

# Hingu (*Cobitis taenia*) ja võldase (*Cottus gobio*) leviku ulatuse hindamine ja seiremetoodika välja töötamine vastavalt EL merestrateegia raamdirektiivile

*Assessment of spined loach (*Cobitis taenia*) and European bullhead (*Cottus gobio*) distributional range and development of suitable monitoring methodology in accordance with EU Marine Strategy Framework Directive.*

Projekti RE.4.07.22-0006 lõpparuanne

Koostajad: Anu Albert, Imre Taal, Veljo Kisand, Kristel Panksep & Lauri Saks



Tartu 2024

# Sisukord

|   |    |
|---|----|
| Sissejuhatus.....   | 3  |
| Materjal ja metoodika.....  | 5  |
| Uuringuala.....   | 5  |
| Ihtüoloogilised seiremeetodid .....   | 5  |
| Proovivõtt ja saagi analüüs .....   | 9  |
| Andmeanalüüs .....  | 11 |
| Keskkonna-DNA analüüs .....   | 12 |
| Veeproovide kogumine.....   | 12 |
| Keskkonna-DNA eraldamine .....  | 13 |
| qPCR optimeerimine .....  | 13 |
| Liigispetsiifilise DNA tuvastamine keskkonna-DNA proovides.....                       | 14 |
| Keskkonna-DNA andmeanalüüs.....   | 14 |
| Tulemused ja arutelu .....  | 15 |
| Hingu saagikus proovipunktides .....  | 15 |
| Püügimetoodikate võrdlus.....   | 17 |
| Hingu ja võldase keskkonna-DNA olemasolu ja hulga määramine qPCR metoodika abil ..... | 20 |
| Hingu levik Eesti rannikumeres.....   | 21 |
| Võldase levik Eesti rannikumeres .....  | 23 |
| Teised tabatud kalaliigid ja kalakoosluste struktuur.....                             | 25 |
| Soovitused sihtliikide seireks .....  | 30 |
| Ihtüoloogilised meetodid.....   | 30 |
| Keskkonna-DNA .....   | 32 |
| Seirealade ja proovipunktide valik.....   | 33 |
| Ajaline aspekt.....   | 34 |
| Proovi analüüs.....   | 35 |
| Kasutatud allikad.....  | 37 |

## Sissejuhatus

Käesolev uuring (projekt RE.4.07.22-0006) on seotud Merestrateegi raamdirektiivi (MSRD) seireprogrammi seirestrateegia „SD1.4 Kalad“ ning seire allprogrammi „1.7 Rannikumere kalad“ (Anon. 2020) puudujääkide kõrvaldamise ja arendusvajaduse täitmisega. Uuringutegevuse mõjupiirkonnaks on Eesti rannikumeri ja uuring käsitleb Loodusdirektiivi II lisa liikide hingu (*Cobitis taenia*) ja võldase (*Cottus gobio*) levikut ja seiremetoodikat.

Loodusdirektiivi II lisa ära märgitud liikide puhul on nende liikide asurkondade säilitamiseks nõutud erikaitsealade määramine; kaitsmisega aidatakse kaasa looduse mitmekesisuse säilimisele ja taastamisele. Eesti merealadel püsiasurkonnaga esindatud väikesemõõtmelistest kalaliikidest kuuluvad selle määratluse alla hink ja võldas (Nõukogu direktiivi 92/43/EMÜ II lisa).

MSRD (2008/56/EÜ) rakendamise raames läbi viidud Eesti Mereala seisundi hindamise aruande kohaselt on MSRD hea keskkonnaseisundi (HKS) esmaste kriteeriumite D1C4 Liigi levikuala ja levikumuster (LD lisa II, IV, V liigid) ja D1C4 Liikide elupaiga ulatus ja tingimused (LD lisa II, IV, V liigid) hindamine kohustuslik.

Loodusdirektiivi II lisa liikide puhul asjakohaseid HKS indikaatoreid hingu ja võldase kohta välja töötatud ei ole ning seetõttu ka vastavaid hinnanguid anda ei saa (Torn & Martin 2018); indikaatorite arendamisvajadused on välja toodud Eesti mereala seire ja andmekogumise programmis perioodiks 2021-2026 (Anon. 2020).

Harilik hink on väikesemõõtmeline, Eesti vetes kuni 11.5 cm täispikkusega (Saat 2022) mageveekala, kes on peamiselt levinud Kesk- ja Ida-Euroopas. Eestis esineb hink oma levila põhjapiiri lähedal. Eestis on hink tavaline nii jõgedes kui järvedes, võime sigida riimvees on hingul võimaldanud levida ka rannikumeres (Saat 2022). Tõenäoliselt esineb hink liigile sobivates elupaikades, näiteks avamerest eraldatud merelahtedes ning jõgede suudmealadel, kogu Eesti rannikumere ulatuses. Hink eelistab liivase, savise või mudase substraadiga biotoopi; sigib taimestikurikastel kaldaaladel (Saat 2022).

Kuna tegu ei ole töendusliku ega harrastusliku püügi objektiga ning hink on väikeste mõõtmete tõttu raskesti tabatav kalaliik, siis viimane ülevaade liigi leviku kohta Eesti rannikumeres on koostatud liigi kaitse tegevuskava jaoks (Saks et al 2014). Eesti ohustatud liikide punases nimestikus on hink alates 2019. a määratletud kategooriasse „soodsas seisundis“ (Lai levikuga ja stabiilse arvukusega liik. Arvukus varieerub veekoguti oluliselt; eElurikkus; 27.03.2024).

Võldas on samuti väikesemõõtmeline, Eesti vetes kuni 13 cm täispikkusega (Saat 2022) bentilise eluviisiga mageveekala, kelle leviala hõlmab suurema osa Euroopast. Liigi põhiliseks elupaigaks on jõed, lisaks selle esineb paiguti ka järvedes ning Läänemere madala soolsusega riimveelistes rannikupiirkondades. Rannikumeres esineb võldas vähearvukalt ja hajusalt kogu ranniku ulatuses (Järvekülg et al 2015). Liik on peidulise eluviisiga, öise aktiivsusega ning territoriaalne, eelistab veekogudes kivise põhjaga kohti ning on nõudlik vee hapnikusisalduse suhtes (Saat 2022). Eesti riimveelises rannikumeres võib lisaks harilikule võldasele esineda veel välimuselt üsna sarnast kirjuim-võldast (*Alpinocottus poecilopus*) (Kottelat & Freyhof 2007).

Sarnaselt hingule puudub ka võldasel kalanduslik tähtsus, küll on ta aga oluliseks toiduobjektiks röövtoidulistele kaladele, sh ahvenale. Eestis on võldas kaitse all (III kaitsekategooria). Eesti ohustatud liikide punases nimestikus on võldas alates 2019. a määratletud kategooriasse „ohulähedane“ (Lai levikuga liik, kuid vähese levimisvõime tõttu levik ebaühtlane. Levila/arvukuse langus võib olla toimunud/toimumas, kuid tõenäoliselt aeglasemalt, kui kriteeriumites ette antud ulatused. Seisuveekogudes on seire teostamine raskendatud ja trendid teadmata, kuid arvestama peab eutrofeerumise negatiivset mõju elutingimustele. Klassifitseerub "Ohulähedaseks, kuna hinnang jääb lähedale "Ohualdis" (A4c); eElurikkus; 27.03.2024).

Senised hinguga ja võldase arvukuse ja leviku andmed Eesti mereala asustavate asurkondade osas on siiski lünklikud ning võimaldavad anda üksnes vananenud ülevaate nende liikide leiukohtadest rannikumeres. Seda eelkõige seetõttu, et nende kalaliikide leviku ja arvukuse hindamiseks Eesti merealadel seiret läbi ei viida. Oma mõõtmete tõttu ei satu hink ja võldas ka suuremamõõtmeliste kalade püügiks mõeldud püünistesse, mistõttu kalanduslikult oluliste liikide seirega pole võimalik nende asurkonna levikut ja olukorda hinnata. Eelnevast tulenevalt on hinguga ja võldase elupaikade kaitse raskendatud. Kaitse tegevuskavad antud liikide kohta on küll koostatud, aga vastavaid tegevusi, mis võimaldaksid hinnata liikide seisundit MSRD raames, ei ole läbi viidud.

Lähtudes eelpool toodud puudujääkidest ja arendusvajadusest oli käesoleva uuringu peamiseks eesmärgiks välja töötada seiremeetodid, mis võimaldaksid määrata hinguga ja võldase levikuala Eesti rannikumeres vastavalt HKS kriteeriumile D1C4 („Liigi levikuala ja levikumuster“; esmane kriteerium vastavalt Euroopa Liidu komisjoni otsuses 2017/848 toodule). Projekti tulemuste alusel on võimalik hinnata esmase kriteeriumi D1C5: „Liikide elupaiga ulatus ja tingimused (LD lisa II, IV, V liigid)“ seisundit, kuna nii hink kui ka võldas on väga paiksed liigid (Saat 2022). Seetõttu võiks mõlemad indikaatorid kirjeldada, kas elupaikade ulatus ja seisund toetavad neid liike kogu elutsükli eri etappides. Seiremeetodite väljatöötamise käigus uuendati ka hinguga ja võldase levikuandmeid Eesti rannikumeres.

Uuringu käigus testiti nii traditsioonilisi, kalade püüdmisel põhinevaid seiremeetodeid, millega varasemalt on tabatud väikesemõõtmelisi kalaliike (Perrow et al 2017, Saks et al 2018, Taal et al 2017, Truuverk et al 2021), kui ka keskkonna-DNA meetodikat, mis on mitteletaalne meetod väikesemõõtmeliste kalaliikide seires (Hempel et al 2020, Peixoto et al 2021).

Käesoleva uuringu kõrvaltulemusena laekus uusi levikuandmeid ka ülejäänud rannikumerd asustavate väiksemõõtmeliste kalaliikide kohta, kes muude püügivahenditega tabamatuks jäävad. Seega laiendab käesolev projekt olemasolevat teadmist rannikumere bioloogilise mitmekesisuse kohta, mida on võimalik edaspidi kasutada asjakohaste meetmete ja indikaatorite väljatöötamisel.

#### **Käesoleva uuringu peamised tulemused on:**

- **Hinguga seireks Eesti rannikumeres sobib kõige paremini väikese silmasammuga päraosaga kaldanoot paralleelselt keskkonna-DNA meetodikagaga. Seire tuleks läbi viia mai keskpaigast juuli keskpaigani, seirevälp võiks olla kaks või kolm aastat.**
- **Võldase seireks Eesti rannikumeres on sobilik keskkonna-DNA meetodika. Seire tuleks läbi viia juulist oktoobrini, seirevälp võiks olla samuti kaks või kolm aastat.**

- **Leiti, et hink on Eesti rannikumeres seni arvatust laiemalt levinud. Uued leiukohad tuvastati nii Läänemere avaosas, Liivi lahes kui Soome lahes.**
- **Kuigi võldast on varem registreeritud kogu Eesti rannikumere ulatuses, näitas käesolev uuring, et liigi tuumikpiirkonnaks on Soome lahe avatud rannik.**

Käesolevat uuringut rahastasid SA Keskkonnainvesteeringute Keskuse KIK keskkonnaprogramm (80%) ja Tartu Ülikooli Eesti mereinstituut (20%). Koostajad tänavad välitöödel osalejaid: Aare Verliin, Katariina Kurina, Risto Kalda, Madli Saat ja Helen Parik.

## Materjal ja meetodika

### *Uuringuala*

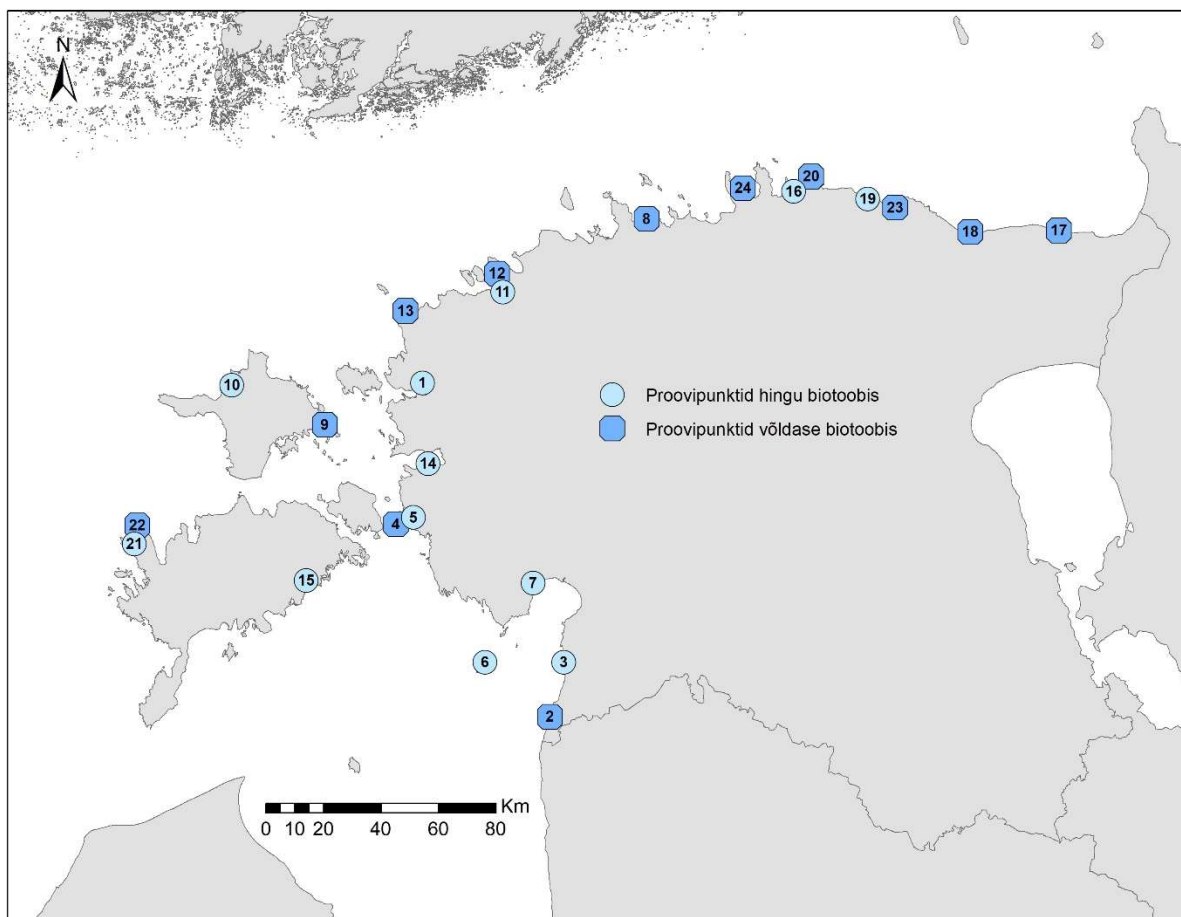
Käesoleva uuringu välitööd viidi läbi 2023. aastal aprillist novembrini. Üheaegselt viidi läbi sihtliikide leviku ulatuse hindamine ja erinevate seiremetoodikate testimine. Proovipunktide valikul arvestati seniste leiukohtadega ja eksperthinnanguna biotoopi arvesse võttes potentsiaalsete elupaikadega. Kokku püüti 22 kohas üle rannikumere. Igas kohas mõõdeti veetemperatuur ja soolsus ning võeti veeproov keskkonna-DNA tuvastamiseks. Lisaks võeti kahest kohast Soome lahes, Kundast ja Virvelt keskkonna-DNA proov (joonis 1 ja tabel 1).

### *Ihtüoloogilised seiremeetodid*

Igas proovipunktis püüti nelja erineva püügivahendiga, kahte tüüpi passiivse püünisega: kadiskad (10 tk) ja nakkevõrgud (2 tk) ning kahte tüüpi aktiivse püügivahendiga, milleks olid kaldanoot ja lükkekahv (joonised 2-5 jt). Kahel varasemalt teadaoleval hingu tuumikalal, (Matsalu lahes ja Kunnati lahes (joonised 1 ja 3, tabel 1) püüti lisaks ka maimumõrraga.

Püüniste parameetrid:

- Kadiskad olid 50 cm kõrgused, lühikese alt üles kulgeva juhtaiaga, 3 cm laiuse pujusega ja 4 mm silmasammuga.
- Nakkevõrgud olid 0,9 m kõrgused ja 10 m pikkused, silmasammuga 6,25 mm.
- Kaldanoot oli järgmiste mõõtudega: 1,2 m kõrgused tiivad oli algusosas 4,2 m pikkused ja 10 mm silmasammuga, millele järgnes 4,2 m pikkune 8 mm silmasammuga sektsioon; päraosa pikkusega 3 m ja silmasammuga 5 mm oli ava juures 2 m lai ja 1,8 m kõrge.
- Lükkekahv oli laiusega 101 cm ja silmasammuga 2 mm.
- Maimumõrd oli 15 m pikkuse juhtaiaga, 4 m pikkuste kariaedadega ning päraosa silmasammuga 3 mm.



Joonis 1. Proovipunktide asukohad: 1 – Saunja laht, 2 – Orajõe, 3 – Rannametsa, 4 – Virtsu, 5 – Rame laht, 6 – Kihnu (Laoba nina), 7 – Audru polder, 8 – Muuga laht, 9 – Heltermaa, 10 – Kirikulaht, 11 – Harju-Madise, 12 – Paldiski (Laoküla), 13 – Spithami, 14 – Matsalu laht (Keemu), 15 – Kunnati/Kõiguste laht, 16 – Käsmu laht, 17 – Toila, 18 – Liimala/Purtse, 19 – Rutja laht, 20 – Natturi, 21 – Uudepanga laht (Türdu lõugas), 22 – Undva, 23 – Kunda, 24 – Virve (aluskaart: Maa-amet). Proovipunktid on tähistatud testpüükide teostamise ajalise järjekorras (tabel 1).

Tabel 1. Proovivõtu aeg, koht, ja vee parameetrid. Proovipunktid on tähistatud testpüükide teostamise ajalise järjekorras.

| Proovi-punkt | Aeg              | Mereala    | Koht                    | N         | E         | Vee-temperatuur °C | Soolsus ‰ | Sihtliik |
|--------------|------------------|------------|-------------------------|-----------|-----------|--------------------|-----------|----------|
| 1            | 27-28.04.2023    | Väinameri  | Saunja laht             | 58.997232 | 23.635644 | 10.0               | 0.0       | hink     |
| 2            | 08-09.05.2023    | Liivi laht | Orajõe                  | 57.955562 | 24.396037 | 16.1               | 4.1       | võldas   |
| 3            | 09-10.05.2023    | Liivi laht | Rannametsa              | 58.124824 | 24.478647 | 18.6               | 3.7       | hink     |
| 4            | 15-16.05.2023    | Väinameri  | Virtsu                  | 58.563807 | 23.503308 | 17.3               | 5.4       | võldas   |
| 5            | 16-17.05.2023    | Liivi laht | Rame laht               | 58.580727 | 23.565167 | 16.1               | 0.8       | hink     |
| 6            | 23-24.05.2023    | Liivi laht | Kihnu (Laoba nina)      | 58.125634 | 24.014    | 21.3               | 5.4       | hink     |
| 7            | 24-25.05.2023    | Liivi laht | Audru polder            | 58.373066 | 24.300277 | 21.4               | 4.2       | hink     |
| 8            | 31.05-01.06.2023 | Soome laht | Muuga laht              | 59.5066   | 25.006773 | 12.7               | 5.5       | võldas   |
| 9            | 08-09.06.2023    | Väinameri  | Heltermaa               | 58.863982 | 23.048735 | 15.8               | 6.9       | võldas   |
| 10           | 09-10.06.2023    | Avaosa     | Reigi laht (Kirikulaht) | 58.982139 | 22.481911 | 21.1               | 0.6       | hink     |

| Proovi-punkt | Aeg           | Mereala    | Koht                          | N         | E         | Vee-temperatuur °C | Soolsus ‰ | Sihtliik |
|--------------|---------------|------------|-------------------------------|-----------|-----------|--------------------|-----------|----------|
| 11           | 12-13.06.2023 | Soome laht | Harju-Madise                  | 59.288973 | 24.108593 | 20.4               | 6.1       | hink     |
| 12           | 12-13.06.2023 | Soome laht | Paldiski (Laoküla)            | 59.328552 | 24.101333 | 20.6               | 6.3       | võldas   |
| 13           | 13-14.06.2023 | Soome laht | Spithami                      | 59.222284 | 23.529665 | 18.8               | 6.4       | võldas   |
| 14           | 27-30.06.2023 | Väinameri  | Matsalu laht (Keemu)          | 58.746025 | 23.672249 | 24.0               | 3.6       | hink     |
| 15           | 08-11.07.2023 | Liivi laht | Kunnati/Kõiguste laht         | 58.376492 | 22.950838 | 18.8               | 6.2       | hink     |
| 16           | 05-06.08.2023 | Soome laht | Käsmu laht                    | 59.58195  | 25.915618 | 21.4               | 5.6       | hink     |
| 17           | 20-21.08.2023 | Soome laht | Toila                         | 59.426182 | 27.535746 | 18.5               | 5.1       | võldas   |
| 18           | 21-22.08.2023 | Soome laht | Liimala/Purtse                | 59.436376 | 26.991647 | 17.5               | 5.1       | võldas   |
| 19           | 07-08.09.2023 | Soome laht | Rutja laht                    | 59.551623 | 26.371132 | 18.1               | 5.4       | hink     |
| 20           | 08-09.09.2023 | Soome laht | Pedassaara laht (Natturi)     | 59.627796 | 26.02741  | 17.6               | 5.6       | võldas   |
| 21           | 18-19.09.2023 | Avaosa     | Uudepanga laht (Türdu lõugas) | 58.496743 | 21.920938 | 17.0               | 6.7       | hink     |
| 22           | 05-06.11.2023 | Avaosa     | Undva                         | 58.513764 | 21.915111 | 8.2                | 6.9       | võldas   |
| 23           | 21.08.2023    | Soome laht | Kunda                         | 59.521398 | 26.53602  | 17.5               | 5.7       | võldas   |
| 24           | 08.09.2023    | Soome laht | Hara laht (Virve)             | 59.597277 | 25.604494 | 17.9               | 5.7       | võldas   |

Testpüükiel kasutatud püügivahendite tüübid valiti välja lähtudes nende sobivusest väikesemõõtmeliste kalade püüdmiseks Eesti tingimustes (Saks et al 2018, Taal et al 2017). Käesolevas uuringus kasutatud lükkekahv disainiti pääsemaks ligi kohtadele, kus noodapüük on raskendatud või võimatu: nt kivid, kivivared, muulid, taimestik.



Joonis 2. Püügile asetatud kadiskad Saunja lahe proovipunktis 28.04.2023. Foto: L. Saks.



Joonis 3. Püügile asetatud kadiskad ja maimumõrd Matsalu lahes Keemu proovipunktis 27.06.2023. Foto: L. Saks.



Joonis 4. Noodapüük Käsmu lahe proovipunktis 05.08.2023. Foto: A. Albert.

Püüniste silmasuurused olid sobivad väikesemõõtmeliste kalaliikide tabamiseks. Valitud 6,25 mm silmasammuga nakkevõrk kuulub standardiseeritud järveseire nn *Nordic*-tüüpi sektsioonvõrku (standard EN 14757:2015), millega on varasemalt hinku tabatud. Võldast on Eesti rannikumerest varasemalt tabatud 14 mm ja 17 mm silmasammuga nakkevõrkudega ning liigi noorjärgud võiks seega teoreetiliselt nakkuda ka 6,25 mm silmasammuga võrku. Lisaks võib teatavasti nakkevõrkudesse takerduda ka kehaümbermõõdu poolest silmasuurusega sobimatuid kalu (Holst et al 1998).



Rannikumere kalastiku seirel kasutusel olevad  $\geq 14$  mm silmasammuga nakkevõrgud (Eschbaum et al 2024) on võldase tabamise jaoks liiga suure silmaga. Pikaajalise seire käigus on tabatud vaid üksikud võldased. Lisaks on seirepüügid näidanud, et nii 14 mm kui 17 mm silmasammuga nakkevõrgud võivad üleküllastuda suuremate kehamõõtmetega kalaliikidest (nt ümarmudil, viidikas), mis tähendab, et sihtliigi tabamine on raskendatud ja kalade kätte saamine võrkudest väga töömahukas.



Joonis 5. Püük lükkekahvaga Paldiski (Laoküla) proovipunktis Pakri lahes 13.06.2023. Foto: A. Albert.

### Proovivõtt ja saagi analüüs

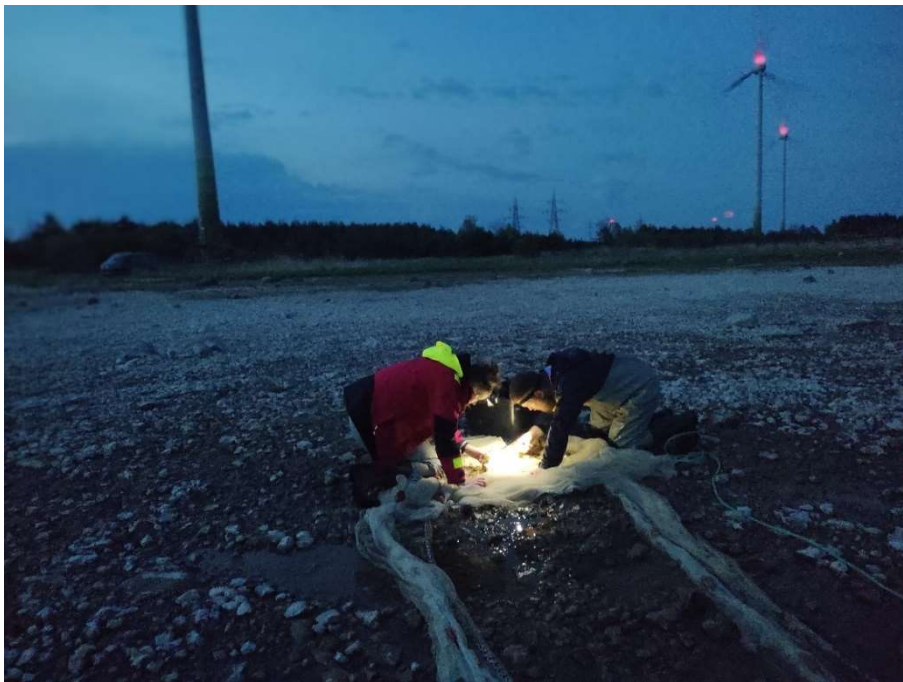
Passiivsed püünised asetati kuni 1 m sügavusse vette püügile enne päikeseloojangut ning võeti välja järgmisel hommikul pärast päikesetõusu. Vaid hingtuumikaladel kasutatud maimumõrd asetati püügile kolmeks järjestikuseks ööks. Püünistesse jäänud kalad määrati liigini (samasuviste raskesti määratavate isendite puhul sugukonnani), iga liigi isendid loendati ning võeti kogumass, kui isendite arv oli vähem kui 200. Kui isendite arv oli üle 200, siis loeti ning kaaluti 2 x 100 isendit. Ülejäänud isendid kaaluti ning 200 loetud isendi massi järgi arvutati isendite koguarv (joonis 6). Laboratoorseks analüüsiks vajalikud isendid fikseeriti või külmutati, ülejäänud kalad vabastati; võõrliike käideldi vastavalt Looduskaitseaduse § 57 toodule (RT I, 22.12.2023, 8).

Pärast passiivsete püüniste püügile asetamist tehti nende läheduses peale päikeseloojangut neli püüki nii kaldanoodaga kui ka lükkekahvaga. Iga püügi juures mõõdeti püügi alguspunkti ja lõpppunkti vaheline distant (m), nooda puhul hinnati tõmbe laius (m). Tabatud kalad määrati liigini, samasuviste raskesti määratavate isendite puhul sugukonnani. Loomustes esinenud sihtliigi isendid loendati, mittesihtliikide isendid kas loendati või toetudes eelnevale kogemusele hinnati nende ligikaudset arvukust loomuses (joonis 7). Laboratoorseks analüüsiks vajalikud isendid fikseeriti või külmutati. Ülejäänud kalad vabastati; võõrliike käideldi vastavalt Looduskaitseaduse § 57 toodule

(RT I, 22.12.2023, 8). Hingu rohke esinemise korral registreeriti proovipunkti ühes noodaloomuses kõikide hinkude täispikkused.



Joonis 6. Nakkevõrkudesse jäänud isendite väljavõtmine ja sorteerimine Rannametsa proovipunktis 10.05.2023. Foto: A. Albert.



Joonis 7. Noodaloomuse sorteerimine Virtsu proovipunktis 15.05.2023. Foto: A. Albert.

Käesoleva uuringu esimeses kaheksas proovipunktis (joonis 1 ja tabel 1) püüti paralleelselt nii söödastatud (5tk; söödaks olid tükeldatud krevetid, mis olid asetatud 50 ml mahutavusega perforeeritud kaanega suletud perforeeritud plasttopsi) kui ka söödastamata (5 tk; püünisesse asetati üksnes kirjeldatud plasttopsi) kadiskatega (joonis 8). Tulemuste võrdlemiseks kasutati Mann-Whitney U-testi.



Joonis 8. Söödatopsidega kadiskad Audru poldri proovipunktis 25.05.2023. Foto: A. Albert.

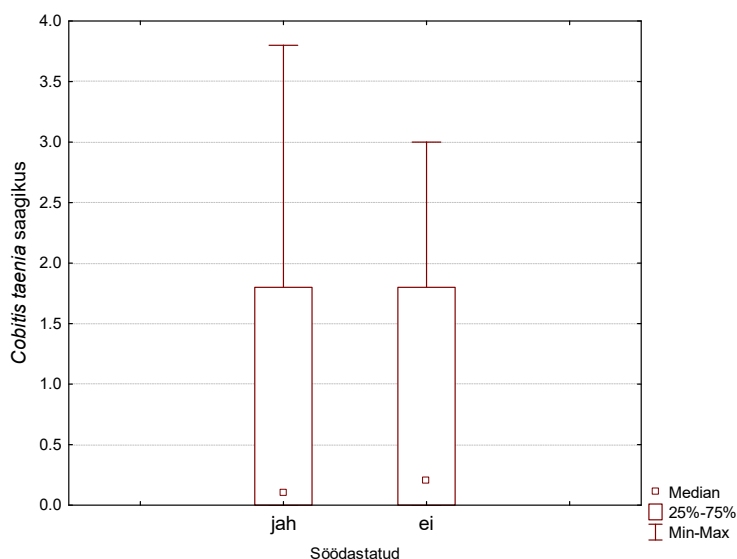
Selgus, et hingu (ega ühegi teise liigi) arvukust söödastatud ja söödastamata kadiskates ei olnud võimalik statistiliselt usaldusväärset eristada (Mann-Whitney U-test:  $U=30,0$ ;  $n_1=8$ ,  $n_2=8$ ;  $p=0,834$ ; joonis 9). Kalakoosluseid kadiskais kirjeldas eelkõige püügipiirkond, mitte aga kadiskate söödastamine. Kadiska söödastamine ei olnud seotud kalakoosluse struktuuriga kadiskas (SIMPER  $r=0,08$ ;  $p=0,883$ ). Edasises analüüsis koondati söödastatud ja söödastamata kadiskate andmed.

Kuivõrd kadiskate söödastamine ei avaldanud sihtliigi saagikusele mõju, siis ülejäänud proovipunktides (proovipunktid nr 9-22; joonis 1 ja tabel 1) püüti ainult söödastamata kadiskatega.

### Andmeanalüüs

Erinevate püüniste sihtliikide tabamise tulemuslikkuse võrdlemiseks kasutati nende saagikuse andmeid. Aktiivsete püüniste kohta arvutati saagikus  $m^2$  kohta, kus noodatõmbe või kahvalükke pikkus korrutati laiusega ning saak jagati saadud ruutmeetrite arvuga. Passiivsete püüniste puhul arvutati saagikus iga püünisöö (püüniste arv x püügiööde arv) kohta. Kuna andmed ei olnud jaotunud normaaljaotuse kohaselt, siis kasutati püüniste efektiivsuse andmeanalüüsil mitteparameetrilisi statistilisi teste. Hingu ja võldase elupaikades teostatud püükidel registreeritud kalakoosluste

struktuuri võrdlemiseks erinevate püüniste saakides kasutati ANOSIM ning SIMPER analüüse (Clarke & Gorley 2015).



Joonis 9. Hingu (*Cobitis taenia*) saagikuse võrdlusstatistikud söödastatud ja söödastamata kadiskates.

## Keskkonna-DNA analüüs

### Veeproovide kogumine

Veeproove koguti rannikumerest perioodil 28.04.2023 – 05.11.2023 samal ajal ihtüoloogiliste meetodite testimise ja leviku hindamisega (joonis 10). Kokku koguti 22 püükidega seonduvat veeproovi ja 2 ilma püükideta (joonis 1). Vesi koguti pinnalt 10 kuni 20 cm sügavuselt testpüükide alt enne, kui püünised vette asetati. Ühe ala proovid segati suures kogumisnõus ühtseks põhiprooviks. Kokku koguti igast proovipunktist minimaalselt 5 liitrit vett, millest filtreeriti kolmes korduses 120-1200 ml vett 0.2 µm poorisuurusega kinnistele Sterivex kassetfiltritele (Merck Millipore). Filtreerimiseks kasutati steriilseid 60 ml BBraun süstlaid.

Proovid filtreeriti kohapeal vahetult pärast proovi kogumist. Kõik korduvkasutatavad töövahendid desinfitseeriti enne tööde algust 2% VirkonS lahusega. Negatiivse kontrollproovina kasutati pudeldatud Saaremaa joogivett (500 ml), mis avati esmakordselt vahetult enne filtreerimist. Filtreeritud keskkonna-DNA materjali säilitamiseks lisati filtreerimise järgselt proovidele 3 ml säilituspuhvrit (Longmire puhverlahust (0.1 M Tris-HCL at pH 8.0, 0.1 M EDTA, 0.1 M NaCl, 0.5% w/v SDS, (Longmire et al 1997)) ja proovid säilitati edasiste analüüsideni toatemperatuuril, säilitamise pikim aeg oli kuni 4 kuud.



Joonis 10. Veeproovi võtmine keskkonna-DNA jaoks Rame lahe proovipunktis 16.05.2023. Foto: A. Albert.

### Keskkonna-DNA eraldamine

Proovide ristasaastumise vältimiseks on oluline hoida erinevad tööetapid füüsiliselt eraldatuna. Seetõttu teostati keskkonna-DNA eraldamised Tartu Ülikooli tehnoloogiainstituudi tuumiklaboris. Selles laboris ei käidelda koeproove ega amplifitseeritud DNA-d, mis on laboritingimustes kõige suuremaks ristasaastuse allikaks.

Lisaks on antud keskkonna-DNA laboris kehtestatud põhjalikud protseduurireedid, mille eesmärk on vältida proovide saastumist töö käigus, nimetatud laboris töötab vaid kindla väljaõppega personal. Samuti on laboris tagatud pidev õhuvahetus ja õhuringlus koos UV töötusega.

Sterivex filtritelt eraldati keskkonna-DNA, kasutades NucleoSpin (Macherey Nagel) Tissue eralduskomplekti koos kapselfiltritele sobivaks modifitseeritud protokolliga. Antud eralduskiti tootjapoolse protokolliga oleme erinevate pilootprojektide käigus optimeerinud just keskkonna-DNA proovide jaoks sobivaks. Kõik eraldused tehti laminaarse õhuvooluga bioohutuskapis, et vältida proovide saastumise ohtu laboris.

### qPCR optimeerimine

Kogutud proovide analüüsiks disainiti liigspetsiifilised COI (mitokondriaalne tsütokroom-oksüdaas I geen) *Forward* ja *Reverse* praimerid ning neile vastav liigspetsiifiline sond nii hingule kui võldasele. Primerid disainiti spetsiaalselt selleks loodud tarkvara (Primer3 2.3.7) abil. Seejärel testiti loodud praimerite sobivust *in silico*, mis tähendab, et praimerijärjestusi võrreldi kõigi avalikes

andmebaasides olevate DNA järjestustega. *In silico* analüüsi teostati primer-BLAST (Ye et al 2012) tarkvaraga NCBI GENBank ja BOLD andmebaasi vastu. *In silico* analüüsi järgselt testiti praimereid *in vitro*. Selles etapis katsetati disainitud praimerite sobivust võõrliikide koeproovidest eraldatud DNA amplifitseerimiseks. Kolmandas, *in situ* etapis kontrolliti praimereid projekti käigus kogutud keskkonna-DNA proovidel. Metoodika optimeerimiseks ning praimerite optimaalseima sulamistemperatuuri leidmiseks kasutati gradient-PCR metoodikat, samuti optimeeriti praimerite ja sondi lõppkontsentratsioone. Optimaalse praimerite ja sondi ning abireagendi kontsentratsiooni määramiseks teostati testreaktsioonid qPCR metoodikat kasutades.

### Liigispetsiifilise DNA tuvastamine keskkonna-DNA proovides

Uuritavate kalaliikide tuvastamiseks kogutud keskkonna-DNA proovides loodi igale valitud liigile vastav qPCR standardkõver. 1:10 lahjenduste seeria (10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001, 0.00001 ng/ $\mu$ L) abil loodi iga liigi koeproovi DNA kaliiberlahusest standardkõver. Liigispetsiifilise COI geeni tuvastamiseks kasutati disainitud praimereid ja sondipõhist TaqMan<sup>®</sup> tehnoloogiat. Iga qPCR reaktsioonisegu mahuga 10 $\mu$ l koosnes järgmistest komponentidest: 1x HOT FIREPol<sup>®</sup> Probe Universal qPCR Mix (Solis BioDyne), 0,2  $\mu$ M F ja R praimer ning 0,2  $\mu$ M flurostsentsmärgisega sond, 2,5% DMSO ja ülejäänud mahus dH<sub>2</sub>O (Molecular grade). Iga keskkonnaproovi analüüsiti kolmes korduses ning iga qPCRi analüüsiplaat sisaldas lisaks uuritavatele proovidele negatiivseid kontrollproove ning positiivseid standard DNA lahjendusi. Kõik qPCR analüüsid teostati LightCycler<sup>®</sup> 480 System (Roche Life Science) seadmel 384 kannulist platvormi kasutades.

### Keskkonna-DNA andmeanalüüs

Mitokondriaalse COI geeni koopiaarvu ja uuritava looma koest eraldatud DNA vahelist suhet ei ole võimalik tuvastada, seetõttu kasutati proovidest leitud DNA koguse hindamiseks standardis oleva ühele liigile omast genoomse DNA kontsentratsiooni ja vastava qPCR reaktsiooni Cp väärtuse vahelist seost. Uuritavate proovide Cp väärtused arvutati selle seose abil DNA kontsentratsiooniks. Üksikutes proovides – 3 bioloogilist ning neist igast 3 tehnilist kordust – leiduva DNA kontsentratsioonidest arvutati mediaanväärtus ning selle 25% and 75% CI väärtused. Proovid, mille mediaan oli suurem kui null, näitasid vastava liigi esinemist antud proovikogumise alal. Hinku puututavate andmega modelleeriti proovivee koguse ja liigi esinemist keskkonna-DNA leiu sõltuvust püügitemustest logistilise üldistatud lineaarse mudeli abil (nn '*binomial logistic*' GLM).

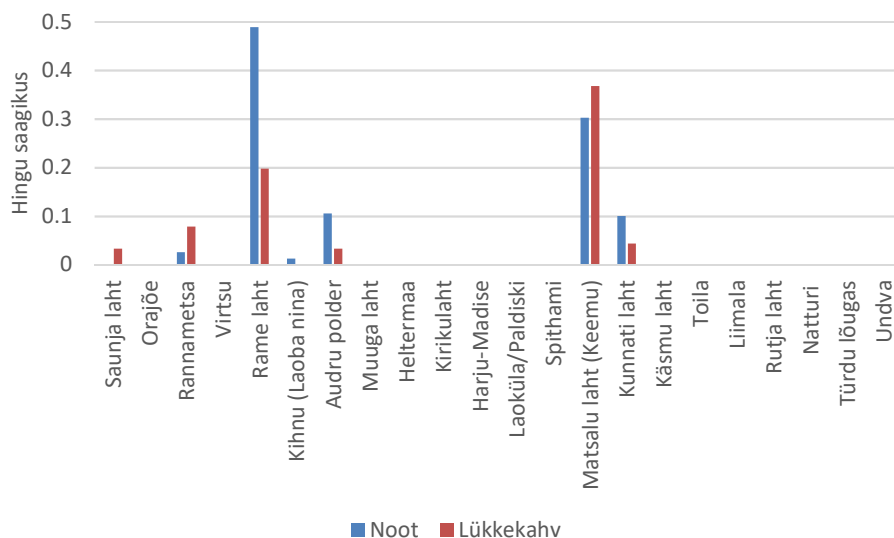
## Tulemused ja arutelu

### Hingu saagikus proovipunktides

Hinku tabati kõigi testitud püünistega kokku kaheksas proovipunktis. Saagikused on toodud tabelis 2. Nii nooda kui lükkekahvaga tabati hinku kõige rohkem Rame lahe ning Matsalu lahe proovipunktides (joonis 11).

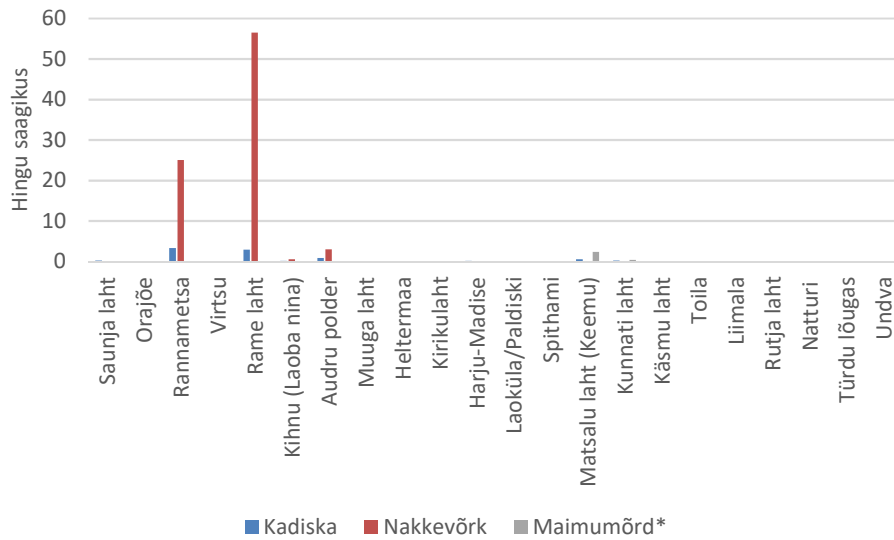
Tabel 2. Hingu saagikus eri proovipunktides püügivahendite kaupa. Tabelis on toodud vaid proovipunktid, kus hinku tabati.

| Proovipunkt           | Noot<br>Isendite arv m2<br>kohta | Lükkekahv<br>Isendite arv m2<br>kohta | Kadiska<br>Isendite arv<br>püünisöö kohta | Nakkevõrk<br>Isendite arv<br>püünisöö kohta | Maimumõrd<br>Isendite arv<br>püünisöö kohta |
|-----------------------|----------------------------------|---------------------------------------|---|---|---|
| Saunja laht           | 0                                | 0.033                                 | 0.2                                       | 0   |   |
| Rannametsa            | 0.026                            | 0.078                                 | 3.3                                       | 25  |   |
| Rame laht             | 0.489                            | 0.198                                 | 2.89                                      | 56.5  |   |
| Kihnu                 | 0.013                            | 0                                     | 0.1                                       | 0.5   |   |
| Audru polder          | 0.106                            | 0.033                                 | 0.8                                       | 3   |   |
| Harju-Madise          | 0                                | 0                                     | 0.1                                       | 0   |   |
| Matsalu laht          | 0.302                            | 0.368                                 | 0.5                                       | 0   | 2.33  |
| Kunnati/Kõiguste laht | 0.101                            | 0.044                                 | 0.2                                       | 0   | 0.33  |



Joonis 11. Hingu saagikus aktiivsete püügivahenditega (isendite arv pindalaühiku ( $m^2$ ) kohta).

Kadiskate ja nakkevõrkudega tabati hinku kõige rohkem Rannametsa ja Rame lahe proovipunktides (joonis 12). Mõlemad püügid langesid kokku kudemisajaga, millest tulenevalt võisid kalad olla tavapärasest suurema liikumisaktiivsusega. Nakkevõrguga saadud hinkude pikkus oli hinnanguliselt vahemikus 6-8 cm (joonis 13). Harju-Madise proovipunktis püüdsid hinku vaid kadiskad, muude püünistega hinku ei tabatud (joonised 11 ja 12).



Joonis 12. Hingu saagikus passiivsete püügivahenditega (isendite arv püünisöö kohta). \*Maimumõrraga püüti kahes kohas: Matsalu ja Kunnati lahtedes.



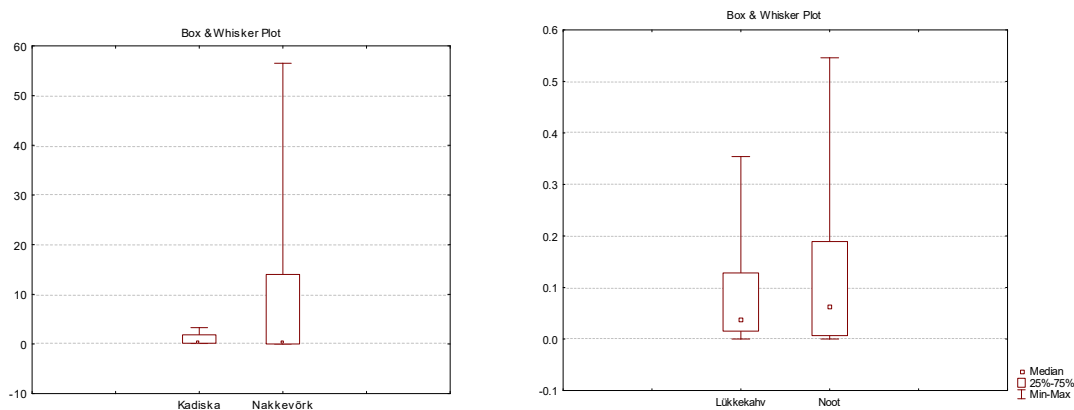
Joonis 13. 6,25 mm silmasammuga nakkevõrk ja sellest välja võetud hingud Rannametsa proovipunktis 10.05.2023. Fotod: L. Saks.



## Püügimetoodikate võrdlus

Hindamaks erinevate proovipunktide vahelist hingu saagikust kasutati mitteparameetriliste testide jaoks esmalt kogu valimit. Kogu valimit analüüsid ilmses, et proovipunktide lõikes erines keskmine hingu saagikus statistiliselt usaldusväärselt (Kruskal-Wallis ANOVA:  $H_{21,221}=160,4445$ ;  $p < 0,0001$ ). Samuti oli koha mõju statistiliselt oluline ka aktiivsete püüniste (lükkekahv, noot) kasutamise korral (Kruskal-Wallis ANOVA:  $H_{21,176}=137,7604$ ;  $p = 0,0001$ ).

Analüüsid erinevate püüniste tulemuslikkust hingu püügil (hingu püügiefektiivsust) võeti arvesse vaid nende kaheksa proovipunkti tulemusi, kus testpüükide käigus hingu tabati (tabel 2). Tulenevalt meetodika erinevustest aktiivsete (lükkekahv, noot) ja passiivsete püüniste (kadiska, nakkevõrk) pole nende omavaheline võrdlus (isendit pindalaühiku kohta võrrelduna isendit püünisöö kohta) korrektne. Eelnevalt tulenevalt võrreldi vaid lükkekahva püügiefektiivsust nooda püügiefektiivsuse ning nakkevõrgu püügiefektiivsust kadiska püügiefektiivsusega. Saagikuste võrdlemisel selgus, et nii kadiska ja nakkevõrgu (Wilcoxon Matched Pairs Test:  $Z=0,98$ ;  $p=0,367$ ;  $n=8$ ) kui ka nooda ja lükkekahva (Wilcoxon Matched Pairs Test:  $Z=0,51$ ;  $p=0,613$ ;  $n=8$ ; joonis 14) puhul nende keskväärtused statistiliselt usaldusväärselt ei erinenud.

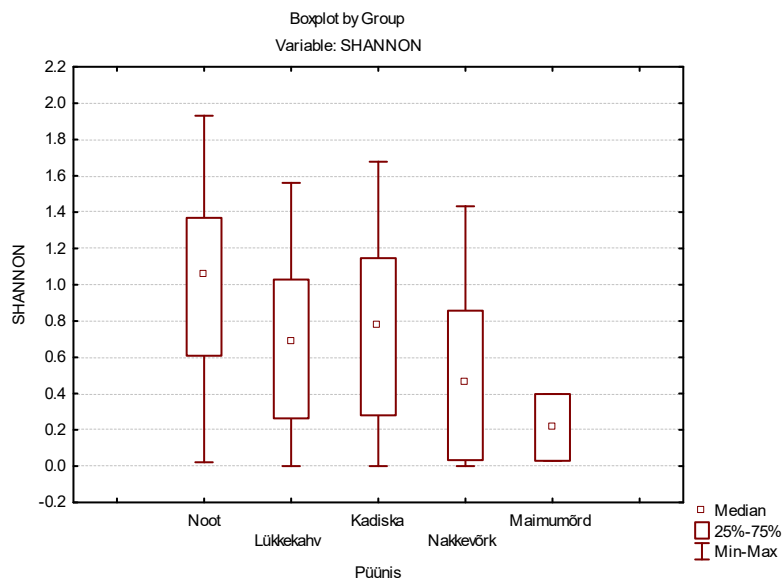


Joonis 14. Hingu püügiefektiivsust passiivsete ja aktiivsete püüniste rühmasiseses võrdluses.

Matsalu ja Kunnati lahtedes (joonis 1 ja tabel 1) kui hingu tuumikaladel püüti lisaks lükkekahvale, noodale, nakkevõrgule ning kadiskale ka maimumõrraga (joonised 3 ja 15). Nendes proovipunktides teostatud testpüükide liigilise koosseisu põhjal arvutati välja koosluste mitmekesisuse võrdlemiseks mõeldud *Shannon'*i indeks (Kruskal-Wallis ANOVA:  $H_{4,222}=28,16593$ ;  $p < 0,0001$ ), mille põhjal selgus, et liigiliselt kõige mitmekesisema saagiga püügivahendiks on noot, passiivsetest püünistest kadiska (joonis 16).



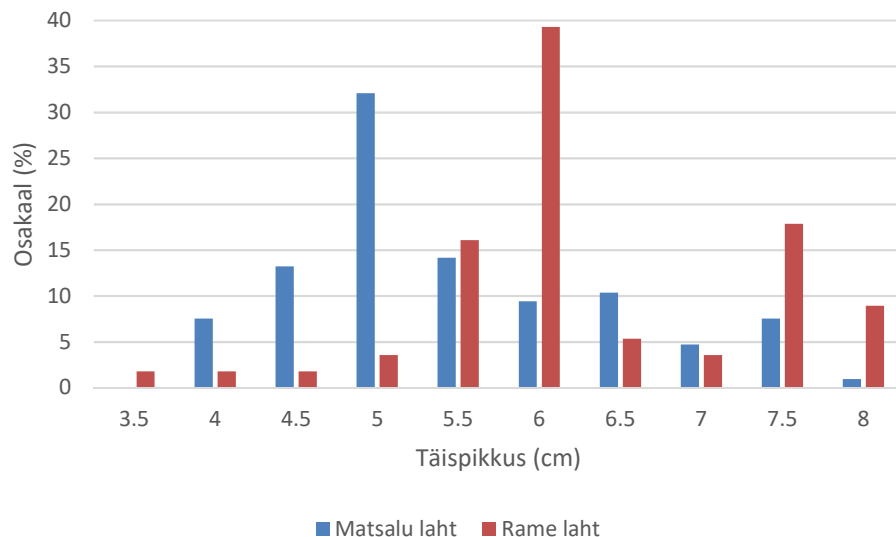
Joonis 15. Püügile asetatud maimumõrd Saaremaa kagurannikul Kunnati lahe proovipunktis Laevninal 10.07.2023. Foto: A. Albert.



Joonis 16. Shannon'i indeks püüniste kaupa üle kogu valimi.

Matsalu lahes (proovipunkt Keemus) ja Rame lahes (joonis 1 ja tabel 1) tabati välitööde käigus hinku kõige arvukamalt. Mõlemas nimetatud proovipunktis mõõdeti kõigi ühel noodatõmbel tabatud hinkude täispikkused. Vaatamata erinevusele tabatud hinkude pikkusjaotuses, olid mõlema uuritud piirkonna noodaloomuses esindatud kalad pikkusega 4-8 cm (joonis 17), mis näitab, et noot on hingu tabamisel väheselektiivne püügivahend.

Kasutatava püünise saagi suuruse ja koosseisu määravad kolm tingimust: 1) kalad peavad püünisega samal ajal ja samas kohas olema; 2) kalad peavad püünisega kokku puutuma ning 3) sellesse kinni jääma (Holst et al 1998). Kaks esimest tingimust sõltuvad kalade levialast ja käitumisest, mis tähendab, et määravaks on püügiaeg ning püügikoht. Kolmanda tingimuse puhul on oluline püünise ehitus.



Joonis 17. Hinkude pikkusjaotused Matsalu lahe (n=106) ja Rame lahe (n=56) noodaloomuses.

Käesoleva uuringu käigus läbi viidud testpüükides oli hingu tabatavus ja saagikus kõrgeim kevadsuvisel (mai-juuni) perioodil. Seda ilmselt seetõttu, et siis on kudemisperiood: suguküpsed isendid on aktiivsemad ning liiguvad rohkem, mida on näha ka Rame lahe nakkevõrgu saagist kui ka hinkude pikkuselise jaotusest noodasaagis. Kunnati lahes püüti juuli alguses ning saagikus oli eeldatust väiksem. Samas oli veetase väga kõrge, mis võis tulemust negatiivselt mõjutada. Nt Rannametsa proovipunktis oli veetase väga madal (joonis 18) ning saagikus kõrge, püügiaeg oli aga ka erinev: kevadel.

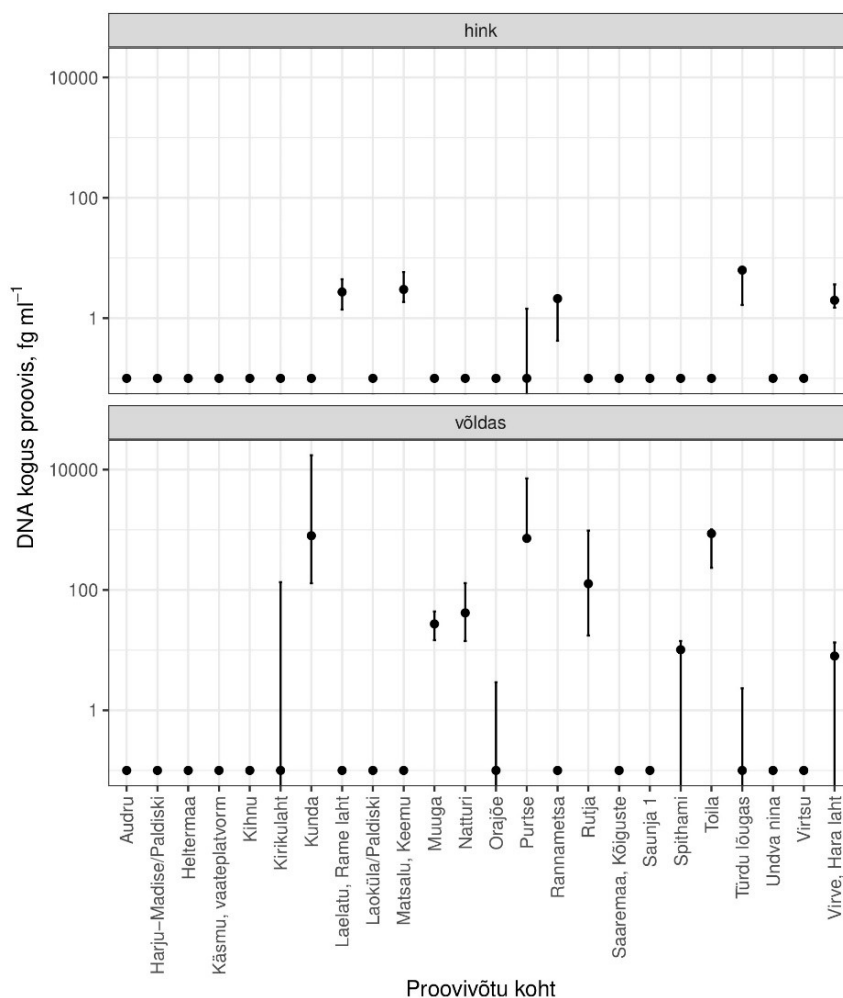


Joonis 18. Vaade Rannametsa proovipunktile õhust. Foto: L. Saks.

## Hingu ja võldase keskkonna-DNA olemasolu ja hulga määramine qPCR meetodika abil

Keskkonna-DNA proov võeti igas proovipunktis kolmes korduses. Kindel leid põhineb tulemuste mediaanil, kuivõrd aritmeetilist keskmist mõjutab tugevalt üksiku paralleeli näit. Kindel DNA leid tuvastati hingu puhul viies proovipunktis ja võldasel kaheksas proovipunktis (joonis 19 ja tabel 3). Võrreldes leitud liigispetsiifilise keskkonna-DNA koguseid, siis hingu DNAd tuvastati leiu korral kordades vähem kui võldase DNAd.

Hingu puhul oli võimalik hinnata kala DNA leidu veeproovis ja võrrelda seda püügitulemustega (saagikusega). Kuna keskkonna-DNA leiti vähematest kohtadest võrreldes ihtüoloogiliste meetoditega, siis uuriti, kas filtreeritava vee kogusel võib olla oma mõju, st kas väiksem vee kogus põhjustab keskkonna-DNA analüüsi ebatäpsust. Selleks kasutati üldistatud lineaarset mudelit (logistiline GLM) milles uuriti keskkonna-DNA proovi kogumiseks võetud vee koguse, tuvastatud leidude olemasolu/puudumise ning püükide saagikuse vahel. Hüpotees osutuski tõeseks, sest vee koguse ja tegeliku kalade saagikuse koosmõju oli statistiliselt oluliselt negatiivne (pseudo- $R^2=0.69$ ,  $\chi^2=10.7$ ,  $p=0.019$ ).



Joonis 19. Hingu ja võldase DNA kogused proovipunktides (mediaan koos 25% ja 75% usaldusintervallidega). Proovipunktid on toodud tähestikulises järjekorras.

Tabel 3. Hingu ja võldase DNA kogused proovipunktides. Leiud on märgitud poolpaksus kirjas.

| Proovi-punkt | Koht                          | Liik        | DNA koguse mediaan, fg/ml | CI 25%     | CI 75%     | Liik          | DNA koguse mediaan, fg/ml | CI 25%       | CI 75%         |
|--------------|-------------------------------|-------------|---------------------------|------------|------------|---------------|---------------------------|--------------|----------------|
| 1            | Saunja laht                   | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 2            | Orajõe                        | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 2.9            |
| 3            | Rannametsa                    | <b>hink</b> | <b>2.0</b>                | <b>0.4</b> | <b>2.2</b> | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 4            | Virtsu                        | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 5            | <b>Rame laht</b>              | <b>hink</b> | <b>2.6</b>                | <b>1.4</b> | <b>4.4</b> | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 6            | Kihnu (Laoba nina)            | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 7            | Audru polder                  | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 8            | Muuga laht                    | hink        | 0                         | 0          | 0          | <b>võldas</b> | <b>27.1</b>               | <b>14.6</b>  | <b>43.9</b>    |
| 9            | Heltermaa                     | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 10           | Reigi laht (Kirikulaht)       | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 134.9          |
| 11           | Harju-Madise                  | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 12           | Paldiski (Laoküla)            | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 13           | Spithami                      | hink        | 0                         | 0          | 0          | <b>võldas</b> | <b>10.1</b>               | <b>0.0</b>   | <b>14.1</b>    |
| 14           | Matsalu laht (Keemu)          | <b>hink</b> | <b>2.9</b>                | <b>1.9</b> | <b>5.9</b> | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 15           | Kunnati laht                  | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 16           | Käsnu laht                    | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 17           | Toila                         | hink        | 0                         | 0          | 1.4        | <b>võldas</b> | <b>865.6</b>              | <b>233.7</b> | <b>1014.0</b>  |
| 18           | Liimala/Purtse                | hink        | 0                         | 0          | 0          | <b>võldas</b> | <b>720.5</b>              | <b>637.6</b> | <b>7122.1</b>  |
| 19           | Rutja laht                    | hink        | 0                         | 0          | 0          | <b>võldas</b> | <b>126.8</b>              | <b>17.5</b>  | <b>971.2</b>   |
| 20           | Pedassaara laht (Natturi)     | hink        | 0                         | 0          | 0          | <b>võldas</b> | <b>41.5</b>               | <b>14.1</b>  | <b>130.2</b>   |
| 21           | Uudepanga laht (Türdu lõugas) | <b>hink</b> | <b>6.2</b>                | <b>1.7</b> | <b>7.1</b> | võldas        | 0                         | 0            | 2.3            |
| 22           | Undva                         | hink        | 0                         | 0          | 0          | võldas        | 0                         | 0            | 0              |
| 23           | Kunda                         | hink        | 0                         | 0          | 0          | <b>võldas</b> | <b>797.8</b>              | <b>128.9</b> | <b>17297.3</b> |
| 24           | Hara laht (Virve)             | <b>hink</b> | <b>1.9</b>                | <b>1.5</b> | <b>3.6</b> | <b>võldas</b> | <b>7.9</b>                | <b>0.0</b>   | <b>13.4</b>    |

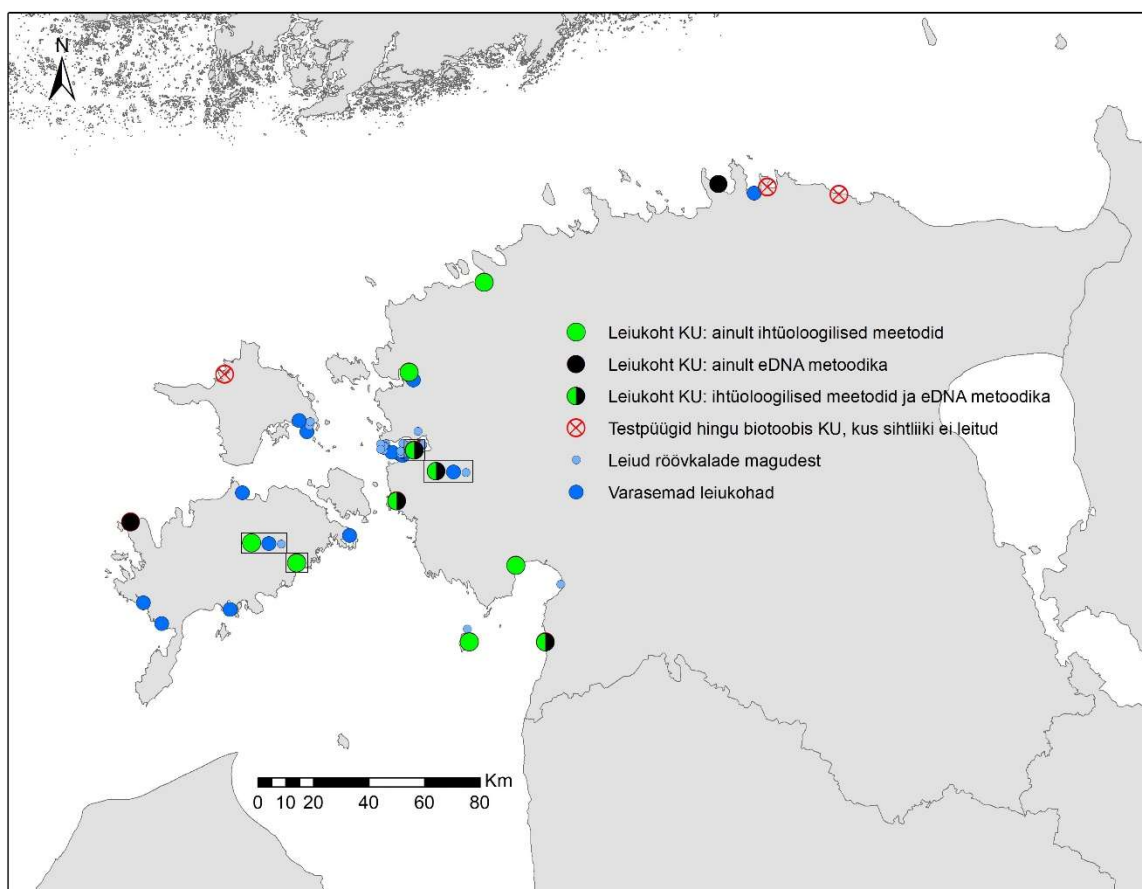
### **Hingu levik Eesti rannikumeres**

Alates 1995. a on hingu Eesti rannikumerest registreeritud peamiselt Lääne-Eestist: Matsalu ja Saunja lahest mandriosas, Soonlepa lahest Hiiumaa kaguosas ning mitmest kohast Saaremaalt (Parasmetsa laht, Arjulaht, Kunnati laht, Sepamaa laht, Möldri laht ja Pilguse laht), kuid ka Soome lahe keskosast Eru lahest (Eschbaum 2001, Rohtla et al 2021, Sinimets et al 2018, Taal et al 2017). Lisaks on hingu leitud ka Kihnu saare ümbrusest ja Pärnu lahe idaosast püütud röövkalade magudest (joonis 21).

Käesoleva uuringu käigus tabati hingu ihtüoloogiliste meetoditega kaheteistkümnest proovipunktist kaheksas (joonis 20). Nendest proovipunktidest kolm olid uuringueelselt hinnatud liigi tuumikalaks (Saunja laht, Matsalu laht ja Kunnati laht) ja viiel alal polnud hingu varem registreeritud. Nendeks olid Rannametsa sadama piirkond, Laoba nina Kihnu idarannikul, Audru polder Saulepa küla juures ja

Rame laht Liivi lahes ning Paldiski lahe kagunurk Harju-Madise küla juures Soome lahes (joonis 1, tabelid 1 ja 2). Kõigis proovipunktides, kust hinku tabati, esines või oli valdavaks substraadiks muda ning taimestiku katvus vähemalt 50%. Erandiks osutus Rannametsa proovipunkt, kus taimestiku katvus oli väiksem, aga seda eelkõige tingituna testpüükide aegselt idakaare tuultest tingitud väga madalast veetasemest. Perioodil prevaleerinud idakaare tuuled olid jätnud hingu elupaigaks sobiva kaldaäärse taimestikurikka vööndi kuivaks.

Mitmes proovipunktis, mis oleksid biotoobina võinud hingule elupaigaks sobida, näiteks Kirikulaht Hiiumaal, Käsmu lahe edelaosa, Rutja laht (joonis 21), hinku traditsiooniliste püügimeetodikatega ei registreeritud.



Joonis 20. Käesoleva uuringu (joonisel KU) käigus läbi viidud testpüükide tulemused hingule sobivates biotoopides ning liigi varasemad leiukohad.

Keskonna-DNA meetodika näitas hingu olemasolu viies proovipunktis (tabel 3 ja joonis 20). Rannametsa, Matsalu lahe ja Rame lahe proovipunktides tuvastati hink nii keskkonna-DNA meetodikaga kui ka tabati testpüükidega. Lisaks neile tuvastati hingu olemasolu keskkonna-DNA meetodikaga Uudepanga lahe Türdu lõuka veeproovist ning Hara lahe Virve proovipunktis. Samas ei näidanud keskkonna-DNA meetodika hingu olemasolu Saunja lahe, Kihnu, Audru poldri, Harju-Madise ega Kunnati lahe proovipunktides, kus ihtüoloogiliste meetoditega hinku tabati (tabel 2). See erisus näitab, et keskkonna-DNA meetodit tuleb veel edasi täiustada, eriti häguse veega

rannikualadel. Suurema läbilaskevõimega filtrite ja/või eelfiltrite kasutamine aitab tuvastada rohkem DNA-d ja seeläbi parandada ka meetodi tundlikkust.

Nii varasema info (Saks et al 2014) kui käesoleva uuringu tulemuste põhjal võib järeldada, et Eesti lääneosa rannikuvees esineb hink kogu ranniku ulatuses ning on kohati arvukas. Soome lahes leidub hinku sobivast biotoobist hoolimata vähearvukalt vaid üksikutes liigile sobivates elupaikades.



Joonis 21. Noodaloomuse sorteerimine Rutja proovipunktis 07.09.2023. Foto: A. Albert.

### ***Völdase levik Eesti rannikumeres***

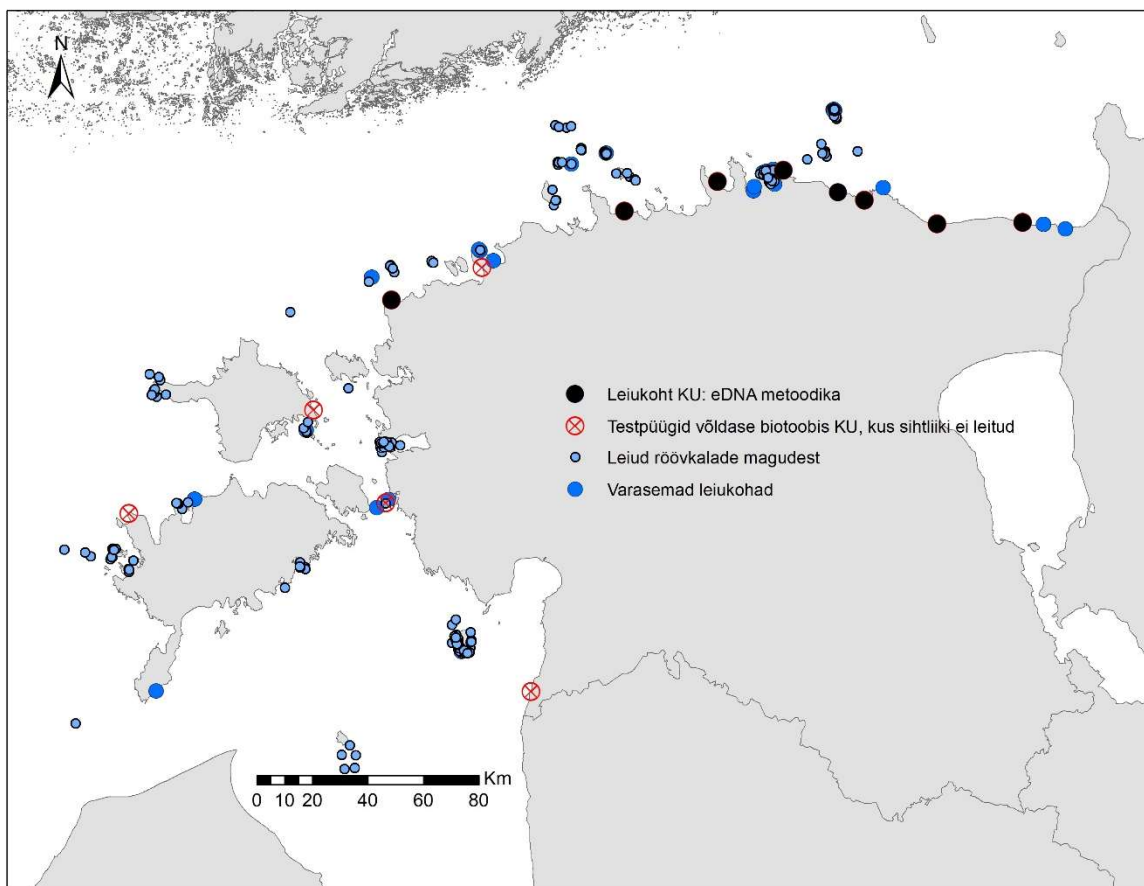
Völdast on võrreldes hinguga varasemate uuringute käigus Eesti rannikumerest mõnevõrra rohkem registreeritud. Eesti rannikumere läänepoolsest osast on võldast varasemalt registreeritud Liivi lahest Kihnu saare ümbrusest, Suurest väinast ning Läänemere avaosast Hiiumaalt Kõpu poolsaare lähedasest rannikuvetest, Saaremaa põhjarannikult ja Sõrve ps lõunaosast. Valdav osa Eesti rannikuvetest varasemalt registreeritud võldase leide pärinevad Soome lahest: Osmussaart ümbritsevatelt madalikelt, Lahepera lahest, Tallinna ja Kuradimuna madalatelt, Eru ja Käsmu lahest, Kunda lahe ja Sillamäe piirkonnast ning Vaindloo saare ümbrusest. Lisaks on võldast leitud röövkalade magudest veel praktiliselt üle terve Eesti territoriaalmere, va Liivi lahe mandriosa vetest (joonis 22).

Ehkki proovipunktid valiti lähtuvalt võldase elupaigaeelistusest, siis käesoleva uuringu käigus võldast ihtüoloogiliste testpüükide käigus ühegi kasutatud püügivahendiga ei tabatud. Tegemist on peidulise eluviisiga liigiga, keda on varem vähesel määral, tõenäoliselt juhuslikult, kaldanoodaga tabatud. Seega on seni parim saadaolev infoallikas olnud röövkalade toitumisanalüüs.

Soome lahe idapoolsetes (Kunda, Liimala, Toila) proovipunktides oli võldase DNA kogused kõige suuremad. Nendes proovipunktides ei saa täielikult välistada jõe mõju tulemustele: kõik kolm proovipunkti asusid võldase elupaigaks olevate jõgede (Kunda, Purtse ja Pühajõgi) (Järvekülg et al 2015, Taal et al 2021) suudmete läheduses. Samas need proovipunktid langesid kokku ka võldase teadaoleva levikuga meres (joonis 22).

Käesolev uuring näitas, et keskkonna-DNA meetodika on võrrelduna traditsioonilistema ihtüoloogiliste meetoditega võldase leviku tuvastamisel tulemuslikum. Võldas tuvastati keskkonna-DNA proovidest kokku kaheksas proovipunkti, mis kõik asusid Soome lahes: Spithami, Muuga, Virve, Natturi (joonis 23), Rutja, Kunda, Liimala ja Toila (joonis 22). Keskkonna-DNA tulemused näitavad, et valitud proovipunktide biotoobid olid siiski võldasele sobivad, hoolimata ihtüoloogiliste meetodite negatiivsest tulemusest.

Eelnev hinnang võldase leviku ulatuse kohta (Järvekülg et al 2015) ning käesolevas aruandes kirjeldatud varasemate uuringute tulemused näitavad, et võldas on hajusalt levinud kogu Eesti rannikumere ulatuses. Käesolev uuring näitas, et võldase tuumikpiirkonnaks on Soome lahe avatud rannik.



Joonis 22. Käesoleva uuringu (joonisel KU) käigus läbi viidud testpüükide tulemused võldasele sobivates biotoopides ning liigi varasemad leiukohad.





Joonis 23. Püügile asetatud nakkevõrgud ja kadiskad Soome lahes Natturi proovipunktis 09.09.2023. Foto: L. Saks.

### ***Teised tabatud kalaliigid ja kalakoosluste struktuur***

Käesoleva uuringu käigus läbi viidud testpüükidel registreeriti kokku 36 kalaliiki ja 1 sõõrsuu takson (tabel 4). Kõikides proovipunktides registreeriti ogalik (hinnanguliselt tabati kokku 62 000 isendit) ja luukarits (hinnanguliselt tabati kokku ca 2800 isendit). Nakkevõrgud olid ogalikest kohati üleküllastunud (joonis 24).

Teistest liikidest oli sagedasemad ümarmudil (ca 3900 isendit, tabati 20 proovipunktis) ja viidikas (ca 1700 isendit, tabati 17 proovipunktis). Kõike rohkem kalu tabati Harju-Madise proovipunktis, kus need 97% ulatuses olid ogalikud. Kõige vähem kalu tabati Kirikulahest Hiiumaal (154 isendit), kus 2/3 tabatud isenditest olid kiisad. Kõige liigirikkam proovipunkt oli Toila 16 kalaliigiga. Kõige liigivaesemad Muuga lahe (joonis 25), Heltermaa ja Kirikulahe proovipunktid kuue ning Paldiski (Laoküla) proovipunkt viie kalaliigiga. Võõrliikidest olid püükides esindatud hõbekoger (näiteks Kihnu proovipunktis; tabel 4 ja joonis 26), ümarmudil ja ida-lontmudil. Kinnitust sai trullingu esinemine Soome lahes (tabel 4).



Joonis 24. Ogalikest küllastunud nakkevõrk veest välja võttes ja kalade väljavõtmise ootel Heltermaa proovipunktis 09.06.2023. Fotod: K. Kurina.



Joonis 25. Lükkekahva peamiselt mudillastest koosneva loomuse sorteerimine Muuga proovipunktis 31.05.2023. Foto: A. Albert.

Võrdlemaks kalakoosluste struktuuri hingu ja võldase biotoopides kasutati kahe muutujaga analüüsi ANOSIM ning SIMPER (Clarke & Gorley 2015). Selgus, et kalakoosluste struktuur erines saakides nõrgalt, ent statistiliselt usaldusväärselt nii püüniseti (ANOSIM:  $R=0,105$ ,  $p=0,001$ ) kui elupaiguti (hingu vs. võldase elupaik) (ANOSIM:  $R=0,218$ ,  $p=0,001$ ).

Hingu elupaigas läbi viidud püükides registreeritud kalakooslused erinesid võldase biotoopides registreeritud kalakooslustest (*Bray-Curtis'*e erisusindeks 70,35) eelkõige kõrgema ogaliku, luukaritsa ja viidika osakaalu (st. ogalikud moodustasid hingu elupaigas suhteliselt suurema osa kogusaagist jne.) ning väiksema muude karplaste osakaalu poolest (nende rühmade varieeruvus moodustas vastavalt 33,0%, 12,5%, 9,1% ja 12,8% keskmisest erisusindeksi väärtusest).

Kui võrrelda erinevate püügivahendite saakides esinevat kalakoosluste struktuuri siis selgub, et noodasaagid erinesid lükkekahva saakidest (*Bray-Curtis'*e erisusindeks 69,14) enamasti kõrgema ogaliku, luukaritsa, muude karplaste, ümarmudila ja viidika osakaalu poolest (nende rühmade varieeruvus moodustas vastavalt 32,7%, 12,1%, 12,0%, 11,7% ja 9,3% keskmisest erisusindeksi väärtusest). Kadiskasaakidest erinesid noodasaagid aga (*Bray-Curtis'*e erisusindeks 69,45) madalama ogaliku, ümarmudila ja luukaritsa osakaalu poolest (nende rühmade varieeruvus moodustas vastavalt 40,7%, 17,9% ja 12,8% keskmisest erisusindeksi väärtusest).

Nakkevõrgusaakidest erinesid noodasaagid (*Bray-Curtis'*e erisusindeks 85,24) madalama ogaliku, viidika ja lepamaimu osakaalu poolest (nende rühmade varieeruvus moodustas vastavalt 56,9%, 9,7% ja 5,8% keskmisest erisusindeksi väärtusest).

Lükkekahvasaagid erinesid kadiskasaakidest (*Bray-Curtis'*e erisusindeks 78,88) enamasti madalama ogaliku, ümarmudila ja luukaritsa osakaaluga (nende rühmade varieeruvus moodustas vastavalt 38,5%, 22,1% ja 12,9% keskmisest erisusindeksi väärtusest) ning nakkevõrgusaakidest (*Bray-Curtis'*e erisusindeks 90,07) ogaliku, viidika ja lepamaimu osakaalu poolest (nende rühmade varieeruvus moodustas vastavalt 56,4%, 9,9% ja 6,3% keskmisest erisusindeksi väärtusest).

Kadiskasaakides oli nakkevõrgusaakidega võrreldes (*Bray-Curtis'*e erisusindeks 74,88) kõrgem ogaliku ja viidika, ent madalam luukaritsa osakaal (nende rühmade varieeruvus moodustas vastavalt 56,7%, 9,11% ja 5,77% keskmisest erisusindeksi väärtusest).

Käesolev uuring kinnitas, et erinevate kalaliikide tabamiseks on sobilikud erinevad meetodid. Mitmesuguste meetodite samaaegne kasutamine võimaldab tabada ka peidulise eluviisiga ja/või vähearvukaid kalaliike, nagu nt raudkiisk ja kirjumudil.

Tabel 4. Tabatud kalaliikide esinemine proovipunktides. 1 – Saunja laht, 2 – Orajõe, 3 – Rannametsa, 4 – Virtsu, 5 – Rame laht, 6 – Kihnu (Laoba nina), 7 – Audru polder, 8 – Muuga laht, 9 – Heltermaa, 10 – Kirikulaht, 11 – Harju-Madise, 12 – Paldiski (Laoküla), 13 – Spithami, 14 – Matsalu laht (Keemu), 15 – Kunnati/Kõiguste laht, 16 – Käsmu laht, 17 – Toila, 18 – Liimala. 19 – Rutja laht, 20 – Natturi, 21 – Uudepanga laht (Türdu lõugas), 22 – Undva. H – sihtliik hink, V – sihtliik võldas.

| Liik/Proovipunkt, sihtliik (H-hink, V-võldas) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | Kokku |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------|
|   | H | V | H | V | H | H | H | V | V | H  | H  | V  | V  | H  | H  | H  | V  | V  | H  | V  | H  | V  |       |
| Ahven   | + |   |   | + | + |   | + |   |   | +  | +  |    |    |    | +  |    | +  |    |    |    |    |    | 8     |
| Emakala                                       |   | + |   | + |   |   |   | + |   |    |    |    | +  |    |    |    | +  |    |    | +  |    | +  | 7     |
| Haug  |   |   |   |   |   |   |   |   |   | +  |    |    |    | +  | +  |    |    |    |    |    |    |    | 3     |
| Hink  | + |   | + |   | + | + | + |   |   |    | +  |    |    | +  | +  |    |    |    |    |    |    |    | 8     |
| Höbekoger                                     | + |   | + |   | + | + | + |   |   |    |    |    |    |    | +  | +  |    |    | +  | +  |    |    | 9     |
| Ida-lontmudil                                 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    | +  | +  | +  | +  |    |    | 4     |
| Kammeljas                                     |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | +  |    | 1     |
| Kiisk   | + |   |   |   |   |   |   |   |   | +  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2     |
| Kilu  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    | +  |    |    | +  | +  |    |    |    |    | 3     |
| Kirjumudil                                    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | +  | 1     |
| Latikas                                       | + |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    | +  |    |    |    | 2     |
| Lepamaim                                      |   |   | + | + |   |   |   |   |   |    |    |    | +  |    |    |    | +  | +  | +  | +  | +  | +  | 9     |
| Lest  |   | + |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | +  | +  | 3     |
| Linask  | + |   |   |   | + |   |   |   |   | +  |    |    |    |    |    | +  |    |    |    |    |    |    | 4     |
| Luukarits                                     | + | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | 22    |
| Madunõel                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | +  |    |    | 1     |
| Merinõel                                      |   |   |   | + |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1     |
| Meripühvel                                    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | +  | 1     |
| Must mudil                                    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    | +  |    |    |    |    |    |    |    | +  |    | 2     |
| Nurg  | + |   |   |   |   |   | + |   |   |    |    |    |    | +  |    |    |    |    |    |    |    |    | 1     |
| Ogalik  | + | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | 22    |
| Pisimudilake                                  |   | + | + | + | + |   | + | + |   | +  | +  | +  |    |    |    |    | +  | +  | +  | +  | +  | +  | 15    |
| Raudkiisk                                     |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    | +  |    |    |    |    |    |    |    |    | +  | 2     |
| Roosärg                                       | + |   |   |   | + | + |   |   |   |    |    |    |    | +  | +  |    | +  |    |    |    |    |    | 6     |
| Räim  |   | + |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    | +  | +  | +  | +  |    | +  | 6     |
| Rünt  | + | + | + |   | + |   |   |   |   | +  |    |    |    | +  |    | +  | +  | +  |    | +  |    |    | 10    |
| Silmuvastne                                   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    | +  |    |    |    |    |    | 1     |
| Suurtobias                                    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    | +  |    |    |    |    | 1     |
| Säinas  | + |   |   |   |   |   |   |   | + |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2     |

| Liik/Proovipunkt, sihtliik (H-hink, V-võldas) |                               | 1  | 2  | 3 | 4 | 5  | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | Kokku |
|---|-------------------------------|----|----|---|---|----|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------|
|   |                               | H  | V  | H | V | H  | H | H | V | V | H  | H  | V  | V  | H  | H  | H  | V  | V  | H  | V  | H  | V  |       |
| Särg  | <i>Rutilus rutilus</i>        | +  | +  |   |   | +  |   | + |   |   |    |    |    |    | +  | +  |    | +  |    |    |    |    |    | 7     |
| Teib  | <i>Leuciscus leuciscus</i>    |    | +  |   |   |    |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1     |
| Trulling                                      | <i>Barbatula barbatula</i>    |    |    |   |   |    |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    | +  |    |    |    | 1     |
| Turb  | <i>Squalius cephalus</i>      |    |    |   |   |    |   |   |   |   |    |    |    |    | +  |    |    |    |    |    |    |    |    | 1     |
| Viidikas                                      | <i>Alburnus alburnus</i>      | +  | +  | + | + | +  | + | + |   | + |    |    |    | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | 17    |
| Vimb  | <i>Vimba vimba</i>            |    |    |   |   |    |   |   |   |   |    |    |    |    | +  |    |    |    |    |    |    |    |    | 1     |
| Väike mudilake                                | <i>Pomatoschistus minutus</i> |    | +  |   |   |    |   |   | + |   |    | +  | +  | +  |    |    |    | +  | +  | +  | +  | +  | +  | 11    |
| Ümarmudil                                     | <i>Neogobius melanostomus</i> |    | +  | + | + | +  | + | + | + | + |    | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | 20    |
| Kokku   |                               | 14 | 12 | 9 | 9 | 10 | 9 | 9 | 6 | 6 | 6  | 8  | 5  | 10 | 13 | 10 | 7  | 16 | 12 | 12 | 13 | 10 | 12 | 36    |



Joonis 26. Noodaloomused Kihnu proovipunktis Laoba ninal 23.05.2023. Fotod: A. Albert.

## Soovitused sihtliikide seireks

Nii hingu, võldase kui teiste kalaliikide seireks kasutatav meetodika peaks olema võimalikult

- lihtne,
- väheletaalne sihtliikide suhtes,
- väheletaalne kaaspüügi suhtes ning
- vähedestruktiivne elupaiga suhtes.

### ***Ihtüoloogilised meetodid***

Käesoleva uuringu raames testiti 22-s proovipunktis kahte tüüpi aktiivseid püüniseid (kaldanoot ja lükkekahv) ning passiivseid lõkspüüniseid (kadiska ning nakkevõrk; joonis 27). Võldast ei tabatud ühegi testitud püügivahendiga.

Hinku tabati kõigi testitud püünistega, lisaks kahes proovipunktis testitud kolmandat tüüpi passiivse püünisega - maimumõrraga. Siinkohal käsitletaksegi ihtüoloogilisi proovivõtuvahendeid just hingupüügi vaatenurgast.

Uuringu tulemusena ilmnes, et testitud passiivsed lõkspüünised kadiska ja maimumõrd ei ole vaatamata vähesele selektiivsusele ning mitteletaalsusele siiski piisavalt suure püügiefektiivsusega (tabel 2 ja joonis 12).

Nakkevõrk on väga selektiivne passiivne püünis: tabatavate isendite suurus sõltub otseselt võrgusilma suurusest (Millar & Fryer 1999) ning on üldjuhul letaalne püügiviis (Perrow et al 2017). Ka käesolevas uuringus osutus kasutatud püünistest kõige selektiivsemaks 6.25 mm silmasammuga nakkevõrk, mis oma silmasuuruse poolest osutus sobivaks vaid täiskasvanud hinkude püüdmisel (joonis 13). Samuti võib nakkevõrguga püük olla väga töömahukas, kuna väikese silmasuurusega võrku jäävad kinni ogaliklased, mis võivad piisavalt suure arvukuse korral nakkevõrgu üleküllastada (joonis 25). Nakkevõrgu kiire üleküllastumise korral ei ole püügile asetatud püünisega konkreetsel püügiperioodil võimalik enam vähearvukamat sihtliiki tabada.

Käesolev uuring näitas, et passiivsetest püügivahenditest on hingu püügiefektiivsusest nakkevõrguga võrreldav kadiska nakkevõrgust oluliselt vähem töömahukas püügivahend (joonis 28). Hingu püüdmiseks võiks kadiskate jaoks kasutatava noodalina silmasammuks olla maksimaalselt 5 mm.

Kaldanoot on disainitud läbi sõeluma kogu veesamba, st püüab kinni nii põhjalähedases kui pinnakihis viibivad kalad. Samas vähendavad kaldanooda püügiefektiivsust kivid, taimestik ja heidised, kuhu noot võib nii takerduda kui need võivad ka püünise ummistada. Sõltuvalt nooda tõmbamise kiirusest võivad suuremad ja kiiremad kalad püünisest põgeneda. Kuivõrd hink on väikesemõõtmeline, siis tema tabamise tõenäosust noodaga, juhul kui hink selles proovivõtukoahas esineb, võib lugeda kõrgeks. Et kalad püünist ei väldiks, tuleks proovivõtt läbi viia hämaras või

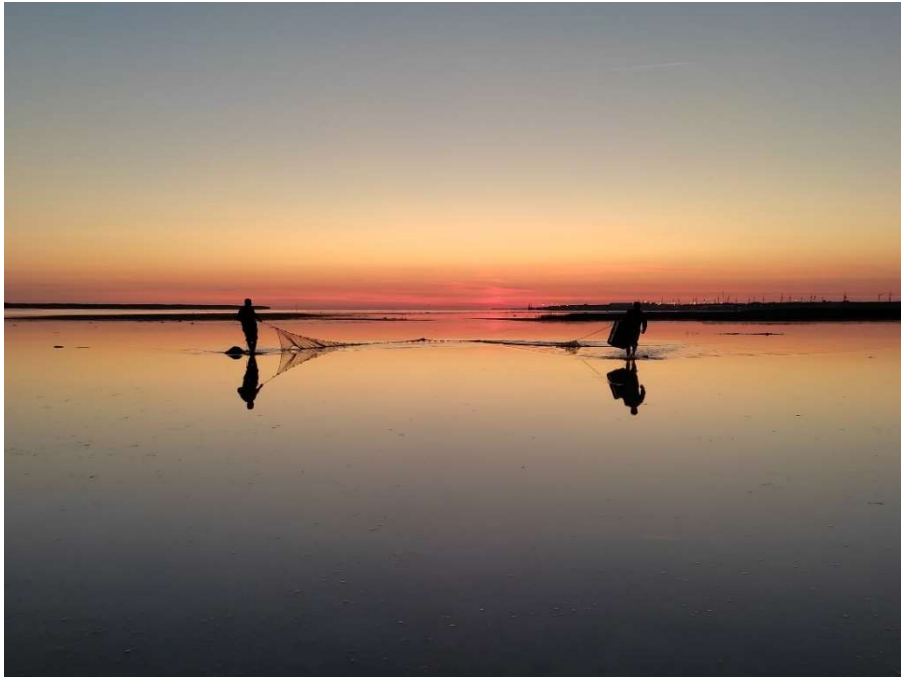
pimedas, mis ajaliselt langeb kokku kalade suurema ööpäevase aktiivsusega. Kaldanoodaga proovivõtuks on optimaalne arv kolm inimest, kus kaks tõmbavad noota (joonis 29) ja kolmas mõõdab kaldalt tõmbe alguspunkti kauguse ning dokumenteerib proovivõtuga seonduva info.



Joonis 27. Võrkude ja kadiskate väljavõtmine Spithami proovipunktis 14.06.2023. Foto: A. Albert.



Joonis 28. Kadiskate tühjendamine Undva proovipunktis 06.11.2023. Foto: A. Albert.



Joonis 29. Noodapüük Harju-Madise proovipunktis Pakri lahes 12.06.2023. Foto: A. Albert.

Teise testitud aktiivse püügivahendi – lükkekahva – püügiefektiivsus on noodaga võrreldes väiksem, kuivõrd lükkekahva eest suudavad kiiremad ja suuremad isendid veelgi suuremal määral pageda. Lükkekahva eeliseks kaldanooda ees on püügivõimekus kohtades, kuhu noodaga ligi ei pääse, nt kivivarede, kivide ja taimede vahel. Lisaks on lükkekahva võimalik opereerida ka ühe inimesega.

Testitud ihtüoloogilistest meetodikatest sobib seega hingu seireks kõige paremini väikese silmasuurusega päraosaga kaldanoot, kuna see on 1) vähemselektiivne ning 2) mitteletaalne püügiviis. Kui kasutada ilma alumise raskusketita noota, on mõju elupaigale vähene ja ajutine. Lükkekahva võib käesoleva uuringu tulemusena soovitada kui täiendavat proovivõtuvahendit kaldanoodale.

Kalu ajutiselt uimastavate püügiviiside näideteks on riimvees funktsioneeriv elektripüügi agregaat ja piiratud ulatusega lõhkelaengud (Lappalainen & Urho 2006), ent need ei pruugi olla põhjelaevuvisiga kalade puhul efektiivsed, kuna uimastatud kalade leidmine biotoobist on endiselt raskendatud.

## **Keskkonna-DNA**

Keskkonna-DNA meetodika eeliseks on selle vähene mõju sihtliigile ja kaaspüügile, samuti on mõju keskkonnale minimaalne. Puuduseks on see, et meetodika ei võimalda veel täpselt hinnata liikide arvukust seirepunktis. Käesoleva uuringu käigus registreeriti võldase keskkonna-DNA-d enamatest kohtades võrreldes hinguga ning mitmes proovipunktis, kus hingu füüsiliselt tabati, ei tuvastatud seda keskkonna-DNA meetodikaga.



Kuna hink eelistab elupaigana muda-liivapõhjaga alasid, mis on osaliselt taimestikuga kaetud, siis tulenevalt substraadist on vesi hägusem ning filter ummistub kiiresti. Võldase elupaigas on samas vesi läbipaistev ning proovi jaoks saab filtreerida suurema koguse vett, mis tähendab, et sihtliigi DNA kontsentratsioon filtris on tõenäoliselt suurem. Veesambast proovi võtmisel on uuemate uuringute tulemusel soovitatav läbi filtri kurnata (joonis 30) suurem kogus vett (Ogonowski et al 2023). Üks võimalus põhjalähedase eluviisiga kalade puhul võiks olla keskkonna-DNA proovi võtmine veesamba asemel sette ülemisest kihist. Kokkuvõttes tuleb keskkonna DNA meetodit edasi täiustada ja optimeerida, seda eriti just häguse veega rannikualadel. Samuti võib suurema läbilaskevõimega filtrite ja/või eelfiltrite kasutamine parandada meetodi tundlikkust.



Joonis 30. Rame lahe vee filtreerimine keskkonna-DNA proovi jaoks 16.05.2023. Foto: A. Albert.

### ***Seirealade ja proovipunktide valik***

Hingu seiret tuleks Eesti rannikumeres läbi viia kindlaksmääratud proovipunktides, võttes sisse nii tuumikalad kui teised tuvastatud esinemisega kohad üle rannikumere. Seireks valitakse selline püügikoht, kus proovivõtt annab usaldusväärse tulemuse (nt puuduvad hoovused, veealused takistused), st proovipunkti eelnevalt ette valmistama ei pea.

Käesoleva uuringu põhjal sobivad hingseirealadeks nt Saunja ja Matsalu laht Väinameres, Rame laht Liivi lahe põhjaosas, Kunnati laht Saaremaa kagurannikul ja Rannametsa piirkond Liivi lahe idarannikul. Matsalu lahes kuuluvad nii võldas kui hink sihtkaitstavate liikide hulka RT I, (22.03.2023, 21). Käesoleva uuringu tulemuste põhjal võiks sama meetet kasutada Puhtu-Laelatu looduskaitsealal asuvas Rame lahes (joonis 31), kuna antud veekogumi puhul on selgelt tegemist hingse tuumikalaga. Samas, hingse leviku täpsustamiseks oleks kindlasti otstarbekas igal seireperioodil läbi viia püüke

ja/või võtta keskkonna-DNA proove ka elupaigana potentsiaalselt sobivates piirkondades, kus varasemalt pole uuringuid läbi viidud/hingu esinemist kinnitatud.

Käesoleva uuringu andmetele tuginedes on merestrategia hindamisüksuseks, kus peaks tulevikus hingu seiret ja hindamist läbi viima, Liivi laht koos Väinameriga.



Joonis 31. Nakkevõrkude väljatoomine Rame lahe proovipunktis 17.05.2023. Foto: A. Albert.

Võldase seireks sobib avatud rannik (joonis 22), arvestades, et liik eelistab kivist ja kruusast põhja (Saat 2022). Kuivõrd käesoleva sihitud uuringu käigus ei tabatud ihtüoloogiliste meetoditega (joonis 32) ühtegi võldast, siis saadud tulemuste põhjal tuleks võldase seireks kasutada keskkonna-DNA meetodikat. Eelkõige peaks seiret läbi viima Eesti rannikumere piirkondades, kus varasemalt on liiki registreeritud. Kindlasti oleks soovitatav igal seireperioodil koguda lisaks keskkonna-DNA proove piirkondadest, kus varasemalt pole võldast registreeritud, eesmärgiga uuendada ülevaadet liigi levikut rannikumeres.

Käesoleva uuringu andmetele tuginedes on merestrategia hindamisüksuseks, kus peaks tulevikus võldase seiret ja hindamist läbi viima, Soome laht.

### ***Ajaline aspekt***

Tulenevalt käesoleva uuringu tulemustest tuleks hingu seiret viia läbi perioodil mai keskpaigast juuli keskpaigani, kui veetemperatuur on valdavalt üle 15°C. Mainitud ajavahemik peaks kattuma ka hingusigimisperioodiga Eestis ((Saat 2022); käesolev uuring), mil tavapäraselt peidulise eluviisiga kala on ihtüoloogiliste seiremeetoditega tõenäoliselt lihtsam tabada.

Käesoleva uuringu käigus ei õnnestunud võldast ihtüoloogiliste seiremeetoditega tabada. Samas, varasemad kalastiku uuringud, mille käigus on võldast tabatud, on läbi viidud ajavahemikul juulist oktoobrini. Seega kaudselt võib edaspidiseks võldase seireks soovitada nimetatud perioodi.

Uuringute andmetel on hingu ja võldase maksimaalne eluiga vastavalt seitse ja kümme aastat (Saat 2022). Kuna mõlema liigi puhul on tegemist paiksete kaladega, kel pole registreeritud ulatuslikke rändeid, siis kasutatav seirevälp ei tohiks olla rohkem kui kolm aastat (seire tuleks läbi viia vähemalt igal kolmandal aastal). Arvestades, et MSRD hindamisperiood on kuus aastat, on soovitatav isegi lühem seirevälp (nt kaks aastat).

Seireks tuleks valida selline periood, kus ilmastikutingimused (tuul, lainetus) püügi efektiivsust võimalikult vähe mõjutavad. Ihtüoloogiliste meetoditega on hingu seireks sobivaim aeg päikeseloojangust päikesetõusuni.

## **Proovi analüüs**

Käesoleva uuringu tulemused näitasid, et kui hingu seireks sobib kaldanoot koos keskkonna-DNA meetodikaga, siis peidulise eluviisiga võldase seireks on kasutatav vaid keskkonna-DNA meetodika. Järgnevalt on välja toodud erinevad proovianalüüsi juhendid seireks nii ihtüoloogiliste meetoditega kui keskkonna-DNA meetodikat kasutades.

## **Ihtüoloogilised meetodid**

Tabatud sihtliigi isendid tuleks loendada ning seejärel veekogusse tagasi lasta. Ülejäänud tabatud kalad tuleks määrata madalaima võimaliku taksonini, loendada või hinnata tabatud isendite arv/ligikaudne arvukus ning samuti võimalusel veekogusse tagasi lasta.

Proovivõtu protokollilehele tuleks märkida

- püünise nimetus ja parameetrid (silmasamm jms),
- proovivõtu kuupäev ja kellaaeg,
- proovivõtu koht ja koordinaadid,
- proovipunktis domineeriv veesamba sügavus ja substraat,
- veetemperatuur ja –soolsus,
- ilmastikutingimused,
- nooda puhul tõmbe pikkus ja laius (m), lükkekahva puhul lükke pikkus (m).
- tabatud sihtliigi isendite arv,
- teiste tabatud kalade liik ja isendite arv (kas loendatud või hinnatud).

Andmete võrdlemiseks tuleks arvutada sihtliigi saagikus vastavalt valitud püünisele: passiivsetel püünistel saagikus ühe püünisöö (püüniste arv x püügiööde arv) kohta; aktiivsetel saagikus m<sup>2</sup> kohta, kus noodatõmbe või kahvalükke pikkus korrutatakse laiusega ning saak jagatakse saadud ruutmeetrite arvuga. Populatsiooni struktuuri hindamise vajadusel on soovitatav mõõta tabatud

isendite üldpikkus vähemalt ühest noodatõmbest, misjärel saab kalad võimalusel tagasi veekogusse lasta.

### Keskkonna-DNA meetodika

Veeproov võtta vastavalt keskkonna-DNA proovivõtu protokollile (sõltub kasutatavast meetodikast).

Proovivõtu protokollilehele tuleks märkida

- proovivõtu kuupäev ja kellaaeg,
- proovivõtu koht ja koordinaadid,
- proovipunktis domineeriv veesamba sügavus ja substraat,
- veetemperatuur ja –soolsus,
- filtreeritud vee kogus,
- Ilmastikutingimused.

Veeproovid tuleb toimetada laborisse ja analüüsida vastavalt kasutatavale keskkonna-DNA meetodikale.



Joonis 32. Noodapüük Natturi proovipunktis 08.09.2023. Foto: A. Albert.

## Kasutatud allikad

- Anon. 2020. Eesti mereala seire ja andmekogumise programm perioodiks 2021-2026. Lisa keskkonnaministri 12.10.2020 käskkirjale nr 1-2/20/387 „Merestrategia seire ja andmekogumise programmi uuendamine“. Tallinn
- Clarke K, Gorley R. 2015. PRIMER version 7: User manual/tutorial. *PRIMER-E* 192
- Eschbaum R. 2001. Projekti Regional Implementation of the EEC Habitats Directive (92/43) and the EEC Birds Directive (79/409) in Läänemaa and Raplamaa Counties; Estonia, merealade kalastikku ja sõõrsuid puudutava osa aruanne Tartu Ülikooli Eesti mereinstituut, Tartu
- Eschbaum R, Špilev H, Jürgens K, Hommik K, Arula T, et al. 2024. Eest kalandussektori riikliku töökava täitmine 2022.-2024. aastal (riigihange viitenumbriga 240365). Töövõtulepingu nr 4-1/22/14 lõpparuanne 2023. aasta kohta. Osa: Rannikumere kalad, Tartu Ülikooli Eesti mereinstituut, Tartu
- Hempel CA, Peinert B, Beermann AJ, Elbrecht V, Macher J-N, et al. 2020. Using Environmental DNA to Monitor the Reintroduction Success of the Rhine Sculpin (*Cottus rhenanus*) in a Restored Stream. *Frontiers in Ecology and Evolution* 8
- Holst R, Madsen N, Moth-Poulsen T, Fonseca P, Campos A. 1998. Manual for GillNet Selectivity, European Commission
- Järvekülg R, Tambets M, Kärgerberg E, Thalfeldt M, Saks L. 2015. Võldase (*Cottus gobio*) kaitse tegevuskava eelnõu
- Kottelat M, Freyhof J. 2007. *Handbook of European Freshwater Fishes*. Publications Kottelat.
- Lappalainen A, Urho L. 2006. Young-of-the-year fish species composition in small coastal bay in the northern Baltic Sea, surveyed with beach seine and small underwater detonations. *Boreal Environment Research* 11: 431-40
- Longmire JL, Maltbie M, Baker RJ. 1997. Use of "Lysis Buffer" in DNA isolation and its implication for museum collections. *Occasional Papers / Museum of Texas Tech University* 163
- Millar RB, Fryer RJ. 1999. Estimating the size-selection curves of towed gears, traps, nets and hooks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9: 89-116
- Ogonowski M, Karlsson E, Vasemägi A, Sundin J, Bohman P, Sundblad G. 2023. Temperature moderates eDNA–biomass relationships in northern pike. *Environmental DNA* 5: 750-65
- Peixoto S, Chaves C, Velo-Antón G, Beja P, Egeter B. 2021. Species detection from aquatic eDNA: Assessing the importance of capture methods. *Environmental DNA* 3: 435-48
- Perrow MR, Winfield IJ, Tomlinson ML, Harwood AJ. 2017. Designing a methodology for surveying fish populations in freshwater lakes 1783544074, Natural England, York
- Rohtla M, Svirgsden R, Vetemaa M. 2021. Otoliiidi mikrokeemia meetodite kasutamine kalade täiendi tekkimise uurimisel. Teostatud projekti "Eesti mereala keskkonna ja loodusväärtuste hindamise ja seire innovaatilised lahendused" raames. Leping: RITA1/02-60-07, Tartu Ülikool, Eesti mereinstituut, Tartu/Storebø
- Saat T. 2022. *Eesti kalad*. Tartu Ülikooli Kalanduse teabekeskus. 294 pp.
- Saks L, Eschbaum R, Jürgens K, Källo K, Taal I. 2018. Väheväärtuslike kalaliikide ja võõrliikide efektiivse väljapüügi meetodika analüüs. Käsunduslepingu 4-1/17/162 lõpparuanne, Tartu Ülikooli Eesti Mereinstituut, Tartu
- Saks L, Kärgerberg E, Tambets M. 2014. Hingu *Cobitis taenia* kaitse tegevuskava eelnõu

- Sinimets A, Pihu R, Järvekülg O, Pensa L, Lauringson G, et al. 2018. Hingu, võldase ja vingerja leviku täpsustamine 2017-2018. Lepingu aruanne, Eesti Maaülikool, Eesti Loodushoiu Keskus MTÜ
- Taal I, Kesler M, Svirgsden R. 2021. Purtsse jõestiku lõhe, forelli, harjuse ja jõesilmu koelmualade kvaliteedi hinnang, Tartu Ülikooli Eesti mereinstituut, Tartu
- Taal I, Saks L, Rohtla M, Jürgens K, Svirgsden R, et al. 2017. Diel changes in the fish assemblage in a coastal Surf-zone area in the Eastern Baltic Sea. *Boreal Environment Research* 22: 83-96
- Torn K, Martin G. 2018. EL merestrateegia raamdirektiivi (2008/56/EÜ) kohane merekeskkonna seisundihinnang teemadel bioloogiline mitmekesisus, toiduvõrgud ning merepõhja ja veesamba kooslused (D1, D4 ja D6). Merekeskkonna seisundihinnangu, teemadel bioloogiline mitmekesisus ning merepõhja ja veesamba kooslused (MSRD tunnused 1, 4 ja 6), koostamine ja Läänemere holistilise hinnangu koostamise teemavaldkondliku sidususe tagamine osaledes projektis HOLAS II lõpparuande osa, TÜ Eesti Mereinstituut, Tallinn
- Truuverk A, Taal I, Eschbaum R, Albert A, Verliin A, et al. 2021. Molecular analysis reveals the invasion of eastern tubenose goby *Proterorhinus nasalis* De Filippi, 1863 (Perciformes: Gobiidae) into the Baltic Sea. *BioInvasions Record* 10
- Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL. 2012. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics* 13: 134