



Metsise (*Tetrao urogallus*) stressitase seoses sõjaliste harjutustega

Vallo Tilgar¹, Ivar Ojaste², Pauli Saag¹

¹ Zooloogia osakond, ÖMI, Tartu Ülikool, Vanemuise 46, 51014, Tartu

² Eesti Ornitoloogiaühing, Veski 4, 51005, Tartu

Kokkuvõte

Hiljutised uuringud nii Euroopas kui ka Põhja-Ameerikas on näidanud inimhäiringute (nt loodusturism, mootorsõidukid, kariloomad) negatiivset mõju kanaliste (*Galliformes*) stressitasemele. Käesolevas uuringus hindasime sõjaliste harjutuste mõju metsise (*Tetrao urogallus*) stressitasemele. Metsise stressitaseme hindamiseks kasutatakse kortikosterooni metaboliitide kontsentratsiooni mõõtmist ekskrementidest. Ekskremente koguti ajavahemikus 01.04–10.05.2013 kolmelt mängupaigalt üle Eesti, mis jäävad Kaitseväe või Kaitseliidu harjutusväljaku või lasketiiru lähiste (nn häiringualad) ning kolmelt kontrollalalt, kus ei ole arvestatavat inimtegevust. Uuringust selgus, et häiringualadel on kortikosterooni metaboliitide tase mõõdukalt kõrgem kui kontrollaladel. Samuti ilmnesis olulised erinevused piirkondade vahel. Jõgevamaa mängualadel oli metsise stressitase oluliselt madalam kui Harjumaal ja Võrumaal, mis võib olla tingitud erinevast toidubaasist või looduslikest häiringuteguritest. Vaadeldava perioodi vältel kortikosterooni metaboliitide tase ekskrementides tõusis. Sõjaliste harjutuste mõju detailsemal analüüsil selgus, et laskeharjutustele järgneval päeval on isendite stressitase peaaegu oluliselt kõrgem kui harjutustevahelisel ajal, kuid samas rasketehnika liikumine ei avaldanud metsise stressitasemele mingit negatiivset mõju. Kokkuvõttes võib järeldada, et sõjaliste harjutustega kaasnev mürafooni tõus mõjutab metsise stressitaset, ent mõjude detailsemaks hindamiseks tuleks uuringut korrata suuremate valimitega.

Sissejuhatus

Inimhäiringu mõju metsise (*Tetrao urogallus*) stressitasemele on seni käsitletud üksikutes uuringutes. Kesk- ja

Lääne-Euroopas läbi viidud uuringutega on leitud, et talveturism (suusatamine, matkamine, mootorsaaniga sõitmine) mõjutab metsise elupaigakasutust (Summers, McFarlane & Pearce-Higgins 2007; Thiel *et al.* 2008) ning suurendab metsise füsioloogilist stressitaset (Thiel

* E-post: vallo.tilgar@ut.ee

et al. 2008). Metsis on häirimise suhtes eriti tundlik talvel, kuna ta toitub sel ajal põhiliselt vähese toiteväärtusega okaspuu okastest, mille seedimine on raskendatud ja pikaajaline. Igasugune häirimine seedimise ajal vähendab oluliselt toitainete omastamise efektiivsust (Bonnet *et al.* 1997; Puvadolpirod & Thaxton 2000). Häirimine suurendab metsise energiakulu ka otseselt, sest on vaja korduvalt põgeneda võimaliku vaenlase (inimese) eest.

Füsioloogiline stress tekib, kui sisemise või välise teguri toimel aktiveerub hüpotaalamuse-ajuripatsineerupealiste telg, mille tulemusena hakatakse neerupealistes sünteesima stressihormoone (lindudel on põhiliseks kortikosteroon; Palme *et al.* 2005). Stressihormoonide toimel toimuvad käitumuslikud ja füsioloogilised ja muutused, mille eesmärgiks on isendi valmisoleku suurendamine ellujäämiseks (põgenemiseks, võitlemiseks ning varjumiseks), kuid samaaegselt on pärsitud seedimine ning sigimine. Stressihormoon mõõdetakse tavaliselt vereplasmast. Paljudel varjulise eluviisiga ja haruldastel loomadelt on vereproovide võtmine raskendatud ja sellistel juhtudel on ainsaks võimaluseks stressihormoonide mõõtmine ekskrementidest. Ekskrementides sisalduvad kortikosterooni metaboliidid peegeldavad stressi baastaset (Thiel, Jenni-Eiermann & Palme 2005), mitte akuutset stressivastust, mistõttu on see meetod suhteliselt sobiv kroonilise stressiseisundi tuvastamiseks populatsioonis. Ka metsise stressitaseme hindamiseks kasutatakse kortikosterooni metaboliitide kontsentratsiooni mõõtmist ekskrementidest. Näiteks hiljuti

Kesk-Euroopas läbi viidud uuring näitas, et loodusturismi radadest kuni 500 m kaugusel on metsise stressi baastase tõusnud (Thiel *et al.* 2011).

Käesolevas töös taheti teada, kas (1) metsise stressitase on häiringualadel kõrgem kui kontrollaladel; (2) kas peale häirivat sündmust (laskeharjutused, rasketehnika liikumine) metsise stressitase tõuseb ning (3) kas proovide kogumise kuupäev ja geograafiline piirkond mõjutavad stressitaset.

Metoodika

Ekskrementide säilitati sügavkülmutatuna -20°C juures, alates proovide kogumisest (aprill-mai) kuni laboratoorsete analüüsideni (juuli-august). Proovid sulatati üles ja kuivatati ahjus (+60°C) 3-4 tundi sõltuvalt konsistentsist. Proovid homogeniseeriti manuaalselt, samalt alalt sama korjamiskuupäevaga kogutud ekskrementid (3-5 ekskrementi) pandi kokku üheks prooviks ning segati põhjalikult läbi. Igast kuivatatud ja homogeniseeritud proovist mõõdeti välja standardse massiga kogus (0,2 g), mis asetati topsi ja kallati peale 1,5 ml 80% metanooli. Proove loksutati 30 min, seejärel tsentrifuugiti 5000 pöört minutis 30 min vältel. Sademe pealt eemaldati 0,4 ml lahust, mis pandi uude topsi ning kuivatati +70°C juures (4-5 h). Kuivproovid pandi ööseks sügavkülma ja järgmisel päeval lahustati 2 ml puhvrts (puhver koostati *Corticosterone EIA kit* protokoll järgi).

Kortikosterooni metaboliitide kontsentratsioon määrati proovidest ensüümimmunoanalüüsi meetodiga (*Enzyme*

Immunoassay Kit, Enzo Life Sciences, kataloogi nr 900-097). Mõõtmisi tehti kolorimeetriliselt spektrofotomeetriga. Aparaat mõõdab lahuste optilist tihedust (*optical density, OD*), mille väärtused arvutatakse ümber kortikosterooni kontsentratsiooniks. Kortikosterooni metaboliitide mõõtühikuks on ng/g kuivaine kohta.

Uurimisalasid külastati korduvalt (3-10 korda). Iga külastuskorra ajal koguti ühelt mängupaigalt 4-5 ekskrementi, mis pandi kokku üheks prooviks. Analüüsitud proovide arvud on piirkonniti järgmised: Harjumaal Jüssi 1 häiringuala (59,4N; 25,8E) – 10 proovi, Pikassaare häiringuala (59,4N; 25,9E) – 5 proovi, Völlaskatku kontrollala (59,4N; 25,4E) – 10 proovi; Jõgevamaal Põdrasoo X3 häiringuala (58,5N; 26,2E) – 4 proovi, Põdrasoo X1 kontrollala (58,5N; 26,2E) – 1 proov, Sortsi kontrollala (58,6N; 26,5E) – 3 proovi; Võrumaal Keretü (Nursi) häiringuala (57,8N; 26,8E) – 10 proovi, ja Tsooru kontrollala (57,7N; 26,6E) – 10 proovi. Lisaks määrati hormooni sisaldus veel kümnes juhuslikus ekskrementis, et võrrelda stressitaset samal kuupäeval ja uurimisalal kogutud juhuproovi ja 4-5 ekskrementist koosneva proovi vahel. Kokku määrati kortikosterooni metaboliitide tase 63 proovis ja kahes korduses.

Andmed transformeeriti enne analüüsi normaaljaotusele vastavaks logaritmimeise (ln) teel. Kontroll- ja häiringualasid võrreldi piirkondade kaupa (Võrumaa, Jõgevamaa, Harjumaal), kasutades selleks paariviisilist T-testi sõltuvatele valimitele või kordumõõtmistega ANOVA mudelit. T-testi kasutati, kui iga elupaiga

kohta arvutati eelnevalt erinevatel kuupäevadel korjatud proovide keskmine, seega elupaiga kohta on üks andmepunkt. Kordumõõtmistega ANOVA mudeliga võrreldi kontroll- ja häiringualasid piirkonnasiseselt kuupäevade kaupa (Harjumaal ja Võrumaal kümme, Jõgevamaal neli võrdlupaari häiringu- ja kontrollala vahel; kokku 24 võrdlupaari). Selles mudelis oli paarisiseseks (nn *repeated*) faktoriks „häiring“ (2 kategooriat: kontroll ja häiring), lisafaktoriks „piirkond“ (3 kategooriat) ja kovariaadiks proovi kogumise kuupäev. Piirkonna, kuupäeva ja muude häiringute mõjude testimiseks kasutati mitmefaktorilist ANOVA mudelit, milles on juhuslikuks faktoriks „piirkond“, fikseeritud faktoriteks „häiring“ (kontroll, häiring) ja „muud häiringud“ (ei, jah (metsesa tegevus, raietööd)) ning kovariaadiks kuupäev. Lisaks võrreldi T-testi abil häiringualade siseselt kortikosterooni metaboliitide taset ekskrementides vahetult pärast häiringut (laskmine, rasketehnika liikumine) ja ilma häiringuta kuupäevadel. Joonised on esitatud transformeerimata andmetega. Andmeanalüüs teostati programmiga Statistica 8.0 (StatSoft Inc 2007).

Tulemused

Iga ala kohta arvutatud kortikosterooni keskvaartuste võrdlemisel kontroll- ja häiringualad statistiliselt oluliselt üksteisest ei erinenud (paariviisiline T-test: $t=1,88$; $p=0,20$; $n=3$ paari (Sortsi-Põdrasoo X3; Völlaskatku-Jüssi 1 ja Pikassaare-Tsooru-Keretü; veidi kõrgemad väärtused häiringualadel; joonis 1). Samas tuleb rõhutada, et ainult kolmel võrreldaval paaril baseeruv statistiline test on liiga

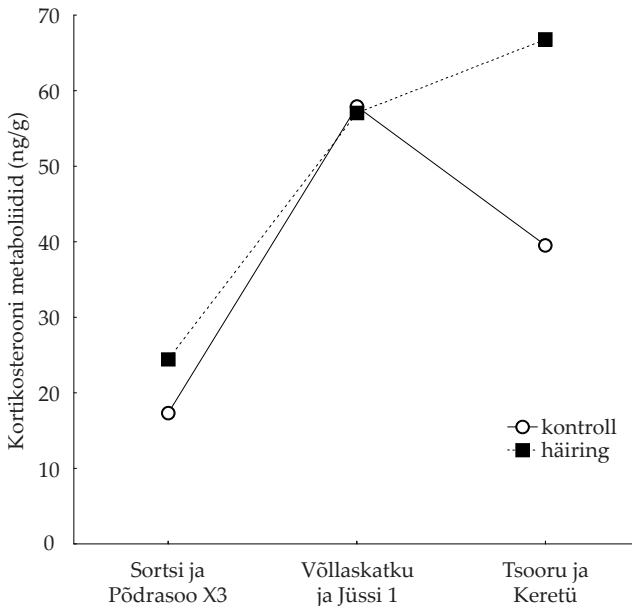
konservatiivne ja selliseks võrdluseks sobiv valim peaks koosneva vähemalt kuuest võrreldavast paarist.

Järgnevalt võrreldi kontroll- ja häiringualadelt kogutud proove, võttes arvesse kuupäeva mõju. Tulemused näitavad, et kortikosterooni metaboliitide tase oli häiringualadel oluliselt kõrgem kui kontrollaladel (korduvmõõtmistega ANOVA; häiring: $F_{1,20}=4,44$; $p=0,046$; joonis 2). Häiringu mõju ei sõltunud piirkonnast (häiring*piirkond: $F_{2,20}=1,16$; $p=0,3$) ega proovide kogumise kuupäevast (häiring*kuupäev: $F_{1,20}=0,08$, $p=0,8$).

Piirkondi eraldi analüüsidest leiti oluline erinevus kortikosterooni metaboliitide kontsentratsioonis Võrumaal Tsooru

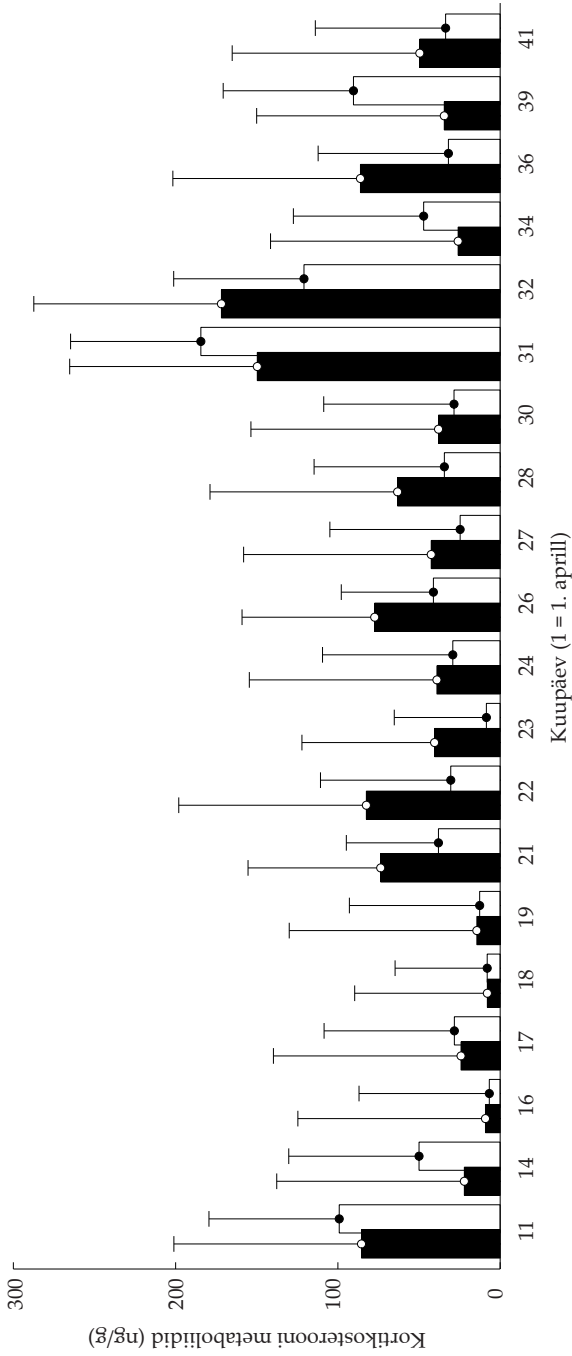
kontrollala ja Keretü häiringuala vahel (paariviisiline T-test: $t=2,55$; $p=0,031$; $n=10$ paari; joonis 3a). Jõgevamaal Põdrasoo X3 häiringuala ja Sortsi ning Põdrasoo X1 kontrollalade vahel olulist erinevust ei ilmnenud ($t=0,5$; $p=0,6$; $n=4$ paari; joonis 3b). Harjumaal Völlaskatku kontrollala ning Jüssi 1 ja Pikassaare häiringualade vahel olulist erinevust ei avaldunud ($t=0,4$; $p=0,7$; $n=10$ paari, joonis 3c).

Lisaks testiti ANOVA mudeliga kuupäeva, piirkonna (mudelis juhusliku faktorina) ja muude häiringute (metssea tegevus, raietööd) mõju kortikosterooni metaboliitide sisaldusele metsise ekskrementides. Hooaja vältel kortikosterooni metaboliitide tase ekskrementides tõusis ($F_{1,43}=6,21$; $p=0,030$;



Joonis 1. Kortikosterooni metaboliitide kontsentratsioon metsise ekskrementides kontroll- ja häiringualadel (3 võrdluspaari).

Figure 1. The level of corticosterone metabolites in the excrements of capercaillie in disturbed and non-disturbed (control) areas (3 treatment pairs based on region).



Joonis 2. Kortikosteroni metaboliitide kontsentratsioon metsise ekskrementides kontroll- (valged tulbad) ja häiringualadel (mustad tulbad) kuupäevade kaupa (24 võrdluspaari). Vurrud näitavad keskväärte 0,95 usalduspiire.

Figure 2. The level of corticosterone metabolites in the excrement of capercaillie in disturbed (black bars) and non-disturbed (white bars) areas in relation to date (24 treatment pairs based on date and region). Whiskers denote 0.95 confidence intervals.

$r_p=0,35$). Ka piirkondade vahel esinesid märkimisväärsed erinevused ($F_{2,43}=8,04$; $p=0,007$). Kõige madalam stressihormooni tase oli Jõgevamaal (Tukey HSD *post-hoc* test Harjumaa suhtes: $p=0,01$; Võrumaa suhtes: $p=0,037$). Harjumaa ja Võrumaa vahel kortikosterooni metaboliitide kontsentratsioon ei erinenud (*post-hoc* test: $p=0,8$). Muud häiringud metsise stressitaset ei mõjutanud ($F_{1,43}=0,49$; $p=0,5$).

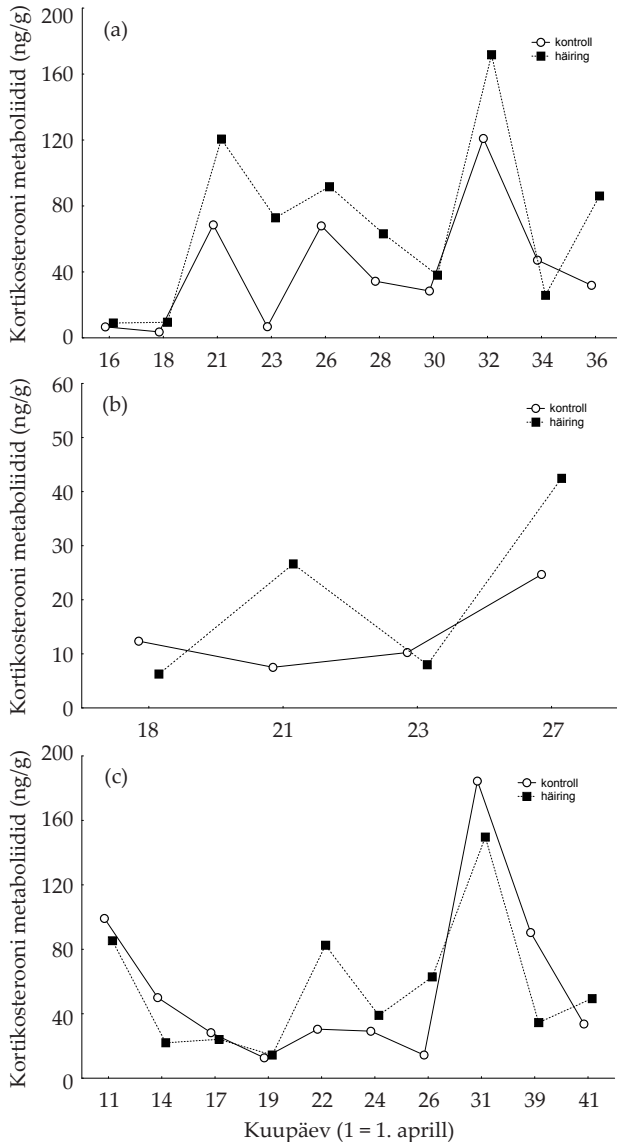
Häiringu lühiajalise mõju uurimiseks võrreldi elupaiga siseselt häiringujärgsetel päevadel kogutud proovide keskväärtust teistel (häirimata) kuupäevadel kogutud proovide keskväärtusega. Harjumaal Jüssi 1 häiringualal kaldus kortikosterooni metaboliitide tase olema kõrgem vahetult pärast laskeharjutusi (keskmine=59,78 ng/g) kui teistel kuupäevadel (keskmine=30,64 ng/g), kuigi erinevus ei olnud statistiliselt oluline ($t=2,04$; $p=0,076$; $n=5$ proovi mõlemas grupis). Jõgevamaal Põdrasoo X3 häiringualal oli kortikosterooni metaboliitide tase laskeharjutustele järgneval päeval veidi kõrgem (keskmine=26,65 ng/g; $n=1$) kui teistel kuupäevadel (keskmine=18,91 ng/g; $n=3$). Pikassaare häiringualal rasketehnika liikumine kortikosterooni metaboliitide taset negatiivselt ei mõjutanud (keskmised vastavalt 68,51 ng/g ja 132,26 ng/g; $t=0,5$; $p=0,6$; $n=3$ proovi mõlemas grupis).

Arutelu

Käesolev uuring näitas, et häiringualadel on metsise füsioloogiline stressitase kõrgem kui kontrollaladel. Statistilise testi järgi on erinevus piiripealne, ent

stressihormooni keskväärtused on häiringualadel ca 22% kõrgemad kui kontrollaladel (keskväärtused vastavalt 55,7 ja 43,5 ng/g). Kõige selgem erinevus ilmnes Võrumaal Nursi piirkonnas (joonis 3a), kus proove korjati kümnel erineval kuupäeval ning üheksal korral kümnest oli häiringualalt kogutud ekskrementides kortikosterooni metaboliitide tase kõrgem kui kontrollalal.

Antud töö põhjal saab teha esialgseid järeldusi ka häiringu tüübi mõjude kohta. Proovide kogumise ajal toimusid laskeharjutused Jüssi 1 polügoonil (4 korda) ja Kaitseliidu Utsali lasketiirus (Põdrasoo X3 alal; 1 kord). Tulemused näitasid, et vahetult pärast laskmisharjutusi metsise stressitase tõusis (keskväärtuse tõus), ent statistiliseks andmeanalüüsiks on andmeid liiga vähe. Seega on häiringu mõju dünaamiline: vahetult pärast häiringut tekib lindudel akuutne stress, mille käigus toodetakse stressihormooni väga aktiivselt mõne tunni kuni päeva jooksul ning seejärel hakkab stressitase järk-järgult vähenema. Häiringute perioodilisel esinemisel lühiajaliste stresside mõju akumuleerub ning kokkuvõttes tõuseb häiringualadel elutsevatel lindudel ka stressi baastase. Kuna laskmisega kaasneb väga vali heli, mis on kuulda kilomeetrite kaugusele, siis on leitud tulemus üsna ootuspärane. Huvitav on see, et rasketehnika liikumine Pikassaare häiringualal metsiste stressitaset lühiajaliselt ei mõjutanud. Rasketehnika liikumisega kaasneb heli eristub üldisest foonist ilmselt märksa vähem ning ei levi nii kaugele kui laskeharjutustega kaasnev müra. Samas on andmeid liiga vähe, et teha üldistusi.



Joonis 3. Kortikosterooni metaboliitide kontsentratsioon kuupäevade ja piirkondade kaupa (a) Tsooru kontrollalal ja Keretü häiringualal, (b) Sortsi (18, 21, 23 aprill) ja Põdrasoo X1 (27 aprill) kontrollaladel ning Põdrasoo X3 häiringuala vahel, (c) Völlaskatku kontrollalal ning Jüssi 1 ja Pikassaare (11, 19, 24, 26, 31 aprill, nendel kuupäevadel arutati mõlema häiringuala keskväärts) häiringualade vahel.

Figure 3. The level of corticosterone metabolites in relation to date and region: (A) Tsooru (control area) versus Keretü (disturbed area), (B) Sortsi (18, 21, 23 April) and Põdrasoo X1 (27 April) representing the control area versus Põdrasoo X3 (disturbed area), (C) Völlaskatku (control area) versus Jüssi 1 and Pikassaare representing the disturbed area (11, 19, 24, 26, 31 April, in these dates the average values were calculated over disturbed areas).

Antud uuringu põhjal saab esile tõsta veel kahte tulemust: piirkondade vahel esinevad olulised erinevused ning vaatlusperioodi vältel stressitase suureneb. Eelnevad uuringud kanalistel on näidanud, et stressitase võib sõltuda välistemperatuurist ja toidubaasist (Thiel *et al.* 2011), kuid kortikosterooni tase tõuseb ka sigimishooaja alguses (Jankowski *et al.* 2014). Näiteks pupupüü (*Centrocercus urophasianus*) isalindude kortikosterooni metaboliitide tase oli kõrgeim pulmamängude perioodil (Jankowski *et al.* 2014), mis võiks osaliselt seletada ajalisi erinevusi ka meie uuringus. Piirkondlikest erinevustest võiks esile tõsta Jõgevamaad, kus metsiste stressitase oli oluliselt madalam kui Harju- ja Võrumaal. Asurkondade erinevused on ilmselt tingitud kohalikest looduslikest teguritest, mitte kaitseväge tegevusest, sest ka kontrollalade vahel avaldusid samasugused erinevused. Ei saa välistada, et Tsooru kontrollalal võivad metsise stressitaset mõjutada ka metsaraie ja metssea tegevus, ent käesoleval hetkel on selle hüpoteesi testimiseks andmeid liiga vähe. Selgusetuks jääb Võllaskatku kontrollala metsisepopulatsiooni suhteliselt kõrge stressihormoonide tase. Analüüsil torkas silma, et Võllaskatku metsiste ekskremendid olid teiste piirkondadega võrreldes palju suuremad ja ka teistsuguse konsistentsiga. Kuna isalindude ekskremendid on oluliselt suuremad kui emalindudel, siis üheks võimalikuks seletuseks võiks olla, et

Võllaskatku mängualalt kogutud proovid sisaldasid suhteliselt vähem emalindude ekskremeente. Käesolevas uuringus lindude sugusid ei eristatud, ent eelnevad uuringud on näidanud, et kortikosterooni metaboliitide sisaldus on isalinnu ekskrementides kõrgem kui emalindudel (Thiel *et al.* 2011). Suhteliselt suur varieeruvus piirkondade vahel võib olla tingitud ka erinevustest toidu koostises ja looduslikest vaenlastest.

Käesolevas uurimuses avaldus ka kuupäeva mõju metsise stressitasemele – hooaja vältel stressihormoonide tase tõusis. Joonistelt selgub, et stressihormoonide sisaldus hakkab proovides suurenema aprilli lõpus kuni mai alguses. Selle täpsed põhjused ei ole teada, kuid võivad olla seotud sigimisperioodiga või muutustega toidubaasis.

Kokkuvõttes võib öelda, et sõjaväeline tegevus, eriti laskeharjutused, tõenäoliselt mõjutavad metsiste stressitaset, ent väikeste valimite tõttu ei saa hetkel teha vettpidavaid järeldusi. Häiringute mõju detailsemaks välja-selgitamiseks tuleks rohkem proove koguda sõjalistele harjutustele järgneval päeval.

Tänuavaldused

Täname anonüümset retsensenti asjakohaste märkuste eest. Antud uurimuse valmimist rahastas Kaitseministeerium.

Summary

The stress level of capercaillie (*Tetrao urogallus*) in relation to military training exercises

Recent studies in Europe and North America have revealed a negative impact of human disturbance (e.g. nature tourism, motor vehicles, cattle grazing) on stress levels of galliforms. In this study we evaluated the effect of military training activities on the level of stress hormone in the excrements of the western capercaillie (*Tetrao urogallus*). Excrements were collected during April 1 - May 10 in 2013 from three courting grounds over Estonia, which are located in the close vicinity of military training fields or shooting ranges of Estonian Defense Forces or Estonian Defense League (disturbed areas) and from three nondisturbed reference areas. We found that the level of corticosterone metabolites was moderately elevated in disturbed areas when compared with control areas. Significant regional differences were also revealed. The stress level of capercaillie was significantly lower in courting grounds of Jõgeva county when compared with Harju and Võru counties, the reasons are possibly related to differences in food availability or variation in naturally occurring disturbances. The level of corticosterone metabolites increased significantly throughout the study period. More detailed analysis of the impact of military field training exercises revealed that the stress level of capercaillie was marginally elevated the next day after the shooting exercises, while traffic of heavy machinery had no such negative impact. In conclusion, the increase of noise level in connection to military exercises influences the stress level of capercaillie, although there is a need for repetition studies with larger sample sizes to evaluate the magnitude of these effects with greater precision.

Kasutatud kirjandus

- Bonnet, S., Geraert, P., Lessire, M., Carre, B. & Guillaumin, S. (1997) Effect of high ambient temperature on feed digestibility in broilers. *Poultry Science*, **76**, 857-863.
- Jankowski, M., Russell, R., Franson, J., Dusek, R., Hines, M., Gregg, M. & Hofmeister, E. (2014) Corticosterone metabolite concentrations in Greater Sage-Grouse are positively associated with the presence of cattle grazing. *Rangeland Ecology and Management*, **67**, 237-246.
- Palme, R., Rettenbacher, S., Touma, C., El-Bahr, S. & Möstl, E. (2005) Stress hormones in mammals and birds: comparative aspects regarding metabolism, excretion, and noninvasive measurement in fecal samples. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1040**, 162-171.
- Puvadolpirod, S. & Thaxton, J. (2000) Model of physiological stress in chickens 4. Digestion and metabolism. *Poultry Science*, **79**, 383-390.
- StatSoft Inc (2007) Statistica. Tulsa, OK.
- Summers, R.W., McFarlane, J. & Pearce-Higgins, J.W. (2007) Measuring avoidance by capercaillies *Tetrao urogallus* of wood-land close to tracks. *Wildlife Biology*, **13**, 19-27.
- Thiel, D., Jenni-Eiermann, S., Braunisch, V., Palme, R. & Jenni, L. (2008) Ski tourism affects habitat use and evokes a physiological stress response in capercaillie *Tetrao urogallus*: a new methodological approach. *Journal of Applied Ecology*, **45**, 845-853.
- Thiel, D., Jenni-Eiermann, S. & Palme, R. (2005) Measuring Corticosterone Metabolites in Droppings of Capercaillies (*Tetrao urogallus*). *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1046**, 96-108.
- Thiel, D., Jenni-Eiermann, S., Palme, R. & Jenni, L. (2011) Winter tourism increases stress hormone levels in the Capercaillie *Tetrao urogallus*. *Ibis*, **153**, 122-133.