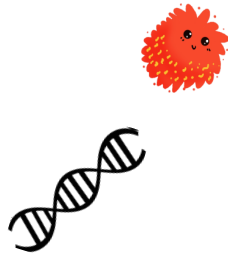


ENARI –hankkeen Osatehtävä 3: Vaikutukset alapuoliseen vesistöön

Pohjaeläin- ja bakteeriyhteisöt

Ekosysteemitöiminnöt



Pohjaeläimet

- Pohjaeläimet ovat suurimmaksi osaksi lentävien hyönteisten akvaattisia toukkavaiheita, jotka asustavat vesistöjen pohjalla
- Pohjaeläimet ovat pitkäikäisiä, suhteellisen paikallisia ja herkkiä ympäristössä tapahtuville muutoksille
- Pohjaeläinlajien habitaattipreferensseistä on paljon tutkimustietoa
 - soveltuvat erinomaisesti mm. vesistöjen ekologisen tilan arviointeihin
- Lajitieto on kattavaa



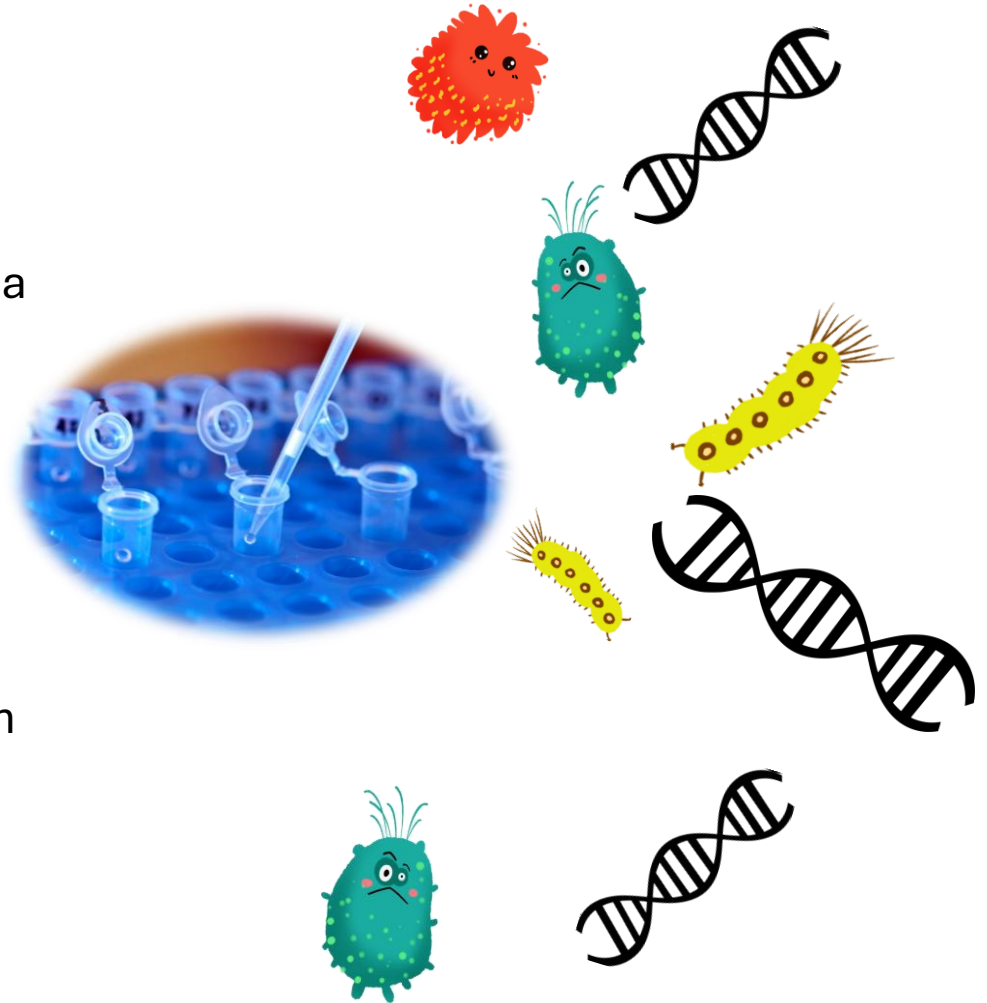
Pohjaeläimet

- **EPT –ryhmät** (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera)
 - Päivänkorennot, Koskikorennot, Vesiperhoset
 - Indikoivat hyvää ekologista tilaa
- **Toiminnalliset ravinnonkäyttöryhmät**
 - Keräilijät (collector – gatherers)
 - Hyödyntävät ja keräilevät mm. hienojakoista orgaanista ainesta (detritusta)
 - Suodattajat (filter feeders)
 - Suodattavat vedestä pieniä orgaanisia hiukkasia ja/tai planktonia
 - Kaapijat (scrapers)
 - Raapivat/kaapivat pinnoilta, kuten kiviltä, levää ja mikrobeja
 - Pilkkojat (shredders)
 - Hajottavat karkeaa orgaanista ainesta, kuten lehtiä ja kasvinjäänteitä
 - Pistäjät/lävistäjät
 - Kasvien tai eläinten kudoksia lävistävät
 - Pedot (predators)



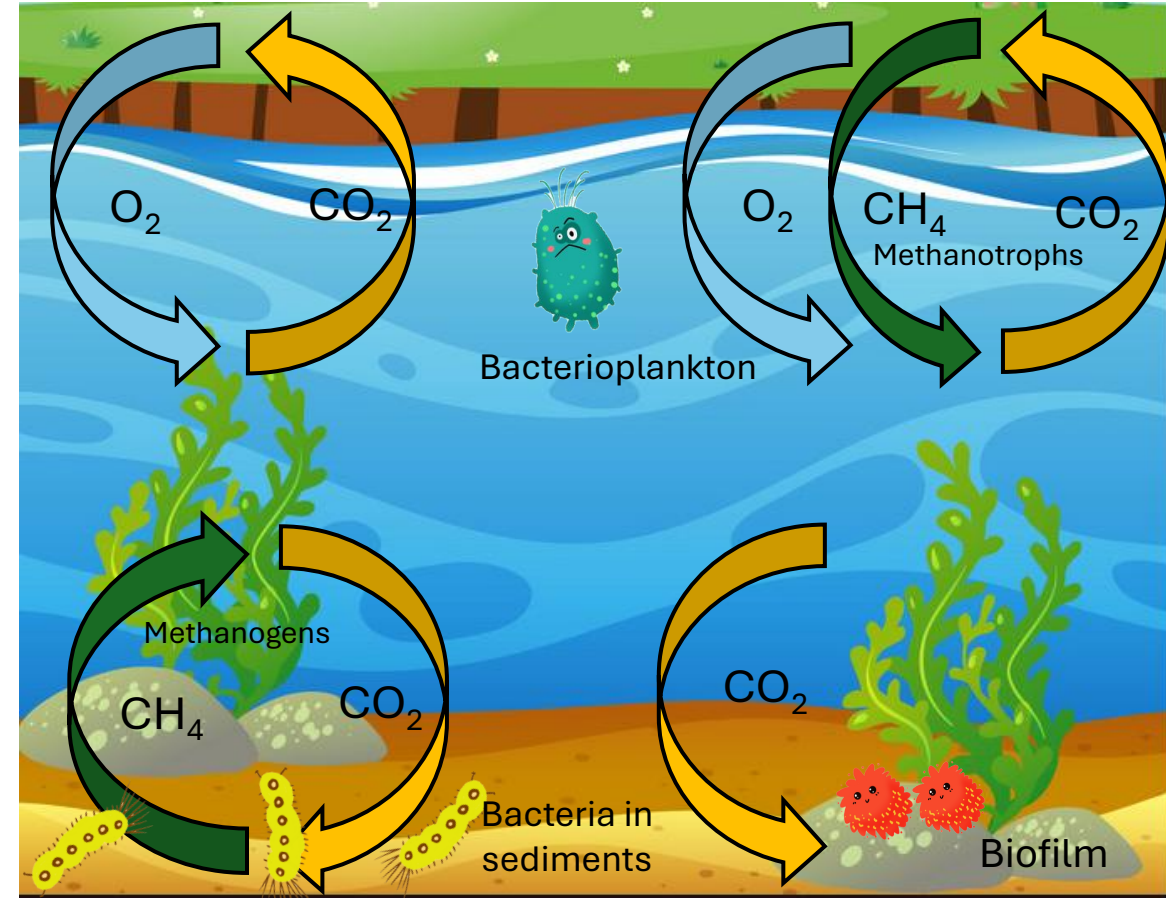
Akvaattiset bakteeriyhteisöt

- **Keskeinen rooli ekosysteemin toiminnassa**
 - Akvaattiset bakteerit ylläpitävät ravinteiden kiertoa (esim. hiili, typpi) ja mahdollistavat aineiden uudelleenkäytön ravintoverkossa.
 - Hajottavat kuollutta biomassaa ja detritusta, vapauttaen ravinteita muiden eliöiden käyttöön.
 - Bakteerien toiminta säätelee mm. vesistön happipitoisuutta ja ravinnetasapainoa, mikä voi vaikuttaa suoraan vesistön tilaan ja muun eliöstön hyvinvointiin.



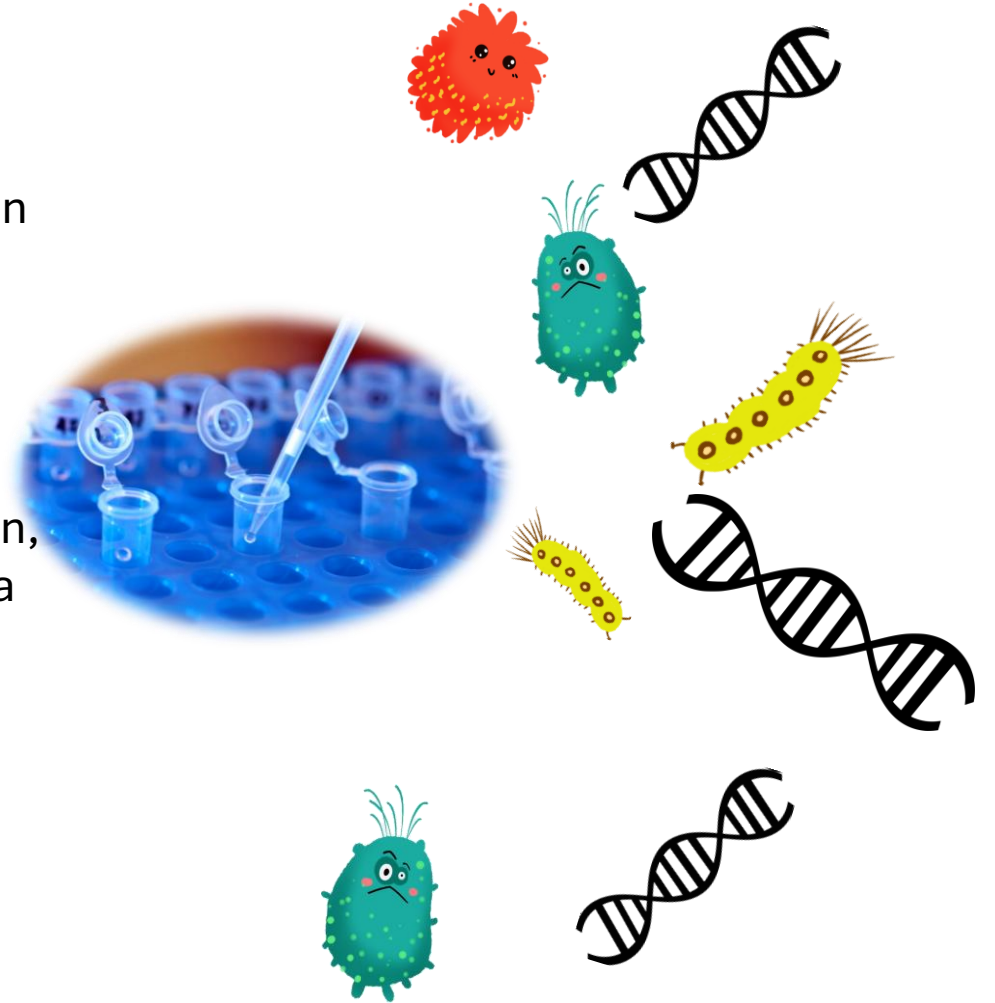
Akvaattiset bakteeriyhteisöt

- Esiintyvät erilaisissa ekologisissa lokeroissa
 - Keijuvina planktonina vesipatsaassa
 - Sedimentissä
 - Pinnoille kiinnittyneinä biofilmeissä
- antaa kokonaisvaltaisen kuvan eri elinympäristöjen tilasta
- Osallistuvat hiilen ja typen kiertoon tuottaen ja kuluttaen kasvihuonekaasuja, kuten hiilidioksidia (CO_2), metaania (CH_4) ja dityppioksidia (N_2O)



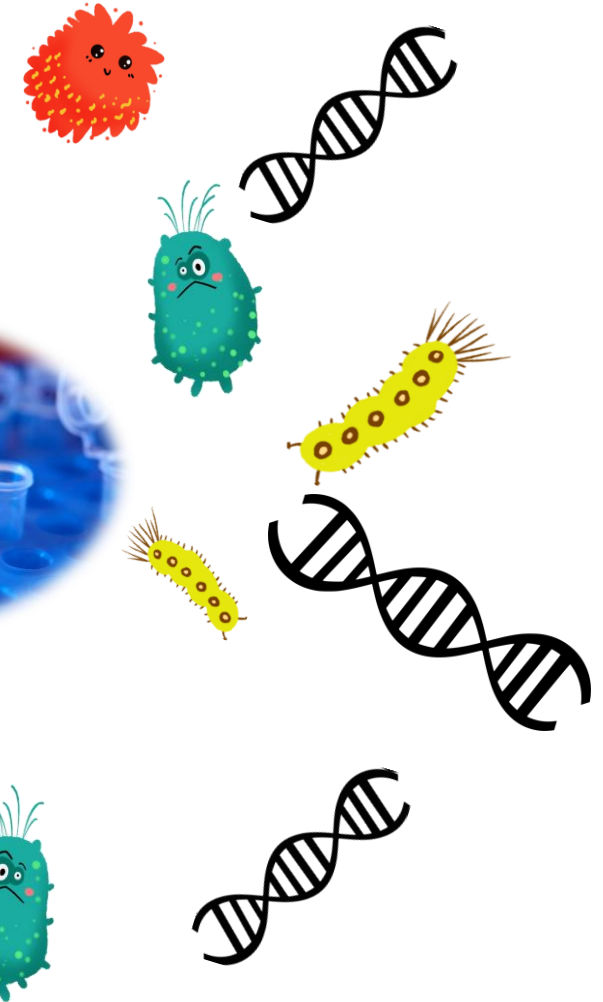
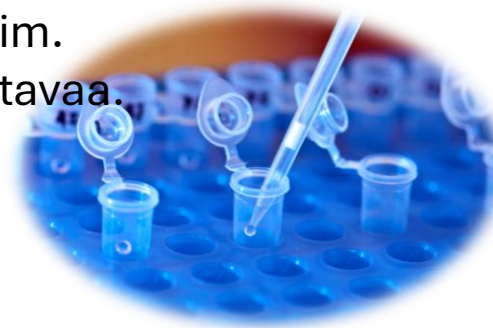
Akvaattiset bakteeriyhteisöt

- Osallistuvat keskeisiin prosesseihin, kuten hajotukseen ja ravinteiden kiertoon, joten niiden koostumus kertoo suoraan ekosysteemin toiminnasta
- Reagoivat herkästi ja nopeasti mm. ravinnekuormitukseen, happitilanteeseen ja saasteisiin, ja lyhyen elinkiertonsa vuoksi ne heijastavat muutoksia usein nopeammin kuin suuremmat eliöt.
- DNA-pohjaiset analyysit ovat kehittyneet nopeasti ja ovat nykyään jo suhteellisen nopeita, tarkkoja ja huomattavasti edullisempia kuin aiemmin.



Akvaattiset bakteeriyhteisöt

- **Toistaiseksi vielä ongelmallisia koska:**
 - Ovat erittäin monimuotoisia ja dynaamisia, joten muutosten syy-seuraussuhteiden erottaminen (esim. ravinteet vs. lämpötila vs. hydrologia) voi olla haastavaa.
 - Voivat muuttua nopeasti jopa päivien tai viikkojen aikana, mikä vaikeuttaa yksittäisten näytteiden edustavuutta ilman tiheää seuranta.
 - Kaikkien havaittujen bakteerien ekologista roolia ei tunneta tarkasti, mikä rajoittaa tulosten suoraa soveltamista esim. tilaluokitukseen.
 - Vaikka menetelmät ovat kehittyneet, yhtenäiset protokollat ja viitearvot ovat vielä kehittymässä verrattuna perinteisiin indikaattoriryhmiin (esim. pohjaeläimet tai kalat).



Pohjaeläimet -menetelmät

- Näytteenotto kaikilla mukaan valituilla seuranta-kohteilla vain kerran elo-syyskuun vaihteessa 2024:
 - Potkuhaavimenetelmä (standardi SFS 5077)
- Näytteet on kaikki poimittu ja määritetty Oulun yliopiston laboratoriossa SYKEN tavoitetaksonomian mukaisesti.



Akvaattiset bakteeriyhteisöt -menetelmät

- Näytteenotto kaikilla mukaan valituilla seurantakohteilla vain kerran elo-syyskuun vaihteessa 2024.
 - **Vesipatsasyhteisö:** kerättiin vettä eri paikoista hyödyntäen steriilejä falcon putkia yhteensä ~500 ml steriiliin WhirlPak -pussiin. Vedet suodatettiin kentällä käyttäen 0.2µm suodatinkokoa.
 - **Biofilmiyhteisö:** pyyhittiin pohjakivien pinnoista (4 kiveä per kohde) steriiliin sieneen.
 - **Sedimenttiyhteisö:** kerättiin 4-5 eri kohdasta steriilejä 50 ml falcon putkia hyödyntäen steriiliin pussiin.
- Näytteet säilöttiin pimeässä ja kylmässä (jäissä) ja kuljetettiin maastosta laboratorion syväjäähäpakkastimeen (-80C) odottamaan jatkoanalyysyjä



Akvaattiset bakteeriyhteisöt -menetelmät

- Bakteeriyhteisönäytteistä eristettiin DNA Oulun yliopiston laboratoriossa standardoitujen laboratorioprotokollien mukaisesti.
- Eristetystä DNA:sta tuotettiin bakteeriyhteisöaineisto 16S DNA amplikonisekvensoinnilla
- Lopuksi sekvensointiaineistolle suoritettiin Bioinformatiikka-analyysit, johon kuuluu raakadatan suodatus, laadunvarmistus ja jäljelle jäävien sekvenssien vertailu bakteerikirjastoihin
 - Data ryhmitellään taksonomisiin yksiköihin (ASV = Amplicon Sequence Variant) bakteeriyhteisön koostumuksen ja monimuotoisuuden analysoimiseksi.



Ekosysteemitoinninnot

- Lehtimateriaalin hajoituskoe

- Puroihin päätyvä lehtimateriaali on pääasiallinen orgaanisen aineen ja energian lähde puroissa, ja sen hajoaminen toimii keskeisenä vesistöjen ekosysteemitoinnintojen mittarina.
- Lehtimateriaalia hajottaa pääasiassa pohjaeläimet sekä mikrobit (mm. sienet ja bakteerit).
 - Ulkopuolelta tullut energia siirtyy ravintoverkossa ylöspäin.



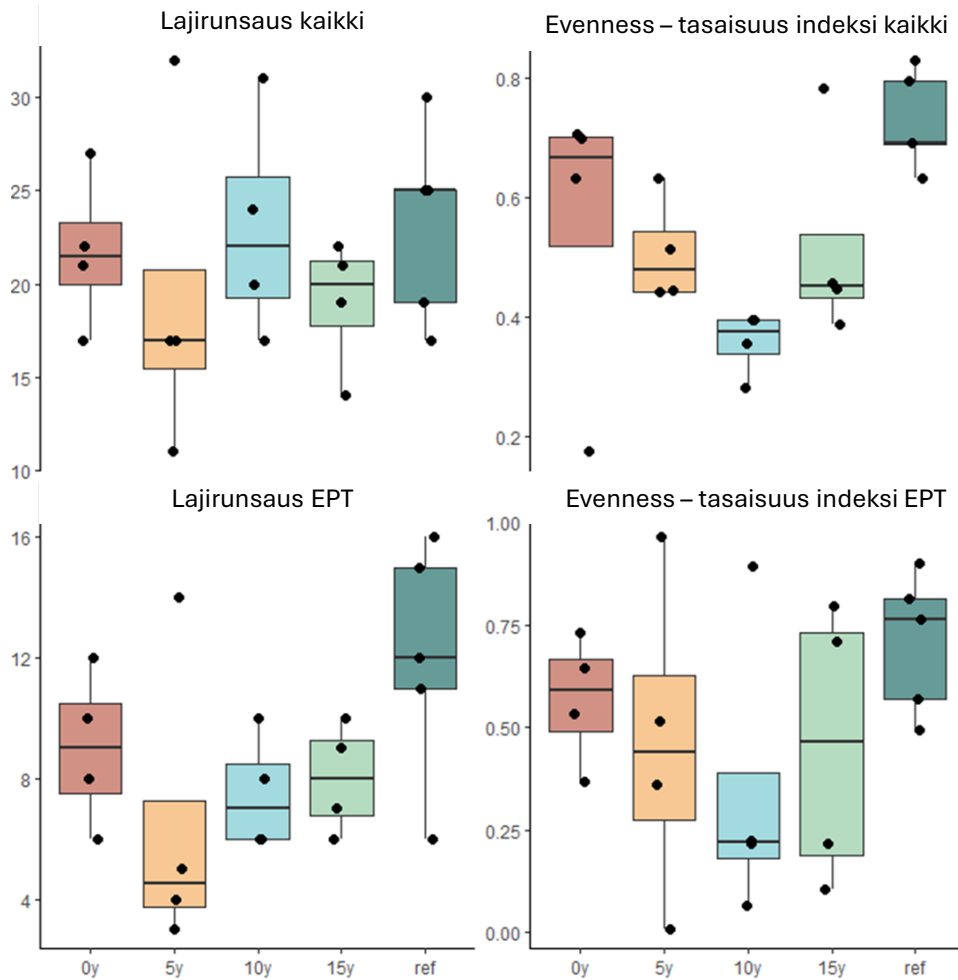
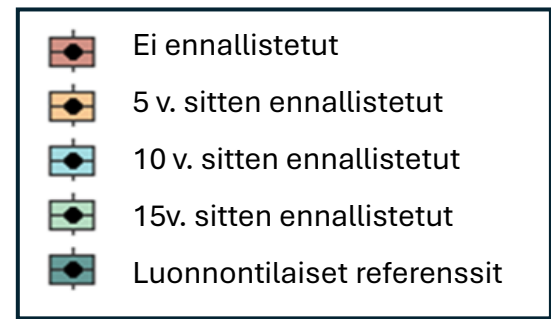
Ekosysteemitoinninnot

- Lehtimateriaalin hajoituskoe

- Jokaiselle kohteelle asetettiin n. 2 viikkoa ennen varsinaista näytteenottoa 4 lehtipussiparia, jotka sisälsivät kuivattua ja punnittua lehtimateriaalia.
 - Lehtipussipari = 1 pienisilmäisestä verkosta tehty pussi (tiheä/fine) ja 1 isomman silmäkoon verkosta tehty pussi (harva/coarse).
 - Harvoihin pusseihin pääsee myös pohjaeläimet hajoittamaan lehtimateriaalia, tiheissä toimii vain mikrobihajotus.
- Kokeen lopussa pussit kerätään pois ja jäljellä oleva lehtimateriaali jälleen kuivataan ja punnitaan

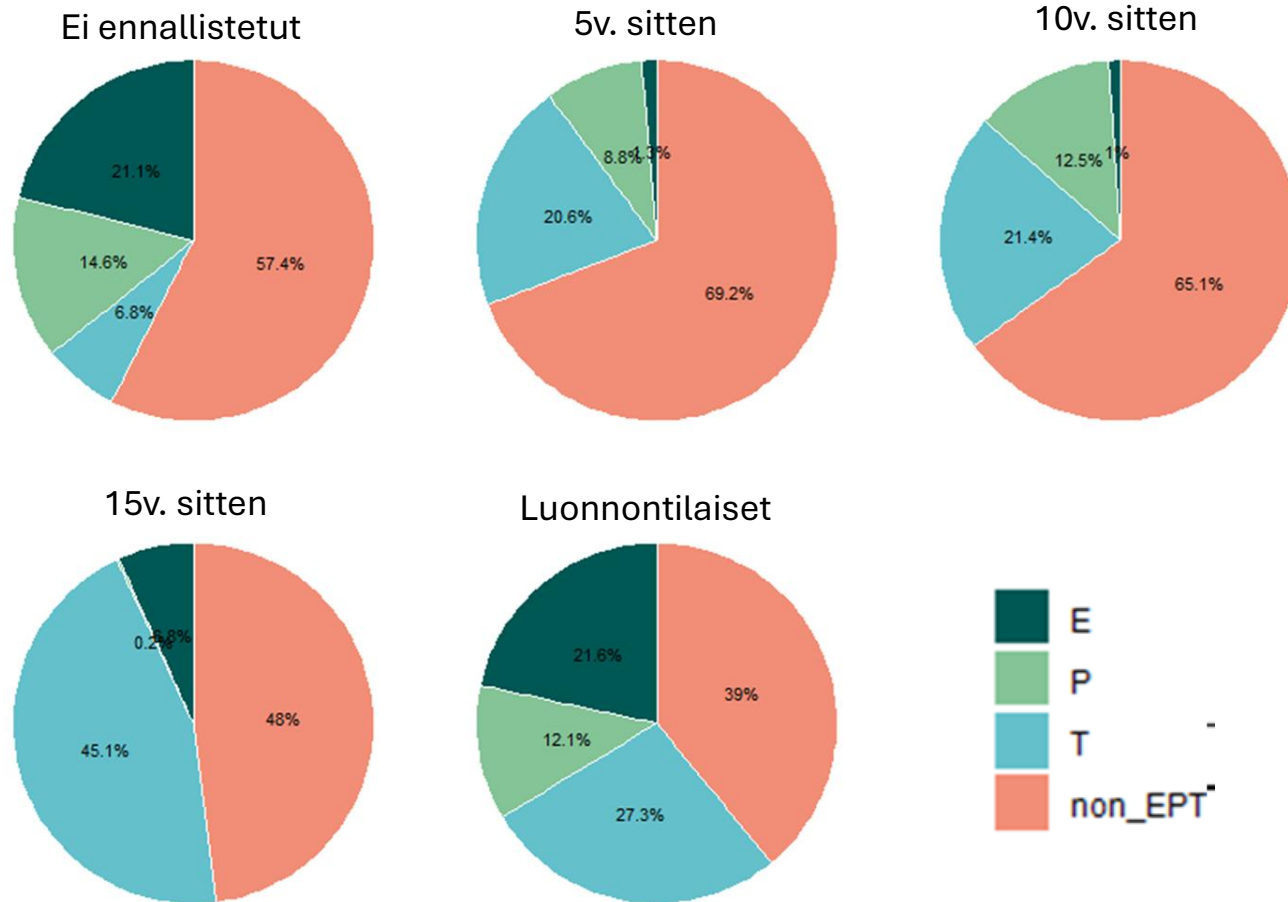


TULOKSET – Pohjaeläimet



- Lajirunsaudessa ei kaikkien lajien osalta eroja eri ikäluokissa
- EPT – lajirunsaudessa näkyy ennallistusvaikutuksen trendi
 - Ensin EPT lajit vähenee, kunnes alkavat pikkuhiljaa nousta
 - Ei tilastollista merkitsevyyttä ison hajonnan vuoksi
- Evenness – tasaisuus indeksi kertoo lajien välisistä dominanssisuhteista
 - Jos pieni arvo, jokin laji dominoi
 - Jos iso arvo, lajeilla suht tasainen yksilömäärä
→ Dominanssisuhteet samankaltaisia sekä ei ennallistetuissa että referensseissä
→ Tiettyjen lajien dominanssi 10v sitten ennallistetuissa näkyy molemmissa ryhmissä

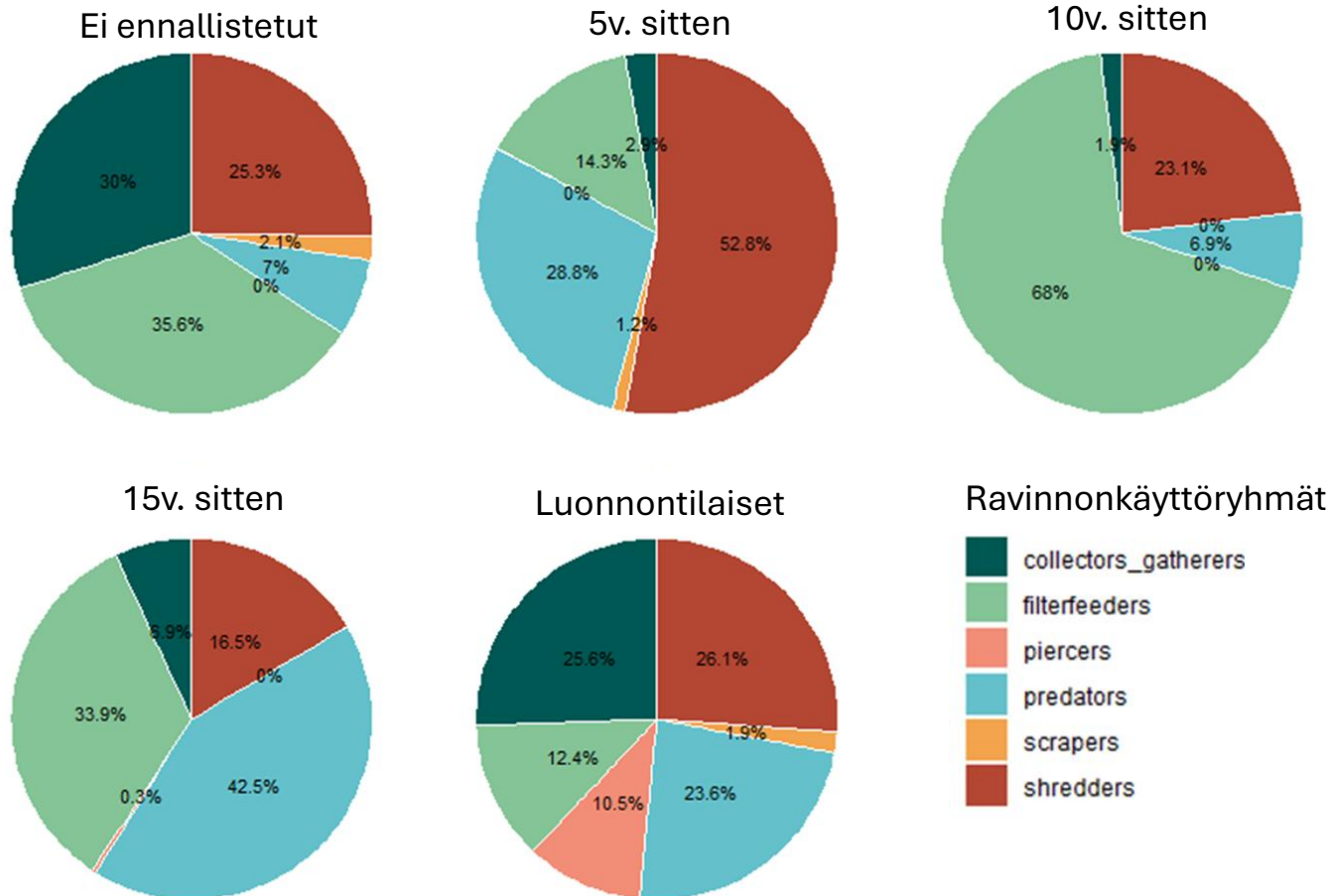
TULOKSET – Pohjaeläimet



Eriryhmien suhteelliset runsaudet ikäluokittain

- EPT ryhmien osuus alle puolet ei ennallistetuissa 42.6 %
- Häiriö heti ennallistuksen jälkeen ja herkäät EPT ryhmät kärsii (5v. EPT osuus putoaa 30.8 %)
- Pikkuhiljaa palautuu, mutta ei vielä referenssin tasolla 15 vuoden jälkeenkään.

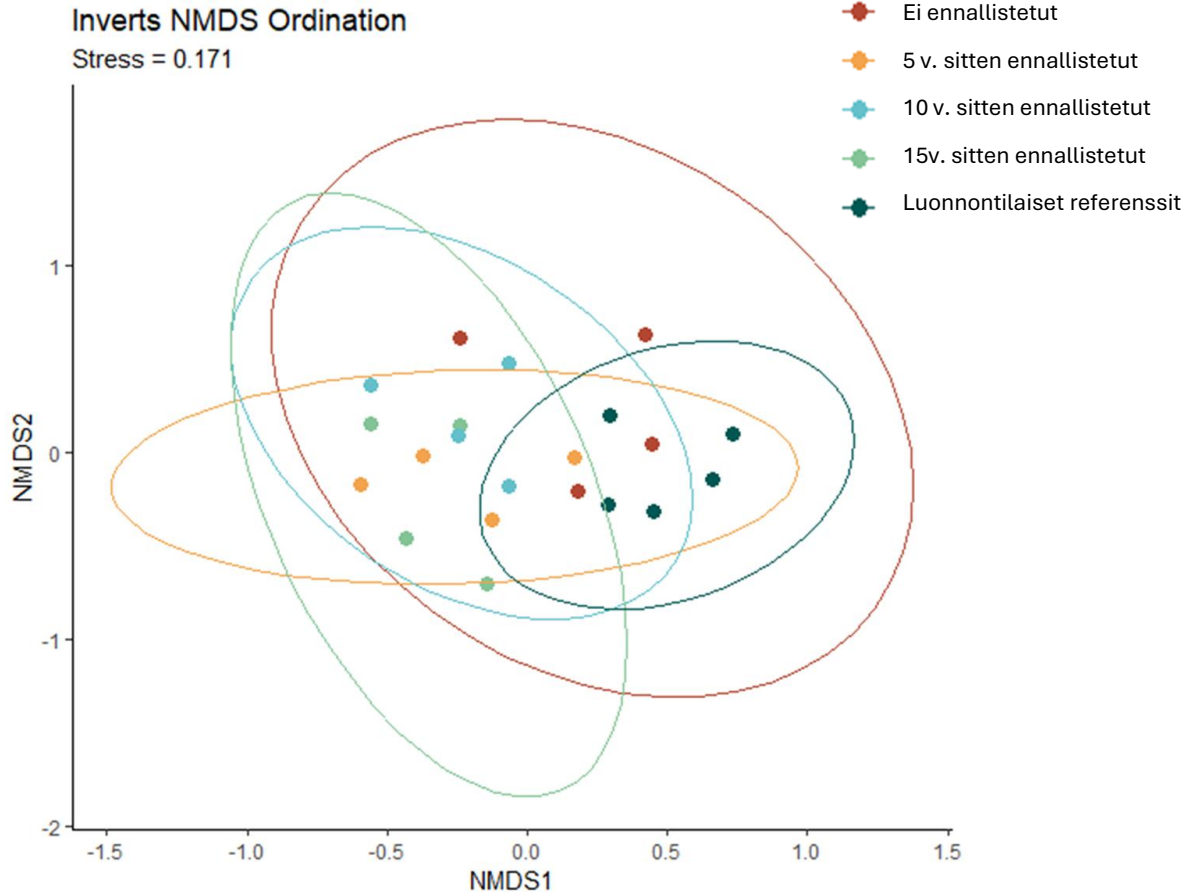
TULOKSET – Pohjaeläimet



Ravinnonkäyttöryhmien suhteelliset runsaudet ikäluokittain

- Impaktipaikoille on kehittynyt ajansaatossa suhteellisen monipuolinen yhteisö
- Heti häiriön jälkeen pilkkojat runsastuu
- Tämän jälkeen suodattajayhteisöjen dominanssi selkeää 10v.
 - Nämä selittää myös Evenness- eli tasaisuus -indeksin tuloksia
- 15v -luokassa yhteisö alkaa tasoittua ravinnonkäytön suhteen

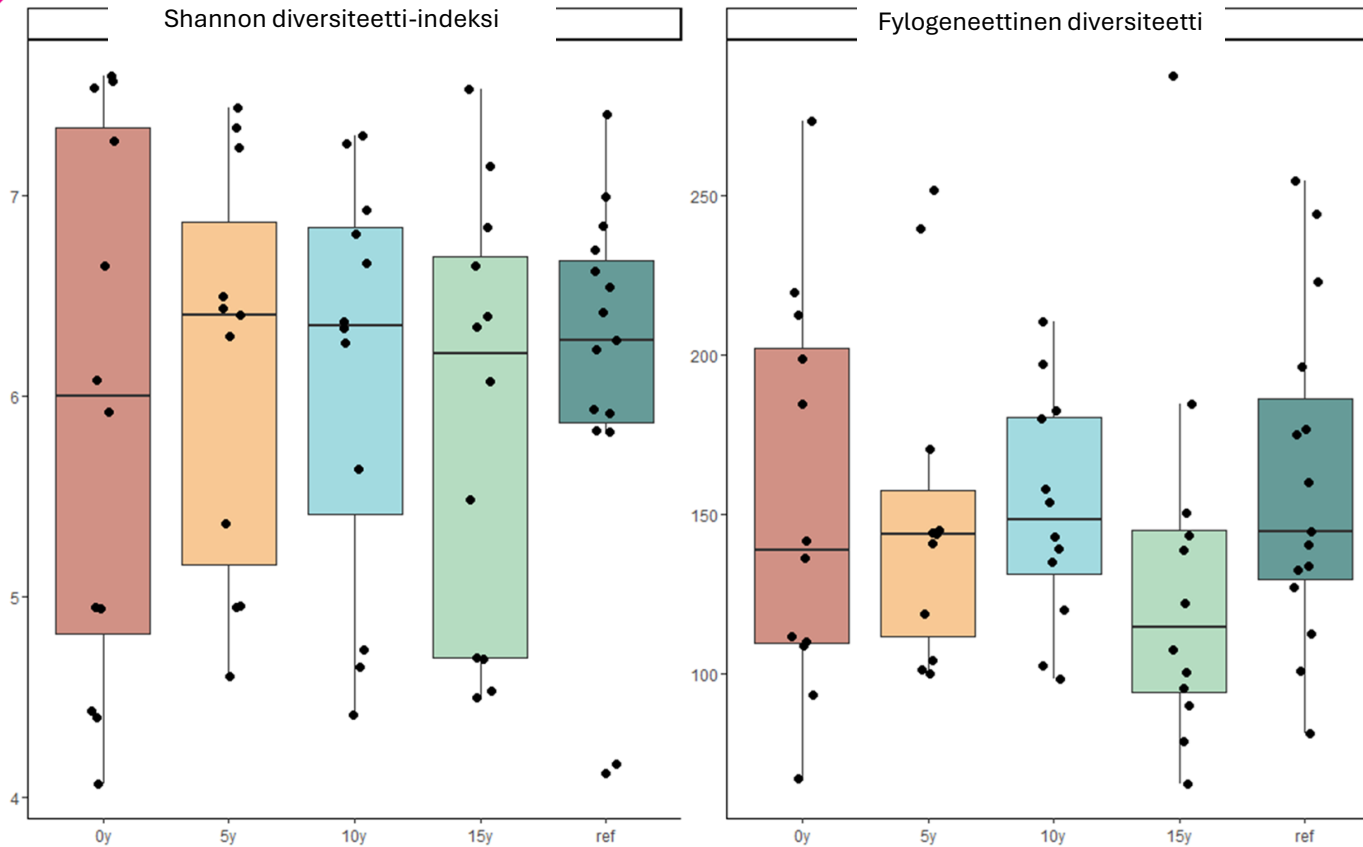
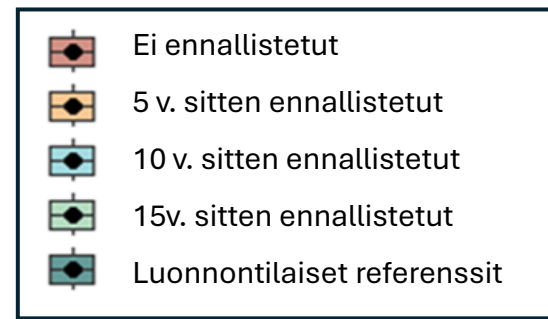
TULOKSET – Pohjaeläimet



Yhteisörakenteen erot eri ikäluokissa

- Mitä lähempänä pisteet/paikat sijaitsevat ordinaatioavaruudessa, sitä samankaltaisempia niiden yhteisöt ovat
- Ei juurikaan eroa yhteisörakenteessa
- Tilastollinen ero ($p = 0.04$) ainoastaan luonnontilaisten ja 5v. sitten ennallistettujen välillä
- Pieni $n =$ määrä ja suuri vaihtelu

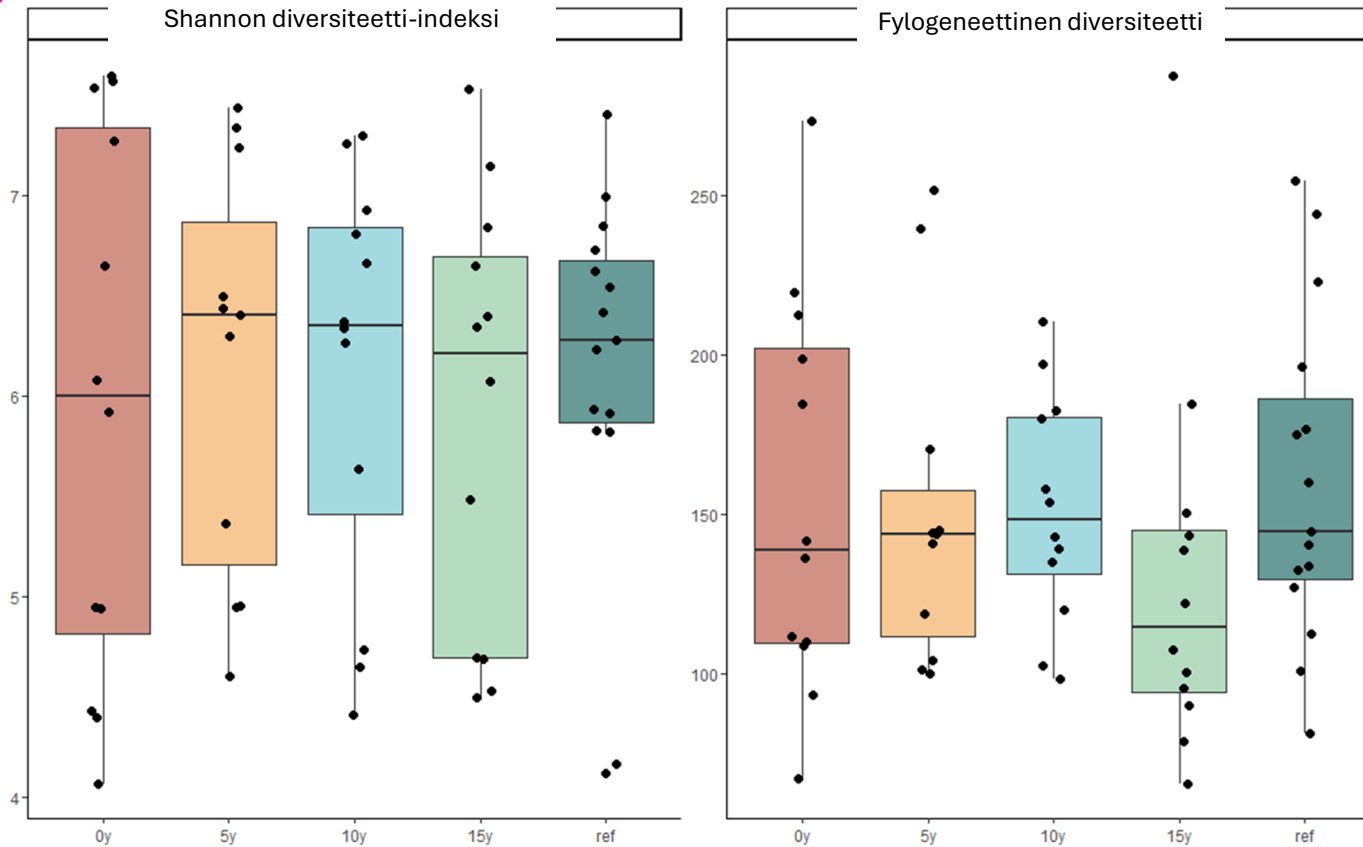
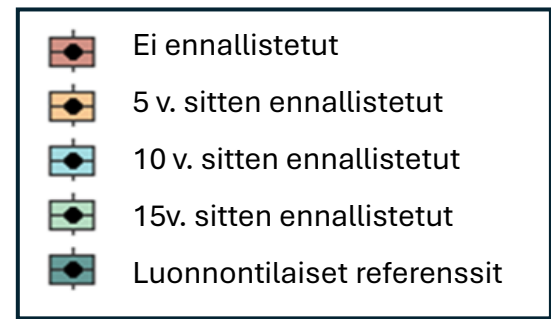
TULOKSET – Bakteriyhteisöt



Bakteriyhteisöjen diverseetti

- **Shannonin diverseetti** sisältää dominanssi -komponentin
 - Iso arvo = tasaisesti jakautunut lajikas yhteisö
- **Fylogeneettinen diverseetti**
 - Bakteereilla “lajikäsité” on epäselvä, joten sekvenssipohjainen fylogenia tarjoaa paremman tavan kuvata monimuotoisuutta

TULOKSET – Bakteriyhteisöt



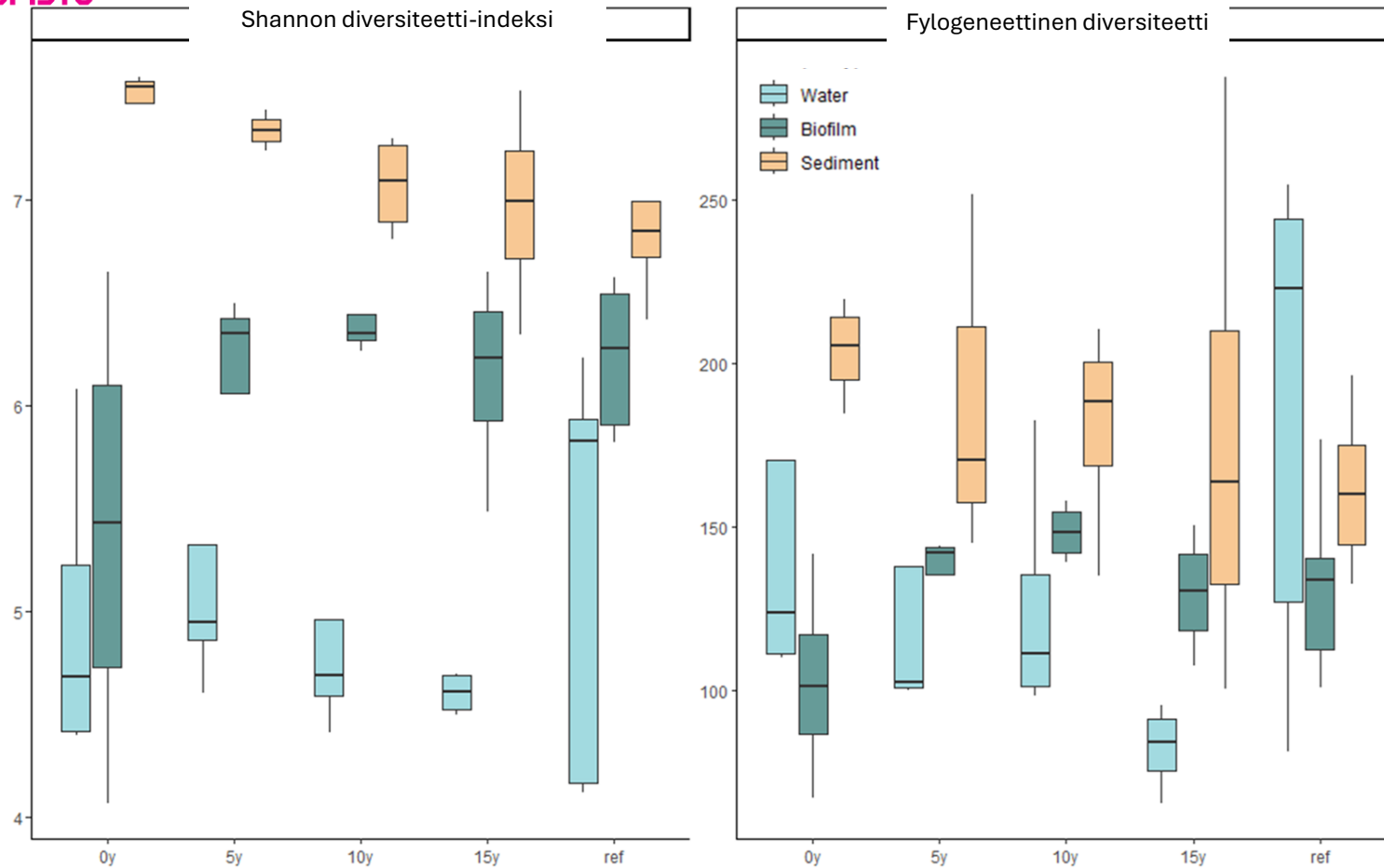
Bakteriyhteisöjen diverseetti

- Kaikki näytetyypit samassa (vesipatsas, biofilmi, sedimentti)
→ Ei eroja, iso vaihtelu ikäluokkien sisällä



OULUN
YLIOPISTO

TULOKSET – Bakteriyhteisöt



Bakteriyhteisöjen diversiteetti

- Kun eri näytetyypit erotellaan, selittyy edellisen kuvan suuri vaihtelu
- Sedimentin ja biofilmin yhteisöillä vastakkaiset trendit
 - Biofilmissä diversiteetillä ”palautuva” trendi molemmissa muuttujissa
 - Sedimenttiyhteisöllä vastakkainen trendi, diversiteetti vähenee kun siirrytään kohti luonnontilaista
 - Saattaa selittyä impaktipaikkojen sedimenttipitoisuudella
- Vesispatsasyhteisöillä suurin vaihtelu luonnontilaisissa, ei palautuvaa trendiä



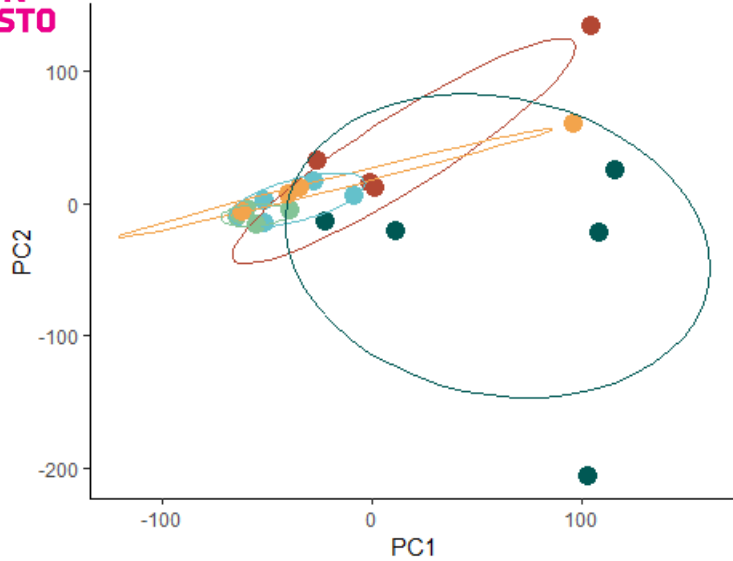
Euroopan unionin
osarahoittama



TULOKSET – Bakteeriyhteisöt

PCA of bacterial communities – water samples

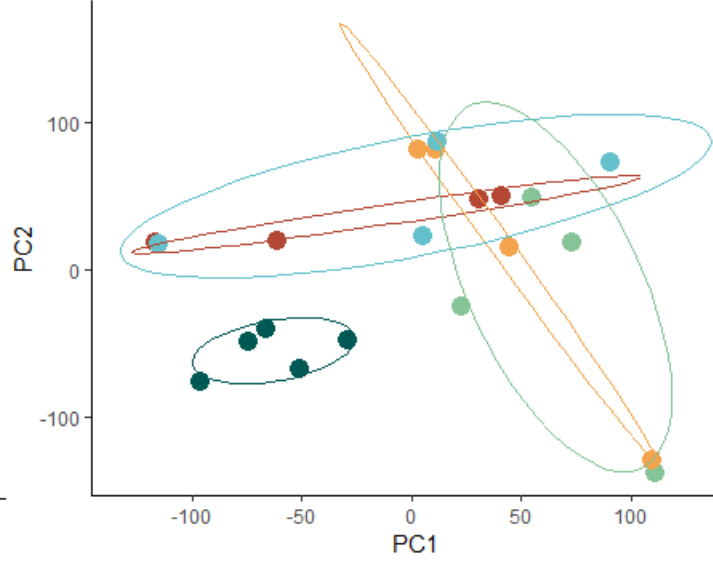
PC1: 15%, PC2: 12.5%



- Ei merkitseviä eroja yhteisörakenteessa ikäluokkien välillä
 - Todella iso hajonta myös yhteisörakenteessa referenssi luokassa

PCA of bacterial communities – biofilm samples

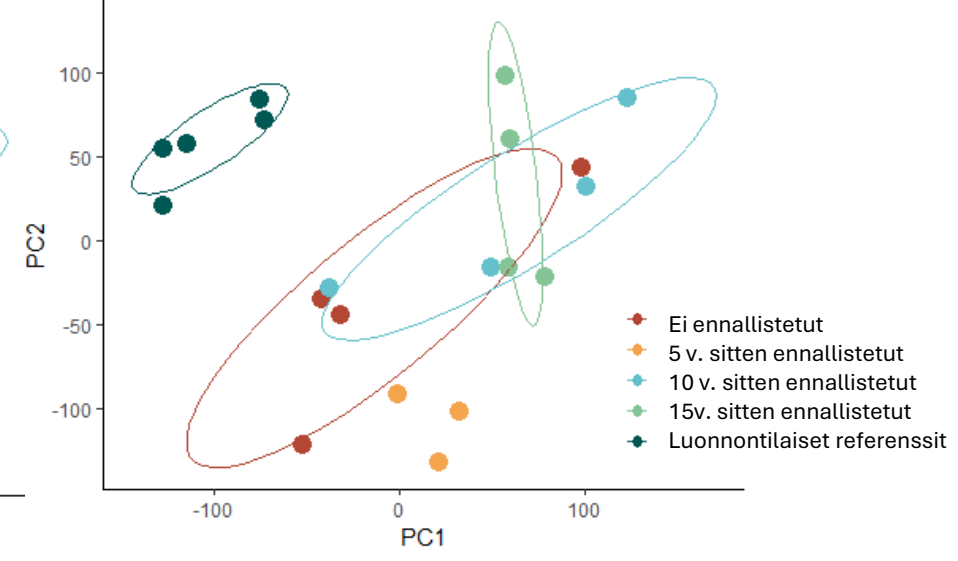
PC1: 13%, PC2: 11.7%



- Luonnontilaiset eroavat merkitsevästi kaikista muista luokista ($p_{(adj.)} < 0.05$)

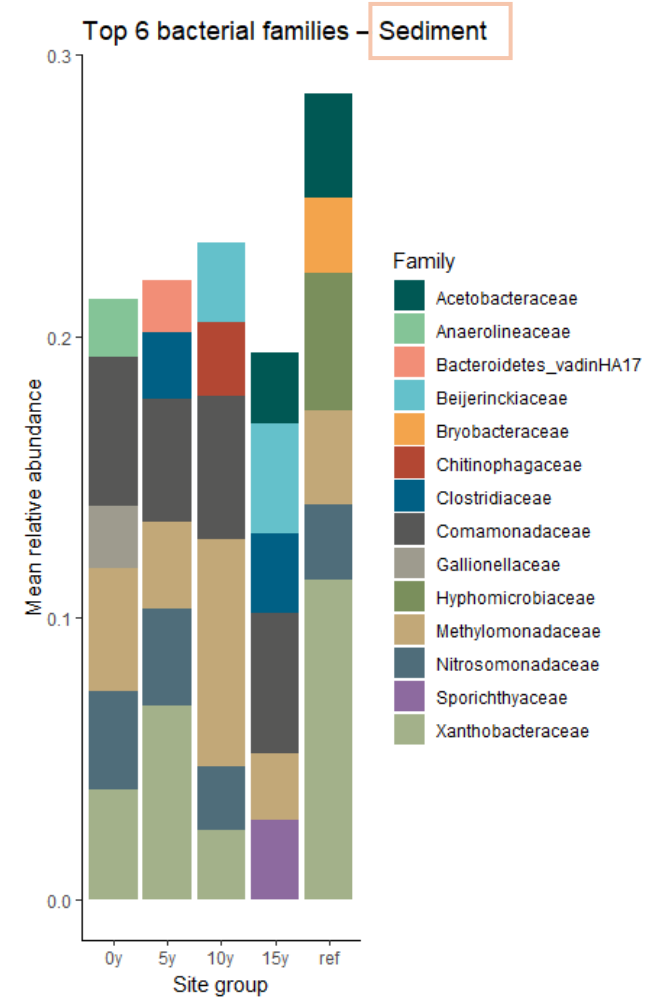
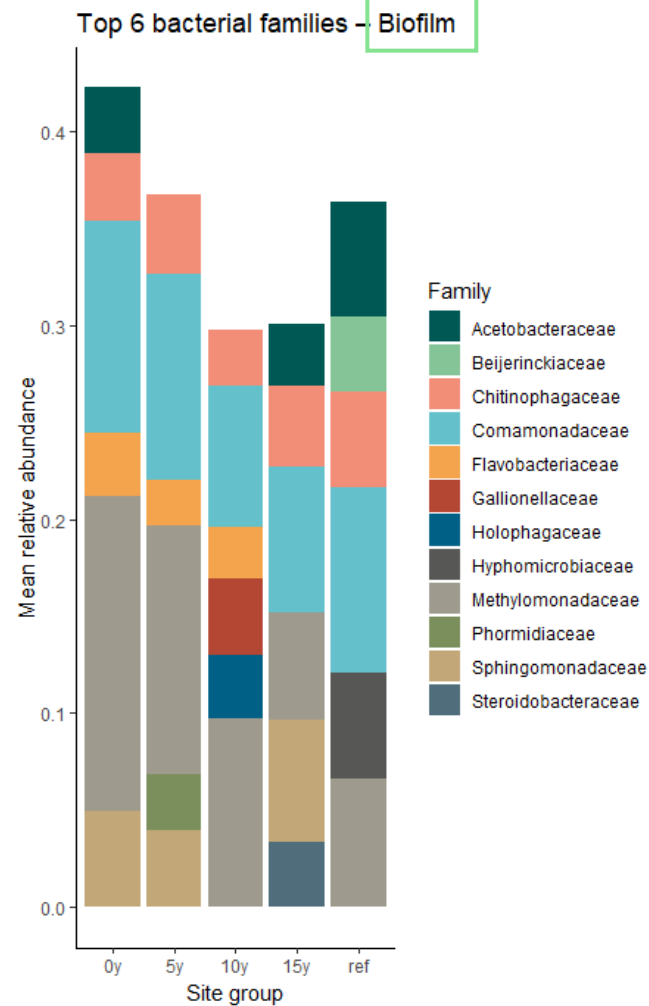
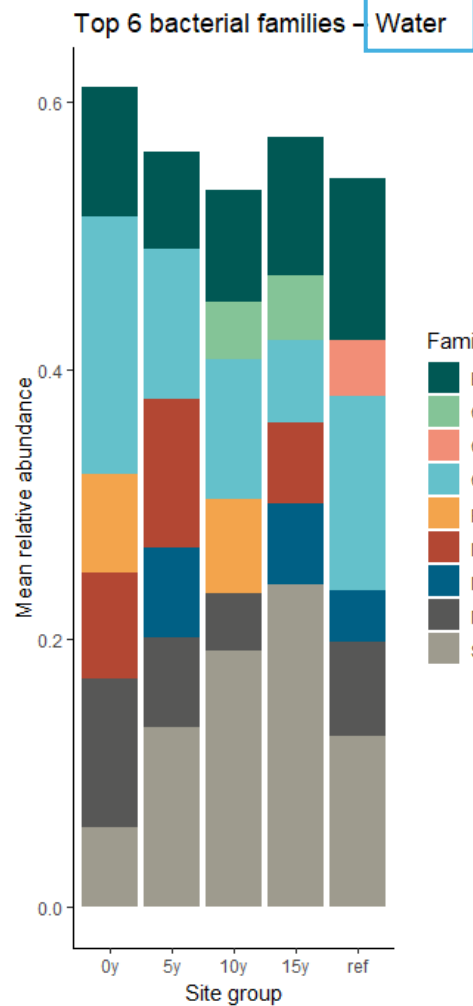
PCA of bacterial communities – sediment samples

PC1: 10.2%, PC2: 8.3%

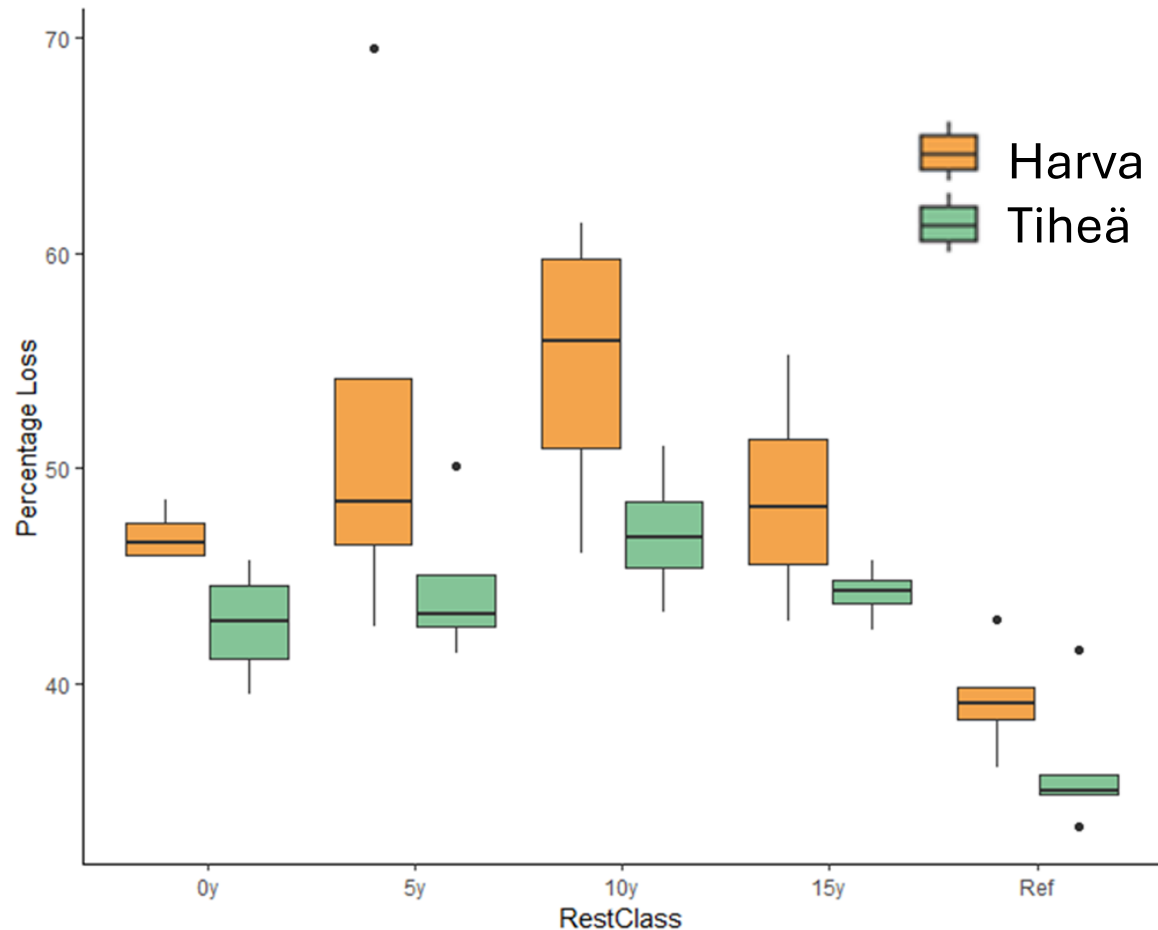


- Luonnontilaiset eroavat merkitsevästi kaikista muista luokista ($p_{(adj.)} < 0.05$)
- Lisäksi 15v. eroaa sekä 0v. että 5v. sitten ennallistetuista ($p_{(adj.)} < 0.05$)
 - Indikoiko yhteisörakenteen pikkuhiljaista palautumista? Ei välttämättä luonnontilaiseen, mutta kauemmas impaktista.

TULOKSET – Bakteriyhteisöt



TULOKSET – Ekosysteemitoinnot



- Tiheissä pelkkä mikrobihajoitus, ja harvoissa mukana myös pohjaeläimet
- Harvoissa hajotus merkitsevästi tehokkaampaa ($p < 0.05$) → normaalistikin näin
- Miksi hajonta lähteen tehostumaan? Pilkkojat lisääntyivät heti ennallistamisen jälkeen
- Referenssikohteilla hajotus merkitsevästi alhaisempaa kuin muualla ($p < 0.05$)
 - Referenssikohteet varjoisampia, ja siksi hajotus hitaampaa.
 - Referenssikohteilla lähtökohtaisesti enemmän hajoitettavaa materiaalia jo olemassa.

TULOKSET – Yhteenveto

- Ei vahvaa tilastollista indikaatiota vaikutuksista lajiston kokonaisdiversiteettiin → pieni n-määrä
- Selkeä trendi ennallistamisen välittömästä ”negatiivisesta” vaikutuksesta useassa muuttujassa, josta kuitenkin jollain tasolla lähdetään toipumaan kohti luonnontilaa kun aikaa kuluu.
- Varsinkin suht selkeitä rakenteellisia trendejä on havaittavissa
 - EPT-ryhmät ja ravinnonkäyttöryhmät
 - Biofilmi- ja sedimenttibakteerit
- 15 vuottakaan ei välttämättä vielä riitä yhteisöjen palautumiseen
- Tarvitaan **ehdottomasti lisätutkimusta** pitemmillä aikasarjoilla ja isommalla otannalla!

