

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 5

Issue 4

Különszám

Gödöllő
2009



ISMÉTELŐDŐ STRESSZ HATÁSAINAK VIZSGÁLATA HALAKON

Váradi László, Búza Eszter, Csenki Zsolt, Müller Tamás, Mézes Miklós

Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet, Halgazdálkodási Tanszék 2103 Gödöllő, Páter Károly u. 1.

Varadi.Laszlo@mkk.szie.hu

Összefoglalás

A stresszválasz egy a természetes szelekció során kialakult mechanizmus, melynek kulcseleme a szervezet anyagcseréjének alapvető megváltozása. Ez a reakció, mint az egyed túlélésének feltétele a természetes környezetben szelektív előnyként jelentkezik. Mesterséges környezetben azonban a stressztényezők (pl. rossz vízminőség, túlnépesítettség, a halak nyugalmának megzavarása, szállítási stresszhatások stb.) hatására kialakuló válaszra még inkább oda kell figyelni és az okokat megkeresni, mivel a stresszválasz káros mellékhatásai akár tömeges pusztulásban is megnyilvánulhatnak. Modellállatként a kistestű zebradániót használtuk, stresszorként a termelés során is előforduló hideg- és tömegsokkot alkalmaztuk. A stresszválasz megerősítésére különböző természetes eredetű hatóanyagokkal is próbálkoztunk.

Vizsgálataink alapján kiderült, hogy az ismétlődő stresszingerek sokszor kedvezőbb hatással jelentkeztek az egyszer alkalmazott stressznél. A rövidebb idejű – első - sokkhatás után megtartott un. nyugalmi szünet időtartama is kiemelkedő jelentőségű volt. Ugyanis, ha hagyunk az állatnak un. felkészülési időt (1 órát) a következő stresszre, akkor sokkal kedvezőbben reagált. Ezzel szemben a hosszú idejű nyugalmi időszak (24 óra) esetén már visszaállt a kontroll állapot, vagyis a kezdeti sokk öningerlő hatása megszűnt. Stresszoldó szerekkel kezelve az állatokat minden egyes kezelésnél kedvezőbb eredményeket kaptunk, mint hatóanyagok nélkül. Manapság az egyre intenzívebbé váló állattenyésztés korában előtérbe kerülnek a termelést csökkentő egyéb tényezők vizsgálata – kiemelten a stresszhatások kedvezőbb elviselése.



Examine the effect of repeating stress on fish

Abstract

Stress response is a mechanism developed during natural selection. Its key factor is the change in the metabolism of the body. This reaction to stress is a necessity for the individual to survive and therefore an advantage over natural selection. In artificial environment however the side effects of stress factors (inadequate water quality, over stocking, transportation stress) could be lethal. Therefore, these side effects (e.g. chronic elevation of cortisol concentration) should take into consideration. We chose zebrafish as a model animal and crowing as well as cold shock as stress factors.

Our results proved that the repeated stress stimuli are more advantageous than a stimulus applied only once. A break after the first stimulus lasting for a short period also has a advantage. The fish reaction was more adequate if we let the fish to prepare for one hour for the next stimulus. If the preparation period was longer (24 hour), the system responsible for the stress seponse revert to its original stage. Application of different ingredients reducing stress response in fish also produced advantageous results compared to control group. Factors reducing the detrimental effects of stress are becoming more and more important with the intensification of production in animal husbandry.

Bevezetés

A haltenyésztés eredményességét a tenyésztés környezeti feltételei döntő módon meghatározzák. Kifejezetten vonatkozik ez a alacsony öröklődésű testtömeg-gyarapodásra, és a megmaradási arányra. Magyarországon a tenyésztési folyamatok nagy része mesterséges környezetben történik, ezért feltétlenül számolnunk kell a környezeti stressz esetleges káros hatásaival. A halak növekedését, életképességét, vagyis a fiziológiai folyamatok szintjét jelentősen meghatározzák a környezet tágabb, szűkebb értelemben vett hatásai (Horváth és mtsai, 2000).

A stresszválasz egy a természetes szelekció során kialakult mechanizmus, melynek kulcseleme a szervezet anyagcseréjének alapvető megváltozása. Az anabolikus állapotról (szervesanyag-beépítés) katabolikus állapotra (szervesanyag-lebontás) történő átállást energia felszabadulás követi, melyet az állat a számára káros környezeti hatás kivédésére (pl. menekülés) használ fel. Ez a reakció, mint az egyed túlélésének feltétele a természetes környezetben szelekciós előnyként jelentkezik. Mesterséges környezetben azonban a stressztényezők (pl. rossz vízminőség, túlnépesítettség, a halak nyugalmának megzavarása stb.) hatására kialakuló válasznak ilyen szerepéről nem beszélhetünk. Ehelyett – főleg



azokban az esetekben, ahol a stresszhatás erős és hosszantartó – a stresszválasz káros mellékhatásai nyilvánulhatnak meg.

A stresszválasz létrejöttében a neuroendokrin-rendszer két fontos része játszik főszerepet. Az egyik a szimpatoadrenális-rendszer, melynek működését a szimpatikus idegrendszer szabályozza. Feladata a szervezet energiáinak mozgósítása, a szervezet pillanatnyi teljesítőképességének maximális szintre való emelése. A rendszer aktivációja az adrenalin, a noradrenalin és kisebb mértékben a dopamin szekrécióját eredményezi. A raktározott katekolaminok felszabadulása rendkívül gyors folyamat. A szimpatoadrenális-rendszer működése gyors változásokat indukál az ér- és a légzőrendszerben, melynek eredménye a meg növekedett oxigén felvétel és felhasználás. További következmény édesvízi halak esetén a nagymértékű ionvesztés (*Mazeaud és Mazeaud, 1981*). A katekolaminok a glikogénolízis (a glikogén lebontása glükózzá) serkentésén keresztül közvetlen hatást fejtenek ki a szénhidrát-raktárakra (*Mommsen és mtsai, 1988*).

A stresszválasz kialakításában a másik fontos tényező a hipotalamusz-agyalapi mirigy-mellékvese tengely (HPI-tengely). A HPI-tengely aktivációja hormonális folyamatok kaszkádját jelenti, melynek végeredménye a kortizol szintézisének serkentése és szekréciója (a kortizolt a szervezet nem raktározza, hanem szükség esetén szintetizálja). A folyamat jellegéből adódóan lassúbb és elhúzódóbb, mint a katekolamin-válasz. A halakban a kortizolnak ionhordozó szerepe van (*Richman és Zaugg, 1987*). Feltételezhető, hogy a stressz által indukált megemelkedett vérplazma-kortizol szint szerepet játszik a katekolaminok hatására bekövetkező ozmoregulációs zavarok elhárításában. A kortizol a glikoneogenezist is serkenti (*Janssens és Waterman, 1988*), mely alatt a szervezet fehérjéből vagy zsírokból történő szénhidrát-előállítását értjük.

A stressz hatására bekövetkező reakció tehát a szimpatoadrenális-rendszer rendkívül gyors és a HPI-tengely valamivel lassúbb válaszának a kombinációja. A két rendszer együttes működése a szervezet anyagcseréjét katabolikus irányba tolja el. A szénhidrát-raktárak felhasználását a fehérje- és lipidforrások mobilizációja követi.

Stresszoldószerként a fahéj-aldehydet használtunk, amely a fahéjolajban lévő biológiailag aktív komponensek, így az eugenol és cinnamaldehyd vérkeringést fokozó és a szívfrekvenciát csökkentő hatása mellett a cinnamtannin B1 inzulin elválasztást és a sejtek inzulin receptív-tását fokozó (*Khan és mtsai, 2003*).

Jelen dolgozatunkban összefoglaljuk a környezeti stressz hatására a halak szervezetében bekövetkező élettani változásokat, illetve stresszoldó szerek segítségével szeretnénk tompítani a stressz okozta különböző káros jelenségeket. Munkánk menete során a mesterséges halkezeléseknél is gyakorta jelentkező kétszeres sokkot alkalmaztuk változó nyugalmi idők mellett.

Anyag és módszer

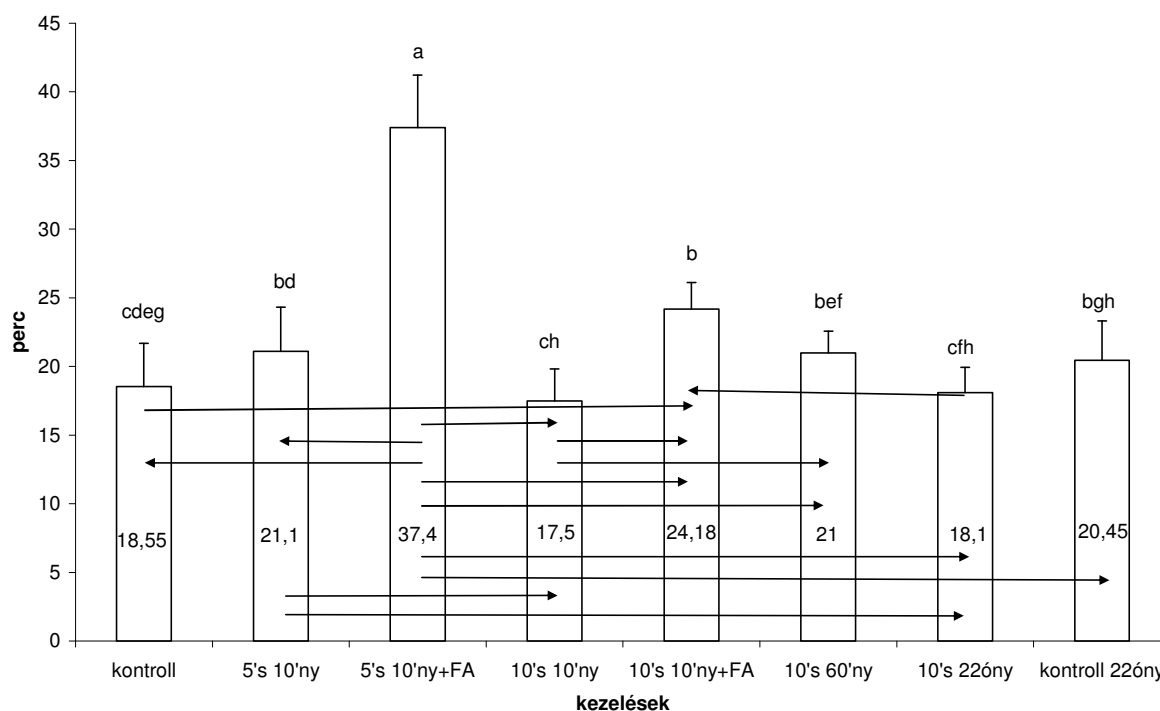
A vizsgálatokat a zebraadánió nevű, modellállatként gyakran használt kis akváriumi díszhalon folytattuk. Ez a törzs egy erősen beltenyésztett törzsnek minősíthető (AB strain zebrafish, LAB OF ORIGIN: Streisinger Lab (Stock#: s-567-JUL). A halakat 14/10 világos/sötét ciklusban tartottuk recirkulációs rendszerben (Zebtec, Tecniplast S.p.a., Italy).

A fahéj (*Aetheroleum cinnamomi*), amit mi hasznaltunk, gyógyszerári kiszerelésben és jegyzőkönyv alapján minősíthető.

A hidegsokkot 15 °C-on alkalmaztuk tartóedényekben, a tömegsokkot/oxigénhiánysokkot pedig, Falcon-csövekben (55ml) 10 egyed/Falcon-cső. A letális dózis a kopolyú lemezek leállításával detektáltuk. Először vagy hidegsokkot, vagy pedig tömegsokk alá vetettük az állatokat, majd változó pihenési idő (10 perc, 60 perc, 22 óra) után a tömegsokkot megismételtük. Az eredményeket egytényezős varianzával (ANOVA) vizsgáltuk 5%-os szignifikancia szinten. A nyilak jelzik, hogy mely csoportok térnek el szignifikánsan egymástól.

Eredmények

Hidegsokk és tömegsokk alkalmazása

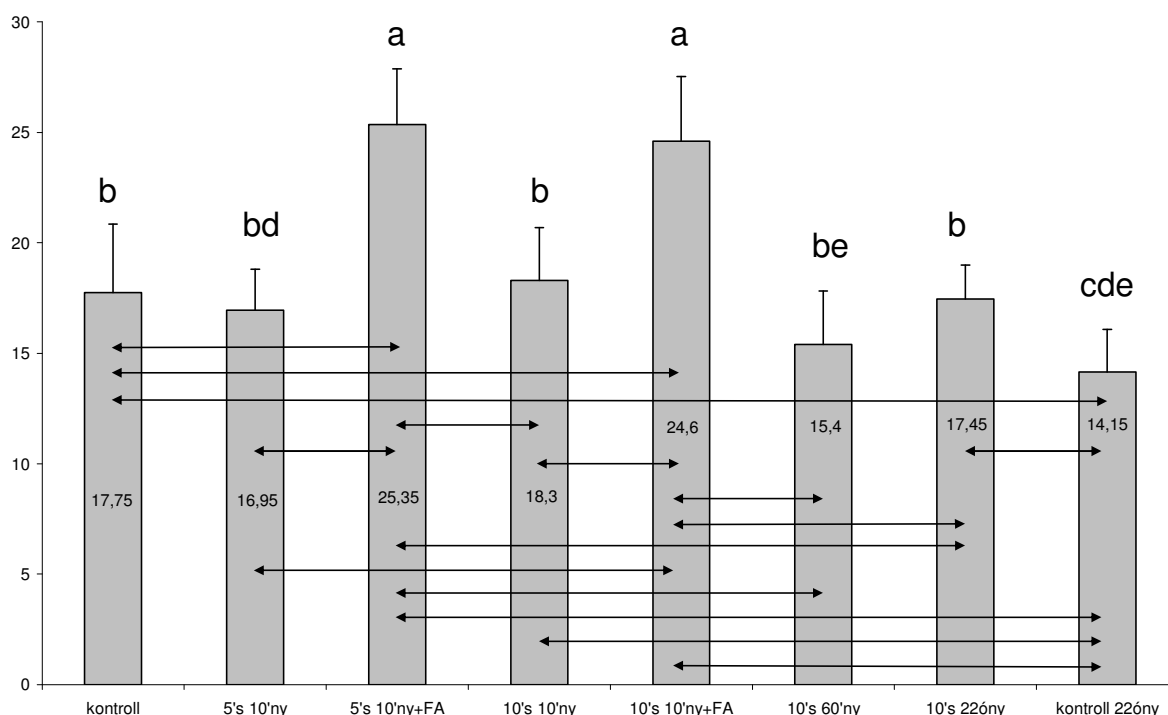


1. ábra: Hidegsokk, majd tömegsokk alkalmazása zebraadánión

Figure 1. Application of cold than crowd shock on zebrafish

Az eredmények alapján összefoglalóan az alábbi megállapítások tehetők:

1. A fahéjolaj biológiailag aktív vegyületei, anesztetikus, a perifériás vérkeringést fokozó és a szív frekvenciáját csökkentő, valamint az inzulin elválasztást és a sejtek inzulin iránti érzékenységét fokozó, hatásuknál fogva úgy 5, mint 10 perc hideg stressznek kitett, majd 10 perc nyugalmi időszakot követően túlnépesített és hipoxiás környezetbe helyezett halaknál megnövelte a túlélési idő hosszát.
2. Az 5 és 10 perc hideg stressznek kitett halakat 10 perc nyugalmi időszakot követően túlnépesített és hipoxiás környezetbe helyezve a túlélési idő a hosszabb idejű hideg stressznek kitett halaknál rövidebb volt, amelynek háttérében neuroendokrin változások állhatnak.
3. Az azonos idejű hideg stresszt követő hosszabb nyugalmi időszak után túlnépesített és hipoxiás környezetbe helyezett halak túlélési ideje megnőtt, amelynek háttérében a neuroendokrin változások hatására bekövetkező anyagcsere változások állhatnak.
4. Az azonos idejű hideg stresszt követően a nyugalmi időszak kedvező hatása, azaz a túlnépesített és hipoxiás környezetben mért túlélési idő hossza, 60 percn belül még igen, 22 óra múlva azonban már nem jelentkezik, amely az anyagcsere folyamatokban bekövetkező, csak rövid-távon érvényesülő, hatást valószínűsít.



2. ábra: Kétszeres tömegsokk alkalmazása

Figure 2. Application of double crowd shock



Az eredmények alapján összefoglalóan az alábbi megállapítások tehetők:

1. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a fahéjjal nem kezelt egyedek között életben maradás szempontjából még ismételt kezeléseknél sem volt különbség.
2. Ezzel szemben a fahéj kezelt csoportok közel 50%-al magasabb értéket mutattak a kontrollokhoz képest. Mind a katekolamin (5 perc sokk), mindpedig a hipofízis-hipotalamusz-mellékvesekéreg reakcióknál.

Irodalomjegyzék

- Janssens P. A., Waterman J. (1988): Hormonal regulation of gluconeogenesis and glycogenolysis in carp (*Cyprinus carpio*) liver pieces cultured in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 91A: 451-457.
- Horváth L. (2000): Halbiológia és haltenyésztés, Szerkesztette Horváth L., Mezőgazda Kiadó.
- Khan A., Safdar M., Khan M. M. A., Khattak K. N., Anderson R. A. (2003): Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 26: 3215-3218.
- Mazeaud, M. M. és Mazeaud, F. (1981): Adrenergic responses to stress in fish. In: Pickering A. D. (Editor), *Stress and Fish*. Academic Press, London, 49-75.
- Mommsen T. P., Walsh P. I., Perry S. F., Moon T. W. (1988) Interactive effects of catecholamines and hypercapnia on glucose production in isolated trout hepatocytes. *General and Comparative Endocrinology*, 70: 63-73.
- Richman N. H., Zaugg W. S. (1987): Effects of cortisol and growth hormone on osmoregulation in pre- and desmoltified coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *General and Comparative Endocrinology*, 65: 189-198.