

INSTYTUT RYBACTWA ŚRÓDLĄDOWEGO
im. STANISŁAWA SAKOWICZA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

Autoreferat

pracy doktorskiej pod tytułem:

Ocena praktyk hodowlanych młodocianych jesiotrów przeznaczonych do zarybienia

mgr inż. Arkadiusz Duda

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem:

dr. hab. inż. Piotra Dębowskiego

w Zakładzie Ichtiologii, Hydrobiologii i Ekologii Wód

1. Wstęp

Odbudowa całkowicie zanikłych i wspieranie zagrożonych wyginięciem populacji naturalnych ryb opiera się o wypuszczanie do środowiska naturalnego osobników wychowanych w niewoli. W przypadku jesiotra ostronosego *Acipenser oxyrinchus* i sterleta *Acipenser ruthenus* podchów taki odbywa się najczęściej w recyrkulacyjnych systemach akwakultury (RAS), które zostały zaprojektowane tak aby z maksymalną efektywnością wykorzystywać zasoby wody, energii i nakładu pracy. Odbywa się to jednak kosztem maksymalnego ujednoczenia habitatu i ograniczenia bodźców stymulujących rozwój ryb, co może prowadzić do różnorodnych dysfunkcji behawioralnych, a w dalszej konsekwencji zmniejszenia zdolności adaptacyjnych.

Ryby z RAS wypuszczone na wolność muszą nauczyć się żyć w niejednorodnym, ciągle zmieniającym się środowisku. Zmienne warunki pogodowe, struktury przestrzenne, zróżnicowane podłoże, ograniczona przejrzystość wody, drapieżniki i uciekający pokarm, to podstawowe elementy naturalnego środowiska, których brakuje w basenach RAS. Współczesne badania i programy ochrony gatunków i populacji zwierząt kładą duży nacisk na wypuszczanie do środowiska naturalnego jak najlepiej dostosowanych osobników. Aby osiągnąć ten cel stosuje się tak zwane „miękkie” wypuszczanie, polegające na wspieraniu zwierząt przez pewien czas po wypuszczeniu, dopóki nie zaadoptują się do życia na wolności. Takie działanie jest jednak trudne, a w przypadku ryb - praktycznie niemożliwe, dlatego część procesu adaptacyjnego przenosi się do obiektów hodowlanych, gdzie rozwija się umiejętności poznawcze, antydrapieżnicze i orientację przestrzenną.

Podnoszenie zdolności funkcjonalnych i adaptacyjnych materiału zarybieniowego wymaga podjęcia nieszablonowych praktyk hodowlanych. Przystosowanie ryb do zróżnicowanego przestrzennie środowiska coraz częściej odbywa się przez wprowadzanie wzbogaceń strukturalnych do basenów podchowowych. Umieszczenie w basenie różnorodnych konstrukcji przestrzennych ma pozytywny wpływ na ogólny dobrostan podchowowanych ryb i istotnie wspomaga ich orientację przestrzenną i zdolności poznawcze. Jedną z metod rozwoju umiejętności antydrapieżniczych u ryb jest warunkowanie zapachu drapieżnika jako sygnału zagrożenia, przez połączenie go z chemiczną substancją alarmową, uwalnianą ze zranionej skóry ryby. Substancja ta u wielu gatunków ryb wywołuje silną reakcję antydrapieżniczą. Dwoistość jej funkcji z jednej strony polega na stworzeniu bariery antyseptycznej w miejscu zranienia, a z drugiej uwolnieniu feromonów alarmowych dla ryb przebywających w pobliżu. Mechanizm ten jest najlepiej poznany w przypadku ryb otwartopęcherzowych, dla których zidentyfikowano główny składnik substancji alarmowej:

3(N)-tlenek hipoksantyny. Badania dowodzą jednak, że systemy chemicznej identyfikacji zagrożeń występują także w innych kładach ryb. Próby warunkowania zapachu drapieżnika jako sygnału alarmowego przynoszą zróżnicowane rezultaty, jednak u wielu gatunków efekt takiego działania jest wyraźny i stosunkowo trwały.

2. Cel i struktura doświadczenia

Celem doświadczenia było sprawdzenie wpływu wybranych praktyk hodowlanych na plastyczność behawioralną i odpowiedź antydrapieżniczą larw jesiotra ostronosego i sterleta. Postawiono następujące hipotezy badawcze:

1. Wzbogacenie środowiska podchowu w struktury przestrzenne, wpływa na tempo wzrostu, plastyczność behawioralną i reakcję antydrapieżniczą larw jesiotra ostronosego i sterleta.
2. Cykliczna stymulacja konspecyficzną substancją alarmową w czasie podchowu, wpływa na tempo wzrostu, plastyczność behawioralną i reakcję antydrapieżniczą larw jesiotra ostronosego i sterleta.
3. Cykliczna stymulacja konspecyficzną substancją alarmową połączoną z zapachem drapieżnika w czasie podchowu, wpływa na tempo wzrostu, plastyczność behawioralną i reakcję antydrapieżniczą larw jesiotra ostronosego i sterleta.
4. Konspecyficzna substancja alarmowa wywołuje reakcję antydrapieżniczą larw jesiotra ostronosego i sterleta.
5. Substancja alarmowa obcego gatunku wywoła reakcję antydrapieżniczą larw jesiotra ostronosego i sterleta.
6. Zapach warunkowanego drapieżnika wywoła reakcję antydrapieżniczą larw jesiotra ostronosego i sterleta.
7. Zapach niewarunkowanego drapieżnika wywoła reakcję antydrapieżniczą larw jesiotra ostronosego i sterleta.
8. Zapach ryby niedrapieżnej wywoła reakcję antydrapieżniczą larw jesiotra ostronosego i sterleta.
9. Reakcje obu gatunków nie różnią się od siebie.

3. Materiały i metody

3.1. Ryby

Rozród i inkubację ikry sterleta przeprowadzono w Zakładzie Ichtiologii, Hydrobiologii i Ekologii Wód (ZIHIEW) w marcu 2019 roku. Ikrę pozyskaną od 3 samic zapłodniono mleczem pochodzącym od 4 samców. Uzyskane potomstwo stanowiło drugie pokolenie ryb rozmnażanych w niewoli, pochodzące od przodków z dzikiej populacji dniestrzańskiej, z Ukrainy. Rozród i inkubację jesiotra ostronosego przeprowadzono w Regionalnym Badawczym Instytucie Rolnictwa i Rybołówstwa (Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei) w Rostocku (Niemcy) w lipcu 2019 roku. Ikrę pozyskaną od jednej samicy zapłodniono mleczem 2 samców. Pokolenie rodzicielskie stanowiły ryby odłowione w Rzece Świętego Jana w Kanadzie i sprowadzone jako dorosłe do Niemiec. Larwy jesiotra ostronosego sprowadzono do ZIHIEW 13 dni po zapłodnieniu.

3.2. Stymulanty zapachowe

Przygotowano 1 neutralny (a) i 5 aktywnych (b, c, d, e, f) stymulantów zapachowych. Stymulant neutralny (a) stanowiła woda pobierana z basenu, w którym były podchowywane larwy. Do przygotowania stymulantów z konspecyficzną substancją alarmową (b) oraz substancją alarmową obcego gatunku (f) wykorzystano odpowiednio 10 larw sterleta i 10 larw jesiotra ostronosego (po 5 larw 19 dnia po zapłodnieniu i po 5 larw 38 dnia po zapłodnieniu), pochodzących z grup kontrolnych doświadczenia oraz 5 czebaczek amurskich (*Pseudorasbora parva*). Do przygotowania stymulantów z „zapachem warunkowanego drapieznika” (c), wykorzystano dwa sumy europejskie *Silurus glanis*. karmione uśmierconymi rybami różnych gatunków. Stymulanty b i c wykorzystano do ekspozycji larw jesiotrów w czasie podchowu w wariantach III i IV w ilości 50 ml nierozcieńczonego stymulantu na każdą ekspozycję. Do przygotowania stymulantów z zapachem „niewarunkowanego drapieznika” (d) wykorzystano 4 okonie euroazjatyckie *Perca fluviatilis*, które poddano takiej samej procedurze jak sumy europejskie. Do przygotowania stymulantów z zapachem „ryby niedrapieżnej” (e) wykorzystano 20 czebaczek amurskich. Stymulant neutralny stanowiła woda pobierana z basenów podchowowych przed odłowem larw.

3.3. Podchów

3.3.1. Baseny

Larwy obydwu gatunków podchowowano w identycznych zielonych basenach z laminatu włókna szklanego o wymiarach 0,7 m × 0,7 m × 0,7 m i poziomie zalewu 0,3 m,

pracujących w recyrkulacyjnych systemach akwakultury o objętości roboczej około 0,8 m³. Temperatura wody w trakcie rozwoju larw sterleta była utrzymywana na stałym poziomie 16 C ± 0,2 °C, a dla larw jesiotra ostronosego na stałym poziomie 18 °C ± 0,2 °C. Natlenienie wody nie spadało poniżej 80%. Stosowano sztuczne oświetlenie przez 12 godzin na dobę. Od 18 dnia po zapłodnieniu larwy były karmione naupliusami solowca, a od 29 dnia po zapłodnieniu zaczęto wprowadzać paszę formułowaną Skretting Perla Larva stopniowo redukując udział solowca w pożywieniu. Od 34 dnia po zapłodnieniu larwy były karmione wyłącznie paszą zgodnie z tabelami żywienia dla jesiotrów.

3.3.2. Wzbogacenia strukturalne i ekspozycje

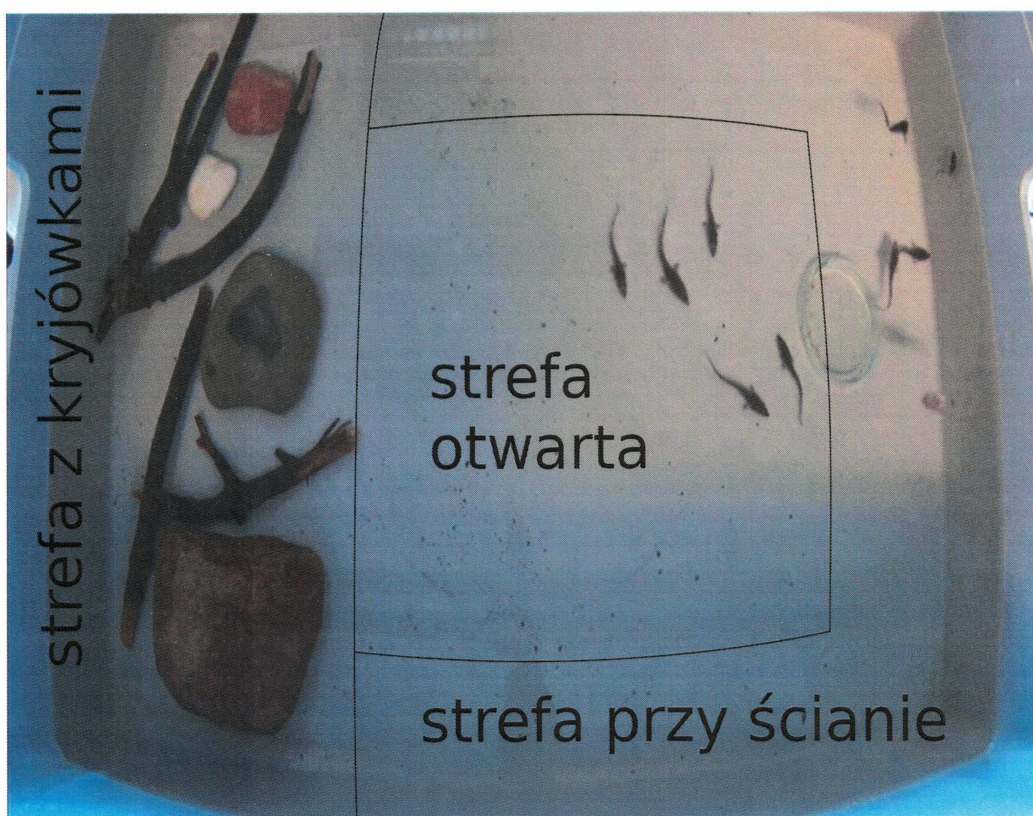
Tarliska jesiotrów ostronosych występują w miejsca pokrytych grubym żwirem i kamieniami, dlatego zastosowano wzbogacenia o podobnej wielkości. Larwy każdego gatunku podzielono na 5 grup po 500 osobników w 14. dniu po zapłodnieniu. Następnie przeniesiono je do basenów treningowych, identycznych jak te, w których prowadzono wstępny podchów, gdzie przeprowadzono następujące podchowy doświadczalne:

- Grupa I, kontrolna, podchowiana w warunkach standardowych, bez wzbogaceń strukturalnych ani stymulacji.
- Grupa II, podchowiana ze wzbogaceniem strukturalnym w postaci kształtek hydraulicznych, z szarego tworzywa PVC, o wymiarach od 5 do 20 cm.
- Grupa III, w której przeprowadzono trzykrotną ekspozycję na substancję alarmową z uszkodzonej skóry, odpowiednio sterleta i jesiotra ostronosego.
- Grupa IV, w której przeprowadzono trzykrotną ekspozycję na substancję alarmową z uszkodzonej skóry, odpowiednio sterleta i jesiotra ostronosego połączoną z zapachem suma.

3.4. Eksperyment

3.4.1. Basen doświadczalny

Basen doświadczalny (Rysunek 1) zbudowano na bazie nieprzezroczystego zbiornika w kolorze szarym o wymiarach 60 cm × 40 cm × 20 cm. W zbiorniku wirtualnie wyznaczono trzy strefy o równej powierzchni 800 cm² każda: strefę z kryjówkami o wymiarach 20 cm × 40 cm ulokowaną przy krótszej krawędzi zbiornika, strefę otwartą (strefę ryzyka) o wymiarach 32 cm × 25 cm ulokowaną na środku zbiornika i strefę przy ścianie ulokowaną dookoła strefy otwartej w pasie 7,5 cm od ściany zbiornika (strefa ucieczki). W strefie z kryjówkami umieszczono patyki i kamienie. W zbiorniku umieszczono również szalkę z kilkunastoma rozmrożonymi larwami Chironomidae. Nad zbiornikiem umieszczono



Rysunek 1. Basen doświadczalny z ujęcia kamery badawczej z nałożonym schematem stref, w których notowano obecność larw wyznaczonym z uwzględnieniem dystorsji soczewki kamery

kamerę rejestrującą obraz z góry w rozdzielczości 1980 × 1080 pikseli sterowaną zdalnie.

3.4.2. Procedury

Próby behawioralne (n = 72 per species) przeprowadzono od 39 do 43 dnia po zapłodnieniu. Analizowano zachowanie 30 osobników dla każdej kombinacji warunków podchowu i rodzaju stymulantu (n = 720 per species). W celu symulacji tła socjalnego

występującego w czasie zarybienia, larwy wpuszczano do basenu doświadczalnego w grupach po 10 osobników i pozwalano na aklimację przez 10 minut. Po tym czasie włączano nagrywanie trwające 3 minuty, w czasie których powinna wystąpić reakcja behawioralna na stymulację. Rejestrowano zachowanie przed stymulacją, następnie równomiernie rozprowadzano 50 ml stymulantu na powierzchni całego basenu doświadczalnego i nagrywano zachowanie larw przez kolejne 3 minuty. Dla każdej grupy badawczej przeprowadzono 3 próby po 10 larw. Reakcje ryb badano indywidualnie dla każdego osobnika. Po tym czasie ryby odławiano i umieszczano w osobnym RAS. Raz użyte larwy nie brały udziału w kolejnych doświadczeniach.

3.4.3. Reakcje

Na podstawie bezpośredniej obserwacji i danych literaturowych wyodrębniono trzy rodzaje reakcji na podawaną substancję: "zryw", "pętla" i "bezruch". "Zryw" występował, kiedy ryba wykonała nagły ruch znacznie zwiększając swoją prędkość poruszania. Pętla występowała, kiedy ryba zataczała okrąg w płaszczyźnie pionowej lub skośnej, kierując się w początkowej fazie w górę. "Bezruch" następował, gdy ryba zaprzestawała jakichkolwiek ruchów motorycznych. Ponadto zliczano próby podejmowania rozmrożonych larw Chironomidae ("żerowanie"). Notowano również czas przebywania w poszczególnych strefach basenu doświadczalnego. Wymienione aktywności zliczano i mierzono przed i po stymulacji, a reakcję określano jako różnicę między nimi.

3.5. Analizy statystyczne

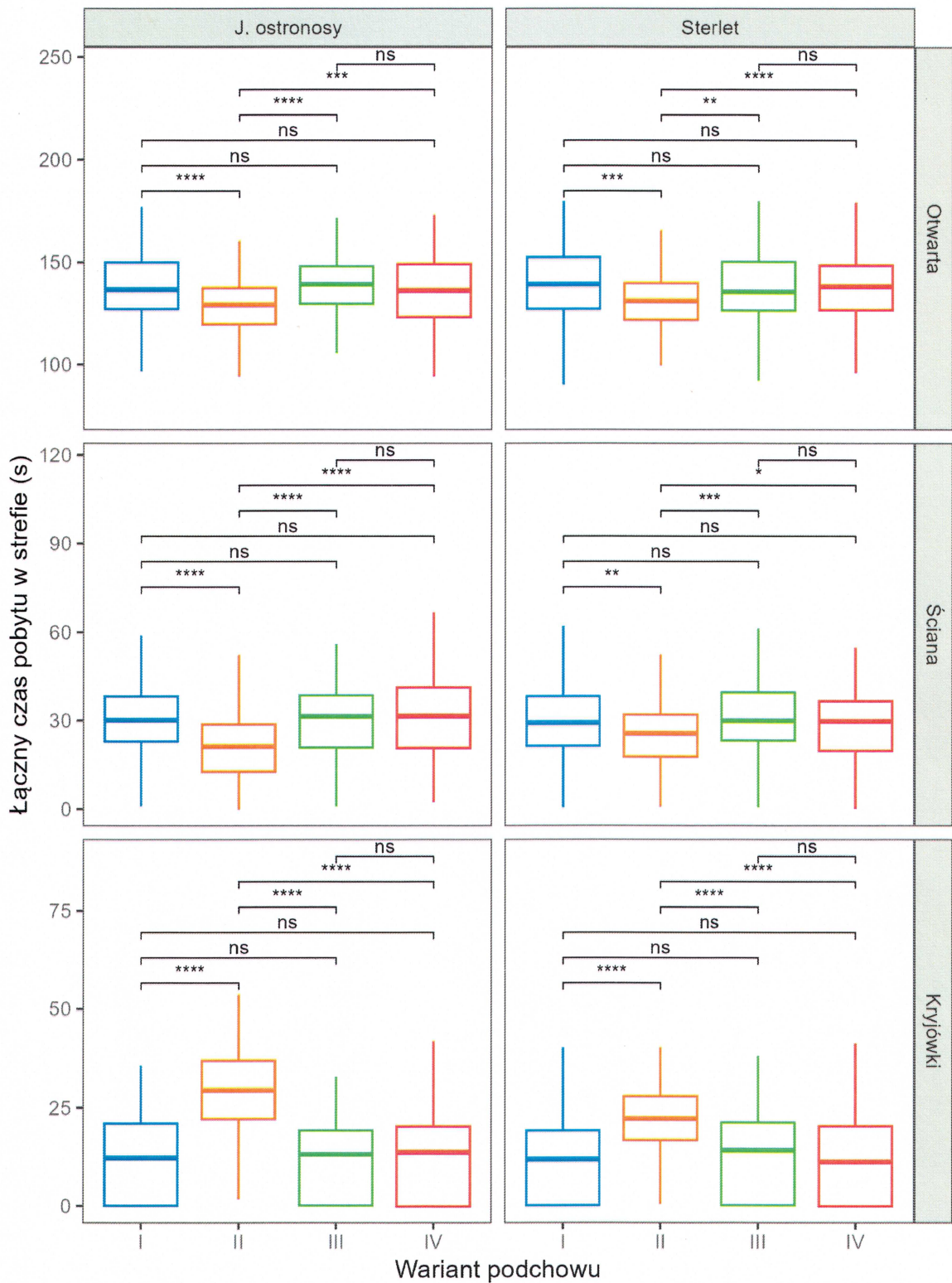
Wszystkie analizy statystyczne i wykresy wykonano w programie R 4.04. Wszystkie analizy przeprowadzono na poziomie istotności statystycznej $p < 0,05$. Za pomocą testu Shapiro – Wilka i analizy histogramów zbadano rozkłady danych wzrostowych ($n = 4$) i behawioralnych ($n = 48$) we wszystkich grupach badawczych. Analizę jednorodności wariancji przeprowadzono za pomocą testu Levene'a, a analizę sferyczności wariancji za pomocą testu Mauchley'a. Za pomocą analizy wariancji sprawdzono różnice długości całkowitej i masy larw w grupach podchowowych, a następnie przeprowadzono dla obu cech test post hoc, porównań wielokrotnych Tukeya w celu sprawdzenia różnic między poszczególnymi grupami. Analizy parametrów behawioralnych zostały poprzedzone oceną normalności rozkładu i jednorodności wariancji. Ponieważ zmienne nie spełniały powyższych założeń, zostały podjęte próby transformacji danych behawioralnych, tak aby w pełni spełniały założenia testów parametrycznych, które - ze względu na duże zróżnicowanie grup

- nie przyniosły oczekiwanego efektu. Z tego powodu, za pomocą testu Kruskala-Wallisa, porównano aktywności początkowe pomiędzy grupami niezależnie dla obu gatunków, a następnie post hoc użyto testu u Manna-Whitneya z poprawką Bonferroniego do porównania wszystkich par grup w istotnych zakresach. Mając na uwadze odporność na naruszenie założeń normalności rozkładu danych, niezależnie dla każdej aktywności, przeprowadzono wieloczynnikową analizę wariancji z powtórzonymi pomiarami, a następnie dokonano serii testów porównań wielokrotnych post hoc, stosując test u Manna-Whitneya z poprawką Benjaminiego-Hochberga. Wyniki uzupełniono o analizę porządkowej regresji logistycznej. W tym celu wielkość poszczególnych aktywności i reakcji podzielono na przedziały i przypisano im rangi w skali 0 - 6. Aktywności liczbowe podzielono proporcjonalnie względem najwyższej występującej wartości, a aktywności czasowe podzielono względem całego czasu rejestracji. Następnie zbudowano mieszane modele poszczególnych zachowań dla obu gatunków metodą łącza skumulowanego (cumulative link mixed model - CLMM), a współczynniki lokacji β określające wpływ poszczególnych warunków podchowu i stymulantów sprowadzono do skali liniowej za pomocą funkcji eksponencjalnej ($\exp\beta$). Następnie wykonano testy post hoc metodą najmniejszych kwadratów.

4. Wyniki

Przeżywalność larw jesiotra ostronosego w czasie trwania doświadczenia (od 14. do 38. dnia po zapłodnieniu) wynosiła 75% w grupie podchowywanej w warunkach standardowych (I), 60,2% w grupie podchowywanej w basenach wzbogaconych o struktury przestrzenne (II), 66,4% w grupie eksponowanej na konspecyficzną substancję alarmową (III) i 70% w grupie eksponowanej na substancję alarmową połączoną z zapachem summa europejskiego (IV). Dla larw sterleta przeżywalność wyniosła w grupie I - 77,2%, II - 69,8%, III - 77,2% i IV - 74,6%. Wystąpiły znaczące różnice długości i masy larw obu gatunków między grupami. Analiza wariancji wykazała, że długość larw w grupach podchowowych różni się istotnie między sobą, a istotnymi czynnikami był gatunek (ANOVA: $\eta^2 = 0,199$, $p < 0,001$), jak i warunki podchowu (ANOVA: $\eta^2 = 0,139$, $p < 0,001$). Test post hoc u obu gatunków wykazał istotne różnice między grupą podchowowaną w warunkach standardowych, a wszystkimi pozostałymi grupami. Natomiast grupy podchowywane w obecności struktur przestrzennych (II) i mające kontakt z substancją alarmową (III) oraz substancją alarmową skojarzoną z zapachem summa europejskiego (IV) nie różniły się istotnie w obrębie gatunku. Masa ciała różniła się między grupami (analiza wariancji), na co ponownie istotnie wpłynął gatunek

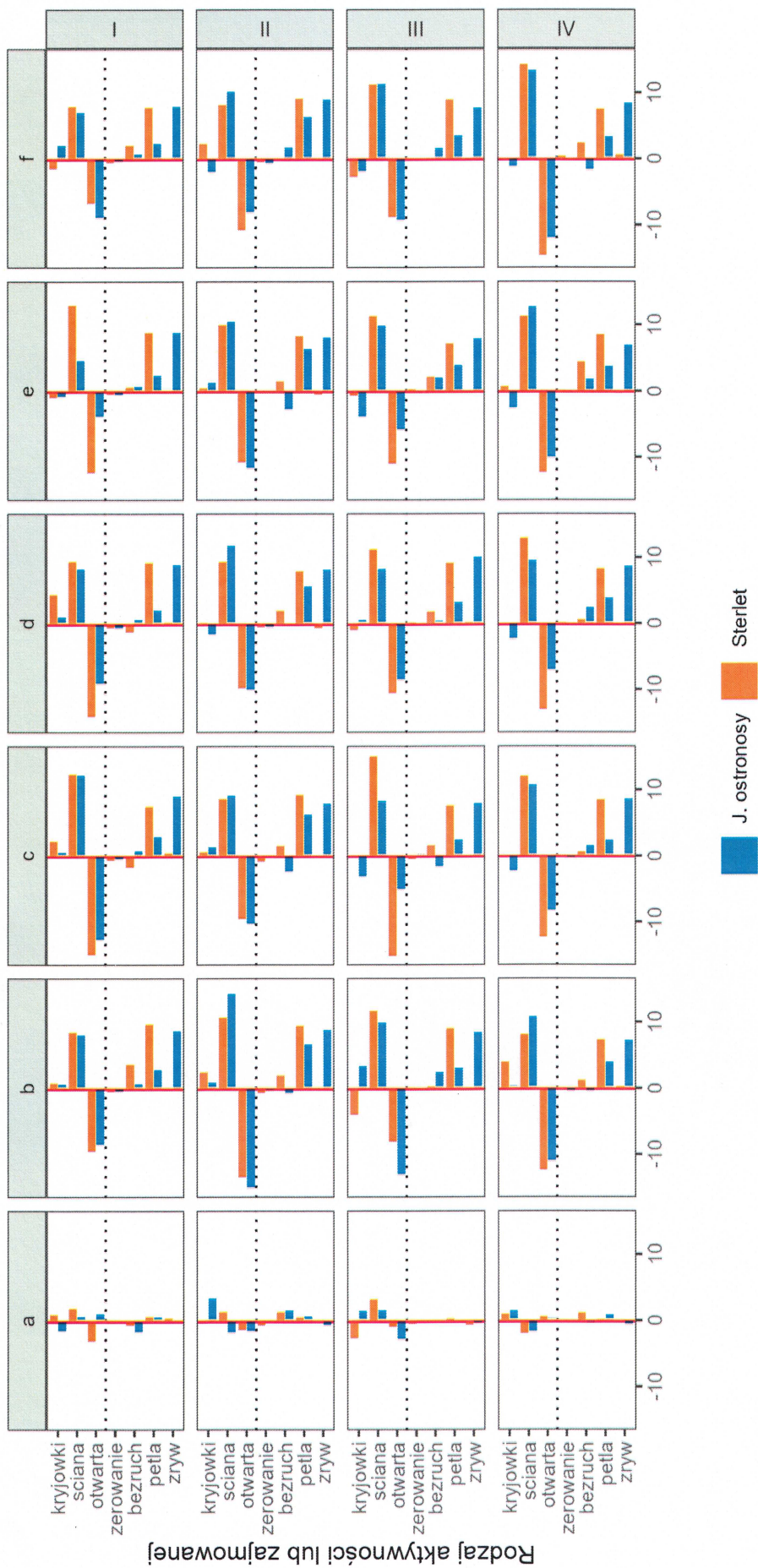
(ANOVA: $\eta^2 = 0,073$, $p < 0,001$) i warunki podchowu larw (ANOVA: $\eta^2 = 0,176$, $p < 0,001$). Podobnie jak w przypadku długości, masa ciała w grupie kontrolnej różniła się istotnie od każdej z innych grup, pozostałe grupy natomiast nie różniły się między sobą w obrębie jednego gatunku. Porównanie aktywności przed podaniem stymulantu wykazało istotne różnice intensywności niektórych zachowań między gatunkami i grupami podchowowymi. Zarówno u jesiotra ostronosego, jak i u sterleta, istotnie różniło się wykorzystanie stref basenu doświadczalnego przez grupę podchowowaną ze wzbogaceniem strukturalnym. Ryby obydwu gatunków podchowywane ze wzbogaceniem strukturalnym więcej czasu spędzały w strefie z kryjówkami. U jesiotra ostronosego ryby z grupy II przebywały w strefie z kryjówkami średnio 29,3 s – istotnie dłużej niż ryby z grupy I, które przebywały w tej strefie 12,1 s ($p < 0,0001$), ryby z grupy III - 11,6 s ($p < 0,0001$) i ryby z grupy IV - 12,4 s ($p < 0,0001$). Sterlety z grupy II przebywały w strefie z kryjówkami średnio 22,2 s, istotnie dłużej niż ryby z grupy I: 11,4 s ($p < 0,0001$), ryby z grupy III: 12,4 s ($p < 0,0001$) i ryby z grupy IV: 12,2 s ($p < 0,0001$). Rezultatem tego były odwrotne proporcje pobytu w obu pozostałych strefach. Larwy jesiotra ostronosego podchowywane w obecności struktur przestrzennych przebywały w strefie otwartej średnio 129,6 s i było to istotnie krócej niż larw podchowywanych w warunkach standardowych ($p < 0,0001$, $M = 137,2$ s), larw stymulowanych substancją alarmową ($p < 0,0001$, $M = 138,8$ s), i larw stymulowanych substancją alarmową połączoną z zapachem sumy europejskiego ($p = 0,0002$, $M = 136,7$). Podobne wzorce występowały u sterleta. Larwy z grupy II przebywały w strefie „otwartej” średnio 131,7 s, istotnie krócej niż larwy z grupy I ($p = 0,0002$, $M = 138,6$ s), larwy z grupy III ($p = 0,009$, $M = 136,8$ s) i larwy z grupy IV ($p = 0,0002$, $M = 138,6$ s). W strefie „przy ścianie” również wystąpiły znaczące różnice czasu pobytu między grupami II, a pozostałymi. Jesiotry ostronosege z grupy II przebywały w strefie przy ścianie średnio 21,1 s, podczas gdy te z grupy I: 30,7 s ($p < 0,0001$ bezruch), z grupy III: 29,6 s ($p < 0,0001$), i z grupy IV: 30,8 s ($p < 0,0001$). Larwy sterleta z grupy II przebywały w strefie przy ścianie średnio 26,1 s, z grupy I: 29,9 s ($p = 0,005$), z grupy III: 30,8 s ($p = 0,003$), i z grupy IV: 29,2 s ($p = 0,039$). W zachowaniu obu gatunków przed stymulacją nie wykryto różnic między grupami podchowowymi w liczbie „zrywów”, „pętli”, „bezzruchów”.



Rysunek 2. Porównanie czasu pobytu w strefie otwartej, przy ścianie i w strefie z kryjówkami przed stymulacją dla larw obu gatunków (test Kruskala - Wallisa, $p < 0,05$, $n = 180$). I (kolor niebieski) - grupa podchowowana w warunkach standardowych, II (kolor pomarańczowy) - grupa podchowowana w basenach wzbogaconych o struktury przestrzenne, III (kolor zielony) - grupa stymulowana substancją alarmową własnego gatunku, IV (kolor czerwony) grupa stymulowana substancją alarmową własnego gatunku i wodą z zapachem suma. Porównania między grupami wykonane za pomocą testu U Manna-Whitneya, $p < 0,05$. Nad poprzeczką wartość p dla każdego porównania. Oznaczenia istotności statystycznej różnic: ns - nieistotne, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, **** - $p < 0,0001$

Analizy wariancji wykazały istotne reakcje larw jesiotrów na stymulanty zapachowe (Rysunek 3). Czynniki istotnie wpływającymi na wystąpienie różnic w liczbie "zrywów" były: gatunek ($p < 0,001$) i rodzaj stymulantu ($p < 0,001$). Model mieszany łączy skumulowanego zachowania "zryw" potwierdza obydwie te czynniki i wskazuje, że sterlet wykonuje mniej "zrywów" niż jesiotr ostronosy ($p < 0,0001$). Współczynnik $\exp\beta$ dla sterleta w porównaniu z jesiotrem ostronosym wynosi 0,063, co oznacza, że stosunek szans sterleta na wykonanie liczby "zrywów" kwalifikujących się do wyższej rangi do szans jesiotra ostronosego wynosi 0,063. Warunki podchowu nie miały znaczącego wpływu na reakcję oprócz wariantu IV dla jesiotra ostronosego, gdzie model ujawnia obniżenie liczby wykonywanych "zrywów" po stymulacji na poziomie $\exp\beta = 0,635$ i $p = 0,0348$. Po zastosowaniu wszystkich stymulantów, oprócz neutralnego, nastąpiło zwiększenie liczby "zrywów" wykonywanych przez larwy jesiotra ostronosego. Analizy post hoc wskazują, że liczba "zrywów" larw jesiotra ostronosego po zastosowaniu każdego ze stymulantów aktywnych różniła się w porównaniu ze stanem przed stymulacją (we wszystkich porównaniach $p < 0,0001$), nie było natomiast różnic pomiędzy stymulantami aktywnymi. Wartość współczynnika $\exp\beta$ dla poszczególnych stymulantów w odniesieniu do wody z basenu wahała się w granicach od 24,848 do 32,686. Test post hoc wykazał, że zastosowanie stymulantu z zapachem suma europejskiego u sterleta wywołuje istotną reakcję w wariancie tradycyjnego podchowu (I), a model CLMM wykazał istotne znaczenie współczynników dla stymulantu b ($\exp\beta = 2,043$, $p = 0,0151$), c ($\exp\beta = 1,837$, $p = 0,0417$) i f ($\exp\beta = 2,155$, $p = 0,0093$), chociaż liczba "zrywów" sterleta po stymulacji wszystkimi stymulantami nie różniła się.

Analiza wariancji i model CLMM wykazały, że różnica w liczbie wykonywanych "pętli" była zależna od gatunku ($p < 0,001$), warunków podchowu ($p < 0,001$) i rodzaju stymulantu ($p < 0,001$). Ogólna liczba wykonywanych "pętli" była większa u sterleta ($\exp\beta = 1,899$, $p < 0,001$). Model CLMM wykazuje pozytywny wpływ podchowu ze wzbogaceniem przestrzennym (II) na liczbę "pętli" wykonywanych przez jesiotra ostronosego przed stymulacją ($\exp\beta = 2,420$, $p = 0,0014$) i po stymulacji ($\exp\beta = 6,042$, $p < 0,001$), oraz podchowu, w którym stosowano ekspozycję na substancję alarmową połączoną z zapachem suma europejskiego (IV) - wyłącznie po stymulacji ($\exp\beta = 1,713$, $p = 0,0272$). U obu gatunków, po aplikacji wszystkich czynnych stymulantów, we wszystkich wariantach podchowowych, nastąpiło zwiększenie liczby wykonywanych "pętli". Reakcja ta była większa u sterleta ($\exp\beta \in < 21,724; 31,071 >$, $p < 0,001$) (9) niż u jesiotra ostronosego ($\exp\beta \in < 4,541; 6,784 >$, $p < 0,001$)



Rysunek 3: Kompleks uśrednionych reakcji na stymulant zapachowy larw jesiotra ostronosego (kolor niebieski) i sterleta (kolor pomarańczowy). W rzędach przedstawiono warianty podchowy: I - grupa podchowiana w warunkach standardowych, II - grupa podchowiana w basenach wzbogaconych o struktury przestrzenne, III - grupa stymulowana substancją alarmową własnego gatunku, IV grupa stymulowana substancją alarmową własnego gatunku i wodą z zapachem sum

(10). Liczba "pętli" wykonanych po aplikacji aktywnych stymulantów nie różniła się w obrębie gatunków.

Analiza wariancji nie wykazała wpływu warunków podchowu ani stosowanych stymulantów na liczbę "bezruchów". Model mieszany połączeń skumulowanych wskazuje na wpływ zapachu czebaczka amurskiego (e) na zwiększenie liczby "bezruchów" po aplikacji stymulantu na poziomie $\exp\beta = 1,682$ i $p = 0,0317$. Zanotowano istotną zmianę liczby "bezruchów" larw jesiotra ostronosego podchowujących w basenie ze wzbogaceniem przestrzennym (II) po stymulacji zapachem suma europejskiego(c). W przypadku larw sterleta reakcję taką ujawniono w przypadku stymulacji substancją alarmową własnego gatunku (b) larw podchowujących w warunkach standardowych (I) oraz stymulacji zapachem czebaczka amurskiego (e) larw eksponowanych w czasie podchowu na substancją alarmową połączoną z zapachem suma europejskiego (IV).

Liczba prób podjęcia pokarmu była tak niska, że uniemożliwiła modelową analizę tego zachowania. Wykonane analizy bezpośrednio wykazały zmniejszenie liczby prób żerowania po stymulacji larw jesiotra ostronosego podchowujących w warunkach kontrolnych (I) za pomocą zapachu suma europejskiego(c) ($p = 0,048$) oraz zapachu okonia euroazjatyckiego (d) ($p = 0,02$), a także po stymulacji larw podchowujących w obecności struktur przestrzennych (II) – zapachem okonia euroazjatyckiego (d) ($p = 0,011$) i substancją alarmową czebaczka amurskiego (f) ($p = 0,0002$). Istotne zmniejszenie liczby prób podjęcia pokarmu przez larwy sterleta nastąpiło w kontrolnym wariacie podchowu (I) po stymulacji zapachem okonia euroazjatyckiego (d) ($p = 0,017$) i substancją alarmową czebaczka amurskiego (f) ($p = 0,016$) oraz w wariacie wzbogaconym przestrzennie (II) po stymulacji substancją alarmową sterleta (b) ($p = 0,0046$) i zapachem suma europejskiego (c) ($p = 0,013$).

Analiza wariancji i model CLMM ujawniły wpływ gatunku i warunków podchowu na czas przebywania w strefie z kryjówkami. Sterlet przebywał w strefie z kryjówkami krócej niż jesiotr ostronosy ($\exp\beta = 0,7473$, $p < 0,001$). Podchów w obecności struktur przestrzennych (II) powodował zwiększenie czasu pobytu w strefie z kryjówkami zarówno u jesiotra ostronosego ($\exp\beta = 110,888$, $p < 0,001$), jak i u sterleta ($\exp\beta = 7,348$, $p < 0,001$). Pozostałe warianty podchowu i wszystkie zastosowane stymulanty nie miały wpływu na czas spędzony w strefie z kryjówkami. W żadnym wariacie nie wystąpiła reakcja w postaci istotnej zmiany czasu pobytu w strefie z kryjówkami po stymulacji.

Warunki podchowu ($p < 0,001$) miały wpływ na czas wykorzystywania strefy otwartej przez larwy obydwu gatunków, a rodzaj zastosowanego stymulantu ($p < 0,001$) na reakcję. Podchów w obecności wzbogacenia strukturalnego spowodował zmniejszenie czasu

pobytu w strefie otwartej u jesiotra ostronosego ($\text{exp}\beta = 0,334$, $p < 0,001$) i u sterleta ($\text{exp}\beta = 0,387$, $p < 0,001$). Model CLMM wykazuje wpływ wszystkich stymulantów aktywnych na wielkość reakcji obu gatunków. U jesiotra ostronosego stymulacja substancją alarmową (b) wywołała efekt na poziomie $\text{exp}\beta = 0,299$, $p < 0,001$; zapachem suma europejskiego (c) - $\text{exp}\beta = 0,440$, $p = 0,003$; substancją alarmową połączoną z zapachem suma europejskiego - $\text{exp}\beta = 0,486$, $p = 0,008$; zapachem czebaczka amurskiego - $\text{exp}\beta = 0,501$, $p = 0,011$ i substancją alarmową czebaczka amurskiego $\text{exp}\beta = 0,401$, $p = p < 0,001$. U sterleta stymulacja substancją alarmową (b) wywołała efekt na poziomie $\text{exp}\beta = 0,0460$, $p = 0,005$; zapachem suma europejskiego (c) - $\text{exp}\beta = 0,292$, $p < 0,001$; substancją alarmową połączoną z zapachem suma europejskiego - $\text{exp}\beta = 0,313$, $p < 0,001$; zapachem czebaczka amurskiego - $\text{exp}\beta = 0,373$, $p < 0,001$; i substancją alarmową czebaczka amurskiego $\text{exp}\beta = 0,386$, $p < 0,001$. Czas spędzony w strefie „otwartej” uległ zmniejszeniu po zastosowaniu czynnego stymulantu w większości wariantów doświadczenia dla larw jesiotra ostronosego i we wszystkich wariantach dla larw sterleta.

Analiza wariancji wykazała wpływ gatunku ($p < 0,001$), wariantu podchowu ($p < 0,001$) i rodzaju zastosowanej stymulacji ($p < 0,001$) na czas przebywania larw w strefie przy ścianie. Podchów z wykorzystaniem struktur przestrzennych spowodował zmniejszenie czasu spędzonego przy ścianie przez larwy jesiotra ostronosego ($\text{exp}\beta = 0,120$, $p < 0,001$) i sterleta ($\text{exp}\beta = 0,411$, $p < 0,001$). Wszystkie stymulanty aktywne powodowały zwiększenie czasu przebywania przy ścianie u jesiotra ostronosego ($\text{exp}\beta \in <5,016; 6,740>$, $p < 0,001$) i sterleta ($\text{exp}\beta \in <3,257; 4,963>$, $p < 0,001$). Nastąpiło znaczące zwiększenie czasu spędzonego przez larwy jesiotra ostronosego „przy ścianie” po stymulacji nieobojętnej (b, c, d, e, f) we wszystkich wariantach za wyjątkiem larw z podchowu kontrolnego (I) stymulowanych zapachem czebaczka amurskiego (e), gdzie nie wykryto różnic. Larwy sterleta we wszystkich wariantach podchowu, po zastosowaniu wszystkich stymulantów aktywnych (b, c, d, e, f), zwiększyły istotnie czas pobytu w strefie „przy ścianie”.

W żadnym przypadku nie odnotowano istotnej statystycznie reakcji na stymulant neutralny (a). Stymulanty nieobojętne (b, c, d, e, f) wywołały silną reakcję w postaci zmiany liczby „zrywów” i „pętli” oraz czasu pobytu w strefie „otwartej” i „przy ścianie” basenu doświadczalnego oraz nieregularne reakcje w obrębie zachowań „bezruch” i „żerowanie”.

5. Wnioski

1. Zastosowanie niekonwencjonalnych praktyk hodowlanych do produkcji materiału zarybieniowego jesiotra ostronosego i sterleta może poprawić dostosowanie tych ryb do środowiska naturalnego.
2. Wzbogacenia strukturalne umieszczone w basenach podchowowych zwiększyły zdolności eksploracyjne badanych jesiotrów.
3. Wzbogacenia strukturalne powinny być stosowane w praktyce hodowlanej, ale muszą być bezpieczne dla ryb i łatwe w obsłudze. Wymagania te spełniają kształtki hydrauliczne z tonących tworzyw sztucznych.
4. Behawioralna reakcja antydrapieżnicza badanych jesiotrów różniła się między gatunkami. Dominującym zachowaniem jesiotra ostronosego było wykonywanie „zrywów”, a sterleta „pętli”.
5. Obydwa badane gatunki jesiotrów na etapie późnolarwalnym wykazały neofobię zapachową.
6. Neofobia może być wykorzystana do zwiększenia efektywności przyszłych zarybień, jednak wcześniejsze prace sugerują, że jest to niewystarczające zabezpieczenie przed drapieżnikami i musi zostać rozszerzone o inne mechanizmy, aby być skuteczne.
7. Antydrapieżnicze warunkowanie zapachowe ani symulowanie zwiększonego zagrożenia w czasie podchowu nie wpłynęło na reakcję antydrapieżniczą badanych ryb.
8. Na tle uzyskanych wyników nie ma podstaw, żeby antydrapieżnicze warunkowanie zapachowe ani symulowanie zwiększonego zagrożenia w czasie podchowu wprowadzać do praktyki hodowlanej.

Alcadiuse Dude