

Opgewonden vissen: een nieuwe onderzoeksrichting

door dr. ir. Vincent van Ginneken (1), Peter Snelderwaard (1), Rob van der Linden (1), dr. ing. Klaas Kramer (2).

(1) Biologie, Rijksuniversiteit Leiden, (2) VU Amsterdam

Ik haal mijn ideeën onder andere uit de krant. Zo las ik een paar maanden geleden dat ing. Klaas Kramer (VU) gepromoveerd was bij prof. Van Zutphen (UU) op het gebruik van telemetrie bij knaagdieren. Alle medicijnen die wij gebruiken worden eerst getest op proefdieren (vooral ratten en muizen) en belangrijke parameters hierbij zijn bloeddruk, hartslagfrequentie, lichaamstemperatuur en activiteit. Klaas had in muizen en ratten kleine zendertjes van 3 gram ingebouwd die deze parameters rechtstreeks in het dier registreerden en via een ontvanger het signaal direct doorgaven aan een computer (figuur 1). Van Klaas kon ik wat apparatuur lenen en een paar oude zenders en Peter Snelderwaard, onze operatieman heeft een zender bij een goudvis van 60 gram ingebouwd. Trots laat ik de geleende opstelling met goudvis zien aan mijn charmante collega, Olga, uit Spanje die binnen onze groep aan haar proefschrift werkt. Ze komt nieuwsgierig de kleine ruimte binnen en kijkt naar de opstelling. Haar lange blonde haar heeft ze opgestoken zodat haar lange tengere nek en hals goed uitkomen. Gedachteloos trekt ze wat haarspelden uit het haar en schudt het lange blonde haar over haar schouders in de kleine benauwde ruimte bezwangerd met haar parfum. Ik kijk naar het computerscherm die de hartslag van de goudvis registreert en ik kan mijn ogen niet geloven. De hartslag van de goudvis schiet omhoog van 55 slagen per minuut naar 80 slagen per minuut, het dier raakt opgewonden!

Telemetrie bij vissen

Zonder gekheid, nooit geweten dat vissen zo visueel ingesteld zijn en hun omgeving met mensen zo goed kunnen waarnemen. Van onderzoekers op een universiteit in Portugal die aan tilapia werken, hoorde ik in augustus dat als de diervorzorger langs komt dat de vissen wild worden en naar de aquariumruit komen omdat ze weten dat ze dan voer krijgen. Als echter één van de onderzoekers komt die ze uit het aquarium haalt voor allerlei vervelende proefjes dan houden ze zich gedeisd om niet op te vallen. De zendertjes die we ingebouwd hebben zijn 3.36 gram. De afmetingen (lxbxh) zijn 21, 11

en 10 millimeter. Peter kan ze met moeite nog net in een vis van 60 gram inbouwen. De batterij heeft een werkingsduur van ongeveer 3 maanden maar kan tussentijds met een magneet in het proefdier uitgezet worden. Je kunt je dus voorstellen dat je met een proefgroep van 5 vissen in die drie maanden enorm veel experimenten kunt uitvoeren. In figuur 2 is een röntgenopname te zien van een goudvis van 62 gram waarbij we het minuscule zendertje van 3 gram hebben ingebouwd. De twee draadjes die gestrekt naar voren liggen registreren het hartslag-signaal (elektrocardiogram=ECG) waaruit de hartslagfrequentie eenvoudig kan worden

afgeleid door de pieken te tellen. Omdat vissen een enkelvoudige bloedsomloop hebben (1 boezem en 1 kamer) is de vorm van het ECG anders als bij bijvoorbeeld mensen of knaagdieren. Een typisch voorbeeld van een ECG van de goudvis uit figuur 2 is gegeven in figuur 3. Belangrijke parameters die af te leiden zijn uit het signaal zijn dus hartslagfrequentie en mogelijk de vorm van het ECG.

Veelbelovende voorexperimenten

In augustus heb ik met twee vissen met ingebouwde zendertjes enkele piloot experimenten gedaan om een projectaanvraag voor apparatuur te ondersteunen. Een deel van de resultaten is op een congres "Measuring Behavior" in Nijmegen in augustus via een poster gepresenteerd (1). De resultaten zijn nog voorlopig en moeten nog geverifieerd worden maar waren op het eerste gezicht zeer verrassend en veelbelovend.

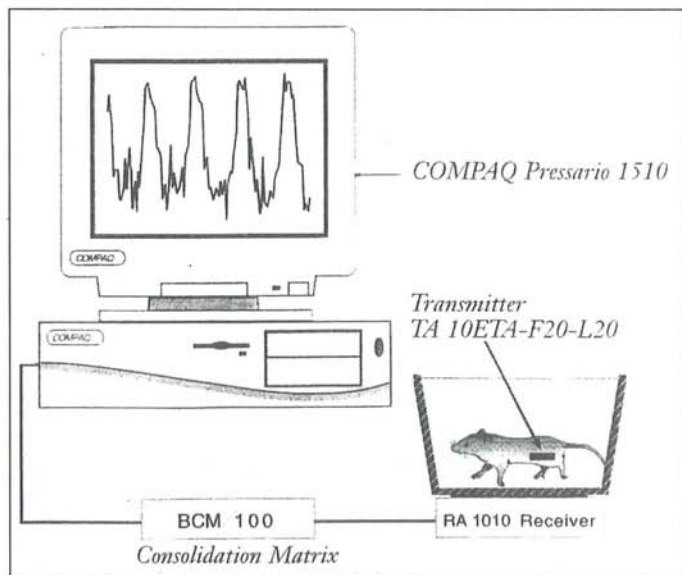
Dag- en nachtritme: Allereerst vonden we geen significant verschil in dag of nachtrit-

me in de hartslagfrequentie bij de eerder genoemde goudvis. De hartslag lag overdag (de eerste dag) gemiddeld op 55 slagen per minuut en 's nachts gemiddeld op 52 slagen per minuut.

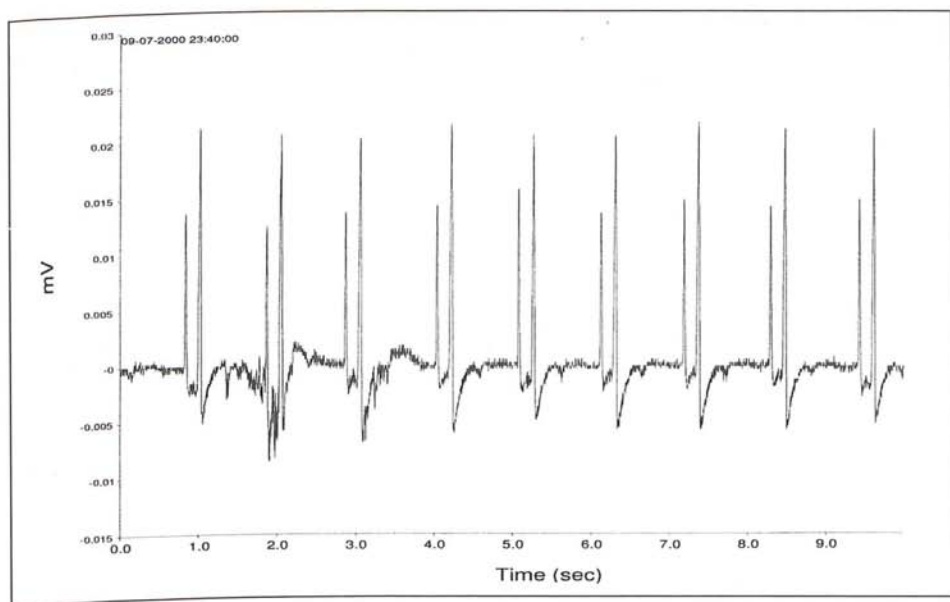
Handling-stress: Ook was nauwelijks een stresseffect (veroorzaakt door het hanteren van het dier) waar te nemen. Bij zuurstofverbruikgegevens wisten wij uit voorgaande proeven dat dat wel het geval is. De eerste dag, na het hanteren van vissen, is het zuurstofverbruik hoger en pas na twee dagen zijn de dieren niet meer gestresst en bereiken het standaardmetabolisme (SMR). Maar bij de hartslag is dit patroon niet waarneembaar. De hartslagfrequentie was de tweede dag overdag gemiddeld 57 slagen per minuut en 's nachts 56 slagen per minuut.

Stresshormoon: Ook hebben we diezelfde arme goudvis (met voldoende tussenpozen) injecties met het stresshormoon adrenaline gegeven. Verrassend, daalde bij een

zeer lage dosis de hartslag naar 36 slagen per minuut, de midden dosis gaf een hartslagfrequentie van 62 slagen per minuut en de hoge dosis gaf een hartslag van 71 slagen per minuut. Dit betekent mogelijk dat eenzelfde stof zowel remmend als stimulerend kan werken afhankelijk van de dosis. Dit resultaat hebben we ook al eerder gevonden bij neurotransmitters in de hersenen (gamma-amino-boterzuur = GABA) die de stofwisseling naar boven of beneden kunnen jagen afhankelijk van de dosis (2).



Figuur 1: Overzicht van de opstelling om cardiovasculaire eigenschappen bij knaagdieren te meten met behulp van telemetrie.



Figuur 2: Elektrocardiogram (ECG) van diezelfde goudvis van 62 gram

Lichaamstemperatuur: Het is verrassend dat de zenders ook temperatuur kunnen registreren. Vissen zijn koudbloedig en hun lichaamstemperatuur is nagenoeg gelijk aan de omgeving. In een gethermostateerde ruimte heeft iemand van onze technische dienst (Rob van der Linden) de zender gekalibreerd met een zeer gevoelige digitale quartzthermometer. Indien we (nog steeds) diezelfde arme goudvis verdoven met een anestheticum MS-222 (50 ppm) zodat het dier wegvalt en op zijn zij gaat liggen (maar wel blijft ventileren) zien we dat over een periode van een uur de lichaamstemperatuur in een regelmatige lijn daalt met 0.135° C.

**Toepassingen voor de viskweker:
sociale interactie tussen vissen
en monitoring waterkwaliteit**

Sociale interactie: Peter heeft ook een zender bij een goudkarper van 100 gram ingebouwd. Het patroon van de hartslagfrequentie is iets onregelmatiger als bij de goudvis. Een goudkarper alleen gehouden,

heeft een gemiddelde hartslag van 35 slagen per minuut. Houden we twee goudkarpers bij elkaar dan is de hartslag nagenoeg gelijk 33 slagen per minuut. Maar zetten we twee verschillende vissoorten bij elkaar, namelijk een goudkarper van 100 gram (met zender) en een tilapia van 60 gram dan gaat de hartslag van de goudkarper omhoog naar 72 slagen per minuut. Ik wist wel dat die tilapia's rotzakken waren maar dit had ik niet verwacht. Misschien een idee voor de viskweker om met zulke apparatuur te kijken welke vissoorten bij elkaar passen of niet.

Waterkwaliteit: En als laatste hebben we getest of met deze apparatuur de kwaliteit van het water af te schatten is door de vis zelf (met zijn gevoelige zintuigen) bloot te stellen aan een waterverzuring van pH 7.2 tot pH 4.0. De totale basislijn van het ECG veranderde en de hartslagfrequentie van de goudkarper daalde tot 18 slagen per mi-

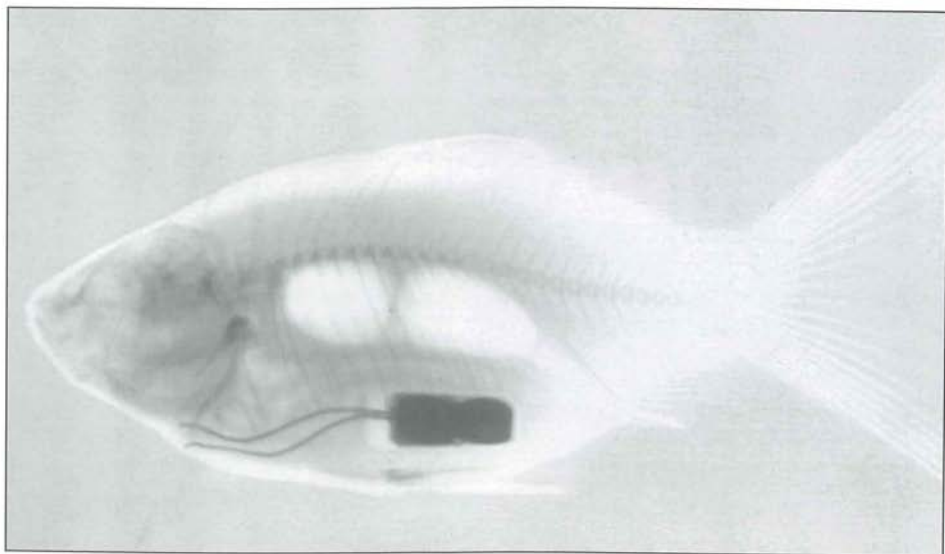
nuut. Je zou je kunnen voorstellen dat je dit systeem kunt gebruiken als monitorings-systeem van rivierwater. Bijvoorbeeld de Rijn die ons land binnenstroomt. Laat water van de Rijn door een bak met vissen lopen met een zender in hun buik. Als de dieren zich niet prettig voelen door een slechte waterkwaliteit zie je dit direct op het computerscherm en kun je bijvoorbeeld een watermonster nemen voor verdere analyse. Ook zou dit systeem mogelijk bijvoorbeeld in een viskwekerij gebruikt kunnen worden om de waterkwaliteit continu te controleren casu qua te bewaken.

Toekomstig onderzoek: Wij hebben zeer veel ideeën om deze techniek toe te passen, bijvoorbeeld om bij vissen onderstofwisselingsonderdrukking (zie Aquacultuur mei 1996: 8-18; Aquacultuur oktober 1999:16-20) de hartslag en bloeddruk te meten omdat er aanwijzingen zijn dat in dieren onder stofwisselingsonderdrukking de bloeddorstrooming plat komt te liggen. Daarnaast willen wij in samenwerking met

Wageningen (Dr. Hans Komen) en Nijmegen (Dr. Gert Flik) zenders inbouwen bij isogene lijnen geselecteerd op hoge cortisol en lage cortisol respons. Mogelijk dat we daar in een vervolgnummer op terug komen.

Referenties

- 1) Ginneken van V., Snelderwaard P., Voss H.P., van der Linden R.; van der Reijden D., Gluvers A., van den Thillart G.; Kramer K. (2000). Cardiovasculair measurements of small fish by radio-telemetry: a preliminary study. Poster presentation. *Measuring Behavior*, Nijmegen 15-18 Augustus 2000.
- 2) Ginneken van, V.J.T.; Nieveen, M.; Muusze, B.; Thillart, van den, G.; Addink, A. (1996a). Effect of D, L-gamma-vinyl GABA (D,L-4-amino-hex-5-enoic acid) on brain GABA concentrations and metabolic rate of fish. Chapter 11 pp. 243-259 in: *Influence of hypoxia and acidification on the energy metabolism of fish: an in vivo ³¹P-NMR and calorimetric study*. Ph.D. thesis, State University Leiden, the Netherlands, 336 pp, 1996.



Figuur 3: Röntgenopname van een goudvis van 62 gram met een zender van 3.36 gram ingebouwd in zijn buikholte.