



**EMÜ VETERINAARMEDITSIINI JA LOOMAKASVATUSE INSTITUUT**  
**Vesiviljeluse õppetool**

Keskkonnaministeeriumi töövõtulepingu 4-1/21/64

2021. aasta aruanne

**KALADE TAASTOOTMISE ALASED GENEETIKAUURINGUD 2021. AASTAL**

**Vastutav täitja Riho Gross**

Tartu, 2022

# Sisukord

<b>Lepingu lähteülesanne 2021 .....</b>	<b>3</b>
<b>Sissejuhatus.....</b>	<b>4</b>
<b>Kasutatud mõisted .....</b>	<b>5</b>
<b>1. RMK Põlula Kalakasvanduses peetavate Kunda ja Pärnu/Daugava jõgede päritolu lõhe ning Pärnu poolsiirdesiia sugu- ja asenduskarjade geneetiline mitmekesisus .....</b>	<b>7</b>
1.1. <i>Kunda jõe päritolu lõhe sugu- ja asenduskarja geneetiline mitmekesisus ning asenduskalade soo määramine Y-kromosoomi spetsiifilise markeri alusel .....</i>	<i>7</i>
1.2. <i>Daugava jõe päritolu lõhe sugu- ja asenduskarja geneetiline mitmekesisus ning asenduskarja kalade täis- ja poolõveperekondadesse määramine .....</i>	<i>11</i>
1.3. <i>Pärnu poolsiirdesiia sugu- ja asenduskarja geneetiline mitmekesisus .....</i>	<i>14</i>
1.4. <i>Soovitused geenipankade edaspidiseks arendamiseks .....</i>	<i>18</i>
<b>2. RMK Põlula Kalakasvanduse Kunda lõhe sugukarja geneetilise mitmekesistamise eesmärgil 2021. aastal Kunda jõest püütud sugukalade ja kääbusisaste geneetilise mitmekesisuse ja kvaliteedi analüüs .....</b>	<b>22</b>
<b>3. RMK Põlula Kalakasvanduse Daugava/Pärnu päritolu lõhe sugukarja geneetilise mitmekesistamise eesmärgil 2021. aastal Pärnu jõest püütud lõhe sugukalade geneetilised iseärasused .....</b>	<b>25</b>
<b>4. Pärnu jõest 2021.a. püütud hõredapiilise siirdesiia sugukalade geneetilised iseärasused .....</b>	<b>28</b>
<b>5. Peipsi järvest 2021. a. püütud siia sugukalade geneetilised iseärasused .....</b>	<b>30</b>
<b>6. Mereskudeva siia 2021. a. püütud sugukalade geneetilised iseärasused .....</b>	<b>32</b>
<b>7. Pärnu jõkke asustatavate lõhe ja siirdesiia noorkalade (maimud või 0+ kalad) kvaliteedi ja geneetilise muutlikkuse taseme hindamine .....</b>	<b>35</b>
7.1. <i>Pärnu jõkke asustatavate lõhe noorkalade kvaliteet ja geneetiline muutlikkus .....</i>	<i>35</i>
7.2. <i>Pärnu jõkke asustatavate siirdesiia noorkalade kvaliteet ja geneetiline muutlikkus .....</i>	<i>36</i>
<b>Kokkuvõte.....</b>	<b>39</b>
<b>Kasutatud kirjandus .....</b>	<b>46</b>
<b>Lisa 1. Kunda lõhe asenduskarja 2021. a. kiibistatud 3+ kalade geneetilise puhtuse ja genotüübilise soo määramise tulemused .....</b>	<b>47</b>
<b>Lisa 2. Daugava lõhe asenduskarja 2021. a. kiibistatud 3+ kalade geneetilise puhtuse ja genotüübilise soo määramise tulemused .....</b>	<b>49</b>

# Lepingu lähteülesanne 2021

„Kalade taastootmise alased uuringud 2021. aastal“

## Tööde kirjeldus

3.1. RMK Põlula Kalakasvanduses (edaspidi *PKK*) peetavate Kunda ja Pärnu/Daugava jõgede päritolu lõhe ja Pärnu hõredapiilise siia asenduskarjade põhjal:

3.1.1 Analüüsitakse Kunda jõe päritolu lõhe asenduskarjas 17 DNA mikrosatelliitmarkeriga ca 140 lõhe proovi ja teostatakse neile soo määramine Y-kromosoomi spetsiifilise markeri alusel.

3.1.2 Analüüsitakse Daugava päritolu lõhe asenduskarjas 17 DNA mikrosatelliitmarkeriga ca 290 lõhe proovi ja teostatakse nende täis- ja poolõveperekondadesse määramine.

3.1.3 Analüüsitakse Pärnu poolsiirdesiia asenduskarjas 12 DNA mikrosatelliitmarkeriga ca 55 siia proovi.

3.1.4 Esitatakse konkreetsed soovitused geenipankade edaspidiseks arendamiseks ja lõhe puhul soovitused Kunda päritolu karja suuruse vähendamiseks. Tehakse ettepanekud geneetilisel mitmesobivate (nt triploidsete kalade) ja lähisuguluses isendite sugu- ja asenduskarjast väljaprakeerimiseks ja kalade ristamisskeemi koostamiseks.

3.2. Analüüsitakse 17 DNA mikrosatelliitmarkeri osas algupärase lõhe asurkonnast (Kunda, Keila või Vasalemma) ca 50 isase niisa sobivust krüoge enipanka ja antakse hinnang nende geneetilisele mitmekesisusele ja kvaliteedile (liigiline puhtus ja triploidsete kalade esinemine/puudumine).

3.3. Analüüsitakse *PKK* Kunda päritolu lõhe sugukarja geneetilise mitmekesistamise eesmärgil 2021. aastal Kunda jõest püütavaid sugukalaid 17 DNA mikrosatelliitmarkeri osas (kuni 75 proovi). Analüüsiks vajaliku kala püügid korraldab *PKK*.

3.4. Analüüsitakse *PKK* harjuse karja geneetilise mitmekesistamise eesmärgil 2021. aastal loodusest (Kunda jõest või mujalt) püütavaid harjuse sugukalaid (kokku ca 30 proovi) 12 DNA mikrosatelliitmarkeriga. Analüüsiks vajaliku kala püügid korraldab *PKK*.

3.5. Analüüsitakse *PKK* Pärnu päritolu lõhe sugukarja geneetilise mitmekesistamise eesmärgil 2021. aastal Pärnu jõest püütavaid lõhe sugukalaid 17 DNA mikrosatelliitmarkeri põhjal (kuni 30 proovi). Analüüsiks vajaliku kala püügid korraldab *PKK*.

3.6. Analüüsitakse Pärnu jõest püütavate hõredapiilise siirdesiia sugukalade (ca 50 proovi) geneetilisi iseärasusi 12 DNA mikrosatelliitmarkeri põhjal. Analüüsiks vajaliku kala püügid korraldab *PKK*.

3.7. Analüüsitakse Peipsi järvest ja/või Hiiumaa rannavetest püütavate siia sugukalade (kokku ca 100 proovi) geneetilisi iseärasusi 12 DNA mikrosatelliitmarkeri põhjal. Analüüsiks vajaliku kala püügid korraldab *PKK*.

3.8. Analüüsitakse Pärnu jõkke asustatavate lõhe ja siirdesiia noorkalade (maimud või 0+ kalad) kvaliteeti ja geneetilise muutlikkuse taset, et hinnata väikese arvu sugukalade kasutamisest tulenevat ohtu Pärnu jõe lõhe- ja siiapopulatsioonide genofondile.

3.8.1 Analüüsitakse Pärnu jõkke asustatavaid lõhe noorkalaid 17 DNA mikrosatelliitmarkeri põhjal (ca 50 proovi).

3.8.2 Analüüsitakse Pärnu jõkke asustatavaid Pärnu poolsiirdesiia noorkalaid 12 DNA mikrosatelliitmarkeri põhjal (ca 50 proovi).

3.9. Antakse Keskkonnaministeeriumile konsultatsioone riikliku taastootmise tegevuskava alusel kasvandustes loodavate kalade sugukarjade geneetilise päritolu ja mitmekesisuse aspektist lähtuvalt.

## Sissejuhatus

2021. aasta aruanne on osa 1995. aastal alanud pikaajalisest EMÜ VLI vesiviljeluse õppetooli koostööst Keskkonnaministeeriumi ja RMK Põlula kalakasvatustalitusega (varem Põlula Kalakasvatustakeskus ja RMK Põlula kalakasvatuseosakond), mille eesmärgiks on kalade taastootmise alaste uuringute teostamine vastavalt lepingus püstitatud lähteülesandele (vt. lk. 3).

Lepingu raames saime 2021. a. RMK Põlula kalakasvandusest (edapidi PKK) geneetiliseks analüüsiks kokku 928 kala koeproovid, s.h. 70 Kunda lõhe sugukarja asenduskala (koorunud 2018), 318 Daugava lõhe sugukarja asenduskala (koorunud 2018), 80 Kunda jõest püütud lõhe sugukala ja kääbusisast, 13 Pärnu jõest püütud lõhe sugukala, 54 Pärnu jõkke asustatud lõhe noorkala (koorunud 2021), 107 Pärnu siirdesiia sugukarja asenduskala (50 tk. koorunud 2018 ja 57 tk. koorunud 2019), 117 Pärnu jõest püütud siirdesiia sugukala, 54 Pärnu jõkke asustatud siirdesiia noorkala (koorunud 2021), 104 Peipsi järvest püütud siia sugukala ja 11 meres kudeva siia (Madise punkt Soome lahes) sugukala. Lisaks saime TÜ Eesti Mereinstituudist võrdluseks 72 meres kudeva siia sugukala koeproovid. Kokku määrati mikrosatelliitmarkerite genotüübid 1000 kalal, sealhulgas 535 lõhel ja 465 siial.

Lähteülesande punkte 3.2 ja 3.4 ei olnud võimalik täita, kuna PKK ei kogunud 2021. aastal algupärase lõhe asurkonnast (Kunda, Keila või Vasalemma) isasteltsügavkülmutamiseks niiska ning ei püüdnud loodusest harjuse sugukalaid.

Lepingu aruande koostas EMÜ vesiviljeluse õppetooli juht, professor Riho Gross. Laboratoorsed geneetilised analüüsid teostas EMÜ vesiviljeluse õppetooli nooremteadur Oksana Burimski. Andmeanalüüsi teostasid Riho Gross ja EMÜ vesiviljeluse õppetooli vanemteadur Anti Vasemägi. Lepingu täitjad tänavad Kunnar Klaasi, Ene Saadret ja Küllike Ederit PKK-st ning Martin Keslerit, Lauri Saksa ja Heli Špilevit TÜ Eesti Mereinstituudist abi eest koeproovide ja algandmete kogumisel.

## Kasutatud mõisted

**Populatsioon ehk asurkond** - ühte liiki kuuluvate isendite kogum, mida ühendab ühine päritolu ning sarnane genofond ja mis on naaberpopulatsioonist suhteliselt isoleeritud geograafiliste barjääride või käitumuslike iseärasuste jt. ristumisbarjääri tekitavate tegurite kaudu. Populatsiooni olulisteks tunnusteks on ajaline püsivus ja isendite vaba ristumine (random mating) ehk panmiksia, mis tagab sama populatsiooni isendite sarnasuse.

**Geneetiline marker** - geen või mingi muu DNA fragment, millel on kergesti identifitseeritav fenotüüp ja mille pärandumist on võimalik kindlaks teha.

**Mikrosatelliitse DNA markerid ehk mikrosatelliidid** - DNA järjestused, mis koosnevad tandeemselt korduvatest ühe kuni kuue nukleotiidi pikkustest motiividest. Tandeemsete korduste arv on seejuures väga varieeruv, moodustades erineva pikkusega (aluspaaride arvuga) allele. Olenevalt korduste struktuurist võib mikrosatelliite jagada: mono-, di-, tri-, tetranukleotiidseteks jne.

**Lookus** - mingil viisil (hrl. alleelse muutlikkuse järgi) iseloomustatav (identifitseeritav) kromosoomi või DNA-molekuli lõik, milles paikneb kindel geen (geenilookus) või mis tahes muu eristatav nukleotiidjärjestus (geneetilise markeri lookus).

**Alleel** - geeniteisend, geeni esinemisvorm; üks kahest või mitmest alternatiivsest geenivariandist, mis erinevad nukleotiidide järjestuse ja sageli ka funktsiooni poolest; laiemas tähenduses: mis tahes genoomse lookuse (näit. geneetilise markeri) alternatiivne vorm, mida iseloomustab unikaalne nukleotiidne järjestus. **Alleelide keskmine arv markerlookuses (A)** ja selle valimi suurusele korrigeeritud väärtus, **alleelirohkus (A<sub>i</sub>)**, on üks näitaja, mis iseloomustab populatsiooni geneetilist muutlikkust (vt. ka heterosügootsus).

**Genotüüp** - indiviidi geneetiliste lookuste alleelne koosseis; diploidsetel organismidel eristatakse iga geeni suhtes **homosügootset genotüüpi** (indiviid pärrib mõlemalt vanemalt sama geenivariandi või geneetilise markeri nukleotiidse järjestuse ehk alleeli, nt AA või BB) ja **heterosügootset genotüüpi** (indiviid pärrib kummaltki vanemalt erineva alleeli, nt AB).

**Hardy-Weinbergi seadus** – populatsiooni geneetilise tasakaalu seadus: suures, vabalt ristuvast populatsioonis püsivad alleeli – ja genotüübisagedused põlvkonniti muutumatuna, kui neid ei muuda mingid evolutsioonitegurid (valik, mutatsioonid, migratsioon, juhuslik geenitriiv).

**Heterosügootsus (H)** - heterosügootsete isendite proportsioon populatsioonis. Kasutatakse populatsiooni geneetilise muutlikkuse hindamiseks. Heterosügootsuse all mõistetakse ka indiviidi genotüübi seisundit, kus homologiliste kromosoomide samas lookuses (või mitmes vaatlusaluses lookuses) asuvad ühe geeni erinevad alleelid. **Oodatav heterosügootsus (H<sub>e</sub>)** – arvutatakse markerlookuste alleelisageduste põhjal ja näitab tõenäosust, et indiviid on heterosügootne uuritava(te)s lookus(t)es. **Tegelik heterosügootsus (H<sub>o</sub>)** - uuritava(te)s lookus(t)es heterosügootse genotüübiga isendite tegelik (vaadeldud) proportsioon populatsioonis.

**Inbriiding ehk suguluspaaritus** - populatsiooni keskmisest lähemas suguluses isendite paaritamine. Inbriiding suurendab populatsiooni keskmist homosügootsust, st suurendab homosügootsete genotüüpide sagedust (ja vastavalt vähendab heterosügootsete genotüüpide sagedust), kuid ei muuda alleelide sagedust.

**Inbriidingukoefitsient ( $F$ )** - vanemate geneetilisest sugulusest tingitud homosügootsuse suurenemise tõenäosus järglastel võrreldes lähtepopulatsiooniga. Kui iseviljastamisel on  $F$  väärtus 0,5, siis vanema ja järglase või õe ja venna paaritamisel 0,25 ning poolõe ja -venna paaritamisel 0,125. Geneetilisi markereid kasutades hinnatakse inbriidingukoefitsienti Wrighti  $F$ -statistiku  $F_{IS}$  abil, mis leitakse populatsiooni oodatava ja tegeliku heterosügootsuse vahe suhtena oodatavasse heterosügootsusesse ning mille väärtus võib olla vahemikus -1 kuni 1.  $F_{IS}$  negatiivne väärtus näitab autbriidingut, positiivne väärtus näitab inbriidingut ja  $F_{IS}=0$  näitab isendite juhuslikku paarumist ja genotüübisageduste vastavust Hardy-Weinbergi tasakaaluseadusele. Ohustatud kalaliikide taastootmisel peaks eesmärk olema hoida summaarne  $F_{IS} \leq 0.05$  ja  $F_{IS}$  lubatav väärtus põlvkonna kohta sõltub taastootmisprogrammi planeeritud ajalisest kestusest ehk põlvkondade koguarvust taastootmisprogrammis (näit. kui taastootmisprogrammi kestuseks on planeeritud 10 põlvkonda, siis  $F_{IS}$  lubatav väärtus ühe põlvkonna kohta on kuni 0.005).

**Fikseerumisindeks  $F_{ST}$**  – populatsioonide geneetilise diferentseerituse näitaja, mis iseloomustab populatsioonide või aastaklasside vahelistest erinevustest tingitud geneetilise variatsiooni proportsiooni kogu geneetilises variatsioonis.  $F_{ST}$  leitakse geneetiliste markerite (näit. mikrosatelliitide) lookuste alleelisageduste dispersiooni põhjal ja selle väärtused võivad olla vahemikus 0 kuni 1, kusjuures väärtus 0 näitab isendite täielikku vaba paarumist ehk panmiksiat (diferentseerumine puudub) ja väärtus 1 näitab kahe populatsiooni isendite täielikku isoleeritust ja ühise geneetilise diversiteedi puudumist (täielik diferentseerumine). Tegelikult sõltub  $F_{ST}$  indeksi võimalik maksimaalne väärtus selle hindamiseks kasutatud geneetilise markeri polümorfisusest ehk võimalike erinevate alleelide koguarvust lookuses ja kõrge polümorfisusega markeritel (näit. mikrosatelliitidel) on see alati madalam kui 1. Vastavalt  $F_{ST}$  indeksi väärtusele on populatsioonide diferentseerituse taset interpreteeritud ka kategooriatena, näit. Hartl & Clark (1997) järgi:

- < 0.05 = vähene/madal geneetiline diferentseeritus
- 0.05 - 0.15 = mõõdukas geneetiline diferentseeritus
- 0.15 - 0.25 = tugev geneetiline diferentseeritus
- > 0.25 = väga tugev geneetiline diferentseeritus.

# **1. RMK Põlula Kalakasvanduses peetavate Kunda ja Pärnu/Daugava jõgede päritolu lõhe ning Pärnu poolsiirdesiia sugu- ja asenduskarjade geneetiline mitmekesisus**

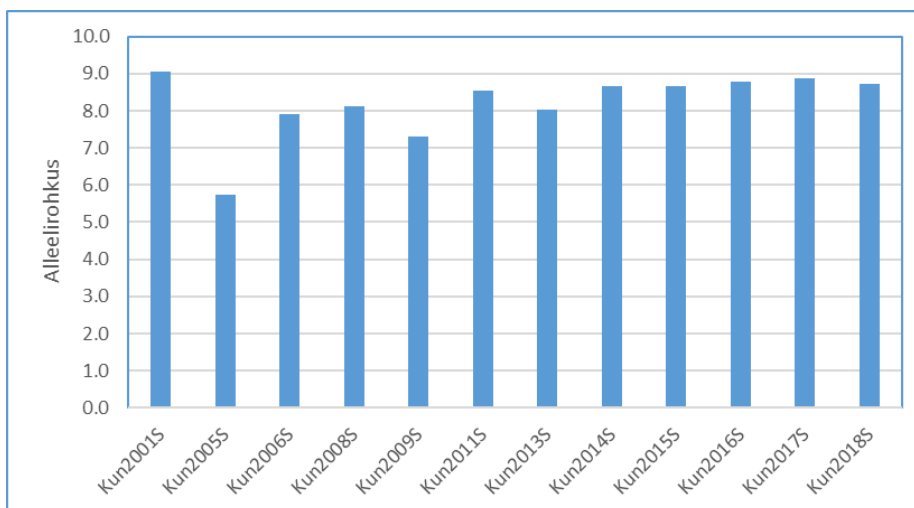
## ***1.1. Kunda jõe päritolu lõhe sugu- ja asenduskarja geneetiline mitmekesisus ning asenduskalade soo määramine Y-kromosoomi spetsiifilise markeri alusel***

Kunda lõhe sugukarja ja asenduskarja (samuti ka peatükkides 1.2, 2, 3 ja 7.1 analüüsitud lõhede) genofondi seireks kasutasime 17-st mikrosatelliidilookusest koosnevat DNA markerite paneeli, mida kasutavad ka Soome Looduslike ressursside instituudi (LUKE) uurijad. Mikrosatelliitmarkerite laboratoorse analüüsi meetodika on täpsemalt kirjeldatud artiklis Ozerov et al. (2016). Geneetilist muutlikkust iseloomustati kõigi uuritud markerilookuste keskmise tegeliku ja teoreetiliselt oodatava heterosügootsusena (vastavalt  $H_o$  ja  $H_e$ ) ning markerilookustes esinevate erinevate DNA järjestuste ehk alleelide keskmise arvuna ( $A$ ) ja selle valimi suurusele korrigeeritud väärtusena ehk alleelirohkusena ( $A_r$ ). Sugu- ja asenduskarja aastaklasside geneetilist diferentseeritust hinnati indeksi  $F_{ST}$  põhjal. Lähisuguluspaaritustest (õde-vend, vanem-järglane jne.) tingitud inbriidingu taset iseloomustati inbriidingucoefitsiendi  $F_{IS}$  abil. Asenduskalade geneetilise sugupoole määramiseks kasutasime Y-kromosoomi spetsiifilist geneetilist markerit sdY vastavalt Quemere et al. (2014) meetodikale.

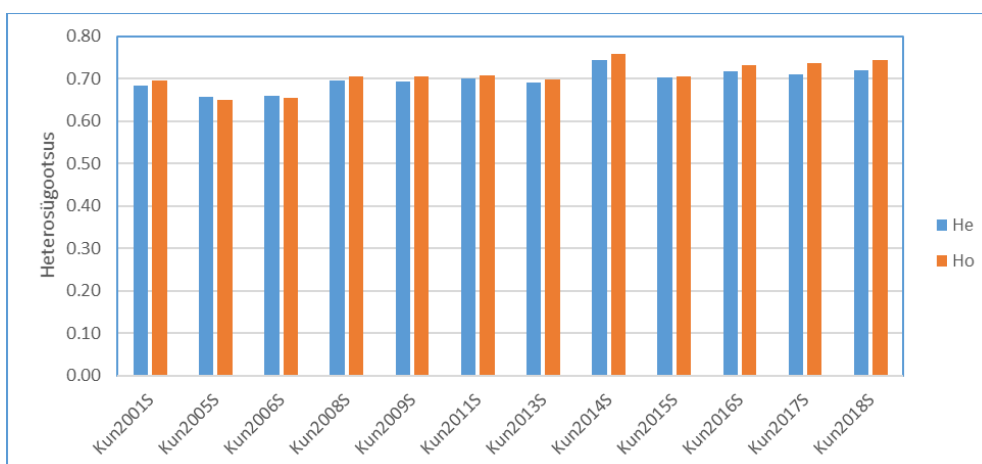
PKK-s peetava Kunda lõhe elusgeenipanga genofondi seisundit ja selle muutusi hindasime sugukarja 12 aastaklassi põhjal (tabel 1). Neist viimane on sugukarja 2018. aastaklassi asenduskarja (Kun2018S), mille 2021. a. sügisel kiibistatud 70 kala genotüpiseeriti käesoleva lepingu raames. Kokku analüüsisime 2844 Kunda geenipanga sugu- ja asenduskarja kala genotüübiandmeid. Sugukarja 0-põlvkonna (loodud 2001.-2002. a. Kunda jõest püütud noorkalade baasil) genofondi näitajaid käsitleme seejuures alusandmetena järgnevate põlvkondade ja aastaklasside genofondi võrdlevaks analüüsiks.

Kunda 0-põlvkonna (Kun2001S) sugukarja geneetiline muutlikkus oli veidi kõrgem kui Kunda 1996-1998. a. looduslikel valimitel. Geenipanga 0-põlvkonna sugukalade 2005. a. koorunud järglaste (Kun2005S, esimene aastaklass geenipanga I põlvkonnast) geneetiline muutlikkus oli

aga võrreldes 0-põlvkonnaga järsult vähenenud (alleelirohkus  $A_r$  vastavalt 9.1 ja 5.7; tegelik heterosügootsus  $H_o$  vastavalt 0.70 ja 0.65; tabel 1 ja joonised 1 ja 2). Selline pilt on tüüpiline populatsiooni suuruse nn. „pudelikaela“ puhul, kus ainult suhteliselt väike osa kogu populatsioonist osaleb järgmise põlvkonna moodustamises ja seetõttu ei kandu järglaskonnale üle ka kogu genofondi mitmekesisus ning sellega kaasnevad väiksema sagedusega esinevate alleelide kaotsimine, alleelisageduste juhuslikud muutused ehk nn. juhuslik geenitriiv ja inbriidingu suurenemise tõenäosus. Kalakasvandustes annab samasuguse tulemuse suhteliselt väikese arvu sugukalade kasutamine järglaskonna saamiseks ja ilmselgelt on see ka Kunda lõhe geenipanga I põlvkonna 2005. aastaklassi geneetilise vaesumise ja markerlookuste alleelisageduste märgatavate muutuste peamine põhjus, kuna 2005. aastaklassi tootmiseks kasutati ainult 8 emas- ja 8 isaskala.



Joonis 1. Kunda lõhe sugukarja aastaklasside alleelirohkus.



Joonis 2. Kunda lõhe sugukarja aastaklasside keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosügootsus.



Tabel 1. RMK Põlula kalakasvatustalituses peetava Kunda lõhe sugu- ja asenduskarja geneetilist muutlikkustiseloostustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelide rohkus,  $H_e$  ja  $H_o$  – oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  – inbriidingukoeffitsient,  $P_{HWE}$  – genotüübisageduste Hardy-Weinbergi tasakaalust kõrvalekalde olulisus).

Tähis	Koorumis-aasta	Vanemad	n	A	$A_r$	$H_e$	$H_o$	Fis	$P_{HWE}$
Kun2001S	2000-2002	looduslik lõhe	174	11.2	9.1	0.68	0.70	-0.020	ns
Kun2005S	2005	Kun2001S (8Ex8I)	172	6.3	5.7	0.66	0.65	0.012	ns
Kun2006S	2006	Kun2001S (47Ex35I)	234	10.1	7.9	0.66	0.65	0.006	<0.001
Kun2008S	2008	Kun2001S (59Ex44I)	262	9.4	8.1	0.70	0.71	-0.016	<0.001
Kun2009S	2009	Kun2001S (19Ex13I); Kun2005S (56Ex43I)	308	8.3	7.3	0.69	0.71	-0.018	ns
Kun2011S	2011	Kun05S(21E) x Kun06S(47I), Kun06S(63E) x Kun05S(8I)/1KI	576	10.6	8.5	0.70	0.71	-0.010	ns
Kun2013S	2013	Kun06S(49E) x Kun09S(49I), Kun06S(19E) x Kun08S(19I), Kun08S(27E) x Kun09S(25I), Kun08S(20E) x Kun06S(21I)	357	10.1	8.0	0.69	0.70	-0.010	ns
Kun2014S	2014	Kun09S(56E) x Kun08S(47I), Kun08S(47E) x Kun09S(47I), Kun08S(25E) x Kun14KI(25I), Kun13LS(3E) x Kun13KI(18I)	319	10.3	8.7	0.74	0.76	-0.020	<0.001
Kun2015S	2015	Kun08S(16E) x Kun14KI(18I), Kun08S(54E) x Kun09S(54I), Kun09S(66E) x Kun11S(58I), Kun14LS(4E) x Kun14KI(18I)	150	9.6	8.7	0.70	0.71	-0.004	<0.01
Kun2016S	2016	Kun09S(42E) x Kun15KI(45I), Kun09S(54E) x Kun12S(54I), Kun09S(5E) x Kun15LS(5I), Kun09S(3E) x Kun11S(3I), Kun11S(17E) x Kun12S(17I), Kun12S(6E) x Kun11S(6I), Kun15LS(5E) x Kun15LS(5I)	176	10.3	8.8	0.72	0.73	-0.020	<0.001
Kun2017S	2017	132 emast (Kun09S, Kun11S, Kun16LS) x 134 isast (Kun13S, Kun16LS, Kun16KI)	46	8.9	8.9	0.71	0.74	-0.035	<0.05
Kun2018S	2018	123 emast (Kun17LS, Kun13S, Kun11S) x 127 isast (Kun17LS, Kun14S, Kun13S)	70	9.1	8.7	0.72	0.74	-0.034	<0.001

\*S – sugukari; LS – Kunda jõest püütud sugukalad; KI - kääbusisased

Geenipanga järgmiste aastaklasside (2006-2018 a. koorunud) järglaste saamiseks kasutati suuremat arvu sugukalu ja see peegeldub ka nende aastaklasside kõrgemas geneetilises

muutlikkuses võrreldes 2005. aastaklassi kaladega (tabel 1, joonised 1 ja 2). Kunda 2018. a. koorunud asenduskarja kalade alleelirohkus on sarnane 2011 ja 2014-2017. a. koorunud aastakäikudega ning keskmine oodatav ja tegelik heterosügootsus on sarnane 2008-2017 aastaklassidega, mis näitab paljundamisel kasutatud sugukalade suure arvu ja erinevate aastakäikude sugukalade paaritamise positiivset mõju (tabel 1, joonised 1 ja 2).

Lähisuguluspaaritustest (õde-vend, vanem-järglane jne.) tingitud inbriidingu taset iseloomustava inbriidingukoefitsiendi  $F_{IS}$  väärtused ei erine kõigis uuritud Kunda geenipanga aastaklassides statistiliselt oluliselt nullist (tabel 1), mis näitab, et lähisuguluspaaritused pole seni olnud probleemiks. Sellele vaatamata esineb sugukarja 7 aastaklassis 12-st statistiliselt olulisi kõrvalekaldeid Hardy-Weinbergi alleeli- ja genotüübisageduste tasakaaluseisundist (tabel 1), mis viitab sellele, et kuigi kasutatud sugukalade arv ei pruugi olla nendes aastaklassides väike, siis võivad efektiivse populatsiooni suurst vähendada mingid muud tegurid nagu näiteks sugupoolte ebavõrdne vahekord viljastamisel ja vanempaaride ebavõrdne panus (perekondade erinev suurus ja esindatus) sugukarja järgmise aastaklassi moodustamisel, samuti ei ole sugukarja paljundamisel tegemist vabalt ristuva populatsiooniga.

Kunda sugukarja erinevate aastaklasside üldine geneetiline diferentseeritus on madal ( $F_{ST} = 0.015$ ), mis näitab, et alleelisageduste ajaline muutlikkus ei ole väga suur ja sellest tingitud variatsioon moodustab vaid 1.5% kogu geneetilisest variatsioonist. 2018. a. koorunud asenduskarja (Kun2018S) diferentseeritus 2008-2017 aastaklassidest on 0.010-0.015 ning 0-põlvkonnast (Kun2001S) 0.017, mis näitab, et Kun2018S aastaklass on DNA markerlookuste alleelisageduste poolest üsna sarnane 2001.-2002. a. Kunda jõest püütud noorkalade baasil loodud Kunda sugukarja 0-põlvkonnaga ja geenipanga 2008-2017 aastaklassidega.

Kunda 2018. a. koorunud asenduskarja 3+ kalade geneetilise sugupoole määramiseks kasutasime Y-kromosoomi spetsiifilist geneetilist markerit, mille abil on võimalik määrata asenduskarja kalade sugupoolt ka mittesuguküpsetel isenditel ning kontrollida fenotüübilise soo määramise korrektsust. Uuritud 70 kalast osutusid geneetiliselt emasteks 40 isendit ja isasteks 30 isendit (Lisa 1). Seejuures osutus üks PKK-s fenotüübiliselt emaseks määratud kala genotüübiliselt isaseks (kiip nr. OD62) (Lisa 1). Triploidseid isendeid uuritud kalade hulgas ei esinenud.

## **1.2. Daugava jõe päritolu lõhe sugu- ja asenduskarja geneetiline mitmekesisus ning asenduskarja kalade täis- ja poolõveperekondadesse määramine**

Pärnu jõe lõhepopulatsiooni taastamise eesmärgil on PKK-s moodustatud Daugava lõhe sugukarja kolm aastakäiku:

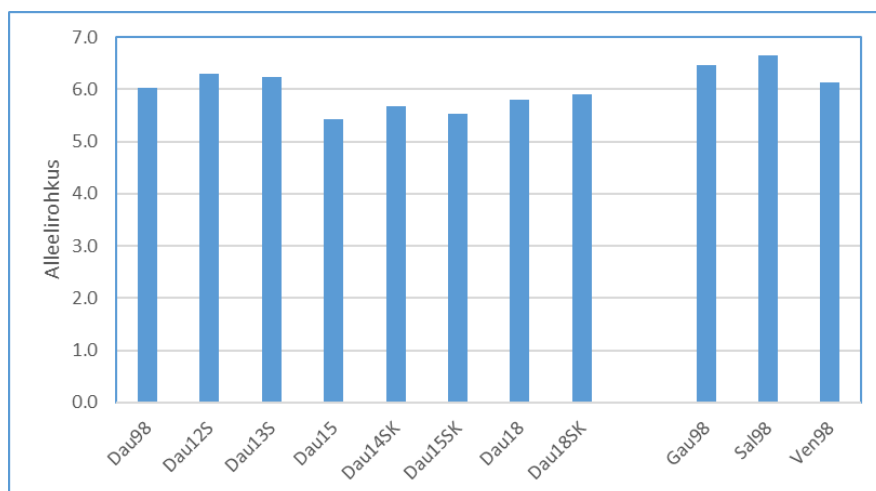
1. Dau14SK - 2013. a. sügisel Daugava jõest püütud 36 sugukala (18 emast ja 18 isast) Põlulas 2014. a. kevadel koorunud järglased, kiibistati 2017.a. sügisel;
2. Dau15SK – 2014. a. sügisel Daugava jõest püütud 12 emas- ja 8 isaskala Põlulas 2015. a. kevadel koorunud järglased (ostetud Tome kalamajandist silmtäppmarjana), kiibistati 2018.a. sügisel;
3. Dau18SK – 2017. a. sügisel Daugava jõest püütud 146 emaskala ja 188 isaskala järglased, kes koorusid Põlulas 2018. a. kevadel. Neist 20 kala kiibistati 2020.a. sügisel ja 304 kala kiibistati 2021.a. sügisel.

Dau18SK asenduskarja 324 kalalt koguti PKK-s koeproovid geneetiliseks analüüsiks, kuid 2020.a. sügisel kogutud 20 proovist anti meie käsutusse vaid 14 kala koeproovid (6 kala proovid olid läinud kaduma). Nende geneetilise mitmekesisuse hindamiseks kasutasime võrdlusmaterjalina Dau14SK ja Dau15SK sugukarja aastakäikude ning aastatel 1998-2018 Läti Liivi lahe lõhepopulatsioonidest (Daugava, Gauja, Salaca, Venta) kogutud noor- ja sugukalade materjali.

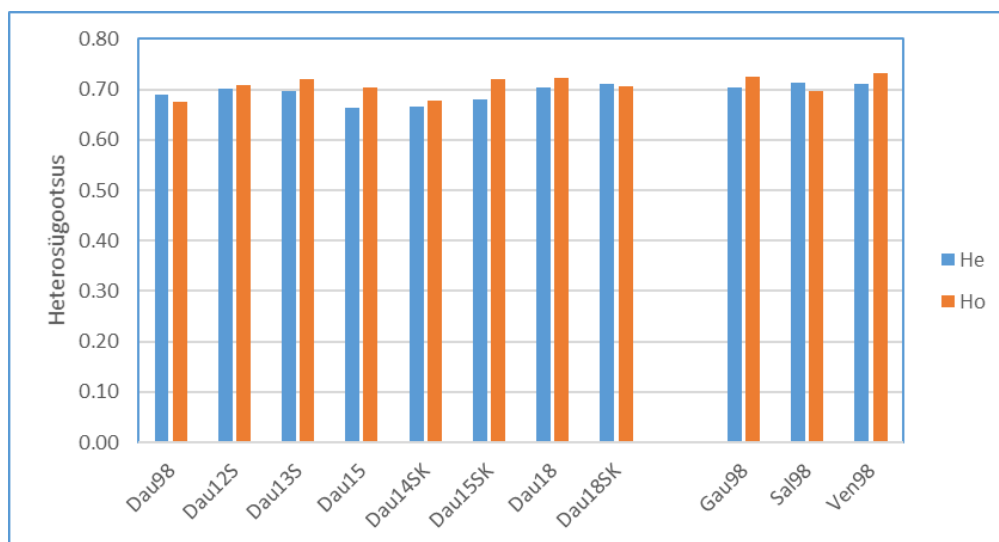
Läti Liivi lahe lõhepopulatsioonide (Daugava, Gauja, Salaca, Venta) 1998. a. noorkala valimite geneetiline mitmekesisus oli üsna sarnane, varieerudes alleelirohkusel 6.0-6.6 ja tegelikul heterosügootsusel 0.67-0.73 (tabel 2, joonised 3 ja 4). Daugavast 2012.a. ja 2013.a. sügisel püütud sugukalade (Dau12S ja Dau13S) geneetiline muutlikkus ( $A_r = 6.2-6.3$ ;  $H_o = 0.71-0.72$ ) ei erinenud oluliselt Daugava 1998.a. noorkalade valimist ( $A_r = 6.0$ ;  $H_o = 0.67$ ), mis näitab Daugava lõhekarja geneetilise muutlikkuse üldist ajalist stabiilsust. Samas oli 2015.a. koorunud vastsete (Dau15) ja nende põhjal Põlulas moodustatud Daugava sugukarja 2015. aastakäigu (Dau15SK) alleelirohkus ( $A_r$  vastavalt 5.4 ja 5.5) oluliselt madalam kui varasematel Daugava valimitel, mis näitab, et Põlulale eraldatud viljastatud marja saamiseks kasutati

2014.a. vähem sugukalu kui varem (tabel 2, joonis 3). Tegelik heterosügootsus siiski oluliselt ei erinenud. Daugava lõhe sugukarja 2014. aastakäigu (Dau14S) geneetiline muutlikkus on samuti mõnevõrra madalam kui tema vanematel ehk Daugavast 2013.a. sügisel püütud sugukaladel (Dau13S,  $A_r$  vastavalt 5.7 ja 6.2 ning  $H_o$  vastavalt 0.68 ja 0.72) (tabel 2, joonised 3 ja 4). Põhjuseks on ilmselt väike arv järglaste saamiseks kasutatud sugukalu (36 tk.). Dau18SK asenduskarja alleelirohkus ( $A_r = 5.9$ ) on kõrgem kui sugukarja aastaklassidel Dau14SK ja Dau15SK ( $A_r = 5.5-5.7$ ) (tabel 2, joonised 3 ja 4), mis on tingitud suurema arvu sugukalade kasutamisest paljundamisel (146 emaskala ja 188 isaskala). Tagamaks geneetilise mitmekesisuse säilimist on vaja ka Daugava lõhe sugukarja järgmiste aastakäikude/põlvkondade saamiseks kasutada suuremat arvu sugukalu ja lisaks Daugava sugukarja kaladele ka Pärnu jõest püütud sugukalu.

Lähisuguluspaaritustest tingitud inbriidingu taset iseloomustava inbriidingukoefitsiendi  $F_{IS}$  väärtused ei erine kõigis Daugava sugukarja aastaklassides statistiliselt oluliselt nullist (tabel 2), mis näitab, et lähisuguluspaaritused pole seni olnud probleemiks. Sellele vaatamata esineb kõigis sugukarja aastaklassides statistiliselt olulisi kõrvalekaldeid Hardy-Weinbergi alleeli- ja genotüübisageduste tasakaaluseisundist (tabel 2), mis viitab tõenäoliselt väiksest efektiivsest populatsiooni suurusest ( $N_e$ ) tingitud juhuslikule geenitriivile. Väike  $N_e$  võib olla tingitud nii väiksest kasutatud sugukalade arvust (Dau14SK 36 sugukala ja Dau15SK 20 sugukala) kui ka teistest teguritest, mis vähendavad efektiivse populatsiooni suurus nagu näiteks sugupoolte ebavõrdne vahetamine ja vanempaaride ebavõrdne panus (perekondade erinev suurus ja mitte kõigi perekondade esindatus) sugukarja järgmise aastaklassi moodustamisel.



Joonis 3. Daugava lõhe sugukarja aastaklasside ja Läti Liivi lahe lõhepopulatsioonide alleelirohkus.



Joonis 4. Daugava lõhe sugukarja aastaklasside ja Läti Liivi lahe lõhepopulatsioonide keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosügootsus.

Tabel 2. Daugava lõhe sugukarja ja Liivi lahe lõhepopulatsioonide geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelirohkus,  $H_e$  ja  $H_o$  – oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  – inbriidingukoefitsient,  $P_{HWE}$  – genotüübisageduste Hardy-Weinbergi tasakaalust kõrvalekalde olulisus).

Populatsioon	Proovi kogumise aasta	Tähis	$n$	$A$	$A_r$	$H_e$	$H_o$	$F_{IS}$	$P_{HWE}$
Daugava	1998	Dau98	86	8.9	6.0	0.69	0.67	0.023	ns
	2012	Dau12S	44	8.4	6.3	0.70	0.71	-0.010	ns
	2013	Dau13S	36	7.8	6.2	0.70	0.72	-0.033	ns
	2015	Dau15	88	7.3	5.4	0.66	0.70	-0.059	<0.001
	2017	Dau14SK	141	7.6	5.7	0.67	0.68	-0.016	<0.01
	2018	Dau15SK	135	7.5	5.5	0.68	0.72	-0.057	<0.001
	2018	Dau18	100	7.8	5.8	0.70	0.72	-0.025	ns
	2021	Dau18SK	317	8.6	5.9	0.71	0.71	0.007	<0.001
Gauja	1998	Gau98	50	8.7	6.5	0.70	0.73	-0.031	ns
Salaca	1998	Sal98	50	9.1	6.6	0.71	0.70	0.024	ns
Venta	1998	Ven98	49	7.4	6.1	0.71	0.73	-0.032	ns

S - jõest püütud sugukalad, SK - sugukari

Liivi lahe (sealhulgas Pärnu jõe) lõhepopulatsioonide ja nende erinevate aastakäikude üldine geneetiline diferentseeritus on madal ( $F_{ST} = 0.019$ ) ehk populatsioonide ja nende aastakäikude geneetilistest erinevustest on tingitud vaid 1.9% kogu geneetilisest variatsioonist. Pärnu

lõhepopulatsiooni erinevate aastate valimite geneetiline diferentseeritus on seejuures 0.001-0.065, Daugava lõhepopulatsiooni ja sugukarja valimitel 0.002-0.029 (sealhulgas kolmel Daugava sugukarja aastakäigul 0.016-0.028) ning Pärnu ja Daugava valimite vaheline diferentseeritus on 0.000-0.051.

Dau18SK aastaklassi asenduskalade genotüübilise sugupoole määramise tulemused on esitatud Lisas 2. **Asenduskarja kalade hulgas esines ühel isendil (geneetikaproov nr. 1, kiibi nr. 50AC) mitmetes markerlookustes rohkem kui kaks alleeli, mis viitab triploidusele ja see isend tuleks sugukarjast prakeerida (Lisa 2). Lisaks ostus üks PKK-s fenotüübiliselt emaseks määratud kala genotüübiliselt isaseks (kiip nr. 9740) (Lisa 2).** Dau18SK aastaklassi asenduskalade täisõveperekondadesse määramise tulemused on esitatud Lisas 3 (Exceli tabel). Et Dau18SK aastaklassi vanemkalade (Daugava jõest 2017. a. sügisel püütud sugukalad) markerlookuste genotüübid ei ole teada, siis kasutasime COLONY2 programmi *sibship assignment* meetodit (Wang 2010) asenduskalade tõenäosuslikuks määramiseks täisõveperekondadesse, mis võimaldab hinnata ka efektiivset populatsiooni suurust  $N_e$ . Programm määras Dau18SK asenduskarja 317 kala 183 täisõveperekonda, mille liikmete arv on 1-14 (Lisa 3 Exceli tabelis) ning andis efektiivse populatsiooni suuruse hinnanguks 103 (usalduspiirid 80-137). See on oluliselt madalam kui kasutatud emas- ja isassugukalade arvu kaudu leitud  $N_e$  väärtus 329 ja illustreerib jällegi fakti, et efektiivse populatsiooni suurust vähendab ka vanempaaride ebavõrdne panus (perekondade erinev suurus ja mitte kõigi võimalike perekondade esindatus) sugukarja järgmise aastaklassi moodustamisel.

### ***1.3. Pärnu poolsiirdesiia sugu- ja asenduskarja geneetiline mitmekesisus***

Pärnu poolsiirdesiia sugu- ja asenduskarja (samuti ka peatükkides 4, 5, 6 ja 7.2 analüüsitud siigade) genofondi seireks kasutasime 12-st mikrosatelliidilookusest koosnevat DNA markerite paneeli, mille laboratoorse analüüsi meetoodika on täpsemalt kirjeldatud artiklis Wennerström et al. (2013). Amplifitseerida ja genotüpiseerida õnnestus 11 mikrosatelliitmarkerit, kuid ühes nendest (cisco-126) esines kõigis valimites heterosügootide defitsiit. Seetõttu jätsime selle lookuse genotüübiandmed välja ja kasutasime geneetiliste iseaärasuste analüüsis 10 markerilookuse genotüüpe. Geneetilist muutlikkust iseloomustati kõigi uuritud markerilookuste keskmise tegeliku ja teoreetiliselt oodatava heterosügootsusena (vastavalt

$H_o$  ja  $H_e$ ) ning markerilookustes esinevate erinevate DNA järjestuste ehk alleelide keskmise arvuna ( $A$ ) ja selle valimi suurusele korrigeeritud väärtusena ehk alleelirohkusena ( $A_r$ ). Sugu- ja asenduskarja aastaklasside geneetilist diferentseeritust hinnati indeksi  $F_{ST}$  põhjal. Lähisuguluspaaritustest (õde-vend, vanem-järglane jne.) tingitud inbriidingu taset iseloomustati inbriidingukoefitsiendi  $F_{IS}$  abil.

Pärnu jõe poolsiirdesiia populatsiooni tugevdamise ja jõest püütud sugukalade täiendamise eesmärgil on PKK-s moodustatud Pärnu poolsiirdesiia sugukarja neli aastakäiku:

1. Pär16SK - 2015.a. sügisel Pärnu jõest püütud 5 emaskala ja 11 isaskala järglased, kes koorusid Põlulas 2016. a. kevadel. Kiibistati 2018.a. sügisel;
2. Pär17SK – 2016.a. sügisel Pärnu jõest püütud 2 emaskala ja 4 isaskala järglased, kes koorusid Põlulas 2017. a. kevadel. Kiibistati 2019.a. sügisel;
3. Pär18SK – 2017. a. sügisel Pärnu jõest püütud 7 emaskala ja 27 isaskala järglased, kes koorusid Põlulas 2018. a. kevadel. Kiibistati 04.11.2021;
4. Pär19SK - 2018. a. sügisel Pärnu jõest püütud 4 emaskala ja 19 isaskala järglased, kes koorusid Põlulas 2019. a. kevadel. Kiibistati 04.11.2021.

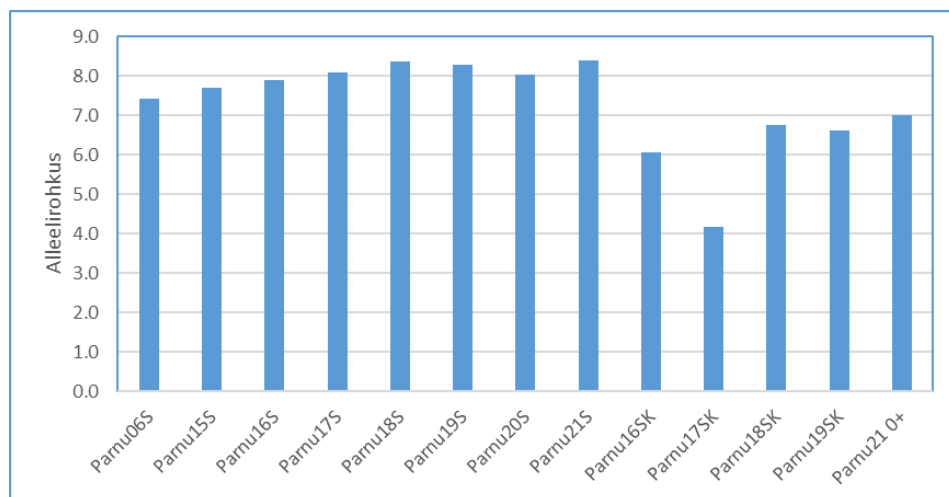
2021.a. koguti Pär18SK sugukarja ja Pär19SK asenduskarja kaladelt geneetiliseks analüüsiks vastavalt 50 ja 57 koeproovi. Nende geneetilise mitmekesisuse hindamiseks kasutasime võrdlusmaterjalina sama populatsiooni 2006. ja 2015-2021. a. sügisel Pärnu jõest kogutud siia sugukalade valimeid ning Pärnu poolsiirdesiia sugukarja 2016. ja 2017. a. koorunud aastakäikude andmeid. Oluline on märkida, et Pärnu poolsiirdesiia sugukarja kõigi nelja aastakäigu geneetiline muutlikkus ( $A_r = 4.2-6.8$ , keskmiselt 5.9,  $H_o = 0.62-0.68$ , keskmiselt 0.65) on oluliselt madalam kui Pärnu jõest kogutud siia sugukalade valimitel ( $A_r = 7.4-8.4$ , keskmiselt 8.0,  $H_o = 0.65-0.70$ , keskmiselt 0.68) (tabel 3, joonised 5 ja 6). Seejuures on sugukarja aastakäikudest kõige madalama geneetilise muutlikkusega Pär17SK ( $A_r = 4.2$ ,  $H_o = 0.62$ ) ja Pär16SK ( $A_r = 6.0$ ,  $H_o = 0.63$ ) (tabel 3, joonised 5 ja 6).

Tabel 3. Pärnu poolsiirdesiia sugukalade valimite ja sugukarja aastaklasside geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelide rohkus,  $H_e$  ja  $H_o$  –

oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  – inbriidingukoeffitsient,  $P_{HWE}$  – genotüübisageduste Hardy-Weinbergi tasakaalust kõrvalekalde olulisus.

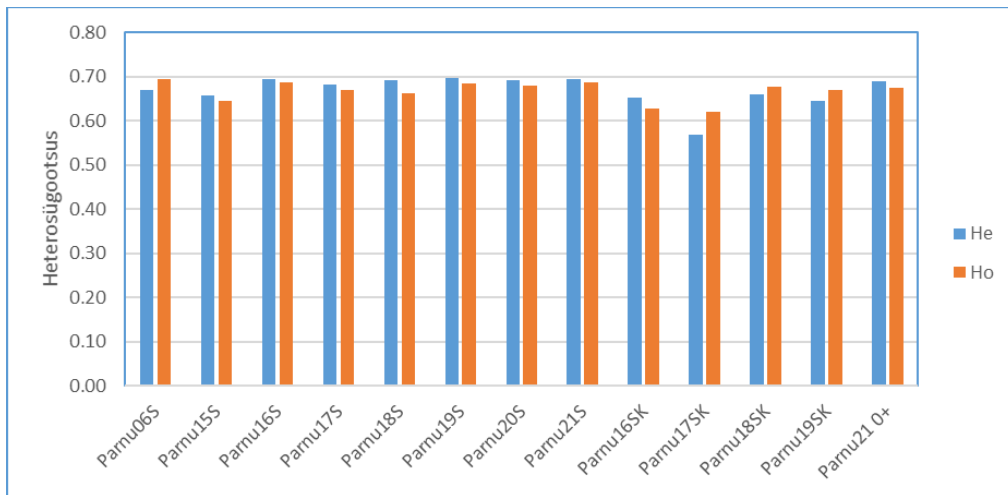
Populatsioon	Proovi kogumise aasta	Tähis	$n$	$A$	$A_r$	$H_e$	$H_o$	$F_{IS}$	$P_{HWE}$
Pärnu jõgi	2006	Parnu06S	40	8.2	7.4	0.67	0.70	-0.036	ns
	2015	Parnu15S	41	8.6	7.7	0.66	0.65	0.017	ns
	2016	Parnu16S	25	7.9	7.9	0.69	0.69	0.009	<0.05
	2017	Parnu17S	51	9.4	8.1	0.68	0.67	0.017	<0.05
	2018	Parnu18S	60	9.9	8.4	0.69	0.66	0.046	ns
	2019	Parnu19S	124	10.4	8.3	0.70	0.68	0.017	ns
	2020	Parnu20S	101	10.3	8.0	0.69	0.68	0.018	ns
	2021	Parnu21S	113	11.1	8.4	0.70	0.69	0.011	ns
<b>Keskmine, Pärnu jõgi</b>				<b>9.5</b>	<b>8.0</b>	<b>0.69</b>	<b>0.68</b>	<b>0.012</b>	
Pärnu sugukari	2018	Parnu16SK	124	7.0	6.0	0.65	0.63	0.038	<0.01
	2019	Parnu17SK	45	4.4	4.2	0.57	0.62	-0.091	<0.05
	2021	Parnu18SK	50	7.2	6.8	0.66	0.68	-0.026	<0.001
	2021	Parnu19SK	56	7.4	6.6	0.64	0.67	-0.039	ns
<b>Keskmine, Pärnu sugukari</b>				<b>6.5</b>	<b>5.9</b>	<b>0.63</b>	<b>0.65</b>	<b>-0.030</b>	
Pärnu 0+	2021	Parnu21 0+	54	7.7	7.0	0.69	0.68	0.018	<0.001

S – jõest püütud sugukalad, SK – sugukari, 0+ - jõkke asustatud noorkalad



Joonis 5. Pärnu poolsiirdesiia sugukalade valimite ja sugukarja aastaklasside alleelirohkus.





Joonis 6. Pärnu poolsiirdesiia sugukalade valimite ja sugukarja aastaklasside keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosügootsus.

Mõlema aastakäigu kalade geneetiline diferentseerumine Pärnu jõest püütud sugukalade erinevate aastate valimitest on oluliselt kõrgem (Pär16SK  $F_{ST}=0.018-0.038$ , keskmiselt 0.031 ja Pär17SK  $F_{ST}=0.062-0.082$ , keskmiselt 0.071) kui jõest püütud valimite enda vahel ( $F_{ST}=0.000-0.005$ , keskmiselt 0.001), mis näitab alleelisageduste olulisi muutusi markerlookustes juhusliku geenitriivi tagajärjel. Lisaks erines Pär16SK inbriidingukoefitsient oluliselt nullist ( $F_{IS}=0.038$ ). Statistiline test genotüübisageduste vastavuse hindamiseks Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile näitas, et kõigis 10 markerlookuses esines mõlemas sugukarja aastakäigus olulisi kõrvalekaldeid tasakaaluseisundist (tabel 3). **Kõik see viitab Pärnu jõe hõredapiilise siirdesiia sugukarja Pär16SK ja Pär17SK aastakäikude moodustamiseks kasutatud sugukalade liiga väiksest arvust tingitud geneetilise mitmekesisuse väga olulisele vähenemisele võrreldes Pärnu jõe loodusliku populatsiooniga.** Efektiivne populatsioonisuurus  $N_e$  Pär16SK moodustamisel oli vaid 14 (valemist  $N_e = \frac{4 \times E \times I}{E + I}$ , kus E ja I on vastavalt kasutatud emaste ja isaste arv), millega kaasneb selle põlvkonna inbriidingukoefitsiendi  $F$  oodatav suurenemine 0.036 (valemist  $F = \frac{1}{2 N_e}$ ) ja haruldasemate alleelide kõrge tõenäosusega kaotsimineku (tõenäosusega 0.76 alleelidel, mille sagedus on 0.01 ja tõenäosusega 0.24 alleelidel, mille sagedus on 0.05). Pär17SK puhul on vastavad näitajad veel drastilisemad:  $N_e = 5$ ,  $F = 0.094$ , 0.01 sagedusega alleelide kaotsimineku tõenäosus 0.90 ja 0.05 sagedusega alleelide kaotsimineku tõenäosus 0.60.

Sugukarja Pär18SK ja Pär19SK aastaklasside geneetiline muutlikkus ( $A_r = 6.6-6.8$ ,  $H_o = 0.67-0.68$ ) on kõrgem kui Pär16SK ja Pär17SK aastaklassidel, kuid siiski madalam kui Pärnu jõest 2015-2021 kogutud siia sugukalade valimitel ( $A_r = 7.4-8.4$ , keskmiselt 8.0,  $H_o = 0.65-0.70$ , keskmiselt 0.68) (tabel 3, joonised 5 ja 6). Mõlema sugukarja aastakäigu siigade geneetiline diferentseerumine Pärnu jõest püütud sugukalade erinevate aastate valimitest on veidi kõrgem (Pär18SK  $F_{ST}=0.003-0.020$ , keskmiselt 0.015 ja Pär19SK  $F_{ST}=0.016-0.027$ , keskmiselt 0.021) kui jõest püütud sugukalade valimite vahel ( $F_{ST}=0.000-0.005$ , keskmiselt 0.001), kuid siiski oluliselt madalam kui Pär16SK ja Pär17SK aastaklassidel (keskmiselt 0.031 ja 0.071). Statistiline test alleeli- ja genotüübisageduste vastavuse hindamiseks Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile näitas, et Pär18SK aastakäigul esines olulisi kõrvalekaldeid tasakaaluseisundist, kuid Pär19SK aastaklassi alleeli- ja genotüübisagedused vastavad tasakaaluseisundile (tabel 3).

#### **1.4. Soovitused geenipankade edaspidiseks arendamiseks**

Geenipanga pidamise eesmärgiks on säilitada kohalikku loodusliku päritoluga genofondi ja kasutada seda ohustatud populatsioonide taastamiseks ja tugevdamiseks. Ohustatud kalaliikide taastootmisel tuleb vältida inbriidingu suurenemist ja säilitada geneetilise muutlikkuse taset (vältida haruldasemate alleelide kaotsi minekut) ning selle tagamiseks on vajalik paljundamisel kasutada piisavalt suurt arvu sugukalu. Paljundamiseks kasutatud sugukalade arv ja sugupoolte vahekord, aga samuti vanempaaride järglaste (perekondade) esindatus järglaskonnas määravad nn. efektiivse populatsiooni suuruse ( $N_e$ ). Selle vajaliku suuruse leidmiseks tuleb määratleda: (i) kui palju inbriidingut on taastootmise programmi kestel aktsepteeritav, (ii) kui haruldased on alleelid, mida soovitakse säilitada ja millist garantiid nende säilitamiseks soovitakse ning (iii) põlvkondade arv taastootmise programmi kogu kestuse jooksul. Teaduskirjanduse andmeil soovitatakse ohustatud kalaliikide taastootmisel vältida inbriidingukoefitsiendi  $F$  suurenemist rohkem kui 0.01 võrra (mõned allikad aga soovitavad lubada  $F$  suurenemist maksimaalselt 0.05 võrra) kogu taastootmisprogrammi jooksul ja tagada haruldaste alleelide (mille sagedus on 0.01) säilimine tõenäosusega 99% (jällegi, on ka soovitusi, mille kohaselt tuleks tagada 0.05 sagedusega alleelide säilimine tõenäosusega 95%). Mida rangemad on eesmärgid, seda suurem  $N_e$  on vajalik, et neid eesmärke täita. Näiteks kui soovime 5 põlvkonna jooksul tagada 0.01

sagedusega alleelide säilimise tõenäosusega 99%, siis on selleks vajalik igas põlvkonnas  $N_e=309$ , tõenäosuse 95% korral aga  $N_e=229$ . Kui aga soovime 5 põlvkonna jooksul tagada 0.05 sagedusega alleelide säilimise tõenäosusega 99%, siis on selleks vajalik  $N_e$  igas põlvkonnas 61, tõenäosuse 95% korral aga  $N_e=45$ . Eeltoodud  $N_e$  suurused tagavad järgmised inbriidingukoefitsiendi  $F$  lubatavad sihtväärtused 5 põlvkonna järel:  $N_e=309$  korral  $F=0.008$ ,  $N_e=229$  korral  $F=0.011$ ,  $N_e=61$  korral  $F=0.041$  ja  $N_e=45$  korral  $F=0.056$ . Üldiselt on soovitatav ohustatud kalaliikide taastootmisprogrammides kasutada  $N_e=200-300$  ja aretusprogrammides  $N_e=50-100$  sõltuvalt põlvkondade arvust programmis.

Populatsioonigeneetika teooria kohaselt on kõige otstarbekam ühe emaskala ristamine ühe isaskalaga. See tagab samasuguse sugukarja suuruse juures maksimaalse  $N_e$ . Tootmise efektiivsuse huvides võib ristata 1 emase 2-3 isasega, kuid sel juhul on samaväärse  $N_e$  saavutamiseks vaja pidada suuremat sugukarja. Näit.  $N_e$  võrdub ühtemoodi 200-ga kui paaritada 100 emast ja 100 isast (sugukarja suurus 200 kala) või 75 emast ja 150 isast (sugukarja suurus 225 kala). Kui on vaja moodustada sugukarja baasil asenduskarja, siis on oluline tagada iga paari võrdne panus järglaskonda, et vältida mõnede vanempaaride üle- või alaesindatust järgmises põlvkonnas. Selleks oleks vaja perekondade (täisõved) marja eraldi hautada ja kasvatada suuruseni, kus tehakse valik sugukarja ning valida juhuslikult igast perekonnast võimalikult võrdne arv isendeid. Aga praktika on näidanud, et iga kala ei anna suguprodukte, seega 200 isendist koosneva sugukarja puhul ei ole alati võimalik 100 emaskala marja ja 100 isaskala niisa saamine. Seetõttu peaks sugukarjas pidama suuremat arvu emas- ja isaskalu kui minimaalne vajadus.

Inbriidingukoefitsiendi  $F$  suurenemist ja haruldaste alleelide kaotsimineku tõenäosust aitab vähendada ka perioodiline 'verevärskendus' loodusest püütud sugukalade abil. Inbriidingu suurenemist aitab vältida ka erinevate aastaklasside sugukalade omavaheline paaritamine, mis hoiab ära lähisuguluses (õde-vend) indiviidide paaritamise. Jätakuvalt tuleks geneetiliste meetodite abil hinnata nii loodusest püütud kui asenduskarja sugukalu liigilise puhtuse ja triploidide esinemise suhtes. Olukorras, kus lõhe asustamise vajadus Põhja-Eesti jõgedesse on vähenenud võib tekkida küsimus, kas see peaks väljenduma ka PKKs peetava Kunda lõhe sugukarja suuruses. **Tuleb rõhutada, et geneetilise mitmekesisuse säilitamiseks ja inbriidingu suurenemise ära hoidmiseks nii geenipanga sugukarjas kui nende järglastega asustatud**

**populatsioonides ei tohi paljundamisel vähendada efektiivse populatsiooni suurust alla ülal toodud teaduslikult põhjendatud soovituslike väärtuste**, sest vastasel korral on negatiivsed muutused genofondis vältimatud. Sugukarja suuruse optimeerimiseks võiks geenipangas pidada ainult (või peamiselt) emaseid sugukalu (kasutades paljundamisel 50-100 isendit) ja nende marja viljastamiseks kasutada kas loodusest püütud isaskalade ja/või sügavkülmutatud geenipanga isaste spermat.

Geenipanga pidamisel tuleb vältida nn. kodustavat valikut, mis isegi tahtliku inimtegevuse (näit. suuremate kalade valik asendus- ja sugukarja) vältimise korral on kasvanduse tingimustes pidamisel mingil määral paratamatu. Vangistuses annavad kergemini järglasi need isendid, kes kohanevad paremini inimese manipuleerimise ja kunstliku paljundamise tingimustega. Neist järglastest jäävad omakorda ellu eeskätt need, kes taluvad paremini kasvanduse tingimusi. Samuti on kalakasvatajal kasvõi alateadlik soov valida talle paremini sobivaid kalu (suuremaid, viljakamaid, kergemini marja andvaid, sobival ajal küpsevaid). Selle vältimiseks tuleb kalu asendus- ja sugukarja valida võimalikult juhuslikult. Pidevalt tuleks teha ka looduslike populatsioonide ja kasvanduse sugukarjade geneetilist monitooringut, et hinnata paljundamismetoodika mõju geneetilisele mitmekesisusele ja inbriidingu tasemele.

Geneetilise mitmekesisuse säilitamiseks ja taastamiseks, samuti ette planeeritud paaritamisskeemi kasutamiseks on võimalik kasutada ka isaskalade sügavkülmutatud spermapanka. See võimaldab ristata erinevate põlvkondade ja aastakäikude sugukalu ning valida paare lähisuguluspaaritamise vältimise eesmärgil. Samuti võimaldab sügavkülmutatud sperma kasutamine vähendada isaskalade arvu sugukarjas. Krüogeenipanga loomine ja pidamine eeldab vastava infrastruktuuri olemasolu ja personali väljaõpet RMK Põlula kalakasvatustalituses, millega alustati 2016. aastal. Kunda lõhe asenduskarja 2016. aastal koorunud 3+ isaskalade spermat sügavkülmutati esmakordselt 2019. aastal, kasutades selleks Kehtna seemendusjaama laboratooriumi infrastruktuuri. Geograafilise kauguse tõttu oleks siiski otstarbekam vastav struktuur välja arendada kohapeal PKK-s.

Meie poolt esmakordselt 2019. a. rakendatud Y-kromosoomi spetsiifilise geneetilise markeri abil on võimalik määrata lõhe asenduskarja kalade sugupoolt ka mittesuguküpsetel isenditel, kelle fenotüübiline sugu pole visuaalselt määratav. See võimaldab optimeerida sugukarja

sugulist vahetorda varasemalt kui seni ning säästa sellega sugukarja pidamiseks vajalikke ressursse.

Kuna Pärnu jõe lõhe ja poolsiirdesiia populatsioonide taastootmisel on probleemiks olnud jõest kättesaadavate sugukalade väike arv (siia puhul eelkõige emaskalade väga väike arv), siis on tõsine oht, et väikese arvu sugukalade kasutamisega taastootmiseks kaasneb inbriidingukoefitsiendi oluline suurenemine ja haruldaste alleelide väga kõrge tõenäosusega kaotsimine. Sellise oluliselt madalama geneetilise muutlikkuse ja kõrgendatud inbriidingukoefitsiendiga järglaskonna kalade asustamine mõjutab negatiivselt ka Pärnu jõe lõhe- ja siiapopulatsiooni genofondi ja tekitab kasu asemel pigem kahju. Kui Pärnu jõest ei õnnestu püüda piisavat arvu lõhe sugukalu, siis tuleks asustatavate noorkalade tootmiseks kindlasti täiendavalt kasutada suuremat arvu PKK Daugava sugukarja kalu. Pärnu jõe poolsiirdesiia sugukarja kalade edaspidisel kasutamisel tuleks kindlasti paaritada neid jõest püütud sugukaladega (mitte paaritada kalu aastakäigu sees ega ka aastakäikude vahel, sest aastakäikude geneetiline muutlikkus on väga madal), kusjuures kindlasti tuleks kasutada palju suuremat arvu sugukalu ehk tagada paljundamisel suurem efektiivse sugukarja suurus.

PKK-s kasutatakse erinevate lõhe- ja siiapopulatsioonide taastootmiseks nii loodusest püütud sugukalu kui sugukarjade erinevaid aastakäike erinevates kombinatsioonides ja erineval arvul, viljastades ühe emaskala marja ühe või mitme isaskala niisaga. Et hinnata kasutatud paljundamismeetodite tegelikku mõju järglaskonna geneetilisele mitmekesisusele, oleks vaja lisaks loodusest püütavate sugukalade ja sugukarja erinevate aastaklasside geneetilise mitmekesisuse seirele teha ka igal aastal asustamiseks toodetud järglaskonna (vastset või 0+) geneetilise mitmekesisuse seiret.

## 2. RMK Põlula Kalakasvanduse Kunda lõhe sugukarja geneetilise mitmekesisuse eesmärgil 2021. aastal Kunda jõest püütud sugukalade ja kääbusisaste geneetilise mitmekesisuse ja kvaliteedi analüüs

2021. a. sügisel saadi PKK-st Kunda jõest püütud 12 emassugukala, 6 isassugukala ja 62 varasuguküpse nn. "kääbusisase" koeproovid. Geneetilise puhtuse ja kvaliteedi analüüs näitas, et üks Kunda jõest püütud isaskala (geneetika proovi nr. 16), kelle niisaga viljastati Kunda jõest püütud 10.07 kg emaskala mari (geneetikaproov nr. 4) oli lõhe ja meriforelli hübriid. Triploidseid isendeid uuritud kalade seas ei esinenud. Küll aga olid 6 fenotüübiliselt kääbusisasteks määratud lõhet (geneetikaproovi numbrid 11, 17, 28, 42, 43 ja 45) genotüübiliselt hoopis emased. Nendest 5 isendi puhul oli PKK andmetabelis ka märgitud, et nad ei andnud niiska, kuid ühe isendi puhul (nr. 43), mis genotüübiliselt oli justkui emane, on tabelis märgitud, et niiska siiski saadi.

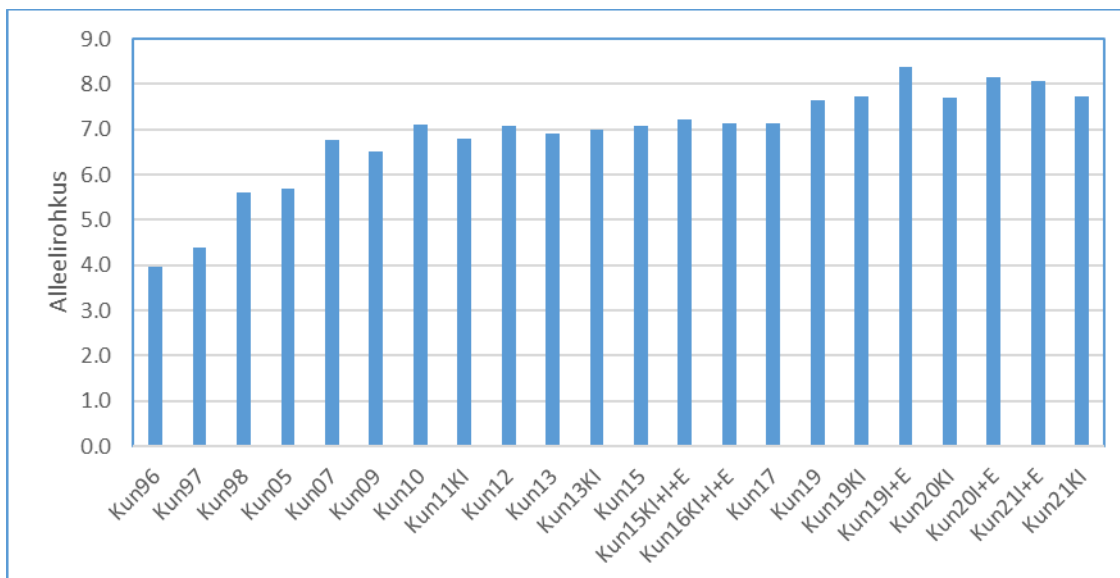
2021. a. püütud Kunda jõe emas- ja isassugukalade alleelirohkus ( $A_r = 8.1$ ) oli mõnevõrra kõrgem kui 2010-2019. a. Kunda jõe noorkalade, sugukalade ja kääbusisaste valimitel ( $A_r$  keskmiselt 7.3) ning identne 2020. a. püütud emas- ja isassugukalade valimiga ( $A_r = 8.1$ ) (tabel 4, joonis 7). Samas oli 2021. a. püütud sugukalade valimi tegelik heterosügootsus ( $H_o = 0.74$ ) samasugune eelnimetatud valimitega ( $H_o$  keskmiselt 0.74) (tabel 4, joonis 8). 2021. a. püütud kääbusisaste valimi alleelirohkus ( $A_r = 7.7$ ) ja tegelik heterosügootsus ( $H_o = 0.74$ ) olid sarnased 2019. ja 2020. aasta kääbusisaste valimitega ( $A_r = 7.7$ ,  $H_o = 0.75-0.76$ ) (tabel 4, joonised 7 ja 8).

Aastatel 2010-2021 Kunda jõest püütud noorkalade, emas- ja isassugukalade ning kääbusisaste üldine geneetiline diferentseeritus on madal ( $F_{ST} = 0.013$ ), mis näitab, et alleelisageduste ajaline muutlikkus ei ole väga suur ja sellest tingitud variatsioon moodustab vaid 1.3% kogu geneetilisest variatsioonist. 2021. a. kogutud emas- ja isassugukalade (Kun21I+E) diferentseeritus varasemate aastate (2010-2020) noorkalade, emas- ja isassugukalade ning kääbusisaste valimitest on 0.000-0.020 (keskmiselt 0.006) ning 2021. a. kogutud kääbusisaste (Kun21KI) diferentseeritus varasemate aastate valimitest on 0.000-0.026 (keskmiselt 0.009).

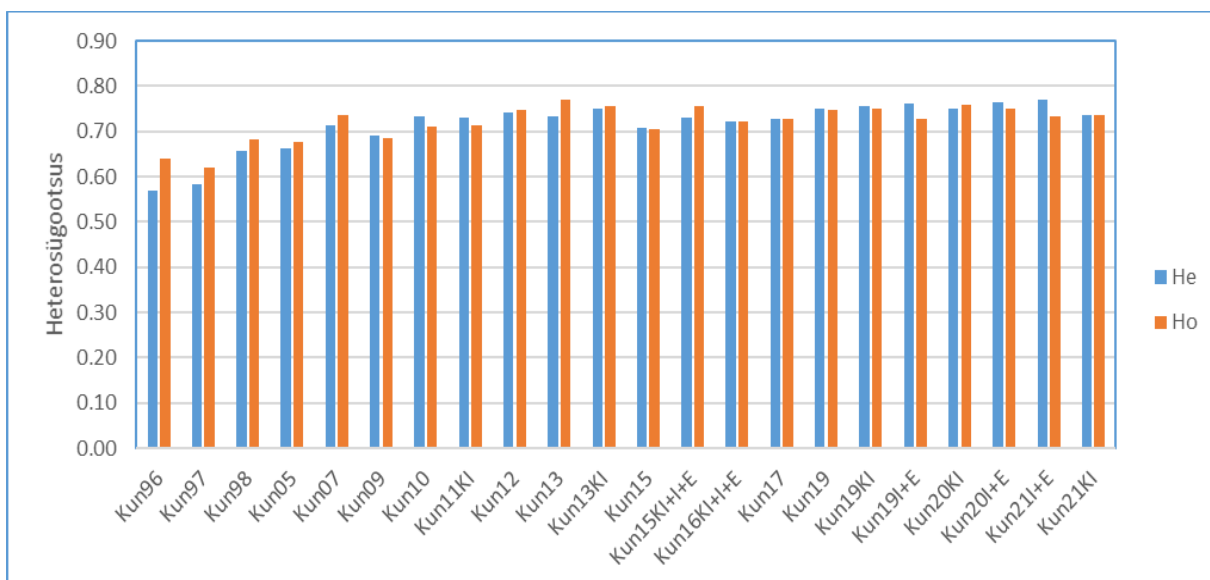
Inbriidingukoefitsiendi  $F_{IS}$  väärtused on läbi aastate püsinud stabiilsena ja ei erine usaldusväärselt nullist (tabel 2). Kunda jõe 2019-2021 sugukalade ja kääbusisaste genotüübisagedused vastavad ka Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile. Seega sobivad Kunda jõest püütud emas- ja isassugukalad ja kääbusisased PKK Kunda lõhekarja genofondi muutlikkuse säilitamiseks ja täiendamiseks.

Tabel 4. Kunda lõhe 1996-2021 valimite geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelide rohkus,  $H_e$  ja  $H_o$  – oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  – inbriidingukoefitsient,  $P_{HWE}$  – genotüübisageduste Hardy-Weinbergi tasakaalust kõrvalekalde olulisus). KI – kääbusisased, I – isased ja E – emased sugukalad

Aasta	Tähis	n	A	$A_r$	$H_e$	$H_o$	$F_{IS}$	$P_{HWE}$
2010	Kun10	21	7.7	7.1	0.73	0.71	0.029	ns
2011	Kun11KI	59	8.7	6.8	0.73	0.71	0.023	ns
2012	Kun12	63	9.8	7.1	0.74	0.75	-0.009	<0.001
2013	Kun13	60	8.8	6.9	0.73	0.77	-0.049	ns
2013	Kun13KI	43	8.6	7.0	0.75	0.76	-0.007	<0.001
2015	Kun15	49	9.4	7.1	0.71	0.71	0.004	ns
2015	Kun15KI+I+E	53+8+5	9.8	7.2	0.73	0.76	-0.035	ns
2016	Kun16KI+I+E	49+7+2	9.4	7.1	0.72	0.72	-0.001	<0.001
2017	Kun17	51	8.6	7.1	0.73	0.73	-0.002	<0.001
2019	Kun19	51	9.9	7.6	0.75	0.75	0.004	<0.05
2019	Kun19KI	36	9.5	7.7	0.76	0.75	0.008	ns
2019	Kun19I+E	9+10	8.8	8.4	0.76	0.73	0.045	ns
2020	Kun20KI	57	10.0	7.7	0.75	0.76	-0.012	ns
2020	Kun20I+E	11+9	8.8	8.1	0.76	0.75	0.020	ns
2021	Kun21I+E	5+11	8.1	8.1	0.77	0.73	0.047	ns
2021	Kun21KI	62	10.6	7.7	0.74	0.74	-0.001	ns



Joonis 7. Kunda lõhe 1996-2021 valimite alleelirohkus.



Joonis 8. Kunda lõhe 1996-2021 valimite keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosügootsus.



### **3. RMK Põlula Kalakasvanduse Daugava/Pärnu päritolu lõhe sugukarja geneetilise mitmekesistamise eesmärgil 2021. aastal Pärnu jõest püütud lõhe sugukalade geneetilised iseärasused**

2021. aastal koguti PKK poolt Pärnu jõest püütud 13 lõhe sugukala (8 emas- ja 5 isaskala) koeproovid. Nende geneetiliste iseärasuste välja selgitamiseks kasutasime võrdlusena aastatel 1997-2020 Pärnu ja Liivi lahe lõhepopulatsioonidest (Pärnu, Daugava, Gauja, Salaca, Venta) kogutud noor- ja sugukalade materjali ning Daugava/Pärnu lõhe sugukarja 2014, 2015 ja 2018 aastakäikude andmeid (tabel 5).

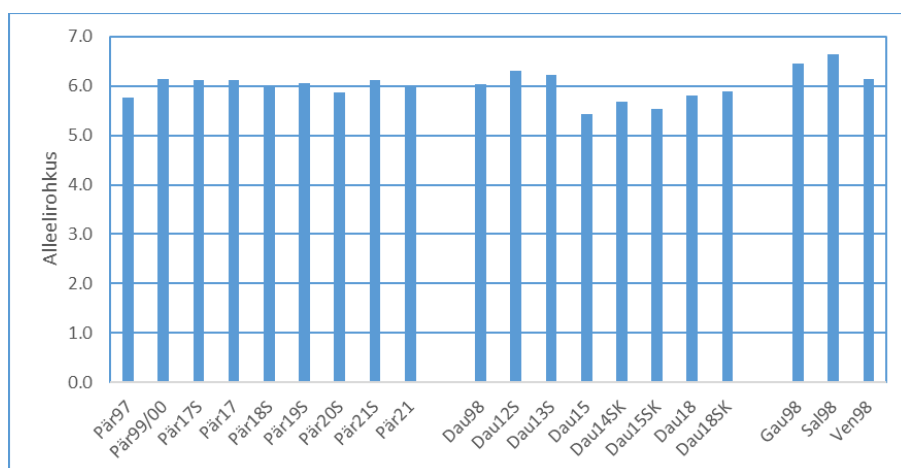
Pärnu jõest 2021. aastal püütud lõhe sugukalade (Pär21S) alleelirohkus ( $A_r = 6.0$ ) on sarnane 2017-2020 püütud sugukalade ( $A_r = 5.9-6.1$ ) ja Pärnu jõe 1997., 1999/2000. ja 2017. a. noorkala valimite ( $A_r = 5.8-6.1$ ) alleelirohkusega. Võrreldes Daugava lõhega on Pär21S alleelirohkus sarnane Daugava 1998. ja 2018. a. noorkalade valimitega ja Daugava sugukarja 2018. aastakäiguga ( $A_r = 5.8-6.0$ ), kuid veidi kõrgem kui Daugava 2015.a. noorkalade valimil ning Daugava sugukarja 2014. ja 2015. aastakäigu kaladel ( $A_r = 5.4-5.7$ ; tabel 5 ja joonis 9). Pär21S sugukalade tegelik heterosügootsus ( $H_o = 0.70$ ) ei erinenud oluliselt Pärnu ja Liivi lahe Läti populatsioonide varasematest sugu- ja noorkalade valimitest ( $H_o = 0.67-0.74$ ; tabel 5 ja joonis 10). Pär21S sugukalade inbriidingukoefitsient  $F_{IS}$  ei erinenud statistiliselt oluliselt nullist ja genotüübisagedused vastasid Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile (tabel 5). Hübriidseid ja triploidseid isendeid Pär21S sugukalade seas ei esinenud.

Kokku kasutati PKK-s 2021. a. sügisel viljastamiseks 8 Pärnu jõest püütud emaskala, kelle mari viljastati 16 isaskala niisaga (neist 5 Pärnu jõest püütud isast ja 11 Daugava sugukarja 2018. aastakäigu isast). Lisaks viljastati PKK Daugava sugukarja 2014. ja 2015. aastakäigu 57 emaskala mari 57 isaskala niisaga. Seega kasutati Pärnu lõhepopulatsiooni taastootmiseks kokku 65 emaskala ja 73 isaskala, mis annab efektiivseks populatsiooni suuruseks 138 kala. Sellise efektiivse populatsiooni suurusega kaasneb järglaskonna inbriidingukoefitsiendi oodatav suurenemine 0.4% võrra, mis on aktsepteeritav.

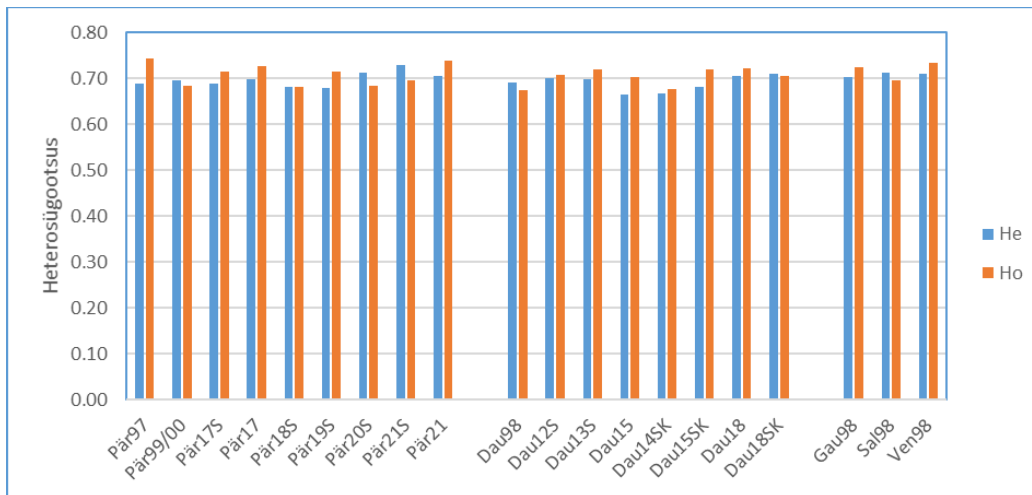
Tabel 5. Pärnu jõe ja Liivi lahe lõhepopulatsioonide geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelirohkus,  $H_e$  ja  $H_o$  – oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  – inbriidingukoefitsient,  $P_{HWE}$  – genotüübisageduste Hardy-Weinbergi tasakaalust kõrvalekalde olulisus).

Populatsioon	Proovi kogumise aasta	Tähis	$n$	$A$	$A_r$	$H_e$	$H_o$	$F_{IS}$	$P_{HWE}$
Pärnu	1997	Pär97	24	6.6	5.8	0.69	0.74	-0.082	<0.001
	1999, 2000	Pär99/00	37	8.1	6.1	0.70	0.68	0.016	ns
	2017	Pär17S	24	7.1	6.1	0.69	0.72	-0.039	ns
	2017	Pär17	96	8.7	6.1	0.70	0.73	-0.042	<0.01
	2018	Pär18S	37	7.7	6.0	0.68	0.68	0.000	ns
	2019	Pär19S	15	6.3	6.1	0.68	0.72	-0.054	ns
	2020	Pär20S	19	6.4	5.9	0.71	0.68	0.040	ns
	2021	Pär21S	13	6.1	6.1	0.73	0.70	0.046	ns
	2021	Pär21	53	7.5	6.0	0.70	0.74	-0.050	ns
Daugava	1998	Dau98	86	8.9	6.0	0.69	0.67	0.023	ns
	2012	Dau12S	44	8.4	6.3	0.70	0.71	-0.010	ns
	2013	Dau13S	36	7.8	6.2	0.70	0.72	-0.033	ns
	2015	Dau15	88	7.3	5.4	0.66	0.70	-0.059	<0.001
	2017	Dau14SK	141	7.6	5.7	0.67	0.68	-0.016	<0.01
	2018	Dau15SK	135	7.5	5.5	0.68	0.72	-0.057	<0.001
	2018	Dau18	100	7.8	5.8	0.70	0.72	-0.025	ns
	2021	Dau18SK	317	8.6	5.9	0.71	0.71	0.007	<0.001
Gauja	1998	Gau98	50	8.7	6.5	0.70	0.73	-0.031	ns
Salaca	1998	Sal98	50	9.1	6.6	0.71	0.70	0.024	ns
Venta	1998	Ven98	49	7.4	6.1	0.71	0.73	-0.032	ns

S – jõest pütud sugukalad, SK – sugukari Põlulas



Joonis 9. Pärnu jõest pütud lõhe sugukalade, Daugava lõhe sugukarja aastaklasside ja Läti Liivi lahe lõhepopulatsioonide alleelirohkus.



Joonis 10. Pärnu jõest püütud lõhe sugukalade, Daugava lõhe sugukarja aastaklasside ja Läti Liivi lahe lõhepopulatsioonide keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosügootsus.

#### **4. Pärnu jõest 2021.a. püütud hõredapiilise siirdesiia sugukalade geneetilised iseärasused**

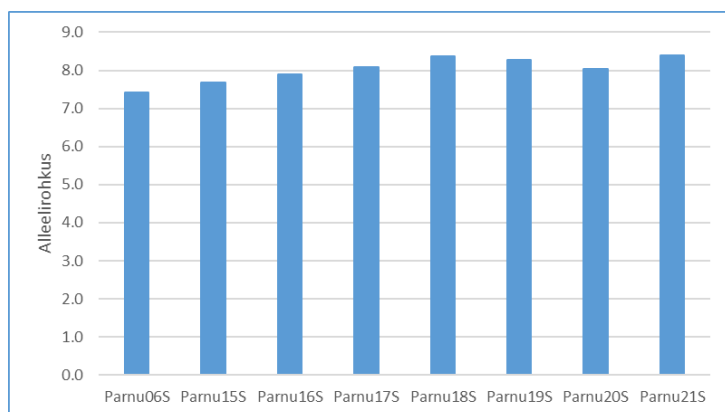
2021.a. uuringu raames saime PKK-st Pärnu jõest püütud 117 hõredapiilise poolsiirdesiia sugukala proovid, kellest 4 isendi koeproovid olid tugevalt kontamineeritud, s.t. nendelt eraldatud DNA amplifitseerimisel esines uuritud markerlookustes rohkem kui 2 alleeli ehk mitme isendi alleelide segu. See näitab, et koeproovide kogumisel ei järgitud piisavalt töövahendite hoolika puhastamise nõuet. Nende 4 isendi genotüübid eemaldati andmeanalüüsist.

Pärnu jõest 2021. a. püütud hõredapiilise siirdesiia sugukalade alleelirohkus ( $A_r = 8.4$ ) oli sarnane 2018. ja 2019. aastal püütud sugukalade valimitega ( $A_r = 8.4-8.4$ ) ja veidi kõrgem kui 2006., 2015-2017 ja 2020. a. valimitel ( $A_r = 7.4-8.1$ ) (tabel 6, joonis 11). Samas ei erinenud Pär2021S tegelik heterosügootsus oluliselt Pärnu jõest varasematel aastatel kogutud valimitest (tabel 6, joonis 12), mis näitab, et Pärnu siirdesiia geneetiline muutlikkus on ajaliselt suhteliselt stabiilne. Seda toetab ka Pärnu jõest püütud sugukalade erinevate aastate valimite vahelist geneetilist diferentseerumist iseloomustava  $F_{ST}$  indeksi madal väärtus 0.022. Samuti ei erinenud kõigi Pärnu jõest püütud siirdesiia sugukalade valimite inbriidingukoefitsient statistiliselt oluliselt nullist ning 2018-2021 sugukala valimite genotüübisagedused vastasid Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile (tabel 6). Seega esindasid 2021. a. kogutud sugukalad hästi Pärnu siirdesiia geneetilist muutlikkust ja sobivad taastootmiseks.

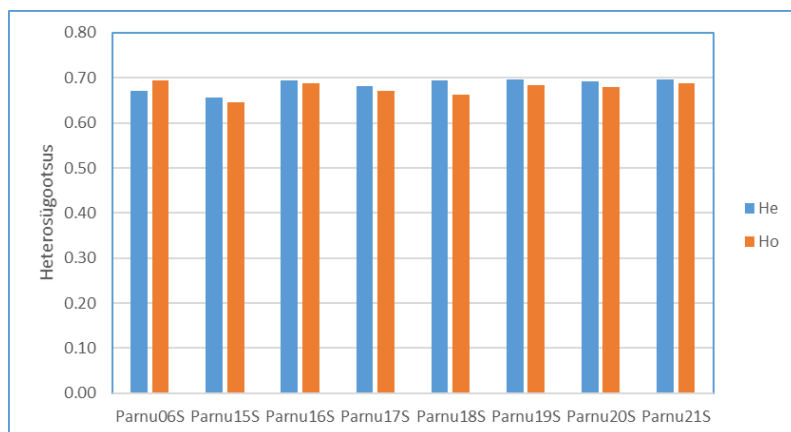
Kokku kasutati PKK-s 2021. a. sügisel viljastamiseks 18 Pärnu jõest püütud emaskala, kelle mari viljastati 46 Pärnu jõest püütud isaskala niisaga. Lisaks viljastati PKK Pärnu siirdesiia sugukarja 2016. aastakäigu 7 emaskala mari 7 isaskala niisaga. Seega kasutati Pärnu poolsiirdesiia taastootmiseks kokku 25 emaskala ja 53 isaskala, mis annab efektiivseks populatsiooni suuruseks 68 kala. Sellise efektiivse populatsiooni suurusega kaasneb järglaskonna inbriidingukoefitsiendi oodatav suurenemine 0.7% võrra, mis on enamvähem aktsepteeritav.

Tabel 6. Pärnu jõe hõredapiilise siirdesiia sugukalade valimite geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelide rohkus,  $H_e$  ja  $H_o$  – oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  – inbriidingukoeffitsient,  $P_{HWE}$  – genotüübisageduste Hardy-Weinbergi tasakaalust kõrvalekalde olulisus).

Populatsioon	Proovi kogumise aasta	Tähis	$n$	$A$	$A_r$	$H_e$	$H_o$	$F_{IS}$	$P_{HWE}$
Pärnu jõgi	2006	Parnu06S	40	8.2	7.4	0.67	0.70	-0.036	ns
	2015	Parnu15S	41	8.6	7.7	0.66	0.65	0.017	ns
	2016	Parnu16S	25	7.9	7.9	0.69	0.69	0.009	<0.05
	2017	Parnu17S	51	9.4	8.1	0.68	0.67	0.017	<0.05
	2018	Parnu18S	60	9.9	8.4	0.69	0.66	0.046	ns
	2019	Parnu19S	124	10.4	8.3	0.70	0.68	0.017	ns
	2020	Parnu20S	101	10.3	8.0	0.69	0.68	0.018	ns
	2021	Parnu21S	113	11.1	8.4	0.70	0.69	0.011	ns



Joonis 11. Pärnu hõredapiilise siirdesiia sugukala valimite alleelirohkus



Joonis 12. Pärnu hõredapiilise siirdesiia sugukala valimite keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosügootsus.

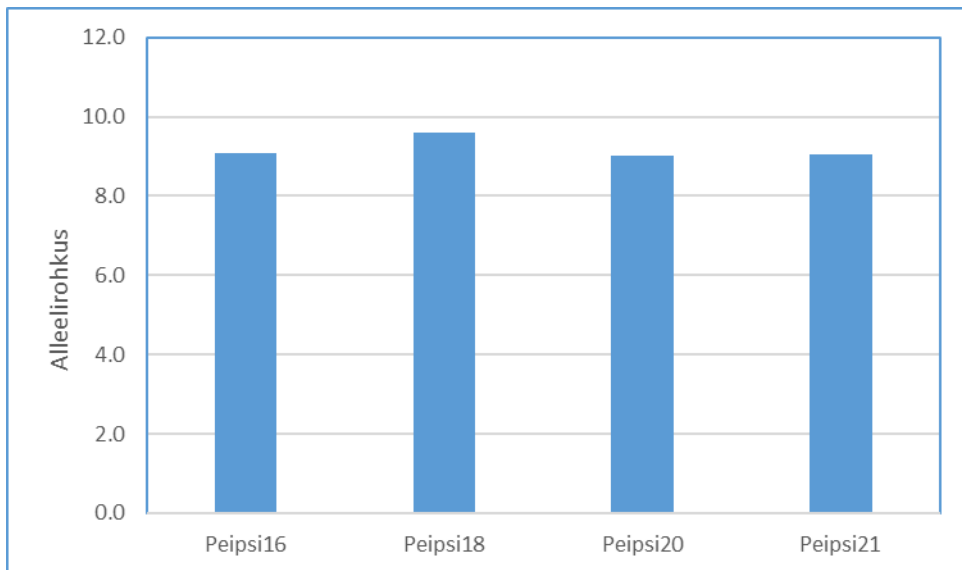
## 5. Peipsi järvest 2021. a. püütud siia sugukalade geneetilised iseärasused

2021. a. uuringu raames saime PKK-st Peipsi järvest püütud siia 104 sugukala (42 emast ja 62 isast) proovid. Neist 3 isendi proovid osutusid kontamineerituks ja jäeti analüüsist välja. Võrdlusmaterjalina kasutasime peipsi siia 2016., 2018. ja 2020. aastal Peipsi järvest püütud valimeid (tabel 7). Peipsi siia sugukalade 2021. a. valimi alleelirohkus ( $A_r = 9.0$ ) oli sarnane 2016. ja 2020. valimitega ( $A_r = 9.0-9.1$ ) ja veidi madalam kui 2018. a. valimil ( $A_r = 9.6$ ) (tabel 7, joonis 13). 2021. a. valimi tegelik heterosügootsus ( $H_o = 0.75$ ) oli sarnane 2018. ja 2020. a. valimitega ( $H_o = 0.74-0.75$ ) ja veidi kõrgem kui 2016. a. valimil ( $H_o = 0.70$ ) (tabel 7, joonis 14). See näitab, et peipsi siia geneetiline muutlikkus on ajaliselt suhteliselt stabiilne. Seda toetab ka erinevate aastate valimite vahelist geneetilist diferentseerumist iseloomustava  $F_{ST}$  indeksi madal väärtus 0.001. Samuti ei erinenud kõigi peipsi siia valimite inbriidingukoefitsient statistiliselt oluliselt nullist ning 2018-2021 sugukala valimite genotüübisagedused vastasid Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile (tabel 7).

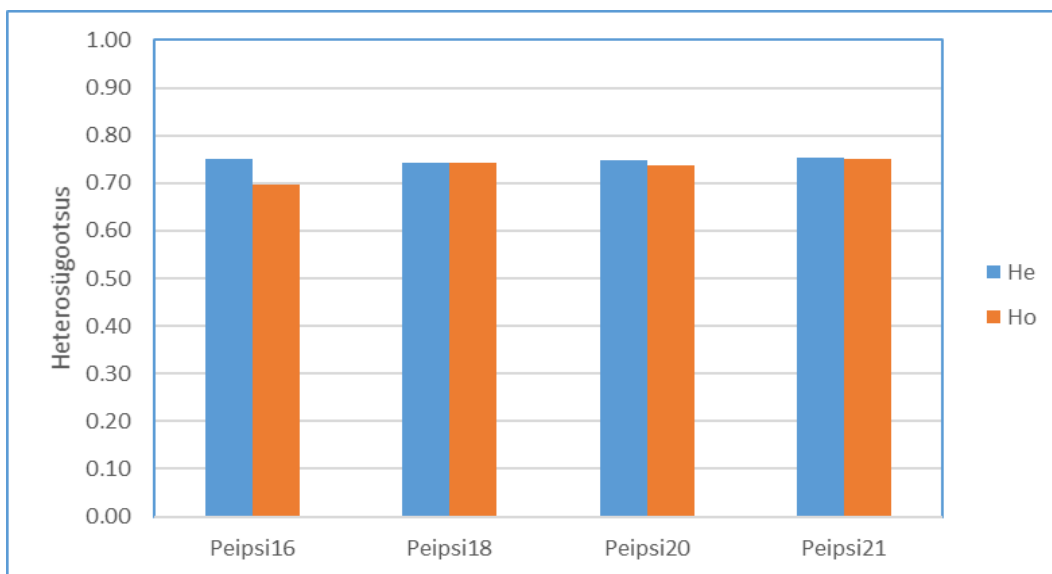
Kokku kasutati PKK-s 2021. a. sügisel viljastamiseks 41 Peipsist püütud emaskala, kelle mari viljastati 53 isaskala niisaga. See annab efektiivseks populatsiooni suuruseks 92 kala, millega kaasneb järglaskonna inbriidingukoefitsiendi oodatav suurenemine 0.5% võrra, mis on aktsepteeritav.

Tabel 7. Peipsi siia valimite geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelide rohkus,  $H_e$  ja  $H_o$  – oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  – inbriidingukoefitsient,  $P_{HWE}$  – genotüübisageduste Hardy-Weinbergi tasakaalust kõrvalekalde olulisus.

Populatsioon	Proovi		$n$	$A$	$A_r$	$H_e$	$H_o$	$F_{IS}$	$P_{HWE}$
	kogumise aasta	Tähis							
Peipsi	2016	Peipsi16	38	10.1	9.1	0.75	0.70	0.072	<0.05
	2018	Peipsi18	28	9.7	9.6	0.74	0.74	0.001	ns
	2020	Peipsi20	286	15.4	9.0	0.75	0.74	0.015	ns
	2021	Peipsi21	101	12.7	9.0	0.75	0.75	0.005	ns
<b>Keskmine</b>				<b>12.0</b>	<b>9.2</b>	<b>0.75</b>	<b>0.73</b>	<b>0.023</b>	



Joonis 13. Peipsi siia valimite alleelirohkus.

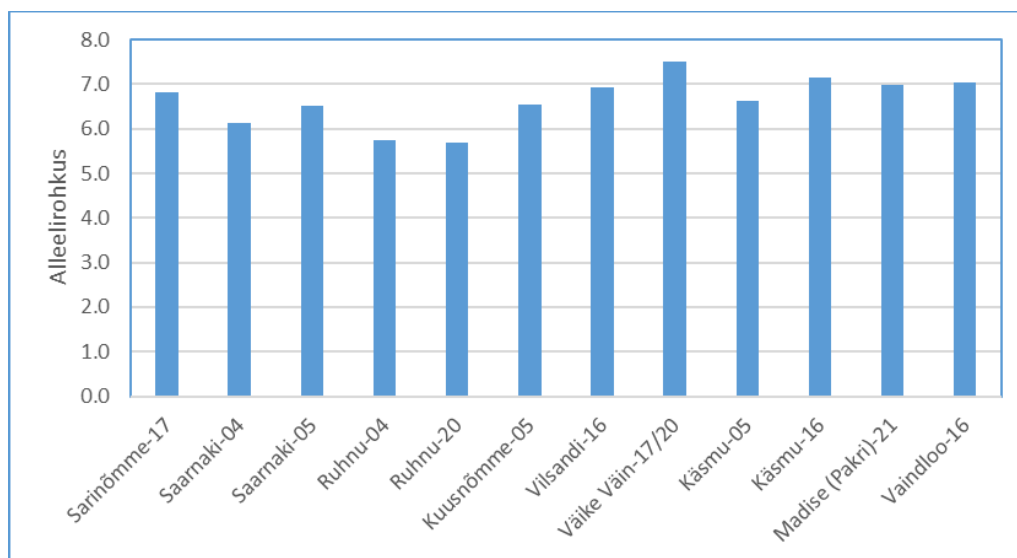


Joonis 14. Peipsi siia valimite keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosügootsus.

## 6. Mereskudeva siia 2021. a. püütud sugukalade geneetilised iseärasused

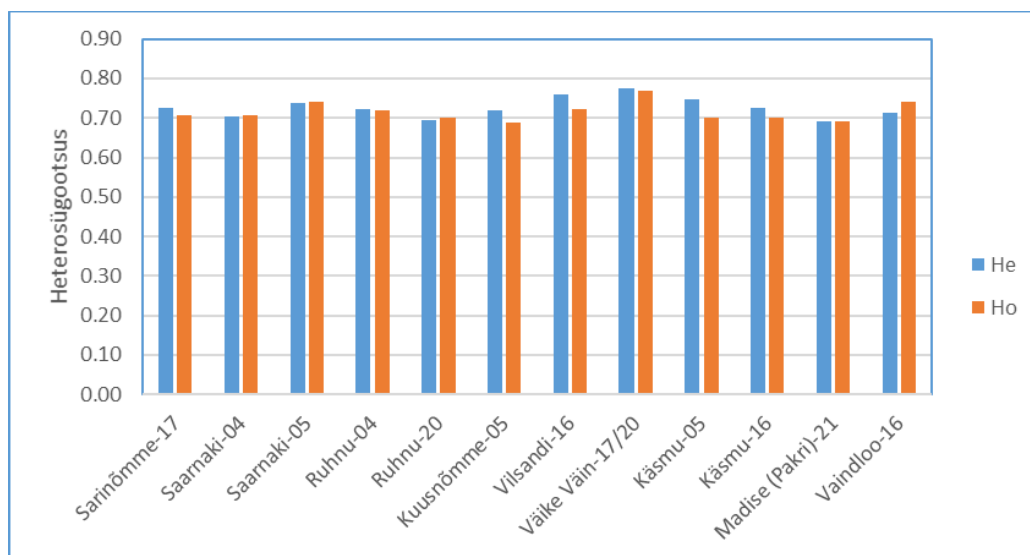
2021. a. uuringu raames saime PKK-st 11 mereskudeva siia sugukala (5 emast ja 6 isast) proovid, mis olid kogutud Soome lahe Madise püügipunktist Pakri saare lähedal ja keda kasutati Põlulas 2021. a. sügisel mereskudeva siia paljundamiseks. Lisaks saime Lauri Saksa käest 43 mereskudeva siia proovid, mis olid kogutud Hiiumaa rannikult, Ruhnus saare ümbrusest ja Väiksest väinast aastatel 2017-2021. Võrdlusmaterjalina kasutasime ka varasemalt Soome ja Liivi lahest kogutud mereskudeva siia valimeid (tabel 8.).

Uuritud valimite alleelirohkus varieerus 5.7-7.5 ja tegelik heterosügootsus 0.69-0.77 (tabel 8, joonised 15 ja 16). Kõige madalam alleelirohkus oli Ruhnu 2004. ja 2020. aasta valimites ( $A_r = 5.7$ ) ja kõige kõrgem Väikse väina 2017. ja 2020. a. valimites ( $A_r = 7.5$ ). Madise (Pakri) 2021. a. valimi alleelirohkus ( $A_r = 7.0$ ) oli sarnane teiste Soome lahe valimitega (Vaindloo  $A_r = 7.0$ , Käsmu 2016  $A_r = 7.2$ ). Soome lahe siiapopulatsioonidel on kesmiselt kõrgem alleelirohkus kui Liivi lahe ja Lääne-Eesti saarte mereskudevatel siiapopulatsioonidel ( $A_r$  vastavalt 7.0 ja 6.5). Samas oli tegelik heterosügootsus mõlemas piirkonnas sarnane ( $H_o$  vastavalt 0.71 ja 0.72). Madise (Pakri) 2021. a. valimi tegelik heterosügootsus on sarnane Käsmu valimitega (tabel 8, joonis 16).



Joonis 15. Mereskudeva siia valimite alleelirohkus





Joonis 16. Mereskudeva siia valimite keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosügootsus

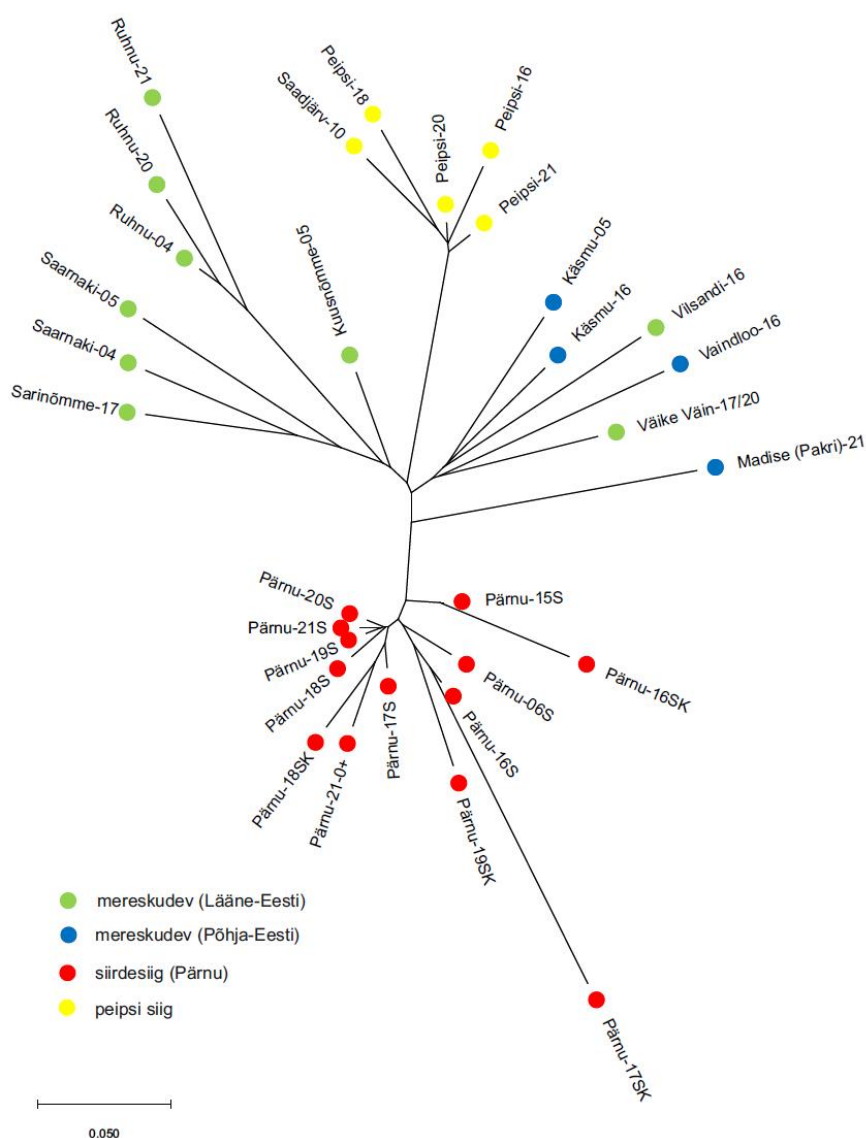
Tabel 8. Mereskudeva siia valimite geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelide rohusus,  $H_e$  ja  $H_o$  – oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  - inbriidingukoefitsient).

Populatsioon	Piirkond	Proovi kogumise aasta	Tähis	$n$	$A$	$A_r$	$H_e$	$H_o$	$F_{IS}$
Sarinõmme	Hiiumaa	2017	Sarinõmme-17	17	8.4	6.8	0.72	0.71	0.026
Saarnaki	Hiiumaa	2004	Saarnaki-04	14	6.9	6.1	0.70	0.71	-0.004
		2005	Saarnaki-05	10	6.5	6.5	0.74	0.74	-0.005
Ruhnu	Liivi laht	2004	Ruhnu-04	50	8.6	5.7	0.72	0.72	0.006
		2020	Ruhnu-20	30	7.9	5.7	0.69	0.70	-0.008
Kuusnõmme	Saaremaa	2005	Kuusnõmme-05	41	10.2	6.5	0.72	0.69	0.043
Vilsandi	Saaremaa	2016	Vilsandi-16	13	7.7	6.9	0.76	0.72	0.051
Väike väin	Väike väin	2017, 2020	Väike Väin-17/20	16	9.3	7.5	0.77	0.77	0.007
Käsmu	Soome laht	2005	Käsmu-05	17	8.1	6.6	0.75	0.70	0.064
		2016	Käsmu-16	17	9.1	7.2	0.72	0.70	0.034
Madise	Soome laht	2021	Madise(Pakri)-21	11	7.3	7.0	0.69	0.69	-0.001
Vaindloo	Soome laht	2016	Vaindloo-16	12	7.6	7.0	0.71	0.74	-0.041

Mereskudeva siia populatsioonide üldine diferentseeritus on madal ( $F_{ST} = 0.031$ ). Madise (Pakri) 2021. a. valimi diferentseeritust teistest Soome lahe mereskudeva siia valimitest on 0.022-0.036 (statistiliselt mitte oluline) ning Liivi lahe ja Lääne-Eesti saarte mereskudevatest siipopulatsioonidest 0.017-0.047 (statistiliselt oluline vaid Ruhnu ja Saaremaa ranniku valimitest, aga mitte Hiiumaa ja Väikse väina valimitest). Nei  $D_a$  geneetilise distantssi põhjal konstrueeritud dendrogrammil eristuvad üksteisest selgelt Lääne-Eesti saarte populatsioonid,

Pärnu poolsiirdesiia valimid ja Peipsi siia valimid (joonis 17). Soome lahe Käsma ja Vaindloo valimitega klasterduvad kokku Vilsandi ja Väike väina valimid ning Madise (Pakri) valim moodustab eraldi haru (joonis 17).

PKK-s kasutati 2021. a. sügisel viljastamiseks 5 Pakri saare piirkonnast (Madise) püütud mereskudeva siia emaskala marja, kes viljastati 5 isase niisaga. See annab efektiivseks populatsiooni suuruseks vaid 10 kala, millega kaasneb järglaskonna inbriidingukoefitsiendi oodatav suurenemine 5% võrra ja väga kõrge haruldaste alleelide kaotamise tõenäosus, mis ei ole geneetilise mitmekesisuse kaitse seisukohalt kuidagi aktsepteeritav.



Joonis 17. Eesti siiapopulatsioonide dendrogramm Nei  $D_a$  geneetilise distantsi põhjal

## 7. Pärnu jõkke asustatavate lõhe ja siirdesiia noorkalade (maimud või 0+ kalad) kvaliteedi ja geneetilise muutlikkuse taseme hindamine

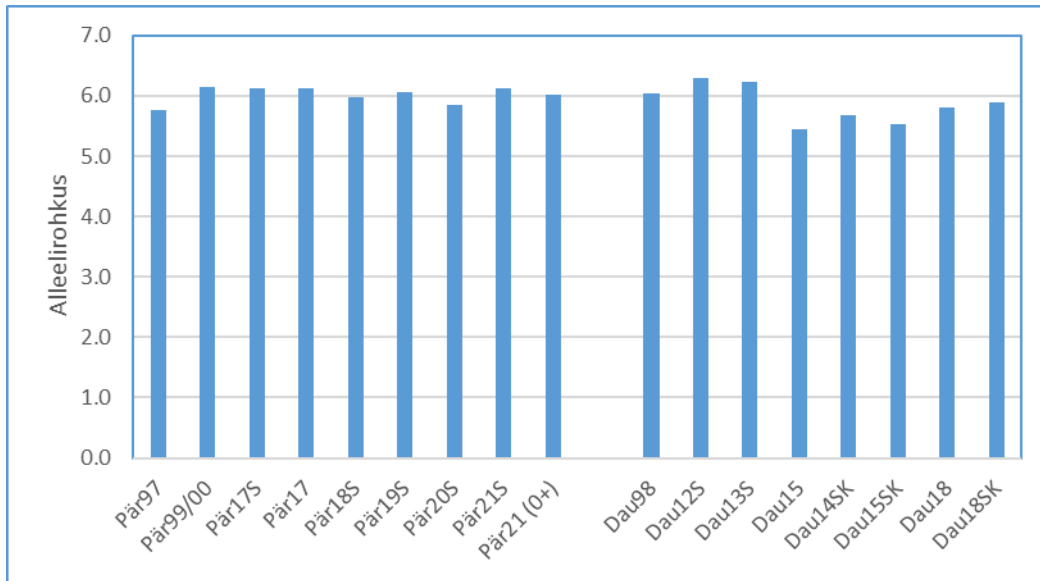
### 7.1. Pärnu jõkke asustatavate lõhe noorkalade kvaliteet ja geneetiline muutlikkus

Pärnu jõkke asustatavate lõhe samasuviste noorkalade valimi (53 tk., koorunud 2021. a.) geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad (alleelirohkus ja heterosügootsus) olid sarnased Pärnu jõest 2021 ja varasematel aastatel püütud sugu- ja noorkala valimitega (tabel 9, joonised 18 ja 19). Noorkalade valimi inbriidingukoefitsient ei erinenud statistiliselt oluliselt nullist ja genotüübisagedused vastasid Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile (tabel 9). Triploide ja hübriidseid isendeid ei esinenud. Seetõttu on 2021. a. koorunud lõhe noorkalad igati kvaliteetsed ja piisava geneetilise mitmekesisusega.

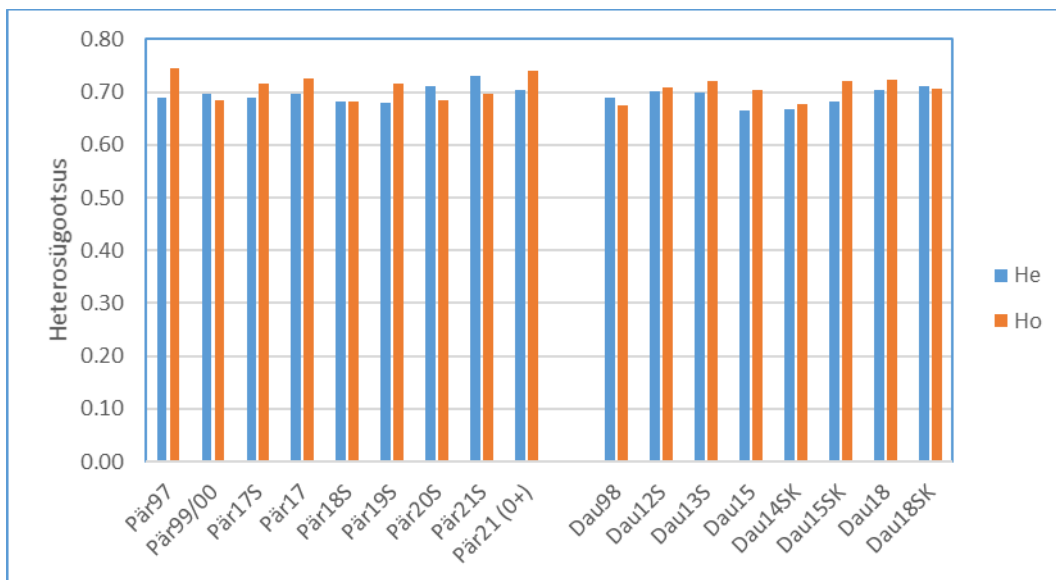
Tabel 9. Pärnu ja Daugava lõhepopulatsioonide valimite geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelirohkus,  $H_e$  ja  $H_o$  – oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  – inbriidingukoefitsient,  $P_{HWE}$  – genotüübisageduste Hardy-Weinbergi tasakaalust kõrvalekalde olulisus).

Populatsioon	Proovi kogumise aasta	Tähis	$n$	$A$	$A_r$	$H_e$	$H_o$	$F_{IS}$	$P_{HWE}$
Pärnu	1997	Pär97	24	6.6	5.8	0.69	0.74	-0.082	<0.001
	1999, 2000	Pär99/00	37	8.1	6.1	0.70	0.68	0.016	ns
	2017	Pär17S	24	7.1	6.1	0.69	0.72	-0.039	ns
	2017	Pär17	96	8.7	6.1	0.70	0.73	-0.042	<0.01
	2018	Pär18S	37	7.7	6.0	0.68	0.68	0.000	ns
	2019	Pär19S	15	6.3	6.1	0.68	0.72	-0.054	ns
	2020	Pär20S	19	6.4	5.9	0.71	0.68	0.040	ns
	2021	Pär21S	13	6.1	6.1	0.73	0.70	0.046	ns
	2021	Pär21 (0+)	53	7.5	6.0	0.70	0.74	-0.050	ns
Daugava	1998	Dau98	86	8.9	6.0	0.69	0.67	0.023	ns
	2012	Dau12S	44	8.4	6.3	0.70	0.71	-0.010	ns
	2013	Dau13S	36	7.8	6.2	0.70	0.72	-0.033	ns
	2015	Dau15	88	7.3	5.4	0.66	0.70	-0.059	<0.001
	2017	Dau14SK	141	7.6	5.7	0.67	0.68	-0.016	<0.01
	2018	Dau15SK	135	7.5	5.5	0.68	0.72	-0.057	<0.001
	2018	Dau18	100	7.8	5.8	0.70	0.72	-0.025	ns
	2021	Dau18SK	317	8.6	5.9	0.71	0.71	0.007	<0.001

S – jõestpüütud sugukalad, SK – sugukari Põlulas



Joonis 18. Pärnu ja Daugava lõhepopulatsioonide valimite alleelirohkus.



Joonis 19. Pärnu ja Daugava lõhepopulatsioonide valimite keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosügootsus.

## 7.2. Pärnu jõkke asustatavate siirdesiia noorkalade kvaliteet ja geneetiline muutlikkus

Pärnu jõkke asustatavate siirdesiia samasuviste noorkalade valimi (54 tk., koorunud 2021. a.) alleelirohkus ( $A_r = 7.0$ ) oli madalam kui Pärnu jõest 2006-2021 püütud sugukala valimitel ( $A_r = 7.4-8.4$ , keskmiselt 8.0) ja samas kõrgem kui Pärnu poolsiirdesiia sugukarja eri nevatel

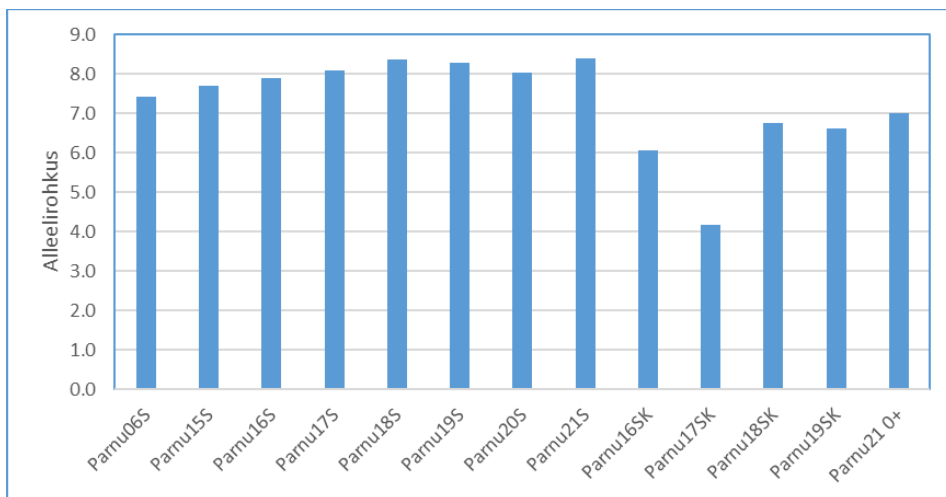
aastakäikudel ( $A_r = 4.2-6.8$ , keskmiselt 5.9) (tabel 10, joonis 18). Noorkalade valimi tegelik heterosügootsus oli sarnane Pärnu jõest 2006-2021 püütud siirdesiia sugukalade valimitega ja sugukarja 2018. ja 2019. aastakäiguga, kuid kõrgem kui sugukarja 2016. ja 2017.

aastakäigul (tabel 10, joonis 19). Noorkalade valimi inbriidingukoefitsient ei erinenud statistiliselt oluliselt nullist, kuid genotüübisageduste kõrvalekalle Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundist oli statistiliselt oluline (tabel 10). Triploide ja hübriidseid isendeid ei esinenud. 2021. a. koorunud siirdesiia noorkalade valim on üldiselt kvaliteetne ja piisava geneetilise mitmekesisusega, kuid ei ole populatsioonigeneetilises tasakaaluseisundis. Selle tõenäoliseks põhjuseks on mitte piisava efektiivse suurusega vanempopulatsioon.

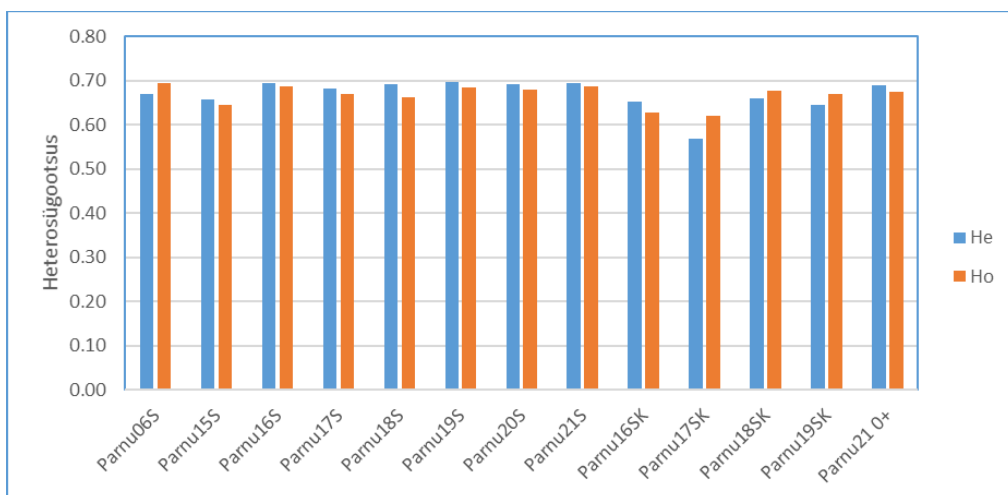
Tabel 10. Pärnu poolsiirdesiia valimite ja sugukarja aastaklasside geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad ( $n$  – isendite arv,  $A$  – keskmine alleelide arv,  $A_r$  – alleelide rohkus,  $H_e$  ja  $H_o$  – oodatav ja tegelik keskmine heterosügootsus,  $F_{IS}$  – inbriidingukoefitsient,  $P_{HWE}$  – genotüübisageduste Hardy-Weinbergi tasakaalust kõrvalekalde olulisus.

Populatsioon	Proovi kogumise aasta	Tähis	$n$	$A$	$A_r$	$H_e$	$H_o$	$F_{IS}$	$P_{HWE}$
Pärnu jõgi	2006	Parnu06S	40	8.2	7.4	0.67	0.70	-0.036	ns
	2015	Parnu15S	41	8.6	7.7	0.66	0.65	0.017	ns
	2016	Parnu16S	25	7.9	7.9	0.69	0.69	0.009	<0.05
	2017	Parnu17S	51	9.4	8.1	0.68	0.67	0.017	<0.05
	2018	Parnu18S	60	9.9	8.4	0.69	0.66	0.046	ns
	2019	Parnu19S	124	10.4	8.3	0.70	0.68	0.017	ns
	2020	Parnu20S	101	10.3	8.0	0.69	0.68	0.018	ns
	2021	Parnu21S	113	11.1	8.4	0.70	0.69	0.011	ns
<b>Keskmine, Pärnu jõgi</b>				<b>9.5</b>	<b>8.0</b>	<b>0.69</b>	<b>0.68</b>	<b>0.012</b>	
Pärnu sugukari	2018	Parnu16SK	124	7.0	6.0	0.65	0.63	0.038	<0.01
	2019	Parnu17SK	45	4.4	4.2	0.57	0.62	-0.091	<0.05
	2021	Parnu18SK	50	7.2	6.8	0.66	0.68	-0.026	<0.001
	2021	Parnu19SK	56	7.4	6.6	0.64	0.67	-0.039	ns
<b>Keskmine, Pärnu sugukari</b>				<b>6.5</b>	<b>5.9</b>	<b>0.63</b>	<b>0.65</b>	<b>-0.030</b>	
<b>Pärnu 0+</b>	<b>2021</b>	<b>Parnu21 0+</b>	<b>54</b>	<b>7.7</b>	<b>7.0</b>	<b>0.69</b>	<b>0.68</b>	<b>0.018</b>	<b>&lt;0.001</b>

S – jõest püütud sugukalad, SK – sugukari, 0+ - jõkke asustatud noorkalad



Joonis 20. Pärnu poolsiirdesiia valimite ja sugukarja aastaklasside alleelirohkus.



Joonis 21. Pärnu poolsiirdesiia valimite ja sugukarja aastaklasside keskmine oodatav ( $H_e$ ) ja tegelik ( $H_o$ ) heterosüütootsus.

## Kokkuvõte

1. Lepingu raames saime 2021. a. RMK Põlula kalakasvandusest (edapidi PKK) geneetiliseks analüüsiks kokku 928 kala koeproovid, s.h. 70 Kunda lõhe sugukarja asenduskala (koorunud 2018), 318 Daugava lõhe sugukarja asenduskala (koorunud 2018), 80 Kunda jõest püütud lõhe sugukala ja kääbusisast, 13 Pärnu jõest püütud lõhe sugukala, 54 Pärnu jõkke asustatud lõhe noorkala (koorunud 2021), 107 Pärnu siirdesiia sugukarja asenduskala (50 tk. koorunud 2018 ja 57 tk. koorunud 2019), 117 Pärnu jõest püütud siirdesiia sugukala, 54 Pärnu jõkke asustatud siirdesiia noorkala (koorunud 2021), 104 Peipsi järvest püütud siia sugukala ja 11 meres kudeva siia (Madise punkt Soome lahes) sugukala. Lisaks saime TÜ Eesti Mereinstituudist võrdluseks 72 meres kudeva siia sugukala koeproovid. Kokku määrati mikrosatelliitmarkerite genotüübid 1000 kalal, sealhulgas 535 lõhel ja 465 siial.
2. Kunda jõe päritolu lõhe 2018. a. koorunud asenduskarja (Kun18S) kalade alleelirohkus on sarnane 2011. a. ja 2014-2017. a. koorunud aastakäikudega ning keskmine oodatav ja tegelik heterosügootsus on sarnane 2008-2017 aastaklassidega, mis näitab paljundamisel kasutatud sugukalade suure arvu ja erinevate aastakäikude sugukalade paaritamise positiivset mõju. Inbriidingukoefitsiendi  $F_{IS}$  väärtused ei erine kõigis uuritud Kunda geenipanga aastaklassides statistiliselt oluliselt nullist, mis näitab, et lähisuguluspaaritused pole seni olnud probleemiks. Sellele vaatamata esineb sugukarja 7 aastaklassis 12-st statistiliselt olulisi kõrvalekaldeid Hardy-Weinbergi alleeli- ja genotüübisageduste tasakaaluseisundist, mis viitab sellele, et kuigi kasutatud sugukalade arv ei pruugi olla nendes aastaklassides väike, siis võivad efektiivse populatsiooni suurst vähendada mingid muud tegurid nagu näiteks sugupoolte ebavõrdne vahekord viljastamisel ja vanempaaride ebavõrdne panus (perekondade erinev suurus ja esindatus) sugukarja järgmise aastaklassi moodustamisel, samuti ei ole sugukarja paljundamisel tegemist vabalt ristuva populatsiooniga. Kun2018S diferentseeritus 2008-2017 aastaklassidest on 0.010-0.015 ning 0-põlvkonnast (Kun2001S) on 0.017, mis näitab, et Kun2018S aastaklass on DNA markerlookuste alleelisageduste poolest üsna sarnane 2001.-2002. a. Kunda jõest püütud noorkalade baasil loodud Kunda sugukarja 0-põlvkonnaga ja geenipanga 2008-2017 aastaklassidega. Kun2018S kaladest osutusid geneetiliselt emasteks 40 isendit ja isasteks 30 isendit. Seejuures osutus üks PKK-s

fenotüübiliselt emaseks määratud kala genotüübiliselt isaseks (kiip nr. OD62). Triploidseid isendeid uuritud kalade hulgas ei esinenud.

3. Daugava jõe päritolu lõhe 2018. a. koorunud asenduskarja (Dau18SK) alleelirohkus on kõrgem kui sugukarja aastaklassidel Dau14SK ja Dau15SK, mis on tingitud suurema arvu sugukalade kasutamisest paljundamisel (146 emaskala ja 188 isaskala). Lähisuguluspaaritustest tingitud inbriidingu taset iseloomustava inbriidingukoefitsiendi  $F_{IS}$  väärtused ei erine kõigis Daugava sugukarja aastaklassides statistiliselt oluliselt nullist, mis näitab, et lähisuguluspaaritused pole seni olnud probleemiks. Sellele vaatamata esineb kõigis sugukarja aastaklassides statistiliselt olulisi kõrvalekaldeid Hardy-Weinbergi alleeli- ja genotüübisageduste tasakaaluseisundist, mis viitab tõenäoliselt väiksest efektiivsest populatsioonist suurusest ( $N_e$ ) tingitud juhuslikule geenitriivile. Väike  $N_e$  võib olla tingitud nii väiksest kasutatud sugukalade arvust kui ka teistest teguritest, mis vähendavad efektiivse populatsiooni suurust nagu näiteks sugupoolte ebavõrdne vahekord viljastamisel ja vanempaaride ebavõrdne panus (perekondade erinev suurus ja mitte kõigi perekondade esindatus) sugukarja järgmise aastaklassi moodustamisel. Daugava lõhepopulatsiooni ja sugukarja valimite geneetiline diferentseeritus on 0.002-0.029 (sealhulgas kolmel Daugava sugukarja aastakäigul 0.016-0.028) ning Pärnu ja Daugava valimite vaheline diferentseeritus on 0.000-0.051. Dau18SK kalade hulgas esines ühel isendil (geneetikaproov nr. 1, kiibi nr. 50AC) mitmetes markerlookustes rohkem kui kaks alleeli, mis viitab triploidusele ja see isend tuleks sugukarjast prakeerida. Lisaks osutus üks PKK-s fenotüübiliselt emaseks määratud kala genotüübiliselt isaseks (kiip nr. 9740). Dau18SK asenduskarja 317 kala määrati 183 täisõveperekonda, mille liikmete arv on 1-14. Dau18SK vanemate efektiivse populatsiooni suuruse hinnanguks on 103 (usalduspiirid 80-137). See on oluliselt madalam kui kasutatud emas- ja isassugukalade arvu kaudu leitud  $N_e$  väärtus 329 ja illustreerib fakti, et efektiivse populatsiooni suurust vähendab ka vanempaaride ebavõrdne panus (perekondade erinev suurus ja mitte kõigi võimalike perekondade esindatus) sugukarja järgmise aastaklassi moodustamisel.
4. Pärnu poolsiirdesiia sugukarja kõigi nelja aastakäigu geneetiline muutlikkus on oluliselt madalam kui Pärnu jõest kogutud siia sugukalade valimitel. Seejuures on sugukarja aastakäikudest kõige madalama geneetilise muutlikkusega Pär17SK ja Pär16SK. Sugukarja Pär18SK ja Pär19SK aastaklasside geneetiline muutlikkus on kõrgem kui Pär16SK ja Pär17SK aastaklassidel, kuid siiski madalam kui Pärnu jõest 2015-2021 kogutud siia



sugukalade valimitel Pär18SK ja Pär19SK geneetiline diferentseerumine Pärnu jõest püütud sugukalade erinevate aastate valimitest on veidi kõrgem kui jõest püütud sugukalade valimite vahel, kuid siiski oluliselt madalam kui Pär16SK ja Pär17SK aastaklassidel. Statistiline test alleeli- ja genotüübisageduste vastavuse hindamiseks Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile näitas, et Pär18SK aastakäigul esines olulisi kõrvalekaldeid tasakaaluseisundist, kuid Pär19SK aastaklassi alleeli- ja genotüübisagedused vastavad tasakaaluseisundile.

5. Olukorras, kus lõhe asustamise vajadus Põhja-Eesti jõgedesse on vähenenud on tekkinud küsimus, kas see peaks väljenduma ka PKKs peetava Kunda lõhe sugukarja suuruses. Tuleb rõhutada, et geneetilise mitmekesisuse säilitamiseks ja inbriidingu suurenemise ära hoidmiseks nii geenipanga sugukarjas kui nende järglastega asustatud populatsioonides ei tohi paljundamisel vähendada efektiivse populatsiooni suurust alla teaduslikult põhjendatud soovituslike väärtuste, sest vastasel korral on negatiivsed muutused genofondis vältimatud. Sugukarja suuruse optimeerimiseks võiks geenipangas pidada ainult (või peamiselt) emaseid sugukalu (kasutades paljundamisel 50-100 isendit) ja nende marja viljastamiseks kasutada kas loodusest püütud isaskalade ja/või sügavkülmutatud geenipanga isaste spermat. Krüogeenipanga loomine ja pidamine eeldab vastava infrastruktuuri olemasolu ja personali väljaõpet PKK-s, millega alustati 2016. aastal. Kunda lõhe asenduskarja 2016. aastal koorunud 3+ isaskalade spermat sügavkülmutati esmakordselt 2019. aastal, kasutades selleks Kehtna seemendusjaama laboratooriumi infrastruktuuri. Geograafilise kauguse tõttu oleks siiski otstarbekam vastav struktuur välja arendada kohapeal PKK-s. Meie poolt esmakordselt 2019. a. rakendatud Y-kromosoomi spetsiifilise geneetilise markeri abil on võimalik määrata lõhe asenduskarja kalade sugupoolt ka mittesuguküpsitel isenditel, kelle fenotüübiline sugu pole visuaalselt määratav. See võimaldab optimeerida sugukarjas peetavate kalade sugupoolte suhet varasemalt kui seni ning säästa sellega sugukarja pidamiseks vajalikke ressursse. Kuna Pärnu jõe lõhe ja poolsiirdesiia populatsioonide taastootmisel on probleemiks olnud jõest kättesaadavate sugukalade väike arv (siia puhul eelkõige emaskalade väga väike arv), siis on tõsine oht, et väikese arvu sugukalade kasutamisega taastootmiseks kaasneb inbriidingukoefitsiendi oluline suurenemine ja haruldasemate alleelide väga kõrge tõenäosusega kaotamine. Sellise oluliselt madalama geneetilise muutlikkuse ja kõrgendatud inbriidingukoefitsiendiga järglaskonna kalade asustamine

mõjutab negatiivselt ka Pärnu jõe lõhe- ja siipopulatsiooni genofondi ja tekitab kasu asemel pigem kahju. Kui Pärnu jõest ei õnnestu püüda piisavat arvu lõhe sugukalu, siis tuleks asustatavate noorkalade tootmiseks kindlasti täiendavalt kasutada suuremat arvu PKK Daugava sugukarja kalu. Pärnu jõe poosiirdesiia sugukarja kalade edaspidisel kasutamisel tuleks kindlasti paaritada neid jõest püütud sugukaladega (mitte paaritada kalu aastakäigu sees ega ka aastakäikude vahel, sest aastakäikude geneetiline muutlikkus on väga madal), kusjuures kindlasti tuleks kasutada palju suuremat arvu sugukalu ehk tagada paljundamisel suurem efektiivse sugukarja suurus. PKK-s kasutatakse erinevate lõhe- ja siipopulatsioonide taastootmiseks nii loodusest püütud sugukalu kui sugukarjade erinevaid aastakäike erinevates kombinatsioonides ja erineval arvil, viljastades ühe emaskala marja ühe või mitme isaskala niisaga. Et hinnata kasutatud paljundamismeetodite tegelikku mõju järglaskonna geneetilisele mitmekesisusele, oleks vaja lisaks loodusest püütavate sugukalade ja sugukarja erinevate aastaklasside geneetilise mitmekesisuse seirele teha ka igal aastal asustamiseks toodetud järglaskonna (vastsed või 0+) geneetilise mitmekesisuse seiret.

6. Kunda lõhe sugukarja geneetilise mitmekesistamise eesmärgil 2021. aastal Kunda jõest püütud sugukalade ja kääbusisaste kvaliteedi analüüs näitas, et üks Kunda jõest püütud isaskala (geneetika proovi nr. 16), kelle niisaga viljastati Kunda jõest püütud 10.07 kg emaskala mari (geneetikaproov nr. 4) oli lõhe ja meriforelli hübriid. Triploidseid isendeid uuritud kalade seas ei esinenud. Küll aga olid 6 fenotüübiliselt kääbusisasteks määratud lõhet (geneetikaproovi numbrid 11, 17, 28, 42, 43 ja 45) genotüübiliselt hoopis emased, kes ei andnud ka niiska. 2021. a. püütud Kunda jõe emas- ja isassugukalade alleelirohkus oli mõnevõrra kõrgem kui 2010-2019. a. Kunda jõe noorkalade, sugukalade ja kääbusisaste valimitel ning identne 2020. a. püütud emas- ja isassugukalade valimiga. Samas oli 2021. a. püütud sugukalade valimi tegelik heterosügootsus samasugune eelnimetatud valimitega. 2021. a. püütud kääbusisaste valimi alleelirohkus ja tegelik heterosügootsus olid sarnased 2019. ja 2020. aasta kääbusisaste valimitega. Aastatel 2010-2021 Kunda jõest püütud noorkalade, emas- ja isassugukalade ning kääbusisaste üldine geneetiline diferentseeritus on madal ( $F_{ST} = 0.013$ ), mis näitab, et alleelisageduste ajaline muutlikkus ei ole väga suur ja sellest tingitud variatsioon moodustab vaid 1.3% kogu geneetilisest variatsioonist. 2021. a. kogutud emas- ja isassugukalade (Kun21I+E) diferentseeritus varasemate aastate (2010-2020) noorkalade, emas- ja isassugukalade

ning kääbusisaste valimitest on 0.000-0.020 (keskmiselt 0.006) ning 2021. a. kogutud kääbusisaste (Kun21KI) diferentseeritus varasemate aastate valimitest on 0.000-0.026 (keskmiselt 0.009). Inbriidingukoefitsiendi  $F_{IS}$  väärtused on läbi aastate püsinud stabiilsena ja ei erine usaldusväärselt nullist. Kunda jõe 2019-2021 sugukalade ja kääbusisaste genotüübisagedused vastavad ka Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile. Seega sobivad Kunda jõest püütud emas- ja isassugukalad ja kääbusisased PKK Kunda lõhekarja genofondi muutlikkuse säilitamiseks ja täiendamiseks.

7. Pärnu jõest 2021. aastal püütud lõhe sugukalade (Pär21S) alleelirohkus on sarnane 2017-2020 püütud sugukalade ja Pärnu jõe 1997., 1999/2000. ja 2017. a. noorkala valimite alleelirohkusega. Võrreldes Daugava lõhega on Pär21S alleelirohkus sarnane Daugava 1998. ja 2018. a. noorkalade valimitega ja Daugava sugukarja 2018. aastakäiguga, kuid veidi kõrgem kui Daugava 2015.a. noorkalade valimil ning Daugava sugukarja 2014. ja 2015. aastakäigu kaladel. Pär21S sugukalade tegelik heterosügootsus ei erinenud oluliselt Pärnu ja Liivi lahe Läti populatsioonide varasematest sugu- ja noorkalade valimitest. Pär21S sugukalade inbriidingukoefitsient  $F_{IS}$  ei erinenud statistiliselt oluliselt nullist ja genotüübisagedused vastasid Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile. Hübriidseid ja triploidseid isendeid Pär21S sugukalade seas ei esinenud. Pärnu lõhepopulatsiooni taastootmiseks kasutati 2021. a. sügisel kokku 65 emaskala ja 73 isaskala, mis annab efektiivseks populatsiooni suuruseks 138 kala. Sellise efektiivse populatsiooni suurusega kaasneb järglaskonna inbriidingukoefitsiendi oodatav suurenemine 0.4% võrra, mis on aktsepteeritav.
8. Pärnu jõest 2021. a. püütud hõredapiilise siirdesiia sugukalade alleelirohkus oli sarnane 2018. ja 2019. aastal püütud sugukalade valimitega ja veidi kõrgem kui 2006., 2015-2017 ja 2020. a. valimitel. Samas ei erinenud Pär2021S tegelik heterosügootsus oluliselt Pärnu jõest varasematel aastatel kogutud valimitest, mis näitab, et Pärnu siirdesiia geneetiline muutlikkus on ajaliselt suhteliselt stabiilne. Seda toetab ka Pärnu jõest püütud sugukalade erinevate aastate valimite vahelist geneetilist diferentseerumist iseloomustava  $F_{ST}$  indeksi madal väärtus 0.022. Samuti ei erinenud kõigi Pärnu jõest püütud siirdesiia sugukalade valimite inbriidingukoefitsient statistiliselt oluliselt nullist ning 2018-2021 sugukala valimite genotüübisagedused vastasid Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile. Seega esindasid 2021. a. kogutud sugukalad hästi Pärnu siirdesiia geneetilist muutlikkust ja sobivad taastootmiseks. 2021. a. sügisel kasutati Pärnu poolsiirdesiia taastootmiseks

kokku 25 emaskala ja 53 isaskala, mis annab efektiivseks populatsiooni suuruseks 68 kala. Sellise efektiivse populatsiooni suurusega kaasneb järglaskonna inbriidingukoefitsiendi oodatav suurenemine 0.7% võrra, mis on enamvähem aktsepteeritav.

9. Peipsi siia sugukalade 2021. a. valimi alleelirohkus oli sarnane 2016. ja 2020. valimitega ja veidi madalam kui 2018. a. valimil. 2021. a. valimi tegelik heterosügootsus oli sarnane 2018. ja 2020. a. valimitega ja veidi kõrgem kui 2016. a. valimil. See näitab, et peipsi siia geneetiline muutlikkus on ajaliselt suhteliselt stabiilne. Seda toetab ka erinevate aastate valimite vahelist geneetilist diferentseerumist iseloomustava  $F_{ST}$  indeksi madal väärtus 0.001. Samuti ei erinenud kõigi peipsi siia valimite inbriidingukoefitsient statistiliselt oluliselt nullist ning 2018-2021 sugukala valimite genotüübisagedused vastasid Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile. Kokku kasutati PKK-s 2021. a. sügisel viljastamiseks 41 Peipsist püütud emaskala, kelle mari viljastati 53 isaskala niisaga. See annab efektiivseks populatsiooni suuruseks 92 kala, millega kaasneb järglaskonna inbriidingukoefitsiendi oodatav suurenemine 0.5% võrra, mis on aktsepteeritav.
10. Mereskudeva siia valimitest oli kõige madalam alleelirohkus oli Ruhnu 2004. ja 2020. aasta valimites ja kõige kõrgem Väikse väina 2017. ja 2020. a. valimites. Madise (Pakri) 2021. a. valimi alleelirohkus oli sarnane teiste Soome lahe valimitega. Soome lahe siiapopulatsioonidel on kesmiselt kõrgem alleelirohkus kui Liivi lahe ja Lääne-Eesti saarte mereskudevatel siiapopulatsioonidel. Samas oli tegelik heterosügootsus mõlemas piirkonnas sarnane. Madise (Pakri) 2021. a. valimi tegelik heterosügootsus on sarnane Käsmu valimitega. Mereskudeva siia populatsioonide üldine diferentseeritus on madal ( $F_{ST} = 0.031$ ). Madise (Pakri) 2021. a. valimi diferentseeritust teistest Soome lahe mereskudeva siia valimitest on 0.022-0.036 (statistiliselt mitte oluline) ning Liivi lahe ja Lääne-Eesti saarte mereskudevatest siiapopulatsioonidest 0.017-0.047 (statistiliselt oluline vaid Ruhnu ja Saaremaa ranniku valimitest, aga mitte Hiiumaa ja Väikse väina valimitest). Nei  $D_a$  geneetilise distantsi põhjal konstrueeritud dendrogrammil eristuvad üksteisest selgelt Lääne-Eesti saarte populatsioonid, Pärnu poolsiirdesiia valimid ja Peipsi siia valimid. Soome lahe Käsmu ja Vaindloo valimitega klasterduvad kokku Vilsandi ja Väikse väina valimid ning Madise (Pakri) valim moodustab eraldi haru. PKK-s kasutati 2021. a. sügisel viljastamiseks 5 Pakri saare piirkonnast (Madise) püütud mereskudeva siia emaskala marja, kes viljastati 5 isase niisaga. See annab efektiivseks populatsiooni suuruseks vaid 10 kala, millega kaasneb järglaskonna inbriidingukoefitsiendi oodatav

suurenemine 5% võrra ja väga kõrge haruldasemate alleelide kaotsimineku tõenäosus, mis ei ole geneetilise mitmekesisuse kaitse seisukohalt kuidagi aktsepteeritav.

11. Pärnu jõkke asustatavate lõhe samasuviste noorkalade valimi (53 tk., koorunud 2021. a.) geneetilist muutlikkust iseloomustavad näitajad (alleelirohkus ja heterosügootsus) olid sarnased Pärnu jõest 2021 ja varasematel aastatel püütud sugu- ja noorkala valimitega. Noorkalade valimi inbriidingukoefitsient ei erinenud statistiliselt oluliselt nullist ja genotüübisagedused vastasid Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundile. Triploide ja hübriidseid isendeid ei esinenud. Seetõttu on 2021. a. koorunud lõhe noorkalad igati kvaliteetsed ja piisava geneetilise mitmekesisusega.
12. Pärnu jõkke asustatavate siirdesiia samasuviste noorkalade valimi (54 tk., koorunud 2021. a.) alleelirohkus oli madalam kui Pärnu jõest 2006-2021 püütud sugukala valimitel ja samas kõrgem kui Pärnu poolsiirdesiia sugukarja erinevatel aastakäikudel. Noorkalade valimi tegelik heterosügootsus oli sarnane Pärnu jõest 2006-2021 püütud siirdesiia sugukalade valimitega ja sugukarja 2018. ja 2019. aastakäiguga, kuid kõrgem kui sugukarja 2016. ja 2017. aastakäigul. Noorkalade valimi inbriidingukoefitsient ei erinenud statistiliselt oluliselt nullist, kuid genotüübisageduste kõrvalekalle Hardy-Weinbergi tasakaaluseisundist oli statistiliselt oluline. Triploide ja hübriidseid isendeid ei esinenud. 2021. a. koorunud siirdesiia noorkalade valim on üldiselt kvaliteetne ja piisava geneetilise mitmekesisusega, kuid ei ole populatsioonigeneetilises tasakaaluseisundis. Selle tõenäoliseks põhjuseks on mitte piisava efektiivse suurusega vanempopulatsioon.

## Kasutatud kirjandus

Ozerov MY, Gross R, Bruneaux M, Vähä JP, Burimski O, Pukk L, Vasemägi A. (2016). Genomewide introgressive hybridization patterns in wild Atlantic salmon influenced by inadvertent gene flow from hatchery releases. *Molecular Ecology*, 25, 1275-1293.

Quemere E., Perrier C., Besnard A., Evanno G., Bagliniere J., Guiguen Y. & Launey S. (2014). An improved PCR based method for faster sex determination in brown trout (*Salmo trutta*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Conservation Genetics Resources* 6, 825–827.

Wennerström, L., Laikre, L., Ryman, N. et al. (2013). Genetic biodiversity in the Baltic Sea: species-specific patterns challenge management. *Biodiversity and Conservation* 22, 3045–3065

## Lisa 1. Kunda lõhe asenduskarja 2021. a. kiibistatud 3+ kalade geneetilise puhtuse ja genotüübilise soo määramise tulemused

Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
1	9BE8	i	Isane	48	1600	
2	F663	i	Isane	42	1200	
3	E5E8	i	Isane	55	2400	
4	14AC	Hõbe	Isane	47	1200	
5	17F3	Hõbe	Emane	56	2000	
6	D37D	i	Isane	45	1400	
7	0C71	e	Emane	47	1400	
8	174C	i	Isane	39	800	
9	FOA5	e	Emane	56	2200	
10	EBD1	i	Isane	41	800	
11	21AC	i	Isane	46	1400	
12	C92F	i	Isane	43	1200	
13	E52E	e	Emane	47	1200	
14	06BC	e	Emane	47	1400	
15	D2D4	i	Isane	38	800	
16	22CE	i	Isane	36	600	
17	1549	i	Isane	40	800	
18	CB2A	e	Emane	48	1600	
19	EB98	Hõbe	Emane	47	1200	
20	CE4B	i	Isane	42	1000	
21	FF99	Hõbe	Emane	49	1400	
22	EB9C	i	Isane	32	400	
23	0D62	e	Isane	43	1000	genotüübiline sugu isane
24	D4A9	e	Emane	52	1800	
25	E271	e	Emane	47	1400	
26	2CB1	e	Emane	43	1000	
27	CBA5	e	Emane	50	1800	
28	C508	e	Emane	54	2400	
29	CD3D	i	Isane	40	800	
30	C3BD	e	Emane	44	1200	
31	DA93	Hõbe	Emane	46	1200	
32	23F1	i	Isane	47	1400	
33	07B8	Hõbe	Emane	46	1200	
34	211F	Hõbe	Emane	45	1000	
35	C4AB	Hõbe	Emane	44	1000	
36	15FD	i	Isane	46	1200	
37	F9F1	e	Emane	46	1200	
38	1146	i	Isane	47	1200	

Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
39	C3FF	Höbe	Emane	39	600	
40	0F35	i	Isane	46	1200	
41	15F2	i	Isane	34	600	
42	06C4	e	Emane	47	1400	
43	C50B	e	Emane	42	1200	
44	2EDD	e	Emane	48	1400	
45	D088	e	Emane	47	1400	
46	0FE8	i	Isane	48	1800	
47	CAA9	i	Isane	42	1000	
48	C404	e	Emane	51	2200	
49	C4BC	Höbe	Emane	43	1000	
50	DAFD	e	Emane	47	1400	
51	E96D	Höbe	Emane	43	1000	
52	EA24	i	Isane	37	800	
53	F0E4	i	Isane	45	1200	
54	D1B2	e	Emane	50	1600	
55	'0992	Höbe	Emane	49	1600	
56	D246	i	Isane	54	2200	
57	F15B	Höbe	Emane	48	1200	
58	EDB5	i	Isane	34	600	
59	223D	e	Emane	49	1600	
60	'0645	Höbe	Isane	39	800	
61	'099F	Höbe	Emane	42	800	
62	D24B	e	Emane	51	1800	
63	F504	i	Isane	42	1000	
64	14A5	i	Isane	58	2600	
65	FOA2	e	Emane	54	2000	
66	D9BB	e	Emane	53	2200	
67	08EA	e	Emane	40	800	
68	C568	Höbe	Emane	51	1600	
69	DFB1	e	Emane	47	1400	
70	E5E5	e	Emane	47	1200	



## Lisa 2. Daugava lõhe asenduskarja 2021. a. kiibistatud 3+ kalade geneetilise puhtuse ja genotüübilise soo määramise tulemused

Kiibistamise kuupäev	Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu (E-emased, I-isased)	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
03.11.2021	1	50AC	Hõbe	I	44	1700	Triploid!
03.11.2021	2	E026	Hõbe	I	52	1600	
03.11.2021	3	0B22	Isane	I	39	800	
03.11.2021	4	BF84	i	I	45	1000	
03.11.2021	5	313D	i	I	47	1400	
03.11.2021	6	CFBF	e	E	50	1600	
03.11.2021	7	9D07	i	I	46	1200	
03.11.2021	8	CE01	e	E	49	1600	
03.11.2021	9	6257	e	E	52	2000	
03.11.2021	10	77CE	i	I	43	1000	
03.11.2021	11	53E8	e	E	38	600	
03.11.2021	12	85FF	i	I	51	1400	
03.11.2021	13	72EE	i	I	48	1600	
03.11.2021	14	B59A	e	E	41	800	
03.11.2021	15	D0CA	e	E	56	2400	
03.11.2021	16	017D	e	E	45	1200	
03.11.2021	17	9740	e	I	55	2400	Genot. sugu isane
03.11.2021	18	520D	i	I	39	800	
03.11.2021	19	5C16	i	I	45	1000	
03.11.2021	20	C333	i	I	42	1000	
03.11.2021	21	5340	Hõbe	E	52	1600	
03.11.2021	22	BEDE	Hõbe	I	47	1200	
03.11.2021	23	84B5	e	E	47	1200	
03.11.2021	24	7CDA	i	I	38	800	
03.11.2021	25	DA87	e	E	42	1000	
03.11.2021	26	CBB7	i	I	46	1400	
03.11.2021	27	541C	i	I	41	800	
03.11.2021	28	35C3	e	E	37	800	
03.11.2021	29	AD61	e	E	45	1200	
03.11.2021	30	4AA2	i	I	51	2200	
03.11.2021	31	FFB4	Hõbe	E	43	1000	
03.11.2021	32	39A7	Hõbe	E	47	1200	
03.11.2021	33	46BC	e	E	52	2000	
03.11.2021	34	4E51	i	I	40	800	
03.11.2021	35	6BCA	i	I	44	1200	
03.11.2021	36	5357	Hõbe	I	43	800	

Kiibistamise kuupäev	Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu (E-emased, I-isased)	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
03.11.2021	37	955E	e	E	44	1200	
03.11.2021	38	BCFE	e	E	42	1000	
03.11.2021	39	6D3E	e	E	42	1000	
03.11.2021	40	BD40	e	E	44	1200	
03.11.2021	41	6F52	i	I	51	1800	
03.11.2021	42	689F	i	I	46	1200	
03.11.2021	43	BDA0	i	I	37	600	
03.11.2021	44	37AD	i	I	43	1000	
03.11.2021	45	4FEA	i	I	51	1600	
03.11.2021	46	9986	Hõbe	E	46	1200	
03.11.2021	47	C19F	e	E	43	1000	
03.11.2021	48	5871	e	E	49	1600	
03.11.2021	49	B0B6	e	E	42	1000	
03.11.2021	50	4877	i	I	41	1000	
03.11.2021	51	46EE	i	I	49	1400	
03.11.2021	52	CC71	e	E	54	2200	
03.11.2021	53	BA67	e	E	40	800	
03.11.2021	54	6DDB	i	I	48	1400	
03.11.2021	55	3B84	e	E	52	2100	
03.11.2021	56	6573	i	I	48	1600	
03.11.2021	57	6C7D	Hõbe	E	38	800	
03.11.2021	58	354A	e	E	42	1000	
03.11.2021	59	4848	e	E	50	1400	
03.11.2021	60	BF4C	e	E	43	1000	
03.11.2021	61	767C	Hõbe	E	50	1600	
03.11.2021	62	5087	Hõbe	E	49	1400	
03.11.2021	63	4013	i	I	48	1600	
03.11.2021	64	A41C	i	I	43	1000	
03.11.2021	65	3351	Hõbe	I	38	600	
03.11.2021	66	9237	i	I	41	800	
03.11.2021	67	5DC0	e	E	48	1600	
03.11.2021	68	744D	i	I	44	1200	
03.11.2021	69	8A63	e	E	51	1600	
03.11.2021	70	6B57	e	E	46	1200	
03.11.2021	71	A239	e	E	42	1000	
03.11.2021	72	ACCA	e	E	42	800	
03.11.2021	73	4DDD	e	E	43	1200	
03.11.2021	74	45D3	i	I	29	200	
03.11.2021	75	BE07	e	E	40	800	
03.11.2021	76	99A2	e	E	48	1400	
03.11.2021	77	A958	i	I	46	1200	

Kiibistamise kuupäev	Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu (E-emased, I-isased)	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
03.11.2021	78	A31D	i	I	37	600	
03.11.2021	79	01F2	i	I	51	1800	
03.11.2021	80	98F3	i	I	49	1400	
03.11.2021	81	EBA4	e	E	47	1600	
03.11.2021	82	B15D	e	E	47	1400	
03.11.2021	83	B807	Hõbe	E	35	400	
03.11.2021	84	8A3C	i	I	48	1400	
03.11.2021	85	A07B	i	I	48	1400	
03.11.2021	86	43D7	e	E	43	800	
03.11.2021	87	3BD1	e	E	51	1600	
03.11.2021	88	CFBB	Hõbe	E	48	1400	
03.11.2021	89	'9E20	e	E	55	2200	
03.11.2021	90	34A0	Hõbe	E	48	1400	
03.11.2021	91	7E2B	e	E	48	1400	
03.11.2021	92	5462	i	I	44	1200	
03.11.2021	93	4E6D	i	I	39	600	
03.11.2021	94	28CE	e	E	45	1000	
03.11.2021	95	'0905	i	I	41	800	
03.11.2021	96	'71E7	Hõbe	I	39	600	
03.11.2021	97	6CA6	i	I	51	1800	
03.11.2021	98	96D3	i	I	40	800	
03.11.2021	99	578F	i	I	49	1600	
03.11.2021	100	29AD	i	I	39	800	
03.11.2021	101	7154	Hõbe	E	45	1000	
03.11.2021	102	3AB0	Hõbe	E	50	1400	
03.11.2021	103	8A2B	Hõbe	E	44	1000	
03.11.2021	104	AA35	i	I	47	1600	
03.11.2021	105	01EF	i	I	54	2400	
03.11.2021	106	8604	e	E	54	2000	
03.11.2021	107	98DC	i	I	55	2600	
03.11.2021	108	6721	Hõbe	I	34	400	
03.11.2021	109	2D08	i	I	41	800	
03.11.2021	110	7450	Hõbe	E	50	1400	
03.11.2021	111	BAE9	e	E	45	1200	
03.11.2021	112	C5FA	e	E	45	1200	
03.11.2021	113	72D9	i	I	48	1400	
03.11.2021	114	4344	Hõbe	E	43	1000	
03.11.2021	115	72D7	e	E	51	1600	
03.11.2021	116	8288	e	E	38	600	
03.11.2021	117	5586	e	E	45	800	
03.11.2021	118	5D60	i	I	43	1000	

Kiibistamise kuupäev	Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu (E-emased, I-isased)	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
03.11.2021	119	B851	Hõbe	E	47	1200	
03.11.2021	120	E4B6	e	E	40	800	
03.11.2021	121	8070	i	I	44	1000	
03.11.2021	122	9D94	Hõbe	E	50	1600	
03.11.2021	123	A720	e	E	52	1800	
03.11.2021	124	BAAB	i	I	41	1000	
03.11.2021	125	5D78	e	E	48	1600	
03.11.2021	126	50D2	i	I	41	1000	
03.11.2021	127	50D5	Hõbe	I	45	1200	
03.11.2021	128	A3C6	i	I	43	1200	
03.11.2021	129	4D17	i	I	49	1800	
03.11.2021	130	C2B2	i	I	47	1200	
03.11.2021	131	5695	e	E	47	1600	
03.11.2021	132	72E6	e	E	46	1200	
03.11.2021	133	59EA	e	E	52	1600	
03.11.2021	134	90E9	i	I	39	600	
03.11.2021	135	689D	i	I	42	800	
03.11.2021	136	2D6E	i	I	49	1700	
03.11.2021	137	3252	Hõbe	E	42	800	
03.11.2021	138	50CE	i	I	39	800	
03.11.2021	139	CEA9	Hõbe	E	47	1200	
03.11.2021	140	9239	i	I	42	1000	
03.11.2021	141	A38B	i	I	46	1200	
03.11.2021	142	87BC	e	E	42	800	
03.11.2021	143	CB46	Hõbe	E	49	1600	
03.11.2021	144	C37C	i	I	32	400	
03.11.2021	145	85E7	i	I	41	1000	
03.11.2021	146	5367	i	I	49	1400	
03.11.2021	147	0280	e	E	48	1600	
03.11.2021	148	A361	e	E	41	1000	
03.11.2021	149	8828	e	E	40	1000	
03.11.2021	150	573C	e	E	46	1400	
03.11.2021	151	DA6B	e	E	46	1400	
03.11.2021	152	559C	e	E	51	2000	
03.11.2021	153	DA5F	Hõbe	E	44	800	
03.11.2021	154	3E1C	i	I	38	800	
03.11.2021	155	2878	i	I	45	1000	
03.11.2021	156	4838	i	I	42	800	
03.11.2021	157	5407	i	I	58	2800	
03.11.2021	158	51D2	i	I	39	800	
03.11.2021	159	BC2D	e	E	52	1800	

Kiibistamise kuupäev	Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu (E-emased, I-isased)	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
03.11.2021	160	6944	i	I	42	1000	
03.11.2021	161	'0290	i	I	40	600	
03.11.2021	162	CA0B	e	E	46	1200	
03.11.2021	163	'0061	e	E	47	1200	
03.11.2021	164	8E4F	i	I	32	400	
03.11.2021	165	688D	e	E	50	1600	
03.11.2021	166	5F7B	e	E	52	2000	
03.11.2021	167	6544	e	E	53	2200	
03.11.2021	168	528F	e	E	49	1800	
03.11.2021	169	B352	e	E	44	1000	
03.11.2021	170	B331	e	E	43	1200	
03.11.2021	171	9FB8	i	I	46	1200	
03.11.2021	172	5CB9	i	I	44	1000	
03.11.2021	173	6C1E	i	I	50	1800	
03.11.2021	174	EAF7	i	I	41	800	
03.11.2021	175	7D53	e	E	45	1200	
03.11.2021	176	E32B	e	E	49	1400	
03.11.2021	177	4AF8	i	I	57	2000	
03.11.2021	178	CC32	i	I	44	1000	
03.11.2021	179	4DA7	i	I	57	2400	
03.11.2021	180	3B0D	i	I	48	1600	
03.11.2021	181	5541	i	I	39	1000	
03.11.2021	182	53FC	i	I	39	800	
03.11.2021	183	6DE4	e	E	60	3000	
03.11.2021	184	6B4D	e	E	48	1600	
03.11.2021	185	5749	e	E	48	1400	
03.11.2021	186	D18A	e	E	49	1600	
03.11.2021	187	5072	e	E	49	1400	
03.11.2021	188	6862	i	I	42	1000	
03.11.2021	189	'7E41	i	I	43	1000	
03.11.2021	190	86B2	i	I	39	800	
03.11.2021	191	BD29	e	E	50	1600	
03.11.2021	192	'4E56	i	I	48	1600	
03.11.2021	193	8F98	Höbe	E	40	800	
03.11.2021	194	43A1	i	I	60	3200	
03.11.2021	195	485B	e	E	45	1200	
03.11.2021	196	6D26	i	I	45	1200	
03.11.2021	197	4DAC	i	I	44	1000	
03.11.2021	198	8A3F	i	I	44	1200	
03.11.2021	199	66A1	i	I	47	1200	
03.11.2021	200	'0495	e	E	47	1200	

Kiibistamise kuupäev	Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu (E-emased, I-isased)	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
03.11.2021	201	FF15	e	E	52	2000	
03.11.2021	202	8979	e	E	46	1200	
03.11.2021	203	CBDE	e	E	46	1200	
03.11.2021	204	BF90	e	E	46	1400	
03.11.2021	205	716E	i	I	43	1000	
03.11.2021	206	66AE	i	I	43	800	
03.11.2021	207	542B	i	I	42	800	
03.11.2021	208	F493	i	I	43	1000	
03.11.2021	209	F1DD	Hõbe	E	51	1600	
03.11.2021	210	4E03	i	I	50	1800	
03.11.2021	211	4C39	i	I	40	700	
03.11.2021	212	8338	Hõbe	E	41	800	
03.11.2021	213	6AB1	i	I	46	1200	
03.11.2021	214	6D1C	i	I	42	1200	
03.11.2021	215	9FB1	e	E	50	1600	
03.11.2021	216	BAE1	i	I	39	600	
03.11.2021	217	84BA	i	I	52	1800	
03.11.2021	218	53FA	i	I	41	800	
03.11.2021	219	5540	e	E	49	1600	
03.11.2021	220	491F	e	E	54	2400	
03.11.2021	221	C250	i	I	49	1400	
03.11.2021	222	340F	i	I	34	600	
03.11.2021	223	4DBD	e	E	40	800	
03.11.2021	224	92E6	e	E	45	1200	
03.11.2021	225	D55D	i	I	46	1200	
03.11.2021	226	6816	i	I	54	2000	
03.11.2021	227	40D7	i	I	52	2000	
03.11.2021	228	4E2B	e	E	48	1400	
03.11.2021	229	D2FF	e	E	43	800	
03.11.2021	230	816F	e	E	42	1000	
03.11.2021	231	5175	i	I	46	1200	
03.11.2021	232	539C	i	I	40	800	
03.11.2021	233	2C7A	Hõbe	E	38	800	
03.11.2021	234	E994	i	I	46	1200	
03.11.2021	235	644C	i	I	46	1200	
03.11.2021	236	30F0	e	E	42	1000	
03.11.2021	237	D42D	Hõbe	E	47	1200	
03.11.2021	238	4603	Hõbe	E	53	1800	
03.11.2021	239	BC1F	e	E	46	1200	
03.11.2021	240	3760	e	E	43	1200	
03.11.2021	241	7CCB	e	E	47	1400	

Kiibistamise kuupäev	Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu (E-emased, I-isased)	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
03.11.2021	242	854E	i	I	30	400	
03.11.2021	243	6B6E	e	E	45	1200	
03.11.2021	244	80B8	i	I	53	2000	
03.11.2021	245	5177	i	I	56	2400	
03.11.2021	246	549E	i	I	45	1200	
03.11.2021	247	5681	e	E	49	1800	
03.11.2021	248	61B6	e	E	43	1200	
03.11.2021	249	5E1A	e	E	51	1800	
03.11.2021	250	465A	e	E	46	1200	
03.11.2021	251	5DF4	i	I	40	800	
03.11.2021	252	A3E1	i	I	38	800	
03.11.2021	253	BFB9	i	I	36	600	
03.11.2021	254	C524	i	I	43	1200	
03.11.2021	255	6765	i	I	40	800	
03.11.2021	256	95A0	i	I	52	2200	
03.11.2021	257	737D	e	E	44	1200	
03.11.2021	258	B61F	i	I	43	1200	
03.11.2021	259	CCC2	e	E	50	1800	
03.11.2021	260	525C	Hõbe	E	54	2000	
03.11.2021	261	CA1E	e	E	48	1400	
03.11.2021	262	69FA	i	I	43	1000	
03.11.2021	263	6F34	e	E	49	1800	
03.11.2021	264	5364	e	E	52	2200	
03.11.2021	265	6441	Hõbe	E	42	1000	
03.11.2021	266	7E25	e	E	49	1600	
03.11.2021	267	56A3	e	E	44	1200	
03.11.2021	268	DBE2	e	E	47	1600	
03.11.2021	269	D196	e	E	43	800	
03.11.2021	270	A5CA	e	E	41	1000	
03.11.2021	271	59D6	i	I	39	600	
03.11.2021	272	A7A9	e	E	51	1600	
03.11.2021	273	7B52	Hõbe	I	36	600	
03.11.2021	274	BB3C	i	I	50	1800	
03.11.2021	275	4E78	i	I	45	1200	
03.11.2021	276	68D3	e	E	54	2400	
03.11.2021	277	9272	i	I	37	600	
03.11.2021	278	9232	e	E	50	1600	
03.11.2021	279	6364	e	E	50	1800	
03.11.2021	280	D8F3	i	I	47	1400	
03.11.2021	281	376A	e	E	44	1000	
03.11.2021	282	7BF2	Hõbe	E	50	1600	

Kiibistamise kuupäev	Proovi nr.	Kiibi nr.	Fenotüübiline sugu (e-emased, i-isased)	Genotüübiline sugu (E-emased, I-isased)	Pikkus (cm)	Mass (g)	Märkused
03.11.2021	283	B70C	i	I	45	1000	
03.11.2021	284	8E44	e	E	37	600	
03.11.2021	285	B572	e	E	46	1200	
03.11.2021	286	61AD	e	E	45	1200	
03.11.2021	287	8C4D	e	E	39	800	
03.11.2021	288	C6B6	i	I	32	400	
03.11.2021	289	7CB5	i	I	47	1200	
03.11.2021	290	B25E	i	I	38	600	
03.11.2021	291	4EE8	i	I	46	1200	
03.11.2021	292	9186	i	I	45	1200	
03.11.2021	293	7A8A	i	I	37	600	
03.11.2021	294	5210	Höbe	E	43	1000	
03.11.2021	295	91A2	i	I	42	800	
03.11.2021	296	5AAE	i	I	48	1200	
03.11.2021	297	D9A6	e	E	37	800	
03.11.2021	298	349F	Höbe	E	38	700	
03.11.2021	299	55EF	e	E	40	800	
03.11.2021	300	410C	e	E	47	1400	
03.11.2021	301	7D8F	e	E	50	1600	
03.11.2021	302	0ADE	e	E	48	1600	
03.11.2021	303	B0CF	e	E	51	1800	
03.11.2021	304	B22F	e	E	43	1200	
03.12.2020	305	BD73	i	I	36	600	
03.12.2020	306	64C8	i	I	37	600	
03.12.2020	307	8FD4	i	I	33	400	
03.12.2020	308	5580	i	I	32	400	
03.12.2020	309	9B2F	i	I	32	400	
03.12.2020	310	5E45	i	I	30	200	
03.12.2020	311	A96E	i	I	32	400	
03.12.2020	312	7CA5	i	I	33	400	
03.12.2020	313	6C7E	i	I	32	400	
03.12.2020	314	C0EA	i	I	34	400	
03.12.2020	315	30E3	i	I	35	600	
03.12.2020	316	BAE9	i	I	39	800	
03.12.2020	317	6523	i	I	34	400	
03.12.2020	318	53E3	i	I	38	600	