

---

# Négy, genetikailag különböző hátterű ponty (*Cyprinus carpio* L.) vonal stresszreakciója

**Kormos Balázs**

Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum,  
Mezőgazdaságtudományi Kar,

Állattenyésztés- és Takarmányozástani Tanszék, Debrecen

## ÖSSZEFOGLALÁS

Négy különböző ponty variáns stresszreakcióját teszteltük 10 °C-os hűtés és egyedsűrítéses (100 g/l) módszer segítségével. A kiválasztott variánsok a ponty faj széles genetikai spektrumát öleli fel. A stressz válasz nyomon követését a plazma kortizol, glükóz és lizozim szintjének mérésével végeztük. Mindkét teszt során a variánsok minden egyes paraméterben szignifikánsan eltérő stresszválaszt mutattak, mely azt jelzi, hogy a különböző ponty variánsok megkülönböztethetők általános rezisztenciájuk alapján. Így az általános rezisztencia felhasználható új szelekciós paraméterként a tenyésztési programban. Az így nyert információk hozzájárulnak a hal-környezet kölcsönhatás tökéletesebb megértéséhez és segít a specifikus-rezisztencia kutatásban is. A különböző variánsok ily módon történő jellemzése elengedhetetlen, a környezeti hatásoknak ellenállóbb fajták kialakításában.

## SUMMARY

Four different carp varieties were tested for stress reaction, with the help of 10 °C cooling and 100 g/l crowding. The selected varieties represented a broad genetic spectrum of carp species. The stress was monitored by measuring plasma cortisol, glucose and lysozyme levels. In each test different varieties showed significantly different reaction to stress. This means that they differ in the trait of general resistance. Thus, this trait can be used in selection programmes and the acquired information helps to understand fish-environment interaction and specific resistance. These traits should be used in selection to improve the breeding of new more tolerant species for intensive farming or for organic production.

## BEVEZETÉS

A termelés során a halak folyamatosan ki vannak téve számos külső – főként humán eredetű – hatásnak (szállítás, telepítés, betegségek elleni kezelés, halászat) melyek stresszt okoznak. A környezeti stressz jelentős befolyást gyakorol a halak homeosztázisára – akár csak a többi gerinces esetében. A stresszválasz természetes körülmények között akut válasz a hirtelen környezetváltozásra (Colombo et al., 1990). Ha stressz elhúzódó, mint a tenyésztés, tartás során, súlyos negatív hatást gyakorolhat a szaporodásra, az ivarsejtek termelésére (Campbell et al., 1994), az ivadék mennyiségére és életképességére, a növekedésre, a betegség ellenálló képességre és sok más fontos termelési és tenyésztési paraméterre.

Mindazonáltal, az elmúlt években a haltermelés fokozásának egyik gátló tényezőjévé a halbetegségek váltak. Ezen betegségek megjelenését nagyban elősegítették a különböző, termelés során jelentkező

stresszhatások. Gyógyszerek és vakcinálás segítségével a betegségek hatékonyan gyógyíthatóak. Azonban, figyelembe kell venni ezek – főként az antibiotikumok – káros mellékhatásait, a felhalmozódást és a környezet és fogyasztóvédelmi szempontokat. Mindemellett, a gyógyszeres kezelés csak rövid távú védelmet biztosít a kórokozók ellen.

Ezen tények figyelembevételével, más módszerek használata vetődött fel a betegségek leküzdésében. A szelekciós módszerek kiváló alternatívát jelentenek, a gyógyszeres kezelések segítségével csökkenthetőek, sőt egyes esetekben teljesen kiválthatóak lennének. Két lehetőség adódik a szelekciós módszerekben. Az egyik, hogy a természetes, vagy mesterséges fertőzést túlélt egyedeket továbbtenyésztjük, míg a másik során indirekt szelekciót végzünk olyan paraméterekkel, melyek korrelációban vannak a betegség ellenálló képességgel. Az utóbbi megközelítés előnye, hogy a szelekció kontrollálható és más előnyös tulajdonságok is megőrizhetőek, mivel a vizsgálatokat élő, egészséges halakon lehet végezni (Fevolden et al., 1992). Ugyanakkor, még nincsenek megfelelő módszerek a specifikus rezisztencia kialakítására, így a cél az általános rezisztenciára történő szelekció. Ezen technikák feltétele, hogy találjunk olyan mutatókat, tulajdonságokat, melyek kapcsolatban vannak az általános ellenálló képességgel. Már régóta bizonyított, hogy a halakban kialakuló stresszhatás mértéke laboratóriumi körülmények között nyomon követhető a vér kortizol (Refstie, 1982), lizozim (Røed et al., 1989) és glükóz koncentrációjának mérésével. Ráadásul, ezek a paraméterek genetikai varianciát is mutatnak (Tanck et al., 2000a). A jelenlegi kutatások magas illetve alacsony kortizol és lizozim koncentrációjú vonalak kialakítását célozták meg (Fevolden et al., 1993; Fevolden és Røed, 1993). Két olyan faktor is van, amely leszűkíti a lehetőségeket: 1. egy adott családon belül alacsony (kb. 20%) az olyan egyedek száma melyek szignifikánsan magas vagy alacsony kortizol választ mutatnak, 2. kevés olyan utód van, mely örökli ezt a tulajdonságot. Más adatok azt mutatják, hogy a stressz ellenálló képességet jobban jellemzi az az időtartam, amely alatt a halak képesek a stresszhez alkalmazkodni, mint a stresszt leíró paraméterek (pl. kortizol) maximum amplitúdója (Weil et al., 2001).

A jelenleg folyamatban lévő kísérletek másik célja a stresszrezisztenciára történő szelekció kritériumainak kibővítése a halak esetében. Általánosan használt stresszorok az egyedsűrítés, a hypoxia és a szimulált szállítás. Irodalmi adatok (Tanck et al., 2000b) és korábbi kísérleteink

---

(Kormos, 2000) alátámasztják, hogy a hidegsokk alkalmas szignifikáns stresszválasz kiváltására ponty esetében. A hidegsokkknak megvan az az előnye, hogy a kísérlet beállításai pontosan szabályozhatók és megismételhetőek. Ennek ellenére nem helyettesítheti a korábban használt stresszorokat.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

Korábbi kísérleteinkre alapozva két stressztényezőt választottunk ki (az egyedsűrítést és a viszonylag új hidegsokkot) stresszválasz kiváltására négy ponty variáns esetében. A négy változat (02x2 vonal, Tiszai vadponty, Poljana vonal és a P34 kétvonalas hibrid) a ponty faj széles genetikai spektrumát képviseli. A kísérleti állatok az intézet által fenntartott ponty génbank (Bakos és Gorda S., FAO megjelenés alatt). állományából került leszaportásra.

A halak három hónapos korukban kerültek be a recirkulációs rendszerbe, ahol három hét adaptáció után került sor a kísérletekre. A különböző variánsokat úszócsonkítással jelöltük meg.

### Hidegsokk

Ebben a kísérletben minden variánsból húsz egyedet teszteltünk. Öt mintavételi pont lett kijelölve, 5-5 hallal pontonként. Miután a halak adaptálódtak a 20 °C-os vízhez, a kísérlet előtt egy nappal 60 l-es tartályokba lettek áthelyezve. A kísérlet kezdetekor (0 perc) a kontroll csoportban lévő egyedeket altatóval kezelt vízbe helyeztük és ezután levettük a mintákat. Ugyanekkor a többi 12 tartály betápláló csövét 10 °C-os vízellátásra kapcsoltuk. A vízhőmérséklet 15 perc alatt csökkent 10 °C-ra. A mintavételi pontokon (30, 80, 140 perckor) a halaktól altatás után vért vettünk.

A mintavételkor a hálóval megfogott halak azonnal altatóval (100 mg/l MS222) kezelt vízbe kerültek és ezután a farki vénából 0,3-0,5 ml vért vettünk. A mintákat centrifugáltuk és fagyaszóban -20 °C-on tároltuk az analízisig.

### Egyedsűrítés

Alapvetően az előkészületek és a mintavétel ugyanúgy zajlott ebben a kísérletben is. Azonban itt mintavételi pontonként 10-10 halat vizsgáltunk. A kísérlet kezdetén a kontroll csoportot kivéve a halak kis tartályokba kerültek áthelyezésre, 100 g/l egyedsűrűségben.

### Mintaanalízis

A kortizol méréseket RIA (Radioactive Immuno Assay) módszerrel végeztük. Specifikus radioaktív ( $I^{125}$ ) reagens segítségével, gamma sugárzás mérővel (az MTA Izotóp Intézet gyártmánya) lehetett a koncentrációkat mérni.

A glükóz és lizozim plazma koncentrációját spektrofotometriás módszerrel (Jeney et al., 1997) mértük.

## EREDMÉNYEK

### Hideg sokk

A hideg sokk kísérletben (1. ábra) a plazma kortizol koncentrációja a kontroll csoportokban közel azonos szinten helyezkedett el (70 ng/ml), kivéve a P34 hibridet, melynek szignifikánsan magasabb volt a kortizol szintje (192 ng/ml) már a 0 perc mintavételkor. Három variáns (02x2, Tiszai vad és P34) nagyon hasonló kortizol dinamikát mutatott, azaz a koncentráció gyorsan emelkedett a maximumáig (250-500 ng/ml) a második illetve harmadik mintavétel idejére, azután a kísérlet végén a kiindulási koncentráció közelébe tért vissza. A Poljana variáns esetében lassú emelkedés volt megfigyelhető az egész kísérlet során, és a legmagasabb koncentrációt (400 ng/ml) a kísérlet végén mértük.

Ugyanezen tendenciák igazak a glükóz mérés eredményeire (2. ábra). Az előbb együtt említett variáns ismét hasonló koncentrációváltozást mutatott, azzal a különbséggel, hogy a P34 hibrid glükóz szintje a plazmában nem tért vissza a kiindulási koncentrációra. A Poljana vonal megint koncentrációemelkedést mutatott a kísérlet végéig. Tehát a glükóz koncentráció változása nagyon hasonló volt a kortizol változásához.

A lizozim mérés eredményei (3. ábra) a 02x2 és Tiszai vad variánsok esetében teljesen hasonlóak voltak, a P34 hibrid követte ezek dinamikáját, de az értékek kb. kétszeresei voltak az előző kettőének. Ezen három változat esetében a 30. és 80. perc között kis mértékű csökkenés figyelhető meg, majd a koncentráció visszatér az eredeti szintre. A Poljana vonal kezdeti lizozim értéke kb. az első két variáns értékeivel azonos, de a 140. percre ötszörös mértékűt mutat.

### Egyedsűrítés

Ezen kísérletben a kortizol (4. ábra) koncentráció értékei kisebb skálán mozogtak, mint a hideg sokk során. A variánsok közötti különbségek is kevésbé szignifikánsak voltak. A Poljana vonal ismét szignifikánsan különböző értékeket mutatott, bár a kísérlet végén enyhe csökkenés figyelhető meg.

Figyelmet érdemel, hogy a glükóz koncentráció értékei (5. ábra) sokkal szélesebb skálán mozognak az előző kísérletben mértékhez képest. Ennek hátterében az állhat, hogy korábban, a hideg sokk alkalmával, az alacsony hőmérséklet a halak aktivitásának csökkenéséhez és az izommozgás lassulásához vezetett. Ily módon, a halaknak kevesebb energiára volt szükségük és a glükóz felszabadulása a májból gátlás alatt állt. Ettől eltekintve a hideg stressz kísérlethez hasonló tendenciák mutatkoztak.

A lizozim mérés (6. ábra) szélsőértékei ugyancsak jobban szórtak, mint korábban. És az előző kísérletben észlelt koncentrációcsökkenés most kifejezettebb volt, és szignifikáns csökkenést mértünk a 30. percben vett mintáknál. A hidegsokk során tapasztalt regeneráció, most is kimutatható volt. Egyéb szempontokból az eredmények hasonlóan alakultak, mint korábban.

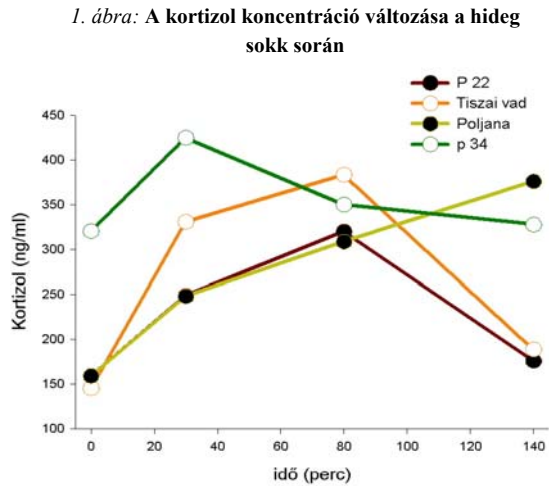


Figure 1: Changes in the cortisol plasma level during cold shock  
Time (min)(1), Cortisol (ng/ml)(2)

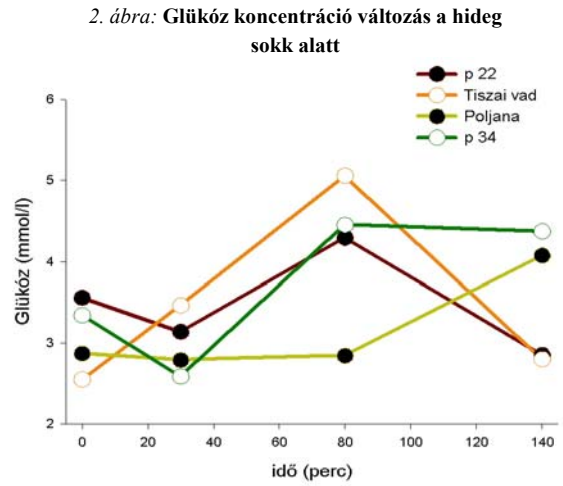


Figure 2: Changes in the glucose plasma level during cold shock  
Time (min)(1), Glucose (mmol/l)(2)

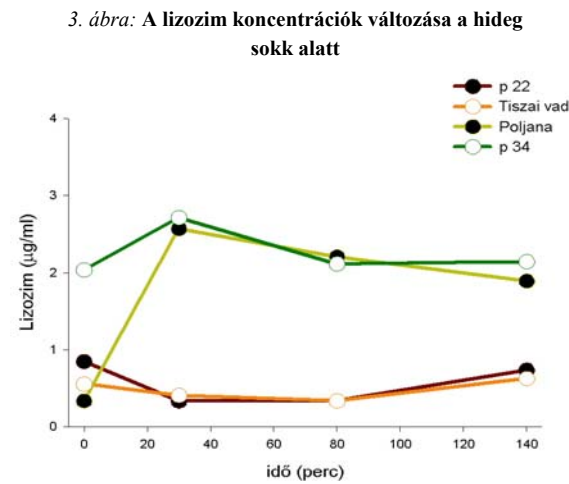


Figure 3: Changes in the lysozyme plasma level during cold shock  
Time (min)(1), Lizozime (µg/l)(2)

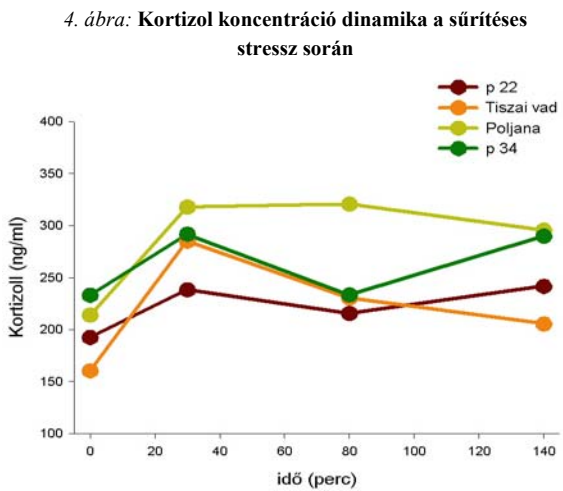


Figure 4: Changes in the cortisol plasma level during crowding  
Time (min)(1), Cortisol (ng/ml)(2)

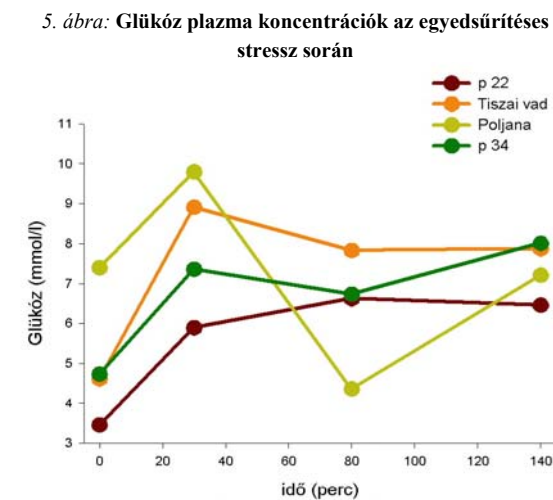


Figure 5: Changes in the glucose plasma level during crowding  
Time (min)(1), Glucose (mmol/l)(2)

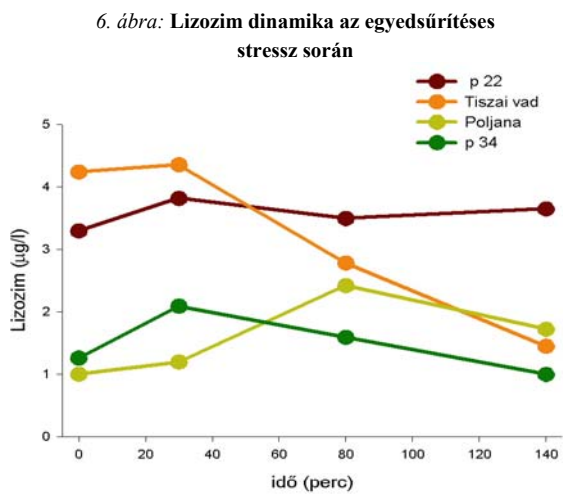


Figure 6: Changes in the lysozyme plasma level during crowding  
Time (min)(1), Lizozime (µg/l)(2)

---

## KÖVETKEZTETÉSEK

Az eredmények igazolták, hogy az alkalmazott hidegsokk és egyedsűrítéses stressz alkalmas stresszválasz kiváltására különböző ponty variánsokban. A hidegsokk esetében a stressz nyomon követésére legjobban a kortizol válasz alkalmas, míg az egyedsűrítésnél a lizozim és glükóz mérések a legkifejezőbbek.

A Poljana vonal mindkét stresszorra a többi variánstól eltérően reagált (hirtelen reakció és lassú

regeneráció jellemzi). A P34-es hibrid pedig magas kezdeti koncentrációival emelkedik ki a többi vonal közül (bár úgy tűnik, képes a gyors akklimatizálódásra).

A hidegsokk és több variáns további vizsgálata szükséges a fajtabank tökéletesebb jellemzése érdekében. Illetve, hosszú távú célunk az eltérő variánsok stresszreakciójának genetikai markerek szintjén történő jellemzése.

## IRODALOM

- Bakos, J.-Gorda, S. (FAO kiadvány, publikálása folyamatban)
- Campbell, P. M.-Pottinger, T. D.-Sumpter, J. P. (1994): Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout Aquaculture, 120. 151-169.
- Colombo, L.-Pickering, A. D.-Belvedere, P.-Schrek, C. B. (1990): Stress inducing factors and stress reaction in aquaculture. In: N. De Pauw and R. Billard (Editors), Aquaculture Europe '89 – Business Joins Science. European Aquaculture Society, Special Publ., 12. Bredene, Belgium, 93-121.
- Fevolden, S. E.-Refstie, T.-Gjerde, B. (1993): Genetic and phenotypic parameters of for cortisol and glucose stress response in Atlantic salmon and rainbow trout. Aquaculture, 118. 205-216.
- Fevolden, S. E.-Refstie, T.-Roed, K. H. (1992): Disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for stress response. Aquaculture, 104. 19-29.
- Fevolden, S. E.-Roed, K. H. (1993): Cortisol and immune characteristics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for high or low tolerance to stress. Journal of Fish Biology, 43. 919-930.
- Jeney, G.-Galeotti, M.-Volpatti, D.-Jeney, Zs.-Anderson, D. P. (1997): Aquaculture. 154. 1-15.
- Kormos B. (2000): A hidegsokk, mint módszer a stresszreakció kimutatásában a ponty (*Cyprinus carpio* L.) esetében. XXIV. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas, 62-70.
- Refstie, T. (1982): Preliminary results: differences between rainbow trout families in resistance against vibriosis and stress. In: W. B. van Muiswinkel (editor), Developmental and Comparative Immunology, suppl. 2. Pergamon Press, New York, NY, 205-209.
- Røed, K. H.-Larsen, H. J.-Linder, D.-Refstie, T. (1989): The genetic influence on natural immunity in rainbow trout. Anim. Gen. (suppl. 1). 54 (abstr.).
- Tanck, M. W. T.-Booms, G. H. R.-Eding, E. H.-Wendelaar Bonga, S. E.-Komen, J. (2000b): Cold shocks: a stressor for common carp Journal of Fish Biology, 57. 4. 881-894
- Tanck, M. W. T.-Tran Thi, H.-Komen, J. (2000a): Effect of genotype on stress response dynamics in common carp (*Cyprinus carpio* L.) Fish Culture and Fisheries Group, Wageningen Institute of Animal Sciences (WIAS), Wageningen University, P.O. Box 338, 6700 AH Wageningen, The Netherlands (part of Ph.D. thesis)
- Weil, L. S.-Barry, T. P.-Malison, J. A. (2001): Fast growth in rainbow trout is correlated with a rapid decrease in post stress cortisol concentrations Aquaculture, 193. 373-380.