

# Proliferatiivse ehk vohandilise neeruhaiguse (PKD) esinemine ja mõju Eesti kalakasvanduste lõhilastele

Euroopa Merendus- ja Kalandusfondi rakenduskava 2014-2020 meetme 2.6  
"Teadlaste ja vesiviljelusettevõtjate koostöötoetus" lõpparuanne

Eesti Maaülikool

Tartus 2022



## Sisukord

2	Eessõna .....	3
3	Sissejuhatus.....	3
4	Materjal ja metoodika .....	10
5	Tulemused.....	14
	5.1 PKD haigustunnused Pedja jões.....	15
	5.2 PKD haigustunnused Leevi ja Ahja jões.....	21
	5.3 PKD haigustunnused Võhandu jões.....	25
	5.4 PKD haigustunnused Nõmme jões 2021 a.....	28
6	Arutelu ja järeldused.....	29
7	Kokkuvõtte ja soovitused.....	31
8	Kasutatud kirjandus.....	33
9	LISAD.....	37

## 2 Eessõna

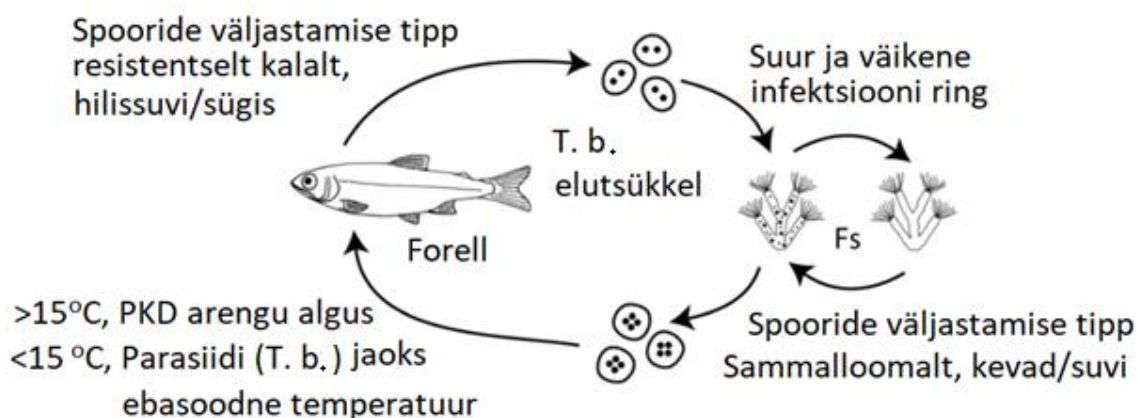
Käesolev aruanne on projekti ”Proliferatiivse ehk vohandilise neeruhaiguse (PKD) esinemine ja mõju Eesti kalakasvanduste lõhilastele” lõpparuanne (lepingu nr. 10-1/MI/ 4498). Töö vastutav täitja oli Siim Kahar, projekti aitasid läbi viia: Anti Vasemägi, Magnus Lauringson, Alfonso Diaz Suarez. Autor tänab kõiki projektis osalenud vesiviljelusettevõtteid ladusa koostöö eest.

## 3 Sissejuhatus

Kliima soojenemine koos antropogeensete stressoritega on põhjustanud ja soodustanud mitmeid muutusi nii looduslikes kui ka kunstlikes vee-elupaikades ning seelses liigilises koosseisus. Lisaks otsesele temperatuuri-stressile, on veetemperatuuride tõus, eutrofeerumine, mitmesugune inimtegevus ja teised faktorid, oluliselt laiendanud ja kiirendanud mitmete haiguste levikut ning nende mõju erinevatele veorganismidele (Okamura & Feist 2011). Üheks selliseks laialdaselt levinud haiguseks on kalade proliferatiivne ehk vohandiline neeruhaigus (ingl. k. proliferative kidney disease - PKD). PKD on limaeoslaste (Myxozoa) hulka kuuluva parasiidi *Tetracapsuloides bryosalmonae* (edaspidi *T. bryosalmonae*) poolt põhjustatud ja peamiselt lõhilaste seas leviv parasitaarhaigus, mis võib põhjustada kuni 100 % suremust (Sterud et al. 2007). Kirjanduse põhjal nähakse *T. bryosalmonae* laineneva leviku ja vohandilise neeruhaiguse tunnuste süvenemise põhjustajateks eelkõige kliima soojenemist ja veekogude eutrofeerumist, mis soodustab *T. bryosalmonae* primaarsete peremeeste (hõimkond sammalloomad, Bryozoa) elutegevust. Lisaks võivad tavalisest kõrgemad temperatuurid põhjustada kalade tugevamat immuunvastust, mistõttu võivad haigustunnused olla tõsisemad (Ahmad et al. 2021).

## Parasiidi elutsükkel

*T. bryosalmonae* elutsükkel (Joonis 1.) sisaldab peale kalade veel magevee sammalloomi, keda peetakse parasiidi primaarseteks peremeesteks (Carraro et al. 2017). Enamasti on *T. bryosalmonae* peremeesloomadeks sammalloomad *Plumatella* sp. ja *Fredericella* sp. perekondade esindajad (Anderson et al. 1999, Longshaw et al. 1999).



**Joonis 1.** *T. bryosalmonae* (T.b.) elutsükkel sisaldab peale lõhilaste ka magevee sammalloomi (hk. *Bryozoa*). Parasiidi elutsükkel võib kulgeda nii suure kui ka väikse ringina.

Algselt peeti sammalloomi peamiselt soojade ja eutroofsete veekogude asukateks, kuid uuemate uuringute tulemusena leidub sammalloomi mitmesugustes veekogudes, alates jahedatest oligotroofsetest kuni soojade ja rohketoiteliste veekogudeni (Hartikainen et al. 2009). Peamiselt piirab sammalloomade elutegevust siiski liigne avatus päikesekiirgusele ja nende kinnitumiseks vajaliku kõva substraadi puudumine (Wood & Okamura 2005).

## Levik

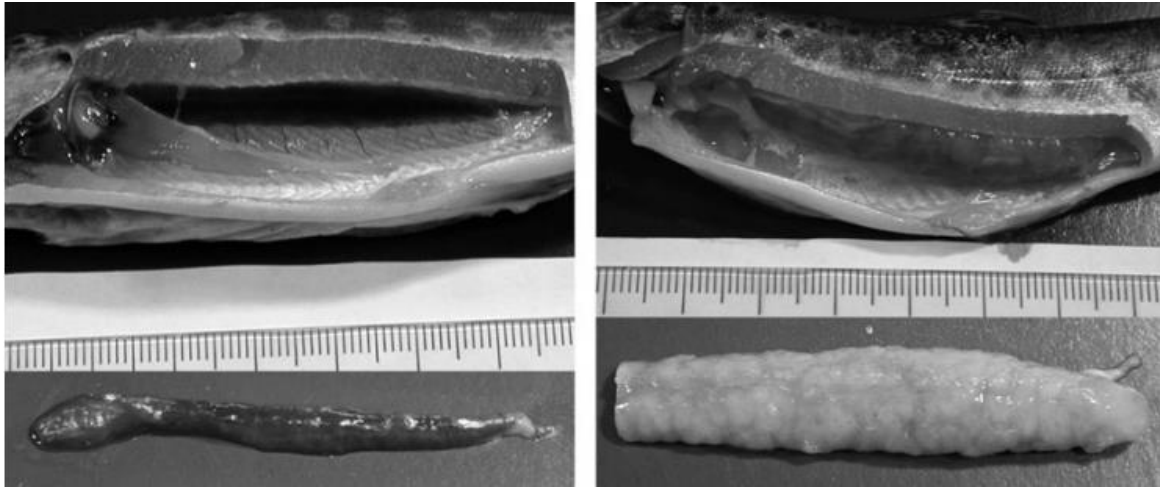
*T. bryosalmonae* on levinud kogu parasvöötme ulatuses nii looduslikes lõhilaste asurkondades kui ka kalakasvandustes, teadaolevalt on haigusele vastuvõtlikud kõik lõhilased (Okamura et al. 2011). Ka Läänemere Soome lahe meriforelli (*Salmo trutta*) populatsioonides on *T. bryosalmonae* levinud ja kliima soojenedes on põhjapoolsemates populatsioonides haigestumine PKD'sse tõenäoliselt suurenemas (Mo & Jørgensen, 2016; Vasemägi et al. 2017; Sobociński et al. 2018). 1990-ndate lõpus Šveitsis käivitatud uuring kinnitab samuti PKD olulist rolli sealsete jõeforelli (*Salmo trutta morpha fario*) varude vähenemises (Borsuk et al. 2006). PKD levimises võivad rolli mängida ka valediagnoosid, määrates kalade surma põhjuseks sekundaarsed haigused, samuti võivad takistada korrektse diagnoosi panekut ebapiisavad teadmised antud parasiidi poolt põhjustatavatest haigustunnustest. Anadroomsete lõhilaste puhul võib haigus lihtsalt levida ka teistesse/uutesse veekogudesse nende kodujõega nn. eksimise korral (läbi resistentsete tabandunud kalade), nt. Läänemeres võib nn. eksivate isendite sagedus olla umbes 2 % (Carlin 1969 ref. Rannak et al. 1983: 88). Lisaks saab parasiit levida olles sammallooma statoplastis, arvatakse, et sammalloomad on ka ise üsna laia levikuga (Anderson et al. 1999), samuti saavad parasiidid levida ka vee ja lindudega (Longshaw et al. 1999).

Nii nagu inimtegevus on kaasa aidanud paljude kalaliikide levikule, võib ka sammalloomade ja *T. bryosalmonae* puhul olla inimtegevus üheks levikut soodustavaks teguriks. Sellised liikumised võivad laiendada haiguse geograafilist levikut ja muuta virulentsuse tegureid, kuna tekivad uued kombinatsioonid kalade, sammalloomade ja parasiitide vahel (Okamura et al. 2011). Üheks näiteks võib olla vikerforell (*Oncorhynchus mykiss*), keda on massiliselt introductseeritud üle kogu maailma. Selle tulemusena saavad läbi tabandunud kalakarja või transpordi vahenditega levida ka parasiidid ja haigused, mis võivad kaasa tuua uusi haigusjuhte ning nende akuutsuse suurenemise (Poulin et al. 2011).

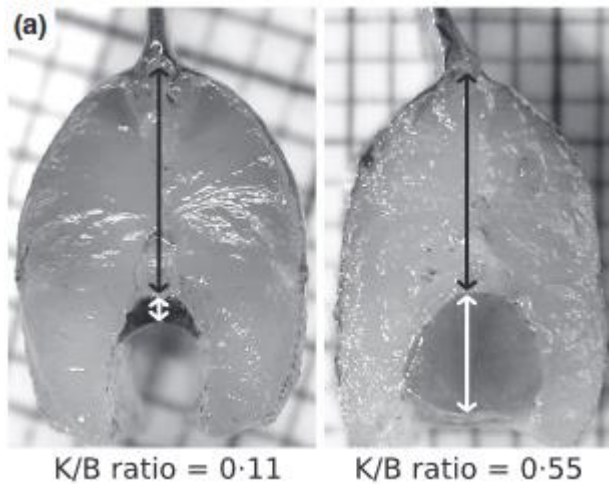
Parasiidi levik ebasoodsates tingimustes on samuti võimalik tänu sammallooma statoblastide suurele vastupidavusele, kus neeru parasiit saab resideeruda, elades sellisel kujul üle isegi loomade seedekulgla läbimise (Figuerola et al. 2003).

### **Tabandumine**

*T. bryosalmonae*'ga võivad tabanduda kõik lõhilased, kes ei ole varasemalt selle parasiidiga kokkupuutes olnud, kuid looduslikes tingimustes on haigusele kõige vastuvõtlikumad just kalade noorjärgud (samasuvised kalad). Noorkalad, kes on üle elanud kontakti parasiidiga, võivad küll taas parasiidiga tabanduda, kuid ei haigestu PKD-sse (Foott & Hedrick 1987; de Kinkelin & Loriot 2001), mis viitab tõenäoliselt nakkusjärgselt omandatud immuunsusele. McGurk et al. (2006) katsetest vikerforelliga järeldus, et katse tingimustes võib kliiniline PKD välja kujuneda tabandumisel kõigest ühe või mõne eosega. Tabandumine parasiidiga toimub eoste amöboidsete rakkude kaudu, mis tungivad enamasti läbi lõpuste või naha veresoonkonda. Veresoonkonda jõudnuna toimub üherakuliste *T. bryosalmonae* eoseväliste staadiumite paljunemine enne neeru (haiguse peamisesse kahjustuspiirkonda) või põrna jõudmist (Canning et al. 2002). Tabandumine põhjustab peamiselt kalade noorjärgude neerude põletikulist vohanemist, kehvveresust ning häireid osmoregulatsioonis (Bettge et al. 2009; Bruneaux et al. 2017). Tabandunud kala neerus toimub selle põletikuline vohanemine (vt. Joonis 2 ja 3), mis põhjustab selle kudedes tõsiseid kahjustusi. Gorgoglione et al. (2016) uuringutes mõõdeti neeru suurenemiseks isegi kuni 6,74 % kala kogumassist (normaalne 1,23 %). Looduslikes kui ka kunstlikes tingimustes on enamik füsiopatoloogilisi sümptomeid tugevasti seotud neeru hüperplaasiaga, vähem parasiitide hulgaga (Bruneaux et al. 2017; Laurantson et al. 2021). Samadest uuringutest selgus, et väikese parasiidi arvukusega peremeestel puudus või esines neeru hüperplaasia vähesel määral, keskmise või kõrge parasiidi kogusega kalade neerud olid keskmiselt kuni väga turses.



**Joonis 2.** Forelli normaalne neer (vasakul) ja PKD-ga tabandunud kalal (paremal). PKD-ga tabandunud kala neeru puhul on selgesti märgatav selle vohandilisus e. proliferatsioon ja põletikulisus (Okamura *et al.* 2011).



**Joonis 3.** Forelli normaalne (vasakul) ja tugevalt vohandiline neer (paremal, Bruneaux *et al.* 2017).

PKD välisteks patoloogilisteks tunnusteks kaladel on peamiselt kahvatud ja aneemilised lõpused, tumenenud keha ning paistetunud kõht, samuti punnsilmsus ehk eksothalmia. Seesmiselt on näha neeru ja põrna märgatav suurenemine, koe rakkude vohandilisuse ning põletikulise reaktsiooni tõttu (Joonis 2). PKD areng on otseselt sõltuv veetemperatuurist, kõrgemate temperatuuride juures võimendub kala immuunvastus parasiidile ja põhjustab läbi põletikuliste reaktsioonide raskemaid tüsistusi neeru kudedes (Bettge *et al.* 2009). Nii võib ägenenud immuunvastus mõjuda kalale letaalselt.

Haiguse väljakujunemiseks peab veetemperatuur ületama 15 °C, kuigi kalad võivad tabanduda ka madalamatel temperatuuridel, aga alla 15 °C veetemperatuuridel PKD-st põhjustatud suremust harilikult siiski ei esine (Gay et al. 2001).

Kõrgenenud veetemperatuur võib esmaselt PKD-st tingitud immuunpuudulikkusega kaladel kaasa tuua suurenenud suremuse läbi sekundaarsete haiguste (Feist & Bucke 1993). Vikerforelli laborikatsed on samas kindlaks teinud, et *T. bryosalmonae* on võimeline põhjustama kala surma ka ilma sekundaarsete haigusteta (Bettge et al. 2009). Lisaks lühendavad kõrgemad veetemperatuurid nakkuse inkubatsiooniaega, mistõttu kiireneb kõrgemate veetemperatuuride juures kahjustuste tekkimine ja suureneb selle ägedus koos parasiitide arvuga. Bettge et al. (2009) laborikatsetes vikerforellil hinnati 12 °C veetemperatuuri juures suremuseks 5 – 10 %, 18 °C juures aga koguni 80 – 90 %. Veetemperatuuri tõusul kasvab kalade hapnikuvajadus ja langeb temperatuuritaluvus, luues organismile lisastressi, mis võib ägedalt kulgeva haiguse korral viia kõrgenenud suremuse määradeni (Bruneaux et al. 2017).

Jahedaveelised lõhilased on kliima soojenemise suhtes tõenäoliselt tundlikumad kui teised mageveelised kalaliigid. Olukorra eskaleerumisele viitab ka juba praeguste andmete järgi PKD levila laienemine põhjapoolkeral. Käesoleval kümnendil on tulnud mitmeid teateid PKD leviku laienemisest uutesse, seni haigusest puutumata piirkondadesse (Kristmundsson et al. 2010; Gorgoglione et al. 2016; Vasemägi et al. 2017).

## Uuringute vajadus ja eesmärk Eesti kalakasvandustes

Kuna vohandilise neeruhaiguse tekitaja (*T. bryosalmonae*) on levinud lisaks lõhelaste looduslikele populatsioonidele ka kalakasvandustes (Kahar et al., töö nr. 10-1/MI/291-1), lisandub haiguse efektiivsemast ja pidevast seirest kasusaajate sekka veel vesiviljelussektor, kus haigus võib olla reaalseks ohuks (Wahli et al. 2007). Eesti kalakasvandustes kasvatatakse lõhelastest peamiselt vikerforelli (*Oncorhynchus mykiss*) ning vähemal hulgal ka arktika paaliat (*Salvelinus alpinus*) ja/või selle hübriide teiste liikidega (Autori pers. kommunikatsioon), lisaks paljundatakse meil veekogude rikastamiseks ning populatsioonide tugevdamiseks lõhet (*Salmo salar*), merisiiga (*Coregonus lavaretus lavaretus*) ning harjust (*Thymallus thymallus*). Need liigid on kõik potentsiaalselt ohustatud *T. bryosalmonae* elutegevuse tõttu looduslikes jõgedes. Samuti leiti 2019 a. läbiviidud uuringus antud parasiiti ka kalakasvanduses vikerforellidel (Kahar et al., töö nr. 10-1/MI/291-1), mistõttu on vajalik hinnata võimalikke PKD haigustunnuseid ja mõju nii Eesti looduslikes vooluveekogudes kui ka nendega seotud kalakasvandustes.

Eesti Maaülikool koostöös Turu ülikooli ja Rootsi Põllumajandusliku ülikooliga, on antud parasiidi mõju ja arvukust Eesti jõgedel uurinud alates 2011. aastast. Erinevate projektide raames on uuritud *T. bryosalmonae* levikut ja tabandumust enamikus Soome lahte suubuvates jõgedes, kus leidub forelli või lõhet. Samuti teostati 2019 a. Kalanduse teabekeskuse toel uuring antud parasiidi levikust mitmes looduslikes vooluveekogus ja nendega seotud kalakasvandustes (Kahar et al., töö nr. 10-1/MI/291-1). Tulemustest on selgunud, et PKD tekitaja *T. bryosalmonae* esineb vähemalt üheksas Põhja-Eesti jões ja mitmes sisemaa vooluveekogudes ning on soodsate keskkonnatingimuste kokkulangemise korral märkimisväärne tegur meie jõgede forelli arvukuse määrajana.

Need noorjärgud, kes elavad tabandumise üle, jäävad parasiidi kandjateks ning seeläbi ohustavad ka teisi (naaber) jõgesid läbi erinevate rändemustrite. 2019 a. läbiviidud uuringu käigus tuvastati PKD tekitaja ka mitmes vooluveekogus Lääne-Virumaal, Jõgevamaal, Põlvamaal ja Võrumaal, samuti määrati parasiidi olemasolu vikerforellidel ühes kalakasvanduses (Kahar et al., töö nr. 10-1/MI/291-1).

Käesoleva projekti eesmärgiks oli kahel järjestikusel aastal uurida *T. bryosalmonae* poolt tekitatud haigustunnuseid ja nende seoseid veetemperatuuriga kokku neljas kalakasvanduses ning nendega piirnevatel looduslikel vooluveekogudel. Selleks teostati katsepüügid vooluveekogude ülem- ja alamjooksudel lähtuvalt kasvanduse asukohast, samuti võeti proovid kasvanduses olevatelt noorkaladelt.

## 4 Materjal ja meetodika

### Uuritud läbivoolused kalakasvandused ja vooluveekogud

Eelnevatele tulemustele tuginedes (Kahar et al., töö nr. 10-1/MI/291-1 2020), valiti uuringuteks välja neli kalakasvandust ja nendega seonduvad vooluveekogud, lisaks kasutati 2021 a. andmetes ka Nõmme jõge (Tabel 1). Mõlemal aastal koguti kõigist kasvandustest 50 samasuvist 0+ vikerforelli (erijuhtudel ka kahesuvist 1+ vanused, kui 0+ vanuserühm puudus).

**Tabel 1.** Kogutud koeproovide arv uuritud kalakasvandustes 2020-2021 aastal.

Jõgi	Proovide arv	Liik	Vanus	
			2020	2021
<b>Pedja I</b>	71	Vikerforell	1+	1+
<b>Pedja II</b>	60	Vikerforell	0+	
<b>Leevi/Ahja</b>	100	Vikerforell	0+	
<b>Nõmme</b>	40	Vikerforell*	0+	
<b>Võhandu</b>	100	Paalia**/Vikerforell	0+	1+

\* Osales ainult 2021 a.

\*\* Oli valimis ainult 2020 a.

Kõikides vooluveekogudes tehti katsepüügid nii kalakasvandustest üles- kui allavoolu (kui see oli võimalik), et hinnata *T. bryosalmonae* esinemist ja määrata võimalikud haigustunnused looduslikel lõhilastel. Maksimaalselt koguti 25 proovi püügikoha kohta.

## 4.2 Kogutud proovid

Kuna veetemperatuuri ja PKD avaldumise vahel esineb tugev seos (Gay et al. 2001, Okamura et al. 2011), oli oluline kirjeldada haigustunnuseid mitmel järjestikusel aastal – antud proovid koguti 2020 ja 2021 a. hilissuvel, lisaks paigaldati jõgedesse ja kasvandustesse automaatsed veetemperatuuri mõõtjad, mis salvestasid veetemperatuuri neli korda ööpäevas (HOBO Pendant UA 001-08, USA). Veetemperatuuri mõõtjad paigutati igasse kasvandusse ning kasvandusest vahetult alla ja ülesvoolu olevale lõigule. Projekti käigus koguti igal aastal 50 proovi kalakasvanduse kohta (kui see oli võimalik) ning kokku 200 proovi 2021 a. ja 172 proovi 2022 a., s.h. 50 paalia ja 282 vikerforelli proovi (vt tabel 1). Kui kasvanduses ei olnud uuritud aastal samasuviseid lõhelisi, võeti koeproovid vanematelt (kahesuvistelt, 1+) kaladelt, ja vähemalt kümnelt isendilt. Kalakasvandustest koguti eelkõige samasuviseid kalasid (edaspidi 0+), kuna lõhelaste noorjärgud on tavaliselt vohandilisele neeruhaigusele vastuvõtlikumad võrreldes vanemate kaladega (Okamura et al. 2011). Samas võivad vanemad kalad pärast *T. bryosalmonae*’ga tabandumist jääda ise parasiidi kandjateks. Mistõttu on vajalik ja informatiivne ka vanemate indiviidide analüüs *T. bryosalmonae*’ga tabandumuse hindamisel, kuigi haigustunnuseid ei pruugi neil enam avalduda (eeldatavasti on kalad PKD läbipõdenud ja saavutanud immuunsuse).

Eesti vooluveekogudel paiknevad kalakasvandustes tuuakse silmtäpis vikerforelli mari (suurematest vastavavatest kasvandustest teistes riikides) sisse üldjuhul varakevadel ning inkubeeritakse neid tavaliselt maimu staadiumini eraldi asetsevates haudemajades (enamjaolt kas allika või puurkaevust tuleva vee peal). Seal õpetatakse neid sööma, samuti saab neid desinfitseerida ja teostada ennetuslikku ravi võimalike bakter- või viirushaiguste vastu. Pärast taolisi hooldus/ravikuure viiakse sööma õppinud kalamaimud välibasseinidesse või tiikidesse edasikasvatamisele. Eesti oludes toimub see üldjuhul mai või juuni kuus, sõltuvalt ilmastikust. Antud projekti käigus koguti proovid 8. septembrist kuni 22. septembrini (2021/2022 a.). Selline periood valiti teadlikult, sest selleks ajaks on kevadel koorunud vastsed mitu kuud kasvanud juba loodusliku vooluvee peal ning seeläbi suure tõenäosusega tabandunud *T. bryosalmonae*’ga.

Varasemmatele uuringutele tuginedes, langeb see periood kokku PKD poolt põhjustatud sümptomite ja haigustunnuste avaldumisega. Lisaks üritati proovide kogumine läbi viia võimalikult lühikese ajavahemiku jooksul, et minimaliseerida haigustunnuste muutumist ajas.

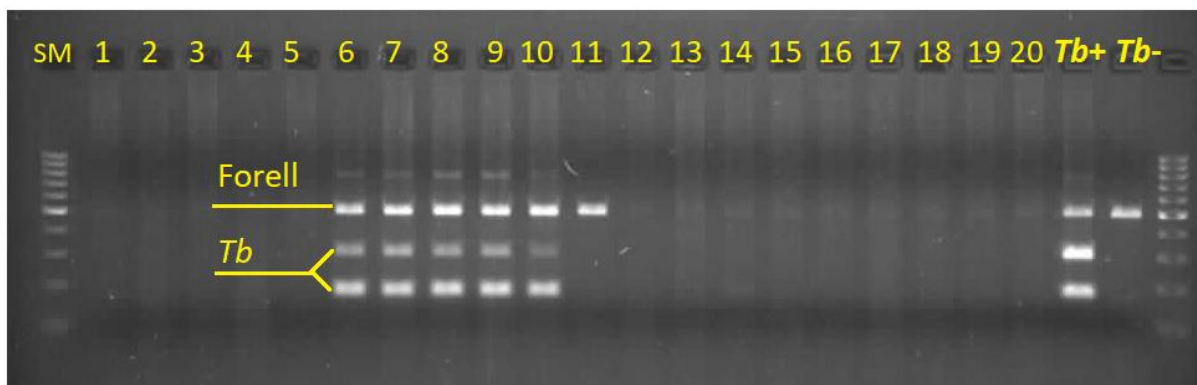
Proovide kogumisel looduslikest veekogudest kasutati dubleeritud vahendeid (kahvad, ämbrid, riietus jt.), vältimaks võimalikku parasiidi transporti. Uuritud kalad püüti veekogudest kasutades standardset teaduslikuks otstarbeks mõeldud elektripüügi-agregaati ja meetodikat. Üldjuhul jäeti vähemalt ööpäevane vahe erinevate jõgede proovi-püükidesse või kasutati dubleeritud püügivahendeid, juhul kui see ei olnud võimalik, siis desinfitseeriti püügivahendid (kasutati selleks Virkon™ S) enne teise püügi algust ja erinevate uurimispunktide vahel, sarnaselt toimiti ka kasvandustes. Kogutud kalad eutaniseeriti kasutades uinutit (MS-222, Sigma Aldrich, USA). Kalade sabaveenist võeti vereproov ja määrati hematokriit e. punaste vereliblede sisaldus kogu plasmas, kasutades Bruneaux et al. (2017) kirjeldatud meetodikat. Hiljem arvutati vere (edaspidi punaste libelede indeks ehk PLI, %). Seejärel avati kala kõhuõõs ja lõigati läbi ca. 10 mm laiune sektor kala kehast koos neerudega. Antud proov nummerdati ja fotografeeriti mm mõõtskaalal, hilisemaks neeru läbilõike osa mõõtmiseks ja neeru vohandilise indeksi arvutamiseks (NVI, %). Kogutud proovid säilitati eelnevalt märgistatud ja 95 % piiritusega täidetud steriilsetesse 15 ml plast-tuubidesse (Falcon Corning™, USA) järgnevateks geneetilisteks analüüsideks. Kalakasvandustest kogutud proovidega toimiti sarnaselt.

### **4.3 Geneetilised analüüsid**

Vohandilise neeruhaiguse analüüsid viidi läbi EMÜ vesiviljeluse õppetooli kalageneetika laboris. Iga kala neeruproovist võeti ca 1 mm<sup>3</sup> suurune osaproov, millest eraldati DNA, mille fragmentid paljundati multipleks polümeraasahelreaktsiooni abil (PCR - polymerase chain reaction). Parasiidiga tabandumist hinnati geelelektroforeesiga. DNA amplifitseerimisel kasutati *T. bryosalmonae* ning lõhe- ja forellispetsiifilisi praimereid (Dash & Vasemägi, 2014). Kalade neeruproovidest PKD geneetiliseks tuvastamiseks kasutati kolme praimeripaari, mida amplifitseeriti nn. multipleks PCR reaktsiooni abil, kasutades Biometra T-professional termotsüklerit.

Iga PCR'i reaktsioon (6 µl) koosnes järgmistest komponentidest: 20 – 100 ng DNA-d, 2 x multiplex PCR mastermix (Qiagen) ning päri- ja vastassuunaliste praimerite segu. DNA amplifitseerimiseks kasutati järgmist temperatuuriprofiili: algne denaturatsioon 15 minutit 95 °C. 36 tsüklit: denaturatsioon 30 sekundit 94 °C, praimerite seondumine 90 sekundit 60 °C, praimerite ekstensioon ja uute ahelate süntees 60 sekundit 72 °C. Lõplik ekstensioon 5 minutit 72°C.

PCR'i produktide visualiseerimiseks elektrofooresiti reaktsioone ~ 60 minutit 100 V pinge juures 2 % agarosgeelil, millele oli lisatud etiidiumbromiidi (EtBr). EtBr seondub DNA, RNA ja valkudega ning muudab need nähtavaks ultraviolettkiirguse all. Fragmentide pikkuse määramiseks kasutati igal geelil GeneRuler 100 bp DNA Ladderit (Thermo Fisher Scientific Inc.). Geelile lisati ka suurusmarker (SM) ja eelnevalt teadaoleva nii positiivse kui ka negatiivse PKD näiduga forelli DNA proov. Fragmentide- ja muustrite fotografeerimiseks kasutati videodokumentatsioonisüsteemi UVItec FireReader (UVItec Limited) (Joonis 4). *T. bryosalmonae* esinemist konkreetses uuritavas proovis näitab *T. bryosalmonae* spetsiifiliste fragmentide (166 ja 298 aluspaari) esinemine.



**Joonis 4.** 2 % geelelektroforeesi tulemusena agarosgeelil visualiseeritud DNA fragmentide ülevõte. Kollasega on tähistatud kanalile asetatud info: SM – suurusmarker; Numbrid 1-20 – konkreetne proov; „Forell“ – forelli amplifitseerumise jälg (1 fragment); „Tb“ – *T. bryosalmonae* amplifitseerumise jälg (2 fragmenti); „Tb+“ – *T. bryosalmonae* positiivse forelli kontroll proov; „Tb-“, – *T. bryosalmonae* negatiivse forelli kontroll proov. Proovid kanalites 6 - 10 esineb *T. bryosalmonae*, proovis 11 parasiiti ei esine.

## 5 Tulemused

2020 a. koguti kokku 288 proovi, millest 200 proovi oli kasvandustest ja 88 pärines nendega seotud looduslikest veekogudest (Tabel 2). 2021 a. koguti kokku 224 proovi, millest 171 kasvandustest ja 53 proovi looduslikest jõgedest (Tabel 3.). Geneetilise analüüsi tulemusena selgus, et kõigis uuringus osalenud kalakasvandustes (va. kasvanduses Nõmme jõel) leidis *T. bryosalmonae* parasiidiga tabandunud proove. 2020 a. tuvastati 50 *T. bryosalmonae* positiivset proovi kõigist uuritud kaladest, n = 200 (Tabel 3) ning 2021 a. 36 positiivset proovi kõigist jõgedest uuritud kaladest, n = 171 (Tabel 3). Kasvandustest võetud proovidel oli parasiidiga tabandumise sagedus kuni 50 % 2020 a. (Tabel 2) ning kuni 80 % 2021 a. (Tabel 3).

**Tabel 2.** Kasvandustest ja jõgedest kogutud proovid 2020 a.

2020 aasta püügid					
Kasvandus* ja jõgi	Liik	Kala vanus	Kokku	PKD +	PKD sagedus, %
2	vikerorell	0+	50	6	12
3	vikerorell	0+	50	25	50
4	vikerorell	1+	50	19	38
5	paalia	0+	50	0	0
Ahja	jõefroell	0+	25	25	100
Pedja1	jõefroell	0+	22	21	95
Pedja2	jõefroell	0+	25	23	92
Leevi	jõefroell	0+	13	12	92
Võhandu	jõefroell	0+	3	3	100
<b>Kokku</b>			<b>288</b>	<b>134</b>	

- 2 – kasvandus II Pedja jõel; 3 – kasvandus Leevi jõel; 4 – kasvandus I Pedja jõel; 5 – kasvandus Võhandu jõel. Pedja1 – püügipunkt jõe ülemjooksul; Pedja2 – püügipunkt jõe keskjooksul.

Uuringute tulemusena selgus lisaks, et kõigis analüüsitud looduslikes vooluveekogudes, esines mõlemal aastal *T. bryosalmonae* parasiidiga tabandunud kalu. 2020 a. tuvastati 84 *T. bryosalmonae* positiivset proovi kõigist uuritud kaladest, n = 88 (Tabel 2) ning 2021 a. 46 positiivset proovi kõigist jõgedest uuritud kaladest, n = 53 (Tabel 3). Looduslikest jõgedest saadud proovidel oli parasiidiga tabandumise sagedus kuni 100 % mõlemal uuringu aastal (Tabel 2 ja 3).

**Tabel 3.** Kasvandustest ja jõgedest kogutud proovid 2021 a.

2021 aasta püügid						
Kasvandus* ja jõgi	Liik	Kala vanus	Kokku	PKD+	PKD sagedus, %	
1	vikerorell	0+	40	0	0	
2	vikerorell	0+	21	0	0	
3	vikerorell	0+	50	12	24	
4	vikerorell	1+	10	8	80	
5	vikerorell	1+	50	16	31	
Ahja	jõefroell	0+	11	11	100	
Pedja1	jõefroell	0+	6	6	100	
Pedja2	jõefroell	0+	12	11	92	
Leevi	jõefroell	0+	8	8	100	
Võhandu	jõefroell	0+	10	10	100	
Nõmme	jõefroell	0+	6	0	0	
<b>Kokku</b>			<b>225</b>	<b>82</b>		

- 1 – kasvandus Nõmme jõel; 2 – kasvandus II Pedja jõel; 3 – kasvandus Leevi jõel; 4 – kasvandus I Pedja jõel; 5 – kasvandus Võhandu jõel. Pedja1 – püügipunkt jõe ülemjooksul; Pedja2 – püügipunkt jõe keskjooksul.

## 5.1 PKD haigustunnused Pedja jõe süsteemis

### PKD haigustunnused Pedja jõe kasvanduses I 2020 a.

Kasvanduses I tuvastati kokku 17 parasiidiga tabandunud proovi (kõik kalad olid kahesuvised, 1+ vanus), neeru vohandilisuse indeksid (NVI, %) olid suhteliselt madalad (mediaan 13.2 %), samuti oli suhteliselt kõrge vere punaliblede indeks (PLI, %), statistiliselt olulisi erinevusi PLI indeksi osas ei esinenud (mediaanid 0.25 %, tabel 4).

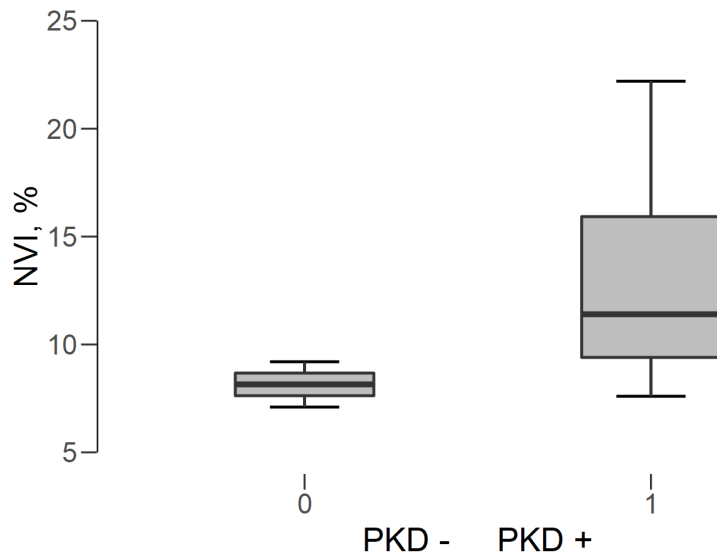
**Tabel 4.** Kasvandusest I kogutud proovide kirjeldav statistika

	NVI, %		PLI, %	
	0	1	0	1
Proovide arv	6	1	27	17
Mediaan	13.183	12.10	0.255	0.250
Std. Hälve	0.999	----	0.028	0.027
Miinumum väärtus	11.70	12.10	0.199	0.179
Maksimum väärtus	14.50	12.10	0.350	0.301

Tabelis on väljatoodud neeru parasiidiga tabandunud kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI, %) ja vere punaliblede indeks (PLI, %). Mõlema indeksi all oleval real on tähistatud parasiidiga tabandunud tulp (0) ja mitte tabandunute tulp (1).

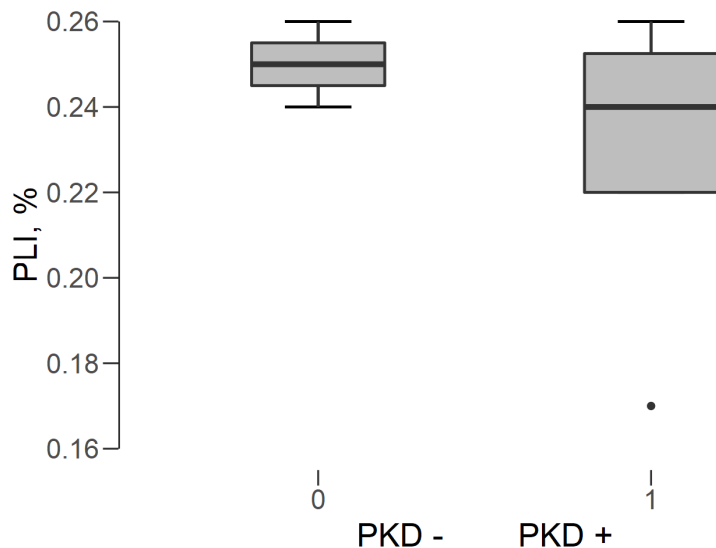
## PKD haigustunnused Pedja jõe süsteemi kasvanduses I 2021 a.

2021 a. kasvandustest I kogutud proovide hulgas olid parasiidiga tabandunud kalade neerud mõnevõrra vohandilised (NVI % 13.1) võrreldes mitte tabandunud isenditega (NVI % 8.1,  $p < 0.05$ ) (Joonis 5).



**Joonis 5. Kasvanduse I kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI), 2021 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste neeru vohandilisuse indeksi (y-teljel, NVI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karpis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parametrist Mann-Whitney testi.

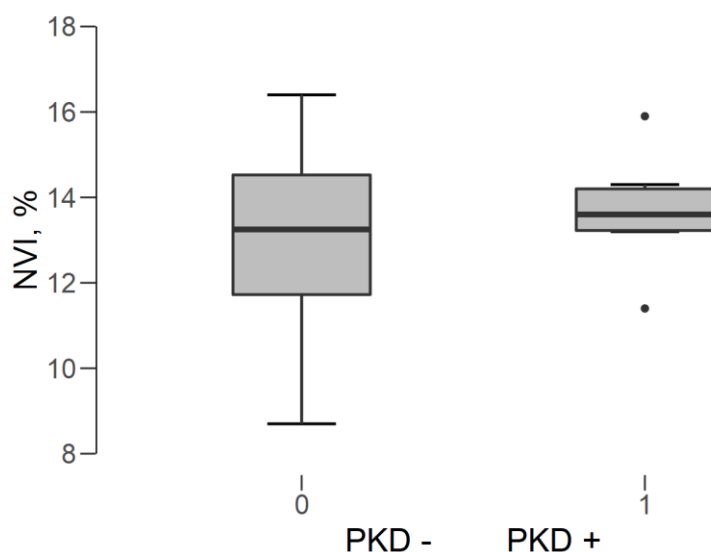
Vere punaliblede indeksite (PLI, %) vahel statistilisi erinevusi ei olnud ( $p > 0.05$ ), PLI mediaan oli parasiidiga tabandunud kaladel 0.23 % ja tabandumata kaladel 0.25 % (Joonis 6).



**Joonis 6. Kasvanduse I kalade vere punaliblede indeks (PLI), 2020 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste vere punaliblede indeksi (y-teljel, PLI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parameetrilist Mann-Whitney testi.

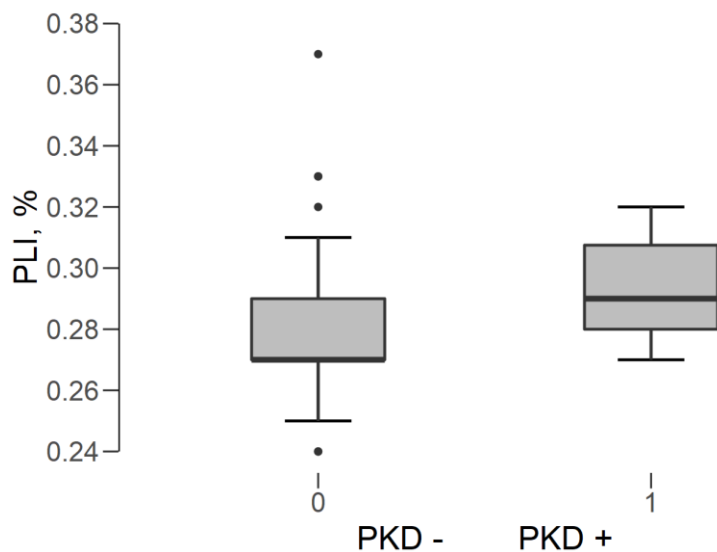
### PKD haigustunnused Pedja jõe süsteemi kasvanduses II 2020 a.

Kasvandustest II kogutud proovide hulgas ei olnud olulisi erinevusi PKD tekitajatega tabandunud ja parasiidivabade kalade vahel ( $p > 0.05$ ), seda nii neerude vohandilisuse indeksi (NVI, %) kui ka vere punaliblede indeksi (PLI, %) osas (Joonis 7 ja 8). NVI mediaan oli mitte tabandunud kaladel 13.1 % ja tabandunutel 13.7 % (Joonis 7).



**Joonis 7. Kasvanduse II kalade neeru vohandilisuse indeksid (NVI), 2020 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste neeru vohandilisuse indeksi (y-teljel, NVI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on väärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parameetrilist Mann-Whitney testi.

Vere punaliblede indeksite vahel neeru parasiidiga mitte tabandunud kaladel ja tabandunud kaladel statistiliselt olulisi erinevusi ei olnud, väärtused vastavalt 0.27 % ja tabandunud kaladel 0.29 % (Joonis 8).



**Joonis 8. Kasvanduse kalade vere punaliblede indeks (PLI), 2020 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste vere punaliblede indeksi (y-teljel, PLI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on väärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parameetrilist Mann-Whitney testi.

### PKD haigustunnused Pedja jõe süsteemi kasvanduses II 2021 a.

Kasvanduses II sellel aastal ühtegi parasiidiga tabandunud proovi ei tuvastatud, samuti olid nende neeru vohandilisuse indeksid suhteliselt madalad (mediaan 11.1 %), samuti on suhteliselt kõrge vere punaliblede indeks, sarnaselt teistele mitte tabandunud proovidele (mediaan 0.28 %, tabel 5). Võib arvata, et NVI madal väärtus kinnitab kalade mitte tabandumist parasiidiga 2021 a. antud kasvanduses.

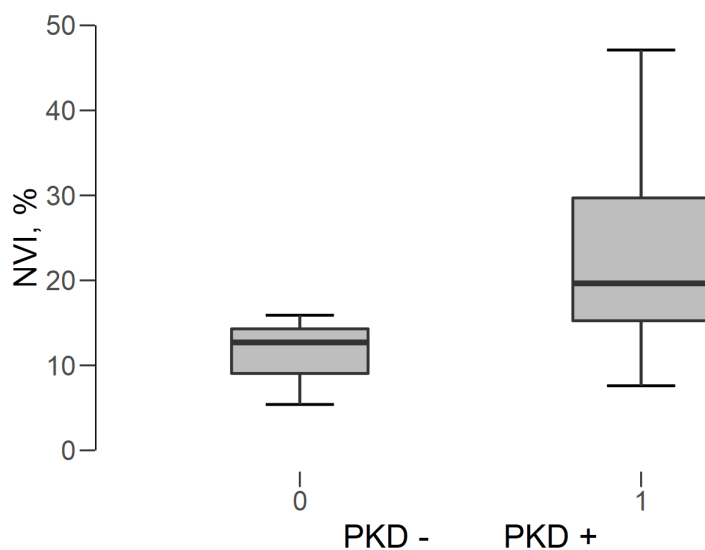
**Tabel 5.** Kasvandusest II kogutud proovide kirjeldav statistika

	<b>NVI, %</b>	<b>PLI, %</b>
Proovide arv	21	21
Mediaan	11.076	0.277
Std. Hälve	2.145	0.021
Miinumum väärtus	6.30	0.240
Maksimum väärtus	15.30	0.320

Tabelis on väljatoodud neeru parasiidiga tabandunud kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI, %) ja vere punaliblede indeks (PLI, %).

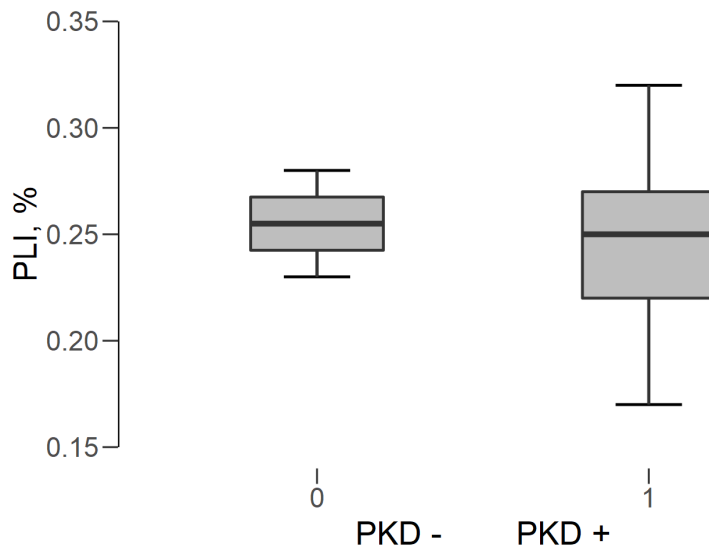
### **PKD haigustunnused Pedja jões 2020 a.**

Jõest kogutud ja analüüsitud proovide osas, oli oluline erinevus parasiidiga tabandunud kalade neeru vohandilisuse indeksis (Joonis 9). NVI mediaan oli vastavalt 13.8 ja 19.7 % parasiidiga tabandamata ja tabandunud kaladel.



**Joonis 9. Looduslike kalade neeru vohandilisuse indeksid (NVI), 2020 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste neeru vohandilisuse indeksi (y-teljel, NVI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parameetrilist Mann-Whitney testi.

Vere punaliblede indeks ei olnud statistiliselt oluliselt kõrgem neeru parasiidiga tabandunud kaladel (mediaan 0.26 ja 0.24 % vastavalt; joonis 10).



**Joonis 10. Looduslike kalade vere punaliblede indeks (PLI), 2020 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste vere punaliblede indeksi (y-teljel, PLI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parametrist Mann-Whitney testi..

### PKD haigustunnused Pedja jões 2021 a.

Antud aastal saadi pedja jõest kokku 17 0+ jõeforelli, neeru parasiidiga tabandumine oli 100 % ning NVI mediaan 31.45 % ja PLI mediaan 0.19 % (Tabel 6).

**Tabel 6.** Pedja jõest kogutud proovide kirjeldav statistika.

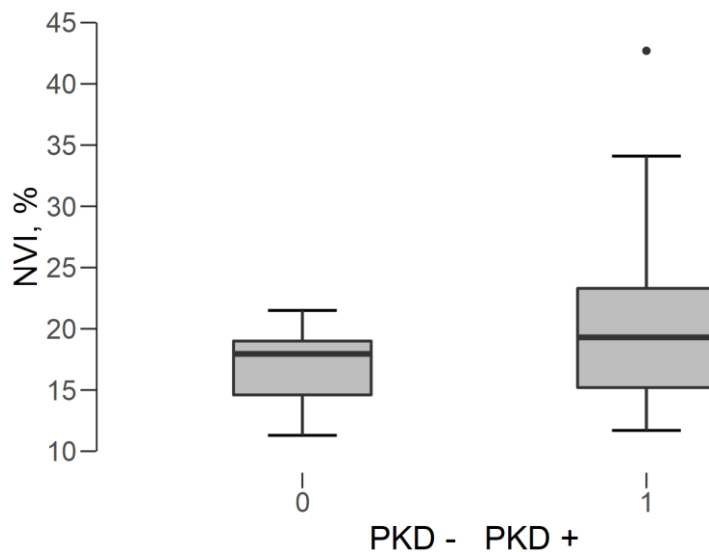
	NVI, %	PLI, %
Proovide arv	17	17
Mediaan	31.447	0.186
Std. Hälve	10.527	0.053
Miinumum väärtus	7.10	0.090
Maksimum väärtus	48.60	0.270

Tabelis on väljatoodud neeru parasiidiga tabandunud kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI, %) ja vere punaliblede indeks (PLI, %).

## 5.2 PKD haigustunnused Leevi ja Ahja jões

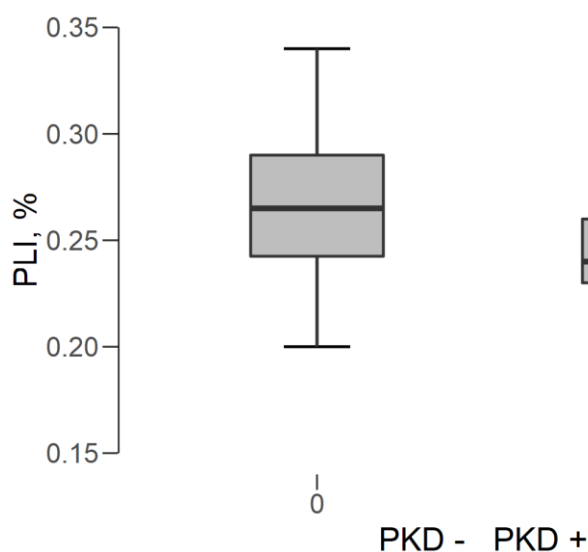
### PKD haigustunnused kasvanduses 2020 a.

2020 a. uuritud proovides Leevi ja Ahja jõel, esines kasvandusest pärit samasuviste vikerforellide vahel oluline seos ( $p = 0.042$ ) haigustunnuste osas, neeru parasiidiga tabandunud (PKD +) ja mitte tabandunud (PKD -) isenditel (Joonised 7 ja 8). NVI mediaan oli tabandunud kaladel 16.9 % ja mitte tabandunud 20.1 % (Joonis 11),



**Joonis 11. Kasvanduse kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI), 2020 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste neeru vohandilisuse indeksi (y-teljel, NVI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parameetrilist Mann-Whitney testi.

Kasvanduste kalade vere punaliblede indeks oli oluliselt väiksem ( $p < 0.05$ ) tabandunud kaladel võrreldes parasiidiga mitte tabandunud isenditega 2020 a. kogutud proovide hulgas, PLI mediaan tabandunud kaladel 0.23 % ja mitte tabandunud 0.27 % (Joonis 12).



**Joonis 12. Kasvanduse kalade vere punaliblede indeks (PLI), 2020 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste vere punaliblede indeksi (y-teljel, PLI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parametrist Mann-Whitney testi.

Kõik looduslikku päritolu jõeforellid (n = 37, tabel 8) Leevi ja Ahja jõest, olid 2020 a. tabandunud neeru parasiidiga. NVI indeksi mediaan 17.4 % ja vere punaliblede indeksi mediaan oli 0.2 % (Tabel 7).

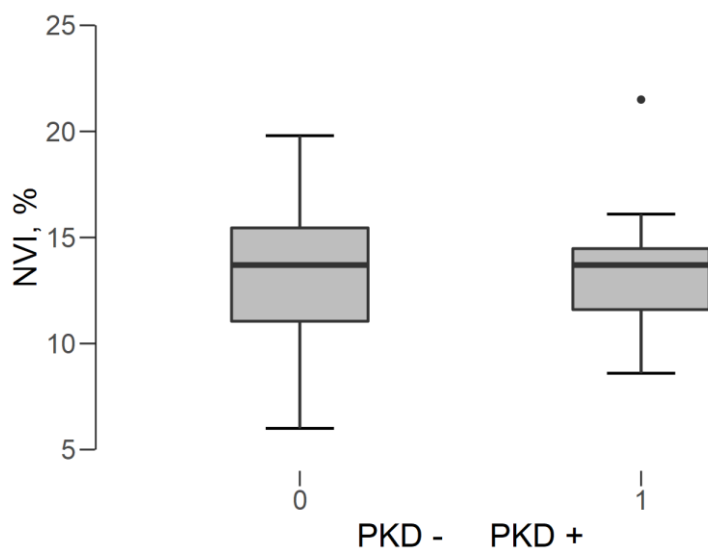
**Tabel 7.** Loodusest kogutud proovide kirjeldav statistika

	NVI, %	PLI, %
Proovide arv	37	37
Mediaan	17.424	0.196
Std. Hälve	10.783	0.049
Miimum väärtus	8.200	0.100
Maksimum väärtus	57.100	0.310

Tabelis on väljatoodud neeru parasiidiga tabandunud kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI, %) ja vere punaliblede indeks (PLI, %).

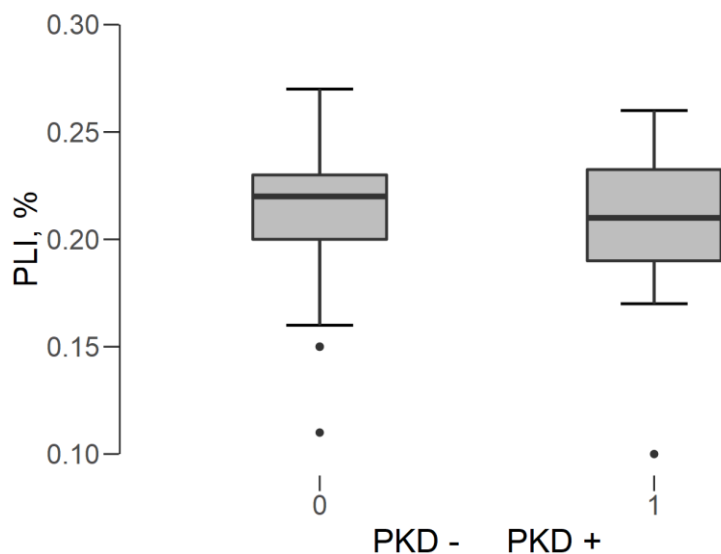
### PKD haigustunnused Leevi ja Ahja jões 2021 a.

2021 a. uuritud proovides Leevi ja Ahja jõel, ei esinenud kasvandusest pärit samasuviste vikerforellide vahel olulist seost neeru vohandilisuse indeksi osas neeru parasiidiga tabandunud (PKD +) ja mitte tabandunud (PKD -) isendite vahel (Joonis 13). NVI mediaan oli tabandunud kaladel 13.3 % ja mitte tabandunudel 13.6 %.



**Joonis 13. Kasvanduse kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI), 2021 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste neeru vohandilisuse indeksi (y-teljel, NVI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parameetrilist Mann-Whitney testi.

Samuti puudus statistiliselt oluline seos kasvanduste kalade 2021 a. proovides vere punaliblede indeksi väärtuste osas tabandunud ja mitte tabandunud isendite vahel, PLI mediaan tabandunud kaladel 0.23 % ja mitte tabandunudel 0.21 % (Joonis 14).



**Joonis 14. Kasvanduse kalade vere punaliblede indeks (PLI), 2021 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste vere punaliblede indeksi (y-teljel, PLI, %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parameetrilist Mann-Whitney testi.

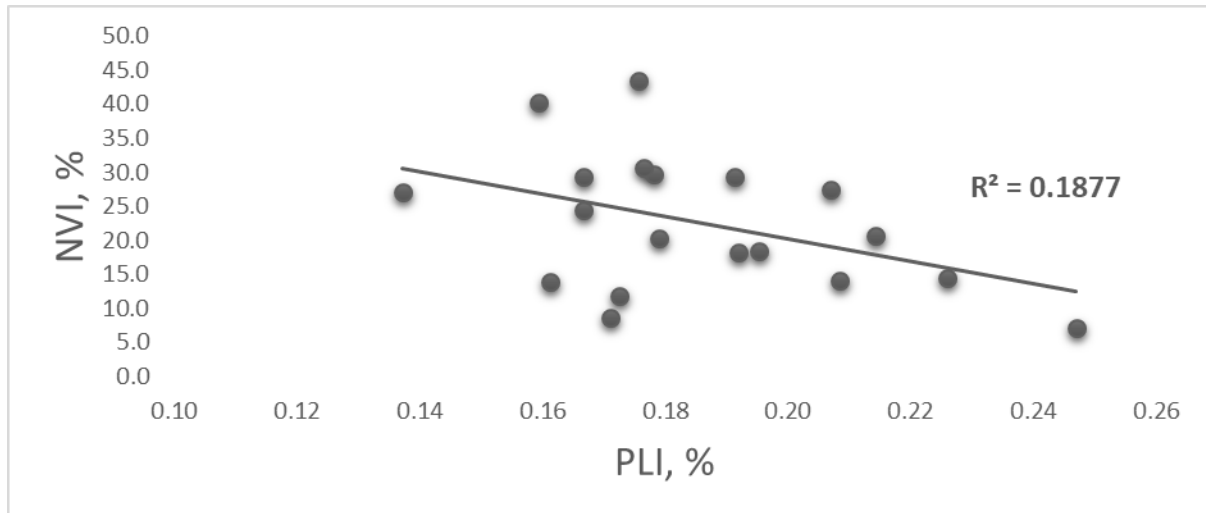
2021 a. Ahja ja Leevi jõest püütud looduslike 0+ jõeforellid olid kõik 100 % tabandunud neeru parasiidiga, neeru vohandilisuse indeksi mediaan 22.6 % ja vere punaliblede indeksi mediaan 0.19 % (Tabel 8).

**Tabel 8.** Loodusest kogutud proovide kirjeldav statistika.

	<b>NVI, %</b>	<b>PLI, %</b>
Proovide arv	19	19
Mediaan	22.584	0.187
Std. Hälve	10.023	0.026
Miinumum väärtus	7.200	0.140
Maksimum väärtus	43.500	0.250

Tabelis on väljatoodud neeru parasiidiga tabandunud kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI, %) ja vere punaliblede indeks (PLI, %).

Neeru parasiidiga tabandunud jõeforellide haigustunnuste vahel esines negatiivne lineaarne korrelatsioon (joonis 15). Neeru vohandilisuse indeksi (NVI, %) suurenedes, väheneb ka vere punaliblede indeks (PLI, %), kuid statistiliselt ei olnud see oluline ( $p = 0.09$ ).



**Joonis 15.** Neeru vohandilisuse indeksi (NVI, %) ja vere punaliblede indeksi (PLI, %) vaheline seos hajuvusdiagrammina Ahja ja Leevi jõeforellidel ( $n = 19$ ) 2021 a. Diagrammi diagonaaljoon ehk regressioonisirge näitab kahe mõõdetud indeksi korrelatsiooni ning joone peal on tähistatud determinatsioonikordaja  $R^2$ , mis näitab selle korrelatsiooni täpsust.

### 5.3 PKD haigustunnused Võhandu jões

#### PKD haigustunnused Võhandu jões 2020 a.

Kasvanduses olid samasuvistena sellel aastal paalia noorkalad ning ühtegi parasiidiga tabandunut proovi analüüsimisel nende hulgast ei tuvastatud. Neeru vohandilisuse indeksid olid väga madalad (mediaan 8.6 %), samuti oli suhteliselt kõrge vere punaliblede indeks, sarnaselt mitte tabanud kaladele (mediaan 0.28 %, tabel 9).

**Tabel 9.** Kasvandusest II kogutud proovide kirjeldav statistika

	NVI, %	PLI, %
Proovide arv	50	50
Mediaan	8.564	0.282
Std. Hälve	2.402	0.019
Miinumum väärtus	5.100	0.230
Maksimum väärtus	17.400	0.330

Tabelis on väljatoodud neeru parasiidiga tabandunud kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI, %) ja vere punaliblede indeks (PLI, %).

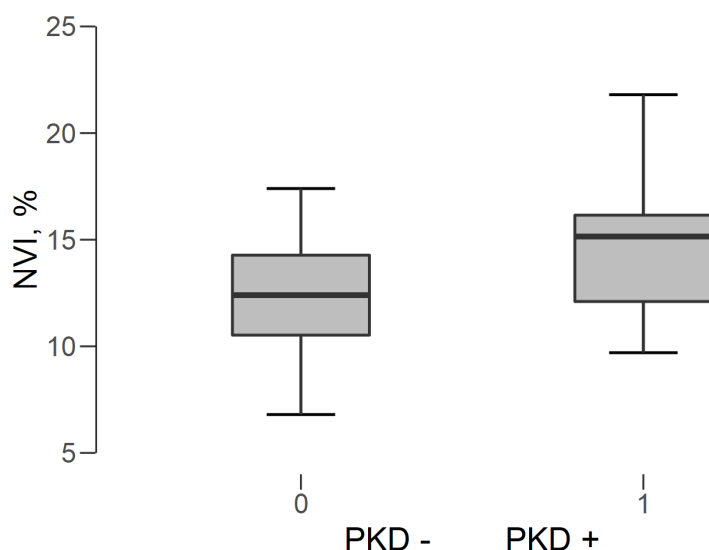
Võhandu jões läbiviidud püükidel kogutud proovide hulgas olid kõik kalad neeru parasiidiga tabandunud, kuid kalad olid nähtavate haigustunnusteta, NVI mediaan 7.7 % ja PLI 0.23 % (Tabel 10).

**Tabel 10.** Võhandu jõest kogutud proovide kirjeldav statistika

	NVI, %	PLI, %
Proovide arv	3	3
Mediaan	7.667	0.277
Std. Hälve	2.248	0.012
Miimum väärtus	5.200	0.270
Maksimum väärtus	9.600	0.290

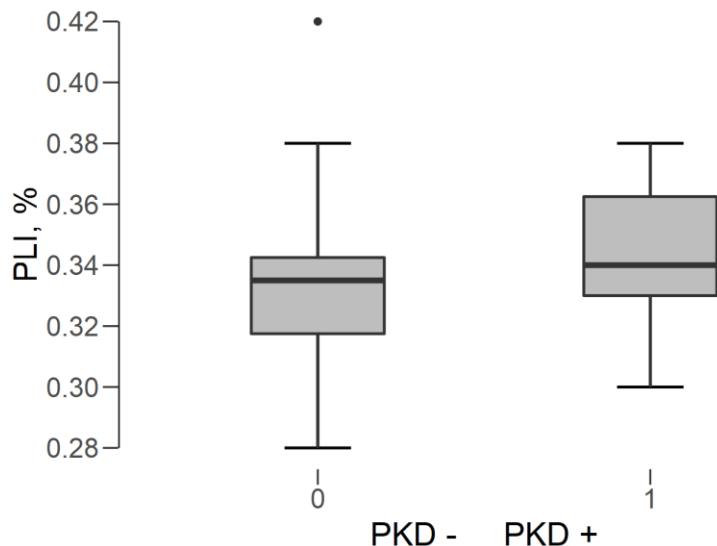
### PKD haigustunnused kasvanduses Võhandu jõel 2021 a.

2021 a. uuritud proovides esines kasvandusest pärit kahesuviste (1+) vikerforellide vahel statistiliselt oluline ( $p < 0.05$ ) seos neeru vohandilisuse indeksi osas neeru parasiidiga tabandunud (PKD +) ja mitte tabandunud (PKD -) isendite vahel (Joonis 11). NVI mediaan oli tabandunud kaladel 14.5 % ja mitte tabandunutel 12.3 % (Joonis 16).



**Joonis 16.** Kasvanduse kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI), 2021 a. Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste neeru vohandilisuse indeksi (y-teljel, NVI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parameetrilist Mann-Whitney testi.

PLI osas puudus statistiliselt oluline seos kasvanduste kalade 2021 a. analüüsitud proovides tabandunud ja mitte tabandunud isendite vahel ( $p > 0.05$ ), PLI mediaan tabandunud kaladel 0.34 % ja mitte tabandunudel 0.33 % (Joonis 17).



**Joonis 17. Kasvanduse kalade vere punaliblede indeks (PLI), 2021 a.** Neeru parasiidiga mitte tabandunud kalade (tähistatud PKD – ja 0) ja tabandunud kalade (tähistatud PKD + ja 1) keskmiste vere punaliblede indeksi (y-teljel, PLI %) võrdlus karp-vurrud-diagrammiga, kus karbis olev tume horisontaaljoon tähistab andmete mediaani ning horisontaaljooned ehk vurrud, andmete varieeruvust ülemise ja alumise kvartiili (karbi horisontaalsed äärejooned) vahel ning mis tahes punkti nendest joontest väljaspool on võõrväärtused. Statistilise erinevuse hindamiseks võrreldavate andmete osas kasutati mitte-parameetrilist Mann-Whitney testi.

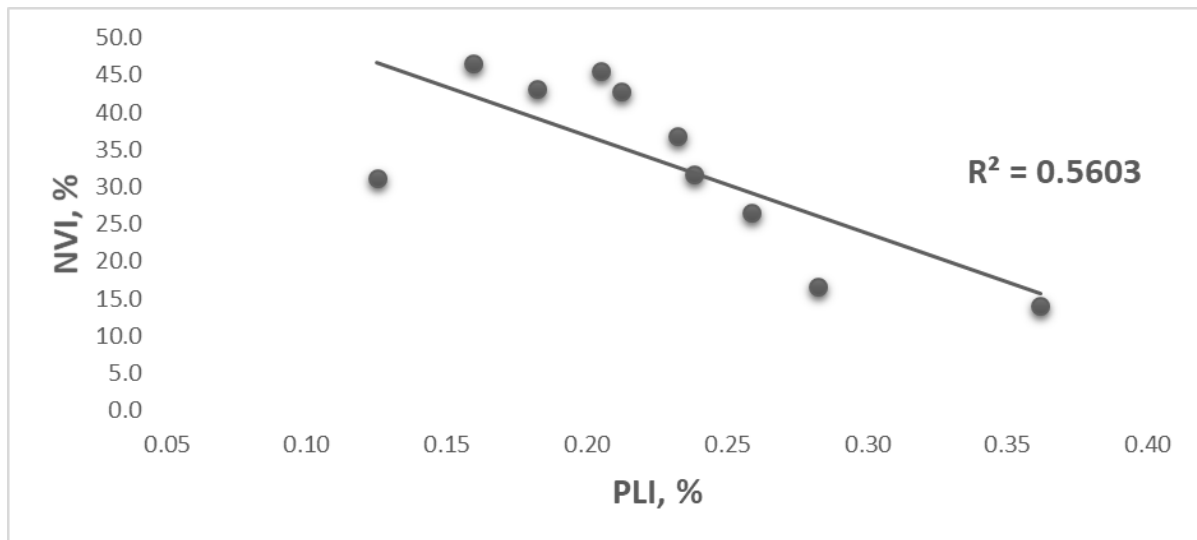
2021 a. saadi Võhandu jõest kokku 10 proovi, millest parasiidiga olid tabandunud kõik kalad (Tabel 11). Neeru vohandilisuse indeksi mediaan oli 34.2 % ja vere punaliblede indeksi mediaan 0.22 %.

**Tabel 11.** Loodusest kogutud proovide kirjeldav statistika

	NVI, %	PLI, %
Proovide arv	10	10
Mediaan	34.20	0.220
Std. Hälve	11.683	0.066
Miinumum väärtus	14.10	0.130
Maksimum väärtus	46.60	0.360

Tabelis on väljatoodud neeru parasiidiga tabandunud kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI, %) ja vere punaliblede indeks (PLI, %).

Neeru parasiidiga tabandunud kalade haigustunnuste vahel oli statistiliselt oluline ( $p < 0.01$ ) lineaarne negatiivne korrelatsioon (Joonis 18). Neeru vohandilisuse indeksi (NVI, %) suurenedes, väheneb oluliselt vere punaliblede indeks (PLI, %).



**Joonis 18.** 2021 a. Võhandu jõest püütud jõeforellidel ( $n = 10$ ). Neeru vohandilisuse indeksi (NVI, %) ja vere punaliblede indeksi (PLI, %) vaheline seos. Hajuvusdiagrammi diagonaaljoon ehk regressioonisirge näitab kahe mõõdetud indeksi korrelatsiooni ning joone peal on tähistatud determinatsioonikordaja  $R^2$ , mis näitab selle korrelatsiooni täpsust.

#### 5.4 PKD haigustunnused Nõmme jões 2021 a.

Kasvandusesest kogutud proovide hulgas sellel aastal ühtegi parasiidiga tabandunut isendit ei tuvastatud, samuti olid nende neeru vohandilisuse indeksid suhteliselt madalad (mediaan 11.2 %), samuti on suhteliselt kõrge vere punaliblede indeks, sarnaselt teistele mitte tabanud proovidele (mediaan 0.23 %, tabel 12). Võib arvata, et NVI madal väärtus kinnitab kalade mitte tabandumist parasiidiga 2021 a. antud kasvanduses.

**Tabel 12.** Kasvandusesest kogutud proovide kirjeldav statistika

	NVI, %	PLI, %
Proovide arv	40	31
Mediaan	11.16	0.225
Std. Hälve	3.23	0.038
Miinumum väärtus	6.30	0.15
Maksimum väärtus	22.10	0.29

Tabelis on väljatoodud neeru parasiidiga tabandunud kalade neeru vohandilisuse indeks (NVI, %) ja vere punaliblede indeks (PLI, %).

Nõmme jõest 2021 a. püütud looduslikelt jõeforellidelt ( $n = 4$ ) ei tuvastatud ühtegi neeru parasiidiga tabandunud isendit 2021 a.

## 6 Arutelu ja järeldused

Kui seni oli Eestis uuritud ainult *T. bryosalmonae* levikut ja tabandumust Eesti looduslikes forelliasurkondades ja kümnes kalakasvanduses, siis käesoleva projekti raames uuriti esimest korda ka lõhilaste neeru parasiidi poolt põhjustatud haigustunnuseid valitud vooluveekogudel ja nendel paiknevates kalakasvandustes. Peamiseks uuritud liigiks looduslikes vooluveekogudes oli jõeforell ja uuringu tulemusena leiti, et kõigis uuritud jõelõikudes oli jõeforell tabandunud *T. bryosalmonae*'ga (sagedus 90 - 100 %), va. 2021 a. püügil Nõmme jões kui *T. bryosalmonae* parasiiti ei leitud. *T. bryosalmonae* esinemist looduses seostatakse peamiselt sammalloomale sobilike tingimuste olemasoluga, eelkõige sobiva suvise veetemperatuuri (15 - 18 °C) ja samas hapnikurikka veega (Gay et al. 2001). Seetõttu võib arvata, et üks oluline osa *T. bryosalmonae* arvukuse tõusul võib olla ka jõgedele rajatud paisudel. Enamasti on just paisudest allavoolu need alad, kust ka sammalloomade ennast on senini leitud (Gay et al. 2001; Dash & Vasemägi, 2014). Näiteks Põhja-Eesti jõgedel esineb *T. bryosalmonae* just jõgedes, peale paisjärvesid, hapnikurikkas ja soojenenud veelõikudes. Oma olemuselt on jõele rajatud pais vooluvee aeglusti ning põhjustab päikesekiirguse toimel veetemperatuuri looduslikust foonist kiiremat soojenemist. Samas rikastub soe vesi hapnikuga voolates paisust alla, millega tekitatakse nii sammalloomale kui ka neeruhaiguse põhjustajale, väga soodsad elutingimused paisudest allavoolu. Eesti läbivoolused kalakasvandused toimivad enamasti just tänu paisutatud vooluveekogule, millest saadakse vajalik hulk vett kalade kasvatamiseks tehnilikes rajatistes paisust allavoolu. Sisuliselt luuakse sellega sobivad eeldused sammalloomade kasvuks ning ühtlasi ka soodustatakse *T. bryosalmonae* arvukuse tõusu. Kriitilise tähtsusega vahandilise neeruhaiguse kujunemisel on seejuures just kevadised ning suvised veetemperatuurid (Gay et al. 2001). Seetõttu võib *T. bryosalmonae* leviku võimaliku laienemise teiseks oluliseks faktoriks pidada kliima soojenemist (Okamura & Feist 2011).

Praegusel hetkel teadaolevalt puuduvad PKD kui haiguse ravimiseks toimivad meditsiinilised meetmed (vaktsiinid, ravimid jt.), kasvandustes on võimalik pigem haiguse ennetamine (Skovgaard & Buchmann 2012). Soovitavalt tuleks pigem vähendada asustustihedust, jälgida kalade heaolu nende käitlemisel või söötmisel ning tagama sellel perioodil hea hapnikuga varustatuse vees.

Varasemalt on lõhel PKD ennetamiseks kasutatud malahiitrohelist ja puhastatud fumagilliini ravikuure (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fumagillin-DCH>) (Quigley & McArdle, 1998), mille tulemusel haiguse kliiniline kulg ja kalade suremus vähenes kuni 40 %. Lisaks võib kalade haigusresistentsust mõjutada ka nende geneetiline taust (Debes et al. 2018).

Varasemate uuringute põhjal võib väita, et vohandilise neeruhaiguse tekitaja, *T. bryosalmonae*, on levinud üle Eesti ning peale forelli võivad neeru parasiidiga tabanduda ka teised lõhilased, näiteks lõhe ja harjus (Kahar et al., töö nr. 10-1/MI/291-1; Lauringson et al. 2021). Käesoleva kahe-aastase projekti käigus leiti lisaks looduslikele populatsioonidele *T. bryosalmonae* parasiiti ka kalakasvanduses peetavil vikerforellidel. Esinemissagedused oli kasvandustes samuti üsna kõrged, kuid väga kõikuvad (0 – 80 %), see võib tuleneda sellest, et kõigis kasvandustes ei olnud kõik kalad samasuvised vikerforellid. Looduses oli tabandumine siiski veel kõrgem (90 – 100 %), mis tähendab seda, et parasiit on looduslikult jões üsna levinud ja jõeforellid äärmiselt ohustatud.

Teiseks oluliseimaks järelduseks võib öelda, et parasiidiga tabandunud kasvanduse kaladel kujunesid mõningatel juhtudel välja ka selle neeru parasiidi poolt põhjustatavatele tüüpilistele haigustunnustele (neeru vohandilisuus ja vähene vere punaliblede hulk). Tõenäoliselt on see seotud just kõrgemate veetemperatuuriga, omakorda viitab sellele, et uuritud parasiit võib olla suureks ohuks Eestis asuvatele läbivoolsetele vikerforelli kalakasvandustele ning seda eeskätt soojemate veetemperatuuride korral (vt. lisad 1 – 3). Kui 2019 a. läbiviidud uuringus oli Eestis suvine õhutemperatuur kümne aasta keskmise lähedal ning veetemperatuuride maksimumid olid uuritud jõgedes 22 °C juures juulis, siis 2020 a. mõõdeti mitmes jões veetemperatuuri maksimumiks 24 – 25 °C ja 2021 a. Näiteks Pedja jões küündis veetemperatuur jõe alamjooksul isegi 28 kraadini (saavutades oma maksimumi 27.8 °C, vt. lisa 3).

## 7 Kokkuvõte ja soovitused

Kui seni oli Eestis uuritud ainult lõhilaste vohandilist ehk proliferatiivset neeruhaigust põhjustava parasiidi *T. bryosalmonae* levikut ja tabandumust kalakasvandustes ja nendega seotud vooluveekogudel, siis käesoleva projekti raames saadi esmakordselt informatsiooni *T. bryosalmonae* poolt põhjustatud haigustunnuste väljakujunemises kalakasvandustes ja nendega seotud vooluveekogudel. Peamiseks lõhilaseks uuritud jõgedes oli jõforell ning käesolevas uuringus avastati, et kõigis jõgedes oli looduslikult esinevad isendid tabandunud *T. bryosalmonae*'ga (esinemissagedus 92–100 %). Lisaks tuvastati parasiidi esinemine mitmes kalakasvanduses, kus ilmnisid ka parasiidi poolt tekitatud haigustunnuste ilminguid (neerude vohandilisus ja madalam vere punaliblede tase). Võib eeldada, et temperatuuride tõus põhjustab *T. bryosalmonae* leviku laienemist ja suuremat esinemissagedust, mistõttu ka vohandilise neeruhaiguse sümptomite ägenemist ning võib seeläbi ka kalakasvanduste kalu enam ohustada. Kui siiani tuvastati ainult üks *T. bryosalmonae* tabandumise juhtum kalakasvanduses, siis käesolev uuring näitas, et 2020 ja 2021 a. aset leidnud soojemate suvedega, suurenes antud parasiidi esinemissagedus märkimisväärselt ning teda leiti peaaegu kõigis kalakasvandustes (esinemissagedusega kuni 80 %).

Antud projekti raames ei olnud kahjuks võimalik koguda koeproove samasuvistelt vikerforellidelt kõikidest uuritud kalakasvandustest (tulenevalt kasvanduste eripäradest), mis võis tulemusi mõjutada. Samuti väärrib märkimist, et haigustunnuste esinemist ei olnud võimalik osadel juhtudel usaldusväärselt hinnata, eeskätt küllaltki väikese valimi tõttu. Sellest lähtuvalt oleks tulevaste uuringute puhul väga vajalik kalakasvanduste põhjalikum seire, mille raames võiks suurendada kindlasti uuritud proovide arvu, tagamaks statistilise usaldusväärsuse. Lisaks oleks vajalik uurida haigustunnuste ja kalade kasvu vahelisi seoseid ning koguda ka kõik hukkunud või ilmsete haigustunnustega kalade noorjärgud uuritava periood vältel. Selline lähenemine annaks põhjalikuma ülevaate probleemi akuutsusest ja võimalikust mõjust konkreetsele ettevõttele.

Läbiviidud uuringust lähtuvalt on äärmiselt oluline, et andmete kogumine viidaks läbi pikemaajaliselt (minimaalselt kahel aastal). See välistaks näiteks ilmastiku suurt mõju, hindamaks haigussümptomite ulatust, selle olulisust kalade kasvule või seoseid hukkunud isenditega. Lisaks annaks see otsese signaali ja tagasiside nii konkreetsele ettevõttele kui ka Eesti kalakasvatusektorile üldiselt.

Käesoleva uuringu tulemusena hinnati esmakordselt Eestis lõhilaste neeruparasiidi *T. bryosalmonae* poolt põhjustatud haigustunnuseid mitmes kalakasvanduses ja nendega seotud vooluveekogudes. Projekti tulemusena koguti olulist teavet vohava neeruhaiguse esinemise kohta, mis on oluline nii ettevõtetele, ministriumitele kui ka teadusasutustele. *T. bryosalmonae* kõrge esinemissagedus ja avaldunud haigustunnused nii looduses kui ka kasvandustes, on potentsiaalseks ohuks meie läbivoolsetele kalakasvandustele. Soovituslikud uuringud neeru parasiidi mõju hindamiseks näiteks kalade kasvule ja ellujäämisele, annaksid vesiviljelus ettevõtetele ja sektorile kindlasti parema ülevaate selle haiguse olulisusest.

## 8 Kasutatud kirjandus

**Anderson, C. L., Canning, E. U., & Okamura, B.** (1999). Molecular data implicate bryozoans as hosts for PKX (phylum Myxozoa) and identify a clade of bryozoan parasites within the Myxozoa. *Parasitology*, 119(6), 555–561.

**Bettge, K., Segner, H., Burki, R., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T.** (2009). Proliferative kidney disease (PKD) of rainbow trout: temperature- and time related changes of *Tetracapsuloides bryosalmonae* DNA in the kidney. *Parasitology*, 136 (6). lk 615–625.

**Borsuk, M. E., Reichert, P., Peter, A., Schager, E., Burkhardt-Holm, P.** (2006). Assessing the decline of brown trout (*Salmo trutta*) in Swiss rivers using a Bayesian probability network. *Ecol. Model.*, 192 (1-2). lk 224–244.

**Bruneaux, M., Visse, M., Gross, R., Pukk, L., Saks, L., Vasemägi, A.** (2017). Parasite infection and decreased thermal tolerance: impact of proliferative kidney disease on a wild salmonid fish in the context of climate change. *Funct. Ecol.*, 31 (1). lk 216–226.

**Canning, E. U., Tops, S. A., Curry, A., Wood, T. S., Okamura, B.** (2002). Ecology, development and pathogenicity of *Buddenbrockia plumatellae* Schröder, 1910 (Myxozoa, Malacosporea) (syn. *Tetracapsula bryozoides*) and establishment of *Tetracapsuloides* n. gen. for *Tetracapsula bryosalmonae*. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 49 (4). lk 280–295.

**Carraro, L., Mari, L., Hartikainen, H., Strepparava, N., Wahli, T., Jokela, J., Gatto, M., Rinaldo, A., Bertuzzo, E.** (2016). An epidemiological model for proliferative kidney disease in salmonid populations. *Parasit. Vectors*, 9 (1). 487.

**Carraro, L., Bertuzzo, E., Mari, L., Fontes, I., Hartikainen, H., Strepparava, N., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T., Jokela, J., Gatto, M., Rinaldo, A.** (2017). Integrated field, laboratory, and theoretical study of PKD spread in a Swiss prealpine river. *PNAS*, 114 (45). lk. 11992-11997.

**Dash, M., Vasemägi, A.** (2014). Proliferative kidney disease (PKD) agent *Tetracapsuloides bryosalmonae* in brown trout populations in Estonia. *Dis. Aquat. Organ.*, 109 (2). lk 139–148.

**Debes PV., Ahmad F., Palomar, G., Vasemägi A.** (2018) Association mapping reveals candidate loci for resistance and anaemic response to an emerging temperature-driven parasitic disease in a wild salmonid fish. *Mol Ecol.* 2018 Mar;27(6):1385-1401.

**de Kinkelin, P., Gay, M., Forman, S.** (2002). The persistence of infectivity of *Tetracapsula bryosalmonae* infected water for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Dis.*, 25 (8). lk 477–482.

**Foott, J. S., Hedrick, R. P.** (1987). Seasonal occurrence of the infectious stage of proliferative kidney disease (PKD) and resistance of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to reinfection. *J. Fish Biol.*, 30 (4). lk 477–483.

**Gay, M., Okamura, B., de Kinkelin, P.** (2001). Evidence that infectious stages of *Tetracapsula bryosalmonae* for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* are present throughout the year. *Dis. Aquat. Org.*, 46 (1). lk 31–40.

**Gorgoglione, B., Kotob, M. H., Unfer, G., El-Matbouli, M.** (2016). First Proliferative Kidney Disease outbreak in Austria, linking to the aetiology of Black Trout Syndrome threatening autochthonous trout populations. *Dis. Aquat. Org.* 119 (2). lk 117-128.

**Hartikainen, H., Johnes, P., Moncrieff, C., Okamura, B.** (2009). Bryozoan populations reflect nutrient enrichment and productivity gradients in rivers. *Freshw. Biol.*, 54 (11). lk 2320–2334.

**Hartikainen, H., Fontes, I., Okamura, B.** (2013). Parasitism and phenotypic change in colonial hosts. *Parasitology*, 140. lk 1403-1412.

**Hedrick, R. P., Baxa, D. V., de Kinkelin, P., Okamura, B.** (2004). Malacosporean-like spores in urine of rainbow trout react with antibody and DNA probes to *Tetracapsuloides bryosalmonae*. *Parasitol. Res.*, 92. lk 81-88.

**Kristmundsson, Á., Antonsson, T., Árnason, F.** (2010). First record of proliferative kidney disease in Iceland. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 30 (1). lk 35–40.

**Longshaw, M., Feist, S. W., Canning, E. U., & Okamura, B.** (1999). First identification of PKX in bryozoans from the United Kingdom-molecular evidence. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 19, 146– 148.

**Lauringson, M., Nousiainen, I., Kahar, S., Burimski, O., Gross, R., Kaart, T., Vasemägi A.** (2021). Climate change-driven disease in sympatric hosts: Temporal dynamics of parasite burden and proliferative kidney disease in wild brown trout and Atlantic salmon. *Journal of Fish Diseases*, 44, 689– 699.

**McGurk, C., Morris, D. J., Auchinachie, N. A., Adams, A.** (2006). Development of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa: Malacosporea) in bryozoan hosts (as examined by light microscopy) and quantitation of infective dose to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet. Parasitol.*, 135 (3-4). lk 249–257.

**Marcos-López, M., Gale, P., Oidtmann, B. C., Peeler, E. J.** (2010). Assessing the impact of the climate change on disease emergence in freshwater fish in the United Kingdom. *Transbound Emerg. Dis.*, 57 (5). lk 293-304.

**Mo, T. A., Jørgensen, A.** (2016). A survey of the distribution of the PKD-parasite *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Cnidaria: Myxozoa: Malacosporea) in salmonids in Norwegian rivers – additional information gleaned from formerly collected fish. *J.Fish Dis.*, 40 (5). lk 621-627.

**Okamura, B., Feist, S. W.** (2011). Emerging diseases in freshwater systems. *Freshw. Biol.*, 56 (4). lk 627-637.

**Okamura, B., Hartikainen, H., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T.** (2011). Life cycle complexity, environmental change and the emerging status of salmonid proliferative kidney disease. *Freshw. Biol.* 56 (4). lk 735–753.

**Poulin, R., Paterson, R. A., Townsend, C. R., Tompkins, D. M., Kelly, D. W.** (2011). Biological invasions and the dynamics of endemic diseases in freshwater ecosystems. *Freshw. Biol.*, 56 (4). lk 676–688.

**Rannak, L., Arman, J., Kangur, M.** (1983). *Lõhe ja meriforell*. Tallinn: Valgus. 152 lk.

**Skovgaard, A., Buchmann, K.** (2012). Tetracapsuloides bryosalmonae and PKD in juvenile wild salmonids in Denmark. *Dis. Aquat. Organ.*, 101 (1). lk 33-42.

**Sterud, E., Forseth, T., Ugedal, O., Poppe, T. T., Jørgensen, A., Bruheim, T., Fjeldstad, H. P., Mo T. A.** (2007). Severe mortality in wild Atlantic salmon *Salmo salar* due to proliferative kidney disease (PKD) caused by *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa). *Dis. Aquat. Organ.*, 77 (3). lk 191-198.

**Tops, S., Lockwood, W., Okamura, B.** (2006). Temperature-driven proliferation of *Tetracapsuloides bryosalmonae* in bryozoan hosts portends salmonid declines. *Dis. Aquat. Organ.*, 70 (3). lk 227–236.

**Vasemägi, A., Nousiainen, I., Saura, A., Vähä, J. P., Valjus, J., Huusko, A.** 2017. First record of proliferative kidney disease agent *Tetracapsuloides bryosalmonae* in wild brown trout and European grayling in Finland. *Dis. Aquat. Organ.*, 125 (1). lk 73-78.

**Wahli, T., Knuesel, R., Bernet, D., Segner, H., Pugovkin, D., Burkhardt-Holm, P., Escher, M., Schmidt-Posthaus, H.** (2002). Proliferative kidney disease in Switzerland: current state of knowledge. *J. Fish Dis.*, 25 (8). lk 491-500.

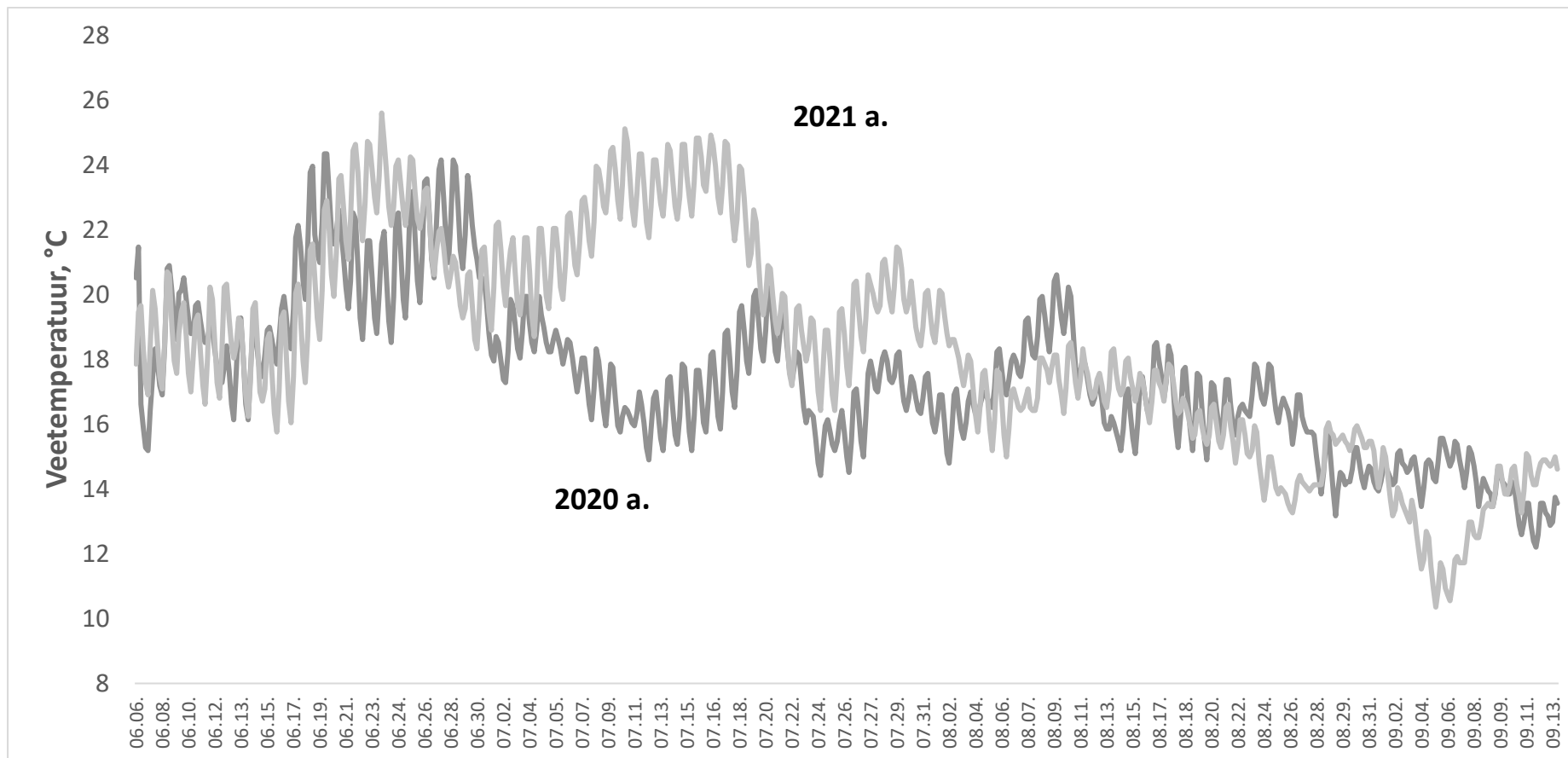
**Wood, T. S., Okamura, B.** (2005). A new key to the freshwater Bryozoans of Britain, Ireland and continental Europe, with notes on their ecology. The Freshwater Biological Association, Ambleside, United Kingdom.

**Interneti allikad:**

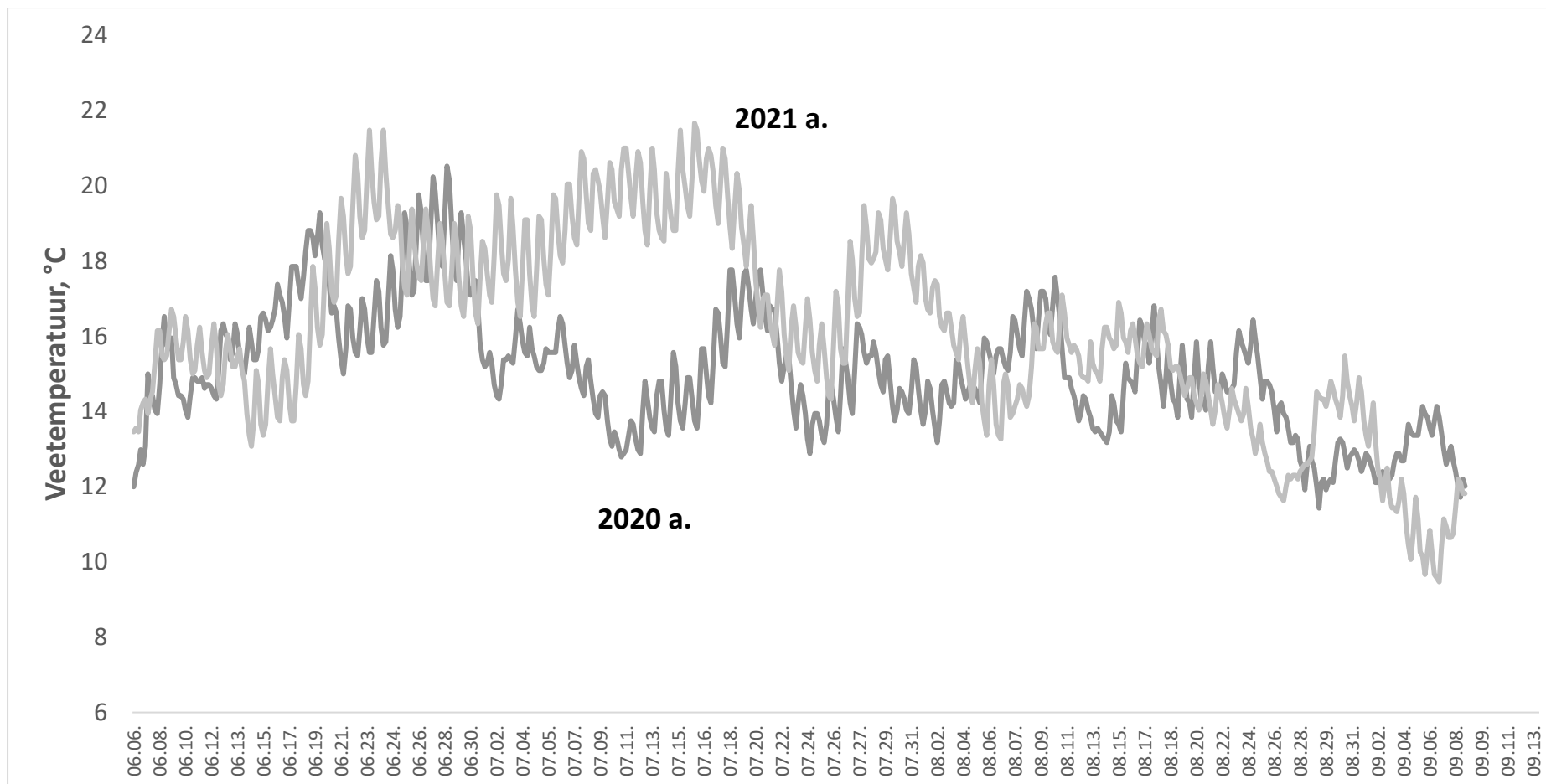
<https://oar.marine.ie/bitstream/handle/10793/1230/Quigley%20and%20McArdle.%20Management%20and%20control%201998.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

[https://www.kalateave.ee/images/pdf/pkd\\_lopparuanne\\_siim\\_kahar\\_2020.pdf](https://www.kalateave.ee/images/pdf/pkd_lopparuanne_siim_kahar_2020.pdf)

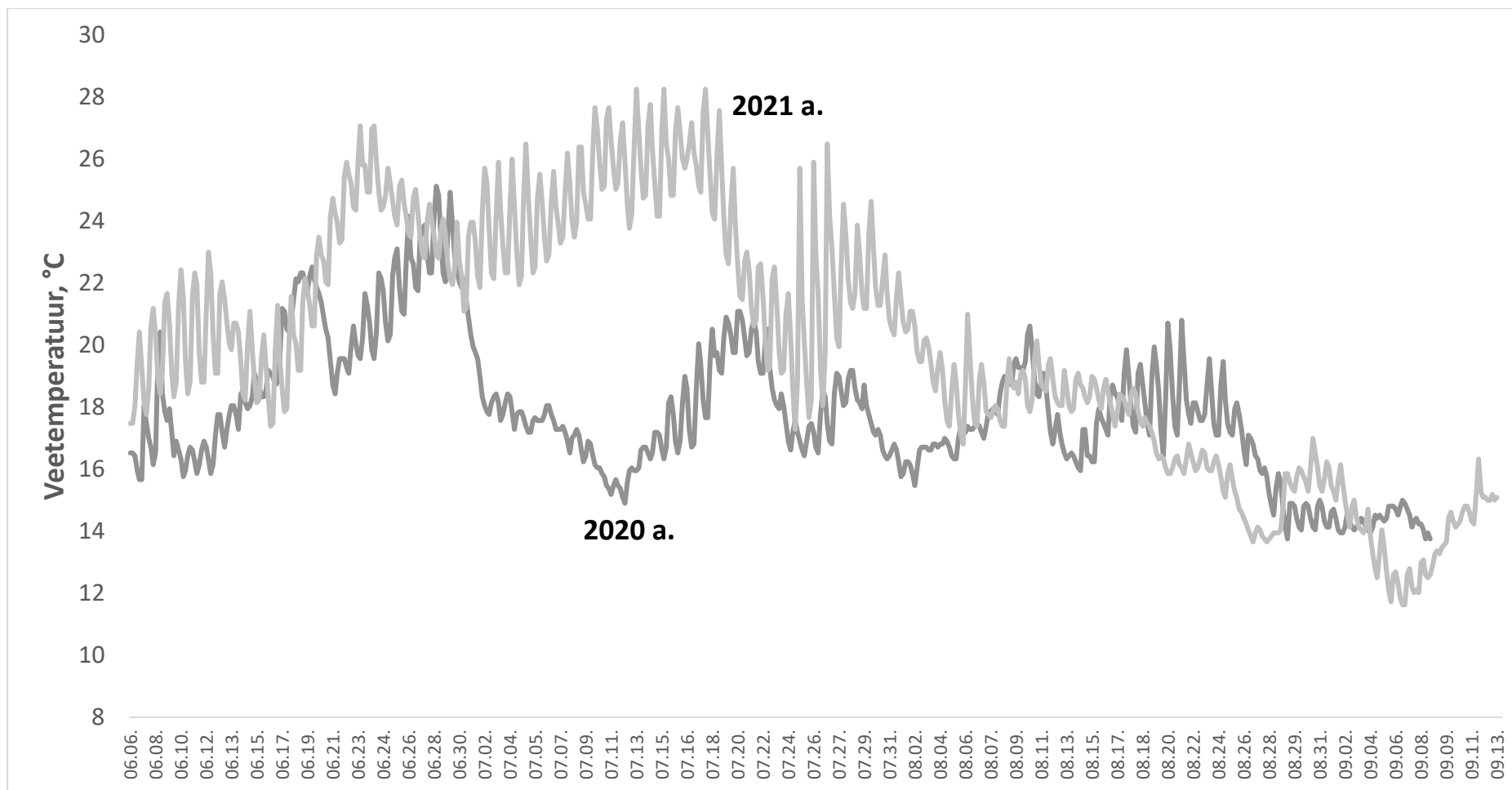
## 9 Lisad



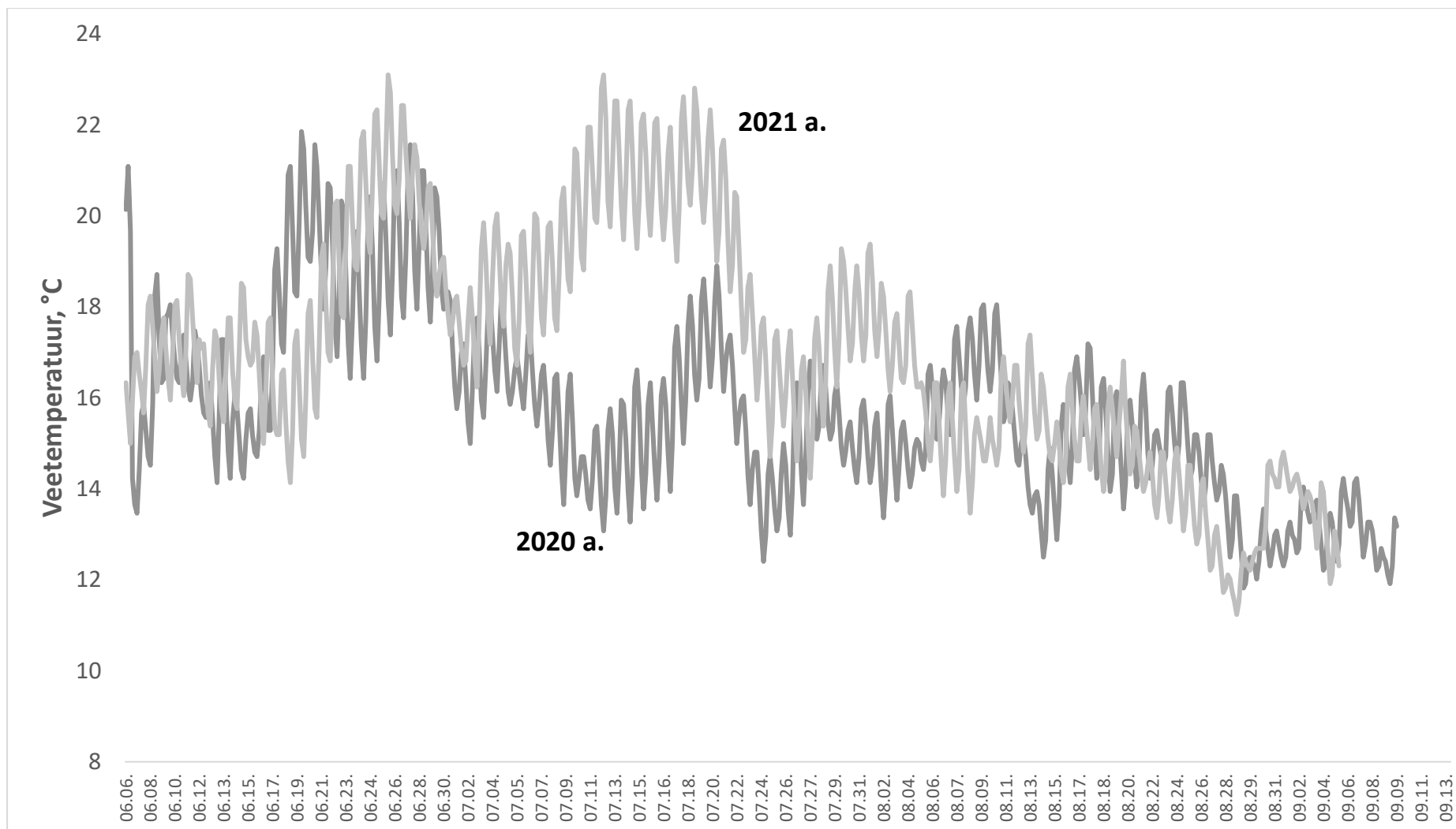
**Lisa 1. Veetemperatuur Leevi jões, juuni – september 2020/2021 a.** Veetemperatuuri graafik on esitatud 2020 a. (tume hall joon) ja 2021 a. (hele hall joon), mõõdetuna kalade suvisel kasvuperioodil (06.06 – 15.09). Joone amplituudid peegeldavad mõõtmistulemusi 4x ööpäevas.



**Lisa 2. Veetemperatuur Pedja jõe ülemjooksul, juuni – september 2020/2021 a.** Veetemperatuuri graafik on esitatud 2020 a. (tume hall joon) ja 2021 a. (hele hall joon), mõõdetuna kalade suvisel kasvuperioodil (06.06 – 15.09). Joone amplituudid peegeldavad mõõtmistulemusi 4x ööpäevas.



**Lisa 3. Veetemperatuur Pedja jõe alamjooksul, juuni – september 2020/2021 a.** Veetemperatuuri graafik on esitatud 2020 a. (tume hall joon) ja 2021 a. (hele hall joon), mõõdetuna kalade suvisel kasvuperioodil (06.06 – 15.09). Joone amplituudid peegeldavad mõõtmistulemusi 4x ööpäevas.



**Lisa 4. Veetemperatuur Võhandu jões, juuni – september 2020/2021 a.** Veetemperatuuri graafik on esitatud 2020 a. (tume hall joon) ja 2021 a. (hele hall joon), mõõdetuna kalade suvisel kasvuperioodil (06.06 – 15.09). Joone amplituudid peegeldavad mõõtmistulemusi 4x ööpäevas.