

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 1

Gödöllő
2008



LABORATÓRIUMI VIZSGÁLATOK SORÁN FELLÉPŐ STRESSZ ÉRTÉKELÉSE HALAKBAN

Hegyí Árpád, Béres Tibor, Kovács Róbert, Kotrik László, Urbányi Béla

Szent István Egyetem, Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet, Halgazdálkodási Tanszék

2103 Gödöllő Páter Károly út 1.

Hegyí.Arpád@mkk.szie.hu

Összefoglalás

A laboratóriumi vizsgálatok –akár akváriumi, akár medencés– során a halak folyamatosan ki vannak téve számos külső hatásnak (pl. kifogás, mesterséges szaporítás, telepítés, betegségek elleni kezelés, vérvétel, hőmérséklet stb). A mesterségesen előidézett környezeti stressz jelentős befolyást gyakorol a halak homeosztázisára, akárcsak a többi gerinces esetében. A környezeti stressz erősen hat az anyagcsere-folyamatokra (pl. szénhidrát,- lipid,- N tartalmú anyagok,- vitamin és az ásványi anyagok anyagcseréjére), amelyek jelentősen befolyásolják a vizsgálatok eredményességét. Egy rosszul megválasztott vizsgálati munkafolyamat (pl. túlzott telepítési sűrűség) akár többszörösére emelheti egyes vérplazma-összetevők mennyiségét, ami akár pusztuláshoz is vezethet.

A stresszhatások eltérő módon és irányban befolyásolják a szervezet életfolyamatait: romolhat az általános egészségi állapot, csökkenhet a növekedés mértéke, károsodhat a kopolyú, zavart szenvedhet a gyomor- és bélműködés, megváltozhat az agy szerkezete, károsodhat a központi idegrendszer, megváltozhat a viselkedés és blokkolódhat a hipotalamusz-hipofízis-gonád tengely.

Hosszútávú, négy hetes kísérletekkel azt vizsgáltuk, hogy az akváriumi tartás, a hetenkénti egyszeri hálós kifogás valamint a vérvétel okoz-e elváltozást a vérplazmaglükóz és a szérum/plazma fruktózamin szintekben. A kísérletekkel megállapítottuk, hogy a közepes és hosszabb távú stressz mérésére alkalmas vérplazma-összetevők statisztikailag igazolható különbséget nem mutattak az egyes vérvételek során. Tehát a jól megtervezett és kivitelezett vizsgálatokban ezen vérplazma-összetevők esetén nem kell számolnunk azzal, hogy az egyes munkafolyamatok torzítják a vizsgálati eredményeket.

Kulcsszavak: hal, stressz, vérplazma-glükóz, szérum/plazma fruktózamin



Investigation of stress resulting from laboratory experiments in fish

Abstract

In the process of laboratory experiments (either in tanks or aquaria) fish are continuously exposed to several external effects (e.g. seining, induced spawning, stocking, treatment against diseases, blood sampling, temperature, etc.). Induced environmental stress has a significant influence on the homeostasis of fish as on that of any vertebrates. Environmental stress affects metabolism (e.g. that of carbohydrates, lipids, N-containing materials, vitamins and minerals), and this can influence the effectiveness of experiments. An improperly chosen experimental work phase (such as too high stocking density) can increase the concentration of some blood plasma parameters several times and can even lead to death of animals.

Stress effects influence vital processes in different ways and directions: general health state can deteriorate, growth rate can decrease, gills can be damaged, stomach and intestinal function can be disrupted, brain structure can be altered, the central nervous system can be damaged, behavior can be changed and the hypothalamus-pituitary-gonad axis can be blocked.

The effect of aquaria, weekly seining and blood sampling on blood plasma glucose and serum/plasma fructosamine concentrations was investigated in long-term, four-week experiments. Results have shown that no significant differences were detected in the levels of blood plasma components suitable for the measurement of mid- and long-term stress during consecutive blood samplings. Thus, the adverse effects of work phases on experimental results do not have to be taken into account in well-designed and executed investigations.

Keywords: fish, stress, blood plasma glucose and serum/plasma fructosamine



Bevezetés

Több laboratóriumi vizsgálat tervezése során (Hegyí és mtsai, 2006) felmerült már az a klasszikus módszertani probléma: milyen mértékben torzítják a kísérletek során alkalmazott munkafolyamatok a kísérletek végeredményét. A stressz különböző hatásairól, valamint annak mérési lehetőségeiről az alábbiakban nyújtunk rövid áttekintést.

A stressznek több jellemző külső jele a végtagok mozgási zavara (*ataxia*), a szapora légzésszám és a test színváltozása. A szapora légzést (*tahikardia*) bizonyítja a kopolyúfedő gyors mozgása, melyet igen könnyű szemmel azonosítani. A légzés és más légzőszervi paraméterek (pl. köhögés) a stressz kiváló mutatói, bár az okok nem teljesen feltártak, de egyes kutatók úgy vélik, hogy ezek, más általános légzőszervi változásoknál jobb indikátorok (Sprague, 1971). Minden hal rendszeres időközönként köhög, miközben pillanatnyilag megfordítja a víz áramlását. Mindez percenként egyszer történik pisztrángokban, a tilápiában egy perc alatt ötször. A hal valamelyest képes megváltoztatni a színét, a látható színek egy bizonyos intenzitásán és tartományán belül mozog. Ezt azáltal valósítják meg, hogy idegi és hormonális eszközökkel irányítják a pigment mozgását a bőr kromatofóráin belül (Ross és Ross, 1999).

A stresszre nagyon sokféle belső választ leírtak már. Ezek elsősorban a szív működésére, a vérparaméterekre és metabolikus vagy biokémiai változásokra irányultak.

A legalapvetőbb élettani jellemző a szív működés, melyben stressz hatására egy vagy több szívverés kimarad egy adott stresszválaszban, amelyet egy egyszerű EKG elektródabeültetéssel is bizonyítottak. Általában egy csekély inger viszont nem okoz ilyen negatív hatást. Az erőteljesebb stressz hosszadalmas hatásokat idézhet elő a halakban, melyek nem múlnak el 24 órán belül sem (Randall, 1970).

A szív mellett több szerv működését is vizsgálták már stresszhatások alatt. Az epehólyag rendellenes működését vizsgálták zebrasávos sügér halfajon (*Archocentrus nigrofasciatum* Günther, 1869) és a kísérlet során úgy találták, hogy az epe visszatartása megnövekedett (Earley és mtsai, 2004). Hőmérsékleti stressz alkalmazása során a here rendellenes fejlődését írták le pontyban (*Cyprinus carpio* L. 1758) (Goos és Consten, 2002). Ugyancsak az ivarszervek változását vizsgálták szivárványos pisztrágon (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) ismételt akut stressz esetén és kimutatták, hogy a nőivarú állatokban csökkent az ikraszemek mérete, a hímekben pedig szignifikánsan alacsonyabb volt a spermiumok száma (Campbell és mtsai, 1992). A lép relatív tömegének csökkenését tapasztalták portugál kutatók oxigénhiányos környezetben (Henrique és mtsai, 2002).



Gyors és kritikus epidermisz degenerációt, pusztulást és fekélyesedést fedeztek fel krónikus stressz esetén a haltest bőrén és az úszókon, továbbá a szaruhártyán is a hibrid csíkos sügér esetében (*Morone saxatilis* Walbaum, 1792 x *Morone chrysops* Rafinesque, 1820) (Udomkusonsri és Noga, 2005). Fiatalkori vese deformációt figyeltek meg sügereknél (*Perca flavescens* Mitchill, 1814) hidegsokk esetén (Jentoft és mtsai, 2002). Campbell, (2003) ugyancsak hőmérsékleti stressz hatására a lazacok (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792 és *Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum, 1792) kopolyúívének összetapadását figyelte meg, mely. a kisutch lazacoknál 44, a királylazacnál pedig 37 %-os volt., az egész kopolyúívfelületet tekintve.

Számos hematológiai elváltozást okozhat a stressz a halakban, ami lehet a vér koncentrációjának növekedése vagy csökkenése. Általában az eritrociták térfogata növekszik, csökken a vérplazma ozmolaritása (elektrolit egyensúly), valamint megváltozik a vér klorid, nátrium, kálium ion koncentrációja is (Pierson és mtsai, 2004). Ezek a folyamatok természetesen jól ismertek az emlős gazdasági haszonállatainknál. A kortizol és a glükóz mennyisége növekszik, melyek a legáltalánosabban használt vérplazmaalkotók a stresszválaszok meghatározásánál (Umminger, 1971). Egyes vizsgálatok alkalmával a tejsav mennyiségét (Heath és Pritchard, 1962), a hematokrit értéket (Soivio és Oikari, 1976) és a lizozim aktivitást (Jeney és mtsai, 1997) is vizsgálják a halak vérében.

A stresszfehérjék (hősokk fehérjék, heat shock protein) kutatása körülbelül tízéves múltra tekint vissza (Csermely, 2001a). A funkcióra utaló definíció szerint a stresszfehérjék olyan fehérjék, amelyek más fehérjék instabil alakjaihoz kötve, azokat stabilizálva, meghatározzák az adott fehérje sorsát a sejten belül (Hartl, 1996). A stresszfehérjék sejten belüli mennyisége a változatos stressz-hatásokra általában növekedni szokott. Környezeti stressz hatására a sejten belüli fehérjék károsodása (alakváltozása) is bekövetkezik (Csermely, 2001b). Ezeknek a fehérjéknek a kutatása a haltenyésztésben a 90-es évek elejétől kezdődött. Kezdetben aranyhalon (*Carassius auratus* L. 1758) és pontyon (*Cyprinus carpio* L. 1758) (Watabe és mtsai, 1993), majd később szivárványos pisztrágon (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) (Currie és Tufts, 1997) folytattak kutatásokat. Ma már szinte minden halfajon vizsgálták a hősokk fehérjéket a zebradániótól (*Danio rerio* Hamilton, 1822) (Iwama és mtsai, 2004) a lazacig (*Salmo salar* L. 1758) (Wargelius és mtsai, 2005).

Robinette és Noga, (2001) egy széles spektrumú antimikrobiális polipeptidet vizsgáltak pettyes harcsa (*Ictalurus punctatus*) bőrén, melyet hisztionszerű fehérjének is neveznek (HLP-1). Krónikus stressz esetén ennek a fehérjének a mennyisége jelentősen csökkent. Akut stressz, mint a vérvétel és az elfogás viszont nem befolyásolta a fehérjék mennyiségét.



Az elfogáskori kortizol választ vizsgálták szennyezett és nem szennyezett vízterben a sügér (*Perca flavescens*) és a csuka (*Esox lucius*) halfajon. A szennyezett vízben jelentősen magas volt a többgyűrűs aromás hidrokarbonát, a poliklorinát difenil és a higany szennyezettség. A nem szennyezett folyóból származó halak normál szintű kortizolt mutattak ($16,2 \pm 4,1$ ng/ml) az elfogáskor, ellentétben a szennyezett helyen fogott halak esetén ($80,4 \pm 7,9$ ng/ml) (Hontena és mtsai, 1992)

Killien és mtsai, (2003) kimutatták, hogy a süllő kifogása szignifikánsan emeli a plazma kortizol szintjét összehasonlítva kontroll halakkal. Mindemellett növekszik a kreatin foszfokináz és a laktát dehidrogenáz aktivitást és közepes mértékű sejtkárosodás is tapasztalható. Drasztikusan csökken a fehér izom energiakészlete (foszfo kreatin, ATP és glikogén) és egyidejűleg növekszik a fehér izom és a plazma laktát mennyisége.

Barton és mtsai, (2003) a befogást szállítási stresszszorral hozták összefüggésbe. A plazma kortizol szintben akut emelkedés volt és a plazma klorid koncentrációja pedig hanyatlott. A plazma kortizol szint 12-49 ng/ml-ről 138-174 ng/ml-re emelkedett egy órával a szállítás után, a plazma klorid szintje pedig 19%-kal csökkent. A szállítási kísérleti eredmények az mutatták, hogy a fiatal süllőkre jelentős élettani stressz hat az elfogáskor, a szállításkor és a tavakba helyezéskor.

Tengeri fajoknál, elsősorban a *Epinephelus malabaricus*-nál vizsgálták a vérvétel hatását. A vizsgálatba a vér kortizol szintjét, a vörös és fehér vérszettek számát valamint a fagocitózis mértékét értékelték. A plazma kortizol szintje egy órával a vérvétel után növekedett 30 ng/ml-ről 88 ng/ml-re. A maximum kortizol szint 3 és 5 óra múlva érte el a maximumát (951 ng/ml). A vörösvérszettek száma csökkent, a fehérvérszettek száma viszont növekedett a beavatkozás után. A tűszúrás után a periférikus vérleukociták fagocitáló indexe 100 %-ról 46 %-ra csökkent (Lo és mtsai, 2003).

Célkitűzésünk ezért az volt, hogy megvizsgáljuk: a mesterséges körülmények (akváriumi tartás), valamint maguk a vizsgálatok (kiemelés az akváriumból és elsősorban a vérvétel) milyen mértékű stresszt okoznak a kísérleti állományban.

Anyag és módszer

Valamennyi hal és vérminta gyűjtése a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Állatetikai Bizottsága által, a vonatkozó rendelkezések alapján meghatározott alapelvek figyelembevételével történt.



A kísérleti halakat IUP 12 típusú elektromos kutató-halászgéppel gyűjtöttük be (1. kép) és a kifogást követően a halakat testsúly és testhossz szerint válogattuk. A kísérlet alkalmával vizuálisan ellenőriztük a parazita fertőzöttséget a tóparton, de a mikroszkópos vizsgálatokat csak a kísérlet végén végeztünk, a kísérlet jellegéből adódóan. A pontytetű (*Argulus foliaceus*), a különböző kopoltyúférgék (*Dactylogyrus vastator*, *Dactylogyrus extensus*, *Dactylogyrus anchoratus* és *Dactylogyrus minutus*) és lerneá (*Lernaea cyprinacea*) jelenlétét vizsgáltuk.



1. kép: Elektromos halászat (Lefler Kinga Katalin felvétele)

Picture 1. Electric fishing (Photo: Katalin Kinga Lefler)

Minden akváriumban olyan méretű egyedekkel dolgoztunk, amelyektől minimálisan 1,5 ml vért lehetett venni (testhossz $16,5 \pm 4,2$ cm). A halakat oldalukra fordítottuk és a tüt a farokalatti úszó és az oldalvonal között szűrtük be. Átlagosan 1,5 ml vért vettünk a halak farokvénájából (2. kép) (*vena caudalis*), a minták alvadását *heparinnal* gátoltuk (1-2 csepp). A vérvételekhez steril, eldobható 21-25 G nagyságú tűket és minden esetben 2 ml-es fecskendőt használtunk. A vért hűtőtáskában szállítottuk (+ 4 °C) a feldolgozás helyére.



2. kép: A vérvétel helye (Lefler Kinga Katalin felvétele)

Picture 2. Area of blood drawing (Photo: Katalin Kinga Lefler)

A *heparinnal* kezelt vérmintákat hűtött közegben (+4 °C) tartottuk, majd centrifugálással (3000 fordulat/perc, 10 perc) választottuk el az alakos elemeket a vérplazmától. A vérplazma-mintákból határoztuk meg a vérplazma glükóz, a szérum fruktózamin szintet. A vérplazma mintákat a mérések elvégzéséig –20 °C-on tároltuk, majd a meghatározások előtt szobahőmérsékleten (20 ± 2 °C) engedték fel azokat.

A vérplazma glükóz szintjének meghatározását *enzimatis* (GOD-POD) kolorimetriás módszer segítségével végeztük (Reanal, Budapest No.: 36116-2-99-80). A módszer lényege, hogy a foszfátpufferből (9,5 mmol/l, pH 7,5), fenolból (9,5 mmol/l) és 4-amino-antipirinből (0,7 mmol/l) álló reagenshez (1,0 ml) 0,01 ml vérplazmát pipettáztunk, majd ezt 37 °C-on 10 percig inkubáltuk. Az inkubáció után a mérési eredményeket *automata fotométerről* (Humalyzer-815 és UV mini-1240) mmol/l-ben olvastuk le (500 nm hullámhosszon).

A szérum/plazma fruktózamin (SeFa) méréséhez az *Oppel és mtsai, (2000)* által összeállított reagenst, illetve az erre kifejlesztett mikro módszert használtunk. A reagens elkészítéséhez NBT festéket (Nitro blue tetrazolium grade III. crystalline, Sigma, St. Louis) és karbonátpuffert használtunk. A karbonátpuffer elkészítéséhez 13,375 g/250 ml (0,5 M) Na₂CO₃-ot és 2,1 g/50 ml (0,5 M) NaHCO₃-t használtunk. Értékelés spektrofotométerrel történt, reagens vakkal szemben 550 nm hullámhosszon (Carl Zeiss és UV mini-1240), az eredményeket mmol/l-ben határoztuk meg.



A kísérleteket két részre osztottuk. Az egyik vizsgálat (A) esetében a kifogás helyszínén (csónakban) is végeztünk vérvételt, a másik vizsgálat (B) esetében viszont nem. A kísérleteket a Gödöllő-Isaszegi tórendszerből származó ezüstkárászokkal végeztük. A halak begyűjtése IUP típusú elektromos kutató halászgéppel történt, a víz hőmérséklete 10,4 °C volt. Az A vizsgálat során a kifogást követően a helyszínen azonnal vért vettünk mindegyik állattól (n = 50). A B vizsgálat alapvetően megegyezett az előzővel (n = 50), azzal a különbséggel, hogy a helyszínen (csónakban) nem történt vérvétel. A begyűjtés után az összes egyed azonnal laboratóriumba szállítottuk (vízhőmérséklet 10,8 °C, oldott oxigén 7,2 mg/l), és öt-öt csoportot alakítottunk ki 600 literes akváriumokban. Mind az A, mind a B vizsgálat során az első csoportba tartozó állatoktól hetente vettünk vért, négy héten keresztül. A második csoportba tartozó ezüstkárászoktól csak a laboratóriumba történő beszállítást követően az első hét elteltével vettünk vérmintát. A harmadik csoport halaitól csak a második, a negyedik csoport egyedeitől csak a harmadik, az ötödik csoport egyedeitől pedig csak a negyedik hét lejártá után történt vérvétel. A vérvételek után minden esetben a vérplazma glükóz és SeFa mennyiségét határoztuk meg. A kísérlet folyamán az akváriumi víz hőmérséklete jelentős mértékben növekedett (a kezdeti 10,8 °C-os vízhőmérsékletről 19,9 °C-ra), az oldott oxigén mennyisége pedig alig változott a kísérlet végeztével (6,9 mg/l).

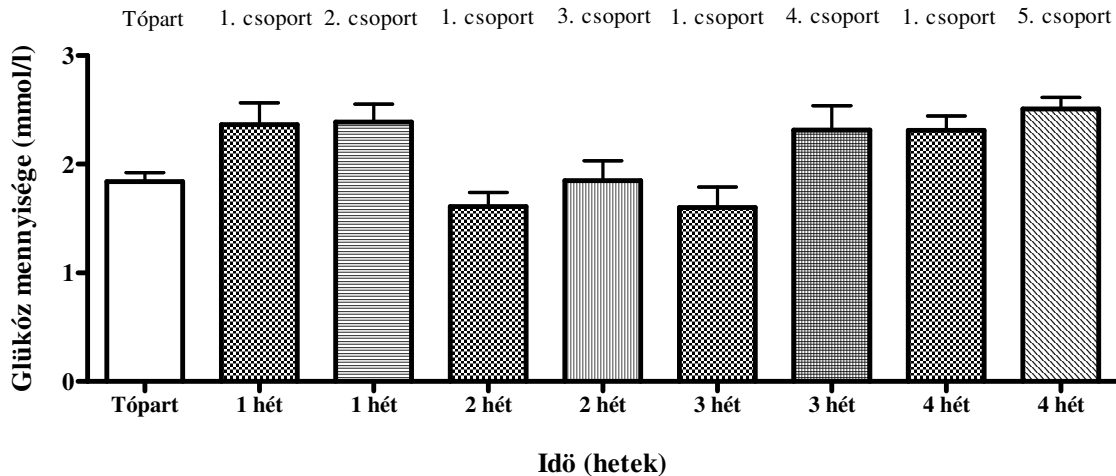
A kísérletek során - egytényezős variancia-analízissel (ANOVA) - azt vizsgáltuk, hogy a kezelési idő (független változó: x, faktor) milyen hatást gyakorol a vérplazma általunk vizsgált összetevőinek (függő változók: y_1, y_2 ..) szintjére. Az átlagértékek közötti különbségek vizsgálatára Tukey tesztet végeztük, $P \leq 0,05$ szignifikancia-szinten.

Eredmények és értékelés

A kísérlet első részének (A) vérplazma glükóz eredményeit a 1. ábra szemlélteti ($P < 0,0001$). Ebben a kísérletben szereplő 50 egyed mindegyikétől közvetlenül a kifogáskor (csónak) is történt vérvétel. A laboratóriumba történő szállítás után az első vérvételi időpontban (1. csoport 1 hét, 2. csoport 1 hét) nem szignifikáns ($P > 0,05$), de növekvő tendenciákat kaptam a tóparton vett mintákhoz képest, majd a második mintavétel alkalmával (1. csoport 2 hét, 3. csoport 2 hét) csökkenést tapasztaltam a vérplazma glükóz mennyiségében, de ez a csökkenés sem eredményezett szignifikáns eltérést ($P > 0,05$). A harmadik héten az 1. csoport egyedeinek vércukor mennyisége további csökkenést mutatott, míg a velük azonos időpontban vett 4. csoport (3. hét) egyedeinek vércukor mennyisége növekedni kezdett.



Az utolsó vérvételi időpontban (1. csoport 4 hét, 5. csoport 4 hét) mindkét csoport egyedének vércukor mennyisége tovább növekedett a tóparton vett vérmintákhoz képest ($P > 0,05$).



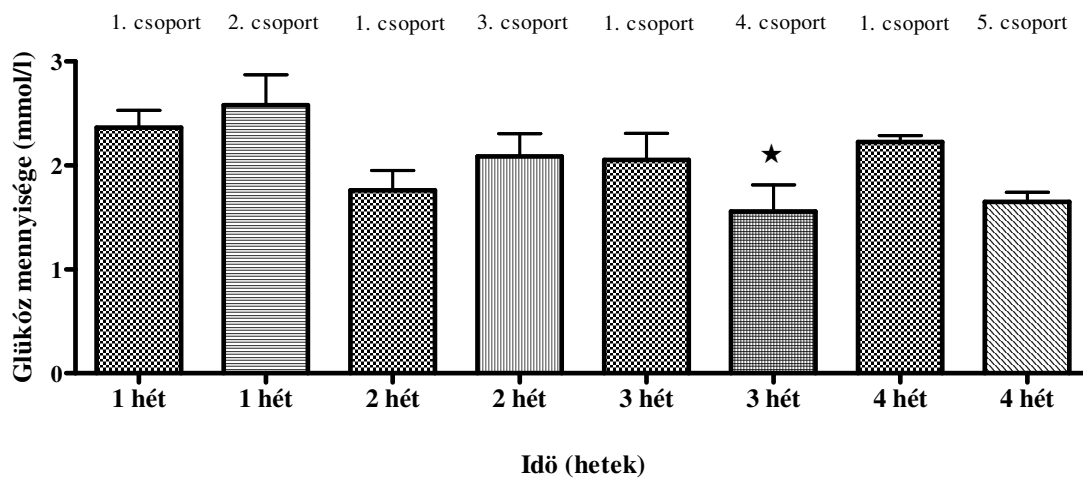
1. ábra: Kísérletek ezüstkárászon (első rész „A”). A vérplazmaglükóz mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

Figure 1. Experiments on silver crucian carp (first part "A") Quantitative changes (mmol/l) and standard deviation of blood plasma glucose

A glükóz mennyisége folyamatosan változott az „A” vizsgálat folyamán, a tóparton vett mintához képest. A kísérlet elején növekvő, majd csökkenő, a kísérlet végén pedig újra növekvő tendenciát figyeltünk meg.

A kontroll-kísérletek másik részének (B) vérplazma glükóz eredményeit a 2. ábrán foglaltuk össze ($P = 0,0112$).

Ezeknél az állatoknál közvetlenül a kifogáskor nem történt vérvétel. A laboratóriumba szállítás után hasonlóan zajlottak a csoportosítások, mint az előző esetben. Az első mintavételek (1. csoport 1 hét, 2. csoport 1 hét) után mért vércukor értékek azonosak voltak azzal a kísérletsorozattal, amelynél a csónakban is történt vérvétel.



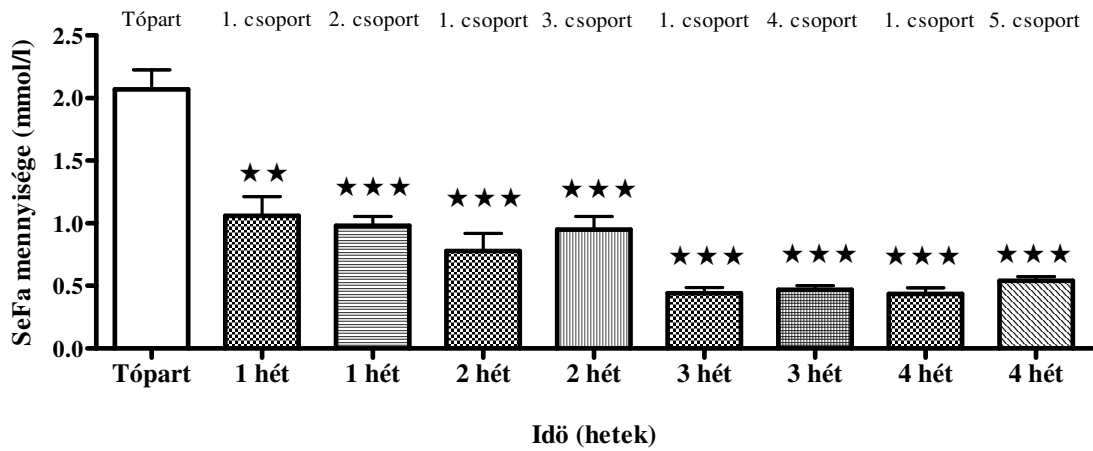
2. ábra: Kísérletek ezüstkárászon (második rész „B”). A vérplazmaglükóz mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

Figure 2. Experiments on silver crucian carp (second part "B") Quantitative changes (mmol/l) and standard deviation of blood plasma glucose

Majd a következő héten (1. csoport 2 hét, 3. csoport 2 hét) nem szignifikáns ($P > 0,05$) csökkenést tapasztaltunk. Ez a csökkent vércukor mennyiség a kísérlet végéig megmaradt. A harmadik mintavétel alkalmával a 4. csoport 3 hét egyedénél szignifikáns csökkenés ($P < 0,05$) volt megfigyelhető, az első vérvételhez (2. csoport 1 hét) képest.

A „B” kísérlet során a glükóz szintje *csökkenő tendenciát* mutatott az első vérvételhez képest szinte az egész négy hetes vizsgálati időszakban.

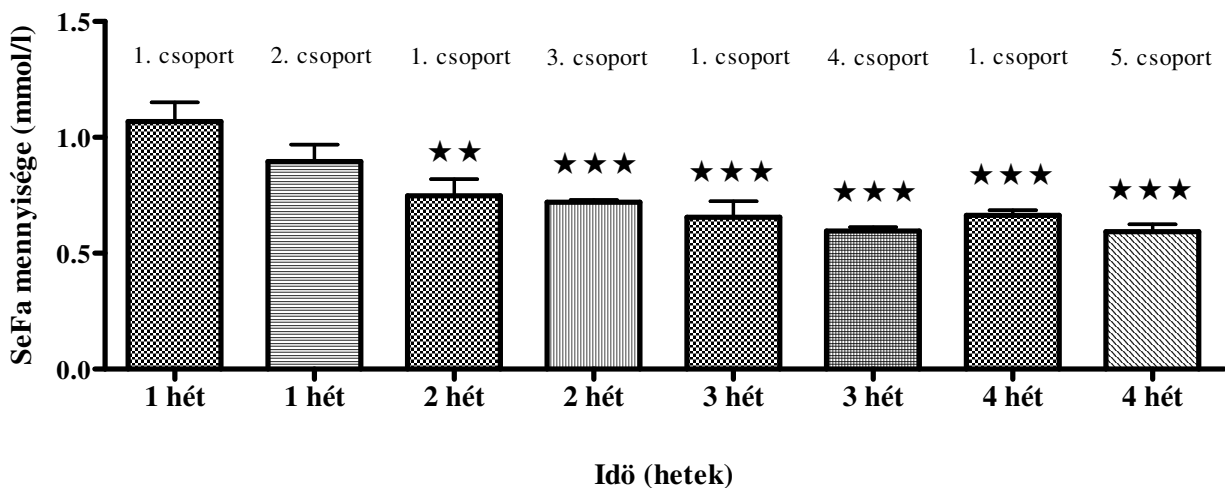
A tóparton is gyűjtött vérminták SeFa mennyiségének értékeit a 3. ábra mutatja ($P < 0,0001$). A *legelső mintavétel* tehát közvetlenül a kifogás után történt. Az 50 egyed SeFa értéke 2,0675 mmol/l volt. Egy hét eltelte után (1. csoport 1 hét, 2. csoport 1 hét) a SeFa mennyisége *mindkét állatcsoportnál* a felére csökkent, majd a második mintavétel alkalmával további csökkenést tapasztaltunk. Az első héten az 1. csoport egyedeinek SeFa mennyisége $P < 0,01$, a 2. csoport egyedei viszont $P < 0,001$ szignifikáns eltérést mutatott a csónakban történt vérvételhez viszonyítva. A további vérvételi időpontokban mért SeFa mennyiségek *minden esetben szignifikáns különbséget* ($P < 0,001$) mutattak a tóparti mintavételekhez képest.



3. ábra: Kísérletek ezüstkárászon (első rész „A”). A SeFa mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

Figure 3. Experiments on silver crucian carp (first part "A") Quantitative changes (mmol/l) and standard deviation of SeFa

A SeFa szintje az „A” kísérletben szintén csökkenő tendenciát mutatott a tóparti eredményekhez képest. Az első két hétben a felére, majd az utolsó két hétben egy negyedére csökkent a SeFa mennyisége a vérplazmában.



4. ábra: Kísérletek ezüstkárászon (második rész „B”). A SeFa mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

Figure 4. Experiments on silver crucian carp (second part "B") Quantitative changes (mmol/l) and standard deviation of SeFa



A *kontroll kísérlet* második részének SeFa eredményeit a 4. ábra szemlélteti ($P < 0,0001$). Jól látható a SeFa folyamatos és egyenletes csökkenése az idő előrehaladtával. Az egyes csoport egyedeinél már az második hét elteltével (1. csoport 2 hét) szignifikánsan alacsonyabb ($P < 0,01$) SeFa-szint volt megfigyelhető a kiindulási értékekhez képest, majd a kísérleti idő múlásával a statisztikai különbség nagyobb volt ($P < 0,001$). A 2. csoporthoz viszonyítva a 3. csoportban mért SeFa alacsonyabb volt, de nem volt statisztikailag különbség a SeFa-szintek között. A 4. és 5. csoportban már szignifikánsan alacsonyabb értékeket ($P < 0,05$) mértünk az utolsó két vérvétel alkalmával. Az utolsó két vérvételkor megfigyelhető a SeFa mennyiségének változatlansága, tehát az értékek azonosak voltak.

A „B” vizsgálatban *egyenletesen csökkent* – ellentétben az „A” jelű kísérlettel – a SeFa mennyisége az idő elteltével az első vérvétel eredményeihez viszonyítva.

Következtetések

A *kontroll* kísérletekkel megállapítottuk, hogy a laboratóriumba történő beszállítás utáni első vérvételkor a vérplazma glükóz mennyiségei növekedtek. Ez a növekedés a kísérlet egyik részében sem volt szignifikáns ($P > 0,05$). A következő vérvételkor már csökkenő vérplazma glükóz értékeket mértünk. Ekkor már a halállomány két hetet töltött akváriumokban. Mindkét kísérletben az ezt követő vérvételekkel sem kaptunk szignifikánsan magasabb értékeket a kiindulási értékekhez képest. A kísérlet azon részében, ahol a tóparton nem történt mintavétel, az *egyik csoportnál* (4. csoport) szignifikánsan alacsonyabb értéket is kaptunk ($P < 0,05$), amelynek oka a stresszmentes környezet és a rendszeresebb táplálék-elérhetőség volt.

A SeFa mennyisége már egy hét eltelte után jelentősen lecsökkent, ami azt jelentette, hogy a halak *nyugodtabb, ingerszegényebb* környezetbe kerültek. A SeFa a vérplazmában fokozatosan csökkent és szignifikáns eltérést kaptunk a kísérlet közepétől. Ez az alacsony mennyiség a kísérletek végéig meg is maradt, ami feltételezhetően a víz hőmérsékletének és az ingerszegényebb környezetnek volt köszönhető.

Ebből a kísérletsorozatból megállapítottunk, hogy a *kifogásnak* és a *vérvételnek* nem volt statisztikailag bizonyítható hatása a vérplazma glükóz és a SeFa mennyiségeire.



Köszönetnyilvánítás

Ezúton köszönjük a Gödöllő-Isaszeg tórendszer I. tavát kezelő szerv, a Béke Horgászegyesület elnökének Imre Ferencnek és a halórnek Oláh Károlynak, a vizsgálati halállomány begyűjtésében nyújtott segítségüket.

Munkánkat a Pázmány Péter program (Regionális Egyetemi Tudásközpont), 2005/12 számú pályázat támogatta.

Irodalomjegyzék

- Barton B. A., Haukenes A. H., Parsons B. G. (2003) Plasma cortisol and chloride stress responses in juvenile walleyes during capture, transport, and stocking procedures. *North American Journal of Fisheries Aquaculture*, 65 (3): 210-219. pp.
- Campbell P. M., Pottinger T. G., Sumpter J. P. (1992): Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow-trout. *Biology of Reproduction*, 47 (6) 1140-1150. pp.
- Campbell W. B. (2003): Assessing developmental errors in branchiostegal rays as indicators of chronic stress in two species of Pacific salmon. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne de Zoologie*, 81 (11) 1876-1884. pp.
- Currie S., Tufts B. L. (1997): Synthesis of stress protein 70 (Hsp70) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) red blood cells. *Journal of Experimental Biology*, 200 (3) 607-614. p.
- Csermely P. (2001a): Mire jók a stresszfehérjék? Régi és új elképzelések. *Magyar Tudomány*, 108 129–135. pp.
- Csermely P. (2001b): Stresszfehérjék. [Budapest Vince Kiadó] 41. p. (Tudomány-Egyetem sorozat ISBN 963 9192 80/ISSN 1417-6114).
- Earley R. L, Blumer L. S, Grober M. S. (2004): The gall of subordination: Changes in gall bladder function associated with social stress. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 271 (1534) 7-13. pp.
- Goos H. J. T., Consten D. (2002): Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, *Cyprinus carpio*. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197 (1-2) 105-116. pp.
- Hartl F. U. (1996): Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature*, 381 (6583) 571-580. p.



- Heath A. G., Pritchard A. W. (1962): Changes in the metabolic rate and blood lactic acid of bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus* Raf, following severe muscular. *Physiological and Biochemical Zoology*, 33 323-329. pp.
- Hegyí Á., Béres T., Varadi L., Lefler K. K., Tóth B., Urbányi B. (2006): Investigation of long-term stress induced by several stressors by determination of the concentration of different blood plasma components in a model of Prussian carp (*Carassius auratus gibelio* BLOCH, 1783) and Common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Acta biologica Hungarica*, 57 (3) 301-313. pp.
- Henrique M. M. F., Gouillou-Coustans M. F., Gomes E. (2002): Effect of dietary ascorbic acid supplementation and chronic hypoxia on sea bream growth and vitamin C status. *Journal of Fish Biology*, 60 (2) 442-452. pp.
- Hontela A., Rasmussen J. B., Audet C., Chevalier G. (1992): Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHS, PCBS and mercury. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22 (3): 278-283. pp.
- Iwama G. K., Afonso L. O. B., Todgham A., Ackerman P., Nakano K. (2004): Are hsp90 suitable for indicating stressed states in fish? *Journal of Experimental Biology*, 207 (1) 15-19. pp.
- Jeney G., Galeotti M., Volpatti D., Jeney Z., Anderson D. P. (1997): Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan. *Aquaculture*, 154 (1) 1-15. pp.
- Jentoft S., Held J. A., Malison J. A., Barry T. P. (2002): Ontogeny of the cortisol stress response in yellow perch (*Perca flavescens*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 26 (4) 371-378. pp.
- Killen S. S., Suski C. D., Morrissey M. B. (2003) Physiological responses of walleyes to live-release angling tournaments. *North American Journal of Fisheries Management*, 23 (4): 1238-1246. pp.
- Lo W. Y., Chang C. F., Song Y. L. (2003): Evaluation of dorsal aorta cannulation for immunological studies of grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 14 (4): 289-303. pp.
- Oppel K., Kulcsár M., Bárdos L., Ferencz A., Lakner H., Simon J., Temesváry K., Karchesz K. (2000): A new, modern, cost-saving micro/macro method for the determination of serum fructosamine. *Acta Veterinaria Hungarica*, 48 (3) 285-291. pp.
- Pierson P. M., Lamers A., Flik G., Mayer-Gostan N. (2004): The stress axis, stanniocalcin, and ion balance in rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 137 (3) 263-271. p.
- Randall D. J. (1970): The circulatory system. In: Hoare W. S., Randall D. J. (Editors): *Fish Physiology*. Academic Press, London, 133-172. pp.



- Robinette D. W., Noga E. J. (2001): Histone-like protein: a novel method for measuring stress in fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 44 (2): 97-107. pp.
- Ross L. G., Ross B. (Editors) (1999): Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals, 2. edition. Oxford: Blackwell Science 5-6. pp.
- Soivio A., Oikari A. (1976): Hematological effects of stress on a teleost, *Esox lucius* L. *Journal of Fish Biology*, 8 (5) 397-411 1976. pp.
- Sprague J. B. (1971): Measurement of pollutant toxicity to fish. III. Sublethal effects and "safe" concentrations. *Water Research*, 5 245-266. pp.
- Udomkunsri P., Noga E. J. (2005): The acute ulceration response (AUR): A potentially widespread and serious cause of skin infection in fish. *Aquaculture*, 246 (1-4) 63-77. pp.
- Umminger B. L. (1971): Osmoregulatory role of serum glucose in freshwater-adapted killifish (*Fundulus heteroclitus*) at temperatures near freezing. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 38 141-145. pp.
- Wargelius A., Fjelldal P. G., Hansen T. (2005): Heat shock during early somitogenesis induces caudal vertebral column defects in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Development Genes and Evolution*, 215 (7) 350-357. pp.
- Watabe S., Kikuchi K., Aida K. (1993): Cold-temperature and warm-temperature acclimation induces specific cytosolic protein in goldfish and carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59 (1) 151-156. pp.