TARTU ÜLIKOOL
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND
LOOMAÖKOLOOGIA ÕPPETOOL

Liisa Juurmann

OLFAKTOORSED SIGNAALID JA KALADE HAISTETUNDLIKKUS VEEKESKKONNA KVALITEEDI HINDAMISEL

Magistritöö

Juhendaja: Randel Kreitsberg PhD

Tartu 2025

Olfaktoorsed signaalid ja kalade haistetundlikkus veekeskkonna kvaliteedi hindamisel

Keskkonnasaaste, sealhulgas vees leiduvad toksilised ained, mõjutavad kalade haistmismeelt, mis on neile eluliselt tähtis toidu leidmiseks, kiskjate vältimiseks ja sigimiseks. Käesolevas töös uuriti eksperimentaalselt mudamaimu (*Leucaspius delineatus* (Heckel, 1843)) reaktsioone erinevatele lõhnasignaalidele, et leida sobivad stiimulid edasisteks uuringuteks haistmist kahjustavate ainete mõju kohta. Katsed viidi läbi fluviaariumis, kus testiti kalade reaktsioone viiele lõhnale: ahven, haug, alarmaine, toit ja kontroll. Hinnati reaktsiooni tugevust, kestust ja veevoolueelistust. Tulemused näitasid, et tugevaimad reaktsioonid kutsusid esile ahvena ja alarmaine lõhnad. Veevoolueelistuses statistiliselt olulisi erinevusi ei leitud, kuid täheldati visuaalseid kalduvusi. Töö kinnitab, et kalade haistmismeel reageerib erinevatele ökoloogiliselt olulistele lõhnadele eristuvate käitumuslike mustritega ning mudamaimu saab kasutada biomarkerina veekeskkonna kvaliteedi hindamisel.

Märksõnad: haistmismeel, kalad, toksilised ained, olfaktoorsed signaalid, mudamaim, käitumiskatsed, keskkonnakvaliteet

CERCS: B280, B700, P305

Olfactory signals and fish olfactory sensitivity in the assessment of aquatic environmental quality

Environmental pollution, including toxic substances present in water, affects the olfactory sense of fish, which is vital for locating food, avoiding predators and reproduction. This study experimentally examined the responses of sunbleak (*Leucaspius delineatus* (Heckel, 1843)) to different olfactory cues in order to identify suitable stimuli for future research on the effects of olfactory disrupting substances. The experiments were conducted in a fluviarium, where fish were exposed to five odor stimuli: perch, pike, alarm substance, food and a control. Reactions were assessed based on response strength, duration and flow preference. The results showed that the strongest response were elicited by the odors of perch and the alarm substance. Although no statistically significant differences were found in flow preference, visual tendencies were observed. This study confirms that the fish olfactory system responds to various ecologically relevant odors with distinct behavior patterns and that the sunbleak can serve as a biomarker for assessing aquatic environmental quality.

Keywords: olfaction, olfactory sense, fish, toxic substances, olfactory cues, sunbleak, behavior, environmental quality

CERCS: B280, B700, P305

Sisukord

1. Sissejuhatus 6
2. Kirjanduse ülevaade 8
2.1. Kalade haistmisbioloogia ja ökoloogia 8
2.1.1. Haistmise tähtsus ja lõhnasignaalid loomariigis 8
2.1.2. Haistmismeele anatoomia ja haistmismeele ökoloogiline tähtsus 9
2.1.3. Enam levinud olfaktoorsed signaalid kaladel 11
2.1.4. Kalade haistmist häirivad tegurid 12
2.2. Haistmist mõjutavad toksilised ained 14
2.2.1. Ülevaade haistmist mõjutavatest toksilistest ainetest 14
2.2.2. Väikelaevade põhjavärvid ja nende koostis 16
2.2.3. Ökoloogilised alternatiivid 17
2.2.4. Rahvusvaheliselt keelustatud ained 18
2.3. Keskkonnaregulatsioonid 19
2.4. Keskkonna kvaliteedi hindamine 21
3. Materjal ja meetodid 22
3.1. Uuritava liigi kirjeldus 22
3.2. Proovide kogumine 22
3.2.1. Kalade pidamistingimused 23
3.2.2. Lõhnakemikaalide kogumine 23
3.3. Katse ülesehitus 24
3.4. Videoanalüüs 24
3.5. Eetika 25
3.6. Andmeanalüüs 25
3.7. Töö autori roll 26
4. Tulemused 27

4.1. Stiimulite mõju kalade reaktsiooni tugevusele 27
4.2. Stiimulite mõju kalade reaktsiooni kestusele 29
4.3. Veevoolu eelistus 30
5. Arutelu 32
Kokkuvõte 34
Summary 35
Tänuavaldused 36
Kasutatud kirjandus 37
Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks 50

1. Sissejuhatus

Inimtegevus on viimastel aastakümnetel oluliselt suurendanud keskkonnasaastet, mis avaldab negatiivset mõju nii atmosfäärile, veekeskkonnale kui ka elustikule (Khan and Ghouri, 2011). Õhu, vee ja pinnase reostus põhjustab laiaulatuslikke muutusi ökosüsteemides, häirides samaaegselt ka organismide füsioloogilisi protsesse (Parker et al., 1999; Rhind, 2009). Lisaks mõjutab füsioloogiliste protsesside normaalset toimet saasteainete, nagu näiteks raskemetallide, pestitsiidide ja tööstuslike kemikaalide akumuleerumine keskkonnas (Rhind, 2009). On näidatud, et näiteks raskemetallid kahjustavad kalade närvisüsteemi ja vähendavad sigimisedukust (Scott and Sloman, 2004), pestitsiidid tekitavad loomades hormonaalsüsteemi häireid (Mnif et al., 2011) ning tööstuslikud kemikaalid, näiteks polüklooritud bifenüül (PCB), põhjustab lindude sigimisedukuse langust ja embrüode arenguhäireid (Fry, 1995).

Eriti tundlikud keskkonnareostuse suhtes on veeorganismid, kelle elutegevus sõltub otseselt vee kvaliteedist ja keemilisest koostisest (Hassan Al-Taai, 2021). Veekeskkonna reostus mõjutab otseselt kalu, kelle haistmismeel põhineb kemoretseptoritel, mis on otseses kontaktis ümbritseva keskkonnaga, edastades seeläbi lõhnasignaalid otse ajju (Hara, 1994). Haistmismeel võimaldab kaladel täita mitmeid olulisi bioloogilisi ja ökoloogilisi funktsioone, sealhulgas leida paariline sigimiseks, määrata toidu asukoht, vältida kiskjaid, eristada sugulasi ning peale rännet jõuda tagasi sünnikohta (Tierney et al., 2010).

Erinevad saasteallikad, sealhulgas väikelaevade põhjavärvid, võivad oluliselt mõjutada kalade haistmismeelt, häirides nende lõhnatundlikkust (Guardiola et al., 2012; Klima and Applehans, 1990). Väikelaevade põhjavärvid sisaldavad sageli raskemetalle nagu vask ja tsink, mis on tuntud oma toksiliste omaduste poolest veeorganismide käitumisele ja füsioloogiale (Turner, 2010). Toksilised ained põhjustavad kalade haistmisretseptorite degeneratsiooni, vähendades nende võimet tuvastada olulisi ellujäämiseks vajalikke keskkonnasignaale (Klima and Applehans, 1990).

Hoolimata väikelaevade ja väikelaevasadamate laialdasest levikust, ei ole nende mõju kaladele piisavalt uuritud. On teada, et põhjavärvides kasutatavad toksilised ained jõuavad soolases ja magedas vees erineva kiirusega keskkonda (Schröder et al., 2022), kuid nende spetsiifiline mõju erinevate liikide haistmismeele tundlikkusele on siiski jäänud väheselt uurituks. Eriti puuduvad andmed selle kohta, kuidas väikelaevasadamad, näiteks

jõesuudmetes asuvad alad, mõjutavad kohalikke kalaliike, näiteks karpkalalisi. Samuti on puudulikud teadmised kalade liigispetsiifiliste olfaktoorsete signaalide haistetundlikkuse kohta. Täielikult puuduvad uuringud väikelaevade põhjavärvide mõju kohta mudamaimule (*Leucaspius delineatus* (Heckel, 1843)), kes elab tihedalt inimmõjudele avatud veekeskkondades, kus raskemetallide nagu vase ja tsingi, kontsentratsioonid, võivad olla kõrged (Meylan et al., 2003). Mudamaimu puhul on teada, et haugi (*Esox lucius* (Linnaeus, 1758)) lõhn kutsub esile parvelist käitumist, kuid info selle kohta, millised lõhnaained on tema ökoloogilises käitumises veel olulised ja kuidas toksilised ained võivad nende tajumist häirida puudub (Andörfer, 1980).

Käesolev magistritöö on osa suuremast väikelaevasadamate toksikoloogiliste mõjude projektist. Töö eesmärgiks on eksperimentaalselt testida mudamaimu jaoks ökoloogiliselt oluliste lõhnaainete mõju kalade käitumisele. Töö käigus testitakse mudamaimu haistetundlikkust erinevatele potentsiaalsetele olfaktoorsetele ärritajatele, et teada saada, millised lõhnaained on sobivaimad, et edasi testida haistmist häirivate toksiliste värvide mõju kalade käitumisele. Antud töö raames on püstitatud järgmised hüpoteesid: (1) veekeskkonnas lahustunud lõhnasid on võimalik kasutada eksperimentaalses kalade käitumiskatses, (2) erinevate lõhnakemikaalide mõju tugevus kaladele on erinev, (3) mudamaimu olfaktoorsed reaktsioonid on kasutatavad biomarkerina.

2. Kirjanduse ülevaade

2.1. Kalade haistmisbioloogia ja ökoloogia

2.1.1. Haistmise tähtsus ja lõhnasignaalid loomariigis

Keemilised meeled, sealhulgas haistmismeel, on evolutsiooniliselt kõige vanemad sensoorsed süsteemid, mis kujunesid välja ligikaudu 500 miljonit aastat tagasi (Hara, 1994). Need süsteemid on eluliselt vajalikud nii isendi kui ka liigi säilimiseks, võimaldades loomadel omavahel suhelda ning saada keskkonnast olulist informatsiooni, sealhulgas määrata toidu asukoht, märgata võimalikke ohte ja leida paariline (Hara, 1994; Padodara and Ninan, 2014; Sandoz, 2011).

Haistmismeele evolutsiooniline tähtsus on nähtav selle laias levikus nii maismaa- kui ka veeloomade hulgas. Näiteks meemesilased (*Apis mellifera* (Linnaeus, 1758)) kasutavad lõhnasignaale õistaimede asukoha tuvastamiseks ja nektarikvaliteedi hindamiseks (Paoli and Galizia, 2021). Kuuse-kooreürask (*Ips typographus* (Linnaeus, 1758)) tugineb puudelt erituvatele kemikaalidele, et leida sobivaid elupaiku ning kasutab feromoonidel põhinevat kommunikatsiooni liigikaaslaste pesitsema kutsumiseks (Andersson et al., 2009). Aafrika elevandid (*Loxodonta africana* (Blumenbach, 1797)) on suutelised oma erakordselt tundliku haistmismeelega tuvastama veekogu asukohta, eristades looduslikke ja inimtekkelisi veekogusid nendest lenduvate orgaaniliste ühendite põhjal (Wood et al., 2022). Röövloomadel, näiteks hundil (*Canis lupus* (Linnaeus, 1758)), mängib lõhnamärgistamine olulist rolli territooriumide tähistamises ja sotsiaalse hierarhia säilitamises (Osada et al., 2015). Veekeskkonnas on haistmismeele täpsus samuti väga oluline. Näiteks harilikud kaheksajalad (*Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797)) kasutavad haistmismeelt ja kemoretseptoreid kombitsatel, et tuvastada saaki ja õppida tundma ümbritsevat keskkonda nii kaugelt kui ka otsekontakti kaudu, sõltumata visuaalsest infost (Giesen et al., 2020; Mather, 2021; Wells, 1963). Lisaks on täheldatud, et osad emased merihobukesed (*Hippocampus*) eelistavad enda varasemat paarilist nii kaua kuniks nad ta lõhna tunnevad (Lin et al., 2021).

2.1.2. Haistmismeele anatoomia ja haistmismeele ökoloogiline tähtsus

Erinevalt maismaa selgroogsetest toimivad kaladel haistmis- ja hingamissüsteemid eraldi (Hara, 1994). Luukalade (*Osteichthyes*) alamhõimkonda pärisluukalad (*Teleostei*) kuulub maailmas 96% kalaliikidest (Price et al., 2022). Kuna kalad elavad veekeskkonnas on nende keemiline signaalitundlikkus valdavalt hüdrofiilsed ning kemikaalid võivad aktiveerida nii haistmis- kui ka maitsmissüsteemi (Bazáes et al., 2013). Pärisluukaladel asuvad haistmisorganid tavaliselt pea ülaosas, koonu selgmises osas, kus iga haistmisorgan koosneb haistmisõõnest, mis on ühendatud välikeskkonnaga kahe avause, eesmise ja tagumise ninasõõrme, kaudu (Laberge and Hara, 2001). Ujumise ajal liigub vesi nende avade kaudu läbi haistmisõõne, võimaldades kalal pidevalt keskkonnast tulevaid keemilisi signaale tajuda. Haistmisõõne põhjas asub haistmisrosett, mis koosneb mitmetest lamellidest ehk voldikutest, suurendades seeläbi lõhnade vastuvõtuks vajalikku pinda ja tundlikkust. Haistmislamell koosneb kahest epiteelikihist, mis jaguneb sensoorseteks ja mittesensoorseteks aladeks (Hara, 1994). Sensoorne epiteel koosneb kolmest peamisest rakutüübist: haistmisretseptor-neuronid, toetavad rakud ja basaalrakud (Iqbal and Byrd-Jacobs, 2010). Mittesensoorses epiteelis leidub ka lima tootvaid pokaalrakke, mis moodustades limakihi, katavad täielikult retseptorrakud omades ka neid kaitsvat funktsiooni (Hara, 1994; Kasumyan, 2004; Yu et al., 2018). Haistmisepiteeli rakud suudavad kahjustuste korral basaalrakkudest uueneda (Iqbal and Byrd-Jacobs, 2010). Haistmisretseptor-neuronite ülesandeks epiteelis on tuvastada keskkonnast tulevad keemilised signaalid ehk lõhnad. Need neuronid ulatuvad dendriidiga epiteeli pinnale ja jagunevad omakorda kolmeks peamiseks tüübiks: ripsmelised retseptorneuronid (*ciliated olfactory receptor neurons*), mikrovillilised retseptorneuronid (*microvillar olfactory receptor neurons*), krüptrakud (*olfactory crypt cells*), lisaks kuulub nende hulka Kappe rakud (*Kappe cells*) ja potentsiaalne viies neuronitüüp, mida nimetatakse pirnikujulisteks rakkudeks (*pear-shaped cells*), aga seni on neid kirjeldatud vaid sebrakalades (*Danio rerio* (Hamilton, 1822)) ja nende funktsioonid ei ole veel täpselt teada (Ahuja et al., 2014; Hansen et al., 2003; Laberge and Hara, 2001; Wakisaka et al., 2017; Whitlock and Palominos, 2022). Ripsmelised ja mirkovillilised neuronid vastutavad peamiselt erinevate lõhnaainete tuvastamise eest ning arvatakse, et krüptrakud osalevad kalade paljunemisega seotud haistmissignaalide vahendamisel (Bazáes and Schmachtenberg, 2012; Buck and Axel, 1991). Haistmisretseptor-neuronite membraanides paiknevad spetsiaalsed

retseptorvalgud, peamiselt G-valkude perekonna esindajad (Kasumyan, 2004; Olivares and Schmachtenberg, 2019). Kui need valgud puutuvad kokku lõhnaainega, käivitub rakus molekulaarsete muutuste ahel, mis tekitab elektrilise närviimpulsi (Kasumyan, 2004). Haistmisretseptor-neuronite aksonid liituvad omavahel, moodustades haistmisnärvi, mis juhib närviimpulsid edasi haistesibulasse, kus toimub signaalide esmane töötlemine ja sünapside moodustamine teise astme neuronite, ehk mitraalrakkudega (Laberge and Hara, 2001; Olivares and Schmachtenberg, 2019; Whitlock and Palominos, 2022). Edasi moodustavad mitraalrakkude aksonid närvikiudude kimbu, ehk haistmisraja, mille kaudu edastatakse töödeldud informatsioon haistesibulast otsaaju poolkeradesse (Hara, 1994). Kuigi haistmisorgani üldine põhimõtteline ehitus on kaladel sarnane, võib esineda liikidevahelisi erisusi. Näiteks üheks erinevuseks on ninasõõrme kuju, mis võib peamiselt olla augu või toru moodi ning tagumine ninasõõre, mis võib olla nii auk, pilu kui ka torujas (Cox, 2008). Mõnedel liikidel on välja kujunenud ka nn lisakotid haistmisõõne juures, mis aitavad suu liikumisel lõhnaainetega vett efektiivsemalt läbi haistmisorgani suunata (Bronson and Stiassny, 2025; Cox, 2008). Lisakottide arv varieerub ühest neljani ja ka paiknemine võib olla erinev, näiteks lestalistel (*Pleuronectiformes*) ja lõhelastel (*Salmonidae*) avanevad lisakotid ninakõrvalõõne tagumisest osast, aga teatud ahvenlastel (*Percidae*) eesmisest osast (Kasumyan, 2004). Erinevused võivad sõltuda ka keskkonnaga kohanemistest, näiteks on leitud, et riimveega kohanenud kaladel oli suurem hulk limarakke võrreldes liigikaaslastega, kes olid kohastunud mereveega, mis viitab kalade erinevatele kohastumustele eri soolsustingimustega keskkondades (Velez et al., 2024). Sebrakalad elavad magedas vees ja on näidatud, et nende vastsetel on välja kujunenud sensoorsed mehhanismid, mis aitavad liigset soolsust tuvastada ja vältida (Herrera et al., 2021). Haistetundlikus võib sõltuda ka aastaajast: on leitud, et atlandi lõhe (*Salmo salar* (Linnaeus, 1758)) varakult suguküpseks saanud isastel esineb testosterooni suhtes kõrge tundlikkus ainult oktoobris (Moore and Scott, 1997).

Haistmismeelel on kalade ökoloogilises käitumises ja ellujäämises kriitiline roll, olles eriti oluline öise toitumiskäitumisega liikidel või häguses vees elavate kalade jaoks, kes sõltuvad sellest peaaegu täielikult (Velez et al., 2024). Haistmismeele peamiseks ülesandeks on reguleerida keemilise info põhjal erinevaid kalade käitumisi, nagu toitumine ja toiduotsing, sigimiskäitumine, vanemahooldus, kaitsekäitumine, kiskjate vältimine, ränne ja kodupaika naasmine, sotsiaalne suhtlus ning territoriaalsus (Daghfous et al., 2012; Kasumyan, 2004; Laberge and Hara, 2001). Näiteks sigimiskäitumisel võimaldab

haistmismeel eristada liigikaaslasi ja hinnata teiste isendite paljunemise valmidust ning leida seeläbi sobiv paariline (Daghfous et al., 2012; Kasumyan, 2004; Tierney et al., 2010). Haistmismeele kaudu suudavad osad anadroomsed kalad ära tunda oma sünnipaiga, näiteks idalõhede (*Oncorhychus*) noorkalad õpivad enne merre rändamist ära oma kodujõe vee haistmispõhise äratundmise ning kasutavad neid lõhnu täiskasvanuna merest tagasi sünnipaika naasmisel (Dittman and Quinn, 1996).

2.1.3. Enam levinud olfaktoorsed signaalid kaladel

Kaladel on väga kõrge tundlikkus erinevatele haistmissignaalidele (Kasumyan, 2004). Vaatamata sellele, reageerib kalade haistmisorgan vaid piiratud hulgale vees lahustunud keemilistele ühenditele, peamiselt aminohapetele, steroididele, sapisooladele ja prostaglandiinidele ning nende hulka kuuluvad ka feromoonid (Hara, 1994; Kamio et al., 2022).

Aminohapped on levinud lõhnaained, mis viitavad sageli toidu olemasolule. Enamiku mereloomade kudedes leidub kõrges kontsentratsioonis lahustunud vabu aminohappeid, mis on peamised ühendid, mis kutsuvad esile toidule suunatud käitumise ning stimuleerivad toidu otsimise käitumist kalades (Kamio et al., 2022). Lõhnaainete kättesaadavus merevees ja magevees võib sõltuvalt kohanemisest erineda. Näiteks huntahvenaga (*Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758)) tehtud uuringus ilmnes, et merevees kasvanud isendite haistmistundlikkus aminohapete lõhnadele oli oluliselt kõrgem just merevees, võrreldes olukorraga, kui sama katset korrati magedas vees (Velez et al., 2024).

Steroidühendid, sealhulgas suguhormoonid, toimivad sageli kaladel feromoonidena, edastades paljunemisega seotud signaale (Stacey et al., 2003). Näiteks võib emaskala eritada ovulatsiooni käigus steroidseid ühendeid või prostalgandiine, mis isaskala haistmisorganites kutsuvad esile hormonaalse ja käitumusliku vastuse, sealhulgas niisa valmimise kiirenemise, kurameerimiskäitumise või paaritumisvalmiduse (Stacey et al., 2003; Stacey and Sorensen, 2002). Hõbekokredel (*Carassius auratus* (Linnaeus, 1758)), reageerivad isased emaste eritatud prostaglandiini signaalile väga intensiivselt, hakates aktiivselt emast taga ajama ja valmistuma paaritumiseks (Kamio et al., 2022; Stacey et al., 2003). Steroidsete feromoonide kaudu tagatakse, et sigimisperioodil kohtuvad suguküpsed

isendid ning reproduktiivne edu maksimeeritakse. Lisaks võivad feromoonid olla olulised kudemisalade ja vastsete arenguks sobivate alade leidmisel, näiteks on kirjeldatud kalade eelistust nende kudemispaikade suhtes, milles leidub vastsete feromoone (Kasumyan, 2004; Vrieze and Sorensen, 2011).

Sapisoolad on sapipigmentide ainevahetusproduktid, mida kalad eritavad veekeskkonda peamiselt soolestiku, neerude või lõpuste kaudu (Buchinger et al., 2014; Olsén, 1992). On leitud, et sapisoolad on osadele kaladele äärmiselt tugevad haistmisärritajad, täites mitmeid funktsioone: võimaldades kaladel tuvastada läheduses viibivaid liigikaaslasi, leida toitu, hinnata keskkonnas varitsevat ohtu, orienteeruda rändeteel ning sünkroniseerida sigimiskäitumist (Buchinger et al., 2014; Huertas et al., 2010; Li et al., 2002, 1995). Näiteks mõned siirdekalad tunnevad ära kodujõge iseloomustavaid sapisooli, mille järgi on neil võimalik leida üles kudemispaigad (Li et al., 1995). Samuti võivad sapisoolad toimida poolsignaalainetena sotsiaalses suhtluses, näiteks eritab osa kalu uriiniga sapisooli, mis kannavad infot isendi liigist, soost või sigimisvalmiduse seisundist, võimaldades liigikaaslastel ka vastavalt reageerida (Buchinger et al., 2014; Li et al., 2002; Zhang and Hara, 2009).

Paljudel kalaliikidel on välja kujunenud alarmained ehk häiresignaalid, mis hoiatavad liigikaaslasi ohu eest. Vigastatud kala nahast vabaneb keemiline alarmferomoon, mis annab teabe teistele isenditele ohu olemasolu kohta (Kasumyan, 2004). Uuringud näitavad, et kui kala saab kiskja rünnaku käigus vigastada, vabanevad tema naha rakkudest kemikaalid, mida teised kalad haistmise teel tuvastavad ning see kutsub esile hirmureaktsiooni, sh peitumise, vältimise või parve kogunemise (Hara, 1994; Kasumyan, 2004; Smith, 1992). Näiteks on leitud, et juba väga madalad kontsentratsioonid vigastatud kalade nahaekstrakti vallandab kalades tugeva stressivastuse ning vältimiskäitumise, mis suurendab tõenäosust ohu eest pääseda ja ellu jääda (Li et al., 2023). Kiskjate lõhna tuvastamiseks on välja kujunenud teine ohusignaal, alarmkairomoon, mida kiskjad pidevalt naha ja lima kaudu vette eritavad (Kasumyan, 2004).

2.1.4. Kalade haistmist häirivad tegurid

Kalade haistmisepiteel on otseses kontaktis veega, mistõttu on see eriti tundlik erinevate keskkonnamuutuste ja saasteainete suhtes. Üheks kalade haistmist mõjutavaks teguriks on

vee pH muutused, mis on põhjustatud ookeanide hapestumisest. On näidatud, et ookeanide hapestumine on seotud atmosfääri CO_2 kontsentratsioonide tõusuga, mille tagajärjel väheneb paljude kalaliikide võime eristada ohu ja toidu signaale (Munday et al., 2009; Porteus et al., 2018). Madala pH korral muutuvad lõhnasignaalid keemiliselt ning nende bioloogiline kättesaadavus väheneb, mis omakorda vähendab kalade ellujäämise võimalusi (Porteus et al., 2018). Lisaks võib madal pH põhjustada ka limarakkude aktiivsemat tööd, põhjustades samuti lõhnataju vähenemist (Velez et al., 2019). Näiteks huntahvenaga tehtud uuringus selgus, et kõrgendatud CO_2 (ligikaudu 1000 ppm) tingimustes peavad kalad olema lõhnaallikale 42% lähemal, et seda tuvastada, kui tänapäevaste kontsentratsioonide juures (ligikaudu 400 ppm) (Porteus et al., 2018). Samuti võib merevee hapestumine kahjustada asustamisjärgus kalavastsete võimet eristada kiskjaid mittekiskjatest, ohustades seeläbi populatsioonide jätkusuutlikust (Dixson et al., 2010).

Veekeskkonna hapnikutase nii avameres kui ka rannikuvetes on pikalt langustrendis olnud (Schmidtko et al., 2017). Rannikualadel esinevad sageli hüpoksilised või anoksilised tingimused, mida põhjustavad aktiivne primaarproduktsioon ja sellele järgnev orgaanilise aine lagunemine (Breitburg et al., 2009). Probleemi võimendab veekogude eutrofeerumine, mis tuleneb peamiselt põllumajanduslikust äravoolust ja asulate reoveest (Solomon, 2021). Hapniku madal tase vees võib otseselt piirata haistmisretseptorite võimet kemikaale tuvastada, värskes uuringus selgus, et nii kerge kui ka mõõdukas hüpoksia vähendas kalade ninaepiteeli elektrilist vastust kahele kolmest testitud aminohappest (Tigert et al., 2025).

Lisaks võib kalade haistmismeel olla tundlik veetemperatuuride kõikumistele. Näiteks kuninglõhe (*Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum, 1792)) noorkaladega tehtud katsetes reageerisid kalad röövlooma lõhnale tugeva vältimiskäitumisega 11°C juures, mis on nende loomulik temperatuur, kuid kui vesi soojendati 17°C peale, ei suutnud noorkalad enam kiskja lõhna selgelt välistada, veetes kauem aega lõhnatu ja lõhnaga veevoolu valimisel (Magnuson et al., 2023). See viitab, et kõrgem temperatuur võis halvendada lõhnaärrituse tajumist ja sellele reageerimist. Paljudes looduslikes veekogudes leidub ka lahustunud humiinaineid, mis tekivad looduslikult biomassi jääkide lagunemisel, andes veele ka tumedama värvuse. Uuringud on näidanud, et humiinainete lisandumine veekeskkonda võib märkimisväärselt vähendada kalade steroidsete feromoonide kättesaadavust. Näiteks hõbekogrega tehtud katses selgus, et juba madalad kontsentratsioonid humiinaineid vees nõrgestas märgatavalt isaste reageerimist emaskala poolt eritatud steroidsele suguhormoonile (Hubbard et al., 2002). Lisaks feromoonidele võivad humiinained häirida

ka kalade toitumiskäitumist. Näiteks ogalik (*Gasterosteus aculeatus* (Girard, 1854)) leidis humiinainetega rikastatud tumedamas vees lõhna järgi toitu halvemini, kui selge veega kontrollkeskkonnas. Kuigi vesi oli tumedam, ei halvenenud kalade nägemistaju oluliselt, kuid isegi see ei kompenseerinud lõhnasignaalide puudumist (Mobley et al., 2020).

2.2. Haistmist mõjutavad toksilised ained

2.2.1. Ülevaade haistmist mõjutavatest toksilistest ainetest

Inimtekkelised saasteained on üks suurematest ohtudest kalade haistmismeelele. Saasteained võivad kaladel muuta lõhnataju tundlikkust, häirida närvisüsteemi ja põhjustada haistmisorgani füüsilisi muutusi (Tierney et al., 2010). Lõhnataju vastuvõtlikkus võib saasteainetega kokkupuutel täielikult kaduda, väheneda või viia vastu võetud informatsiooni vale töötlemiseni. Samuti võivad toksiliste ainete mõjud veekeskkonnas merevees ja magevees erineva kiirusega avalduda (Schröder et al., 2022).

Metallisaaste on tööstusliku ja linnalise reostuse tavaline komponent ning raskemetallid on tuntud toksiinid ka kalade jaoks. Vees lahustunud raskemetallid kahjustavad tugevalt kalade haistmisepiteeli struktuuri ja talitust, lisaks võivad need akumuleeruda kalade haistesibulas, kus ladestuvad ja tekitavad lokaalset neurotoksilisust (Lazzari et al., 2022; Persson et al., 2003; Sunderman, 2001; Tallkvist et al., 1998). Üheks toksiliseks metalliks on vask, mis küll madalates kontsentratsioonides on organismidele vajalik, kuid juba vähesed vase kontsentratsiooni tõusud võivad põhjustada kaladel haistmislangust, kuna metall blokeerib haistmisretseptoreid ja haistmisneuronite ioonkanaleid, häirides seeläbi lõhnasignaali teket (Razmara et al., 2019). Näiteks on leitud, et hõbekokredel kahjustab vask eriti tugevalt rakke, mis vastutavad just sapisoolade ja paljude feromoonide tuvastamise eest, seega võib vasereostus halvendada kalade sotsiaalsete ja sigimiseks vajalike signaalide vastuvõttu (Kolmakov et al., 2009). On näidatud, et nelja päevasel elavhõbedaga kokkupuutel vees, vähenes kalade haistmisepiteeli paksus ja suurenes basaalkihis jagunevate rakkude arv, mida võis põhjustada haistmisretseptor-neuronitega seotud rakkude surm (Lazzari et al., 2022). Lisaks täheldati kaadiumiga läbiviidud katsetes, et nii madala kui ka kõrge kontsentratsiooniga kokkupuutel esines kaladel lõhnataju vähenemist ja haistmisepiteeli kahjustusi, mille paranemine ei olnud mõnel isendil täielik isegi pärast 16-päevast taastumisperioodi (Williams and Gallagher, 2013).

Uuritud on ka segunenud metallisaastega järvedes elavaid kalu, kes suutsid küll tuvastada alarmaine signaali, kuid ei reageerinud sellele vältimiskäitumisega, nagu tegid seda puhtast järvest pärit kalad, see viitab, et saastunud keskkonnast pärit kaladel on haistmissignaalide töötlemine häiritud (Mirza et al., 2009).

Kodumajapidamises ja tööstuses laialdaselt kasutatud detergendid on peamiselt sünteetilistes pesemisvahendites kasutatavad pindaktiivsed ained, mis satuvad reovetega veekogudesse. Mõned detergendid on teadaolevalt võimelised lahustama rakumembraane, mis muudab nad eriti ohtlikuks kalade haistmisepiteelile (Iqbal and Byrd-Jacobs, 2010). On leitud, et kalad, kes tuginevad peamiselt haistmismeelele, toituvad vähem efektiivselt juba 0.5 ppm detergente sisaldavas vees (Bardach et al., 1965). Uuringus, kus kasutati detergenti Triton X-100, leiti, et kokkupuude ainega põhjustas kalade haistmiselundis ränki struktuurseid kahjustusi, mille hulgas nii haistmisroseti õhukeseks muutumine, haistmisretseptor-neuronite hävimine, haistmislamellide kokku sulandumine kui ka tugevad põletikulised reaktsioonid (Iqbal and Byrd-Jacobs, 2010). Muutuste tagajärjel vähenesid kalade reaktsioonid lõhnaainete suhtes, sealhulgas sapisooladele ja aminohapetele.

Põllumajanduslikud kemikaalid, sealhulgas pestitsiidid, satuvad tihti veekogudesse. Pestitsiidide mõju sõltub konkreetse ühendi tüübist, mõned on neurotoksilised ja teised hormoonaalsüsteemi segajad. Näiteks organofosfaadid ja karbamaadid on teatud tüüpi pestitsiidid, mis vähendavad nii kaladel kui ka muudel loomadel haistmisrakkude reageerimisvõimet looduslikele lõhnadele (Tierney et al., 2010). Karbamaatide hulgast arvatakse üheks toksilisemaks seentele suunatud (3-iodo-2-propünüülbutüülkarbamaat ehk IPBC) pestitsiidi, mis juba väikeste kontsentratsioonide juures langetas kalade haistmisepiteeli elektrilist reaktsiooni lõhnaainele 40% (Jarrard et al., 2004). Samuti on näidatud, et mõned pestitsiidid, sealhulgas IPBC vähendavad kalade tundlikkust alarmaine suhtes (Tierney et al., 2006). Mõned kalaliigid väldivad teatud pestitsiide, samas, kui teised liigid ei näita vältimisreaktsiooni ühegi aine suhtes ja mõned kalad võivad isegi teatud pestitsiidi lõhna atraktiivseks pidada (da Rosa et al., 2016; Saglio et al., 2001; Tierney et al., 2010). Lisaks on üldlevinud keskkonnasaasteaine 4-nonüülfenool, mis on ka teatud pestitsiidide laguprodukt, võimeline madalate kontsentratsioonide juures segama kalade sotsiaalset haistmisvõimet, kahjustades kalade suutlikkust ära tunda liigikaaslaste lõhna, sealhulgas häirides parvekäitumist (Ward et al., 2008). Pestitsiididest tulenevad haistmismeele kahjustused on kokkupuuteaja vältel püsivad, kuid siiski taastuvad

kahjustunud sensoorsed süsteemid peale kokkupuute lõppu kiiremini, kui kokkupuutel raskemetallidega (Tierney et al., 2010).

Mikroplastid on <5 mm suurused plastosakesed, mis lagunevad ajaga suurematest plasti tükkidest. Mikroplastide mõju haistmisele on küll vähe uuritud, aga on leitud, et need võivad kahjustada kalade haistmisega seotud käitumist erinevalt. Näiteks hõbekogre puhul on leitud, et 28-päevane polüstüreen-mikroplastiga kokkupuude, vähendas oluliselt nii toidulõhnale kui ka sotsiaalsetele signaalidele reageerimist (Shi et al., 2021). Lisaks näitas uuring, et mikroplastid võivad pärssida haistmisretseptorite geenide avaldumist ja pidurdada signaaliülekannet - näiteks vähenes peale plastile eksponeerimist G-valkude avaldumine.

2.2.2. Väikelaevade põhjavärvid ja nende koostis

Väikelaevad on kuni 24 m pikkused laevad, mille kerede kaitsmiseks kasutatakse spetsiaalseid värve ehk põhjavärve ehk kattumisvastaseid värve, mis takistavad pinna biosaastumist ehk nii mikro- kui ka makroorganismide kinnitumist pinnale (Bixler and Bhushan, 2012). Biosaastumine häirib paadikere veealuse osa dünaamikat, mis suurendab peamiselt kütusekulu ning tõstab ka hooldus- ja remondikulusid (Banerjee et al., 2011). Kasutusel on erinevaid põhjavärvide tüüpe, mille toimepõhimõtted ja sobivus sõltuvad väikelaeva kasutusviisist. Lahustumatud ehk kõvad värvid ei kulu mehaaniliselt ehk neil puudub isepuhastuv toime, selle asemel vabanevad neist biotsiidid kiirelt ja kontrollimatult, olles sobivaimad kiiremini sõitvatele laevadele (Almeida et al., 2007; Cruz et al., 2024). Lahustuvad ehk ablatiivsed värvid kuluvad vees aeglaselt ning vabastavad biotsiide samuti pidevalt kontrollimatus koguses, mis toimub koos värvikihi kulumisega, olles seetõttu sobivamad aeglasemalt liikuvatele laevadele. Sellised isepoleeruvad värvid vabastavad biotsiide ühtlasemalt, sõltuvalt vees liikumise kiirusest (Almeida et al., 2007).

Traditsiooniliselt on põhjavärvid sisaldanud tugevalt toksilisi metallorgaanilisi biotsiide, millest kuulsaim on tributüültina (TBT). Tänapäeval kasutatakse laialdaselt anorgaanilisi biotsiide, mis sisaldavad põhiliselt vask- ja tsinkühendeid, mis eralduvad värvist aeglaselt ning avaldavad toksilist toimet kinnituvatele organismidele (Ytreberg et al., 2010). Vaskühendite seast kasutatakse enim vaskoksiidi (Cu_2O), samas ei ole vaseioonid võrdselt tõhusad kõigi kinnituvate organismide suhtes, vähenedes mõju poolest järgnevalt:

mikroorganismid, selgrootud, vetikad, karbid ja makrofüüdid (Voulvoulis et al., 1999). Seetõttu kombineeritakse vaske sageli teiste toimeainetega, näiteks tsinkoksiidiga (ZnO) ja metallpüritioonidega, eeskätt tsinkpüritiooniga (ZnPT) ja vaskpüritiooniga (CuPT) (Grunnet and Dahllof, 2005). Metallpüritioonid on orgaanilise struktuuriga metallikompleksid, mis vabastavad keskkonda vastavalt vase- ja tsingiioone koos püritiooni orgaanilise osaga, mis võimaldab veel tõhusamat tõrjet kinnituvate organismide vastu (Turley et al., 2000). Lisaks on lisaainetena kasutatud erinevaid herbitsiide, peamiselt ühendit Igrarol 1051 ja diurooni, aga nende sisaldust on hakatud piirama toksilise mõju tõttu mitte-sihtmärkorganismidele, peamiselt erinevatele vetikatele (Dafforn et al., 2011; Takeuchi et al., 2025). Vase ja tsingi leostumist mõjutavad olulisel määral vee omadused, eelkõige soolsus, temperatuur ja pH (Arnold et al., 2005; Lagerström et al., 2020). Uuringud on näidanud, et näiteks kõrgema soolsusega tingimustes vabaneb vask kattekihist kuni kaks korda intensiivsemalt kui madala soolsuse juures, samas kui tsingi leostumine sõltub rohkem värvi koostisest (Lagerström et al., 2018).

2.2.3. Ökoloogilised alternatiivid

Traditsiooniliste põhjavärvide toksilisus on viinud vajaduseni keskkonnasõbralikemate alternatiivide väljatöötamiseks ja kasutamiseks. Üheks suunaks on näiteks madala pinnaenergiaga silikoonkatted, mille väga sile või libe pind takistab mikroorganismide kinnitumist ning millelt suuremad organismid eemalduvad laeva liikumisel (Liang et al., 2024). Silikoonpolümeeride elastne geeljas kiht on veeorganismidele ebamugav kinnituspind: seda näitab ka Läänemeres tehtud uuring, kus ühe aasta vältel püsis biotsiidivaba silikoonkate vähemalt sama puhas või puhtam, kui traditsioonilised vask-biotsiidiga värvid (Lagerström et al., 2022). Kuigi silikoonkatted ei eralda mürgiseid biotsiide, võivad need siiski sisaldada mõningaid lisaaineid, näiteks silikoonõlisid, mis vähesel määral vette leostuvad (Oliveira and Granhag, 2020). On näidatud, et need silikoonõlid võivad vääneljalaliste (*Cirripedia*) vastsetes põhjustada liikumatuks jäämist (Watermann et al., 2005).

Teiseks suunaks on bioloogilised kattumisvastased värvid, mis toodetakse taastuvatest loodusvaradest, need on peamiselt loomsest või taimsest materjalist, biolagunevad ja väiksema keskkonnamõjuga (J. Wang et al., 2025). Näiteks mereorganismid on looduslike

kattumisvastaste ainete head allikad, kuna nad sünteesivad ja vabastavad keemilisi ühendeid, mis pärsivad mikroorganismide kasvu (Pérez et al., 2014). Uuringud on näidanud, et *Aplysina gerardogreeni* (Gómes & Bakus, 1992) isoleeritud bakteriliigid toodavad bioaktiivseid ühendeid, millest ligikaudu pooled on võimelised pidurdama kattumist põhjustavate bakterite ja mikrovetikate kasvu (Aguila-Ramírez et al., 2014). On uuritud ka viie makrovetikaliigi ning kahe käsnaliigi ekstraktide kattumisvastaseid omadusi, kus selgus, et nende lisamine põhjavärvi koostisesse vähendas biosaastet neljakümnepäevase kokkupuute järel kuni 32% ulatuses (Sánchez-Lozano et al., 2019). Lisaks on loodud krevetiekstraktiga kattumisvastane värv, mis suutis 7 kuud merevees täielikult takistada makroorganismide kinnitumist pinnale (Laitano et al., 2025). Ka maismaa taimeekstraktidega loodud karnaubavahal põhinev värv suutis 30 päevasel eksponeerumisel looduslikus järvekeskkonnas hoida pinna saastumisest peaaegu täiesti puhtana (D. Wang et al., 2025).

2.2.4. Rahvusvaheliselt keelustatud ained

Esimesed tributüültina sisaldavad värvid võeti kasutusele 1970ndate algusaastatel ja esimene uuring nende toksilisusest mitte-sihtmärkorganismidele ilmus juba mõni aasta hiljem (Champ, 2000). Tributüültina oli üks kõige efektiivsematest biosaastumise vastu kaitsevatest ühenditest põhjavärvides, osutudes samal ajal ka üheks kõige ohtlikumaks antropogeenseks mürkaineks veekeskkonnas (Evans et al., 1995). Põhjuseks on ühendite äärmuslik mürgisus ja püsivus keskkonnas. TBT ühendid on väga püsivad, akumuleeruvad setetes ja veeorganismides ning toimivad endokriinsüsteemi häirivana, põhjustades *imposexi* ehk vastassugupoole sugurakkude arenemist (Jacobsen and Asmund, 2000; Oehlmann et al., 2007). Kuigi TBT on rahvusvaheliselt keelustatud Rahvusvahelise Mereorganisatsiooni (IMO) poolt, võib see endiselt kasutuses olla riikides, mis ei ole IMO liikmed (Antizar-Ladislao, 2008). Olenemata keelust on tributüültina baasil värve ka tänapäeval võimalik osta ja samuti võib TBT endiselt veekeskkonda lekkida hüljatud laevadelt või laevadelt, millel ei ole vana värvi eemaldatud (Eklund and Eklund, 2014; Rees et al., 2014; Turner and Glegg, 2014).

Irgarol 1051, mida algselt kasutati herbitsiidina, lisati lisaainena väikelaevade põhjavärvidesse vetikate kasvu tõkestamiseks (Dafforn et al., 2011). See toimeaine osutus

vees püsivaks, settes akumuleeruvaks ja väga toksiliseks mitte-sihtorganismidest autotroofidele ning keelustati IMO poolt rahvusvaheliselt 2023. aastal (Buma et al., 2009; Konstantinou and Albanis, 2004; Nyström et al., 2002; Takeuchi et al., 2025). Lisaks on Irgarolil kahjulik mõju ka korallrahudele, kus aine põhjustas märkimisväärset kivikorallide (*Galaxea fascicularis* (Linnaeus, 1767)) fotosünteesikiiruse vähenemist, samuti vähenes kaltsifikatsiooni määr 93% võrreldes kontrollgrupiga (Sheikh et al., 2009).

2.3. Keskkonnaregulatsioonid

Eestis on veekeskkonna kaitseks kehtestatud mitu olulist õigusakti. Keskkonnaseadustiku üldosa seadus (KeÜS) sätestab üldised põhimõtted ja kohustused keskkonnakaitses (Keskkonnaseadustiku üldosa seadus, Riigi Teataja, 2014). Seadus rõhutab muuhulgas keskkonnariske vältivat lähenemist, kus iga tegevuse planeerimisel tuleb vältida keskkonnakahju ning rakendada ettevaatusprintsiipe juhul, kui täielik kindlus võimalike kahjude osas puudub. Lisaks kehtestab KeÜS ‘saastaja maksab’ põhimõtte, mis kohustab keskkonnahäiringu tekitajat kandma kahju ennetamise ja likvideerimise kulud. Eesti Veeseadus on peamine veekeskkonna kasutamist ja kaitset reguleeriv seadus, millega on Eesti õigusesse üle võetud Euroopa Liidu veepoliitika raamdirektiivi nõuded. Veeseadus sätestab veekogudele keskkonnaeesmärgid ning kehtestab reostusainete heitmeid piiravad tingimused (Veeseadus, Riigi Teataja, 2019). Veeseaduses on defineeritud ka ohtlike ainete kategooriad ja nendega seotud piirangud. Ohtliku ainena on määratletud ained, mis oma mürgisuse, püsivuse või bioakumuleeruvuse tõttu võivad ohustada inimese tervist või kahjustada ökosüsteeme. Nende ainete hulka kuuluvad näiteks ohtlikud pestitsiidid, raskemetallid ning orgaanilise tina ühendid nagu TBT. Keskkonnaseire seadus on Eestis õigusakt, mis reguleerib keskkonnaseire korraldust ja mille riikliku järelevalvet teostab Keskkonnaamet (Keskkonnaseire seadus, Riigi Teataja, 2017). Keskkonnaseire all mõistetakse keskkonnaseisundi ja seda mõjutavate tegurite järjepidevat jälgimist, see hõlmab keskkonnavaatlusi, vaatlusandmete kogumist, töötlemist ja säilitamist, vaatlustulemuste analüüsimist ning muutuste prognoosimist.

Euroopa Liidus on veekeskkonna kaitse keskseks õigusaktiks EL veepoliitika raamdirektiiv 2000/60/EÜ (Veepoliitika raamdirektiiv 2000/60/EÜ, 2000). Direktiiv põhineb terviklikul lähenemisel veemajandusele, selle eesmärk on ära hoida veekogude seisundi halvenemine

ning saavutada veekeskkondade hea ökoloogiline ja keemiline seisund. Keemilise seisundi osas kehtestab raamdirektiiv prioriteetsete ainete nimekirja, milles on EL tasandil tuvastatud veekeskkonda enim ohustavad saasteained. Direktiiv nõuab liikmesriikidelt meetmeid, et vähendada järk-järgult prioriteetsete ainete heitmeid ning ohtlike ainete puhul heitmete lõpetamist. Iga liikmesriik koostab veemajanduskava, kus kavandatakse meetmed veekogude seisundi parandamiseks ja saaste vähendamiseks. Raamdirektiiv näeb ette ka eraldi keskkonnakvaliteedi standardite direktiivi, mis sätestab kõigi prioriteetsete ainete jaoks konkreetsed kontsentratsioonide piirid vees ja elustikus (Keskkonnakvaliteedi standardite direktiiv 2008/105/EÜ, 2009). Lisaks veedirektiivile on Euroopa Liidus biotsiidimäärus, mis reguleerib mitte-põllumajanduslikke pestitsiide ja teisi biotsiide, sealhulgas laevade põhjavärvide kasutust (Biotsiidimäärus (EL) nr 528/2012, 2012).

Lisaks riiklikele ja Euroopa Liidu meetmetele on veekeskkonna kaitseks kehtestatud mitmeid rahvusvahelisi kokkuleppeid. Rahvusvahelise Mereorganisatsiooni (IMO) MARPOL 73/78 on peamine rahvusvaheline lepe, mis käsitleb laevadest tuleneva merereostuse vältimist (MAPROL 73/78, 1973). MARPOL 73/78 koosneb kuuest tehnilisest lisast, millest igaüks keskendub eri tüüpi laevanduse saaste vältimisele, jagunedes järgnevalt: naftareostuse vältimine, lahtiste ohtlike vedelate kemikaalide heitme kontroll, pakendatud ohtlike ainete mereveoga seotud reeglid, laevade reovee merre väljutamise piirangud, laevadelt prügi merre heitmise keeld ja kontroll ning õhusaaste kontroll laevadelt. Teine oluline IMO kokkulepe on laevade kahjulike merekeskkonda saastavate värvide kontrolli konventsioon (AFS Convention, 2008). See leping keelustas ka rahvusvaheliselt TBT kasutamise. Piirkonniti tegeleb Läänemere merekeskkonna kaitsega Helsingi komisjon (HELCOM), mis loodi 1974. aastal Helsingi konventsiooni alusel (HELCOM, 1980). Selle eesmärgiks on kaitsta Läänemere merekeskkonda kõigi saasteallikate eest ning tagada mere ökosüsteemi jätkusuutlikkust. Helsingi konventsioon on rahvusvaheline leping, mis kohustab allakirjutanud riike võtma meetmeid Läänemere saastamise vältimiseks ja probleemide kõrvaldamiseks. HELCOM Läänemere tegevuskava (BSAP) võeti vastu 2007. aastal, selle eesmärk on saavutada Läänemere hea keskkonnaseisund ja see keskendub peamiselt neljale valdkonnale: bioloogiline mitmekesisus, eutrofeerumine, ohtlikud ained ja merepõhised tegevused (BSAP, 2007). Alates tegevuskava vastuvõtmisest on Läänemeres vähenenud toitainete sisaldus meres, paranenud elurikkuse seisund ning vähenenud merendusega seotud reostusjuhtumid.

2.4. Keskkonna kvaliteedi hindamine

Keskkonnakvaliteedi hindamine hõlmab veekogudes tavapäraselt keemiliste, füüsikaliste ja bioloogiliste näitajate jälgimist. Traditsiooniliselt on veekeskkonna seire keskendunud saasteainete kontsentratsioonide mõõtmisele veest või setetest, samas on viimastel aastakümnetel üha enam hakatud rakendama bioloogilisi indikaatoreid, sealhulgas biomarkereid, et saada täpsem ülevaade saasteainete tegelikust mõjust ökosüsteemile (van der Oost et al., 2003). Kontsentratsioonipõhine lähenemine on olnud pikka aega keskkonnakvaliteedi hindamise aluseks. See meetod keskendub konkreetsete saasteainete hulga määramisele veeproovides (Schuijt et al., 2021). Meetodi eeliseks on see, et tegemist on kvantitatiivsete ja selgete mõõtmistulemustega, võimaldades võrdlust seadusandlike piirnormidega. Lisaks on kontsentratsioonide mõõtmine suhteliselt lihtne ja kiire, pakkudes kohest infot võimaliku saasteallika kohta. Siiski on selle meetodi suureks puuduseks see, et ei pruugi avalduda täpne bioloogiline mõju organismidele (Porras-Rivera et al., 2024).

Biomarkeriteks nimetatakse bioloogilisi indikaatoreid, mis kajastavad organismide füsioloogilisi, biokeemilisi või molekulaarseid muutusi vastusena keskkonnastressile ja saasteainetele (McCarthy and Shugart, 1990). Biomarkerite kasutamine pakub kontsentratsioonipõhisele lähenemisele täiustust, võimaldades paremini aru saada, kuidas tegelikult organismid saasteainetele reageerivad (van der Oost et al., 2003). Biomarkerite peamiseks eeliseks on nende võime tuvastada saaste mõju organismides, mis ei ole kohe nähtav, kuid võib hiljem neis põhjustada tõsiseid või pöördumatuid kahjustusi. Kalade biomarkeriteks võivad olla näiteks haistmise või immuunsüsteemi muutused, rakulised kahjustused, hormonaalsed häired või geeniekspessiooni muutused (Kroon et al., 2017; Tilton et al., 2008).

Käitumuslikke teste, mis uurivad kalade või teiste veeorganismide reaktsioone keskkonnamuutustele või saasteainetele kasutatakse praktilises keskkonnaseires väga harva. Peamiseks põhjuseks testide keeruline standardiseerimine ning tulemuste subjektiivsus ja varieeruvus (Porras-Rivera et al., 2024). Kuigi käitumuslikud muutused võivad olla väga tundlikud indikaatorid keskkonnastressist, raskendab nende kasutamist seirestandardite puudumine.

3. Materjal ja meetodid

3.1. Uuritava liigi kirjeldus

Mudamaim (*Leucaspius delineatus*, (Heckel, 1843)) (joonis 1) on väike karpkalaliste (*Cypriniformes*) seltsi, *Leuciscidae* sugukonda kuuluv mageveekala, kelle levila ulatub suuremast osast Euroopast Kesk-Aasiani, sealhulgas Eestisse (Stefanov and Trichkova, 2011). Tegemist on valdavalt seisva või aeglase vooluga veekogudes elava liigiga, kes eelistab madalaid, soojemaid ja taimestikurikkaid elupaiku, nagu tiigid, järved ja aeglase vooluga jõed. Täiskasvanud mudamaimud on üldiselt 9 - 12 cm pikad ja nende keha on hõbedase läikega. Kalade eluiga on lühike, enamasti elavad nad looduses 3 - 4 aastaseks (Pinder and Gozlan, 2003; Stefanov and Trichkova, 2011). Mudamaim toitub peamiselt zooplanktonist. Liik on sotsiaalne ning liigub veekogudes üldiselt väikestes parvedes (Pinder and Gozlan, 2003). Mudamaimu sigimisperiood on kevadel ja varasuvel, nad koevad veetaimedele ja muudele veealustele struktuuridele (Stefanov and Trichkova, 2011).

Joonis 1. Mudamaim. Foto: Liisa Juurmann

3.2. Proovide kogumine

Eksperimendis osalenud kalad püüti 2024. aasta sügisel Emajõega ühenduses olevatest kraavidest ja tiikidest Tartu linna piires, Ihastes eripüügiloaga (nr 10-1/24/45-2). Püügiks kasutati väikesesilmalist käsikahva ning kalad transporditi 40 liitrise nõuga laborisse.

3.2.1. Kalade pidamistingimused

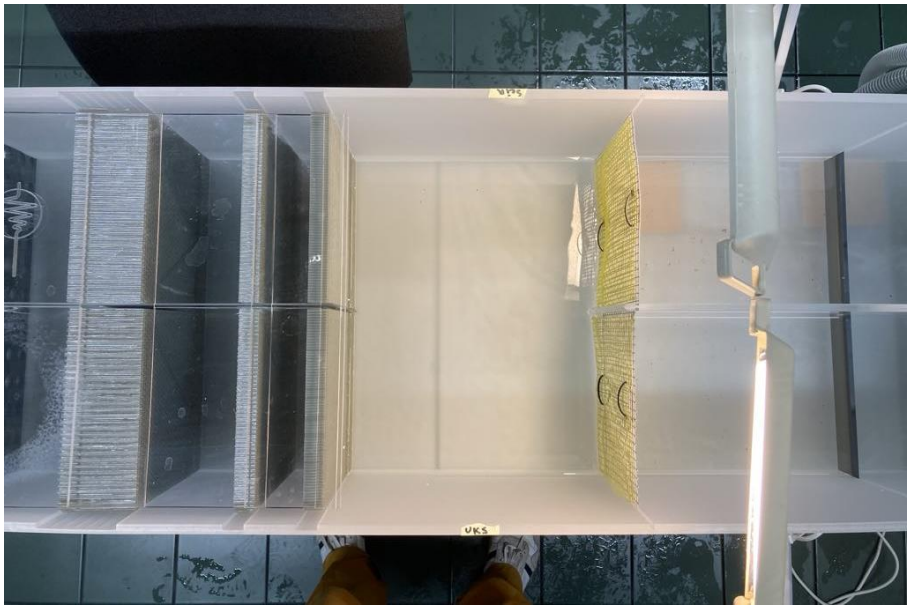
Eksperiment toimus Tartu Ülikooli ökoloogia ja maateaduste instituudi laboris, kus kalu hoiti kahes aereeritud ja filtersüsteemiga keskkonnas, põhjasubstraadiga läbipaistvates 150 liitristes akvaariumites, nende koduvee ja Tartu linna kraanivee segus, pH oli 7. Kalade saabudes järgnes kahenädalane aklimatiseerumise periood, mille vältel jälgiti nende tervislikku seisundit ning vajadusel korraldati ravi. Kalad olid automaatses tehislikus valgustingimuses, kus oli 12 tundi valge ja 12 tundi pime režiim. Kalu hoiti toatemperatuuril veetemperatuuris 17,5 kraadi Celsiust. Kalu söödeti 1 kord päevas kommertsiaalse akvaariumikalade kuivtoiduga.

3.2.2. Lõhnakemikaalide kogumine

Lõhnastiimulitena kasutati ahvena (*Perca fluviatilis* (Linnaeus, 1758)) lõhna, haugi (*Esox lucius* (Linnaeus, 1758)) lõhna, alarmainet (mudamaimu nahaekstrakti) ja toiduekstrakti. Lisaks tehti kontrollkatsed, kus stiimuli asemel lisati vette puhast vett. Ahvena lõhn võeti 1 liitrise nõuga katsetesse akvaariumist, kus olid 3 isendit vähemalt 24 tundi enne sees olnud. Haugi lõhn võeti 1 liitrise nõuga katsetesse akvaariumist, kus olid 2 isendit vähemalt 24 tundi enne sees olnud. Alarmaine lahus saadi katseväliselt püütud mudamaimude surmamisel ja naha kahjustamisel skalpelliga, mida leotati destilleeritud vees, 100 ml nõus, 10 minutit enne katse kalade aklimatiseerumisperioodi algust fluviaariumis. Toidulõhnana kasutati 5g/200ml kalade kommertsiaalset sööta, mida leotati vees 15 minutit ja seejärel filtreeriti. Enne põhikatseid viidi läbi pilootkatse, mille eesmärk oli hinnata, kui kaua aega kulub lõhnastiimulil käitumisareenile jõudmiseks. Selleks lisati fluviaariumis ühele poolele veele värvaine, et visuaalselt jälgida levikut. Katse käigus mõõdeti aeg, mille jooksul värvaine jõudis käitumisareeni keskele. Värvaine jõudis veevoolu kiirusega 300 L/h areeni keskele 33 sekundit peale aine lisamist. Saadud tulemuste põhjal määrati katsetes veevoolu tugevus ja lõhnaaine lisamise ning käitumise salvestamise vaheline ajavahemik.

3.3. Katse ülesehitus

Käitumiskatsed viidi läbi Loligo® Systems valikuakvaariumis ehk fluviaariumis (joonis 2). Fluviaariumis oli veevool, kus paralleelselt voolas kaks omavahel segunemata vett, veed erinesid lõhnaainete sisalduse poolest, kus üks vool sisaldas stiimuli lõhna ning teine oli puhas vesi. Käitumisareenil vabalt ujuvad kalad said valida, millist vett nad eelistavad ning kuidas nad stiimuli lõhnale reageerivad. Käitumiskatsele eelnes 15 minutiline aklimatiseerumisperiood fluviaariumis, katse toimus 3 minuti jooksul ning katset filmiti. Eksperimendis osalesid täiskasvanud katseloomad ja sooline jaotus oli juhuslik. Eksperimendi käitumiskatse osas võeti kalad akvaariumitest juhuslikus järjekorras viieste gruppidena käitumiskatsesse, kus hinnati nende reaktsiooni stiimulile, reaktsiooni kestust ning vooluvee eelistust.



Joonis 2. Loligo® Systems valikuakvaarium ehk fluviaarium. Foto: Randel Kreitsberg

3.4. Videoanalüüs

Käitumuslike reaktsioonide hindamiseks filmiti kõik katsed, asetades telefon fluviaarumi kohal olevale alusele enne kalade aklimatiseerumise perioodi algust nii, et terve käitumisareen ja fluviaariumis stiimuli valamise osa oli nähtav. Kalade käitumuslikku reaktsiooni hinnati skaalal 0-4, kus 0 tähistab reaktsiooni puudumist, 1 tähistab väga nõrka

liikumist, 2 tähistab nõrka liikumist vähese aktiivsuse kasvuga, 3 tähistab selgelt väljendunud huvi kasvu stiimulile või stiimuli vältimist ja 4 tähistab intensiivset eelistust või vältimiskäitumist (nt kiire põgenemine). Reaktsiooni kestust mõõdeti ajaliselt sekundites, alates esimesest reaktsioonist kuni selle lakkamiseni või stabiilse käitumismustri kujunemiseni. Vooluvee eelistust hinnati iga katse puhul eraldi, lähtuvalt keskmisest reaktsiooni kestusest, mõõtes stiimulit mitte sisaldavas vees viibimise aega sekundites. Videod vaadati ja analüüsiti hiljem ning hinnanguid andis sama vaatleja, et tagada hindamise järjepidevus.

3.5. Eetika

Loomi hoiti võimalikult vähest stressi tekitavates ja maksimaalselt looduslähedastes tingimustes, tagades sobiva veetemperatuuri, põhjasubstraadi olemasolu, valgustsükli ja regulaarse toitmise. Akvaariumites kasutati Tartu linna kraanivett, mis on neutraalse pH-ga, ja see segati kalade koduveega, et vähendada keskkonnavahetusest tingitud stressi. Veetemperatuuril lasti tõusta loomulikul teel ruumi toatemperatuurini, keskmiselt 17,5°C, mille juures kalu ka edaspidi hoiti. Elektrikatkestuste võimalikku mõju vähendamiseks kasutati laboris akutoitel süsteeme (UPS) ning vajadusel elektrigeneraatorid. Katseloomade tervist kontrolliti igapäevaselt, haiged kalad raviti ning neid pärast ravi katsetesse ei ennistatud, vaid paigutati eraldi ühisakvaariumisse vabastamist ootama.

3.6. Andmeanalüüs

Kalade reaktsioonikäitumise tugevuse ja kestuse andmed analüüsiti tarkvaraprogrammis R vastavalt katsete ülesehitusele kahel tasandil: individuaalselt ja grupikeskselt. Individuaalsel tasemel viidi reaktsiooni tugevuse ja kestuse võrdlus stiimulgruppide vahel läbi lineaarsete segamudelitega, kasutades funktsiooni lmer() paketist lme4. Mudelites oli stiimulgrupi kuuluvus fikseeritud faktor ning eksperimentaalgrupp juhuslik faktor, et arvestada grupisiseste sarnasustega. Post-hoc võrdlused eri stiimulite vahel viidi läbi marginaalsete keskmiste põhjal funktsiooniga emmeans() ning Holm korrigeerimisega mitmekordsete testide tarbeks. Grupitasemel analüüsis võeti igast eksperimentaalgrupist

reaktsioonide keskmine, mille põhjal loodi kokkuvõtlik andmestik, kus iga rida esindas üht sõltumatut katseühikut. Reaktsiooni tugevuse ja kestuse võrdlused stiimulgruppide vahel viidi läbi lineaarse mudeliga lm(), millele järgnesid post-hoc analüüsid marginaalsete keskmiste põhjal. Andmed visualiseeriti kastdiagrammidena ggboxplot(), kus kujutati reaktsiooni tugevuse ja kestuse jaotusi vastavalt stiimuligrupile. Joonistele lisati statistilised erinevused tähistena ning vaatluste arvud igas rühmas.

Veevoolueelistuse katse käigus mõõdeti, kui suure osa ajast grupid keskmiselt veetsid ilma stiimulita veevoolus võrreldes kogu katse kestusega. Andmete põhjal arvutati osakaalu näitaja: Osakaal = keskmine aeg ilma stiimulita veevoolus / kogu katse kestus. Iga katses kasutatud stiimul liigitati ökoloogilise mõju alusel kahte rühma: peletava stiimuli rühm (ahven, haug ja alarmaine) ning meelitava stiimuli rühm (toit), lisaks oli kolmandaks rühmaks kontroll. Liigitus viidi läbi case_when() abil, tuginedes stiimulinimede märksõnadele. Stiimulirühmade mõju veevoolueelistuse osakaalule hinnati mitteparameetrilise Kruskal-Wallise testiga, kuna andmed ei vastanud normaaljaotuse eeldustele. Testi tulemus ei viidanud statistiliselt olulisele erinevusele, mistõttu post-hoc teste ei rakendatud. Visuaalse ülevaate andmiseks loodi kastdiagrammid, kus kujutati osakaalu jaotusi igas stiimulirühmas ning lisati ka vaatluste arvud (n). Visualiseerimine viidi läbi ggplot2 abil.

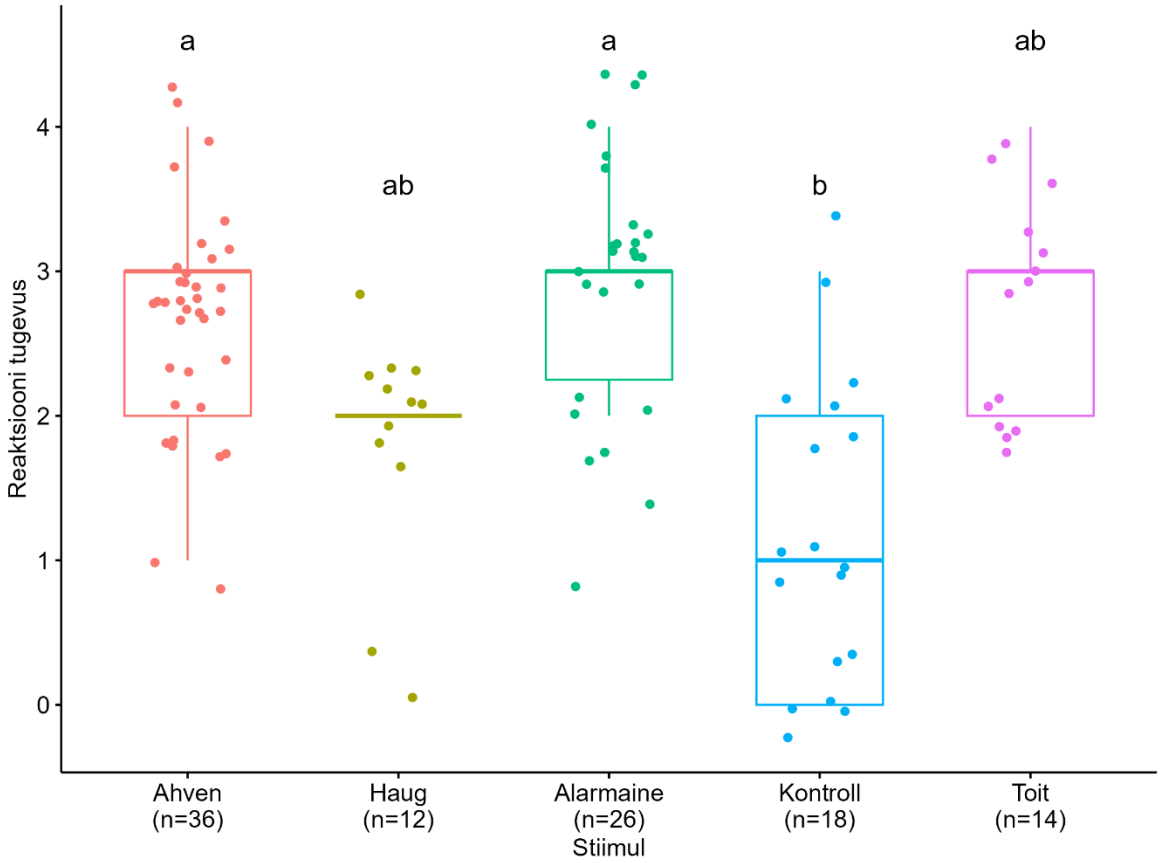
3.7. Töö autori roll

Käesoleva magistritöö autor osales magistritöö planeerimises ning katsete ettevalmistuses (sh katsesüsteemi ülesehituses), tegeles katseloomade eest hoolitsemisega ning viis koos juhendaja abiga läbi kõik eksperimendi käigus toimunud katsed. Autor viis läbi ka kogu andmeanalüüsi juhendaja nõuannete põhjal.

4. Tulemused

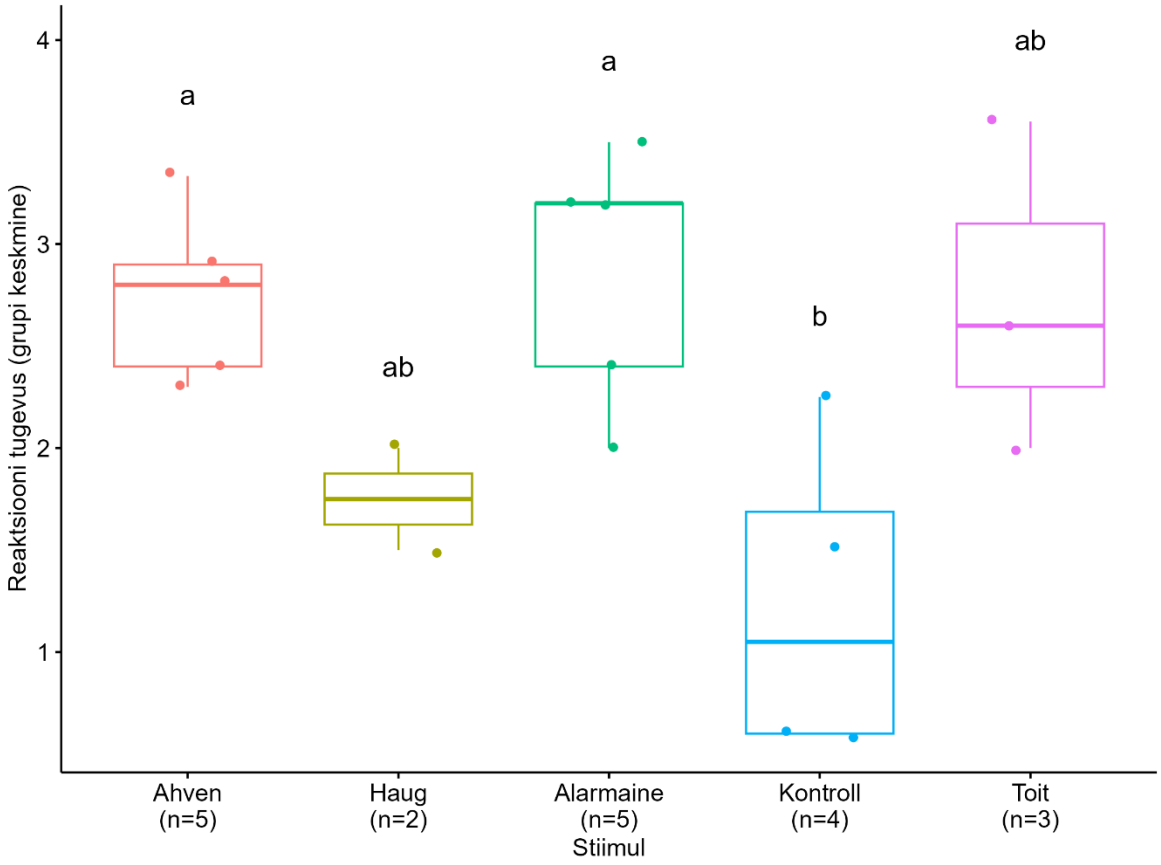
4.1. Stiimulite mõju kalade reaktsiooni tugevusele

Kalade reaktsiooni tugevus erinevatele stiimulitele varieerus 0 kuni 4 punkti. Kõige tugevamad reaktsioonid esinesid alarmainele (2.9 ± 0.3 SE) ja ahvena lõhnale (2.7 ± 0.3 SE) (joonis 3). Kõige nõrgem reaktsioon oli kontrollrühmas (1.2 ± 0.3 SE), mis oli statistiliselt oluliselt madalam võrreldes ahvena lõhna (df = 14.1, p = 0.023) ja alarmainega (df = 14.9, p = 0.015). Haugilõhnale (1.75 ± 0.43 SE) ja toiduekstraktile (2.75 ± 0.37) reageerimine ei osutunud statistiliselt oluliseks võrreldes teiste rühmadega (p > 0,05).



Joonis 3. Reaktsiooni tugevus kalade isenditasandil erinevate stiimulite lõikes. Y-teljel on esitatud reaktsiooni tugevuspunktid skaalal 0 kuni 4. Tähised (a, b) tähistavad statistiliselt erinevaid rühmi (emmeans post-hoc test, Holm korrigeerimine).

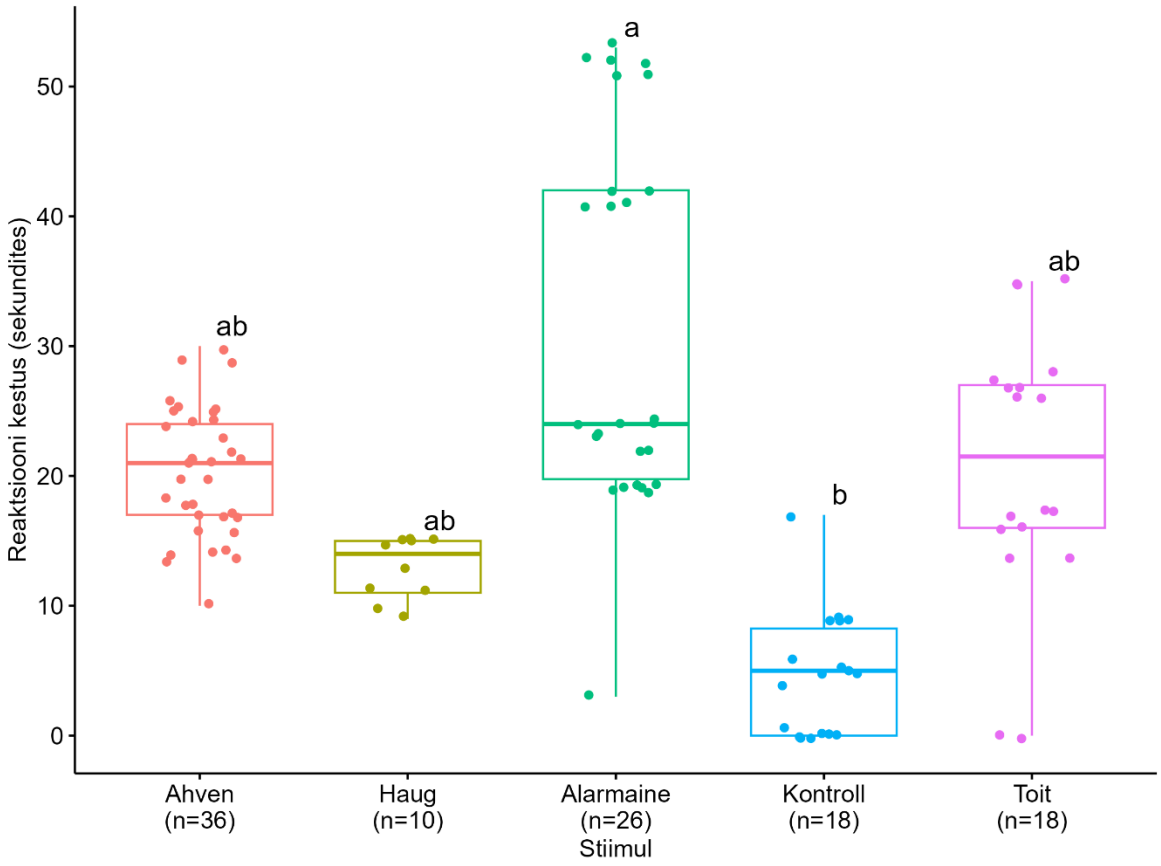
Grupikeskmisena arvutatud kalade reaktsiooni tugevus erinevatele stiimulitele varieerus vahemikus 0 kuni 4 punkti (joonis 4). Kõige tugevamad reaktsioonid esinesid alarmainele (2.86 ± 0.28 SE) ja ahvena lõhnale (2.75 ± 0.28 SE), mis omavahel statistiliselt ei erinenud ($p > 0.05$). Madalaim reaktsioon oli kontrolltingimustes (1.24 ± 0.32 SE), mis oli statistiliselt oluliselt madalam võrreldes nii ahvena ($df = 14$, $p = 0.029$) kui ka alarmainega ($df= 14$, $p = 0.019$). Haugile reageeriti mõõdukalt (1.75 ± 0.48 SE), statistiliselt olulisi erinevusi teiste rühmadega ei esinenud ($p > 0.05$). Toidule reageerimise tugevus oli kõrgem (2.73 ± 0.37), kui ei erinenud statistiliselt olulisel määral ühestki teisest stiimulist ($p > 0.05$).



Joonis 4. Reaktsiooni tugevus grupitasandil, kus iga punkt tähistab keskmist reaktsiooni. Y-teljel on näidatud rühma keskmine reaktsioon skaalal 0 kuni 4. Tähised (a, b) tähistavad statistiliselt erinevaid rühmi (emmeans post-hoc test, Holm korrigeerimine).

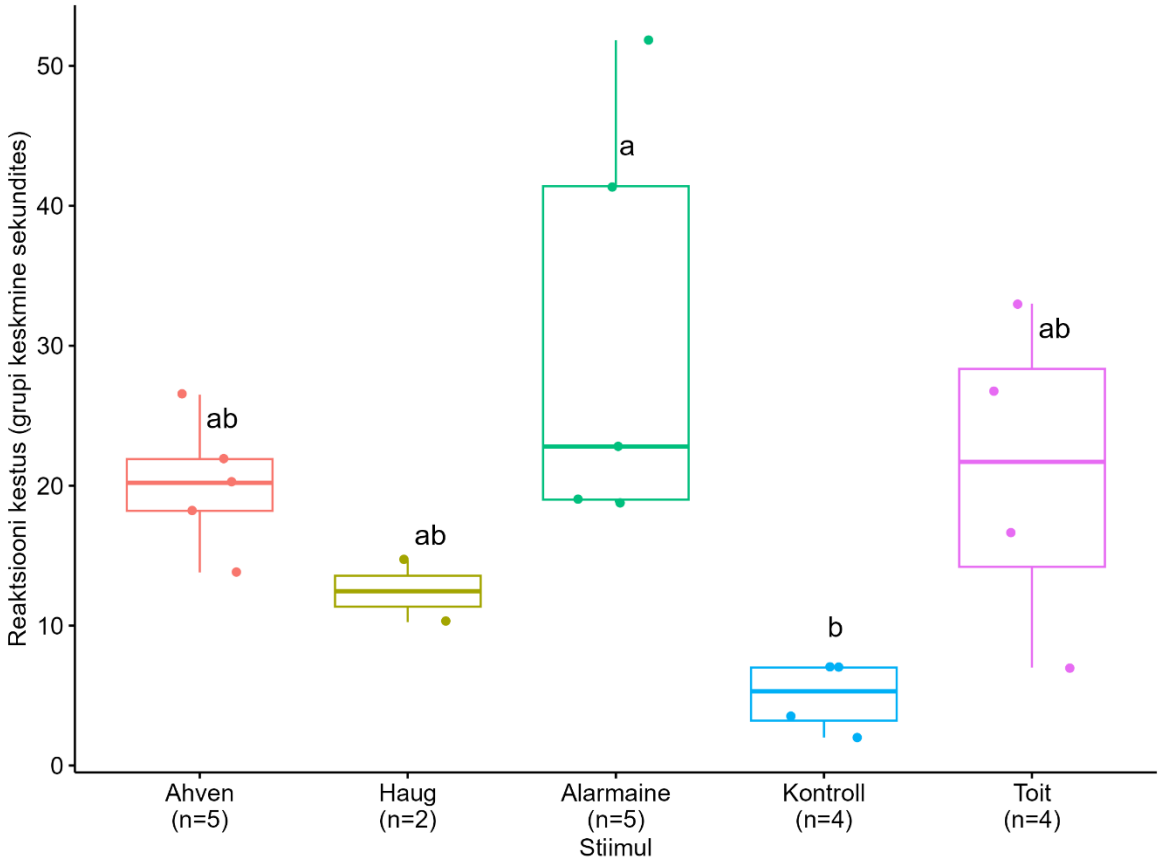
4.2. Stiimulite mõju kalade reaktsiooni kestusele

Kalade reaktsiooni kestus erinevatele stiimulitele varieerus 0 kuni 53 sekundi vahel (joonis 5). Kõige pikema kestusega reaktsioon oli alarmaine lõhnale (30.8 ± 4.3 SE), mis erines statistiliselt oluliselt kontrolltingimustest (4.9 ± 4.9 SE, df = 15.1, p = 0.012). Ka ahvena lõhna reaktsiooni kestus oli suhteliselt pikk (20.1 ± 4.3 SE), kuid see ei osutunud statistiliselt erinevaks võrreldes teiste rühmadega (p > 0.05). Toidu lõhnale oli keskmine reaktsiooni kestus samuti kõrge (20.9 ± 4.9 SE), kuid statistiliselt olulisi erinevusi teiste rühmadega ei esinenud (p > 0.05). Haugile reageeriti mõõdukalt (12.5 ± 6.9 SE) ja statistiliselt olulisi erinevusi teiste rühmadega ei esinenud (p > 0.05).



Joonis 5. Reaktsiooni kestus kalade isenditasandil eri stiimulite puhul. Y-teljel on reaktsiooni kestus sekundites. Tähised (a, b) tähistavad statistiliselt erinevaid rühmi (emmeans post-hoc test, Holm korrigeerimine).

Grupikeskmisena arvutatud reaktsiooni kestus eri stiimulitele varieerus vahemikus 2 kuni 52 sekundit (joonis 6). Kõige pikemad reaktsioonid ilmnesid alarmaine stiimuli puhul (30.8 ± 4.4 SE), mis oli statistiliselt oluliselt pikem võrreldes kontrolliga (4.9 ± 4.9 SE, df = 15, p = 0.012). Reaktsioon ahvenale (20.1 ± 4.3 SE), toidule (20.9 ± 4.9 SE) ja haugile (12.5 ± 6.9 SE) oli mõõdukas, kuid statistiliselt olulisi erinevusi rühmade vahel ei esinenud (p > 0.05).

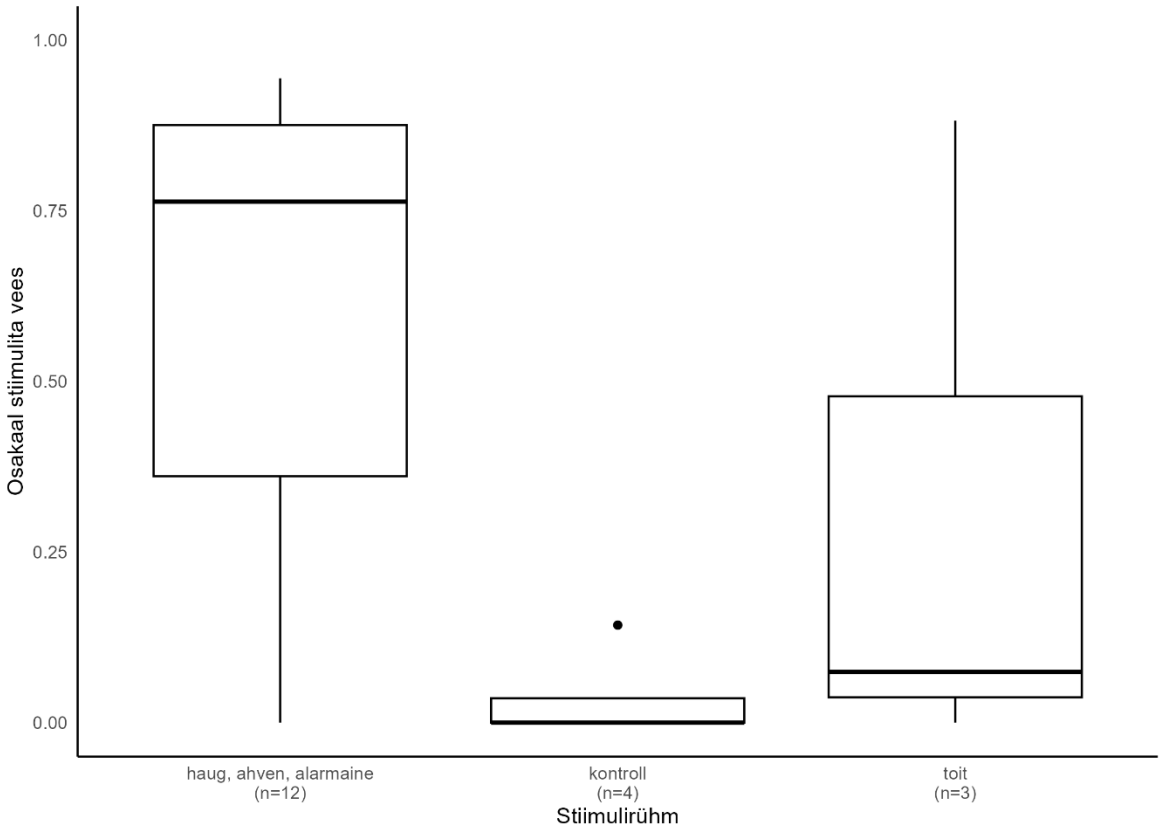


Joonis 6. Reaktsiooni kestus grupitasandil, kus iga punkt tähistab ühe rühma keskmist reaktsioonikestust. Y-teljel on näidatud kestus sekundites. Tähised (a, b) tähistavad statistiliselt erinevaid rühmi (emmeans post-hoc test, Holm korrigeerimine)..

4.3. Veevoolu eelistus

Kalade eelistus stiimuli vabale veevoolule oli hinnatud osakaaluga, mis näitas aega stiimulita veevoolus võrreldes kogu katse kestusega. Osakaal varieerus rühmade lõikes

märgatavalt, kuid statistiliselt olulisi erinevusi rühmade „haug, ahven, alarmaine“, „toit“ ning „kontroll“ vahel ei esinenud (X^2 = 3.216, df = 2, p = 0.20; joonis 7).



Joonis 7. Kalade eelistus stiimulita vooluveele, väljendatuna osakaaluna kogu katsest. Y-teljel on näidatud keskmine aeg stiimulita veevoolus jagatuna katse kogukestusega. Stiimulid jagati ökoloogilise mõju põhjal: ahvena, haugi ja alarmaine lõhn (peletavad lõhnad), toidu lõhn (meelitav lõhn) ja kontroll (neutraalne lõhn). Statistiliselt olulisi erinevusi osakaaludes stiimulirühmade vahel ei ilmnenud (Kruskal-Wallise test, p = 0.20).

5. Arutelu

Töö käigus saadud tulemused toetavad üldjoontes hüpoteesi, et veekeskkonnas lahustunud lõhnasignaale on võimalik edukalt kasutada eksperimentaalsetes käitumiskatsetes. Kõikide testitud stiimulite puhul, sealhulgas kontrollrühmas, näitasid kalad mõõdetavaid reaktsioone nii tugevuse kui ka kestuse osas, mis kinnitab, et olfaktoorsed signaalid olid kalade poolt tajutavad ja põhjustasid käitumuslikke vastuseid.

Erinevate lõhnasignaalide mõju kaladele oli erinev. Alarmaine ja ahvena lõhn kutsusid esile oluliselt tugevamaid ja pikemaid reaktsioone võrreldes kontrolltingimustega. Alarmainete mõju oli järjekindlalt tugev nii reaktsiooni tugevuse kui ka kestuse puhul ja see eristus statistiliselt kontrollrühmast (joonised 3-6). See võib tuleneda sellest, et alarmaine lõhna tajumine tekitab kalades hirmureaktsiooni, mis suurendab nende tõenäosust ohu eest pääseda ja ellu jääda (Hara, 1994; Li et al., 2023). Ahvena puhul võib tugevam reaktsioon tuleneda asjaolust, et tegemist on röövkalaga, kes esineb sagedasti elupaikades, kus mudamaim, mistõttu on tõenäoline, et mudamaim peab looduses tema eest hoiduma. Reaktsioonid toidule olid küll nähtavad, kuid varieeruvad ning statistiliselt ei eristunud teistest stiimulitest. Haugi lõhnale reageerimise tulemused olid vastuolulisemad ja reaktsioonid olid madalama intensiivsusega võrreldes ahvena ja alarmaine lõhnaga ning statistiliselt olulisi erinevusi ei esinenud (joonised 3-6). Statistiliselt oluliste erinevuste puudumine võis tuleneda haugi lõhnaga tehtud katsete väiksest valimist, mistõttu oli varieeruvus suur ja statistiline test võimetu tegelikku erinevust tuvastama. Väikese valimi korral on tulemused ebakindlamad ja madalama statistilise jõuga, mistõttu tuleks neid tõlgendada ettevaatlikult. Võimalik, et haugi lõhn põhjustas kalades sarnaseid vältimisreaktsioone nagu ahvena puhul, kuid seda ei õnnestunud väikese valimi tõttu kinnitada. Samuti on võimalik, et haugi lõhn põhjustas kalades hoopis parvekäitumist, mida näitas Andörferi (1980) tehtud uuring, kuid seda antud töös ei analüüsitud. Seetõttu ei saa haugi lõhna tulemusi käsitleda lõplikult negatiivse vastusena, vaid potentsiaalselt olulisena, mille testimiseks oleks vajalik suurem valim.

Veevoolu eelistuse osas ei ilmnenud statistiliselt olulisi erinevusi stiimulirühmade vahel, kuid visuaalselt kaldusid kalad peletava (ahven, haug, alarmaine) rühma puhul rohkem stiimulita ja meelitava (toit) lõhna juures stiimuliga vette jääma (joonis 7). Statistiliselt

mitteoluline tulemus võib olla mõjutatud ka väikesest valimimahust ja hoolimata statistilise erinevuse puudumisest võib selline suundumus osutada kalade võimele peletavaid lõhnasignaale vältida. Kuna alarmaine ja ahvena lõhnad kutsusid esile statistiliselt eristuvad reaktsioonid (joonised 3-4), võib järeldada, et mudamaimu käitumuslikud vastused lõhnasignaalidena on sobivad biomarkeritena. Tuleviku uuringutes oleks oluline kasutada suuremaid valimeid, et suurendada statistilist usaldusväärsust, eriti rühmades, kus erines suurt varieeruvust. Lisaks on oluline testida lõhnaaineid ja nende mõju laiemalt, kaasates ka saasteaineid, näiteks väikelaevade mürkvärve.

Haistmine on kalade jaoks üks olulisemaid meeli toitumisel, sotsiaalses suhtluses, sigimises ja kiskjate vältimisel, seetõttu on lõhnatundlikkuse häirumine sageli seotud ökoloogiliselt oluliste tagajärgedega (Tierney et al., 2010). Kalade haistmisorgan puutub otseselt kokku vees lahustunud keemiliste ainetega, mistõttu on see eriti tundlik reostuse, toksiliste ainete ning keskkonna muutuste suhtes (Hara, 1994; Tierney et al., 2010; Tigert et al., 2025). Veekvaliteedi muutuste tagajärjel võivad kalad kaotada võime lõhnasignaale eristada või nendele adekvaatselt reageerida (Mirza et al., 2009; Munday et al., 2009). Lähtudes käesoleva katse tulemustest, võib kinnitada, et kalade haistmispõhised käitumiskatsed sobiksid indikaatoriks piirkondades, kus vee kvaliteet võib olla ohus. Näiteks sadamaaladel ja väikelaevade kasutuspiirkondades, kus vees võivad esineda mürkvärvid, tööstuslikes ja põllumajanduslikes piirkondades veekogudes ja ökoloogiliselt tundlikes piirkondades. Kuna inimtegevusest tulenev keskkonnasaaste kasvab, suureneb ka vajadus mitmekesiste ja tundlike indikaatorite järele, mis võimaldaksid tuvastada saaste tegelikku mõju ökosüsteemile (Khan and Ghouri, 2011; Parker et al., 1999). Kalade haistetundlikkus ja käitumuslikud reaktsioonid võiksid potentsiaalselt tulevikus olla üks osa keskkonnakvaliteedi hindamise praktikast.

Käesoleva töö tulemused kinnitavad, et mudamaimu haistetundlikkus ja sellega seotud käitumuslikud reaktsioonid võimaldavad tuvastada kalade reaktsioone veekeskkonnas esinevatele lõhnasignaalidele. Samuti kinnitasid tulemused, et erinevad lõhnakemikaalid mõjutasid kalade käitumist eri tugevusega. See annab alust käsitleda mudamaimu käitumist haistmismeele tundlikkuse põhjal kui potentsiaalset biomarkerit, mida saab rakendada keskkonnakvaliteedi hindamisel.

Kokkuvõte

Keskkonnasaaste, sealhulgas väikelaevade põhjavärvides leiduvad toksilised ained, võivad oluliselt mõjutada kalade haistmismeelt, häirides nende bioloogiliselt ja ökoloogiliselt olulisi käitumismustreid. Haistmismeel võimaldab kaladel peamiselt leida toitu, vältida kiskjaid ning leida sobiv paariline sigimiseks. Käesoleva töö eesmärk oli eksperimentaalselt testida mudamaimu haistetundlikkust erinevatele ökoloogiliselt olulistele olfaktoorsetele signaalidele, et hiljem välja selgitada, millised stiimulid on sobivaimad edasiseks uurimiseks haistmist häirivate toksiliste värvide mõju kohta.

Katsed viidi läbi fluviaariumis, kus viiele lõhnastiimulile: ahven, haug, alarmaine, toit ja kontroll, reageerivaid kalu hinnati reaktsiooni tugevuse, kestuse ja veevoolueelistuse põhjal. Andmeid analüüsiti individuaal- ja grupitasandil, kasutades segamudeleid ja lineaarseid mudeleid koos marginaalsete keskmiste post-hoc testidega. Tulemused näitasid, et kõik lõhnastiimulid kutsusid esile mõõdetavaid reaktsioone. Ahvena ja alarmaine lõhn põhjustasid statistiliselt tugevamaid ja alarmaine lõhn statistiliselt olulise kestusega reaktsioone võrreldes kontrolliga. Veevoolueelistuses olulisi erinevusi ei ilmnenud, kuid visuaalselt täheldati kalade suundumust eelistada stiimuli vaba vett peletava lõhna ja stiimuliga vett toidu lõhna puhul. Töö toetas hüpoteese, et vees lahustunud olfaktoorseid signaale saab edukalt kasutada eksperimentaalsetes käitumiskatsetes, eri stiimul mõjutas kalade reaktsiooni erinevalt ning mudamaimu haistetundlikkus on rakendatav biomarkerina keskkonnakvaliteedi hindamisel.

Summary

Environmental pollution, including toxic substances found in antifouling paints used on small vessels, can significantly affect the olfactory sense of fish, disrupting behavior patterns that are biologically and ecologically important. The olfactory sense enables fish primarily to locate food, avoid predators and to find a suitable mate for reproduction. The aim of this study was to experimentally test the olfactory sensitivity of sunbleak (*Leucaspius delineatus* (Heckel, 1843)) to various ecologically relevant olfactory cues, with the goal of identifying which stimuli are most suitable for further research on the effects of olfactory disrupting toxic paints.

The experiments were conducted in a fluviarium, where the fish were exposed to five odor stimuli: perch, pike, alarm substance, food and control. Their responses were evaluated based on reaction strength, duration and flow preference. Data was analyzed at both individual and group levels using mixed-effects and linear models, with post-hoc tests based on marginal means. The results showed that all odor stimuli elicited measurable responses. The odors of perch and the alarm substance triggered statistically stronger and the alarm substance statistically longer lasting responses compared to the control. No significant differences were observed in flow preference, but visual inspection revealed a tendency for fish to prefer stimulus free water in the presence of a repellent odor and stimulus containing water in the presence of a food odor. This study supports the hypotheses that waterborne olfactory cues can be effectively used in experimental behavior experiments, different stimuli elicit differential responses in fish and the olfactory sensitivity of sunbleak can be applied as a biomarker for assessing environmental quality.

Tänuavaldused

Tänan südamest oma pühendunud juhendajat Randel Kreitsbergi, kes oli kuni viimaste hetkedeni olid alati positiivne ja innustav. Samuti tänan Jürgenit, et aitasid kalu püüda, Pauli, et olid nii nõu kui jõuga abiks katse planeerimisel ja aitäh Jeffrey, et kalade eest nii head hoolt kandsid!

Lisaks kuuluvad siirad tänud mu perele ja lähedastele, et aitasite mul selle teekonna läbi teha ning erilised tänud Sulle, Jan, et hoidsid tuju üleval ning meele rõõmsa.

Aitäh!

Kasutatud kirjandus

Viitamine vastab ajakirja Aquatic Toxicology nõuetele.

Aguila-Ramírez, R.N., Hernández-Guerrero, C.J., González-Acosta, B., Id-Daoud, G., Hewitt, S., Pope, J., Hellio, C., 2014. Antifouling activity of symbiotic bacteria from sponge *Aplysina gerardogreeni*. Int. Biodeterior. Biodegrad. 90, 64–70. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.02.003

Ahuja, G., Nia, S.B., Zapilko, V., Shiriagin, V., Kowatschew, D., Oka, Y., Korsching, S.I., 2014. Kappe neurons, a novel population of olfactory sensory neurons. Sci. Rep. 4, 4037. https://doi.org/10.1038/srep04037

Almeida, E., Diamantino, T.C., de Sousa, O., 2007. Marine paints: The particular case of antifouling paints. Prog. Org. Coat. 59, 2–20. https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2007.01.017

Andersson, M.N., Larsson, M.C., Schlyter, F., 2009. Specificity and redundancy in the olfactory system of the bark beetle *Ips typographus*: Single-cell responses to ecologically relevant odors. J. Insect Physiol. 55, 556–567. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.01.018

Andörfer, B., 1980. The School Behavior of Leucaspius delineatus (Heckel) in Relation to Ambient Space and the Presence of a Pike (Esox lucius). Oecologia 47, 137–140.

Antizar-Ladislao, B., 2008. Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. A review. Environ. Int. 34, 292–308. https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.09.005

Arnold, W.R., Santore, R.C., Cotsifas, J.S., 2005. Predicting copper toxicity in estuarine and marine waters using the Biotic Ligand Model. Mar. Pollut. Bull. 50, 1634–1640. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.035

Baltic Sea Action Plan, 2007. https://helcom.fi/baltic-sea-action-plan/

Banerjee, I., Pangule, R.C., Kane, R.S., 2011. Antifouling Coatings: Recent Developments in the Design of Surfaces That Prevent Fouling by Proteins, Bacteria, and Marine Organisms. Adv. Mater. 23, 690–718. https://doi.org/10.1002/adma.201001215

Bardach, J.E., Fujiya, M., Holl, A., 1965. Detergents: Effects on the Chemical Senses of the Fish Ictalurus natalis (le Sueur). Science 148, 1605–1607. https://doi.org/10.1126/science.148.3677.1605

Bazáes, A., Olivares, J., Schmachtenberg, O., 2013. Properties, Projections, and Tuning of Teleost Olfactory Receptor Neurons. J. Chem. Ecol. 39, 451–464. https://doi.org/10.1007/s10886-013-0268-1

Bazáes, A., Schmachtenberg, O., 2012. Odorant tuning of olfactory crypt cells from juvenile and adult rainbow trout. J. Exp. Biol. 215, 1740–1748. https://doi.org/10.1242/jeb.067264

Bixler, G.D., Bhushan, B., 2012. Biofouling: lessons from nature. Philos. Trans. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci. 370, 2381–2417. https://doi.org/10.1098/rsta.2011.0502

Breitburg, D.L., Hondorp, D.W., Davias, L.A., Diaz, R.J., 2009. Hypoxia, Nitrogen, and Fisheries: Integrating Effects Across Local and Global Landscapes. Annu. Rev. Mar. Sci. 1, 329–349. https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163754

Bronson, A.W., Stiassny, M.L.J., 2025. Novel Nasal Anatomy Suggests Enhanced Olfactory Acuity in Auchenoglanidid Catfishes (Siluriformes: Auchenoglanididae). Ichthyol. Herpetol. 113, 233–243. https://doi.org/10.1643/i2024062

Buchinger, T.J., Li, W., Johnson, N.S., 2014. Bile Salts as Semiochemicals in Fish. Chem. Senses 39, 647–654. https://doi.org/10.1093/chemse/bju039

Buck, L., Axel, R., 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. Cell 65, 175–187. https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90418-X

Buma, A.G.J., Sjollema, S.B., van de Poll, W.H., Klamer, H.J.C., Bakker, J.F., 2009. Impact of the antifouling agent Irgarol 1051 on marine phytoplankton species. J. Sea Res. 61, 133–139. https://doi.org/10.1016/j.seares.2008.11.007

Champ, M.A., 2000. A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. Sci. Total Environ., TBT Costs and Benefits- A 258, 21–71. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00506-4

Cox, J.P.L., 2008. Hydrodynamic aspects of fish olfaction. J. R. Soc. Interface. https://doi.org/10.1098/rsif.2007.1281

Cruz, F.A.G., Pereira, C., dos Santos Fernandez, M.A., Filho, A.M.L., da Silva, T.L., 2024. Development of methodology for the visual identification of Tributyltin (TBT) in antifouling paint matrices. Anal. Sci. 40, 1843–1855. https://doi.org/10.1007/s44211-024-00620-9

da Rosa, J.G.S., de Abreu, M.S., Giacomini, A.C.V., Koakoski, G., Kalichak, F., Oliveira, T.A., de Alcântara Barcellos, H.H., Barreto, R.E., Barcellos, L.J.G., 2016. Fish

Aversion and Attraction to Selected Agrichemicals. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 71, 415–422. https://doi.org/10.1007/s00244-016-0300-x

Dafforn, K.A., Lewis, J.A., Johnston, E.L., 2011. Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation. Mar. Pollut. Bull. 62, 453–465. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.01.012

Daghfous, G., Green, W.W., Zielinski, B.S., Dubuc, R., 2012. Chemosensory-induced motor behaviors in fish. Curr. Opin. Neurobiol., Neuroethology 22, 223–230. https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.10.009

Dittman, A.H., Quinn, T.P., 1996. Homing in Pacific Salmon: Mechanisms and Ecological Basis. J. Exp. Biol. 199, 83–91. https://doi.org/10.1242/jeb.199.1.83

Dixson, D.L., Munday, P.L., Jones, G.P., 2010. Ocean acidification disrupts the innate ability of fish to detect predator olfactory cues. Ecol. Lett. 13, 68–75. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01400.x

Eklund, B., Eklund, D., 2014. Pleasure Boatyard Soils are Often Highly Contaminated. Environ. Manage. 53, 930–946. https://doi.org/10.1007/s00267-014-0249-3

Euroopa Parlamendi ja nõukogu direktiiv 2000/60/EÜ, millega kehtestatakse ühenduse veepoliitika tegevusraamistik, Pub. L. No. 2000/60/EÜ, 1, 2000. http://data.europa.eu/eli/dir/2000/60/oj/est

Euroopa Parlamendi ja nõukogu direktiiv 2008/105/EÜ, mis käsitleb keskkonnakvaliteedi standardeid veepoliitika valdkonnas, Pub. L. No. 2008/105/EÜ, 84, 2009. http://data.europa.eu/eli/dir/2008/105/oj/est

Euroopa Parlamendi ja nõukogu määrus (EL) nr 528/2012, 22., milles käsitletakse biotsiidide turul kättesaadavaks tegemist ja kasutamist, Pub. L. No. 528/2012, 167, 2012. http://data.europa.eu/eli/reg/2012/528/oj/est

Evans, S.M., Leksono, T., McKinnell, P.D., 1995. Tributyltin Pollution: A Diminishing Problem Following Legislation Limiting the Use of TBT-Based Anti-fouling Paints. Mar. Pollut. Bull. 30, 14–21. https://doi.org/DOI:10.1016/0025-326X(94)00181-8

Fry, D.M., 1995. Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. Environ. Health Perspect. 103, 165–171. https://doi.org/10.1289/ehp.95103s7165

Giesen, L. van, Kilian, P.B., Allard, C.A.H., Bellono, N.W., 2020. Molecular Basis of Chemotactile Sensation in Octopus. Cell 183, 594-604.e14. https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.008

Grunnet, K.S., Dahllof, I., 2005. Environmental fate of the antifouling compound zinc pyrithione in seawater. Environ. Toxicol. Chem. 24, 3001–3006. https://doi.org/10.1897/04-627R.1

Guardiola, F.A., Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, M.A., 2012. Risks of Using Antifouling Biocides in Aquaculture. Int. J. Mol. Sci. 13, 1541–1560. https://doi.org/10.3390/ijms13021541

Hansen, A., Rolen, S.H., Anderson, K., Morita, Y., Caprio, J., Finger, T.E., 2003. Correlation between Olfactory Receptor Cell Type and Function in the Channel Catfish. J. Neurosci. 23, 9328–9339. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-28-09328.2003

Hara, T., 1994. Olfaction and gustation in fish: an overview. Acta Physiol. Scand. https://doi.org/10.1111/J.1748-1716.1994.TB09800.X

Hassan Al-Taai, S.H., 2021. Water pollution Its causes and effects. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 790, 012026. https://doi.org/10.1088/1755-1315/790/1/012026

Herrera, K.J., Panier, T., Guggiana-Nilo, D., Engert, F., 2021. Larval Zebrafish Use Olfactory Detection of Sodium and Chloride to Avoid Salt Water. Curr. Biol. 31, 782-793.e3. https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.11.051

Hubbard, P.C., Barata, E.N., Canario, A.V.M., 2002. Possible disruption of pheromonal communication by humic acid in the goldfish, *Carassius auratus*. Aquat. Toxicol. 60, 169–183. https://doi.org/10.1016/S0166-445X(02)00002-4

Huertas, M., Hagey, L., Hofmann, A.F., Cerdà, J., Canário, A.V.M., Hubbard, P.C., 2010. Olfactory sensitivity to bile fluid and bile salts in the European eel (Anguilla anguilla), goldfish (Carassius auratus) and Mozambique tilapia (Oreochromis mossambicus) suggests a `broad range' sensitivity not confined to those produced by conspecifics alone. J. Exp. Biol. 213, 308–317. https://doi.org/10.1242/jeb.033142

International Convention for the Prevention of Pollution from Ships (MARPOL 73/78), Pub. L. No. MAPROL 73/78, 1973. https://www.imo.org/en/KnowledgeCentre/ConferencesMeetings/Pages/Marpol.aspx

International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships (AFS Convention), Pub. L. No. AFS/2001, 2008. https://www.imo.org/en/About/Conventions/Pages/International-Convention-on-the-Control-of-Harmful-Anti-fouling-Systems-on-Ships-(AFS).aspx

Iqbal, T., Byrd-Jacobs, C., 2010. Rapid Degeneration and Regeneration of the Zebrafish Olfactory Epithelium after Triton X-100 Application. Chem. Senses 35, 351–361. https://doi.org/10.1093/chemse/bjq019

Jacobsen, J.A., Asmund, G., 2000. TBT in marine sediments and blue mussels (*Mytilus edulis*) from central-west Greenland. Sci. Total Environ. 245, 131–136. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00438-6

Jarrard, H.E., Delaney, K.R., Kennedy, C.J., 2004. Impacts of carbamate pesticides on olfactory neurophysiology and cholinesterase activity in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquat. Toxicol. 69, 133–148. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.05.001

Kamio, M., Yambe, H., Fusetani, N., 2022. Chemical cues for intraspecific chemical communication and interspecific interactions in aquatic environments: applications for fisheries and aquaculture. Fish. Sci. 88, 203–239. https://doi.org/10.1007/s12562-021-01563-0

Kasumyan, A.O., 2004. The Olfactory System in Fish: Structure, Function, and Role in Behavior. ResearchGate.

Keskkonnaseadustiku üldosa seadus–Riigi Teataja, Pub. L. No. RT I, 04.12.2024, 9, 2014. https://www.riigiteataja.ee/akt/104122024009?leiaKehtiv

Keskkonnaseire seadus–Riigi Teataja, Pub. L. No. RT I, 21.09.2023, 3, 2017. https://www.riigiteataja.ee/akt/121092023003?leiaKehtiv

Khan, M.A., Ghouri, A.M., 2011. Environmental Pollution: Its Effects on Life and Its Remedies.

Klima, K.E., Applehans, F.M., 1990. Copper exposure and the degeneration of olfactory receptors in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Chem. Speciat. Bioavailab. 2, 149–154. https://doi.org/10.1080/09542299.1990.11083132

Kolmakov, N.N., Hubbard, P.C., Lopes, O., Canario, A.V.M., 2009. Effect of Acute Copper Sulfate Exposure on Olfactory Responses to Amino Acids and Pheromones in Goldfish (Carassius auratus). Environ. Sci. Technol. 43, 8393–8399. https://doi.org/10.1021/es901166m

Konstantinou, I.K., Albanis, T.A., 2004. Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review. Environ. Int. 30, 235–248. https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00176-4

Kroon, F., Streten, C., Harries, S., 2017. A protocol for identifying suitable biomarkers to assess fish health: A systematic review. PLOS ONE 12, e0174762. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174762

Laberge, F., Hara, T.J., 2001. Neurobiology of fish olfaction: a review. Brain Res. Rev. 36, 46–59. https://doi.org/10.1016/S0165-0173(01)00064-9

Lagerström, M., Lindgren, J.F., Holmqvist, A., Dahlström, M., Ytreberg, E., 2018. In situ release rates of Cu and Zn from commercial antifouling paints at different salinities. Mar. Pollut. Bull. 127, 289–296. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.027

Lagerström, M., Wrange, A.-L., Oliveira, D.R., Granhag, L., Larsson, A.I., Ytreberg, E., 2022. Are silicone foul-release coatings a viable and environmentally sustainable alternative to biocidal antifouling coatings in the Baltic Sea region? Mar. Pollut. Bull. 184, 114102. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114102

Lagerström, M., Ytreberg, E., Wiklund, A.-K.E., Granhag, L., 2020. Antifouling paints leach copper in excess – study of metal release rates and efficacy along a salinity gradient. Water Res. 186, 116383. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116383

Laitano, M.V., Rodriguez, Y.E., Rivero, G., Fernández-Gimenez, A.V., Blustein, G., 2025. A novel alternative fate for shrimp fishery wastes as active ingredients in ecofriendly antifouling paints. Environ. Sci. Pollut. Res. 32, 9710–9721. https://doi.org/10.1007/s11356-025-36322-6

Lazzari, M., Bettini, S., Milani, L., Maurizii, M.G., Franceschini, V., 2022. Response of Olfactory Sensory Neurons to Mercury Ions in Zebrafish: An Immunohistochemical Study. Microsc. Microanal. 28, 227–242. https://doi.org/10.1017/S1431927621013763

Li, W., Scott, A.P., Siefkes, M.J., Yan, H., Liu, Q., Yun, S.-S., Gage, D.A., 2002. Bile Acid Secreted by Male Sea Lamprey That Acts as a Sex Pheromone. Science 296, 138–141. https://doi.org/10.1126/science.1067797

Li, W., Sorensen, P.W., Gallaher, D.D., 1995. The olfactory system of migratory adult sea lamprey (Petromyzon marinus) is specifically and acutely sensitive to unique bile acids released by conspecific larvae. J. Gen. Physiol. 105, 569–587. https://doi.org/10.1085/jgp.105.5.569

Li, Y., Yan, Z., Lin, A., Li, X., Li, K., 2023. Non-Dose-Dependent Relationship between Antipredator Behavior and Conspecific Alarm Substance in Zebrafish. Fishes 8, 76. https://doi.org/10.3390/fishes8020076

Liang, H., Shi, X., Li, Y., 2024. Technologies in Marine Antifouling and Anti-Corrosion Coatings: A Comprehensive Review. Coatings 14, 1487. https://doi.org/10.3390/coatings14121487

Lin, T., Liu, X., Zhang, D., Li, S., 2021. Female lined seahorses (*Hippocampus erectus*) recognize their mates based on olfactory cues. Behav. Processes 189, 104419. https://doi.org/10.1016/j.beproc.2021.104419

Magnuson, J.T., Fuller, N., McGruer, V., Huff Hartz, K.E., Acuña, S., Whitledge, G.W., Lydy, M.J., Schlenk, D., 2023. Effect of temperature and dietary pesticide exposure on neuroendocrine and olfactory responses in juvenile Chinook salmon (Oncorhynchus tshawytscha). Environ. Pollut. Barking Essex 1987 318, 120938. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120938

Mather, J., 2021. Octopus Consciousness: The Role of Perceptual Richness. NeuroSci 2, 276–290. https://doi.org/10.3390/neurosci2030020

McCarthy, J.F., Shugart, L.R., 1990. Biological Markers of Environmental Contamination, in: Biomarkers of Environmental Contamination. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, pp. 3–14.

Meylan, S., Behra, R., Sigg, L., 2003. Accumulation of Copper and Zinc in Periphyton in Response to Dynamic Variations of Metal Speciation in Freshwater. Environ. Sci. Technol. 37, 5204–5212. https://doi.org/10.1021/es034566+

Mirza, R.S., Green, W.W., Connor, S., Weeks, A.C.W., Wood, C.M., Pyle, G.G., 2009. Do you smell what I smell? Olfactory impairment in wild yellow perch from metal-contaminated waters. Ecotoxicol. Environ. Saf. 72, 677–683. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.10.001

Mnif, W., Hassine, A.I.H., Bouaziz, A., Bartegi, A., Thomas, O., Roig, B., 2011. Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review. Int. J. Environ. Res. Public. Health 8, 2265–2303. https://doi.org/10.3390/ijerph8062265

Mobley, R.B., Weigel, E.G., Boughman, J.W., 2020. Does humic acid alter visually and chemically guided foraging in stickleback fish? Anim. Cogn. 23, 101–108. https://doi.org/10.1007/s10071-019-01319-5

Moore, A., Scott, A.P., 1997. Testosterone is a potent odorant in precocious male Atlantic salmon (Salmo salar L.) parr. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 332, 241–244. https://doi.org/10.1098/rstb.1991.0052

Munday, P.L., Dixson, D.L., Donelson, J.M., Jones, G.P., Pratchett, M.S., Devitsina, G.V., Døving, K.B., 2009. Ocean acidification impairs olfactory discrimination and

homing ability of a marine fish. Proc. Natl. Acad. Sci. 106, 1848–1852. https://doi.org/10.1073/pnas.0809996106

Nyström, B., Becker-Van Slooten, K., Bérard, A., Grandjean, D., Druart, J.-C., Leboulanger, C., 2002. Toxic effects of Irgarol 1051 on phytoplankton and macrophytes in Lake Geneva. Water Res. 36, 2020–2028. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00404-3

Oehlmann, J., Di Benedetto, P., Tillmann, M., Duft, M., Oetken, M., Schulte-Oehlmann, U., 2007. Endocrine disruption in prosobranch molluscs: evidence and ecological relevance. Ecotoxicology 16, 29–43. https://doi.org/10.1007/s10646-006-0109-x

Olivares, J., Schmachtenberg, O., 2019. An update on anatomy and function of the teleost olfactory system. PeerJ 7, e7808. https://doi.org/10.7717/peerj.7808

Oliveira, D.R., and Granhag, L., 2020. Ship hull in-water cleaning and its effects on fouling-control coatings. Biofouling 36, 332–350. https://doi.org/10.1080/08927014.2020.1762079

Olsén, K.H., 1992. Kin recognition in fish mediated by chemical cues, in: Hara, T.J. (Ed.), Fish Chemoreception. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 229–248. https://doi.org/10.1002/9781118794739.ch10

Osada, K., Miyazono, S., Kashiwayanagi, M., 2015. The scent of wolves: pyrazine analogs induce avoidance and vigilance behaviors in prey. Front. Neurosci. 9. https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00363

Padodara, R.J., Ninan, J., 2014. Olfactory Sense in Different Animals. Indian J Vet Sci 2, 1–14.

Paoli, M., Galizia, G.C., 2021. Olfactory coding in honeybees. Cell Tissue Res. 383, 35–58. https://doi.org/10.1007/s00441-020-03385-5

Parker, E.D., Forbes, V.E., Nielsen, S.L., Ritter, C., Barata, C., Baird, D.J., Admiraal, W., Levin, L., Loeschke, V., Lyytikäinen-Saarenmaa, P., Høgh-Jensen, H., Calow, P., Ripley, B.J., 1999. Stress in Ecological Systems. Oikos 86, 179–184. https://doi.org/10.2307/3546584

Pérez, M., Sánchez, M., Stupak, M., García, M., Rojo de Almeida, M.T., Oberti, J.C., Palermo, J.A., Blustein, G., 2014. Antifouling Activity of Celastroids Isolated from Maytenus Species, Natural and Sustainable Alternatives for Marine Coatings. Ind. Eng. Chem. Res. 53, 7655–7659. https://doi.org/10.1021/ie4033507

Persson, E., Henriksson, J., Tallkvist, J., Rouleau, C., Tjälve, H., 2003. Transport and subcellular distribution of intranasally administered zinc in the olfactory system of

rats and pikes. Toxicology 191, 97–108. https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00208-7

Pinder, A.C., Gozlan, R.E., 2003. Sunbleak and topmouth gudgeon: two new additions to Britain's freshwater fishes. Br. Wildl. 15, 77–83.

Porras-Rivera, G., Górski, K., Colin, N., 2024. Behavioral biomarkers in fishes: A non-lethal approach to assess the effects of chemical pollution on freshwater ecosystems. Environ. Res. 260, 119607. https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.119607

Porteus, C.S., Hubbard, P.C., Uren Webster, T.M., Van Aerle, R., Canário, A.V.M., Santos, E.M., Wilson, R.W., 2018. Near-future CO2 levels impair the olfactory system of a marine fish. Nat. Clim. Change 8, 737–743. https://doi.org/10.1038/s41558-018-0224-8

Price, S.A., Friedman, S.T., Corn, K.A., Larouche, O., Brockelsby, K., Lee, A.J., Nagaraj, M., Bertrand, N.G., Danao, M., Coyne, M.C., Estrada, J.R., Friedman, R., Hoeft, E., Iwan, M., Gross, D., Kao, J.H., Landry, B., Linares, M.J., McGlinn, C., Nguyen, J.A., Proffitt, A.G., Rodriguez, S., Rupp, M.R., Shen, E.Y., Susman, V., Tovar, A.J., Vary, L.L.J., Zapfe, K.L., Wainwright, P.C., 2022. FishShapes v1: Functionally relevant measurements of teleost shape and size on three dimensions. Ecology 103, e3829. https://doi.org/10.1002/ecy.3829

Razmara, P., Lari, E., Mohaddes, E., Zhang, Y., G. Goss, G., G. Pyle, G., 2019. The effect of copper nanoparticles on olfaction in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Environ. Sci. Nano 6, 2094–2104. https://doi.org/10.1039/C9EN00360F

Rees, A.B., Turner, A., Comber, S., 2014. Metal contamination of sediment by paint peeling from abandoned boats, with particular reference to lead. Sci. Total Environ. 494–495, 313–319. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.064

Rhind, S.M., 2009. Anthropogenic pollutants: a threat to ecosystem sustainability? Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 364, 3391–3401. https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0122

Saglio, P., Olsén, K.H., Bretaud, S., 2001. Behavioral and Olfactory Responses to Prochloraz, Bentazone, and Nicosulfuron-Contaminated Flows in Goldfish. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 41, 192–200. https://doi.org/10.1007/s002440010237

Sánchez-Lozano, I., Hernández-Guerrero, C.J., Muñoz-Ochoa, M., Hellio, C., 2019. Biomimetic Approaches for the Development of New Antifouling Solutions: Study of Incorporation of Macroalgae and Sponge Extracts for the Development of New

Environmentally-Friendly Coatings. Int. J. Mol. Sci. 20, 4863. https://doi.org/10.3390/ijms20194863

Sandoz, J.-C., 2011. Behavioral and Neurophysiological Study of Olfactory Perception and Learning in Honeybees. Front. Syst. Neurosci. 5. https://doi.org/10.3389/fnsys.2011.00098

Schmidtko, S., Stramma, L., Visbeck, M., 2017. Decline in global oceanic oxygen content during the past five decades. Nature 542, 335–339. https://doi.org/10.1038/nature21399

Schröder, L., Hellweger, F., Putschew, A., 2022. Copper leaching from recreational vessel antifouling paints in freshwater: A Berlin case study. J. Environ. Manage. 301, 113895. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113895

Schuijt, L.M., Peng, F.-J., van den Berg, S.J.P., Dingemans, M.M.L., Van den Brink, P.J., 2021. (Eco)toxicological tests for assessing impacts of chemical stress to aquatic ecosystems: Facts, challenges, and future. Sci. Total Environ. 795, 148776. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148776

Scott, G.R., Sloman, K.A., 2004. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. Aquat. Toxicol. 68, 369–392. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.016

Sheikh, M.A., Higuchi, T., Fujimura, H., Imo, T.S., Miyagi, T., Oomori, T., 2009. Contamination and impacts of new antifouling biocide Irgarol-1051 on subtropical coral reef waters. Int. J. Environ. Sci. Technol. 6, 353–358. https://doi.org/10.1007/BF03326073

Shi, W., Sun, S., Han, Y., Tang, Y., Zhou, W., Du, X., Liu, G., 2021. Microplastics impair olfactory-mediated behaviors of goldfish Carassius auratus. J. Hazard. Mater. 409, 125016. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.125016

Smith, R.J.F., 1992. Alarm signals in fishes. Rev. Fish Biol. Fish. 2, 33–63. https://doi.org/10.1007/BF00042916

Solomon, A., 2021. Chemical precipitation and reduction methods for the restoration of water from aquaculture operation. Coast J. Sch. Sci.

Stacey, N., Chojnacki, A., Narayanan, A., Cole, T., Murphy, C., 2003. Hormonally derived sex pheromones in fish: exogenous cues and signals from gonad to brain. Can. J. Physiol. Pharmacol. 81, 329–341. https://doi.org/10.1139/y03-024

Stacey, N., Sorensen, P., 2002. Hormonal Pheromones in Fish, in: Hormones, Brain and Behavior (Second Edition). https://doi.org/10.1016/B978-008088783-8.00018-8

Stefanov, T., Trichkova, T., 2011. Sunbleak Belica Leucaspius delineatus (Heckel, 1843), in: Red Data Book of Bulgaria, Animals. BAS & MOEW, p. 309.

Sunderman, F.W., 2001. Nasal Toxicity, Carcinogenicity, and Olfactory Uptake of Metals. Ann. Clin. Lab. Sci. 31, 3–24.

Takeuchi, I., Haruta, S., Katayama, T., Kawahara, K., 2025. Concentration of Two Herbicides, Irgarol 1051 and Diuron, in Coastal Waters of Coral Reefs and Adjacent Waters in the Northwestern Part of Okinawa Island, Japan. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 114, 28. https://doi.org/10.1007/s00128-024-03996-6

Tallkvist, J., Henriksson, J., d'Argy, R., Tjälve, H., 1998. Transport and Subcellular Distribution of Nickel in the Olfactory System of Pikes and Rats. Toxicol. Sci. 43, 196–203. https://doi.org/10.1093/toxsci/43.2.196

The Convention on the Protection of the Marine Environment of the Baltic Sea Area (Helsinki Convention), 1980. https://helcom.fi/about-us/convention/

Tierney, K.B., Baldwin, D.H., Hara, T.J., Ross, P.S., Scholz, N.L., Kennedy, C.J., 2010. Olfactory toxicity in fishes. Aquat. Toxicol. 96, 2–26. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.09.019

Tierney, K.B., Taylor, A.L., Ross, P.S., Kennedy, C.J., 2006. The alarm reaction of coho salmon parr is impaired by the carbamate fungicide IPBC. Aquat. Toxicol. 79, 149–157. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.06.003

Tigert, L.R., Hubbard, P.C., Porteus, C.S., 2025. Effects of hypoxia on the olfactory sensitivity of gilt-head seabream (Sparus aurata). J. Exp. Biol. 228, jeb249771. https://doi.org/10.1242/jeb.249771

Tilton, F., Tilton, S.C., Bammler, T.K., Beyer, R., Farin, F., Stapleton, P.L., Gallagher, E.P., 2008. Transcriptional Biomarkers and Mechanisms of Copper-Induced Olfactory Injury in Zebrafish. Environ. Sci. Technol. 42, 9404–9411. https://doi.org/10.1021/es801636v

Turley, P.A., Fenn, R.J., Ritter, J.C., 2000. Pyrithiones as antifoulants: Environmental chemistry and preliminary risk assessment. Biofouling 15, 175–182. https://doi.org/10.1080/08927010009386308

Turner, A., 2010. Marine pollution from antifouling paint particles. Mar. Pollut. Bull. 60, 159–171. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.004

Turner, A., Glegg, G., 2014. TBT-based antifouling paints remain on sale. Mar. Pollut. Bull. 88, 398–400. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.08.041

van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environ. Toxicol. Pharmacol. 13, 57–149. https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6

Veeseadus–Riigi Teataja, Pub. L. No. RT I, 15.04.2025, 7, 2019. https://www.riigiteataja.ee/akt/122022019001?leiaKehtiv

Velez, Z., Hubbard, P.C., Alves, A., Costa, R.A., Guerreiro, P.M., 2024. Environmental salinity modulates olfactory sensitivity in the euryhaline European seabass, *Dicentrarchus labrax* , acclimated to seawater and brackish water. J. Exp. Biol. 227, jeb246448. https://doi.org/10.1242/jeb.246448

Velez, Z., Roggatz, C.C., Benoit, D.M., Hardege, J.D., Hubbard, P.C., 2019. Short- and Medium-Term Exposure to Ocean Acidification Reduces Olfactory Sensitivity in Gilthead Seabream. Front. Physiol. 10. https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00731

Voulvoulis, N., Scrimshaw, M.D., Lester, J.N., 1999. Alternative antifouling biocides. Appl. Organomet. Chem. 13, 135–143. https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0739(199903)13:3<135::AID-AOC831>3.0.CO;2-G

Vrieze, L.A., Sorensen, P.W., 2011. Laboratory assessment of the role of a larval pheromone and natural stream odor in spawning stream localization by migratory sea lamprey (Petromyzon marinus). Can. J. Fish. Aquat. Sci. https://doi.org/10.1139/f01-179

Wakisaka, N., Miyasaka, N., Koide, T., Masuda, M., Hiraki-Kajiyama, T., Yoshihara, Y., 2017. An Adenosine Receptor for Olfaction in Fish. Curr. Biol. 27, 1437-1447.e4. https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.04.014

Wang, D., Gao, P., Zheng, M., Duan, Z., Wang, Dehui, Ding, D., Xia, F., 2025. Mechanically durable plant-based composite surface towards enhanced antifouling properties. J. Colloid Interface Sci. 679, 457–466. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2024.10.106

Wang, J., Li, L., Wu, Y., Liu, Y., 2025. Design and Application of Antifouling Bio-Coatings. Polymers 17, 793. https://doi.org/10.3390/polym17060793

Ward, A.J.W., Duff, A.J., Horsfall, J.S., Currie, S., 2008. Scents and scents-ability: pollution disrupts chemical social recognition and shoaling in fish. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 275, 101–105. https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1283

Watermann, B.T., Daehne, B., Sievers, S., Dannenberg, R., Overbeke, J.C., Klijnstra, J.W., Heemken, O., 2005. Bioassays and selected chemical analysis of biocide-free

antifouling coatings. Chemosphere 60, 1530–1541. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.066

Wells, M.J., 1963. Taste By Touch: Some Experiments With Octopus. J. Exp. Biol. 40, 187–193. https://doi.org/10.1242/jeb.40.1.187

Whitlock, K.E., Palominos, M.F., 2022. The Olfactory Tract: Basis for Future Evolution in Response to Rapidly Changing Ecological Niches. Front. Neuroanat. 16. https://doi.org/10.3389/fnana.2022.831602

Williams, C.R., Gallagher, E.P., 2013. Effects of cadmium on olfactory mediated behaviors and molecular biomarkers in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquat. Toxicol. 140–141, 295–302. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.06.010

Wood, M., Chamaillé-Jammes, S., Hammerbacher, A., Shrader, A.M., 2022. African elephants can detect water from natural and artificial sources via olfactory cues. Anim. Cogn. 25, 53–61. https://doi.org/10.1007/s10071-021-01531-2

Ytreberg, E., Karlsson, J., Eklund, B., 2010. Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater. Sci. Total Environ. 408, 2459–2466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.02.036

Yu, Y.-Y., Kong, W., Yin, Y.-X., Dong, F., Huang, Z.-Y., Yin, G.-M., Dong, S., Salinas, I., Zhang, Y.-A., Xu, Z., 2018. Mucosal immunoglobulins protect the olfactory organ of teleost fish against parasitic infection. PLOS Pathog. 14, e1007251. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007251

Zhang, C., Hara, T.J., 2009. Lake char (Salvelinus namaycush) olfactory neurons are highly sensitive and specific to bile acids. J. Comp. Physiol. A 195, 203–215. https://doi.org/10.1007/s00359-008-0399-y

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Liisa Juurmann,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Olfaktoorsed signaalid ja kalade haistetundlikkus veekeskkonna kvaliteedi hindamisel“, mille juhendaja on Randel Kreitsberg,

   reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada Tartu Ülikooli digitaalarhiivi kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni;

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi kaudu Creative Commonsi litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni;

3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Liisa Juurmann

25.05.2025