

Stofwisselingsonderdrukking bij paling

door Vincent van Ginneken en Guido van den Thillart

In de natuur zijn er verschillende vissoorten die extreme condities weten te overleven door zuiniger met hun energievoorraden om te gaan via een stofwisselingsonderdrukking. Zo kennen we de salamandervis in Australië en de longvis in Afrika die zich ingraven in de modder in het droge seizoen, de kroeskarper in Finland die maandenlang zonder zuurstof kan leven in de met ijs bedekte meren en de goudvis die het enkele uren zonder zuurstof kan stellen. Maar treedt dit verschijnsel ook op in commercieel belangrijke soorten als bijvoorbeeld de paling? Dit is van belang omdat één van de meest voorkomende rampen in kwekerijen zuurstoftekort is leidend tot massale vissterfte.

Aestivation bij de salamandervis en de Afrikaanse longvis

'Aestivation' is de Engelse term voor: 'het droogte seizoen doorkomen door inactief te zijn'. De salamandervis en de longvis bedienen zich van dit mechanisme.

De salamandervis (*Lepidogalaxias salamandroides*) overleeft de droogte periode (die drie tot vier maanden duurt) in het zuidwesten van Australië door zich in een U-vormige positie in te graven in de moerasbodem. Hij ademt lucht en bedekt zijn lichaam met een slijmachtige substantie. Het dier verbrandt vet wat het voordeel heeft dat de ATP (=energie) opbrengst per mol substraat hoog is en er geen giftige eindproducten worden gevormd. De Afrikaanse longvis (*Protopterus aethiopicus*) begraaft zich tijdens het droogte seizoen in een kamer in de modder met alleen een klein ademhalingskanaal. Als het dier water verdampt scheidt het grote hoeveelheden slijm uit die een voor water ondoordringba-

re cocoon vormt hetgeen het dier beschermt tegen uitdroging en infecties. Het record van aestivation bij longvissen schijnt een periode van negen jaar te zijn (7). Bij de longvis is gemeten dat de stofwisselingsnelheid met 67% afnam tijdens aestivation.

Hibernation bij de goudvis en de kroeskarper

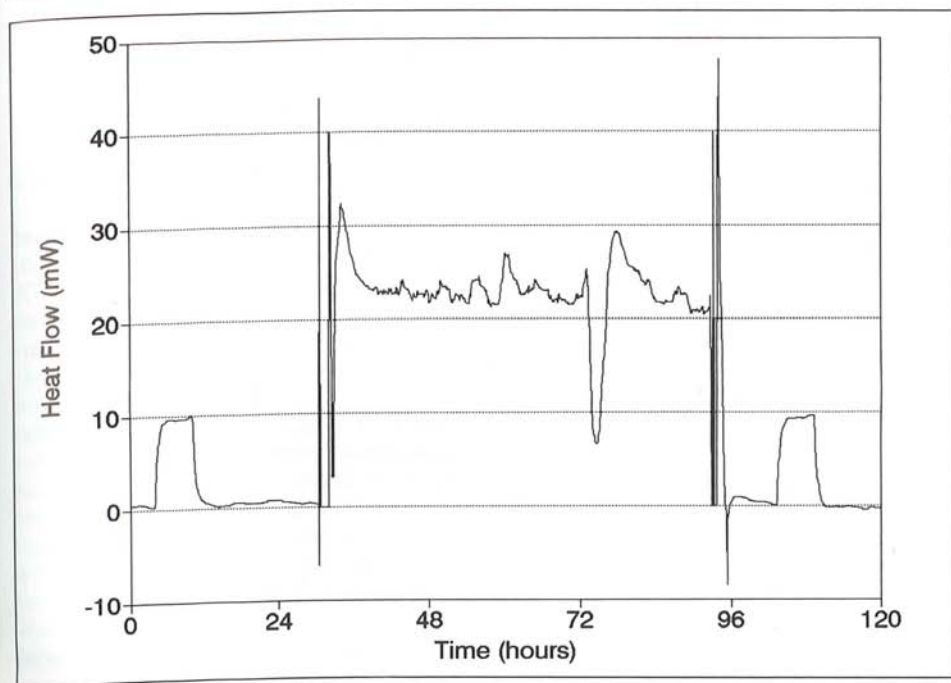
'Hibernation' kan het best vertaald worden met 'winterslaap'. Twee vissoorten, de goudvis (*Carassius auratus*) en de kroeskarper (*Carassius carassius*), zijn de kampioenen onder de vissen om zuurstofloosheid (anoxie) te overleven via hibernation. De goudvis kan 16 uur zonder zuurstof bij 20°C, terwijl de kroeskarper periodes van 6 maanden anoxie kan overleven in de met ijs bedekte Finse meren gedurende de wintertijd. Deze anoxie tolerantie is enerzijds gebaseerd op verhoogde glycogeen voorraden

in lever en spierweefsel en aan de andere kant op een gemodificeerde glycolytische route waarbij glycogeen wordt omgezet tot ethanol en CO₂ welke beide worden uitgescheiden. Daarnaast treedt ook stofwisselingsonderdrukking op. Bij goudvis daalt de stofwisselingsnelheid tijdens anoxie met 70% (2,3).

Stofwisselingsonderdrukking in de aquacultuur

De zuurstofconcentratie van het water is één van de belangrijkste omgevingsfacto-

ren die de overleving van vissen, visproductie en visgroei kan bepalen (1). Ook in de aquacultuur is de palingproductie afhankelijk van de zuurstofconcentratie van het water en in de intensieve palingteelt is zuurstofdonatie met zuivere zuurstof eerder regel dan uitzondering. In de praktijk van de intensieve palingteelt treden vaak in geval van technische storingen en calamiteiten hypoxische en anoxische condities op gedurende periodes van enkele uren. De kweker moet dan binnen enkele minuten op zijn bedrijf zijn om de schade zoals massale



★ *Figuur 1: Een typisch calorimetrie experiment met een paling van 78 gram blootgesteld aan een anoxische (zuurstofloze) periode van een anderhalf uur. Het experiment begint met een ijking van het warmtesignaal door een elektrische stroom door een weerstand te leiden resulterend in een warmtesignaal van 10 mW. Daarna wordt de vis in de calorimeter gestopt. Na een gewenningsperiode van 2 dagen (100% zuurstof) wordt het dier op t=72 uur blootgesteld aan anoxie resulterend in een onderdrukking van de stofwisseling met 70%. Vervolgens wordt weer zuurstof aangeboden. Het dier reageert enkele uren met een iets verhoogde warmteproductie de zogenaamde zuurstofschuld. Op dag 4 wordt de paling uit de calorimeter gehaald en wordt het experiment afgesloten met een ijking.*

sterfte, weigering van voedselopname en vertraagde groei te beperken. In dit artikel willen we aangeven dat paling als soort in vergelijking tot andere commerciële vissoorten over een extreme capaciteit beschikt om met lage zuurstofconcentraties om te gaan en zelfs met zuurstofloosheid. Dit geldt alleen onder stressvrije situaties.

Uit een studie hier uitgevoerd in Leiden door Van Waarde *et al.* (8) blijkt dat het tijdsinterval waarbij 50% van de dieren sterft en 50% overleeft (LT_{50}) na blootstelling aan zuurstofloosheid 5.7 uur bedraagt. Dit lijkt tamelijk lang in vergelijking tot de praktijksituatie maar deze studie was uitgevoerd met paling van ongeveer 80 gram bij een relatief lage temperatuur van 15°C en onder stressvrije condities. In andere studies bij een hogere temperatuur (20°C) werden de volgende LT_{50} waarden gevonden voor Europese paling: 1.4 uur bij 0.60 mg O_2/l , 4 uur bij 0.80 mg O_2/l , 9 uur bij 1.00 mg O_2/l , en 24 uur bij 1.18 mg O_2/l (9).

Paling beschikt blijkbaar eveneens over het mechanisme van stofwisselingsonderdrukking (figuur 1), een reductie van de snelheid van het energie metabolisme beneden de 'Standard metabolic rate' (de basale stofwisseling) (7). In het hier uitgevoerde experiment (figuur 1) met een paling van 78 gram is een dier ongeveer 2 dagen op normoxie in de calorimeter gehouden waarna vervolgens gedurende 1.5 uur anoxie (zuurstofloosheid) is aangeboden (0.5 uur transitiefase hypoxie (anoxie, 1 uur 0% zuurstof). We zien dat de warmteproductie van ongeveer 22 mW tijdens normoxie daalt tot 6.7 mW tijdens anoxie, een stofwisselingsonderdrukking van 70%.

Net zoals de stofwisseling omhoog kan worden gebracht tijdens arbeid kunnen sommige diersoorten onder slechte milieucodities zuiniger met hun energievoorraan omgaan en de ophoping van afvalstoffen tegengaan door de stofwisseling naar beneden te reguleren. Het precieze mechanisme is niet bekend maar vermoedelijk

gebeurt dit door het tijdelijk uitschakelen van organen die op dat moment niet direct belangrijk zijn zoals spierweefsel en een reductie van de bloeddoorstroming. Alleen vitale organen als hersenen en hart krijgen energie om het dier in leven te houden (6). Ook de in de aquacultuur veel gebruikte Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*, Peters) vertoonde een stofwisselingsonderdrukking van 50% tijdens extreme hypoxie (4, 5). Karper en forel daarentegen beschikken niet over dit mechanisme. Vermoedelijk is het een evolutionaire aanpassing voor soorten die gewend zijn te leven in water met lage zuurstofconcentraties.

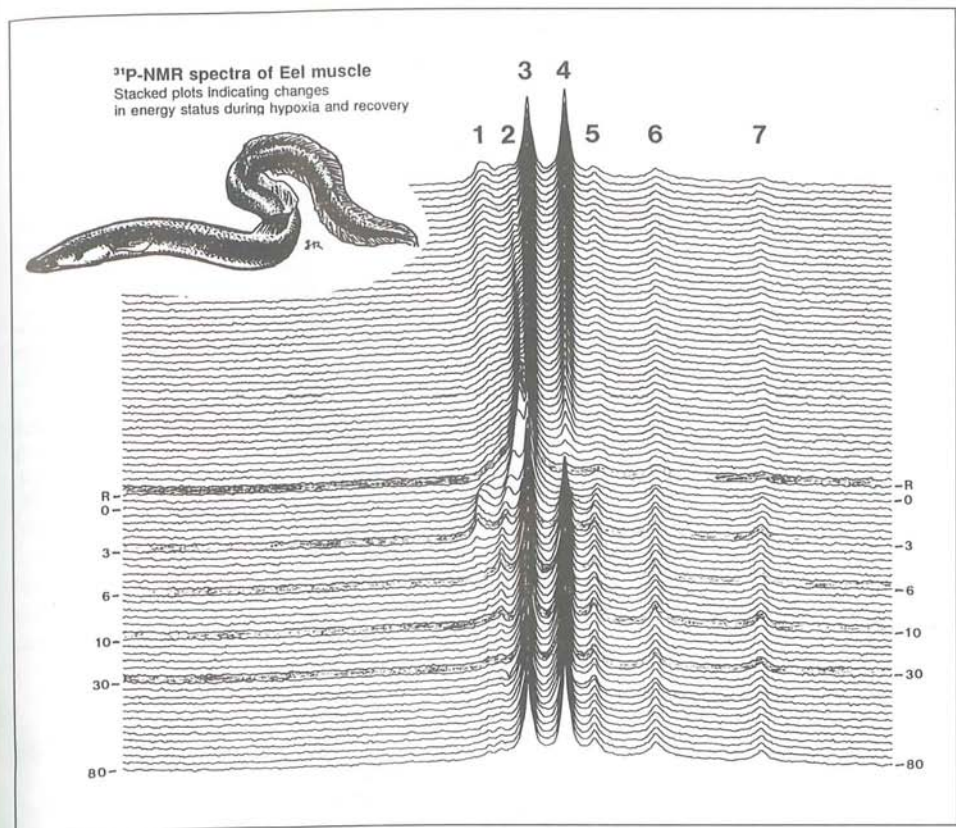
Technieken om stofwisselingsonderdrukking te meten

Met wat voor technieken kan stofwisselingsonderdrukking worden gemeten?

Allereerst door directe calorimetrie, het meten van de warmteproductie bij koudbloedigen. Dit is technisch zeer moeilijk omdat de lichaamstemperatuur van vissen nagenoeg gelijk is aan de omgeving. Daarnaast is het medium water relatief ongevoelig voor temperatuurveranderingen (hoge warmtecapaciteit). Eén van de voorwaarden om zulke metingen te doen is dat het water dat de calorimeter instroomt tot op een 0.0001 graad Celsius stabiel moet zijn. Verder wordt met een tweelingdetectiesysteem gewerkt wat inhoudt dat we twee identieke vaten hebben die in een calorimeterblok zijn ingebouwd, een referentievat en een meetvat met vis. Ieder vat produceert ten gevolge van omgevingsfluctuaties een onregelmatig signaal, maar trekken we beide signalen van elkaar af dan krijgen we een stabiele basislijn (2). Verder kan stofwisselingsonderdrukking met kernspinresonantie ^{31}P -NMR worden gemeten. Dit zijn kort gezegd magneten die je steeds meer in ziekenhuizen ziet als vervanging van de röntgen. Je kunt hierbij niet alleen het watersignaal gebruiken om bijvoor-

beeld tumoren in beeld te brengen maar ook energierijke verbindingen zoals ATP in het lichaam volgen zonder een dier open te hoeven snijden (zie ook Capita Selecta AQUAcultuur mei 1996). Dit is mogelijk omdat de fosforkern paramagnetische eigenschappen bezit in een sterk magneetveld. Een voorbeeld van stofwisselingson-

derdrukking bij paling gemeten met ^{31}P -NMR is weergegeven in figuur 2. In dit experiment is een paling één uur op respectievelijk 30%, 10%, 6% en 3% hypoxie gehouden, gevolgd door 20 minuten op anoxie. We zien dat de concentraties van energierijke verbindingen in spierweefsel alsmede de intracellulaire pH (die afgeleid kan wor-



★ *Figuur 2: Paling in een doorstroomcel geplaatst in een NMR magneet. Er wordt gekeken naar de fosforkern. Het dier wordt blootgesteld aan normoxie (80% zuurstof) en lage zuurstofcondities (hypoxie: 30%, 10%, 6%, 3% zuurstof en anoxie). De oppervlaktespoel is geplaatst op spierweefsel en registreert: 1) glucose-6-fosfaat, 2) anorganisch fosfaat, 3) fosfodiesteres, 4) Creatinefosfaat, 5) (-ATP), 6) (-ATP), 7) (-ATP). Uit de snelheid van afbraak van energierijke verbindingen en de snelheid van verzuring van het spierweefsel valt af te leiden of het dier aan stofwisselingsonderdrukking doet.*

den uit de afstand tussen Creatinefosfaat en Anorganisch fosfaat) afhankelijk zijn van het zuurstofaanbod.

Conclusie

Bovenstaande informatie betekent niet dat de visteler minder alert moet zijn op zijn zuurstofconcentraties. Het kan wel betekenis hebben door die condities te creëren op zijn bedrijf dat het mechanisme van stofwisselingsonderdrukking in noodsituaties tot expressie kan komen. Mogelijk dat dit kan worden bewerkstelligd door minder stressvolle condities te creëren bij mogelijk een lagere bezettingsdichtheid.

Literatuur

- 1) Boyd, C.E., 1979. Water quality in warmwater fish ponds. Auburn University, Agricultural Experiment Station, R. Dennis Rouse, Director/Auburn, Alabama, 359 pp.
- 2) Van Ginneken, V.J.T., Gluvers, A., van der Linden, R.W., Addink, A.D.F. and van den Thillart, G.E.E.J.M., 1994. Direct calorimetry of aquatic animals: automated and computerized data-acquisition system for simultaneously direct and indirect calorimetry in aquatic animals, *Thermochim. Acta*, 247:209-224.
- 3) van Ginneken, V.J.T., Vanderschoot, J., Addink, A.D.F. and van den Thillart, G.E.E.J.M., 1995. Direct calorimetry of aquatic animals: dynamic response of biological processes. *Thermochim. Acta*, 249:143-159.
- 4) Van Ginneken, V.J.T., Addink, A.D.F. and van den Thillart, G.E.E.J.M., 1996. Direct calorimetry of aquatic animals: effect of the combination of acidification and hypoxia on the metabolic rate of fish. *Thermochim. Acta*, 276:7-15.
- 5) Van Ginneken, V.J.T., Addink, A.D.F., van den Thillart, G.E.E.J.M., Noldus, L. and Buma, M., 1997. Metabolic rate and level of activity determined in tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) by direct and indirect calorimetry and videomonitoring. *Thermochim. Acta*, 291:1-13.
- 6) Van Ginneken, V.J.T., van den Thillart, G.E.E.J.M. (1999). Flexible metabolic depression of fish: a Review. In preparation.
- 7) Hochachka, P.W. and Guppy, M., 1987. Estivators, in *Metabolic Arrest and the Control of Biological Time*, Harvard University Press, Cambridge, MA., Chapter 6, pp. 101-119.
- 8) van Waarde, A., van den Thillart, G. and Kesbeke, F., 1983. Anaerobic energy metabolism of the European eel, *Anguilla anguilla* L.. *J.Comp.Physiol.* 149:469-475.
- 9) Wozniewski, M., 1988. Tolérance au déficit d'oxygène chez la civelle (*Anguilla anguilla* L.). *Roczniki nauk rolniczych seria H.T.* 101 Z4: 177-182.

(Advertentie)

STAP NU OVER OP DE GROEIENDE MARKT VAN DE SIERVISTEELT

BEL: 076-5207037

ANDRÉ VAN STIJN

ADVIESBURO VOOR DE SIERVISTEELT

