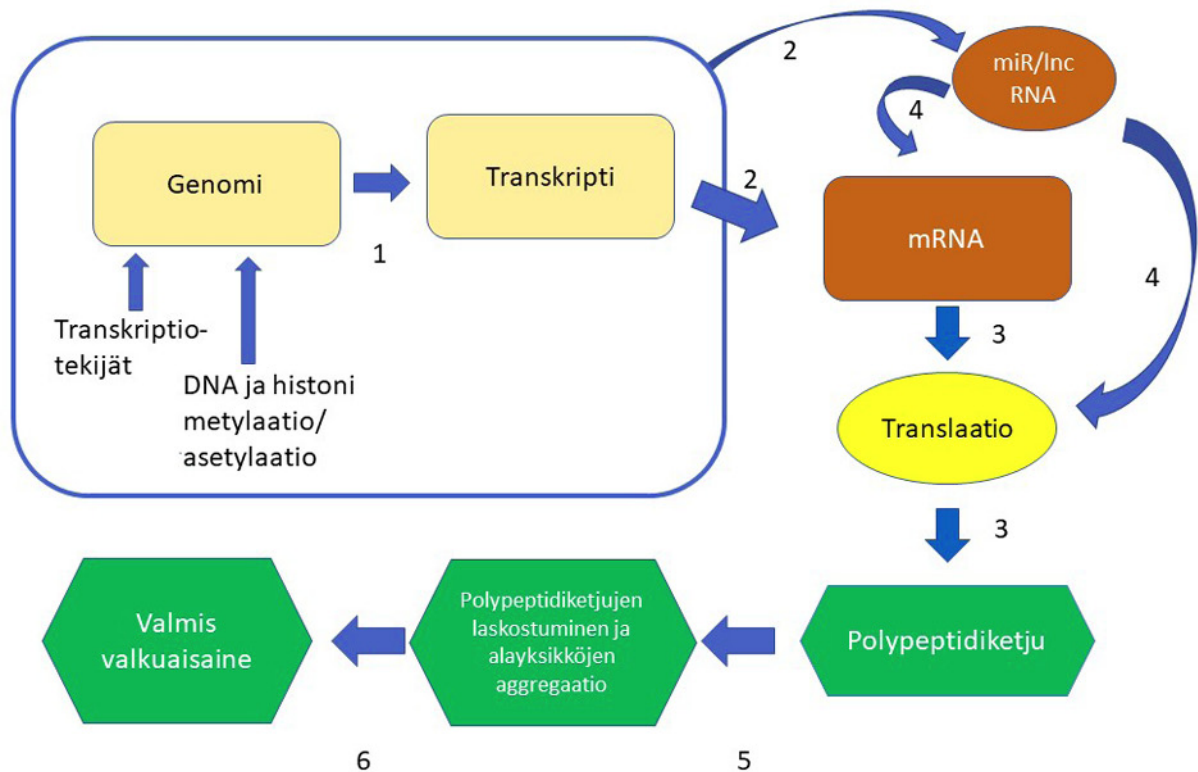
Kuva 1. Ympäristömuutoksien vaikutusreitti. Ympäristön muuttuminen vaikuttaa suoraan joko yksilöiden perimään tai niiden toimintaan. Jos vaikutus on genomiin, populaatio- ja ekosysteemi-vaikutuksia on vain, jos yksilön tai sen jälkeläisten toiminta muuttuu kelpoisuutta muuttavasti. Yksilön (ja sen jälkeläisten) toiminnan muutokset heijastuvat populaatiotasolle ja populaatioiden muutokset näkyvät ekosysteemin muutoksina.

Ensimmäisessä vaiheessa geeni luetaan. Luennan (transkription) tehokkuuteen vaikuttavat mm. epigeneettiset (DNA:n ja histonien metylaatio ja asetylaatio) ja transkriptiotekijät. Transkriptiotekijät ovat valkuaisaineita, jotka sitoutuvat geenien säätelyalueille (promoter ja enhancer). Ympäristömuutoksiin liittyen eniten on tutkittu Ah-reseptoria, hypoksian indusoimaa tekijää (HIF) ja lämpöshokkitekijää (HSF), mutta transkriptiotekijät säätelevät myös vuorokausirytmien syntyyn osallistuvia sekä metallipitoisuuksista ja hapetus-pelkistystasapainosta riippuvia geenejä. Tässä geenien ilmenemisen (geeniekspression) ensimmäisessä vaiheessa fysiologiaa ja genetiikkaa on vaikea erottaa toisistaan, koska solufysiologiset säätelymekanismit vaikuttavat geenien luentaan. Fysiologian ja genetiikan erottaminen on vaikeaa muissakin geeniekspression vaiheissa.

Geeniluennassa syntyy esi-mRNA, joka koostuu eksoneista ja introneista. Näistä intronit silmukoidaan pois, joten lopullinen mRNA

muodostuu vain eksoneista. Sama geeni voi tuottaa useita valkuaisaineita vaihtoehdoisen silmukoinnin avulla, jossa intronien lisäksi myös eri eksoneita poistetaan mRNA:sta. Silmukointi tapahtuu tumassa, minkä jälkeen transkripti siirtyy solulimaan valmiina lähetti RNA:na (mRNA).

Solulimassa mRNA:n sisältämä informaatio käännetään valkuaisaineeksi (translaatio). Translaatiota säätelevät esimerkiksi miR:t ja lncRNA:t ja ne voivat vaikuttaa joko mRNA:n pysyvyyteen tai itse translaation tehokkuuteen. Ympäristömyrkyt ja abioottiset ympäristötekijät voivat vaikuttaa translaatioon joko suoraan translaation tehokkuutta muuttamalla tai epäsuorasti miR tai lncRNA toimintaan vaikuttaen. Seuraavassa vaiheessa tapahtuu valkuaisaineen laskostuminen ja alayksikköjen yhdistyminen toiminnalliseen muotoon. Vasta tällöin geeni on ilmentynyt. Ympäristömuutokset voivat vaikuttaa valkuaisaineen muuttamiseen toiminnalliseen muotoon samoin kuin



Kuva 2. Geenien ilmenemisen vaiheet. Aluksi genomien geenit luetaan ja syntyy esi-mRNA (transkripti); 1). Luennan tehokkuutta säätelevät transkriptiotekijät ja epigeneettiset tekijät (DNA- ja histonimetylaatio ja asetylaatio). Transkripti siirtyy tumasta solulimaan valmiina lähetti-RNA:na (mRNA) tai mikro-RNA:na (miR) ja lnc RNA:na (2). Soluliman ribosomeissa mRNA:n informaatio käännetään polypeptidiketjuksi (translaatio; 3). MiR ja lncRNA voivat vaikuttaa translaation tehokkuuteen joko suoraan tai vaikuttamalla mRNA:n pysyvyyteen (4). Polypeptidiketju laskostuu oikeaan avaruudelliseen muotoonsa ja useiden valkuaisaineiden alayksiköt kerääntyvät yhteen (5) muodostaen lopullisen toiminnallisen geenituotteen, valmiin valkuaisaineen (6).

valmiin valkuaisaineen pysyvyyteen.

Viimeisessä vaiheessa ympäristömuutokset ja -myrkyt voivat vaikuttaa valmiin valkuaisainemolekyylin aktiivisuuteen. Mikäli ympäristömuutos vaikuttaa molekyylin toimintaan, eläinsolu voi reagoida tähän geeniluennan ja sitä seuraavan valkuaisainetuotannon muutoksilla. Tällöin on mahdollista, että kun esimerkiksi entsyymiaktiivisuus aluksi laskee ympäristömuutoksen vaikutuksesta, geeniluenta kiihtyy, mRNA taso nousee ja entsyymiä tuotetaan enemmän, jotta sen kokonaisaktiivisuus säilyisi yksittäisen valkuaisainemolekyylin aktiivisuuden laskemisesta huolimatta.

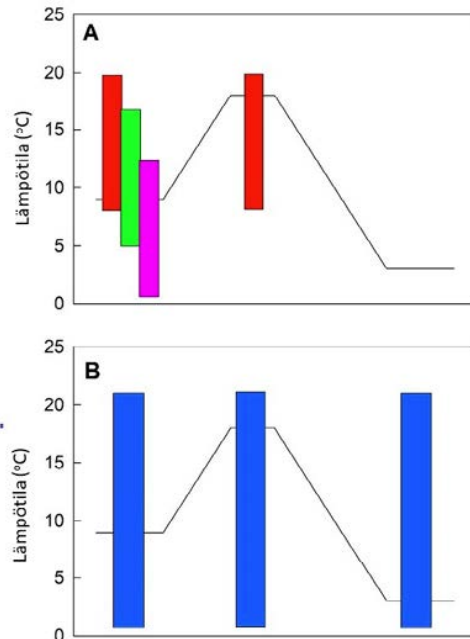
Usein on tullut tavaksi mitata mRNA:n määrä ja tehdä tästä johtopäätöksiä siitä, miten ympäristömuutos vaikuttaa eläimen toimintaan. Koska kaikki toiminnat perustuvat valkuaisai-

neiden ominaisuuksiin ja koska mRNA-tason jälkeen geenien ilmenemisessä voi tapahtua merkittävää säätelyä, tämä voi tuottaa aivan väärä tulkintoja, jos vasteena syntyviä toimintoja ei mitata. Valkuaisaine- ja mRNA-määrien muutoksien korrelaatio vaihtelee valkuaisaineesta riippuen täydestä riippumattomuudesta tiukkaan yhteyteen (Nikinmaa & Rytönen, 2011, Nikinmaa, 2014, Schwanhauser ym., 2011, Greenbaum ym. 2003). Menetelmien kehittyminen on johtanut mRNA-määrän valitettavan yleiseen käyttöön toimintojen kuvaajina. Koko genomien mRNA-määrä tietyllä hetkellä voidaan mitata RNA-sekvensoinnilla (tai aiemmin geenilastuilla) ja yksittäisten geenien tai pienten geenijoukkojen mRNA määrä kvantitatiivisen polymeraasiketjureaktion (qPCR:n) avulla. Nykyisin myös jopa tuhansien proteiini-

nien esiintyminen ja määrä voidaan mitata yhdestä näytteestä (Kang ym. 2019). Sen sijaan edelleenkin voidaan mitata yhtäaikaaisesti vain muutaman valkuaisaineen toimintaa. Lisäksi useat toimintojen mittaukset integroivat monien geenien toimintaa, jolloin useat eri reitit voivat johtaa samaan lopputulokseen (Nikinmaa & Waser 2007) – huomiota pitää kiinnittää muun muassa hermostollisiin ja hormonaalisiin vaikutuksiin sekä muihin solujen ja kudosten välisiin vuorovaikutuksiin. Esimerkiksi usein ympäristömuutoksien yhteydessä mitattava hapenkulutus riippuu satojen tai jopa tuhansien geenituotteiden toiminnasta, joten yhden geenin luennan ja hapenkulutuksen yhteyden löytäminen on sangen epätodennäköistä.

Yksilöiden välinen vaihtelu: merkittävä tekijä ympäristövasteissa

Jokaisen populaation yksilöiden ominaisuudet vaihtelevat. Perinteisesti tämän on ajateltu johtuvan populaation eri yksilöiden geneettisestä erilaisuudesta. Ympäristömuutoksiin sopeutumisen ja populaation geneettisen vaihtelun välillä onkin osoitettu olevan selvä yhteys (Powers ym. 1991). Yleensä ympäristömuutokset vähentävät populaatioiden geneettistä monimuotoisuutta. Viime vuosikymmenien aikana on kuitenkin tullut selväksi, että yksittäisen genotyypinkin yksilöiden ilmiasu vaihtelee; niillä on evoluution kannalta tärkeää fenotyypistä plastisuutta (Thompson 1991). Klonaalisia eläimiä (jotkut kalat, vesikirppu, joiden populaation kaikkien yksilöiden perimä [genomi] on täsmälleen sama) käyttäen on osoitettu, että ilmiasun vaihtelulla (fenotyypisellä plastisuudella) voi olla merkittävä osuus ympäristösopeutumisissa (Nikinmaa & Anttila 2019, Nikinmaa ym. 2019). Itse asiassa (Kuva 3) yhden genotyypin ilmiasun suuri vaihtelu on parempi strategia selviytymiselle vaihtelevissa ympäristöoloissa kuin samansuuruiseen vaihteluun alkuoloissa johtava geneettinen monimuotoisuus. Ilmiasun vaihtelu voi olla joko palautuvaa (akklimaatio) tai palautumatonta.



Kuva 3. Hypoteettinen kuva lämpötilamuutoksista selviämisestä, jos eläinpopulaatiossa esiintyvä vaihtelu on suurelta osin eri genotyyppien esiintymiseen perustuvaa (A) tai jos se johtuu yhden genotyypin ilmiasun vaihtelusta (fenotyypisestä plastisuudesta; B). A. Kaikki kolme genotyyppiä, joista populaatio koostuu, pystyvät selviytymään ja lisääntymään alkuperäisessä lämpötilassa (9 °C), mutta kun lämpötila nousee 18 °C:een vain yksi genotyyppi säilyy elossa. Lämpötilan laskiessa 3 °C:een, tämä genotyyppi ei pysty lisääntymään, jolloin laji katoaa kokonaan. B. Kun eläimen yhden genotyypin fenotyypinen plastisuus on suurta, se selviää jokaisessa lämpötilassa, joten lajilla on elinvoimainen populaatio kaikkien lämpötilamuutosten jälkeen.

Yksilöiden välistä vaihtelua aiheuttavat samalla genotyypillä ainakin kehityksenaikaisten ympäristöolosuhteiden erilaisuus (johtaen yleensä palautumattomiin eroihin yksilöiden välillä), maternaaliset tekijät, joina pidän emosta munasoluun erittyviä kasvutekijöitä, hormoneja ym., ja epigeneettiset tekijät, jotka mielestäni tarkoittavat sukupolvien välisiä eroja geeniluennassa, RNA-käsittelyssä tai translaatiossa ja jotka eivät johdu emon hedelmöityneeseen munasoluun erittämistä tekijöistä. Se, miten nämä tekijät vaikuttavat vaihteluun, ymmärretään tällä hetkellä huonosti. Huonosti on selvillä myös se, missä määrin ilmiasun vaihtelu riippuu eliön geneettisestä pohjasta.

Näihin puutteisiin on pääasiallisena syynä se, että toimintojen tutkimus on jäänyt vähälle huomiolle. Hyvin vähän on tutkittu esimerkiksi sitä, miten eläimen kehityksen aikana kokema lämpötila tai happipitoisuus heijastuu aikuisen eläimen toimintoihin kuten energiankulutukseen.

Riippumatta siitä, millä mekanismeilla samanlaisen perimän omaavien eläinten vaihtelu syntyy, sen olemassaolo merkitsee sitä, että ympäristömuutoksien vaikutuksia ei voida kunnolla selvittää ilman toiminnan mittauksia. Toiminnot kun voivat reagoida ympäristömuutokseen, vaikka geneettisiä eroja eläinten välillä ei olisikaan.

Lajien väliset erot

Perinteisesti lajit on eroteltu morfologisten ominaisuuksien perusteella. Viimeaikainen molekyyli-systematiikan kehittyminen on johtanut siihen, että molekyyli-menettelmin on löydetty lajeja, joita perinteisen systematiikan keinoin ei voi erottaa. Usein näiden kryptisten lajien elinvaatimukset poikkeavat huomattavasti. Esimerkiksi Itämeren pohjassa elävien *Marzelleria*-monisukaismatolajien erottaminen toisistaan on lähes mahdotonta morfologisten ominaisuuksien perusteella, mutta onnistuu helposti viivakooditunnistuksen (DNA-barcoding) avulla. Lajien välillä on myös merkittävä ero suolapitoisuuden siedossa (Blank ym. 2004). Koska olosuhteiden sietoero voi estää lajien lisääntymisen keskenään (lisääntymisisolaatio), tämänkaltaista toimintojen eroa pitäisi käyttää nykyistä enemmän yhtenä lajimäärittelyn perusteena – se voi olla yhtä tärkeä kuin helposti havaittavat morfologiset erot (Nikinmaa & Götting 2015)

Kryptisten lajien toiminnallisilla eroilla voi olla suuri merkitys ympäristön tilan arvioinnissa. Arvioinnissa käytetään usein hyväksi yhteisöjen lajikoostumuksen ja lajien yleisyyden selvittelyä. Mikäli yhteisön merkittävä laji on oikeasti kryptinen (ja onkin kaksi toisistaan hankalasti erotettavaa lajia, joista esimerkiksi

toinen sietää alhaista happipitoisuutta hyvin ja toinen huonosti), happipitoisuuden lasku ei näytä heikentävän morfologisesti tunnistettavan lajin esiintymistä lainkaan, vaikka molekyyli-systematiikan keinoin voitaisiin osoittaa yhden lajin hävinneen ja toisen tulleen tilalle (Nikinmaa & Götting, 2015).

Ympäristömuutokset voivat vaikuttaa lajikoostumukseen, yksilöiden väliseen perinnölliseen vaihteluun, yksilöiden ilmiasun vaihteluun sekä geenien ilmenemiseen. Kun ympäristöbiologiassa perinteisesti selvitetty lajitason, ekologiset ja geneettiset muutokset voivat johtua eliöiden toiminnan muutoksista, esitän muutamia esimerkkejä ajankohtaisista ympäristömuutoksista ja siitä, miten ekologiset ilmiöt selittyvät toiminnallisilla muutoksilla. Esimerkkini ovat kaloista, joiden ympäristösopeutumia olen tutkinut yli 40 vuotta.

Lämpötilamuutokset

Muutaman viime vuosikymmenen aikana pintaveden lämpötila on noussut koko maapallolla, mutta erityisen paljon lauhkealla ja varsinkin arktisella vyöhykkeellä. Kaikki elintoiminnot riippuvat lämpötilasta. Vaihtolämpöisten eläinten hapenkulutus kasvaa lämpötilan noustessa ja lämpötilamuutosten sieto ja niihin sopeutuminen perustuvat ennen kaikkea toisaalta eläimen kykyyn kuljettaa happea kudoksiin ja toisaalta kudosten hapenkulutukseen. Sydämen ja verenkierron toiminta ja veren hapenkuljetuskyky ovat tässä ratkaisevassa asemassa (Anttila ym. 2015, Portner & Peck 2010, Nikinmaa 1981). Suurimpia luonnon ihmeitä ovat ruutanan kaltaiset kalat, joiden ruumiinlämpö voi vuodenaikaisesti vaihdella 0:n ja 30:en asteen välillä ja yhden vuorokaudenkin kuluessa yli 10 °C. Ihmisellä se merkitsisi, että eläisimme ruumiinlämmön vaihdellessa 15:stä 45:een celsiusasteeseen. Tähän verrattuna ilmaston muutoksessa toistaiseksi tapahtunut vähän yli asteen lämpötilan nousu on mitätön. Sen aiheuttamia elintoimintojen muutoksia voidaan tuskin havaita tarkoillakaan mittauksilla – itse

asiassa useimpien säätelyjärjestelmien tarkkuus lämpötilan suhteen on 0.5 °C suuntaansa, joten tähän mennessä mitattua ympäristön lämpötilan nousua ei voisi täysin varmasti edes toistaa kokeellisesti.

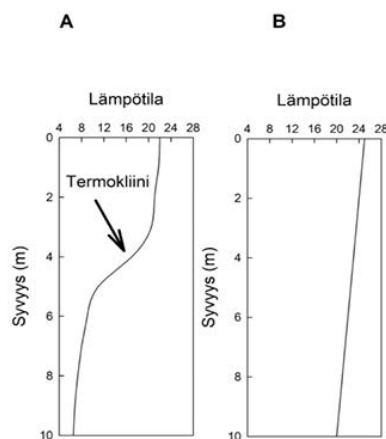
Tästä yleistyksestä tekevät poikkeuksen kaksi tilannetta, joissa jo nykyisillä oloilla voi olla merkittäviä (toiminnan muutoksista johtuvia) ekologisia vaikutuksia: helleaallot yleistyvät nostaten pintaveden lämpötilan monen kalalajin sietokykyä korkeammaksi. Kalakuolemia onkin parin viime kesän aikana ollut matalissa järvissä, koska kalat eivät ole pystyneet pumppaamaan riittävästi verta kudoksiinsa turvatakseen niiden hapensaannin. Vaikka varsinaista helleaaltoa ei olisikaan, pitkään jatkuessaan vähäinenkin ilman lämpötilan nousu voi estää termokliinin (veden lämpötilakerrostuneisuuden) synnyn (Kuva 4). Tällöin lämmintä vettä huonosti sietävät lajit eivät pääse kylmään veteen, joten niiden elinympäristön lämpötila nousee äkillisesti useilla asteilla. Tämän takia niiden sydän ei pysty pumppaamaan ja verenkierto kuljettamaan riittävästi happea elimistöön.

Todennäköisintä on kuitenkin, että ilmastonmuutoksen vaikutukset kalojen luonnonpopulaatioihin johtuvat siitä, että valaistusolosuhteiden ja lämpötilan yhteys muuttuu. Se on tähän asti ollut ehkä merkittävin toimintoja säätelevä tekijä, sillä esimerkiksi lisääntymisen säätely perustuu suurimmaksi osaksi päivän pituuden ja lämpötilan yhteyteen. Ilmastonmuutos vaikuttaa valon määrään tietyssä lämpötilassa muuttaen esimerkiksi sukupuolihormonien pitoisuuksia tietyssä aikana (Prokkola & Nikinmaa 2018, Cowan ym., 2017). Vielä ei tiedetä, miten tapahtuvat muutokset vaikuttavat luonnonpopulaatioihin; ilmastonmuutoksen voikin sanoa olevan suurimittakaavainen luonnonkoe valo-lämpötilayhteyden muutoksien vaikutuksista luonnonpopulaatioihin.

Happipitoisuuden lasku

Muutokset veden happipitoisuudessa lisää-

tyvät vesien rehevöityessä ja saastuessa sekä ilmastonmuutoksen seurauksena. IPCC julkaisi äskettäin raportin, jossa kiinnitettiin erityistä huomiota valtamerien happipitoisuuden laskuun ilmastonmuutoksen haitallisena vaikutuksena (IPCC 2019). Hapekkaassakin vedessä hapen määrä on sama kuin ilmassa yli 20 km:n korkeudessa ja happimolekyylit liikkuvat tuhansia kertoja hitaammin vedessä kuin ilmassa. Lisäksi vettä on paljon raskaampi hengittää kuin ilmaa. Lämpötilamuutoksiin verrattuna veden happipitoisuuden muutokset ovat nopeita ja suuria, koska veden lämpökapasiteetti on paljon suurempi kuin ilman mutta happikapasiteetti paljon pienempi. Näistä syistä happi on ollut ja on edelleen kalojen sopeutumista ja evoluutiota voimakkaasti määräävä tekijä. Kalat ovatkin paljon parempia hapen hyväksikäyttäjiä kuin nisäkkäät: siinä missä nisäkäkäs käyttää ehkä 15 % hengittämänsä il-



Kuva 4. A. Normaalinäköinen kesän 10 metriä syvän järven (y-akseli, syvyys m) lämpötila (x-akseli, °C) laskee nopeasti neljän metrin syvyydessä (termokliini, nuoli) ja termokliinin alapuolella veden lämpötila säilyy jokseenkin vakiona. **B.** Hellekesänä jyrkkää lämpötilan laskua ei tapahdu missään syvyydessä.

man hapesta, kala pääsee jopa 70 % tehokkuuteen ympäröivän hapen käytössä. Evoluution tuloksena jotkut kalat selviytyvät täysin hapetomassa ympäristössä jopa kuukausitolkulla. Happipitoisuuden laskiessa vesistön kalojen lajikoostumus muuttuu. Siiat ja ahvenet häviä-

vät korvautuen särkikaloilla ja hauilla. Talvisin täysin hapettomissa pikkulammikoissa elää vain ruutanoita.

Happipitoisuuden laskun aiheuttamat lajikoostumuksen muutokset voidaan selittää eri kalalajien hapen saannin, kuljetuksen ja elimistön hapen tarpeen eroilla. Paljon happea vaativien lajien veri luovuttaa hapen korkeassa hapen osapaineessa, jolloin hapen kuljetus esimerkiksi happea tarvitseviin lihaksiin on nopeaa mahdollistaen solujen korkean hapenkulutuksen. Tämän ansiosta ne voivat olla hyvin aktiivisia pitkään, kuten lohien vaellus ja turskan jatkuva uinti osoittavat. Hauen kaltainen vaanija tulee taas toimeen vähällä hapella, koska solujen alhainen hapenkulutus ei kaipaa nopeaa hapenkuljetusta. Tarvittavan hapen hemoglobiini sitoo tehokkaasti. Ruutana on sitten asia erikseen: se pystyy säätelemään niin kidustensa kaasunvaihtopinta-alaa (Solid ym. 2003) kuin solujensa hapenkulutusta hapen saatavuuden mukaan. Se selviytyy talviaikana jopa useita kuukausia täysin ilman happea tuottamalla solujensa aineenvaihdunnassa etanolia. Tällöin se käyttää hyväkseen mitokondrioiden entsyymeistä muutamia, jotka normaalioloissa tuottavat energiaa hapestä riippuvaisesti.

Happipitoisuuden lasku voi olla joko pitkäaikainen kuten valtameren happiminimialueilla ja Itämeren pohjassa tai noudattaa matalissa rehevissä vesissä vuorokautisia syklejä (valoisalla happipitoisuus on korkea yhteytyksen ansiosta ja pimeällä matala hengityksen takia). Solujen toimintaa vähähappisessa ympäristössä säätelää ennen kaikkea hypoksian indusoima transkriptiotekijä (HIF). Se kuuluu samaan proteiiniperheeseen kuin vuorokausirytmia säätelävät CLOCK ja BMAL. HIF:in toiminnankin on osoitettu olevan rytmistä (Pelster & Egg 2018). Lisäksi se, onko kyseessä yksittäinen vai toistuva vähähappisuusjakso, vaikuttaa HIF-geeni(e)n luontaan (Rytkönen ym., 2012). Vähähappisuuden lisäksi myös lämpötila vaikuttaa HIF-proteiinin määrän sää-

telyyn vaihtolämpöisillä kaloilla (Rissanen ym. 2006). Siksi solujen aineenvaihdunnan säätely rehevöityneessä ympäristössä, jossa lämpötila voi olla korkea ja happipitoisuus alhainen, on monimutkainen ilmiö, jonka selvittäminen edellyttää monipuolista elintoimintojen ymmärrystä.

Vesien saastuminen

Monet orgaaniset yhdisteet ja metallit pilaavat vesistöjä. Tämän takia on jokseenkin mahdollista sanoa, että vesistön saastuminen yleisesti aiheuttaisi jonkin yksittäisen muutoksen kalojen toiminnassa siten, että saastuminen voitaisiin kytkeä toiminnan muutoksen kautta esimerkiksi kalakannan muutoksiin. Periaatteessa voidaan kuitenkin todeta, että saastumisella voi olla vaikutuksia vain, jos saaste vaikuttaa ainakin jonkun lajin elintoimintoihin. Mikäli saasteen aiheuttama muutos on sellaisessa geenissä tai genomissa osassa, joka ei vaikuta eläimen lisääntymismenestykseen tai kuolleisuuteen, geenivaikutuksella ei ole ekologista merkitystä. Saasteiden suoria vaikutuksia elintoimintoihin on tutkittu kaloilla yli 50 vuotta. Vaikka vaikutukset riippuvatkin kalalajista ja saasteesta, kaksi yleistä vaikutusreittiä ovat orgaanisten yhdisteiden detoksifikoinnissa tärkeä Ah-reseptoreitti, jossa myrky aiheuttaa geeniluennan muutoksia (Schlenk ym. 2008), ja oksidatiiviset stressit, jossa monet metallit ja orgaaniset yhdisteet häiritsevät soluviesintää ja aiheuttavat biomolekyylien vaurioita (Lushchak 2011). Molemmille on luonteenomaista, että saasteiden ja vuorokausirytmien, hapenpuutteen sekä lämpötilan välillä on läheinen vuorovaikutus (Prokkola & Nikinmaa 2018). Suorien vaikutusten lisäksi saastumisen vaikutukset voivat olla epäsuoria: tutkitavan lajin toiminta muuttuu sen vuoksi, että kemikaali vaikuttaa johonkin toiseen eliöön. Kemikaali on esimerkiksi haitannut vesikasvien kasvua, mikä näkyy saaliin piiloutumismahdollisuuksissa ja sen seurauksena peto-saalisuhteessa, vaikka kemikaalilla ei olisi mitään

vaikutuksia tutkittaviin eläimiin.

Merien happamoituminen

Kun 30–40 vuotta sitten Pohjolan sisävedet happamoituvat pääasiassa teollisuuden ja energiantuotannon päästöjen aiheuttaman haposateen vaikutuksesta, luonnonvesien pH saattoi laskea jopa 3 pH-yksikköä, eli vesi oli tuhat kertaa happamampaa kuin kontrollilanteessa. Sadeveden voimakas happamoituminen johti myrkyllisen alumiini-ionin vapautumiseen maaperästä ja kiviaineksesta vesiin. Erityisen alhaisessa pH:ssa (4–5) alumiini aiheuttaa suoria myrkyvaikutuksia ja pH:ssa 5–7 saostuu kudoslehdysten pinnalle hidastaen hapen diffuusiota kuolettavasti (Freda & McDonald 1988). Näitä alumiinin myrkyvaikutuksia, jotka tiedetään vain, jos kalojen toiminta tunnetaan hyvin, ei juurikaan mainita, kun alumiinisulfaattia käytetään rehevien järvien veden kirkastamiseksi.

Kolmenkymmenen vuoden takaiseen järvien happamoitumiseen verrattuna merien happamoitumisessa havaitut ja ennustetut pH-muutokset ovat pieniä, vain 0,3–0,5 pH-yksikköä, eli satoja kertoja happaman sateen makeassa vedessä aiheuttamia vähäisempiä. Lisäksi muutokset ovat paljon hitaampia kuin tutkimuksien kesto yleensä. Vaikka työssä selvitettäisiin, miten vuodeksi 2050 ennustettu pH-muutos vaikuttaa, useimmiten seurataan äkillisen tai muutaman päivän muutoksen vaikutuksia korkeintaan kuukauden ajan, vaikka luonnonoloissa muutokseen kuluu 30 vuotta.

Makean veden pH:n laskun aiheuttaneet haposateet johtuivat savukaasujen rikin ja typen oksideista veden kanssa muodostuneista rikkihaposta, -hapokkeesta ja typpihaposta, kun taas merien happamoituminen johtuu hiilidioksidista. Merien happamoitumisen ongelma ei varsinaisesti olekaan happamoitumisongelma – sillä pienet pH-muutokset eivät

vaikuta kaloihin juuri lainkaan ilman hiilidioksidin (hiilihapon) pitoisuuden nousua (Esbaugh 2018). On huomattava, että kokeellisessa tutkimuksessa on käytetty ja kalanviljelylaitaissa esiintyy paljon suurempia hiilidioksidipitoisuuden muutoksia kuin meressä mitatut tai ennustetut ovat. Merien happamoitumisen suorat vaikutukset happo-emästasapainoon ja hengityksen eri vaiheisiin näyttävätkin suhteellisen vähäisiltä (Nikinmaa & Anttila 2015, Lefevre 2016). Sen sijaan havaitut hajuaistin ja kylkiviiva-aistin toiminnan häiriöt voivat aiheuttaa käyttäytymisen muutoksia (Porteus ym. 2018, Tresguerres & Hamilton 2017), jotka näkyvät ekologisina vaikutuksina.

Yhteenveto

Koska eliöitä ei ole ilman toimintaa, ympäristömuutoksien tutkimuksessa on välttämätöntä ottaa huomioon toiminnan muutokset, varsinkin kun toiminta saattaa muuttua, vaikka eläimen perimä säilyy ennallaan. Lisäksi toiminnan muutos saattaa olla päinvastainen kuin geneettisen muutoksen perusteella tehty johtopäätös antaisi ymmärtää. Myös ekologisissa tutkimuksissa voidaan päätyä täysin väärin johtopäätöksiin ympäristömuutoksien vaikutuksista, jos mahdollisia toiminnan muutoksia ei selvitetä. Kryptisten lajien vasteet ympäristömuutoksiin voivat olla erilaisia. Lisäksi on mahdollista, ettei eläinyhteisön koostumus muutu, vaikka muutos vaikuttaisi muutokselle altistuneisiin eläimiin huomattavasti. Näin tapahtuu, jos muualta siirtyvät eläimet korvaavat saastuneen alueen eläinten heikentyneen lisääntymisen. Tarkoitukseni ei ole vähätellä muiden biologian alojen merkitystä, vaan muistuttaa siitä, että ympäristöbiologisen tutkimuksen mahdollisuus selittää eläinkantojen vasteita muuttuvaan ympäristöön lisääntyy merkittävästi, kun fysiologiset tekijät otetaan yksityiskohtaisesti mukaan tarkasteluun.

Kirjallisuus

- Anttila K, Lewis M, Prokkola J M, Kanerva M, Seppänen E, Kolari I & Nikinmaa M 2015 Warm acclimation and oxygen depletion induce species-specific responses in salmonids. *J. Exp. Biol.* 218: 1471-1477.
- Blank M, Bastrop R, Rohner M & Jurss K 2004 Effect of salinity on spatial distribution and cell volume regulation in two sibling species of *Marenzelleria* (Polychaeta : Spionidae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 271: 193-205.
- Cowan M, Azpeleta C & López-Olmeda J F 2017 Rhythms in the endocrine system of fish: a review. *J. Comp. Physiol. B* 187: 1057-1089.
- Esbaugh A J 2018 Physiological implications of ocean acidification for marine fish: emerging patterns and new insights. *J. Comp. Physiol. B* 188: 1-13.
- Freda J & McDonald D G 1988 Physiological correlates of interspecific variation in acid tolerance in fish. *J. Exp. Biol.* 136: 243-258.
- Greenbaum D, Colangelo C, Williams K. & Gerstein M 2003 Comparing protein abundance and mRNA expression levels on a genomic scale. *Genome Biol.* 4: 117.
- IPCC 2019 IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate.
- Kang Y J, Liu Z, Shi H N, Wang, J F, Huang J Q, Li Y J, Li J & Wang Y N 2019 Label-free quantification of protein expression in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to short-term exposure to heat stress. *Comp. Biochem. Physiol. D - Genom. Proteom.* 30: 158-168.
- Lefevre S 2016 Are global warming and ocean acidification conspiring against marine ectotherms? A meta-analysis of the respiratory effects of elevated temperature, high CO₂ and their interaction. *Conserv. Physiol.* 4: cow009
- Lushchak V I 2011 Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat. Toxicol.* 101: 13-30.
- Nikinmaa M 1981 Respiratory adjustments of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) to changes in environmental temperature and oxygen availability. Väitöskirja, Helsingin yliopisto.
- Nikinmaa M 2014 An Introduction to Aquatic Toxicology. Elsevier - Academic Press. Oxford, Waltham MA
- Nikinmaa M & Anttila K 2015 Responses of marine animals to ocean acidification. Teoksessa: Botana L M, Louzao C & Vilarino N (toim.) *Climate Change and Marine and Freshwater Toxins.* 99-123. De Gruyter, Berlin.
- Nikinmaa M & Anttila K 2019 Individual variation in aquatic toxicology: Not only unwanted noise. *Aquat. Toxicol.* 207: 29-33.
- Nikinmaa M & Götting M 2015 DNA barcoding marine biodiversity - steps from mere cataloguing to giving reasons for biological differences. Teoksessa: Bourlat S J (toim.) *Marine Genomics: Methods and Protocols.* Springer. New York
- Nikinmaa M & Rytönen KT 2011 Functional genomics in aquatic toxicology-Do not forget the function. *Aquat. Toxicol.* 105: 16-24.
- Nikinmaa M, Suominen E & Anttila K 2019 Water-soluble fraction of crude oil affects variability and has transgenerational effects in *Daphnia magna*. *Aquat. Toxicol.* 211: 137-140.
- Nikinmaa M & Waser W 2007 Molecular and cellular studies in evolutionary physiology of natural vertebrate populations: influences of individual variation and genetic components on sampling and measurements. *J. Exp. Biol.* 210: 1847-1857.
- Pelster B & Egg M 2018 Hypoxia-inducible transcription factors in fish: expression, function and interconnection with the circadian clock. *J. Exp. Biol.* 221: jeb163709.
- Porteus C S, Hubbard P C, Webster T M U, Van Aerie R, Canario A V M, Santos E M & Wilson R W 2018 Near-future CO₂ levels impair the olfactory system of a marine fish. *Nature Climate Change* 8: 737.
- Portner H O & Peck M A 2010 Climate change effects on fishes and fisheries: towards a

- cause-and-effect understanding. *J. Fish Biol.* 77: 1745-1779.
- Powers D A, Lauerman T, Crawford D & Dimichele L 1991 Genetic mechanisms for adapting to a changing environment. *Annu. Rev. Gen.* 25: 629-659.
- Prokkola J M & Nikinmaa M 2018 Circadian rhythms and environmental disturbances – underexplored interactions. *J. Exp. Biol.* 221: jeb179267.
- Rissanen E, Tranberg H K, Sollid J, Nilsson G E & Nikinmaa M 2006 Temperature regulates hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) in a poikilothermic vertebrate, crucian carp (*Carassius carassius*). *J. Exp. Biol.* 209: 994-1003.
- Rytkönen K T, Renshaw G M C, Vainio P P, Ashton K J, Williams-Pritchard G, Leder E H & Nikinmaa M 2012 Transcriptional responses to hypoxia are enhanced by recurrent hypoxia (hypoxic preconditioning) in the epaulette shark. *Physiol. Genom.* 44: 1090-1097.
- Schlenk D, Celandier M, Gallagher E P, George S, James M, Kullman S W, Van Den Hurk P & Willett K 2008 Biotransformation in Fishes. Teoksessa Di Giulio R T & Hinton D E (toim.) *The Toxicology of Fishes*. CRC Press Boca Raton, Florida
- Schwanhauser B, Busse D, Li N, Dittmar G, Schuchhardt J, Wolf J, Chen W & Selbach M 2011 Global quantification of mammalian gene expression control. *Nature* 473: 337-342.
- Sollid J, De Angelis P, Gundersen K & Nilsson G E 2003 Hypoxia induces adaptive and reversible gross morphological changes in crucian carp gills. *J. Exp. Biol.* 206: 3667-3673.
- Thompson J D 1991 Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends Ecol. Evol.* 6: 246-249.
- Tresguerres M & Hamilton T J 2017 Acid-base physiology, neurobiology and behaviour in relation to CO₂-induced ocean acidification. *J. Exp. Biol.* 220: 2136-2148.

Mikko Nikinmaa on Turun yliopiston Biologian laitoksen eläinfysiologian emeritusprofessori. Hän on tutkinut ympäristömuutosten erityisesti lämpötilan ja happipitoisuuden muutosten vaikutuksia kaloihin 1970-luvun loppupuolelta alkaen. Hän toimi *Aquatic Toxicology* -lehden päätoimittajana 2005-2019.