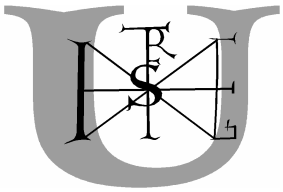


Szent István Egyetem

A HOSSZÚTÁVÚ STRESSZ ÉS AZ EZZEL ÖSSZEFÜGGŐ ANYAGCSERE-FOLYAMATOK VIZSGÁLATA TÖBB HALFAJON

Doktori (Ph.D) értekezés

Hegyi Árpád

GÖDÖLLŐ

2007

A doktori iskola

megnevezése: Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola

tudományága: Mezőgazdaság-tudomány

alprogram: Halbiológia és halgazdálkodás

vezetője: Dr. Horváth László
egyetemi tanár, MTA doktora
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet
Halgazdálkodási Tanszék

témavezető: Dr. Váradi László
egyetemi docens
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet
Halgazdálkodási Tanszék

....

Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék ... 3
1. Bevezetés és célkitűzések ... 8
1.1. Célkitűzések ... 9
2. Irodalmi áttekintés ... 11
2.1. A stressz fogalmának általános meghatározása ... 11
2.2. A stressz felfedezésének története, biokémiája ... 11
2.2.1. A általános adaptációs szindróma (G. A. S.) ... 11
2.2.2. Fogalmi meghatározások ... 12
2.2.3. A stressz ... 13
2.2.4. A stresszor ... 15
2.2.4.1. A stresszorok lehetséges csoportosításai ... 15
2.2.5. A stressz biológiai mechanizmusa ... 16
2.3. A rövid- és hosszútávú stressz következményei ... 17
2.4. A rövid- és hosszútávú távú stressz mérése a humán gyógyászatban ... 18
2.4.1. A rövidtávú stressz mérése a humán gyógyászatban ... 18
2.4.2. A hosszútávú stressz mérése a humán gyógyászatban ... 19
2.5. Stressz a halak életében ... 20
2.6. A leggyakrabban előforduló stresszorok a halaknál ... 21
2.6.1. Természetes stresszorok ... 21
2.6.2. Kísérletes munkák során alkalmazott stresszorok ... 22
2.7. A stresszhatásokra adott válaszreakciók a halakban ... 22
2.7.1. Külső, látható szervi változások halakban ... 23
2.7.2. Belső, nem látható szervi változások halakban ... 23
2.7.3. Hematológiai változások a halakban ... 24
2.7.4. Hormonális változások a halakban ... 25
2.8. Rövid és hosszútávú stressz mérése a halakban ... 27
2.8.1. Rövidtávú stressz mérése a halakban ... 27
2.8.2. Hosszútávú stressz mérése a halakban ... 28
2.9. A laboratóriumi vizsgálataimhoz kapcsolódó irodalmi háttér ... 28
2.9.1. A vízhőmérséklet által kiváltott stressz ... 28
2.9.2. A magas telepítési sűrűség által kiváltott stressz ... 30
2.9.3. Az oxigénhiány által kiváltott stressz ... 32
2.9.4. Ragadozó által kiváltott stressz ... 35
2.9.5. A vér szérum/plazma fruktózamin szintjének évszakos változásához kapcsolódó irodalmi háttér ... 36
2.10. A vizsgált vérplazma-komponensek jellegzetességei ... 37
2.10.1. Glükóz ... 37
2.10.2. A szérum/plazma fruktózamin (SeFa) ... 38
2.10.2.1. A fruktózamin lebontása ... 39
2.10.2.2. A fruktózamin eliminációja, szöveti lerakódása ... 40
2.10.3. Albumin ... 40
2.10.4. Malondialdehid (MDA) ... 41
2.10.5. Glutation peroxidáz (GPX) ... 42
2.10.6. Glutation (GSH) ... 42
2.10.7. Plazmafehérjék ... 43
2.11. Az új stressz-vizsgálati módszer irodalmi előzményei ... 44
3. Anyag és módszer ... 45
3.1. A mintavételek módszere ... 45

3.1.1. A kísérleti halak gyűjtése ... 45
3.1.2. A vérminták gyűjtése ... 45
3.1.2.1. A vérminták előkészítése a biokémiai vizsgálatokhoz ... 46
3.1.3. A vízminták gyűjtése és feldolgozása ... 46
3.2. A kísérleti állatok tartása és takarmányozása ... 46
3.3. Biokémiai módszerek ... 47
3.3.1. A vérplazma glükóz koncentrációjának meghatározása ... 47
3.3.2. A vérplazma szérum/plazma fuktózamin (SeFa) koncentrációjának meghatározása ... 47
3.3.3. A vérplazma albumin-koncentrációjának meghatározása ... 48
3.3.4. A tiobarbitursav-reaktív anyagok (malondialdehid) mennyiségének meghatározása ... 48
3.3.5. A redukált glutation (GSH) koncentráció meghatározása ... 48
3.3.6. A glutation-peroxidáz aktivitás (GSH-Px) meghatározása ... 49
3.3.7. A fehérjekoncentráció mérése ... 49
3.4. Tudományos kísérletek ... 49
3.4.1. Előkísérletek ... 49
3.4.2. Kontroll-kísérletek ... 50
3.4.3. A szérum/plazma fruktózamin (SeFa) szint évszakos változásának vizsgálata ... 51
3.4.3.1. Tavi vizsgálatok ... 51
3.4.3.2 Laboratóriumi vizsgálatok ... 52
3.4.4. Laboratóriumi kísérletek mesterségesen előidézett stressz mértékének megállapítására ... 52
3.4.4.1 Hőmérsékleti sokk által kiváltott stressz vizsgálata ... 52
3.4.4.2. Élettér csökkentése által kiváltott stressz vizsgálata ... 53
3.4.4.3. Oxigénhiány által kiváltott stressz vizsgálata ... 53
3.4.4.4. Ragadozó jelenléte által kiváltott stressz vizsgálata ... 54
3.5. Alkalmazott matematikai és statisztikai módszerek ... 54
4. Eredmények ... 56
4.1. Előkísérletek ... 56
4.2. Kontroll-kísérletek ... 61
4.3. A szérum/plazma fruktózamin (SeFa)-szint évszakos változásának vizsgálata természetes és laboratóriumi körülmények között ... 65
4.3.1. Tavi vizsgálatok ... 65
4.3.2. Laboratóriumi vizsgálatok ... 70
4.4. Laboratóriumi kísérletek, a mesterségesen előidézett stressz mértékének megállapítására ... 74
4.4.1. Hőmérsékleti sokk által kiváltott stressz vizsgálatok ... 74
4.4.1.1. Hőmérsékleti stressz vizsgálatok ezüstkárászon ... 74
4.4.1.2. Hőmérsékleti stressz vizsgálatok pontyon ... 75
4.4.1.3. Hőmérsékleti stressz vizsgálatok amuron ... 77
4.4.2. Az élettér csökkentése által kiváltott stressz vizsgálatok ... 78
4.4.2.1. Élettér csökkentési stressz vizsgálatok ezüstkárászon ... 78
4.4.2.2. Élettér csökkentési stressz vizsgálatok pontyon ... 79
4.4.2.3. Élettér csökkentési stressz vizsgálatok amuron ... 81
4.4.3. Oxigénhiány által kiváltott stressz vizsgálatok ... 82
4.4.3.1. Oxigénhiányos stressz vizsgálatok ezüstkárászon ... 82
4.4.3.2. Oxigénhiányos stressz vizsgálatok pontyon ... 83
4.4.3.3. Oxigénhiányos stressz vizsgálatok amuron ... 84

4.4.4. Ragadozó jelenléte által kiváltott stressz vizsgálatok 86
4.4.4.1. Ragadozóval előidézett stressz vizsgálatok ezüstkárászon 86
4.4.4.2. Ragadozóval előidézett stressz vizsgálatok pontyon 87
4.4.4.3. Ragadozóval előidézett stressz vizsgálatok amuron 88
5. Következtetések és javaslatok 91
5.1. Az előkísérletek eredményeiből levonható következtetések 91
5.2. A kontroll-kísérletek eredményeiből levonható következtetések 91
5.3. A szérum/plazma fruktózamin (SeFa)-szint évszakos változásának eredményeiből levonható következtetések 92
5.3.1. Tavi vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések 92
5.3.2. Laboratóriumi vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések 92
5.4. Laboratóriumi kísérletek, a mesterségesen előidézett stressz mértékének megállapítására irányuló vizsgálatokból levonható következtetések 93
5.4.1. Hőmérsékleti sokk által kiváltott stressz vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések 93
5.4.2. Az élettér csökkentése által kiváltott stressz vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések 93
5.4.3. Oxigénhiány által kiváltott stressz vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések 94
5.4.4. Ragadozó jelenléte által kiváltott stressz vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések 95
5.5. Javaslatok 95
5.6. Az eredmények gyakorlati hasznosítási lehetőségei 96
6. Új tudományos eredmények 97
7. Összefoglalás 98
8. Summary 101
9. Irodalomjegyzék (1. sz melléklet) 104
10. 2. sz. melléklet 127
11. 3. sz. melléklet 133
11. 1. Előkísérletek vízminőségi paraméterei 133
11. 2. Kontroll kísérletek vízminőségi paraméterei 133
11. 3. SeFa-szint évszakos vizsgálatának vizsgálata, tavi vízminőségi paraméterek 135
11. 4. SeFa-szint évszakos vizsgálatának vizsgálata, akváriumi vízminőségi paraméterek 137
11. 5. Laboratóriumi kísérletek vízminőségi paraméterei 138
12. Köszönetnyilvánítás 148

Jelölések, rövidítések jegyzéke

A. R.	alarm-reakció
ACTH	adenokortikotróp hormon
Apo-B	apolipoprotein B
ATP	adenozin-trifoszfát
BCG	brómkrezolzöld (bromcresol green)
cAMP	ciklikus adenozin monofoszfát
CBG	transzkortin, kortikoszteroid kötő fehérje (Corticosteron Binding Globulin)
DNS	dezoxi-ribonukleinsav
DOC	deoxikortikoszteron (Deoxycorticosterone)
EC	extracelluláris
EKG	elektrokardiogram
EU VKI	Európai Unió Víz Keretirányelve
FFA	szabad zsírsav (Free Fatty Acid)
fMRI	funkcionális mágnesrezonanciás képalkotó vizsgálat (Functional Magnetic Resonance Imaging)
FSH	follikulusz stimuláló hormon
G. A. S.	általános adaptációs szindróma (General Adaptation Syndrome)
GHb	glikált hemoglobin
GOD-POD	glükóz oxidáz peroxidáz (Glucose Oxidase-Peroxidase)
GPX	glutation peroxidáz
GR	glutation reduktáz
GSH	redukált glutation
GSH-Px	glutation peroxidáz aktivitás
GSR	generációs stressz válasz
GSSG	glutation-diszulfid, oxidált glutation
HPLC	magas nyomású folyadék kromatográfia (High Performance Liquid Chromatography)
Hsp	hősokk fehérje (Heat Shock Protein)
in vivo	élő szervezeten belüli
K. Sz.	kimerülési szakasz
kDa	kilodalton

L. A. S.	lokális adaptációs szindróma (Local Adaptation Syndrome)
LDL	alacsony sűrűségű lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
LH	luteinizáló hormon, sárgatest hormon
MDA	malondialdehid
mRNA	hírvivő ribonuklein sav (Messenger Ribonucleic Acid)
NADPH	nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NBT	Nitro blue tetrazolium
pH	hidrogénion-kitevő (kémhatás)
PNAS	Nemzeti Tudományos Akadémia Jegyzőkönyve (Proceedings of the National Academy of Sciences)
R. Sz.	rezisztencia szakasza
RHIA	Registered Health Information Administrator
RNS	ribonukleinsav
ROH	alkohol
ROOH	hidroperoxid
SeFa	szérum/plazma fruktózamin
STH	szomatotróp, növekedési hormon
TBA	tiobarbiturát sav
TCA	tiokarboxil sav

1. Bevezetés és célkitűzések

Gazdasági halaink növekedésének és testtömeg-gyarapodásának ütemét a genetikai adottságokon (genotípuson) kívül a különböző környezeti tényezők határozzák meg jelentős mértékben (paratípus). A víz hőmérséklete, illetve oxigéntartalma erősen befolyásolja az anyagcsere intenzitását, illetve az elfogyasztott táplálék mennyiségét. Az élőhely számos más egyéb paraméterében bekövetkezett változás is meghatározza, illetve módosítja a fő fiziológiai folyamatok intenzitását. Ezek a változások részben a hormonális folyamatokon keresztül érvényesülnek.

A halak növekedésének mértékét a környezeti stressz káros hatásai jelentősen csökkenthetik. A stresszreakció akut vagy krónikus válaszként jelentkezik, energiatartalékai mobilizálására késztetve a halat, amely így próbálja meg elkerülni vagy ellensúlyozni a stresszor hatásait.

A haltenyésztés és haltermelés során a halak folyamatosan ki vannak téve számos külső − főként humán eredetű − hatásnak is (szállítás, mesterséges szaporítás, telepítés, betegségek elleni kezelés, halászat). A mesterségesen előidézett környezeti stressz jelentős befolyást gyakorol a halak homeosztázisára, akárcsak a többi gerinces esetében. A környezeti stressz erősen hat az anyagcsere-folyamatokra (szénhidrát,- lipid,- N tartalmú anyagok,- vitamin és az ásványi anyagok anyagcseréjére), amelyek jelentősen befolyásolják a termelés és tenyésztés sikerességét. Egy rosszul megválasztott tenyésztési technológia (pl. túlzott telepítési sűrűség) akár felére csökkentheti a nettó hozamot, komoly veszteséget okozva a tógazdaságnak.

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

A rövid (néhány órás vagy napos) stresszhatások vizsgálata széles körben kutatott terület a haltenyésztésben (pl. szállítás, vagy vízszennyezés), de a hosszú időintervallumú (több napos vagy hetes) vizsgálatok szegényesek, elsősorban az egyszerű vizsgálati módszer hiányából adódóan.

1.1. Célkitűzések

Első célkitűzésem volt, hogy megállapítsam, mely vérplazma-alkotó illetve vörösvérsejt hemolizátum összetevő alkalmas a *hosszabb távú folyamatos stressz kimutatására* halakban. A továbbiakban az erre vonatkozó kísérleteket „ELŐKÍSÉRLETEK" néven említem.

Már az „Előkísérletek" tervezése során felmerült a klasszikus módszertani probléma: milyen mértékben torzítják a kísérletek során alkalmazott módszerek a kísérletek végeredményét. Ezért második célkitűzésem az volt, hogy megvizsgáljam: a mesterséges körülmények (akváriumi tartás) és maguk a vizsgálatok (kiemelés az akváriumból és elsősorban a vérvétel) milyen mértékű stresszt okoznak a kísérleti állományban. Ezeket a vizsgálatokat „KONTROLL-KÍSÉRLETEKNEK" neveztem el.

Az előkísérletek során kapott szérum/plazma fruktózamin (SeFa) szintek eredményeiből adódóan felvetődött a kérdés, hogy hogyan változik az ezüstkárász-vér SeFa-szintje természetes és mesterséges körülmények között? Célom volt tehát ennek a kérdésnek a tisztázása. Ez egyben a vér mindenkori alap SeFa-szintjének megállapítását is jelentette a vizsgált halfaj esetében. Ezeket a kísérleteket „A SZÉRUM/PLAZMA FRUKTÓZAMIN (SEFA) SZINT ÉVSZAKOS VÁLTOZÁSÁNAK VIZSGÁLATÁNAK" neveztem el.

Célul tűztem ki továbbá, hogy bizonyítsam: az adaptált mikromódszeres SeFa meghatározás alkalmas a gyakorlatban előforduló, gyakori stresszorok hatásának kimutatására akváriumi körülmények között is. Ezeket a vizsgálatokat „LABORATÓRIUMI KÍSÉRLETEK MESTERSÉGESEN ELŐIDÉZETT STRESSZ MÉRTÉKÉNEK MEGÁLLAPÍTÁSÁRA" címen említem.

Mivel egy új metodika (a SeFa mikromódszeres mérési metódusának) átültetését végeztem, ezért olyan halfajt – az ezüstkárászt – választottam minden kísérletemben, mely gazdaságilag nem fontos, sőt gyomhalnak minősül. Másrészt az ezüstkárász nagy egyedszámban fordul elő, mind tógazdasági, mind pedig természetes vizekben is. A SeFa évszakos vizsgálatánál is fő szempont volt, hogy nagy egyedszámban fordul elő az ezüstkárász és télen is viszonylag könnyű volt elektromos kutatóhalászgéppel egyedeket gyűjtenem. A laboratóriumi kísérletekben, ahol mesterségesen előidézett stressz hatását

vizsgáltam, az ezüstkárász mellett a pontyot és az amurt vizsgáltam átfogóan. Az amur a tógazdaságok járulékos betelepített növényevő halfaja és a horgászok körében is egyre népszerűbb sporthal. A ponty pedig a legnagyobb mennyiségben (62 – 65 %) termelt halfaj Magyarországon, ezért is fontos volt vizsgálataim alá vonni.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A stressz fogalmának általános meghatározása

Csaknem bármely jelenlevő inger, amely az állatokat éri, viselkedési és élettani változásokat okoz. Ezek közül néhány a környezetben bekövetkező változásokra adott normális válasz, míg a mások a normális tartományon túl vannak és együttesen stressznek említik. Szűkebb értelemben a stresszt úgy határozzák meg, hogy az az izgalmi állapot, amely a túlélést fenyegeti (BRETT 1958).

Mindazonáltal széles körben elfogadott az az állítás, hogy azok a feltételek, amelyek nem életveszélyesek, de gyengítik a táplálkozást, a növekedést, a reprodukciót vagy más szempontból az átlagos teljesítményt és működést, stressznek nevezik. A stimulust, amely előidézi ezeket a változásokat, együttesen stresszorként említik (ROSS és ROSS 1999).

A patogén stressz a halak számára sem kívánatos, akár laboratóriumi, akár tógazdasági állományról van szó (ROSS és ROSS 1999).

2.2. A stressz felfedezésének története, biokémiája

Humán orvosi megfogalmazásban: a stressz az élettel járó elhasználódási folyamatok összessége. Aki megérezte már, hogy mindaz, amit tesz − s az is, amit mások tesznek vele − bizonyos fokig kimeríti és igénybe veszi, az körvonalaiban már érzékeli, hogy mit nevezünk stressznek. A fáradtság, ingerlékenység, a betegség érzete voltaképpen mind a stressz egy-egy megjelenési formája. De a stressz nem jelent feltétlenül beteges elváltozást, normális körülmények között is állandóan kopik a test építménye.

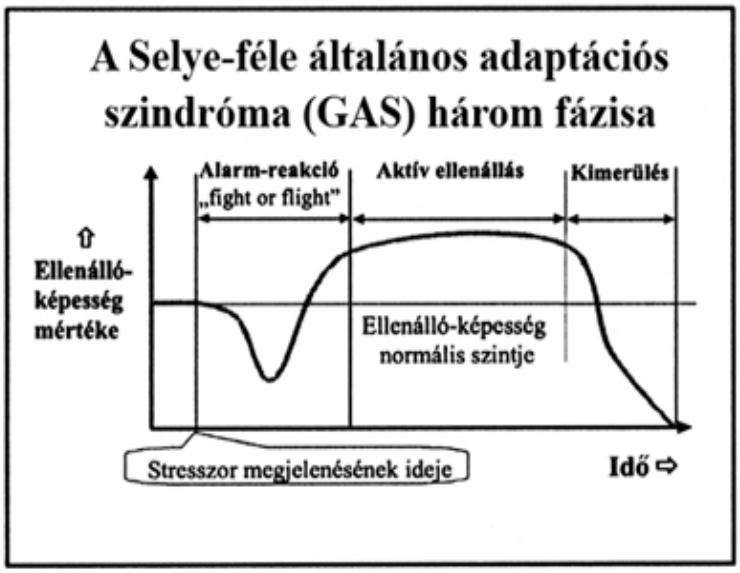
A stressz kutatását mindaddig rendkívül megnehezítette a kimutatható, tárgyi alap hiánya, amíg vagy hetven évvel ezelőtt világossá nem vált, hogy a stressz pontosan észlelhető változásokat okoz a test működésében. E változások némelyike pusztán károsodási tünet; másik csoportja a test adaptációs tevékenységét jellemzi, szervezetünk védekezését a stressz ellen. A változások egésze − a stressz tünetcsoportja − az általános adaptációs szindrómában (G. A. S.) foglalható össze (SELYE 1956).

2.2.1. A általános adaptációs szindróma (G. A. S.)

1936. július 4-én jelent meg az első közlemény Selye János tollából, amelyben megkísérelte bizonyítani, hogy a stressz szindrómája minden fajlagos változástól függetlenül is tanulmányozható. Ez a Nature c. folyóirat egyetlen hasábján, 74 soros

cikkben látott napvilágot “Károsítási tényezőkkel előidézett szindróma” cím alatt (SELYE 1936).

A teljes folyamat tehát az általános adaptációs szindrómával írható le. A teljes szindróma a három szakasz időrendjében a következőkben bontakozik ki: 1. alarm-reakció (A. R.), 2. a rezisztencia szakasza (R. Sz.), 3. a kimerülés szakasza (K. Sz.). A szindróma azért általános, mert kiváltó tényezői minden esetben a test nagy egységeire, általánosan hatnak. Adaptációs azért, mert védettséget hoz létre, segíti előidézni és fenntartani az edzettség állapotát. Végül szindrómának nevezte Selye, mert jelenségek egymással összhangban vannak, sőt nagyrészt egymásból következnek (1. ábra) (SELYE 1956).



1. ábra A Selye-féle általános adaptációs szindróma fázisai

2.2.2. Fogalmi meghatározások

Jóval azután, hogy a stressz szót használni kezdték, többen kritizálták az elnevezést. Egyesek kutatók problémája az volt, hogy a stressz szó változtatás nélkül egyszer azt a tényezőt jelöli, amely az általános adaptációs szindrómát létrehozza, máskor a szervezetnek azt az állapotát, amelyben ez a folyamat végbemegy (SELYE 1956). Ez a kritika kétségtelenül jogos volt, s tanulságaként Selye azt javasolta, hogy nevezzék ezután stresszornak az ágenst, és a stressz kifejezést tartsák fenn magának az állapotnak jelölésére. Kicsit később egy másik váratlan bonyodalom is felbukkant. Kiderült ugyanis, hogy a stressz szó más nyelvekre

lefordíthatatlan. Csak egy ógörög pónosz fedi pontosan, de a modern nyelvek között egy sincs, amely egyetlen szóba tudná sűríteni a stressz összetett értelmét.

Mintán elvetettek olyan kifejezéseket, mint például dommage, agression, tension, détresse, az az egyöntetű vélemény alakult ki, hogy megfelelő fordítás híján az idegen szót kell kölcsönkérni. Alapos megfontolás után úgy döntöttek, hogy a jövevény-kifejezés hímnemű legyen, így:

le stress

Ezzel egy új francia szó született, s a soron következő német-, olasz-, spanyolországi és portugáliai előadásokon Selye már bátran használta a der Stress, lo stress, el stress és o stress kifejezéseket. Ilyen módon tehát a stressz az élő szervezetre gyakorolt nem-fajlagos hatások összességét fejezi ki. Magukat a tényezőket, stressz-okozó képességük miatt, stresszoroknak nevezzük (SELYE 1956).

2.2.3. A stressz

Tudományosan meghatározva, stressznek azt az állapotot tekintjük, amely az általános adaptációs szindrómában nyilvánul meg. Ez (gerinces állatok és az ember esetében) magában foglalja a mellékvese ingerületét, a nyirokszervek zsugorodását, a gyomorbélrendszer fekélyeit, a testsúly csökkenését, a szervezet vegyi összetételének eltolódásait stb. Mindezek az elváltozások egyetlen szindrómát, egységesen megnyilvánuló tünetcsoportot alkotnak.

A stressztől közvetlenül érintett szövetekben az úgynevezett lokális adaptációs szindróma (L. A. S.) alakul ki, így például azon a helyen, ahol baktériumok hatoltak be a szervezetbe.

A lokális adaptációs szindróma és az általános adaptációs szindróma között szoros az összefüggés. A stressz hatósugarában levő szövetek kémiai úton riasztó jelzéseket küldenek a lokális adaptációs szindróma színhelyéről az idegrendszer elosztó állomásaira és az endokrin mirigyekhez, főként a hipofízishez és a mellékveséhez, hogy ezeknek az adaptációs hormonjai meggátolják a szervezet kopási folyamatát. Ez a fajta ellentevékenység azután visszahat a lokális adaptációs szindróma keletkezési helyére is.

Az adaptációs hormonok két csoportba oszthatók: gyulladás-ellenes hormonok (ACTH, kortizon, kortizol), melyek gátolják a védelmi reakciókat, és gyulladás-képző hormonok (STH, aldoszteron, DOC), melyek ugyanezt fejlődni segítik. Mindezeknek az anyagoknak hatása módosítható és szabályozható más hormonok által (adrenalin vagy

pajzsmirigy-hormonok), idegi reakciókkal, étrenddel, öröklött tulajdonságokkal vagy azzal, hogy a test szövetei „emlékeznek" korábbi stresszekre.

A stressz kifejezést gyakran oly laza értelemben használják és oly sok zavaró megállapítást fűznek hozzá, hogy hasznos elsorolni mindazt, amit a stressz nem jelent. Ellentétben számos közhasználatban levő vagy homályos és nemegyszer félrevezető magyarázattal:

1. A stressz nem idegfeszültség. A stressz reakciói olyan, az evolúció korai szakaszát képviselő (alacsonyrendű) állatoknál is előfordulnak, amelyeknek egyáltalán nincsen idegrendszerük. Az alarm-reakciót létre lehet hozni az idegeitől megfosztott végtag mechanikus sértésével is. Sőt, a stressz még a testen kívül, sejtkultúrákban is előidézhető.

2. A stressz nem valamiféle mentőakció, amely a mellékvese-velő hormonjainak felszabadulásával jön létre. Az adrenalin kiáradása gyakran észlelhető olyan heveny stresszben is, amely az egész szervezetre hat, viszont alig észrevehető az általános gyulladásos betegségek (ízületi gyulladások, tuberkulózis) eseteiben, bár ezek is képesek jelentős stresszt okozni; ugyancsak nincs szerepe lokális stressz-reakciókban, melyek csak serülésnek közvetlenül kitett testrészre korlátozódnak.

3. A stressz nem serkenti a mellékvese kérgét, hogy elválassza hormonjait, a kortikoidokat. Az ACTH, a mellékvesét izgató hipofízis-hormon ugyanakkor e kortikoidok elválasztását idézi elő anélkül, hogy stresszt okozna.

4. A stressz nem a károsodás nem-fajlagos következménye.

5. A stressz nem jelent kilengést a szervezet egyensúlyi helyzetéből, az úgynevezett homeosztázisból. Viszont minden élettani funkció (hang, fény érzékelése vagy egy izom összehúzódása) észrevehetően kimozdítja az érdekelt szervet nyugalmi állapotából.

6. Nem a stressz az, ami az alarm-reakciót okozza. Ez a stresszor műve.

7. A stressz nem azonos sem az alarm-reakcióval, sem az általános adaptációs szindrómával. Ezeket meghatározott szervi elváltozások jellemzik, amelyeket a stressz okoz, ennélfogva nem fedik a stressz fogalmát.

8. A stresszt nem lehet nem-fajlagos reakciónak tekinteni. A stressz hatása ugyanis kifejezetten fajlagos. Ez a hatás mindig egy kiválasztott szervre (például a mellékvesére, a csecsemő-mirigyre, a gyomor-bélrendszerre) irányul.

9. Ugyanakkor a stressz a fajlagos reakciók közé sem tartozik. A stressz hatását azért nem lehet specifikusnak tartani, mert voltaképpen mindenfajta tényező előidézheti (SELYE 1956).

2.2.4. A stresszor

A stresszort úgy jelölhetjük meg, hogy „ez az, ami a stresszt okozza”. Annak alapján, amit az előbbiekben a stressz viszonylagosságáról elhangzott, egyértelművé válik, hogy minden ágens többé-kevésbé stresszor is, abban a mértékben, ahogy stressz, illetőleg nem-fajlagos elváltozások előidézésére képes (SELYE 1956).

A stresszor a környezet egy eleme, ami az élőlények élettanában olyan változást okoz, ami csökkent növekedésben, kisebb termésben és termelésben, élettani alkalmazkodásban, a faj adaptációjában nyilvánul meg (McEWEN 1998).

2.2.4.1. A stresszorok lehetséges csoportosításai

Selye a stresszorokat az általuk kifejtett hatás pozitív vagy negatív természete szerint osztotta két csoportra (KAHN és BYOSIERE 1992).

Az eustressz az önbeteljesítés stressze. Az ezt kiváltó stresszorok olyan aktivitások, melyek az általa fontosnak tartott képességei alkalmazására késztetik az egyént, illetve arra, hogy új képességeket szerezzen. Az ilyen stresszorok tehát hosszabb távon építően hatnak.

A hatásában negatív stressz a distressz. Ez akkor lép fel, ha a stresszorral való megküzdés során nincs lehetőség a meglévő képességek felhasználására, vagy újak szerzésére, s ez hosszabb távon testi-lelki károsodáshoz vezet.

A stresszorokat csoportosíthatjuk aszerint is, hogy már megtörtént-e a kellemetlen, félelemkeltő esemény, vagy később fog megtörténni, illetve ettől nem függetlenül, hogy van-e lehetőségünk megküzdeni vele. Így LAZARUS (1977) szerint megkülönböztetünk:

- végleges, visszafordíthatatlan károkat, veszteségeket,
- fenyegetéseket, melyek valamilyen kárnak, veszteségnek az előjelei,
- kihívásokat, vagyis olyan külső ingereket, megterheléseket, melytől a személyiség fejlődhet.

A stresszorokat a szervezetre ható ingerek erőssége szerint is lehet csoportosítani. Megállapíthatjuk, hogy a túl kevés és a túlzott ingerlés egyformán stresszkeltő lehet (SELYE 1974). A túl kevés ingerlés okozta stressz az unalomnak feleltethető meg. Ez a koncepció könnyen kapcsolatba hozható az éberség és a teljesítmény színvonala közti kapcsolat fordított U alakú görbéjével. Ott is azt láttuk, hogy a túl alacsony és a túl

magas aktivációs szint egyaránt a teljesítmény színvonalának csökkenését eredményezi, a kellemetlen szubjektív élmény mellett. Természetesen ez a párhuzam nem véletlen: a stresszállapot többek között nagymértékű éberség-növekedéssel is együtt jár (JUHÁSZ 2002).

2.2.5. A stressz biológiai mechanizmusa

Az idegrendszer a forrása azoknak az ingereknek, amelyek az izmokat összehúzódásra késztetik. Egyes idegek csak egyetlen izomra hatnak, mások szerteágazva több izomra fejtenek ki hatást, bizonyos idegek ugyanakkor egy közvetítő állomásra, az idegdúcokba futnak be. Teljesen hasonló a helyzet az olyan szerveknél is, amelyek működését hormonok, a belső-elválasztású mirigyek által termelt kémiai hatóanyagok szabályozzák. Az egyetlen különbség abban áll, hogy egy ilyen hormonnak nincs saját pályája. A hormonok oldható vegyi anyagok, amelyeket a mirigy a véráramba ürít, s így ezek a test bármely részébe eljuthatnak. Minden hormon egyfajta rejtjeles üzenetet visz magával, melyet csak bizonyos szervek tudnak elolvasni. A véráram ezen futárai a szervezet egy-egy számukra kijelölt részét célozzák meg, éppen úgy, mintha idegekről lenne szó. Minden szerv csak bizonyos speciális hormonok hatására reagál, éspedig vagy közvetlenül, vagy valamely endokrin mirigyen (közvetítő állomáson) keresztül.

Az agyalapi mirigy (hipofízis) egy kis endokrin szerv, mely a koponyacsont agy-alatti részén fészkel. A mellékvese két kis endokrin mirigyből áll, amelyek a vesecsúcsok fölött találhatók. A nyirokszövet a szervezet védelmi mechanizmusának fontos eleme, a fehérvérsejtekhez hasonló parányi sejtecskékből áll. A lágyékban, hónaljban található nyirokmirigyek, a toroküreg mandulái s a mellkasban elhelyezkedő csecsemőmirigy, mind-mind ennek a rendszernek tartozékai. Ami a fehérvérsejteket illeti, ezeknek egy része a nyirokszervekből, másik része a csontvelőből ered. E sejteknek is fontos védelmi szerepük van, főként fertőzések elleni tevékenységük miatt.

Kísérletek folyamán megfigyelték, hogy stressz hatása alatt mind e szövetekben elváltozások keletkeznek (SELYE 1956). A vizsgálatok kezdetén azt gyanították, hogy a csecsemőmirigy valamiféle hormont termel, amely ingerli a mellékvesét. De ezt a feltételezést gyorsan el kellett vetni, hiszen ha a vizsgált állatok csecsemőmirigyét sebészi úton eltávolították, az állatok mellékveséje stressz alatt mégis duzzadást és túlműködést mutatott. Viszont ha a mellékvesét operáltak ki, a csecsemőmirigy már nem hozta létre a stressz-reakció jellemző elváltozásait. Végül az is kiderült, hogy (a kéreghormonokban

gazdag) mellékvesekivonat befecskendezése, még a mellékvese eltávolítása esetén is, előidézte a csecsemőmirigyben a stressz elváltozásait. Világos, hogy a transzport-út a mellékveséből vezet a csecsemőmirigyhez és nem fordítva.

Számos sikertelen próbálkozás után az agyalapi mirigy (hipofízis) eltávolítása után a stressz nem okozott többé ingerületet a mellékvesében. Ugyanakkor − stressz nélkül, sőt a hipofízis eltávolítása után is − egy hipofízis hormon, az ACTH befecskendezése tipikus stressz-reakciót idézett elő a mellékvesében. A mellékvese megnagyobbodott és nagy mennyiségben termelte hormonjait. Ebből világossá vált, hogy a mellékvese a közvetítő állomás szerepét tölti be.

A hipofízis az agyalap csontos vázában van beágyazva és a kortikoidok termelődését adenokortikotróp hormonja (ACTH) útján szabályozza. Annak egyáltalán nincs jelentősége, hogy a mellékvese a hipofízistől távol, a vese fölött helyeszkedik el, hiszen a hormonokat bárhová elszállítja a véráram. Ez a tróphormon a mellékvese kérgét arra ösztönzi, hogy minden alkalmas nyersanyag tartalékát nyomban kortikoiddá dolgozza fel. Miután ez megtörténik, a kortikoidok a véráramba hatolnak, és a szervezetnek azon a pontján lépnek reakcióba, ahol éppen szükség van rájuk. Az ACTH-nak és a kortikoidoknak a riasztó jelzések után beálló szekréciója tisztán fajlagosnak tekinthető. Ennek a folyamatnak célja a kortikoidok elválasztása, amelyek azután visszahatnak a közvetlenül ingerelt pontra, hogy ott a védelmet megszilárdítsák és gyengítsék a felfokozott működését (SELYE 1956).

2.3. A rövid- és hosszútávú stressz következményei

A humán gyógyászatban az akut stressz-szindróma a traumát okozó esemény után közvetlenül (max. 4 héten belül) jelentkezik és 4 hét alatt lezajlik. Amennyiben a tünetek négy hét után is fennállnak, akkor poszttraumás vagy krónikus stressz szindróma a diagnózis. A poszttraumás stressz-szindróma néha csak hetekkel-hónapokkal a traumás esemény után alakul ki. A poszttraumás stressz-szindróma súlyos, többnyire kedvezőtlen kimenetelű betegség. Gyakori szövődmény a depresszió, az öngyilkosság és előfordul a kedvezőtlen személyiségváltozás (agresszív, antiszociális irányú fejlődés).

A mindennapi élet stresszhelyzetei a szorongáson kívül más tünetekkel jellemzett betegségeket is okozhatnak, mint pl. kóros gyászreakció, kimerülés, rövidzárlati cselekmények. Stressz (vagy más szóhasználattal trauma vagy pszichotrauma) következtében alakulnak ki az ún. disszociatív (konverziós) kórképek, melyeket az jellemez, hogy a stressz

hatására megszűnik a beteg kontrollja egyes lelki és/vagy testi funkciói fölött. Az egyes disszociatív (konverziós) szindrómákat a vezető tünetek alapján különítik el, mint pl. disszociatív mozgászavarok, disszociatív konvulziók. Stressz okozhat depressziót (major depressziós szindrómát) is. Rekurrens depresszió esetében gyakran észlelhető, hogy a betegség kezdetén a fázisokat (epizódokat) valamilyen stressz provokálja, és csak több fázis után jelenik meg először provokáló stressz nélkül is a depresszió (BITTER 1996).

2.4. A rövid- és hosszútávú távú stressz mérése a humán gyógyászatban

2.4.1. A rövidtávú stressz mérése a humán gyógyászatban

A humán gyógyászatban a rövid távú stresszt (akut stressz), mint traumát különböző hormonok, az adrenalin (epinefrin) és a vazopresszin (TILDERS et al. 1985), a mellékvesében termelődő kortikoszteroidok, a hipotalamuszban termelődő szerotonin (VERMES et al. 1973), valamint a hasnyálmirigyben termelődő inzulin mennyiségének, illetve a vér glükóz-szint változásának mérésével vizsgálják (PEI et al. 2003). A hormonmérési vizsgálatok kiterjednek a vizeletre, vérre és a nyálra is (JUHÁSZ 2002).

Leggyakrabban a rövidtávú stresszt az ún. napi bosszúságokat mérő eljárásokkal kutatják. Ezek a mindennapi bosszúságok olyan, mindannyiunkkal gyakran előforduló, kis stresszt jelentő eseményeket jelentenek, mint pl. közlekedési dugó, késedelem egy találkozóról, kulcsaink elvesztése, stb. Több vizsgálat szerint ezeknek az eseményeknek az összegződése jól jelzi a különböző stressz-tüneteket. Az egyik legismertebb ilyen mérőeszköz a szintén önbeszámolón alapuló Bosszúságok és Lelkesedések Kérdőív (DeLONGIS et al. 1988). Itt a válaszadók azt is megjelölik egy 4-fokú skálán minden egyes velük előfordult eseménynél, hogy az mekkora bosszúságot, vagy lelkesedést váltott ki belőlük. A napi bosszúságok felmérését torzíthatják jellegzetes egyéni különbségek a válaszadók személyiségében, illetve pillanatnyi hangulatában (JUHÁSZ 2002).

Az Energy-Lab Technologies GmbH német cég CardioScan berendezésével a világon egyedülálló terméket hozott forgalomba az EKG-t készítők, felhasználók számára, mely teljesen újszerű jelfeldolgozáson alapszik. Lényege, hogy egy speciális algoritmus segítségével történik az EKG jelek olyan mikro-eltéréseinek kiértékelése, amelyet a szem már nem tud érzékelni. Az így kinyert többlet információ segítségével a készülék nem csak kiértékeli a kapott információt, hanem vizuálisan megjeleníti a szív háromdimenziós képét (topológiai leképezés, az EKG jelek vektorgrafikus megjelenítése), és a szükséges

figyelmeztetést is megadja, amennyiben a kapott érték egy átlagos értéktől lényegesen eltér. A CardioScan igen rövid idő alatt egy személyre szabott működési analízist nyújt a szív elektromos jellemzőiről és a felhasználó pillanatnyi stressz-állapotáról. A rendszer felismeri a korai zavarokat és rámutat az aktuális kedvezőtlen eltérésekre. CardioScan nem igényel a felhasználótól speciális orvosi ismereteket (CARDIOSCAN CARDIOVASCULAR CONSULTANTS P. C. 2007).

WANG és munkatársainak (2005) első alkalommal sikerült olyan felvételeket készíteniük, amelyen jól látható az embereket érő mindennapos, pszichológiai jellegű stressz. A képeken az egészséges agyra gyakorolt hatások láthatóak. A vizsgálatokhoz az úgynevezett funkcionális mágneses rezonanciás képalkotó eljárást (fMRI) használták. Ezzel a működő agy aktivitását lehet megfigyelni a véráramlás nyomon követésével (az aktív agyterületek vérellátása megnő).

Az új vizualizációs eljárás minden eddigi módszernél hatékonyabb stressz-kimutatási technika a káros egészségi hatások megjelenítésére. A kutatásról szóló eredeti beszámolót a Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS) c. folyóirat online változata közölte (WANG et al. 2005).

2.4.2. A hosszútávú stressz mérése a humán gyógyászatban

A stressz mérése nem könnyű feladat, az eljárások a szubjektív kikérdezéstől a gyakran szegényes, standardizált kérdőívekig terjedhetnek (GRAY 1992).

A hosszútávú, elhúzódó stresszt elsősorban külső és belső szervi elváltozásokkal mérik a humán gyógyászatban, amelyek közvetve vagy közvetlenül előidézhetnek olyan állapotokat ill. betegségeket, mint szívinfarktus, agyvérzés, asztma, emésztési zavarok, gyomorfekély, krónikus álmatlanság, olyan függőségeket, mint rendkívül erős dohányzás, alkoholizmus.

A stressz továbbá hozzájárul a már kialakult komoly betegségek súlyosbításához. A sclerosis multiplexben vagy rákban szenvedő emberek között a betegség lefolyása jóval gyorsabb azoknál, akik nem tudják kontrollálni stressz-szintjüket, szemben azokkal, akik tudják (DALLOS 2001).

A stresszorok mérésére alkalmas eszköz a HOLMES és RAHE (1967) féle Életesemény Skála. Ez olyan − az egyén életében fontos és jelentős mértékű alkalmazkodást kívánó − eseményeket mér, amelyek az elmúlt 6-12 hónapban történtek a személlyel.

A krónikus megterhelések felmérésének is megvannak a jellemző módszerei. Ezeknek a krónikus stresszoroknak a felmérésére is a leggyakrabban önkitöltős kérdőívet alkalmaznak.

A munkahelyi krónikus megterhelések megfigyeléses módszerekkel is felmérhetőek. Az egyik az ún. RHIA (GREINER és LEITNER 1989), mely a feladattal kapcsolatos mentális stressz forrásait méri. A RHIA módszer egy továbbfejlesztett változatát GREINER (1994) használta buszsofőrök munkájának felméréséhez. Ez az eljárás hat dimenziót mér: a munka akadályokat, a monoton munkakörülményeket, a munkaszünet időtartamát, a kedvezőtlen környezeti tényezőket, időbeli kötöttséget és az alapvető fizikai szükségletek kielégítésének akadályozottságát (JUHÁSZ 2002).

Meg kell jegyezni, hogy – ugyanúgy, ahogy a műszeres mérések – a kérdőíves eljárások sem tévedhetetlenek. Itt is felléphetnek torzító tényezők. Ezek a torzító hibák kivédhetőek a megfelelő hosszúságú és gyakoriságú mérési periódusokkal, illetve más mérési módszerekkel való kombinálással (JUHÁSZ 2002).

2.5. Stressz a halak életében

A halak a tényleges és a lehetséges stresszt is érzékelik. Stresszválaszuk gyakorlatilag olyan, mint az emberé. Idegrendszerük észleli a fenyegetést, és majdnem azonnal adrenalint bocsát a véráramba. Ezt a hormont közvetlenül más hormonok is követik, mint például a kortizol, aminek az egésze a menekülésre fordítódik (MAZEAUD és MAZEAUD 1981).

Stresszhatásra a vércukor szintje, a vörösvérsejtszám, a szívverés frekvenciája, valamint a szív oxigénellátottsága megnövekszik, az emésztés viszont ideiglenesen abbamarad. Egy rövid ideig tartó inger (egyik medencéből a másikba helyezés) hatása általában nincs egyenes arányban az elváltozás nagyságával. Amíg egy hal nem élt át fokozott igénybevételt, amely megnövekedett vércukor-mobilizációt kíván (melyek elsősorban arra szolgálnak, hogy növeljék a hal képességét a menekülésre a veszélyből), addig más stresszindikátorok termelődése jelentősen háttérbe szorul (WEDEMEYER 1976, CARRAGHER és SUMPTER 1990). Az adrenalin zavarja az ionszállítást a kopoltyúhártyánál, ahol csak kevés sejtréteg különíti el a szervezetet a külső környezettől. Az adrenalin és a kortizol a kopoltyú áteresztő-képességében okoz ideiglenes változásokat (MAZEAUD et al. 1977, FOLMAR és DICKHOFF, 1980). Következésképpen a vér kalciumot, magnéziumot, nátriumot és más létfontosságú elektrolitokat szállít a normálisan működő térből. Ahhoz, hogy az állatok megpróbálják az élettani és metabolikus „rendet”

helyreállítani, értékes, tárolt energiát fogyasztanak, amivel így kevesebb esélyük lesz egy későbbi kórokozóval szemben megkűzdeniük vagy alkalmazkodni új környezeti feltételekhez (WEDEMEYER 1972).

A kromaffin sejtek a vese elülső részében helyezkednek el a halakban és erős serkentést követően katekolamin-hormonokat: adrenalint és noradrenalint (epinefrin és norepinefrin) bocsátanak ki közvetlenül a véráramba. A hipotalamusz az agy alapjában helyezkedik el és az apró agyalapi mirigy (hipofízis) közvetlenül ehhez csatlakozik. Több hormon termelődik ezekben a szövetekben és megfelelő inger hatására ezek a véráramba jutnak. Ezek közül a hormonok közül soknak van közvetlen metabolikus hatása is. A adenokortikotropin hormon (ACTH), mely az adenohipofízis pars distalis részében termelődik hatással van a mellékvesekéregre (szuprarenális cortex), melyben szteroidhormonok képződnek. Ezek a hormonok a kortizol, kortizon és a kortikoszteron. Ezeknek a hormonoknak kibocsátását befolyásolja a stresszor természete és intenzitása, de szintén befolyásolhatja a kor, az állatok neme és a környezet hőmérséklete. A hirtelen megnövekvő katekolamin-hormonok képesek arra, hogy közvetlen reakciókat idézzenek elő (harcolj vagy menekülj reakció), amelyek néhány másodperctől egy óráig tarthatnak (ROSS és ROSS 1999).

A megnövekedett hormonszintekre meglehetősen következetes a válasz és képessé teszi az állatokat, hogy reagáljanak egy adott környezeti változásra. Döntő bizonyíték van arra, hogy még a vér kortizol szintjének kis növekedése is reakciót vált ki, hiszen injekcióval bejutatott kortizol ártalmas hatással volt a halakra. A stressz fokozott betegségfogékonysághoz, növekedési depresszióhoz és reproduktív kudarchoz vezethet (PICKERING 1993).

2.6. A leggyakrabban előforduló stresszorok a halaknál

2.6.1. Természetes stresszorok

A természetes stresszorok közül többen is vizsgálták már a dominancia rangsor hatását (GILMOUR et al. 2005, POTTINGER és PICKERING 1992, CORREA et al. 2003). Ezeknél a vizsgálatoknál a kortziol meghatározása volt a legfőbb vérparaméter. Kimutatták, hogy a magas kortizolszint felelős sok ártalmas élettani következményért a dominancia rangsorban alacsony szinten lévő halaknál, beleértve az alacsony növekedési rátát és az erőnléti állapotot. Ugyancsak a kortizol mennyiségek alapján vizsgálták a halak élettani válaszát vándorlás

alkalmával (SHRIMPTON et al. 2001). Természetes vízélettani hatásokat, a hőmérsékletet, pH-t, sókoncentrációt (DOMINGUEZ et al. 2004, VAN HAM et al. 2003) valamint az oxigénhiányt (MONTPETIT és PERRY 1998) is átfogóan tanulmányozták már különböző víztípusokban. Fertőzések okozta elváltozásokat, elsősorban bakteriális terhelést BILODEAU és munkatárasai (2005) vizsgáltak, melyben a vér mellett a vese és a lép elváltozásait is kutatták.

2.6.2. Kísérletes munkák során alkalmazott stresszorok

A mesterségesen (medencékben, akváriumokban, kisebb tavakban) alkalmazott stresszorok száma nagy és ezek szinte kivétel nélkül az emberi tevékenységek (tenyésztés, tartás, szennyezés) hatásait modellezik. A legrészletesebben kutatott terület a környezeti szennyezések (LINDSTROMSEPPA et al. 1996, NOLAN et al. 2003), azon belül pedig is a nehézfémek hatása (LAPPIVAARA és MARTTINEN 2005, BRODEUR et al. 1997, TORT et al. 1996, HEGYI et al. 2005). Az utóbbi években előtérbe került a gyógyszerszennyezések vizsgálata is, melyek elsősorban a tisztított szennyvízzel jutnak a tavakba, folyókba (HALLARE et al. 2004). A tenyésztés során jelentkező túlzsúfoltság (BARCELLOS et al. 1999, MONTERO et al. 1999, ROTLLANT és TORT 1997), valamint ketreces tartáskor a bezártság (POTTIGER et al. 1992, CARBALLO et al. 2005, NOGA et al. 1999, CARRAGHER és REES 1994) is fő kutatási irány a szakemberek számára.

2.7. A stresszhatásokra adott válaszreakciók a halakban

Az elmúlt 30 év folyamán jelentős mennyiségű kutatómunkát végeztek a stressz kimutatására halak esetén (WEDEMEYER 1970, WARDLE 1972, WARDLE és KANWISHER 1974, CASILLAS és SMITH 1977, SOIVIO et al. 1977, ROSS és ROSS 1983, YARON et al. 1983, PICKERING 1993), de csak kevés az, amelyből általános megállapításokat lehet levonni. Az utóbbi években több kutató próbált meghatározni egy olyan általános stresszválaszt, amely minden stresszor esetén megjelenik. Kialakították – a Selye féle általános adaptációs szindrómához hasonlóan – a generációs stressz választ (G. S. R.), amelyben a kezdeti fázist a stresszorral szembeni megkísérelt ellenállás időszaka követte. Ezek a fázisok nagymértékben függenek a stresszor nagyságától és időtartamától. Ezt a két fázist a kimerültség követheti, amelyben a halak egészsége és kiegyensúlyozott élete erősen veszélyeztetett. A G. S. R.-szal kapcsolatban kisebb nézeteltérések vannak a kutatók között,

miszerint nem tartják eléggé általánosnak. Ennek az oka egyszerűen az, hogy a stresszorokra adott válaszok nagyon változóak. A halakban ROSS és ROSS (1999) vizsgálta a legáltalánosabban a tresszorok hatásait.

2.7.1. Külső, látható szervi változások halakban

A stressznek több jellemző külső jele a végtagok mozgási zavara (*ataxia*), a szapora légzésszám és a test színváltozása. A szapora légzést (*tahikardia*) bizonyítja a kopoltyúfedő 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. Minden hal valamelyest képes megváltoztatni a színét, a látható színkép 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).

2.7.2. Belső, nem látható szervi változások halakban

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

A legalapvetőbb élettani szint a szívműködés, melyben stressz hatására egy vagy több szívverés kimarad egy adott stresszválaszban, amelyet egy egyszerű EKG elektródabeültetéssel is bizonyítottak. Általában egy csekély stimulus viszont nem okoz ilyen negatív hatást. Az erőteljesebb stressz hosszadalmas hatásokat teremthet a halakban, melyek nem múlnak el 24 órán belül sem (RANDALL 1970).

A szív mellett több szerv működését is vizsgáltak 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 et al. 2004). Hőmérsékleti stessz alkalmazása során a here rendellenes fejlődését írták le pontyon (*Cyprinus carpio* L. 1758) (GOOS és CONSTEN 2002). Ugyancsak az ivarszervek változását vizsgálták szivárványos pisztrángon (*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 et al. 1992). A lép realatív tömegének csökkenését tapasztalták portugál kutatók oxigénhiányos környezetben (HENRIQUE et al. 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 sügéren (*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 et al. 2002). CAMPBELL (2003) ugyancsak hőmérsékleti stressz hatására a lazacok (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792 és *Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum, 1792) kopoltyúívének deformációját figyelte meg.

2.7.3. Hematológiai változások a halakban

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 (SMITH 1982, PIERSON et al. 2004). A kortizol és a glükóz mennyisége növekszik, melyek a legáltalánosabban használt vérplazmaalkotók a stresszválaszok meghatározásánál (UMMINGER 1971, HARMON és JOHNSON 1980). Egyes vizsgálatok alkalmával a tejsav mennyiségét (HEATH és PRITCHARD 1962), a hematokrit értéket (SOIVIO és OIKARI 1976) és a lizozim aktivitást (JENEY et al. 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, megszabják az adott fehérje sorsát a sejten belül (ELLIS és VAN DER VIES 1991, HARTL 1996). A stresszfehérjék sejten belüli mennyisége a változatos stresszek hatására 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) (KIKUCHI et al. 1993, WATABE et al. 1993), majd később szivárványos pisztrángon (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) (WILLIAMS et al. 1996, CURRIE és TUFTS 1997) folytattak kutatásokat. Ma már szinte

minden halfajon vizsgálták a hősokk fehérjéket a zebradániótól (*Danio rerio* Hamilton, 1822) (IWAMA et al. 2004) a lazacig (*Salmo salar* L. 1758) (WARGELIUS et al. 2005).

2.7.4. Hormonális változások a halakban

Stressz hatásra gyakorlatilag két, hormonokból álló csoport, a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely hormonjai, főként kortizol és a katekolaminok termelődnek.

A kortizol a glükokortikoidok csoportjába tartozó szteránvázas vegyület, mely szabályozza a szénhidrát-, fehérje-, zsír-, és purin anyagcserét, továbbá az elektrolit-, és vízháztartást. Gyulladáscsökkentő (anti-inflammációs) hatású is. A vérplazmában egy speciális fehérjéhez, a transzkortinhoz (más néven kortikoszteroidkötő fehérje, CBG) kötve szállítódik (SELYE 1956). A humán gyógyászatban a kortizol mennyiségének a vérplazmából történő meghatározása, a Chusing-szindróma (túlzott kortizol kiválasztás), vagy az Addison-kór (csökkent produkció) diagnosztizálására szolgál. A szintézis prekurzora a koleszterin, amelyből az oldalláncot a húszas szénatomnál egy citokróm P-450 típusú enzim hasítja le, így pregnenolon keletkezik. A pregnenolonból progeszteron keletkezik a 3-β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz és a $\Delta^{5,4}$-izomeráz hatására. A mellékvesekéregben a progeszteronból a továbbiakban vagy mineralokortikoidok, vagy glükokortikoidok képződnek. A *zona fasciculata* sejtjeiben a szintézis a glükokortikoidok (kortizol) irányába folytatódik a 17α-hidroxiláz enzim segítségével. A *zona glomerulosa* sejtekben ez az enzim hiányzik és ott mineralokortikoidok keletkeznek. A *zona fasciculatá*ban végül a 21-hidroxiláz és a 11β-hidroxiláz enzimek hatására a legfőbb glükokortikoid hormon, a kortizol keletkezik (ÁDÁM 2001).

A szintézis szabályozásában kulcsszerepe van a hipofízisben keletkező és a vérárammal a mellékvesékhez szállítódó adenokortikotróp hormonnak (ACTH). ACTH-hatásra a cAMP szintje megemelkedik. A cAMP hatására aktiválódó protein kináz A foszforiláció segítségével enzimek és transzporterek működését tudja szabályozni. A glükokortikoidok szintézisében meghatározó, hogy elegendő szabad (nem észterifikált) koleszterin álljon rendelkezésre. ACTH hatására a *zona fasciculata* sejtjeiben koleszterin mobilizálódik a koleszterin-észter raktárakból és fokozódik a koleszterin mitokondriumba történő transzportja. (Ugyanezeken a pontokon és ezzel a mechanizmussal történik a nemi hormonok szintézisének szabályozása az ovariumban és a testisben. Ezt azonban nem az ACTH, hanem a hipofízis megfelelő hormonjai, a luteinizáló hormon (LH) és a follikulusz stimuláló hormon (FSH) stimulálják. A stimuláló hormonok minden esetben a

hipofízisből a hipothalamusz által szintetizált releasing hormonok hatására szabadulnak fel, és szintézisük csökken, ha a vérplazmában a megfelelő szteroidhormon (nemi hormon, mineralokortikoid vagy glükokortikoid) szintje megemelkedik. Így a keringés és több szerv közreműködésével ezek a hormonok indirekt módon, negatív feedback hatással gátolják önmaguk szintézisét (ÁDÁM 2001). A kortizol okozta hatásokat az 1. táblázat mutatja.

Okozó	**Hatás**
Szteroid: kortizol vagy kortizon	Fokozott fehérjemozgósítás Fokozott fehérjeszintézis Növekedésgátlás Csökkentett szénhidrát hasznosítás Fokozott glükóztermelés szövetfehérjéből A májban levő glikogén bontás Membránáteresztő képesség változása Fokozott Na/K-ATP-áz termelés és aktivitás Növekvő leukocita szám Csökkent immunreakció-készség

1. táblázat A megnövekedett szteroidok okozta hatások

A katekolamin hormonok, az adrenalin (epinefrin) és noradrenalin (norepinefrin) − amelyeket vese feji részének kromaffin sejtjei bocsátanak ki − termelődése jelentős változásokat idéznek elő, melyet az 2. táblázat összegez. Ezek a változások viszonylag gyorsak és néhány másodperctől néhány óráig tarthatnak.

Okozó	**Hatás**
Katekolaminok: epinefrin és/vagy norepinefrin	Szapora szívműködés és szívteljesítmény Szapora légzés Értágulás vagy érszűkület Vércukor szint emelkedik Vérlaktát szint emelkedik A szabad zsírsavakban változások következnek be A hematokrit érték növekszik Glükogenesis májban és izomban Bélmozgás erősödik

2. táblázat A megnövekedett katekolaminok okozta hatások

A hormonok hatásai széleskörűek, és gyakran ártalmasak is a halakra, ha huzamos ideig nagy mennyiségben vannak jelen a szervezetben (WEDEMEYER 1969, FAGERLUND és DONALDSON 1970, FRYER 1975, SINGLY és CHAVIN 1975).

2.8. Rövid és hosszútávú stressz mérése a halakban

A halaknál alkalmazott stresszmérési eljárások elsősorban az egyes szervek elváltozásainak vizsgálatával és a vérben található anyagok mennyiségének meghatározásával történik. Nincs általános definíció a rövid-, és hosszútávú stressz időtartamára. GHOSH és munkatársai (2007) 150 napos arzénes környezetben eltöltött időtartamot neveznek hosszú stresszes állapotnak. Ezzel szemben találtam olyan kísérletes, hosszútávú stressz vizsgálatot is, amely mindösszesen 6 napig tartott (ERIKSEN et al. 2007). A rövidtávú stressz könnyebben behatárolható, hiszen a kutatások a néhány másodperces és perces kitettségtől (pl. hálón tartás) (DEMERS és BAYNE 1997), a néhány napos kitettségig (pl. külső parazitás fertőzés) (RUANE et al. 1999) terjednek.

2.8.1. Rövidtávú stressz mérése a halakban

A rövid ideig ható stresszt számos, a vérben jelenlevő különböző anyagcseretermékek és hormonok mennyiségének változásával vizsgálják. A leggyakrabban használt rövidtávú stressz jelző a kortizol (BILODEAU et al. 2005, HANCZ et al. 2000), de gyakori még a hematokrit érték (LAPPIVAARA és MARTTINEN 2005), a vérplazma lizozim (DEMERS és BAYNE 1997), a glükóz (HANCZ et al. 1999) és a klorid (PROCARIONE et al. 1999) szint vizsgálata is. Ezek mellett a vér alakos elemeinek (PULSFORD et al. 1994), nemi és növekedési hormonoknak (KUBOKAWA et al. 2001, NIELSEN et al. 2000, GILCHRIEST et al. 2000, PANKHURST és VAN DER KRAAK 2000, KUBOKAWA et al. 1999), elektrolitoknak (VAN ANHOLT et al. 2004, LYYTIKAINEN et al. 2002) és anyagcsere, elsősorban a lipid anyagcsere temékeknek (CORREA et al. 2003, RUANE et al. 2001) mennyiségi változásait is vizsgálják.

A vér-összetevők mellett a bőr elváltozásait (CLEMENT et al. 2005), kopoltyú mozgásának intenzitását és a kopoltyú gázcserefolyamatait (PIERSON et al. 2004), illetve a bél mikroflórájának változását kísérik figyelemmel rövid ideig tartó stresszhatást követően. Ugyancsak a rövid ideig tartó stresszhatásokat úszás-teljesítmény vizsgálattal is mérik. A

módszer lényege az, hogy egy átlátszó áramlási csőbe − állandó sebességű vízáram mellett − helyezik a halakat és a kifáradás idejét regisztrálják. A halak ösztönüknél fogva úsznak a vízáram ellen, majd a kifáradás határán a halak a cső kifolyó oldalán lévő rácshoz sodródnak, ahol az itt elhelyezett elektródpáról gyenge áramütést kapnak. Egy mérés akkor befejezett, ha a hal öt másodpercnél tovább tartó elektromos impulzus hatására sem úszik tovább (BUDAHÁZI et al. 2005).

2.8.2. Hosszútávú stressz mérése a halakban

A hosszútávú stresszhatásokat rendszerint egyes szervek vagy szervrendszerek változásaival és a szervezet életfolyamatainak zavaraival jellemzik: csökken az egészségi állapot, csökken a növekedés és csökken a betegségekkel szembeni ellenálló képesség (GENSIC et al. 2004), az agy szerkezete megváltozik (FERNALD 2003), károsodik a kopoltyú (PIERSON et al. 2004), zavart szenved a gyomor és bélműködés (OLSEN et al. 2002), a viselkedés megváltozik (CLEMENT et al. 2005), károsodik a központi idegrendszer és blokkol a hipotalamusz-hipofízis-gonád tengely (WINGFIELD és SAPOLSKY 2003). Számos vizsgálat során ezeket a változásokat szövettani metszetek készítésével és kiértékelésével is detektálják (GHOSH et al. 2007).

A hosszútávú stressz hematológiai nyomonkövetése kiaknázatlan. Elsősorban csak a vér alakos elemeinek elváltozásaival és mennyiségük alakulásával mutatják ki a hosszútávú stressz hatásait (BAGNI et al. 2005).

2.9. A laboratóriumi vizsgálataimhoz kapcsolódó irodalmi háttér

2.9.1. A vízhőmérséklet által kiváltott stressz

A víz hőmérsékletét, mint stresszort különféle kísérletek alkalmával is vizsgálták. ENGELSMA és munkatársai (2003) 3 órán keresztül 9°C-os vizet csepegtettek a halak környezetébe enyhe krónikus stresszt modellezve ponty halfajnál (*Cyprinus carpio* L. 1758). A stressz mérésére a B-limfociták és a granulociták mennyiségét és eloszlását használták. A keringő B-limfociták száma az összes limfocitához viszonyítva szignifikáns csökkenést mutatott. A csökkenés reverzibilis volt, 24 órán belül visszaállt a kiindulási értékre. A granulociták száma fordított arányosságot mutatott az összes leukocita számhoz képest, közel kétszerese volt a granulociták száma a százalékos összehasonlításban. Ebben a vizsgálatban

mind a B-limfociták, mind pedig a granulociták aránya relatívan a vese feji részében növekedett meg jelentősen.

HSIEH és CHIN (2002) amuron (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844) végzett vízhőmérsékleti sokkot. Egy hónapon keresztül az állatokat 25 °C-on tartották, majd szoktatás nélkül 5 °C, 10 °C, 12,5 °C, 15 °C és 35 °C-os vízbe helyezték az egyedeket. Minden csoportban 6 hal volt elhelyezve, majd egyenként 0,25, 0,5, 1, 3, 6 és 12 óra múlva vérmintát vettek az állatoktól. A stressz kimutatására a vérplazma glükózt, laktát szinteket és a máj foszfát mennyiségét határozták meg. A szélsőséges hőmérsékleteknél (5 °C, 10 °C, 35 °C) a kóma tünetei jelentkeztek és 0,05, 0,25 és 7 óra elteltével elhullás is jelentkezett. A vérplazma glükóz szintje 5 °C-nál csökkent már három perc után, 10 °C-on viszont növekedett 15 perc után. A plazma laktát mennyisége hasonlóan változott, mint a glükóz szintje. A glükóz mennyisége a stressznek kitett halaknál 12,5 °C és 35 °C-nál egyenletesen, de különböző mértékben, a plazma laktát szintje pedig gyorsan növekedett, majd egyenletesen hanyatlott.

Ugyancsak amuron (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844) végzett vizsgálatokat KUO és HSIEH (2006). Szintén 25 °C volt az ideális, kiinduló hőmérséklet, majd hideg sokkot alkalmaztak hűtőberendezéssel. A víz hőmérsékletét 0,5 °C-kal csökkentették óránként 15 °C-ig. Az alacsony vízhőmérséklet elérése után 1, 3, 6, 12, 24, 36 és 48 óra elteltével, majd további öt napig vérmintákat vettek az egyenként 5 állatból álló csoportoktól. A vérplazmából a glükóz, laktát és a lipidek mennyiségét, a májból a különböző enzimek tevékenységét (citrát-szintáz, glükóz-6-foszfát dehidrogenáz, fruktóz-1,6-bifoszfát, foszforiláz, laktát-dehidrogenáz) határozták meg. A vér glükóz mennyisége az első két mintavételkor azonos volt a kontroll csoport egyedeivel, melyet stabilan 25 °C-on tartottak, majd lassan növekedni kezdett a stresszelt állatoknál. A kontrollhoz képest a 24. órában vett mintákban volt a legnagyobb eltérés, majd a harmadik naptól újra megegyeztek a vércukor értékek mindkét csoportban. A laktát mennyisége is az első két mintavételi időpontban volt megegyező, de ezután gyorsan növekedni kezdett. 12 óra elteltével érte el a csúcspontját a laktát mennyisége a kezelt halakban. Több mint négyszeresére növekedett a laktát szint a stresszelt csoportban, mely újabb 12 óra elteltével ismét megközelítette a kontroll egyedekben mért értékeket. A lipid mennyisége szinte azonos volt a kísérlet folyamán a kontroll és a hősokkal kezelt állatokban. Csak a vizsgálat utolsó két mintavételekor mértek megnövekedett lipid mennyiségeket.

TANCK és munkatársai (2000) a ponty (*Cyprinus carpio* L. 1758) vérparamétereit vizsgálták 7 °C, 9 °C és 11 °C-on. Mindhárom alacsony hőmérséklet alkalmazása során a

vérplazma három paraméterét vizsgálták: glükózt, laktátot és a kortizolt. Mindhárom vízhőmérséklet 20 percen belül jelentős kortizol-szint emelkedést idézett elő. A vérplazma glükóz értékei nem változtak, a laktát mennyiségek viszont lecsökkentek.

Aranyhal (*Carassius auratus* Bloch, 1782) halfajon végzett vizsgálatok kimutatták (KIKUCHI et al. 1998), hogy a magas hőmérséklethez való akklimatizáció során 65-kDa molekulatömegű fehérjék jelennek meg nagy mennyiségben. A 30 °C-os hőmérséklethez való alkalmazkodás során 23,4 g izomból 517 µg 65-kDa fehérjét sikerült izolálniuk.

Sebes pisztrángnál (*Salmo (trutta) fario* L. 1758) SCHMIDT és munkatársai (1998) végeztek hősokkos kísérleteket. A kiinduló 8 °C-os vízhőmérsékletet két óra alatt 19 °C-ra emelték, majd újra visszahűtötték 8 °C-ra. Kopoltyúmintákat és vérmintákat vettek a hősokk és a víz visszahűtésének periodusában, majd a visszahűtés után 24 és 48 órával is. Immunhisztokémiai és elektronmikroszkópos vizsgálatokkal a kloridsejtek (kopoltyú hámsejtek), a Western blot technikával pedig a Hsp 70 stresszfehérjék mennyiségét vizsgálták. A kloridsejtek száma folyamatosan nőtt a vízhőmérséklet emelkedésékor, majd a vízhőfok csökkentése idején számuk egyre csökkent. A Hsp 70 stresszfehérje mennyiségét bőrből és kopoltyúból egyaránt meghatározták. A hősokk alkalmazásakor a kopoltyú és a bőr közötti Hsp 70 értékek különbséget mutattak. A kopoltyúban a fehérjék mennyisége csökkent, a bőrben pedig emelkedett volt.

2.9.2. A magas telepítési sűrűség által kiváltott stressz

A halak telepítési sűrűségével összefüggő testtömeg-gyarapodást és a stressz hatások mértékét vizsgálták a jundia halfajnál (*Rhamdia quelen* Quoy és Gaimard, 1824) (BARCELLOS et al. 2004). Az első kísérletben az ivadékokat kör és kocka alakú ketrecbe helyezték 100 ivadék/m^3 sűrűségben. A kocka alakú ketrecekben tartott egyedek testtömeg-gyarapodása és takarmányhasznosítása meghaladta a kör alakú ketrecekben tartott állatokét. A túlélési ráta hasonló volt mindkét ketrec alkalmazása esetén. A második kísérletben már csak kocka alakú ketreceket használtak. Három telepítési sűrűséget hasonlítottak össze (100, 200, 300 ivadék/m^3). A legjobb súlygyarapodási eredményt a legkisebb telepítéskor érték el.

Nílusi tilápiánál (*Oreochromis niloticus* L. 1758) is vizsgálták az állománysűrítés által kiváltott stresszválaszt (BARCELLOS et al. 1999). 100 literes medencékben folytattak kísérleteket. Azokban a medencékben, ahol egyedül vagy párban helyezték el a halakat a kortizol szintjük normál értéket mutatott. Az ötös és tízes csoportok kialakításakor már a plazma kortizol mennyisége magas volt, az egyedek krónikus stresszválaszt mutattak. Akut stressz alkalmazásakor szignifikánsan növekedett a plazma kortizol mennyisége.

Összehasonlították a krónikus stressz esetén használt tízes csoport és az akut stresszben lévő halak kortizol eredményeit. Az állománysűrítés, mint stresszor a krónikus stressznek kitett állatoknál jóval magasabb kortizol szinteket eredményezett.

A magas telepítési sűrűség hatását aranyfejű tengeri keszegen (*Sparus aurata* L. 1758) is vizsgálták (MONTERO et al. 1999). A kutatók a stressz hatását a növekedésben, biokémiai összetevőkben, immunállapotban és a hematológiában bekövetkező változásokban mutatták ki. A vizsgálati eredményeik azt mutatták, hogy a magas telepítési sűrűség krónikus stresszt okoz a halakban. A plazma kortizol mennyisége növekedett a nagy sűrűségben tartott egyedeknél. A kortizol szint négyszerese volt az alacsony sűrűségben tartott halakhoz képest. A hematokrit érték, a hemoglobin koncentráció, a vörösvérsejtek száma is magasabb volt a nagy sűrűségben tartott halaknál. Emellett a nagy sűrűségben tartott állatoknál csökkent a hepato-szomatikus index és módosult a máj zsírsav összetétele is. Az olajsav, az arachidonsav, az omega-3 telítetlen zsírsav és az összes zsír mennyisége is csökkent a májban. Ezek a változások hűen tükrözték, hogy a stressznek kitett állatok a lipid metabolizmuson keresztül mozgósították a szükséges energiamennyiséget.

ROTLLANT és TORT (1997) a kortizol és glükóz szinteket határozták meg túlzsúfoltság mellett a tengeri sügérnél (*Pagrus pagrus* L. 1758). A három hétig tartó túlzsúfoltság szignifikánsan emelte a plazma kortizol szintjét, de a glükóz mennyiségére nem volt statisztikai hatással.

PROCARIONE és munkatársai (1999) a szivárványos pisztrángot (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) vizsgálták. Az első kísérletükben négy héten keresztül, három különböző sűrűségben (2,8; 5,6; 8,4 g/l) tartott csoportnál végeztek kutatásokat. Az 5,6 és 8,4 sűrűségindexnél a halak jelentősen kisebb súlyt értek el, mint a 2,8 sűrűségindexnél és a két alacsonyabb sűrűségindexnél jobb volt a takarmányértékesítési ráta (etetett takarmány súlya/elért testsúly), mint a legnagyobb sűrűségindexnél. A második kísérletükben a plazma kortizol, glükóz és klorid-szint változását hasonlították össze 3,1; 6,2 és 9,3 sűrűségindexnél. A kortizol mennyiségében nem volt különbség az egyes csoportok között. A 3,1 sűrűségindexnél tartott egyedek vérglükóz-szintje emelkedett a szérum klorid mennyisége pedig csökkent. A kísérlettel bizonyították, hogy az alacsony sűrűségben tartott halak jobban stresszelődtek, ami valószínűleg a szociális kölcsönhatás eredménye volt.

RUANE és KOMEN (2003) a magas telepítési sűrűség hatását vizsgálták pontyon (*Cyprinus carpio* L. 1758). Meghatározták a kísérlet ideje alatt a növekedési intenzitást, a víz minőségét és a vérplazma, illetve a víz kortizol szintjét. A relatív növekedési ráta nem változott az alacsony, illetve magas terhelés mellett. A vízminőség romlott a magas

sűrűségben tartott egyedek medencéjében, de ez nem volt ártalmas a halak egészségére. A 28 napos kísérletben a plazma kortizol szint szignifikánsan csak a harmadik napon volt eltérő a két csoport között. A vízből kimutatott kortizol mennyiségek jelentős különbségeket mutattak. A kísérlet ideje alatt az öt mintavételi időpont közül négyben, − a plazma kortizol szintjéhez hasonlóan − a magas sűrűség mellett tartott állatoknál statisztikailag magasabb volt a stresszhormon mennyisége.

2.9.3. Az oxigénhiány által kiváltott stressz

MCNEIL és CLOSS (2007) oxigénhiányos környezetben vizsgálta több ártéri halfaj viselkedését. A vizsgálat a kopoltyú légcsere arányára és a vízfelszíni légzésre (pipálás) terjedt ki. Az oxigénhiányos környezetben bizonyos idő elteltével minden fajnál − kivéve a kövi csíknál (*Barbatula barbatula* L. 1758) − egyre növekedett a kopoltyú mozgások száma. A vízfelszíni légzés az egyedek 90 %-ánál megfigyelhető volt, amikor a víz oxigén telítettsége 1 mg/l alatt volt.

XU (2006) és munkatársai is a halak viselkedési válaszait vizsgálták. Ebben a kutatómunkában a modellállat a nílusi tilápia (*Oreochromis niloticus* L. 1758) volt. Az oxigénhiányra adott viselkedési válaszokat, mint az úszásaktivitást, a víztérben való elhelyezkedést és a kopoltyúmozgás gyakoriságát vizsgálták egy új kép feldolgozó algoritmus segítségével. Három különböző oxigén mennyiségnél (1,5, 0,8 és 0,3 mg/l) végezték a vizsgálatokat. Statisztikai különbségeket ($P < 0,05$) az egyes viselkedési válaszokban a 0,8 és 0,3 mg/l oxigén szintnél kaptak, a legmagasabb oxigén mennyiségnél viszont nem találtak eltérést a kontroll csoport egyedeihez képest.

ISREALI és KIMMEL (1996) az aranyhal (*Carassius auratus* L. 1758) viselkedését figyelte meg multimédiás eszközökkel oxigénhiányos környezetben. Az eredményeik négy pontban foglalhatók össze. A csoport elhelyezkedése a víz felszíne felé tolódott és eltávolodtak az átlátszó medence faltól, az úszás sebessége jelentősen csökkent, erős változás volt megfigyelhető a mozgásban, mely összekapcsolódott az állomány szétszóródásával, a függőleges irányban levő mozgás periodikus amplitúdója növekedett.

BAUER és SCHLOTT (2006) a ponty (*Cyprinus carpio* L. 1758) mozgását figyelte meg rádiótelemetria segítségével a téli hónapokban. A mozgás iránya szorosan korrelált ($P < 0,001$) a víz oxigén mennyiségével, de a víz hőmérséklete ezt egyáltalán nem befolyásolta ($P > 0,05$).

A szubletális oldott oxigén mennyiségének hatását vizsgálták a vérglükóz mennyiségén keresztül nílusi tilápiánál (*Oreochromis niloticus* L. 1758) (EVANS et al. 2003).

A vérglükóz szignifikáns ($P < 0,001$) növekedést mutatott a szubletális (1 mg/l) oldott oxigén mennyiség alkalmazásakor. Kiegészítő kísérletben az oxigénhiányos stressz után az állatokat *Streptococcus agalactiae*-vel fertőzték. A szubletális oldott oxigénnek kitett halaknál szignifikánsan magasabb volt a mortalitási ráta, mint a megfelelő oxigén háztartás mellett tartott halakban.

Szintén nílusi tilápiánál (*Oreochromis niloticus* L. 1758) vizsgálták az oxigénhiányt, mint stresszort egyes viselkedési tényezőkre, anyagcsere változásokra és néhány szöveti elváltozásra (ISHIBASHI et al. 2002). Intenzív légzést hozzávetőlegesen 10 órán keresztül mutattak az állatok, majd ezután fokozatosan csökkent a légzések száma. Később a halak lesüllyedtek az aljzatra, azután a légzésük is teljesen leállt. Az oxigénhiányos környezet jelentősen növelte a hematokrit értéket. A légzésintenzitás csökkenésével a vérplazma kortizol és glükóz mennyisége drasztikusan növekedett. Közvetlenül a légzés megállta előtt az ATP és az összes adenilát mennyisége szignifikánsan csökkent a májban, a vesében és más általános izomban, de a szívben és a kopoltyúban nem. Amikor a légzésintenzitás csökkeni kezdett az ATP és az összes adenilát mennyisége a májban és a vesében gyorsan csökkent. A citokróm-oxidáz aktivitás pedig szignifikánsan megnőtt az agyban, a szívben, a kopoltyúban, amíg a légzési gyakoriság a csúcson volt. A tejsav mennyisége az általános izmokban és a májban feltűnően megnőtt, amíg a hal süllyedése tartott. Oxigénhiányos környezetben a legerőteljesebb stresszválasz a légzésintenzitás csökkenésénél mutatkozott. Ekkor a májban és a vesében az anyagcsere hatékonysága is zavart szenvedett.

Ponty halfajon (*Cyprinus carpio* L. 1758) is vizsgálták az anyagcsere változásokat oxigénhiányos környezetben (VAN GINNEKEN et al. 1998). 30 %, 20 %, 10 %, 5 % és 3 %-os levegő telítettség mellett meghatározták a vér szabad zsírsav (FFA), laktát és glükóz szintjét valamint a stresszhormont, a kortizolt. A nagy energiatartalmú foszforilát mennyiségét mérték a májban és a fehér izmok szöveteiben. Hypoxiás állapotban az ATP koncentrációja és az adenilát energiatöltés változatlan maradt az izomszövetekben. A kritikus oxigén mennyiséget az élettani és biokémiai válaszokkal kitűnően tudták jellemezni.

Oxigénhiányos környezetben vizsgálták az antioxidáns rendszert is (LUSHCHAK et al. 2001) az aranyhalon (*Carassius auratus* L. 1758). A 8 órás oxigénhiány hatására 14 %-kal csökkent az összes glutation mennyisége a vesében, ezzel ellentétben a májban, az agyban és az izmokban viszont normális maradt ennek a mennyisége. Ez a stresszes állapot a májban a kataláz enzim, az agyban pedig a glükóz-6-foszfát dehidrogenáz enzim aktivitását növelte jelentősen. Érdekes volt, hogy a vesében a kataláz aktivitása viszont 17,5 %-kal csökkent. Az

oxigén telítés után 14 órával a máj kataláz aktivitása és az agy glutation peroxidáz aktivitása (GSH-Px) is még mindig emelkedett maradt a kontroll egyedekéhez képest.

Lushchak és munkatársai pontyon (*Cyprinus carpio* L. 1758) is végeztek hypoxiás vizsgálatokat (LUSHCHAK et al. 2005). Oxigénhiányos környezetben és az azt követő normális oxigén telítettség mellett vizsgáltak több paramétert is. Meghatároztak a lipid-peroxidázokat, a tiobarbitursavval reagáló anyagokat, a karbonilfehérjéket, az összes glutation mennyiséget és hat antioxidáns enzimet az agyban, a májban, a vesében és a vázizomzatban. Az oxigénhiány hatására a tiobarbitursavval reagáló anyagok mennyisége emelkedett. Növekedett a kataláz és a glutation peroxidáz aktivitás is az agyban. A májban csak a glutation peroxidáz aktivitása csökkent a hypoxia alatt, míg más enzimek mennyisége nem változott. A vesében csökkent glutation peroxidáz aktivitást mutattak ki, de a kataláz enzim aktivitása erősen növekedett. A vázizomzatban kevésbé volt jelentős a glutation peroxidáz aktivitás csökkenése.

Szintén oxigénhiányos környezetben VIANEN és munkatársai (et al. 2001) a pontyot (*Cyprinus carpio* L. 1758) és szivárványos pisztrángot (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) vizsgálták. A csökkenő oxigén szintek mellett vizsgálták a vér laktát, adrenalin, noradrenalin és a kortizol mennyiségét. Az eredményekben egyedi és interspecifikus különbségek mutatkoztak a laktát mennyiséget tekintve a hypoxiás környezetben. Érdekes eredményről is beszámoltak a kutatók: mindkét fajnál erős korrelációt találtak a laktát és a katekolaminok mennyisége között.

RITOLA és munkatársai (1999) oxigén túltelítettség hatását vizsgálták szivárványos pisztráng halfajnál (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). 22 napon keresztül tartottak egyedeket normál (100 %), valamint oxigénnel túltelített (120 %, 140 %) körülmények között. A kezelés után minden csoport egyedeit három órán keresztül szállították szintén szélsőséges (123 %) körülmények között. A vérplazma kortizol szintje háromszorosára emelkedett a 100 %-os, illetve a 120 %-os oxigén telítettségű csoportokban, a 140 % telítettségen tartott egyedeknél viszont csak a kétszeresére. Érdekes megfigyelés volt, hogy a 140 %-os oxigén telítettségű csoport egyedeinél 24, a másik két csoportnál viszont csak 70 óra elteltével tért vissza a kortizol normális szintje.

MONTPETIT és PERRY (1998) szintén szivárványos pisztrángnál (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) vizsgálta az akut oxigénhiányt. A vizsgálat középpontjában az 5 napos oxigénhiány volt, ahol a szuprarenális medulla hormonjait az adrenalint és a noradrenalint vizsgálták. Az eredmények azt mutatták, hogy a katekolaminok mennyiségét szignifikánsan befolyásolta a csökkentett vízoxigén-szint.

Holland kutatók alacsony oxigénszint mellett vizsgálták a pontyok (*Cyprinus carpio* L. 1758) vérének eritrocita és katekolamin mennyiségét (VAN RAAIJ et al. 1996). A katekolaminok szintje jelentősen növekedett az oxigénhiányos környezetben, ahol a legnagyobb mértékben a noradrenalin mennyisége emelkedett meg. A keringő eritrociták száma is jelentősen megnövekedett ebben a stresszes állapotban. A vörös vérsejtek és az adrenalin/noradrenalin mellett a dorzális aorta vérének hematokrit értékét, hemoglobin mennyiségét, az intra- és interspecifikus tér pH-ját, az oxigén és szén-dioxid mennyiségét is vizsgálták. A gázok közül a vér oxigén mennyisége jelentősen csökkent, a víz oxigén mennyiségéhez hasonlóan.

Oxigénhiányos állapotban a vese kiválasztását is vizsgálták pontyon (*Cyprinus carpio* L. 1758) (KAKUTA és MURACHI 1992). A vese glomerulusok filtrációs tevékenysége és a vizelet összetevői jelentősen csökkentek, kivéve egyes fehérjéket. Ezeken kívül megfigyelték a vér pH-nak csökkenését, a hematokrit érték, a plazma K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, a szervetlen foszfor, az ammónia és a katekolaminok mennyiségének növekedését.

Tengeri fajoknál is végeztek oxigénhiányos kísérleteket (SILKIN és SILKINA 2005). A vizsgálatban a hematokrit értéket, a hemoglobin mennyiségének változását valamint a vérplazma glükóz, Na^+ és K^+ szintjét határozták meg. A sziklahalnál (*Scorpaena porcus* L. 1758) a hematokrit érték és a vérplazma glükóz mennyisége emelkedett a vizsgálat folyamán. A vörös vérsejtek K^+ mennyisége jelentősen csökkent, a Na^+ koncentrációja viszont növekedett. A gyűrűs durbincsnál (*Diplodus annularis* L.1758) a hematokrit és a vérplazma glükóz mennyisége ugyancsak fokozódott. A makrélánál (*Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956) csak a Na^+ mennyisége nőtt meg figyelemre méltóan.

2.9.4. Ragadozó által kiváltott stressz

Kagawa és Mugiya az aranyhalnál (*Carassius auratus* L. 1758) vizsgálta a potenciális ragadozó jelenlétét (KAGAWA és MUGIYA 2000, KAGAWA et al. 1999). A naphal (*Lepomis gibbosus* L. 1758) jelenléte növelte a HSP70 mRNA mennyiségét az agyban 6 óra elteltével és növekedett a plazma kortizol szintje is 12 órás kitettség esetén. Amikor a két fajt egymástól hálóval választottak el ugyancsak növekedtek ezen paraméterek mennyiségei ugyanazon időpontokban. Abban az esetben, amikor a békés halakat teljesen átlátszó medencébe helyezték és körülöttünk másik medencében a ragadozó halak voltak, akkor is ugyanez a jelenség játszódott le. Amikor csak a vizet keringtették a két medence között, akkor nem növekedett sem a HSP70 mRNA, sem pedig a kortizol mennyisége.

Két évvel később vizsgálták azt is, hogy a kortizol stresszhormon és a HSP70 mRNA kapcsolatban áll e egymással. A vizsgálatok végén kimutatták, hogy a kortizol fontos szerepet játszik az HSP70 mRNA termelésében az agyban (KAGAWA és MUGIYA 2002).
BEITINGER (1990) a ragadozó és zsákmányállat kölcsönhatását vizsgálta. A ragadozó jelenléte 94 %-ban növelte a sebezhetőséget a zsákmányállatoknál és rendszerint kevesebb, mint 96 óra alatt az állomány fele el is pusztult.

OLLA és munkatársai (1992) a ragadozó elkerülési képességet és a kortikoszteroid szinteket vizsgálták juvenilis kohó lazacon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792). Kimutatták, hogy a ragadozó (*Ophiodon elongatus* Girard, 1854) jelenléte emelte a plazma kortikoszteroid szintjét a békés halakban. A ragadozó által kiváltott stressz megszűntetése után is, egészen 240 percig magas kortikoszteroid szint volt mérhető.

Amerikai ragadozó halfaj *(Esox masquinongy* Mitchill, 1824) okozta stresszt vizsgálták az észak-amerikai süllőnél (*Stizostedion vitreus* Mitchill, 1818) alacsony és magas lipid tartalmú étrend után (CZESNY et al. 2003). Három különböző kísérleti csoportot állítottak be. Az elsőnél nem volt vízátfolyás sem ragadozó, a másodiknál volt vízátfolyás, de ragadozó ugyancsak nem, a harmadik esetben pedig mind vízátfolyás, mind pedig ragadozó is volt. A stressz kimutatását vérplazma glükózzal és kortizollal végezték. A glükóz mennyisége mindkét étrendi csoportot figyelembe véve csökkent ($P < 0,05$), de jelentős különbségek voltak az egyes csoportok között. A kortizol szintek egyik esetben sem haladták meg a 30 ng/ml-es mennyiséget és nem figyeltek meg viselkedési változásokat (színváltozás) sem a stresszelési időszak alatt.

2.9.5. A vér szérum/plazma fruktózamin szintjének évszakos változásához kapcsolódó irodalmi háttér

A glikációs végtermékek vizsgálata a haltenyésztésben rendkívűl kezdetleges, ezért ennek irodalmi háttére teljesen hiányzik. A glikálódott fehérjékről később, a 2.10.2 fejezetben lesz részletesen szó. A keletkezésük lényege, hogy a glükózhoz kovalens kapcsolódással fehérjék kötődnek. A glikálódott fehérjék szintézise a glükóz mennyiségétől függ a szervezetben.

Finn ichtiológusok Közép-Finnországban vizsgálták a máj glikogén raktárának változásait a széles kárászon (*Carassius carassius* L., 1785). Júliustól kezdődően a máj tömege és annak glikogén tartalma növekedett. A glikogén mennyisége mind a májban, mind pedig az izmokban gyarapodni kezdett. Az aktív mozgás és a táplálkozási aktivitás két-három

hónappal később, szeptember végén és október elején befejeződött (PENTTINEN és HOLOPAINEN 1992), melynek elsőszámú kiváltója a vízhőmérséklet volt. Október végén a máj nagysága 2-15 %-kal nőtt nyári állapothoz képest, a májra vonatkozó glikogén térfogat pedig 3 és 35 %-kal növekedett (HYVÄRINEN et al. 1985). Ezt a növekedést az izom glikogén szintjének emelkedése is kísérte (4%) (PIIRONEN és HOLOPAINEN 1986). A glikogén mennyiségének évszakos váltakozását a napok hossza és a víz hőmérséklete irányítja (VORNANEN 1994).

A raktározott glikogén egyrészt a vér glükózszintjének szabályozásában játszik szerepet; másrészt glükózraktárt képez az izomműködéshez. A májban folyó glikogénraktározás szabályozásában elsősorban az inzulin, a glükagon és az adrenalin vesz részt. Míg az inzulin a glikogenezist serkenti, s ezen keresztül csökkenti a vér glükózkoncentrációját (hypoglykaemiás hatás), addig a glükagon és az adrenalin a glikogenolízist támogatja, s így növeli a vér glükózszintjét (hyperglykaemiás hatás).

2.10. A vizsgált vérplazma-komponensek jellegzetességei

2.10.1. Glükóz

A vér és más szöveti folyadékok karakterisztikus szénhidrátja a glükóz. Esetenként kis mennyiségű galaktóz és fruktóz is megjelenhet a szövet folyadékokban, mielőtt azokat a bél nyálkahártyája vagy a máj glükózzá konvertálja. A szervezet sejtjei a vérből glükózt vesznek fel, azt energiaforrásul használják, illetve adenozin trifoszfátot (ATP) állítanak elő. A különböző szövetek függése a vérbe cirkuláló glükóztól azonban eltérő. A vörösvérsejtek és az agyvelő kritikus mértékben függenek a vérglükóztól. Az agy ugyanakkor bizonyos körülmények között, mint amilyenek az éhező állatokban megfigyelhetők, ketonanyagot is képes oxidálni ATP-nyerés céljából. Más szövetek, mint a vázizmok, jelentős mennyiségű energiát tudnak nyerni ketonanyagokból és zsírsavakból, ezért kevésbé függenek a vérglükóztól. A vérglükóz alakulása nagymértékben meghatározza az intersticiális folyadékok glükózszintjét, amely ugyanakkor döntően befolyásolja az intracelluláris glükóztranszportot. A vér glükóztartalma adott állatfajon belül is bizonyos változatosságot mutat. A változás mértéke elsősorban a takarmányfelvétel óta eltelt időtől, annak szénhidráttartalmától és a glükózraktárok állapotától függ (HUSVÉTH 1994).

A vér glükózkoncentrációjának stabilitását jól szabályozott mechanizmus tartja fenn, amelyben fő szerepet játszik a máj és néhány hormon, mint az inzulin, a glükagon, az adrenalin és a glükokortikoidok (HUSVÉTH 1994).

A szervezetbe került glükóz, akár a bélcsatornából szívódott fel, akár glükoneogenezis útján keletkezett, a sejtekben katabolitikus folyamatokon megy keresztül, hogy energiát, illetve különböző metabolitokat állítson elő a vegyületek szintéziséhez. A glükózmetabolizmus első fázisa a glikolízis vagy Embden-Meyerhof-féle fermentáció. Ezen folyamatokban anaerob viszonyok között a glükóz laktátra bomlik, miközben 1 mol glükózból nettó 2 mol ATP keletkezik. Aerob viszonyok között, a redukált $NADPH+H^+$ oxidatív foszforiláción keresztül oxidálódhat, miközben 3 mol ATP és piruvát keletkezhet. A piruvát ezt követően belép a trikarboxilsav (TCA) ciklusba (Krebs-Szentgyörgyi-ciklus) és szén-dioxidra, illetve vízre oxidálódik, mialatt 15 mol ATP jön létre.

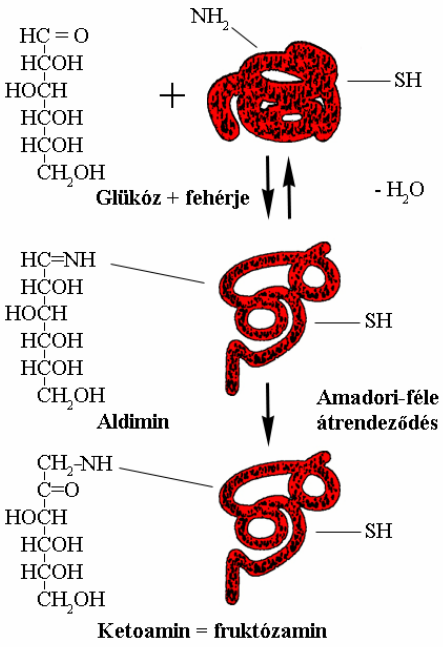
Erős fizikai munka esetén az izomsejtekben a laktát gyorsabban termelődik, mint ahogy az a mitokondriumokban piruváton keresztül hasznosul. A feleslegesen keletkező laktát bediffundál a vérkapillárisokba és a májba jut, ahol a glükoneogenezis egyik alapvegyületeként szolgál. Ezen utóbbi folyamatok összességét Cori-körnek nevezzük. A glükóz metabolizmus másik útja a pentóz-foszfát-ciklus. Ez utóbbi a NADPH előállítása szempontjából fontos: a NADPH a zsírszövetben, a májban folyó zsírszintézis lényeges kelléke (HUSVÉTH 1994).

2.10.2. A szérum/plazma fruktózamin (SeFa)

Az összetett fehérjékhez tartozó glikoproteinek kialakulásakor a megfelelő szénhidrátrészek genetikailag szabályozottan, enzimek segítségével kapcsolódnak a polipeptidlánchoz (JAKAB 1983). A SeFa, mint a szérumfehérjék glikálódásának terméke, más módon alakul ki, melyről (*in vivo*) elsőként Day és munkatársai (1979) számoltak be.

A szérum fruktózamin poszttranszlációs, nem enzimatikus glikálódással jön létre (BAYNES et al. 1984). A nem-enzimatikus glikáció a glükóz, enzim által nem katalizált, kovalens kapcsolódását jelenti aminosavak, fehérjék, lipidek és nukleinsavak szabad aminocsoportjához. A nem-enzimatikus glikáció folyamatosan zajlik a szervezetben, a keringésben, a sejtekben és az intersticiális térben. Mivel kémiai reakcióról van szó, a képződés sebessége a glükóz koncentrációjával arányos (WITTMANN 2006). A táplálékok különböző mennyiségű glikációs végterméket tartalmaznak. Különösen megemelkedik mennyiségük a hőkezelés hatására. Humán vizsgálatok kimutatták, hogy ezek a glikációs végtermékek az ételek elfogyasztása után megjelennek a vérkeringésben is, azaz a glikációs végtermékek nem bomlanak le a gasztrointesztinális traktusban lévő emésztőenzimek hatására, hanem intakt állapotban felszívódnak (KOSCHINSKY et al. 1997).

A glükóz két lépésben kapcsolódik a vérplazma fehérjéihez. A két anyag először vízkilépéssel, reverzibilis módon aldiminné alakul, majd az úgynevezett Amadori-féle átrendeződést követően kialakul a stabil ketoamin forma, a fruktózamin (BAYNES et al. 1984). A fehérjék glikálódását a 2. ábra mutatja (ROCHE 1989).



2. ábra A fehérjék glikálódásának terméke a szérum fruktózamin (SeFa)

2.10.2.1. A fruktózamin lebontása

A fehérjék lizin aminosavának glikációja és annak átrendeződése során képződő termék a fruktózamin. A fruktózamint egy enzim, a fruktózamin-3-kináz ATP felhasználásával foszforilálja, amelynek során a fruktóz-lizinből fruktóz-lizin-3-foszfát jön létre. A fruktóz-lizin-3-foszfát instabil és ezért spontán lizinre, 3-dezoxi-glükozonra és anorganikus foszfátra bomlik. A 3-dezoxiglükozon toxikus termék, ami tovább alakul 3-dezoxifruktózra vagy 2-dezoxi-3-ketoglukonsavra (SZWERGOLD 2005).

2.10.2.2. A fruktózamin eliminációja, szöveti lerakódása

A glikációs végtermékek szöveti lerakódása ugyan csökkentheti a keringő glikációs végtermék-szintet, de ez nem jelent valódi eliminációt, hiszen fokozott szöveti károsító hatás jön létre. Az endothel sejtek felveszik a máj Kupffer sejtjei által már részben lebontott glikációs végtermékeket és utána gyakorlatilag változatlan formában továbbítják a subendotheliális térbe. A glikációs végtermékek az endothel sejtekben adhéziós molekulák termelését indítják meg. Ez utóbbiak hatására a makrofágok kitapadnak az endothelre, majd a subendothelialis térbe vándorolnak. A keringésben lévő és az intersticiális térbe bevándoroló monocyta-makrofág rendszer sejtjei bekebelezik a glikációs végtermékeket és átalakítják azokat. Ha a glikált fehérje molekula az LDL Apo-B apoproteinje, akkor a makrofágok fokozott aktivitással veszik fel az LDL-t, miközben az atherosclerosisra jellemző habos sejtekké alakulnak át (HORI et al. 1996).

A glikált fehérjék degradálódása során a glikációs végtermékek nem detoxifikálódnak a makrofágokban, hanem kismolekulasúlyú lebomlási termékekké alakulnak át. A glikációs végtermék-fragmentumok eljutnak az ér mélyebb rétegeibe is, aktiválják az ott levő simaizom sejteket, melyek kötőszöveti fehérje túlprodukcióval, proliferációval és citokin, illetve növekedési faktor-termeléssel reagálnak. Mindezek az eliminációs folyamatok ahelyett, hogy detoxifikálnának, inkább fokozzák a glikációs végtermékek toxicitását, hiszen a degradáció során, a molekulasúly csökkenésével ezek a termékek még mobilisabbakká válnak (WITTMANN 2006).

2.10.3. Albumin

Kémiailag az albumin csak aminosavakból álló egyszerű fehérje (RUDAS és FRENYÓ 1995). Az összes plazmafehérje közül az albumin van a legnagyobb mennyiségben jelen a szervezetben és a plazmában. Teljes mennyiségének kb. egyharmad része extravaszkulárisan helyezkedik el. A májsejtekben termelődik, szerepet játszik a testfolyadék ozmotikus nyomásának szabályozásában, bár leírtak ödéma nélküli analbuminémiás eseteket is. Az albumin szintézise elsősorban a hozzá szükséges aminosavellátottságtól függ. Néhány hormon indirekt módon fokozza termelődését, mint a kortizon, a pajzsmirigyhormonok, a STH és az inzulin. A stresszhatás csökkenti vérbeli koncentrációját (JAKAB 1983).

Közreműködik számos, biológiailag fontos anyag (pl. a Ca^{2+}, bilirubin, hem, zsírsavak) transzportjában. Hormonok (pl. tiroxin) is kapcsolódhatnak a molekulához (JAKAB 1983). A plazmában az albumin az egyik legfontosabb EC antioxidáns,

molekulánként egy szulfhidril csoportot tartalmaz, önmagában megköti a szabadgyököket. Az albumin a vas és a réz megkötésére is képes. A megkötött fémek a Haber-Weiss reakció számára elérhetőek lesznek, de a képződő aktív hidroxil gyököt az albumin azonnal megköti. A fehérje sérülés biológiailag nem jelentős a rendelkezésre álló albumin magas koncentrációja miatt, és a szabadgyököket azelőtt hatástalanítja, mielőtt azok más életfontosságú fehérjéket károsítanának (GUTTERIDGE 1995).

2.10.4. Malondialdehid (MDA)

A lipidperoxidáció folyamatáról úgy vélik, hogy egy fontos szerepet játszik különböző betegségek kialakulásában, mint például a rák (SHAMBERGER et al. 1974), a kardiovaszkuláris betegség (AZNAR et al. 1983), a májgyulladásos betegség (SUEMATSU és ABE 1982), a reumás betegség (HUMAD et al. 1985), a fémek által okozott mérgező hatás (COMPORTI 1985). Több technikát fejlesztettek már ki, hogy meghatározzák a lipid peroxidáció fokát *in vivo* körülmények között. Ezek között találunk spektrofotometriás, fluorimetriás és gázkromatográfiás módszereket, amelyeket néhány irodalomban meg is találuk (KNIGHT et al. 1987). Amióta a malondialdehidet (MDA) felfedezték, mint a lipidperoxidáció jelntős melléktermékét, több klinikai betegség alkalmával megfigyelték ennek emelkedett szintjét is (YAGI 1982). Több eljárás foglalkozik az MDA-szint meghatározásával biológiai mintákban (TSUCHIDA et al. 1985). A MDA érzékeny a tiobarbiturát-savra (TBA), mellyel könnyen reakcióba lép. Ezt az érzékeny reakciót és egyszerű eljárást gyakran használják a negatív hatások kimutatására (YAGI 1982). Jelentősen akadályozhatja a kimutatást néhány, nagy mennyiségben jelen levő anyag, mint például a bilirubin, a szénhidrát és a hemoglobin. Mindazonáltal, a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) módszerek fejlődésével az MDA meghatározása könnyebbé vált, a zavaró anyagok hatásait ki tudták küszöbölni.

A malondialdehid mellett más lipid peroxidokat, például a 4-hidroxi-2-nonenalt és az izoprosztánokat sokszor alkalmazzák az oxidatív stressz biomarkereként, így ezek a termékek másodlagos citotoxikus messengerként ott is maradnak a szövetekben, és további károsodásokat idézhetnek elő (DALLE-DONNE et al. 2006).

2.10.5. Glutation peroxidáz (GPX)

A sejteken belüli és a sejtek közötti folyadékterekben is megtalálható (VINCZER 1995). A sejtben a citoszolban és a mitokondriumban is megtalálható hozzávetőlegesen 12:1 arányban (CHANCE et al. 1979). A H_2O_2-t, alkoholokat (ROH), szerves hidroperoxidokat (ROOH) redukálja, glutationt (GSH) használva fel elektron donorként (JI és HOLLANDER 2000).

A folyamat során a redukált glutation (GSH) oxidált állapotba kerül (GSSG). A GSSG redukcióját a glutation-reduktáz (GR) katalizálja, ahol NADPH-t használ redukálószerként (JI és HOLLANDER 2000, VINCZER 1995). A GPX erősen specifikus a GSH-ra, de kevésbé a hidroperoxidokra (ROOH, H_2O_2). Fontos szerepet játszik a lipidperoxidáció gátlásában és a DNS, ill. RNS állomány károsodásának megelőzésében. Habár a GPX-nek és a kataláznak is a H_2O_2 a szubsztrátja, a GPX-nek nagyobb az affinitása a H_2O_2 kis koncentrációjára mint a kataláznak (SIES 1985).

A GPX aktivitása a legnagyobb a májban és a vörösvértestekben, kisebb az agyban, vesében és a szívben, és alacsony a vázizomban is (JI 1995, LEEUWENBURGH et al. 1997).

2.10.6. Glutation (GSH)

Három aminosav - glutaminsav, cisztein és glicin - összekapcsolódásából kialakult tripeptid, mely igen magas koncentrációban megtalálható minden állati és növényi sejtben. Kitűnő gyökfogó, még a hidroxil gyököt is képes hatástalanítani, amennyiben a képződésének pillanatában egy GSH-molekula is jelen van. A szabad gyökök által megtámadott és gyökké alakított DNS-t is képes visszaalakítani az eredeti molekulává (JI és HOLLANDER 2000).

A GSH legfontosabb antioxidáns funkciója, hogy a GPX számára szubsztrátként van jelen (hogy a hidrogén- és szerves peroxidokat vissza tudja alakítani). Egy pár hidrogén ion felvételével a GSH oxidálódik (GSSG). A GSSG redukcióját a glutation reduktáz (GR) katalizálja, amely NADPH-t használ redukáló szerként. Ez a reakció a GPX-zal kapcsolatban megy végbe, amely a GSH regenerációjának redox ciklusát biztosítja (JI és HOLLANDER 2000).

Az egyes szervek GSH tartalma igen eltérő, mely függ ezek funkciójától és oxidációs kapacitásától. A máj rendelkezik a legnagyobb GSH koncentrációval a testben (HALLIWELL és GUTTERIGE 1989). A vörösvértestekben magasabb a GSH szint a plazmához viszonyítva, melynek elsődleges oka a haemoglobin védelme az oxidatív módosulásoktól. A vázizomzat GSH tartalma változik rosttípusonként és fajonként is (JI et al. 1992, JI 1995).

Az intracelluláris GSH szint a GSH szükséglet és a GSH szintézis által szabályozott. Habár a GSH nélkülözhetetlen a normális sejtfunkcióhoz, számos szerv és szövet nem képes előállítani. Ezért a GSH-t táplálék útján kell felvenni, mely ezután szállítódik a sejtekbe (DENEKE és FANBURG 1989). Ez a folyamat a membránokon keresztüli transzport folyamatot és a GSH reszintetizálását jelenti (JI és HOLLANDER 2000).

2.10.7. Plazmafehérjék

A plazmafehérjék dinamikus, szüntelen változó összetett rendszert alkotnak. Az egész rendszert felépítő sokféle egyedi fehérje csoportosítása, osztályozása különféleképpen lehetséges, de korábban is, ma is nagymértékben függ az alkalmazott vizsgáló módszerektől. A plazmaproteinek és plazmaglikoproteinek egységes rendszerként való felfogását lehetővé teszi az alkotó, egyedi fehérjék hasonló bioszintetikus eredete, rokon kémiai szerkezete, a befolyásolt élettani, kórélettani folyamat típusa, valamint lebontásuk hasonlósága. A plazmafehérjék összessége a keringésben a legnagyobb extracelluláris compartmentet jelenti. A plazmaproteinek és plazmaglikoproteinek kimutathatók az extracelluláris folyadékokban, a nyirokban, a likvorban (gerincnedv), a kötőszöveti alapállományban és intracellulárisan is. Az egyes glikoproteinek megoszlása függ a molekulaszerkezettől és a biológiai szerepétől (PUTNAM 1975).

Jelenleg 50-60 körül van az izolált és szerkezetileg, funkcionálisan ismert fehérjék száma. Ezek főleg a májban, a nyirok és a makrofág-fagocita rendszerben termelődnek és a plazmában élettani körülmények között állandóan, mérhető mennyiségben vannak jelen. Nem szerepelnek közöttük a hormonok, amelyek csak átszállítódnak a plazmában, részben kóros viszonyok között jutnak a keringésbe. Azok a fehérjék sem, amelyek az erek falának fokozott áteresztőképessége miatt kerülnek az intravaszkuláris térbe és nem szerepelnek azok a proteinek sem, amelyek csak kóros körülmények között fordulnak elő a plazmában jelentősebb koncentrációban (pl. α_1-fötogglobulin, β_2-mikroglobulin, ferritin, karcinoembrionális antigének). Ha ezeket is a plazmaproteinek, plazmaglikoproteinek közé soroljuk, számuk a 150-200-at is meghaladja. Természetes azonban, hogy termelődésük helye, plazamabeli koncentrációjuk, élettani előfordulásuk nem determinálja, szükségszerűen nincs is szoros összefüggésben élettani, kórélettani jelentőségükkel, még kevésbé klinikai diagnosztikai felhasználhatóságukkal (PUTNAM 1975).

2.11. Az új stressz-vizsgálati módszer irodalmi előzményei

A plazmaproteinek kémiai értelemben is megfelelnek a protein kritériumának. Ezek egyike-másika azonban nemcsak polipeptidláncból épül fel, hanem kevés szénhidrátot is tartalmaz. Ilyen például a glikált hemoglobin GHb (JAKAB 1983), szérum/plazma fruktózamin (SeFa) (SCHLEICHER és VOGT 1990), melyeknek előfordulását, mennyiségi változásait ma már a humán klinikai gyakorlatban is vizsgálják, mert megbízhatóan jelzi a szénhidrát-anyagcsere rendezett vagy rendezetlen voltát. Ezek a fehérje-szénhidrát komplexek legnagyobbrészt a transzlációt követően képződnek, és ennek megfelelően biológiai jelentőségük is kisebb, de klinikai szempontból nem alárendelt fontosságúak (JAKAB 1983).

A vérben a plazma fehérje-szénhidrát összekapcsolódás (fehérjék glikálódása) a vérglükóz vérbeli koncentrációjának arányában történik (SUHONEN et al. 1989, GEBHART et al. 1995). Ez a kapcsolat mindaddig fennmarad, amíg a fehérje (3-20 nap) el nem bomlik. Éppen ezért tartós és megbízható képet nyerhetünk a vérvételt megelőző néhány hét vérglükóz szintjéről, míg az aktuálisan mért vércukorszintet az állat pillanatnyi szimpatoadrenális rendszerének izgalma a hiteles érték fölé emelheti, ezért önmagában a vérglükóz nem alkalmas az állat glükózellátottságának jellemzésére (BISSÉ et al. 2003, GOPALKRISHNAPILLAI et al. 2003).

A glikált fehérjék (SeFa) mérését humán vonalon 1985-től alkalmazzák a cukorbetegség rutinszerű diagnosztikai megállapításánál (WOO és WEINSTOCK 1987). Homokiotherm (állandó testhőmérsékletű) állatokban a fruktózamin meghatározása elsősorban nyúlban (OPPEL és TEMESVÁRY 2001, OPPEL et al. 2001,) szarvasmarhában (LAKNER et al. 2001, OPPEL et al. 2000a) és kutyában, macskában (SZILÁGYI 2003) történt.

A halakban, melyek poikilotherm (változó testhőmérsékletű) gericesek, a glikált fehérjék mennyiségét célzó kutatások teljesen hiányoznak. A SeFa kialakulásában nagymértékben szerepet játszik a vércukor jelenléte. A vérplazma rendellenes glükóz tartalmát viszont a rövid és középtávú stressz mértékének kimutatására is használják. Mivel a SeFa szintje lassan mozdul el a szervezetben, arra következtettem, hogy a hosszútávú stressz-hatásokat a SeFa meghatározásával ki tudom mutatni.

3. Anyag és módszer

3.1. A mintavételek módszere

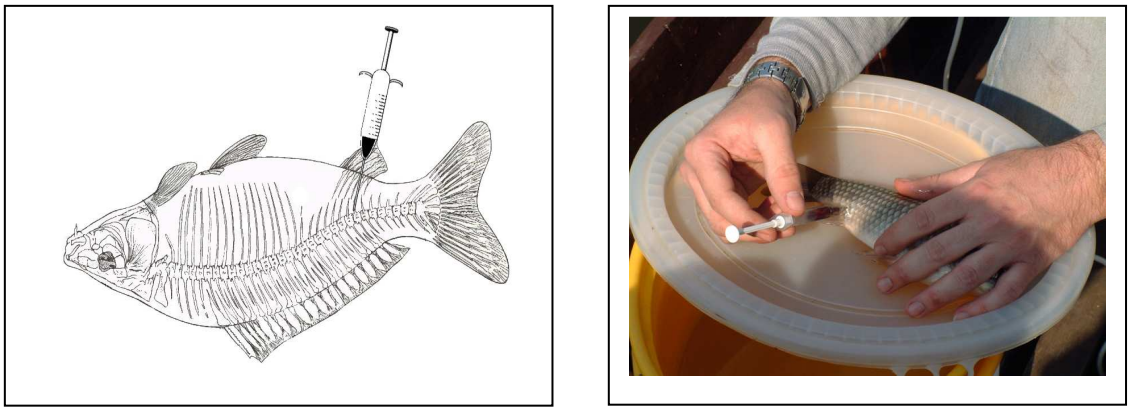
Valamennyi hal és vérminta gyűjtése a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Állatetikai bizottsága által, a vonatkozó rendelkezések alapján meghatározott alapelvek figyelembevételével történt.

3.1.1. A kísérleti halak gyűjtése

A kísérleti halakat IUP 12 típusú elektromos kutató-halászgéppel gyűjtöttem be és a kifogást követően a halakat testsúly és testhossz szerint válogattam. Közvetlenül a Halgazdálkodási Tanszékre szállítás után, a halakon parazitológiai vizsgálatokat is végeztem annak érdekében, hogy ne kerülhessen fertőző egyed a kísérleti állományokba. A halak beszállítása után a kopoltyúlemezeket és a testfelületet vizsgáltam szabad szemmel és mikroszkóppal pontytetű *(Argulus foliaceus)*, különböző kopoltyúférgek *(Dactylogyrus vastator, Dactylogyrus extensus, Dactylogyrus anchoratus* és *Dactylogyrus minutus)* és lernea *(Lernaea cyprinacea)* jelenlétét kutatva. A kontroll kísérlet alkalmával vizuálisan ellenőriztem a parazita fertőzöttséget a tóparton, a mikroszkópos vizsgálatokat csak a kísérlet végén végeztem, a kísérlet jellegéből adódóan.

3.1.2. A vérminták gyűjtése

Minden kísérletemben olyan méretű egyedekkel dolgoztam, amelyektől minimálisan 1,5 ml vért lehetett venni (testhossz 16,5 ± 4,2 cm). A halakat oldalukra fordítottam és a tűt a farokalatti úszó és az oldalvonal között szúrtam be. Átlagosan 1,5 ml vért vettem a halak farokvénájából (1. kép) (*vena caudalis*), a minták alvadását heparinnal gátoltam (1-2 csepp). A vérvételekhez steril, eldobható 21-25 G nagyságú tűket és minden esetben 2 ml-es fecskendőt használtam. A vért hűtőtáskában szállítottam (+ 4 °C) a feldolgozás helyére.



1. kép A vérvétel helye

3.1.2.1. A vérminták előkészítése a biokémiai vizsgálatokhoz

A heparinnal kezelt vérmintákat hűtött közegben (+4 °C) tartottam, majd centrifugálással (3000 fordulat/perc, 10 perc) választottam el az alakos elemeket a vérplazmától. A vérplazma leszívása után a fehérvérsejteket és a vérlemezkéket tartalmazó réteget eltávolítottam, majd némely esetben a vörösvérsejteket 9-szeres bidesztillált vízzel hemolizáltam. A vérplazma-mintákból határoztam meg a vérplazma glükóz, a szérum fruktózamin, az albumin, az összfehérje, a glutation peroxidáz, a glutation peroxidáz aktivitás és a malondialdehid szintet. Egy kísérlet alkalmával a vörösvérsejt 1:9 hemolizátumban mértem a glutation peroxidáz mennyiségét és a glutation peroxidáz aktivitását is. A vérplazma és vörösvérsejt hemolizátum mintákat a mérések elvégzéséig −20 °C-on tároltam. A vörösvérsejtek teljes hemolízisét a hipoozmotikus feltételek mellett a fagyasztás (min. 18 óra, −20 °C), majd a meghatározások előtt a fagyasztott minták szobahőmérsékleten (20 ± 2 °C) történő lassú felengedése is segítette.

3.1.3. A vízminták gyűjtése és feldolgozása

Minden laboratóriumi vizsgálatnál a kísérlet megkezdése előtt, a kísérlet közben és a kísérlet végén meghatároztam a víz általános kémiai összetételét. Az akváriumi víz vizsgálata a hőmérsékletre (°C), pH-ra, az oldott oxigénre (mg/l), lúgosságra (nk°), ammónium ionra (mg/l), szabad ammóniára (mg/l), nitritre (mg/l), nitrátra (mg/l), szulfidra (mg/l), kénhidrogénre (mg/l), ortofoszfátra (mg/l), foszforra (mg/l), a vezetőképességre (µS) és az összes sótartalomra (g/l), valamint a zöldalgák, kékalgák, kovaalgák, ostoros algák (%) mennyiségére terjedt ki. A vízkémiai vizsgálatok Merck típusú készítményekkel történtek, erre a vizsgálatokra akkreditált laboratóriumban.

A tavi kutatásaim során a víz hőmérsékletét (°C), pH-ját, az oldott oxigén (mg/l) mennyiségét WTW Oxi 96 mérőműszerrel határoztam meg a halak kifogása után azonnal. Az ammónium ion (mg/l) és nitrit (mg/l) mennyiségét, valamint a vezetőképességet (µS) és az összes sótartalmat (g/l) pedig laboratóriumban, közvetlenül a halak beszállítása után vizsgáltam. A vízkémiai méréseket mind nyílt vízi, mind pedig parti zónában is elvégeztem.

3.2. A kísérleti állatok tartása és takarmányozása

A halak laboratóriumba szállítása után az állatok számára egy hétig ideális, stresszmentes környezetet biztosítottam 3 m^3-es recirkulációs rendszerben működő kádakban,

a Halgazdálkodási Tanszék „faházában”. Ezek után az állatokat áthelyeztem 600 literes akváriumokba, ahol szintén egy- illetve kéthetes adaptációs időt alkalmaztam, ugyancsak recirkulációs rendszerben. Az akváriumokban rachel-hálóból búvóhelyet is készítettem a zavartalan adaptáció érdekében.

A vizsgált halak takarmányozása naponta egyszer történt (kb. a testtömeg 5 %-a), de a vérvételek előtti napon a takarmányt megvontam, hogy az egyes egyedek között esetleg meglévő eltérő mennyiségű takarmányfelvétel a mérési eredményeimet ne befolyásolja. Az állatok takarmányozására harcsa- és pisztrángtápot, valamint természetes táplálékot (pl. légynyű „csonti”) használtam.

3.3. Biokémiai módszerek

3.3.1. A vérplazma glükóz koncentrációjának meghatározása

A vérplazma glükóz szintjének meghatározását enzimatikus (GOD-POD) kolorimetriás módszer segítségével végeztem el (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 pipettáztam, majd ezt 37 °C-on 10 percig inkubáltam. Az inkubáció után a mérési eredményeket automata fotométerről (Humalyzer-815 és UV mini-1240) mmol/l-ben olvastam le (500 nm hullámhosszon).

3.3.2. A vérplazma szérum/plazma fuktózamin (SeFa) koncentrációjának meghatározása

A szérum/plazma fruktózamin (SeFa) méréséhez az OPPEL és mtsai (2000b) által kifejlesztett reagenst, illetve az erre kifejlesztett mikro módszert használtam. A reagens elkészítéséhez NBT festéket (Nitro blue tetrazolium grade III. crystalline, Sigma, St. Louis) és karbonátpuffert használtam. A karbonátpuffer elkészítéséhez 13,375 g/250 ml (0,5 M) Na_2CO_3-ot és 2,1 g/50 ml (0,5 M) $NaHCO_3$-t használtam. Értékelés spektrofotométerrel történt reagens vakkal szemben 550 nm hullámhosszon (Carl Zeiss és UV mini-1240), az eredményeket mmol/l-ben határoztam meg.

3.3.3. A vérplazma albumin-koncentrációjának meghatározása

Az albumin meghatározása brómkrezolzöld (BCG, 3,3,5,5-Tetrabróm-m-krezol-szulfoftalein) festékanyag segítségével történt, 620 nm-en. A reagens elkészítésekor Na-acetát és ecetsav elegyét alkalmaztam. A brómkrezolzöldet etil alkoholban oldva használtam a puffer elkészítéséhez.

3.3.4. A tiobarbitursav-reaktív anyagok (malondialdehid) mennyiségének meghatározása

A malondialdehid (MDA) a többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációja során keletkező metastabil végtermék. A minták (vörösvérsejt 1:9 hemolizátum) MDA koncentrációját a PLACER és mtsai (1966) által kidolgozott és MATKOVICS és mtsai (1988) által módosított módszerének megfelelően mértem. A mérés elve, hogy a MDA 2-tiobarbitursavval (Sigma, St. Louis) savanyú közegben magas hőmérsékleten sárgás-vörös színű komplexet képez, melynek abszorpciós maximuma 535 nm hullámhosszon van, így az spektrofotometriásan mérhető. A rendszer pH-értékének beállítására 10 %-os triklór-ecetsav (Carlo Erba, Rodano) használtam. Centrifugálást (2500 g, 10 perc, +4°C) követően a felülúszóból reagens vakkal szemben 535 nm-en mértem a minták abszorbanciáját. A mérés során standardként 1,1,3,3-tetra-etoxi-propánt (Fluka, Buchs) használtam.

3.3.5. A redukált glutation (GSH) koncentráció meghatározása

A redukált glutation koncentrációt a mintákban (vérplazma, vörösvérsejt 1:9 hemolizátum) SEDLAK és LINDSAY (1968) módszerének megfelelően mértem. A módszer alapját a glutation szabad SH-csoportjának szulfhidril-reaktív vegyülettel való színes komplexképző reakciója adja. A vizsgálat a mintákban található fehérjék 10 % triklór-ecetsavval (Carlo Erba, Rodano) történő kicsapását, majd centrifugálását (10000 g, 2 perc) követően a felülúszókból történt. Ezzel a fehérje SH-csoportok hatása minimalizálható volt. A reakcióban szulfhidril-reagensként az 5,5’-ditiobis-(2-nitro-benzoesav)-t (Sigma, St. Louis) alkalmaztam, mely sárga színű komplexet képez a reaktív nem fehérje SH-csoportokkal. Így a GSH koncentráció a komplex fényelnyelésének 412 nm-es hullámhosszon történő abszorbancia mérésével meghatározható. A komplex képződéséhez szükséges lúgos közeget (pH = 8,0 – 8,2) trisz-hidroximetil-aminometán (Sigma., St. Louis) pufferrel (pH = 8,9) állítottam be.

3.3.6. A glutation-peroxidáz aktivitás (GSH-Px) meghatározása

A glutation-peroxidáz (E.C. 1.11.1.9) aktivitását a vörösvérsejt 1:9 hemolizátumban határoztam meg. A módszer azon az elven alapul, hogy reaktív oxigéngyökök jelenlétében a redukált glutation (GSH) az enzim közreműködésével glutation-diszulfiddá (GSSG) oxidálódik. A mérési rendszerben az enzim ko-szubsztrátjaként GSH (Sigma, St. Louis) és kumol-hidroperoxid (Merck, Darmstadt) szerepel. Az enzimreakció időtartama 10 perc, melyet 10 %-os triklór-ecetsavval (Carlo Erba, Rodano) végzett fehérjekicsapással állítottam le (MATKOVICS et al., 1988). A GSH-fogyást az 5,5'-ditiobis-(2-nitro-benzoesav)-val (Sigma, St. Louis) képzett komplex fényelnyelésének 412 nm hullámhosszon spektrofotométerrel történő abszorbancia mérésével határoztam meg.

Az enzimaktivitást egységben fejeztem ki, amely 1 nmol GSH oxidációját jelenti percenként a használt rendszerben 25 °C-on. Az enzimaktivitást a minták fehérjetartalmára vonatkoztatva adtam meg.

3.3.7. A fehérjekoncentráció mérése

A vérplazma minták fehérjetartalmát biuret reakcióval határoztam meg (WEICHSELBAUM 1946).

A biuret reakció elve, hogy a biuret-reagensben található Cu(II) ionok lúgos közegben reakcióba lépnek a fehérjék peptidkötéseivel, melynek eredményeképpen színes komplex jön létre. A komplex fényelnyelését 546 nm hullámhosszon spektrofotométerrel, reagens vakkal szemben mértem.

3.4. Tudományos kísérletek

3.4.1. Előkísérletek

Doktori munkám első lépéseként kombinált, több stresszor által kiváltott stressz hatását vizsgáltam különböző vérplazma-paramétereken és vörösvérsejt 1:9 hemolizátumokon keresztül, ezüstkárász (*Carassius gibelio* BLOCH, 1782) halfajon. A kísérleteket a Gödöllő-Isaszegi tórendszer I. sz. tavából származó állatokkal végeztem.

A kísérlet előtt az egyedeket 3 m^3-es medencében tartottam 15,9 °C-os vízhőmérséklet és 6,8 mg/l oxigénszint mellett, takarmányozásuk mesterséges pisztráng- és harcsatáppal történt naponta egyszer (kb. a testtömeg 5 %-a). A vizsgálati idő 10 nap volt. A vizsgálatokat egymástól jól elkülönített, összesen öt, 60 literes akváriumban végeztem, akváriumonként 10 - 10 állattal, melyeknek súlya egyedenként 97,66 ± 4,05 g volt. A akváriumok kiindulási vízhőmérséklete 16,05 ± 0,35 °C, oxigénszintjük pedig 6,85 ± 0,25 mg/l volt.

Egyidejűleg öt különböző stresszort alkalmaztam minden akváriumban. Ezek a következők voltak:

1. A víz hőmérsékletének emelése. 24 óra alatt 24,6 °C-ig ± 0,40 °C növeltem a víz hőmérsékletét a légtér fűtésével, majd ezt a magas hőmérsékletet a kísérleti idő végéig megtartottam.

2. Oxigénhiány. A kiindulási oxigén szintek a halak gázcseréjének következtében csökkentek le 0,7 ± 0,15 mg/l-ig. A kísérlet közben oxigén-utánpótlás egyik akváriumban sem történt.

3. Táplálékmegvonás. A táplálék megvonása a kísérlet első napjától kezdődött.

4. A halak mozgásterének csökkentése. A kiindulási 50 liter/egyed sűrűséget 6 liter/egyed sűrűségre csökkentettem.

5. Az akváriumi adaptációs idő elhagyása. Az egyedek kísérletbe állításakor a medencéből szoktatás nélkül kerültek az akváriumokba.

A kísérlet folyamán kétnaponta vettem vérmintákat, egy akváriumban levő állatoktól csak egyetlen alkalommal. Az első akvárium egyedeitől a második, a második akvárium egyedeitől a negyedik napon és így az utolsó ötödik akváriumban tartott halaktól csak a behelyezéstől számított tizedik nap múlva vettem vérmintákat.

A vizsgált vérplazma-összetevők az albumin, glükóz, összfehérje, szérum/plazma fruktózamin és a redukált glutation volt. A vörösvérsejt hemolizátumból pedig a redukált glutation és malondialdehid mennyiségét, valamint glutation-peroxidáz aktivitás szintjét határoztam meg.

3.4.2. Kontroll-kísérletek

A kontroll-kísérleteket két nagy részre osztottam. Az egyik vizsgálat *(A)* esetében a kifogás helyszínén (csónakban) is végeztem vérvételt, a másik vizsgálat *(B)* esetében viszont nem.

A kontroll-kísérleteket a Gödöllő-Isaszegi tórendszerből származó ezüstkárászokkal végeztem. A halak begyűjtése IUP típusú elektromos kutatóhalászgéppel történt, a víz

hőmérséklete 10,4 ºC volt. Az *A* vizsgálat során a kifogást követően a helyszínen azonnal vért vettem 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 egyedet azonnal laboratóriumba szállítottam (vízhőmérséklet 10,8 ºC, oldott oxigén 7,2 mg/l), és öt-öt csoportot alakítottam ki 600 literes akváriumokban. Mind az *A,* mind a *B* vizsgálat során az első csoportba tartozó állatoktól hetente vettem vért, négy héten keresztül. A második csoportba tartozó ezüstkárászoktól csak a laboratóriumba történő beszállítást követően az első hét elteltével vettem vérmintát. A harmadik csoport halaitól csak a második, a negyedik csoport egyedeitől csak a harmadik, az ötödik csoport egyedeitől pedig csak a negyedik hét lejárta után történt vérvétel. A vérvételek után minden esetben a vérplazma glükóz és SeFa mennyiségét határoztam meg. A kísérlet folyamán az akváriumi víz hőmérséklete jelentős mértékben növekedett (a kezdeti 10,8 ºC-os vízhőmérsékletről 19,9 ºC-ra), az oldott oxigén mennyisége pedig alig változott a kísérlet végeztével (6,9 mg/l).

3.4.3. A szérum/plazma fruktózamin (SeFa) szint évszakos változásának vizsgálata

Mind a tavi, mind pedig a laboratóriumi vizsgálatokat ezüstkárászon végeztem. A kísérleti halfaj megválasztásánál a legfontosabb szempont az volt, hogy a tavi kísérletek mintavételeinél mindig rendelkezésre álljon az adott faj.

Fontos megemlítenem, hogy a SeFa évszakos változásának vizsgálatakor, mind a tavi, mind pedig az akváriumi kísérleteknél az első három adat (január, február és március) számított érték, mert mindkét vizsgálat kezdete áprilisban volt. E nélkül a korrekció nélkül nem tudtam volna átfogó statisztikai elemzést végezni.

3.4.3.1. Tavi vizsgálatok

A tavi vizsgálatokat a Gödöllő-Isaszegi tórendszer I. sz. tavában végeztem. Az egyedeket elektromos IUP típusú kutató-halászgéppel gyűjtöttem be (2. kép). A vizsgálat elejétől, 2003-tól a mintavételezés havonta, majd később 2006-tól kéthetente történt. A mintavételek során 10 egyedtől vettem vérmintát, de előfordult, hogy ennek az egyedszámnak a megtartása fizikai okok miatt nem volt lehetséges (jég). Ezeknél a vizsgálatoknál a beteg, sérült vagy fertőzött egyedeket kizártam a vizsgálatból.

2. kép Elektromos halászat

3.4.3.2 Laboratóriumi vizsgálatok

A tavi vizsgálatok egy éves eredményei után a fent említett tóból 10 egyedet gyűjtöttem be és a Halgazdálkodási Tanszék „faházában”, 600 literes akváriumban helyeztem el recirkulációs rendszerben. A vizsgálat 2004-ben kezdődött és párhuzamosan folyt a tavi vizsgálattal. A vérvételek minden esetben a tavi vérvételek napján történetek, az eredmények összehasonlíthatósága érdekében. A laboratóriumi vizsgálat 2004. április 28-tól 2007. április 03-ig tartott. A kísérlet célja az volt, hogy kizárjam a tavi körülmények között esetlegesen jelentkező ellenőrizhetetlen hatásokat.

3.4.4. Laboratóriumi kísérletek mesterségesen előidézett stressz mértékének megállapítására

3.4.4.1 Hőmérsékleti sokk által kiváltott stressz vizsgálata

Ezekben a kísérletekben a víz hőmérsékletét fokozatosan 13 °C-ról 26 °C-ra emeltem 24 óra alatt, majd tartottam a magas hőmérsékletet, alacsony vízállást és gyors felmelegedést szimulálva. A kísérleteket 600 literes akváriumokban végeztem. Az oxigén mennyiséget mindkét csoport esetében levegőztető készülékkel pótoltam. A kontroll akváriumokban az oxigén mennyisége 6,9 ± 0,30 mg/l, a kezelt akváriumokban 5,8 ± 0,40 mg/l volt. A kontroll akváriumokban, mindhárom halfaj esetén a vízhőmérséklet a következő volt (3. táblázat):

	Kontroll	1 hét stressz	2 hét stressz	3 hét stressz	4 hét stressz
Ezüstkárász hősokk	1. hét 13,2 °C 2. hét 13,7 °C 3. hét 14,3 °C 4. hét 15,1 °C	13,1 °C	25,8 °C	26,2 °C	26,0 °C
Ponty hősokk	1. hét 13,1 °C 2. hét 13,8 °C 3. hét 14,2 °C 4. hét 14,8 °C	12,9 °C	25,9 °C	26,1 °C	26,3 °C
Amur hősokk	1. hét 12,9 °C 2. hét 13,8 °C 3. hét 14,4 °C 4. hét 14,9 °C	12,8 °C	26,2 °C	26,1	26,1 °C

3. táblázat A hőmérsékleti sokk alkalmazásakor mért vízhőmérsékletek (°C)

A vizsgálatban résztvevő egyedek átlagsúlya; ezüstkárász: 72, 37 g ± 7,73 g, ponty: 55,43 g ± 5,22 g, amur: 83,73 g ± 8,24 g.

3.4.4.2. Élettér csökkentése által kiváltott stressz vizsgálata

Az élettér csökkentésekor a vizsgált egyedeket a korábbinál ötször kisebb térbe helyeztem, egy esetleges rossz telepítést modellezve. A kontroll csoport egyedei 600 literes akváriumokban voltak elhelyezve, a stresszelt állományokat pedig 120 literes akváriumokban tartottam. Az oxigén utánpótlására ebben az esetben is levegőztető készüléket alkalmaztam. A kontroll akváriumokban az oxigén mennyisége 7,7 ± 0,60 mg/l, a kezelt akváriumokban 6,7 ± 0,80 mg/l volt. A vízhőmérsékleti adatokat a 3. sz. melléklet mutatja.
A vizsgálatban résztvevő egyedek átlagsúlya; ezüstkárász: 82, 35 g ± 5,76 g, ponty: 58,43 g ± 4,65 g, amur: 81,5 g ± 4,61 g.

3.4.4.3. Oxigénhiány által kiváltott stressz vizsgálata

Ebben az esetben oxigénhiányos életteret alakítottam ki, ugyancsak 600 literes akváriumokban. Az oxigénszintet 7,2 ± 1,4 mg/l-ről 1,2 ± 0,7 mg/l-re fokozatosan csökkentettem a kísérletek előrehaladtával. A stresszelt akváriumokban oxigén utánpótlás nem történt, így a halak az oxigént maguk fogyasztották el a saját létfenntartásukhoz. A kontroll csoport egyedei recirkulációs rendszerben voltak elhelyezve a kísérlet ideje alatt. A

vízhőmérsékleti adatokat a 3. sz. mellékletben foglaltam össze. A kísérlet alatti oxigén szinteket pedig a 4. táblázat mutatja.

	Kontroll	**1 hét stressz**	**2 hét stressz**	**3 hét stressz**	**4 hét stressz**
Ezüstkárász O_2 hiány	1. hét 6,4 mg/l 2. hét 6,2 mg/l 3. hét 5,8 mg/l 4. hét 6,0 mg/l	6,6 mg/l	2,9 mg/l	1,7 mg/l	0,5 mg/l
Ponty O_2 hiány	1. hét 8,2 mg/l 2. hét 7,7 mg/l 3. hét 8,0mg/l 4. hét 7,3 mg/l	7,2 mg/l	2,2 mg/l	1,3 mg/l	0,9 mg/l
Amur O_2 hiány	1. hét 8,4 mg/l 2. hét 8,6 mg/l 3. hét 8,2 mg/l 4. hét 8,2 mg/l	8,6 mg/l	3,5 mg/l	1,9 mg/l	0,7 mg/l

4. táblázat Az oxigénhiány alkalmazásakor mért oxigén mennyiségek (mg/l)

A vizsgálatban résztvevő egyedek átlagsúlya; ezüstkárász: 89, 85 g ± 9,33 g, ponty: 61,25 g ± 7,82 g, amur: 88,74 g ± 7,92 g.

3.4.4.4. Ragadozó jelenléte által kiváltott stressz vizsgálata

A ragadozóval kiváltott stressz előidézésére 4 és 5 kg-os lesőharcsákat (*Silurus glanis* L., 1758) helyeztem a vizsgált halak közé. Ebben a kísérletsorozatban is 600 literes akváriumokat használtam, de az előbbi kísérletekkel ellentétben minden kontroll és stressznek kitett csoport recirkulációs rendszerben volt elhelyezve. Az oxigénszintek 5,5 ± 1,1 mg/l között változtak, a vízhőmérsékleteket pedig a 3. sz. melléklet mutatja.

A vizsgálatban résztvevő egyedek átlagsúlya; ezüstkárász: 66, 55 g ± 8,71 g, ponty: 58,66 g ± 7,52 g, amur: 77, 15 g ± 9,45 g.

3.5. Alkalmazott matematikai és statisztikai módszerek

A statisztikai értékelést Microsoft Excel 97', GraphPad Prism 4.0 for Windows és SPSS 14.0 programokkal végeztem.

Az előkísérletek, a kontroll kísérletek és a laboratóriumi kísérletek során azt vizsgáltam, hogy a kezelési idő milyen hatást gyakorol a vérplazma általam vizsgált

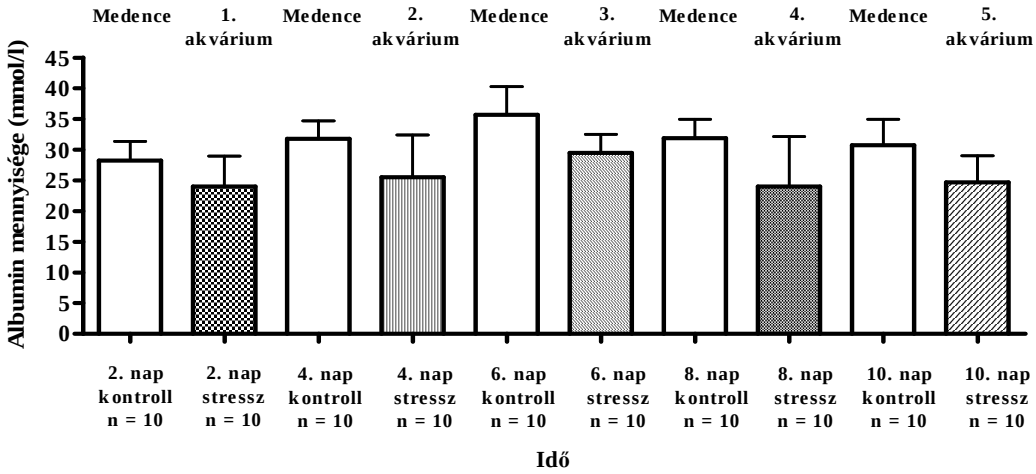
összetevőinek szintjére. Az értékelést egyszempontos variancia-analízis (ANOVA) (Tukey‘s test) segítségével végeztem $P \leq 0,05$ szignifikancia-szint mellett.

A SeFa szint évszakos váltakozásának vizsgálatakor korreláció vizsgálatot végeztem a SeFa mennyisége és a víz hőmérséklete között. Ezen kívül a SeFa szintjének váltakozására ciklikusság vizsgálatot is végeztem. Így a SeFa szezonálisan kiigazított idősor elemzését multiplikatív modellben készítettem. A SeFa periodicitásának értékelését viszont periodogrammal végeztem.

4. Eredmények

4.1. Előkísérletek

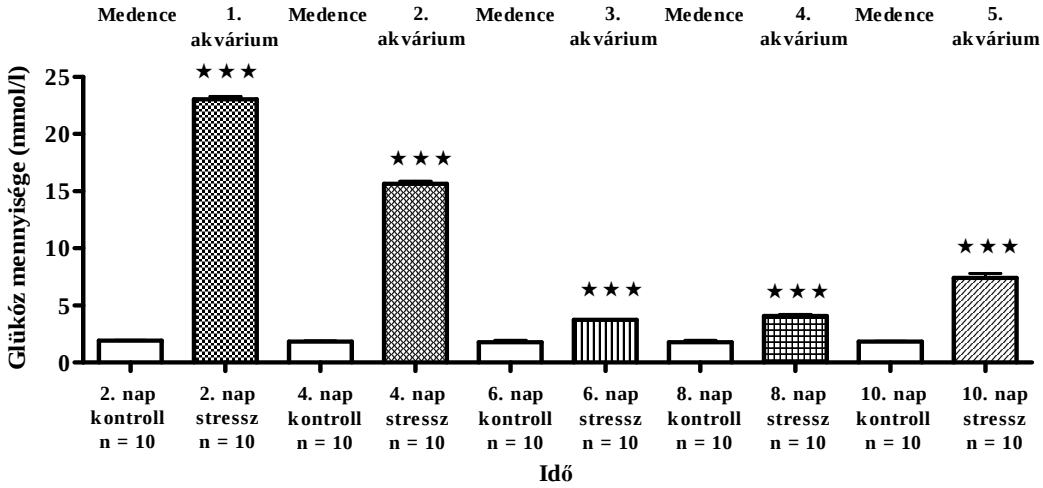
Az előkísérletek során mért albumin mennyiségeket az 3. ábra mutatja (P = 0,7197, r^2 = 0,1332). A kísérlet ideje alatt mért albumin mennyiségek egyik mintavételi időpontban sem voltak szignifikánsan eltérőek a kontrollhoz képest (P > 0,05).



3. ábra Előkísérlet ezüstkárászon. Az albumin átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

A kezelt állatok vérplazmájának albumin-mennyisége minden esetben alacsonyabb volt a kontroll-csoport egyedeihez viszonyítva. A 10 napos kísérleti idő alatt az albumin mennyisége változatos képet mutatott a kezelt egyedeknél.

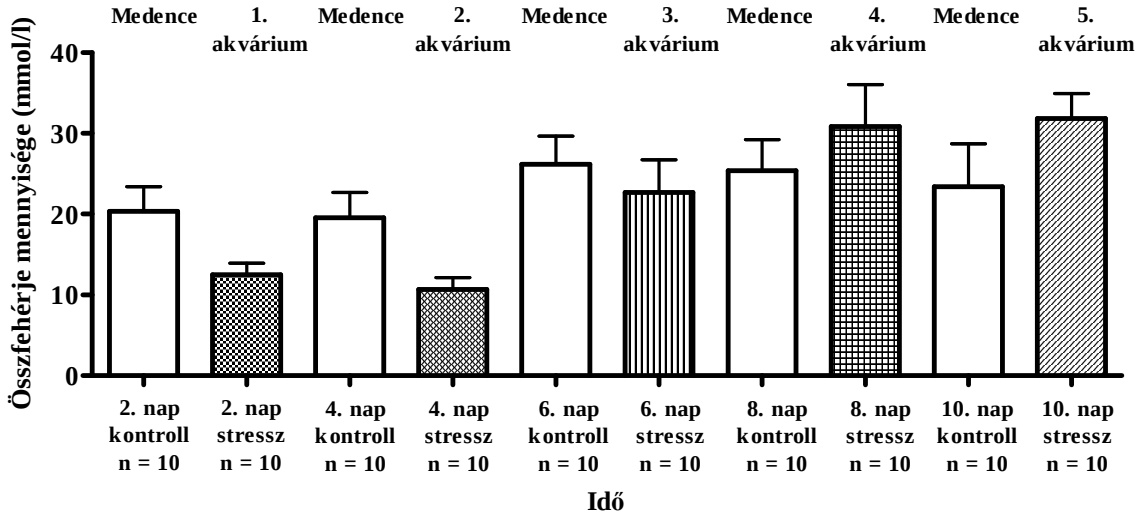
A vérplazma glükóz mennyiségén a megterhelés már jól nyomon követhető volt (P < 0,0001, r^2 = 0,9971) (4. ábra).



4. ábra Előkísérlet ezüstkárászon. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

A vérplazma glükóz-szintje a kísérlet második napján (1 mintavétel) hirtelen megemelkedett a stresszorok hatására ($P < 0,001$). A vércukor értéke elérte a maximumát, majd a második vérvételi időpontban (4. nap) csökkenő vércukor tendenciát kaptam, amely szignifikáns különbséget ($P < 0,001$) eredményezett a kontroll értékeihez képest. A harmadik akvárium egyedeinél a kontroll-egyedek eredményeihez közelítő adatsorokat kaptam ($P < 0,001$), majd ez a kísérlet végéig megmaradt ($P < 0,001$). A glükóz mennyiségének alakulása a Selye-féle általános adaptációs szindróma (GAS) három fázisával jól nyomon követhető. Az alarm vagy riasztási fázis − amikor a létfontosságú szervek (agy, szív) működése fokozódik − nagyon rövid volt. A második aktív ellenállás fázisa már a 2. napon kialakult, hiszen 23,058 mmol/l-es glükóz szintet mértem, majd a 6. napon már a kimerülés fázisa is bekövetkezett. Ekkor a vércukorszint 3,575 mmol/l volt.

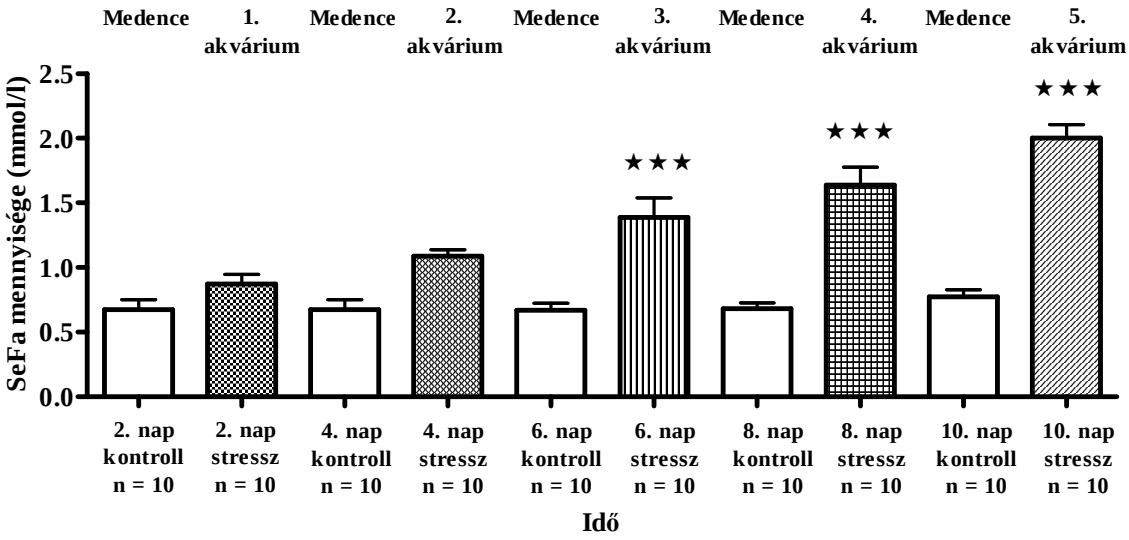
Az előkísérletekben kapott összfehérje-szint alakulását az 5. ábra szemlélteti ($P = 0,0021$, $r^2 = 0,4510$).



5. ábra Előkísérlet ezüstkárászon. Az összfehérje átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

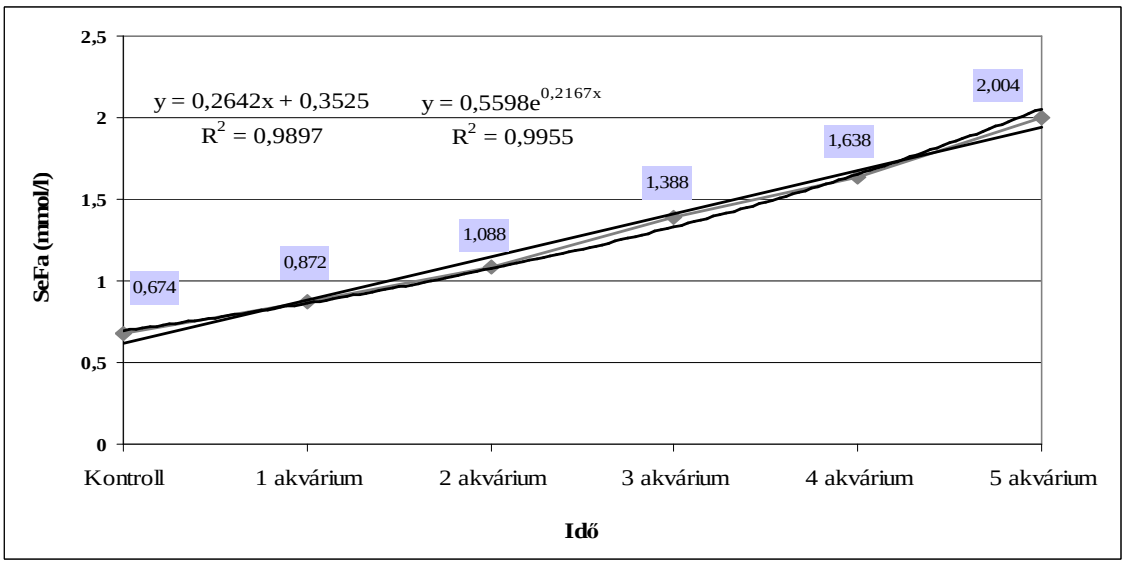
A kísérlet megkezdése után az első két vérmintavételkor felére csökkent az összfehérje mennyisége, de a csökkenés nem volt szignifikáns ($P > 0,05$). A további mintavételek alkalmával fokozatosan növekedett az összfehérje mennyisége, de ekkor sem volt szignifikáns a különbség ($P > 0,05$) a kontroll összfehérje szintjéhez képest.

A több stresszor egyidejű alkalmazása során képződő SeFa mennyiségeket a 6. ábrában foglaltam össze ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,8650$).



6. ábra Előkísérlet ezüstkárászon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

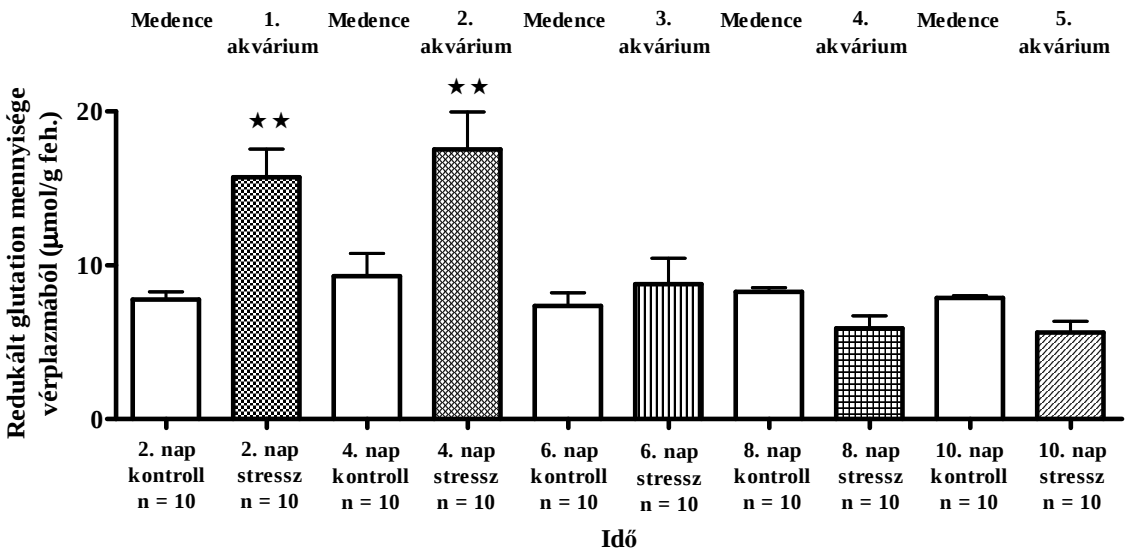
A SeFa mennyisége folyamatosan és egyenletesen növekedett a kísérleti idővel párhuzamosan. Az kontrollhoz képest először a 6. napon (3. akvárium) kaptam szignifikánsan eltérő ($P < 0,001$) változást. Abban az esetben, ha az idősorelemzésre lineáris és exponenciális trendszámítást végzünk, akkor a következő összefüggést kapjuk (7. ábra).



7. ábra A SeFa mennyiségi változása és ennek lineáris és exponenciális idősorelemzése

Az ábra jól mutatja, hogy az általam mért SeFa mennyiségek a lineáris trendvonalhoz képest alig ($R^2 = 0,9897$), exponenciális trendvonalhoz képest is igen kis mértében ($R^2 = 0,9955$) térnek el, tehát a SeFa-szint fokozatosan növekedett a kísérleti idő folyamán.

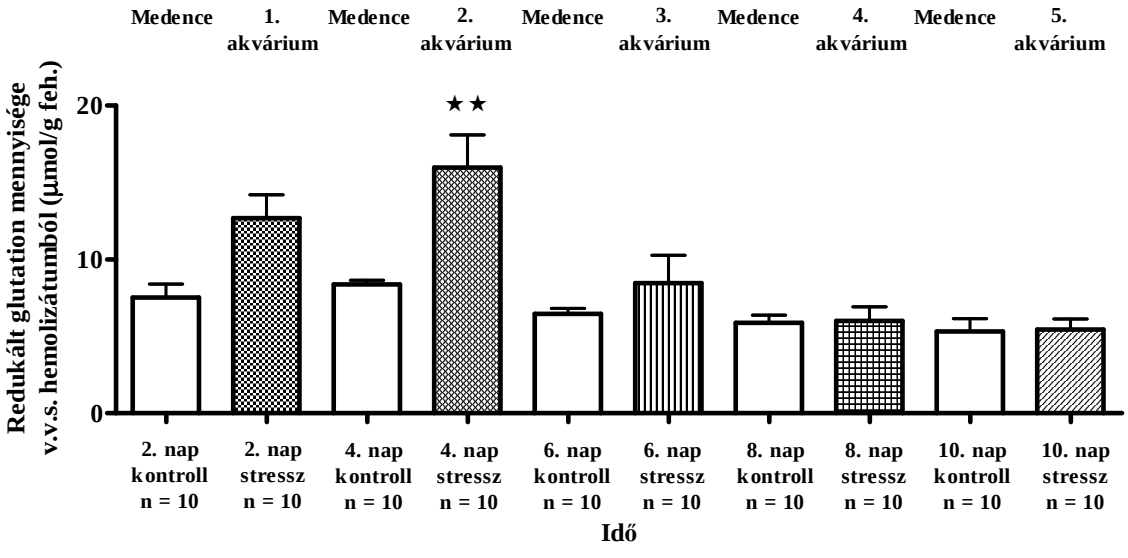
A vérplazmából mért redukált glutation mennyiségének változását a 8. ábra szemlélteti ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,6839$).



8. ábra Előkísérlet ezüstkárászon. A redukált glutation mennyiségi változása a vérplazmában (µmol/g feh.) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

Az első és második mintavételkor a redukált glutation mennyisége fokozatosan növekedett, és szignifikánsan eltérő volt ($P < 0,01$) a kontroll-egyedek értékeihez képest, majd később fokozatosan csökkent ennek mennyisége. A csökkenés ebben az esetben is a Selye-féle adaptációs szindrómával (GAS) magyarázható.

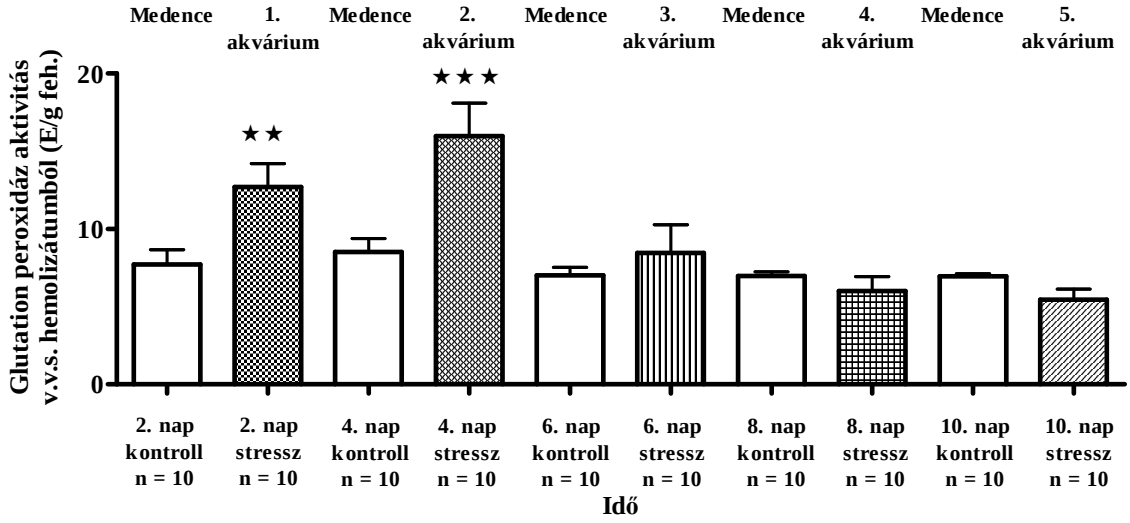
A redukált glutation mennyiségének változását a vörösvérsejt hemolizátumból is meghatároztam 9. ábra ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,6741$).



9. ábra Előkísérlet ezüstkárászon. A redukált glutation mennyiségi változása a vörösvérsejt hemolizátumban (µmol/g feh.) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

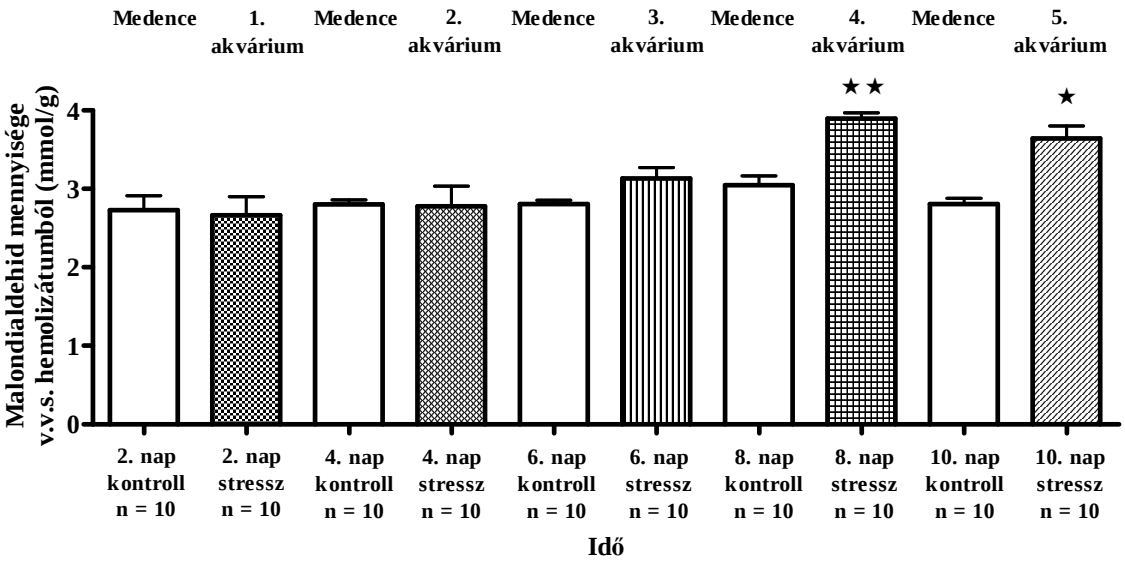
A vörösvérsejt hemolizátumból mért redukált glutation mennyisége szinte ugyanazt az eredményt hozta, mint a vérplazmából meghatározott redukált glutation mennyisége. Az első két mintavételkor emelkedett mennyiséget, majd később csökkentő tendenciát tapasztaltam. Az összes mintavételt figyelembe véve csak az első (2. nap) és második mintavétel (4. nap) alkalmával találtam statisztikai összefüggést ($P < 0,01$, $P < 0,001$) a kontroll és a kezelt egyedek között.

A glutation peroxidáz enzim eredményének trendje teljesen megegyezett a vérplazma, illetve a vörösvérsejt hemolizátumból mért redukált glutation mennyiségekkel ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,6422$) (10. ábra). Kezdetben növekedést ($P < 0,01$, $P < 0,001$), majd később csökkenést tapasztaltam a kontroll csoport értékeihez képest.



10. ábra Előkísérlet ezüstkárászon. A glutation peroxidáz aktivitás mennyiségi változása a vörösvérsejt hemolizátumban (E/g feh.) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

A malondialdehid (MDA) értékeit vörösvérsejt hemolizátumból határoztam meg ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,6315$) (11. ábra).

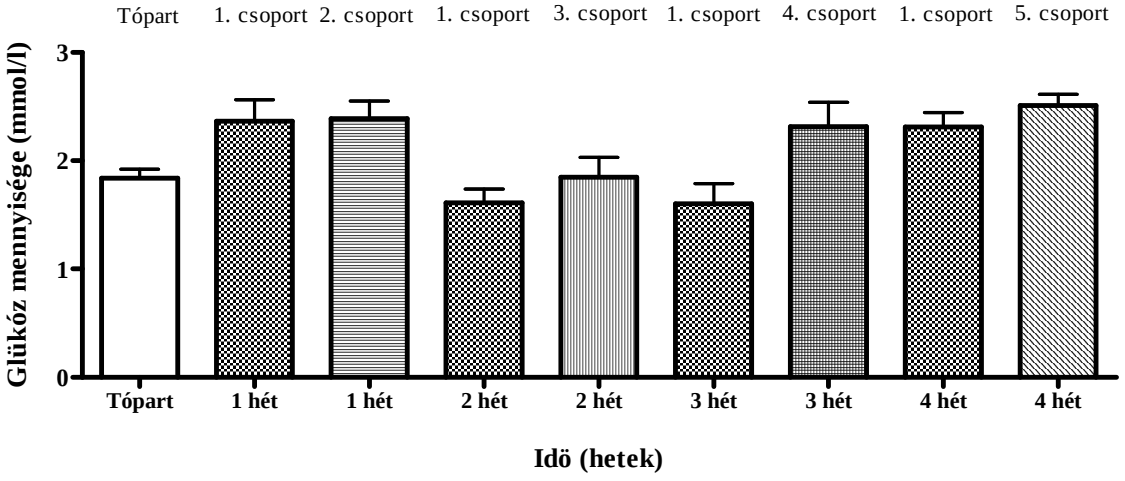


11. ábra Előkísérlet ezüstkárászon. A malondialdehid mennyiségi változása a vörösvérsejt hemolizátumban (µmol/g) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

A vizsgált időszakban az MDA értékei lassú növekedést mutattak az idő elteltével. A kísérlet során csak a 4. és 5. mintavételnél kaptam statisztikailag szignifikáns különbséget ($P < 0,01$, $P < 0,05$) a kontrollhoz viszonyítva. Az utolsó vérvétel alkalmával mért MDA szint csökkenést mutatott a 4. vérvételhez képest.

4.2. Kontroll-kísérletek

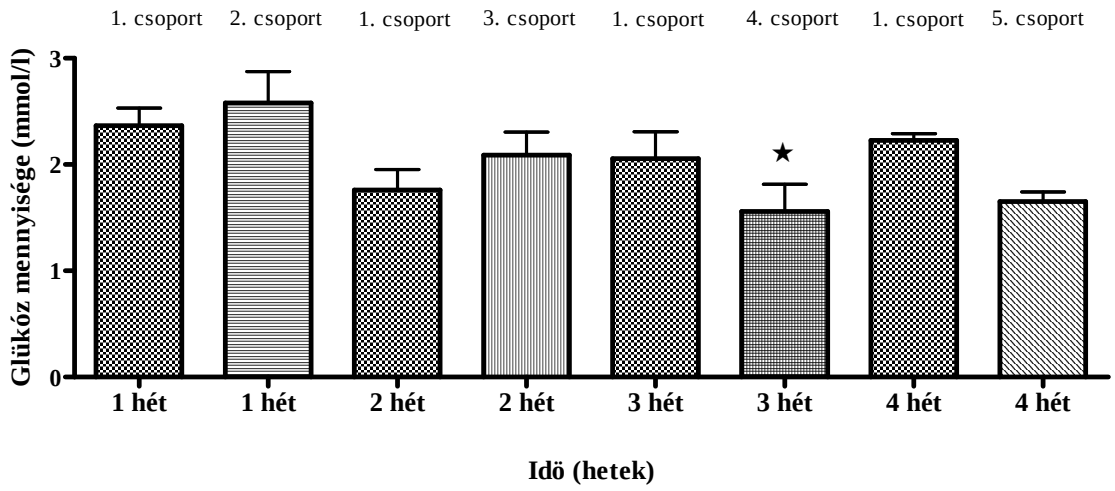
A kontroll-kísérletet két részre bontottam. A kísérlet első részének vérplazma glükóz eredményeit a 12. ábra szemlélteti ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,2554$).



12. ábra Kontroll-kísérletek ezüstkárászon (első rész) A vérplazmaglükóz mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

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 egyedeinek vércukor mennyisége tovább növekedett a tóparton vett vérmintákhoz képest ($P > 0,05$).

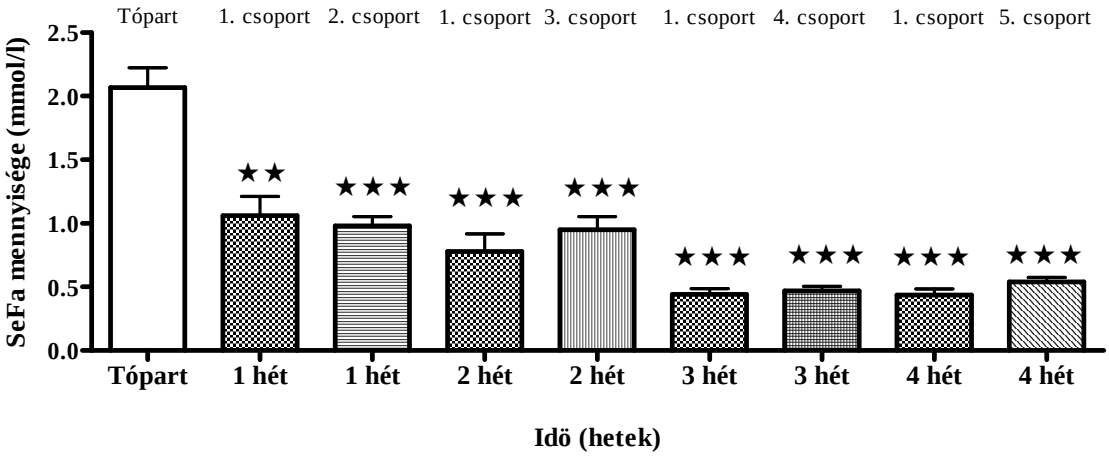
A kontroll-kísérletek másik részének vérplazma glükóz eredményeit a 13. ábrán foglaltam össze ($P = 0,0112$, $r^2 = 0,2193$).



13. ábra Kontroll-kísérletek ezüstkárászon (második rész). A vérplazmaglükóz mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

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. Majd a következő héten (1. csoport 2 hét, 3. csoport 2 hét) nem szignifikáns ($P > 0,05$) csökkenést tapasztaltam. Ez a csökkent vércukor mennyiség a kísérlet végéig megmaradt. A harmadik mintavétel

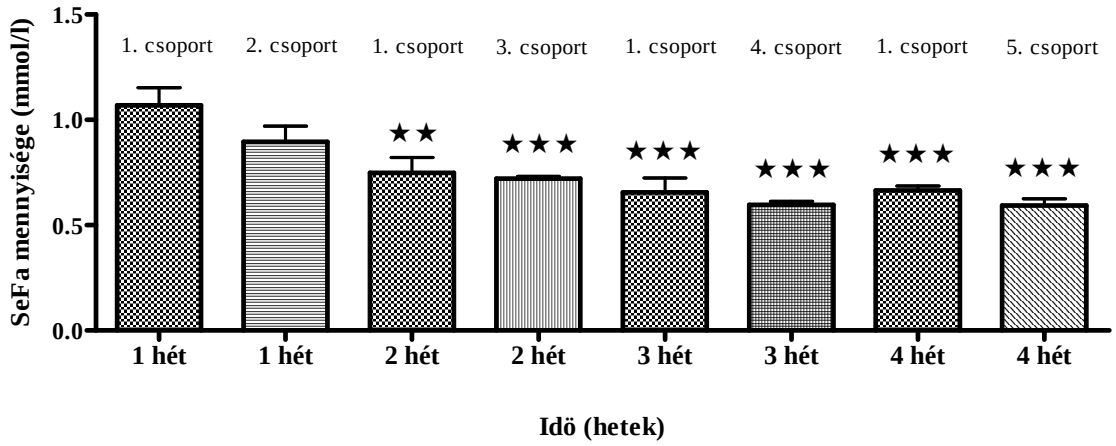
alkalmával a 4. csoport 3 hét egyedeinél szignifikáns csökkenés ($P < 0,05$) volt megfigyelhető, az első vérvételhez (2. csoport 1 hét) képest.



14. ábra Kontroll-kísérletek ezüstkárászon (első rész). A SeFa mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

A tóparton is gyűjtött vérminták SeFa mennyiségének értékeit a 14. ábra mutatja ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,5375$). 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 tapasztaltam. 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.

A kontroll kísérlet második részének SeFa eredményeit a 15. ábra szemlélteti ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,4439$).



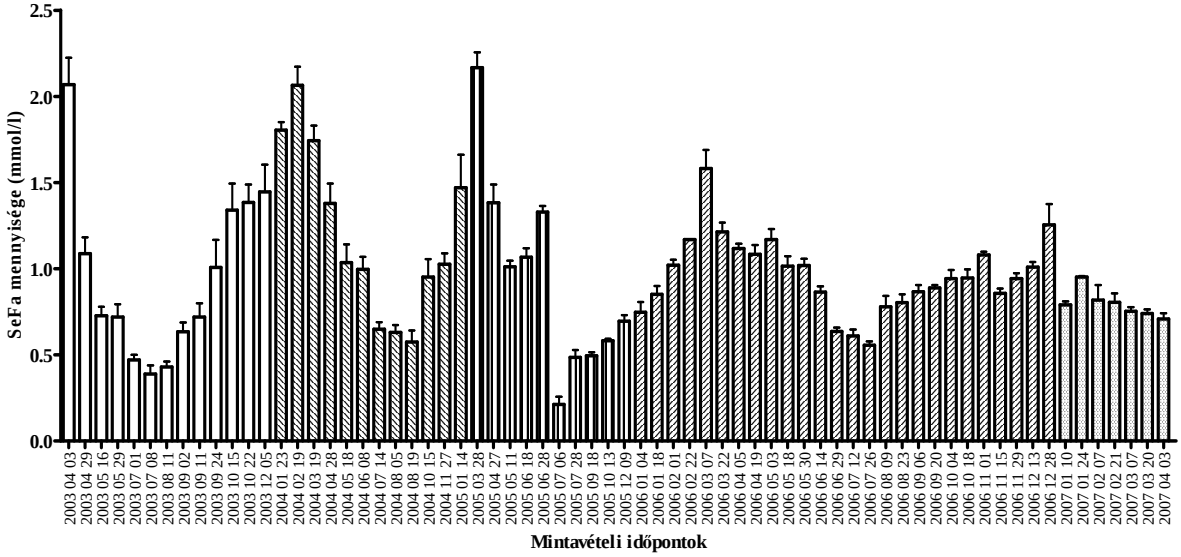
15. ábra Kontroll-kísérletek ezüstkárászon (második rész). A SeFa mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

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 ($P < 0,05$) mértem az utolsó két vérvétel alkalmával. Az utolsó két vérvételkor megfigyelhető a SeFa mennyiségének változatlansága, tehát az értékek azonosak voltak.

4.3. A szérum/plazma fruktózamin (SeFa)-szint évszakos változásának vizsgálata természetes és laboratóriumi körülmények között

4.3.1. Tavi vizsgálatok

A SeFa mennyiségét a Gödöllő-Isaszegi I. sz. tóban a 16. ábra mutatja (2003-2007).

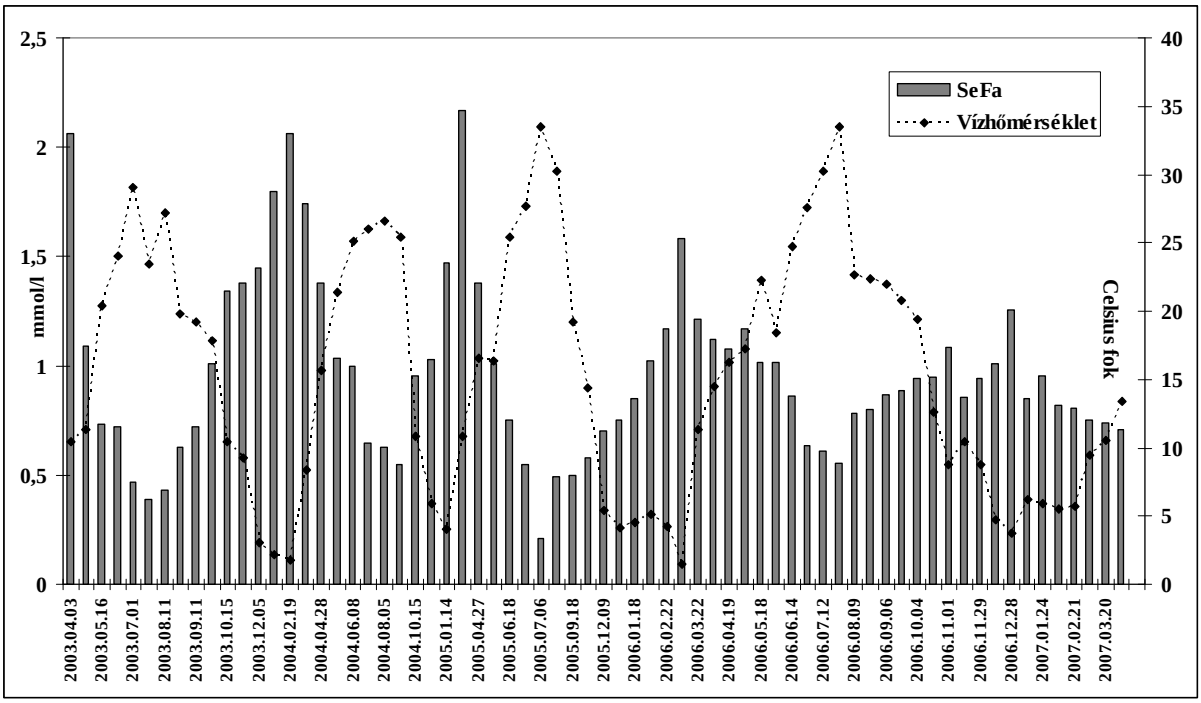


16. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata természetes körülmények között. A SeFa mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

Az ábrán jól látható, hogy a tél végi és tavaszi hónapokban magasabb, a nyári hónapokban pedig alacsonyabb SeFa mennyiségeket kaptam. Az első három vizsgálati évben folyamatos volt a SeFa növekedése és csökkenése, de két, a korábbiaktól eltérő értéket 2005. 06. 18 és 28-ai mintavételkor kaptam, melynek oka valószínűleg az új ezüstkárász állomány telepítése volt (2005. május). Már az első évi eredmények után látható volt a téli magas, illetve a nyári alacsony tendencia és próbáltam magyarázatot keresni, hogy milyen kémiai, fizikai és biológiai tényezőkkel áll ez a jelenség összefüggésben.

Evidens volt a vízhőmérséklet vizsgálata, de emellett más vízkémiai és időjárási tényezőket is megvizsgáltam. Saját méréseim alapján vizsgáltam a tóvíz különböző paramétereit: pH, PO_4, NO_2, NH_3, vezetőképesség, sótartalom. Az Országos Meteorológiai Szolgálattól kapott időjárási tényezőkkel is kerestem összefüggést a SeFa évszakos változására, ezek a következők voltak: levegő hőmérséklete, relatív nedvesség, szinoptikus szélsebesség, csapadékmennyiség, globálsugárzás. A Szent István Egyetem Tájökológia Tanszék munkatársától kapott időjárási tényezőkkel is végeztem vizsgálatokat: levegő hőmérséklete, relatív páratartalom, légnyomás, csapadék, napfénybesugárzás, szélsebesség, szélirány. A Szent István Egyetem Kémia és Biokémia Tanszék munkatársai által koordinált

„Komplex monitorozó rendszer és adatbázis kidolgozása különböző környezetterhelésű kisvízfolyásokon az EU VKI ajánlásainak figyelembevételével” c. K+F projektjének adatait is feldolgoztam az esetleges összefüggések érdekében. A projektben 46 különböző vízparamétert vizsgáltak, az alumíniumtól a vasig. Az összes fizikai tényező közül csak a vízhőmérséklettel találtam statisztikai összefüggést, amelyet az 17. ábra szemlétet.



17. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata természetes körülmények között. A vízhőmérséklet alakulása (°C) a vizsgált időpontokban

Vizsgálataim során csak negatív korrelációt találtam a víz hőmérséklete és a vérplazma SeFa mennyisége között. Abban az esetben, ha az egész vizsgálati időt tekintjük akkor a korreláció közepes ($r = -0{,}6052$, $r^2 = 0{,}3663$, $P < 0{,}001$).

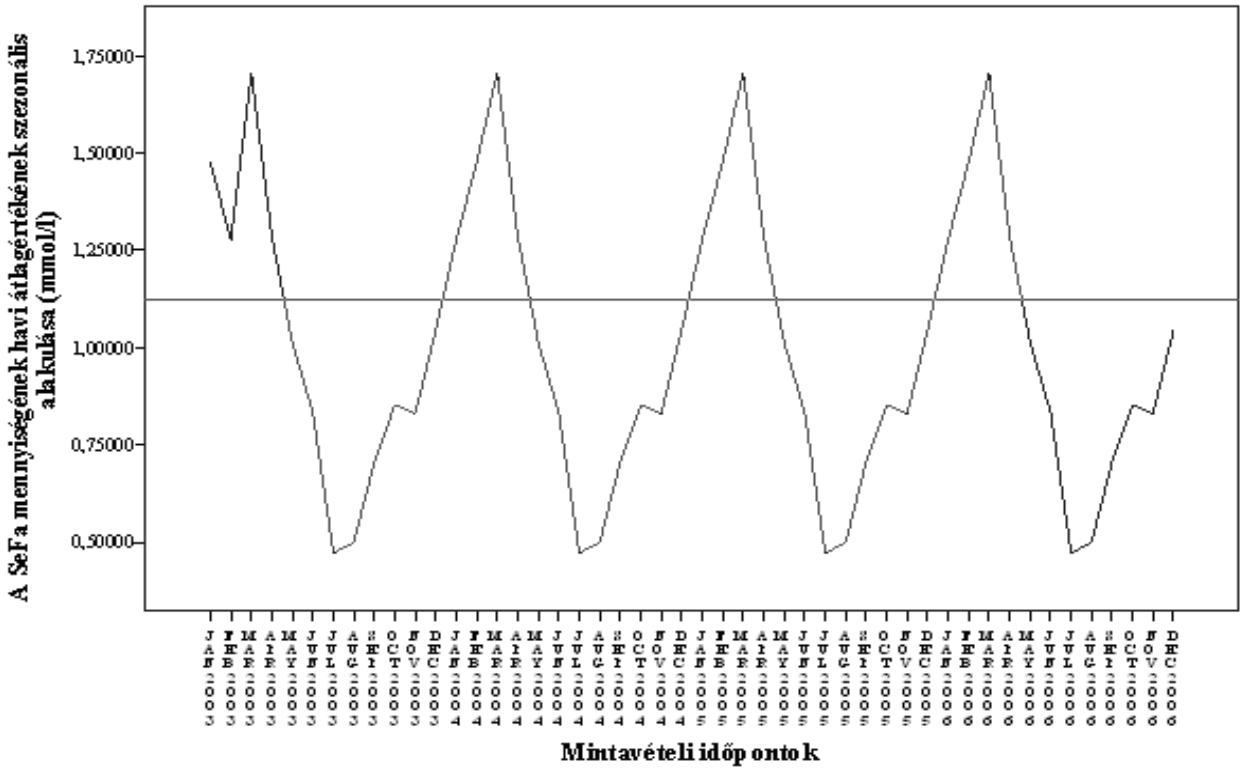
Az évenkénti korrelációs együttható értékeit a következő táblázat mutatja (5. táblázat).

	2003	*2004*	*2005*	*2006*	*2007*
Korrelációs együttható (r)	−0,8508***	−0,8305***	−0,6232* (**!**)	-0,6525***	-0,7846*

5. táblázat A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata természetes körülmények között. A vérplazma SeFa mennyiségeinek és a vízhőmérsékletek korrelációs együttható értékei (r).
(**!**) a mintavételek közül a fent említett két kiugró értéknél interpolációt végeztem a könnyebb értékelhetőség érdekében

A negatív korreláció minden évben szignifikánsnak bizonyult, az első két évben szoros, majd később közepes korreláció volt megfigyelhető. Az utolsó évben is vizsgáltam a korrelációt, de ebben az évben csak negyedéves adatsort értékeltem.

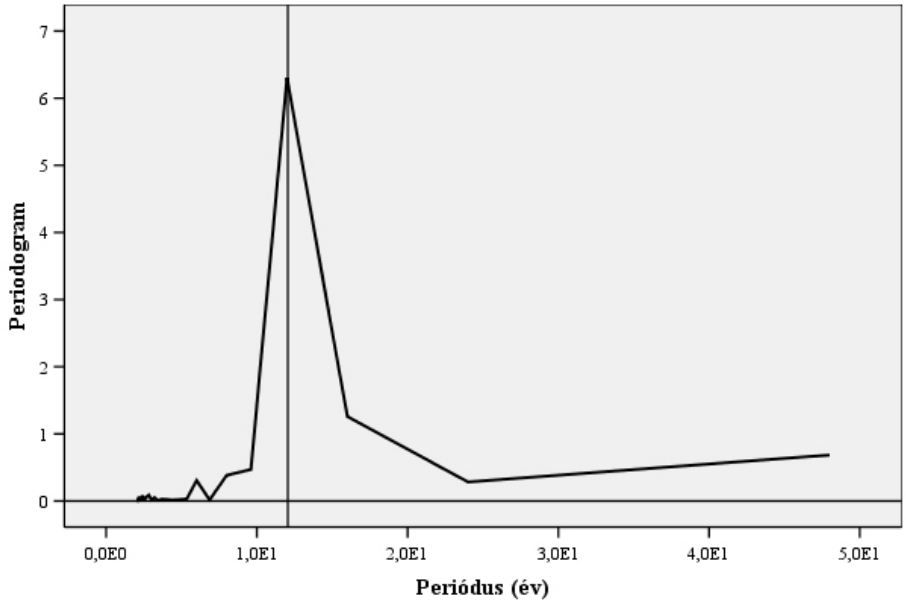
A vizsgálati idősorban mutatkozó ciklikusság elemzésére ciklikusság vizsgálatot is készítettem. A SeFa szezonálisan kiigazított idősor elemzését multiplikatív modellben a 18. ábra mutatja a vizsgált négy évben.



18. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata természetes körülmények között. A vérplazma SeFa mennyiségének ciklikussági vizsgálata

Az ábra jól mutatja, hogy éves periodikus ingadozás figyelhető meg a SeFa mennyiségében, illetve a szezonális kilengések relatív nagysága nagy és állandóságot mutat.

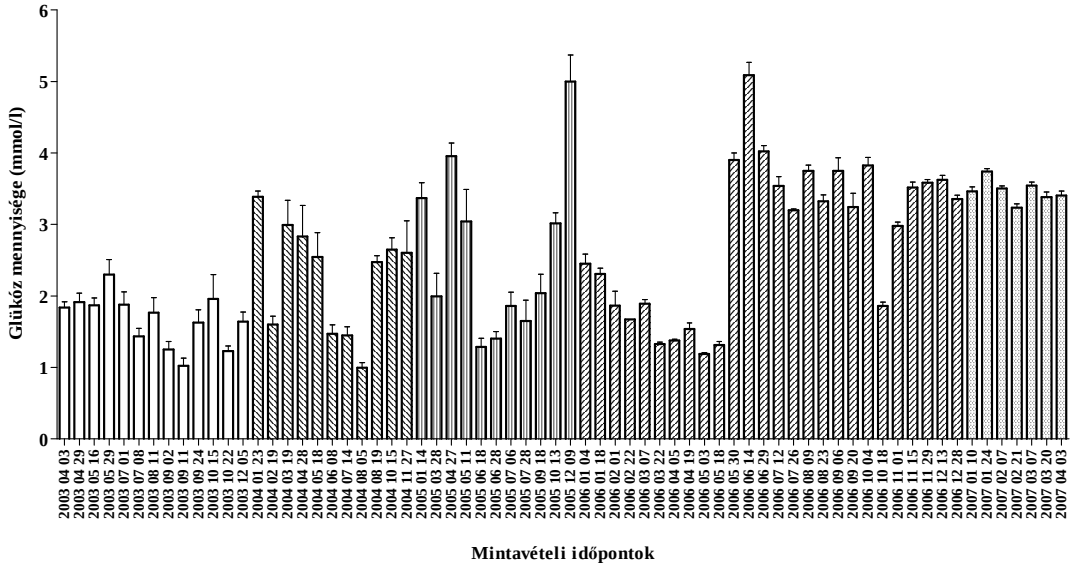
Periodogramot is készítettem annak érdekében, hogy információt kapjak a periódus hosszát illetően (19. ábra).



19. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata természetes körülmények között. A vérplazma SeFa mennyiségének periodicitása

A periodogram a SeFa periodicitását 1,21 évben adja meg, tehát a SeFa mennyiségének periodikus változása valamivel több, mint egy év.

A SeFa kialakulásából (glükóz + fehérje összekapcsolódásából) adódóan vizsgáltam a vérplazma glükóz mennyiségét is, melyet az 20. ábra szemléltet.

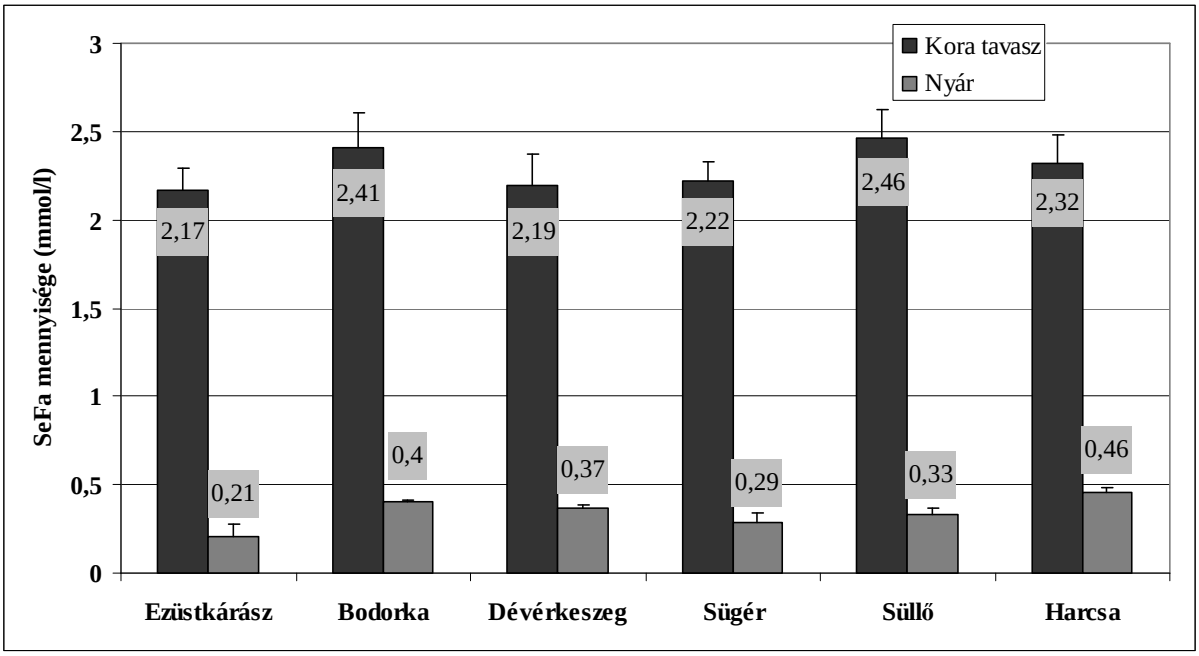


20. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata természetes körülmények között. A vérplazma glükóz mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

A vérplazma glükóz mennyiségében nem találtam periodicitást vagy egyenletesen változó mennyiségeket. A glükóz mennyiségek és a SeFa korrelációja gyenge ($r = -0{,}1059$, P

= 0,3901), a glükóz szintje és a hőmérséklet korrelációja is gyenge (r = −0,1621, P = 0,1866) volt és nem találtam közöttük szignifikáns különbséget.

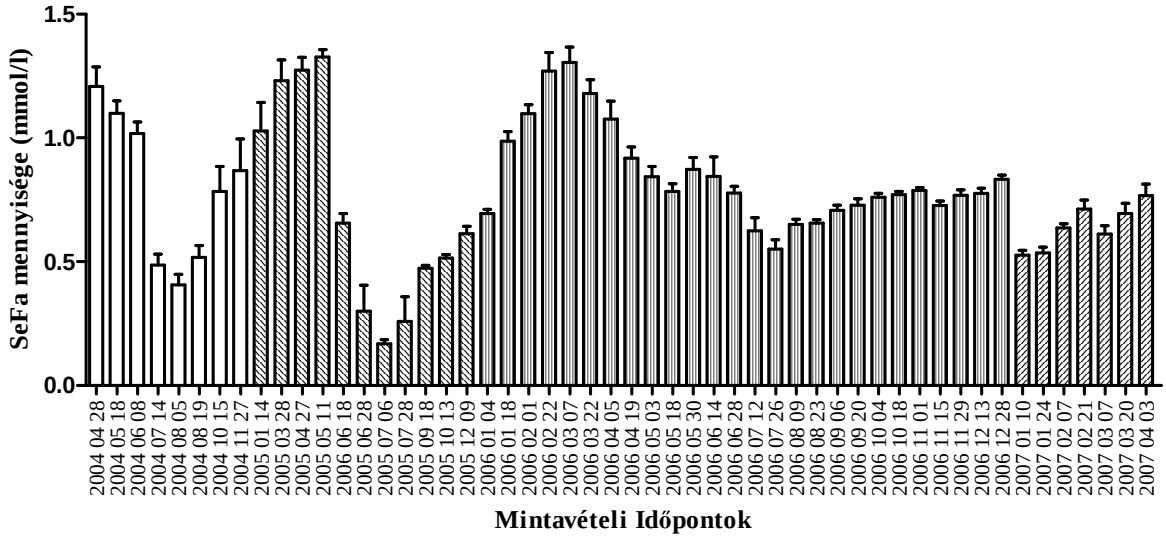
Az ezüstkárász halfaj mellett, vizsgáltam több őshonos halfaj szérum fruktózamin szintjét is, hogy kizárjam azt, hogy ez a jelenség csak az ezüstkárászra, mint betelepített fajra igaz. Kora tavasszal, illetve nyáron sikerült több őshonos halfajtól, mint a bodorkától, a dévérkeszegtől, a sügértől, a süllőtől és a harcsától vérmintákat gyűjtenem (21. ábra).



21. ábra Különböző őshonos halfajok SeFa szintje kora tavasszal és nyáron

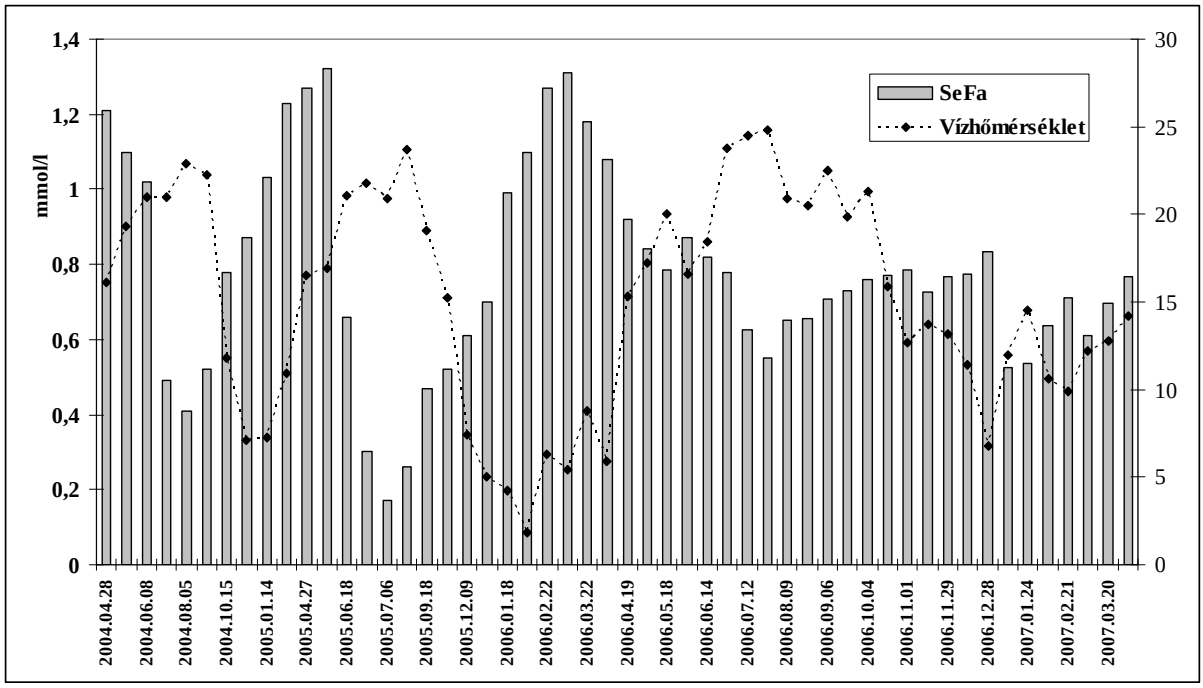
Az ábra világosan mutatja, hogy minden vizsgált őshonos békés, illetve ragadozó halfajnál is (n = 10) hasonló tendencia volt megfigyelhető, mint az ezüstkárász esetén.

4.3.2. Laboratóriumi vizsgálatok



22. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata mesterséges körülmények között. A SeFa mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

A laboratóriumi vizsgálatokat a tavi vizsgálatok megkezdése után egy évvel kezdtem el. A vizsgálat során mért SeFa szinteket a 22. ábra mutatja. A SeFa mennyisége akváriumi körülmények között is periodikus változást mutatott. Az első két évben (havi mintavételek) kapott eredmények szinte szabályos „U” alakot formálnak, ezzel szemben az utolsó évi adatok (2 hetes mintavételek) már nem mutatnak szabályos formát. A periodikus változás hasonlóan alakult, mint a tavi kísérletsorozatnál, azzal a különbséggel, hogy a SeFa minimum és maximum értékei jelentősen eltértek egymástól. Az akváriumban tartott egyedeknél a minimális értékek magasabbak, a maximális értékek viszont alacsonyabbak voltak, így tehát a sinusgörbe amplitúdója kisebb volt. A vízhőmérsékleti adatok (23. ábra) a vizsgált első két évben egyenletesen növekedtek, illetve csökkentek az évszaknak megfelelően. Az utolsó vizsgált év december közepéig a vízhőmérséklet nem süllyedt 11 °C alá, hiszen a külső légköri hőmérséklet is rendkívül enyhe volt.



23. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata mesterséges körülmények között. A vízhőmérséklet alakulása (°C) a vizsgált időpontokban

A laboratóriumi SeFa eredmények szintén negatív korrelációban álltak a víz hőmérsékletével (6. táblázat).

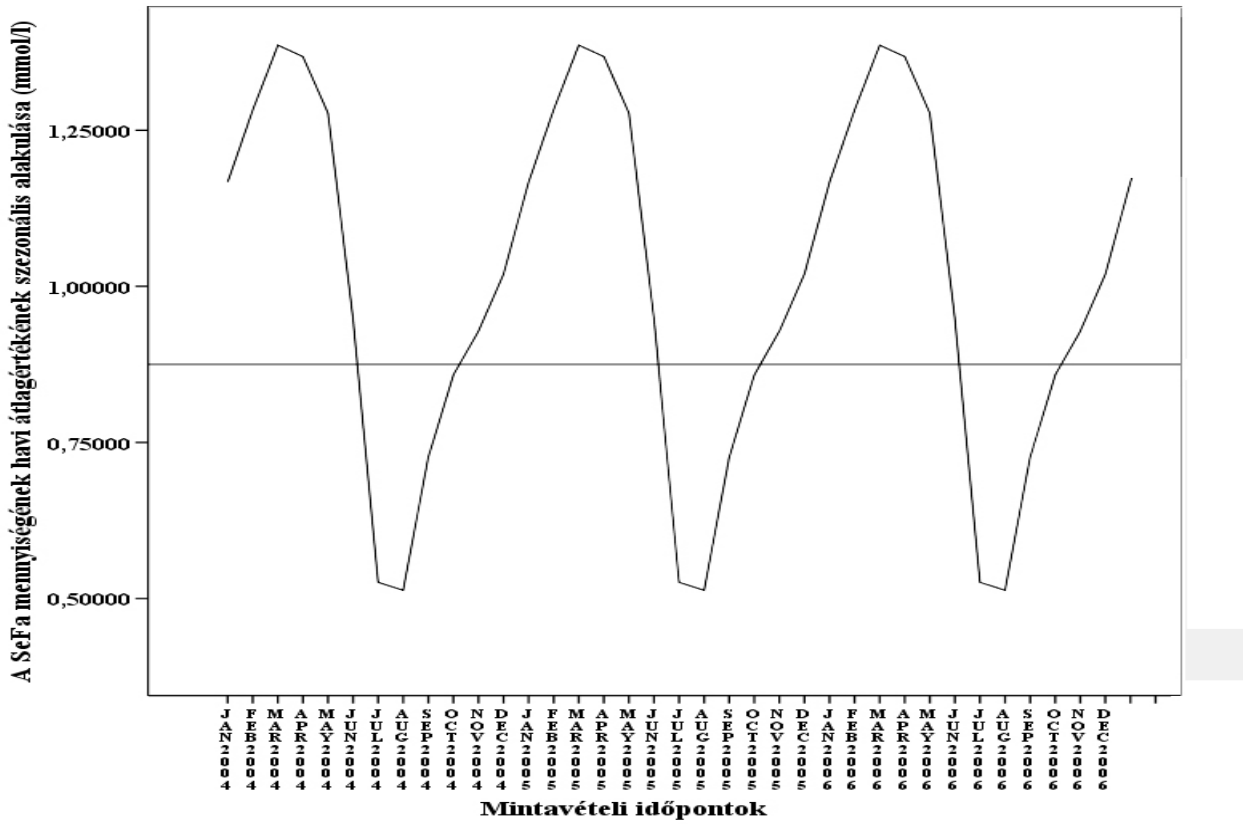
	2004	*2005*	*2006*	*2007*
Korrelációs együttható (r)	− 0,3708	− 0,5352	− 0,7271***	− 0,1001

6. táblázat A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata mesterséges körülmények között. A vérplazma SeFa mennyiségeinek és a vízhőmérsékletek korrelációs együttható értékei (r)

Ha az egész vizsgálati időintervallumot tekintjük akkor a korreláció negatív és a kapcsolat szorossága közepes ($r = -0{,}4860$, $P = 0{,}0003$).

Azonos vízhőmérsékleteknél (tavi és akváriumi) mért SeFa szintek közepes korrelációban ($r = +/- 0{,}4779$, $P = 0{,}0986$) álltak egymással (2. melléklet), és az egyes SeFa mennyiségek között szignifikáns eltérést egy esetben sem találtam ($P > 0{,}05$).

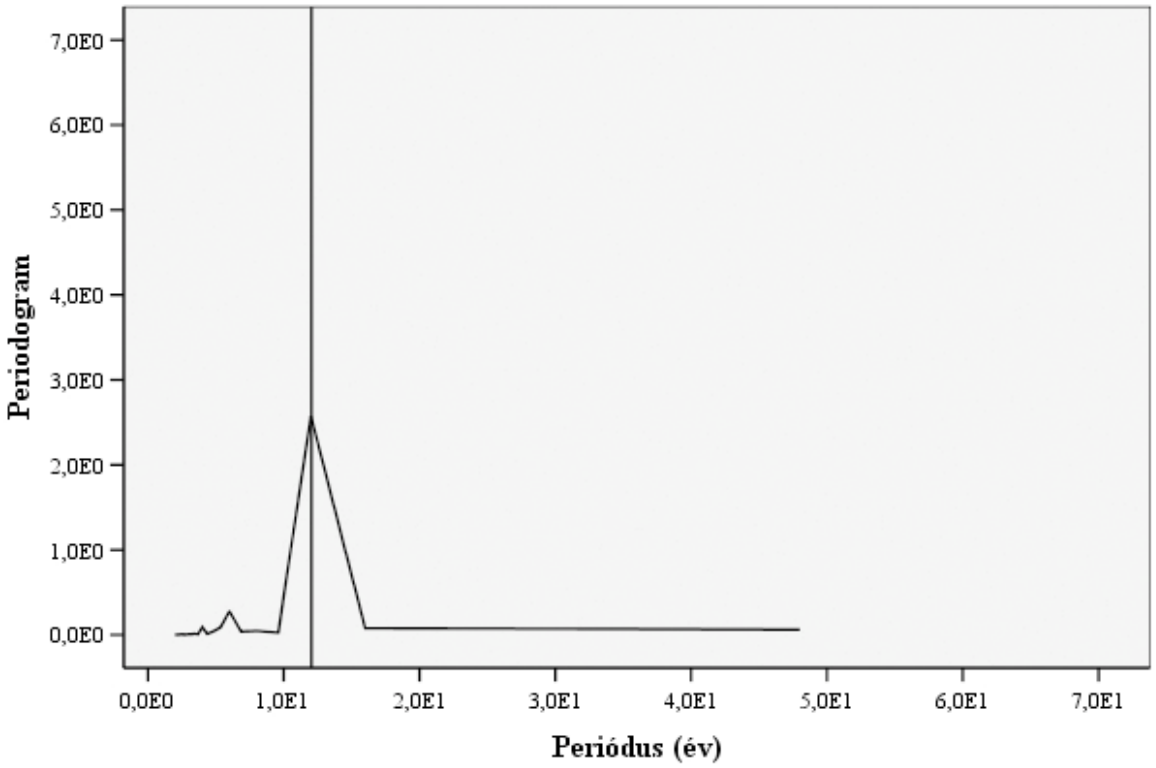
A vizsgálati időtartamban mutatkozó ciklikusságot ciklikusság vizsgálattal is elemeztem. A SeFa szezonálisan kiigazított idősor elemzését multiplikatív modellben a következő 24. ábra mutatja a vizsgált három évben.



24. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata mesterséges körülmények között. A vérplazma SeFa mennyiségének ciklikussági vizsgálata

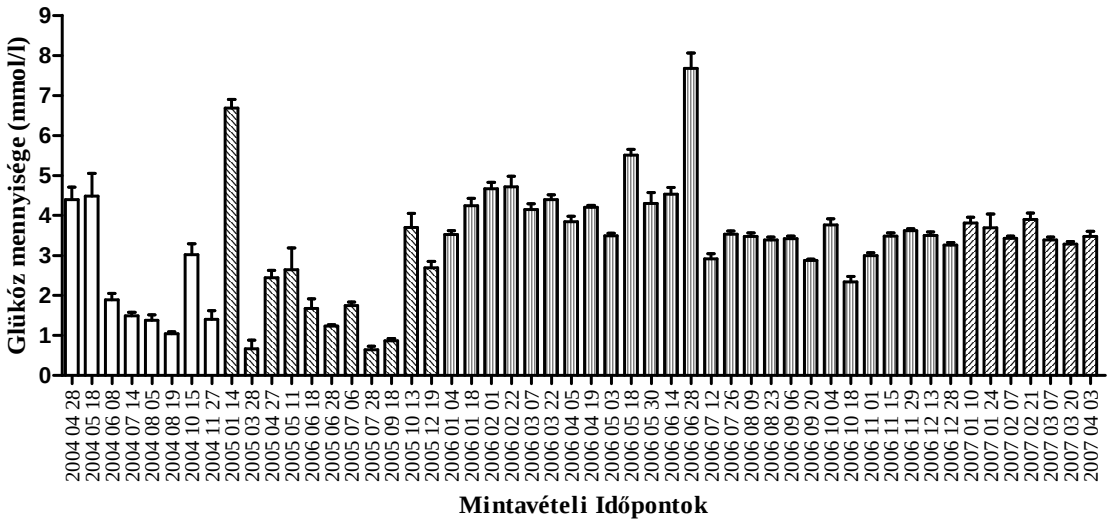
Éves periodikus ingadozás figyelhető meg a SeFa mennyiségében, illetve a szezonális kilengések relatíve kisebbek a tóban mért értékekhez képest, de az állandóság ebben az esetben is megfigyelhető. A kiigazított idősorokat tekintve a laboratóriumban, akváriumi körülmények között a szezonalitás egyenletesebb, mint természetes környezetben.

Laboratóriumi körülmények között is vizsgáltam periodogram segítségével a ciklusok ismétlődésének időtartamát (25. ábra). A diagramról leolvasva ugyanazt az értéket találtam (1,2 év), mint a tavi vizsgálatok során, így elmondható, hogy mind tavi, mind pedig akváriumi körülmények között a SeFa mennyiségének ciklikus termelődése 1,2 év.



25. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata mesterséges körülmények között. A vérplazma SeFa mennyiségének periodicitása

Akváriumi vizsgálat alkalmával is meghatároztam a vérplazma glükóz mennyiségeit minden vérvételi időpontban (26. ábra).



26. ábra A SeFa-szint évszakos változásának vizsgálata mesterséges körülmények között. A vérplazma glükóz mennyiségi változása (mmol/l) és szórása

A vércukor mennyiségében akváriumi vizsgálataim során sem találtam periodikus, ciklikus változásokat. A tavi vizsgálatoknál felmerült problémát − nem látható takarmányfelvétel, nem

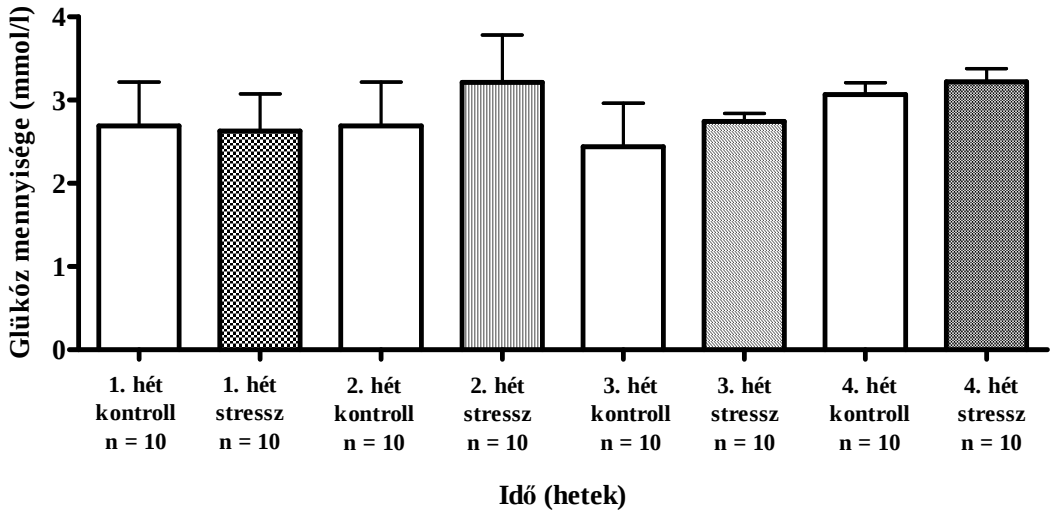
észlelhető mozgások − sikerült kiküszöbölnöm, így valamivel szorosabb, pozitív statisztikai összefüggést sikerült találnom a glükóz és a SeFa mennyisége (r = 0,3930, P = 0,0040) között.

A glükóz szint és a hőmérséklet között viszont nem találtam szignifikáns összefüggést (r = −0,2711, P = 0,0519) a vizsgálat teljes időtartományán belül.

4.4. Laboratóriumi kísérletek, a mesterségesen előidézett stressz mértékének megállapítására

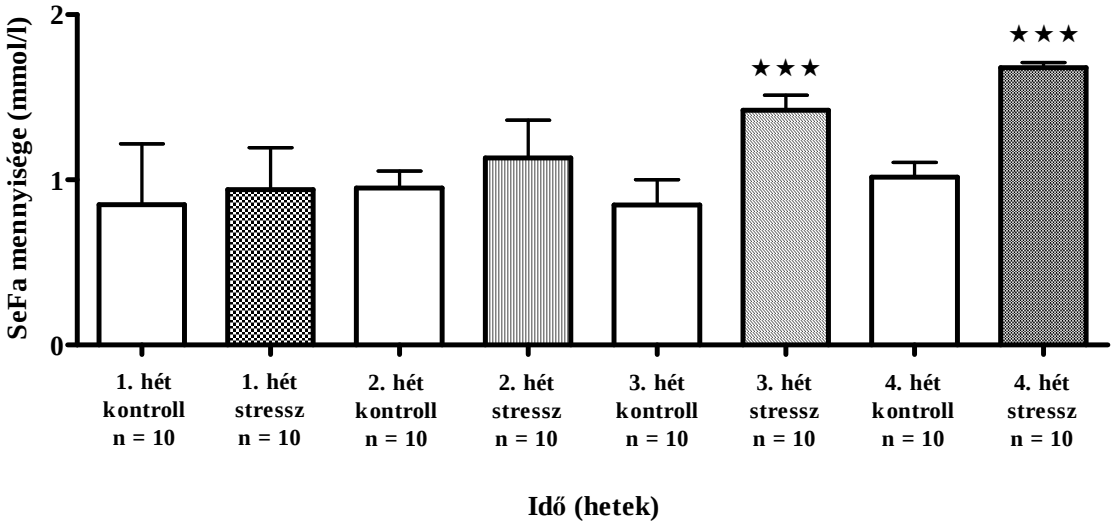
4.4.1. Hőmérsékleti sokk által kiváltott stressz vizsgálatok

4.4.1.1. Hőmérsékleti stressz vizsgálatok ezüstkárászon



27. ábra A hőmérséklet mesterséges emelésének hatása ezüstkárászon. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

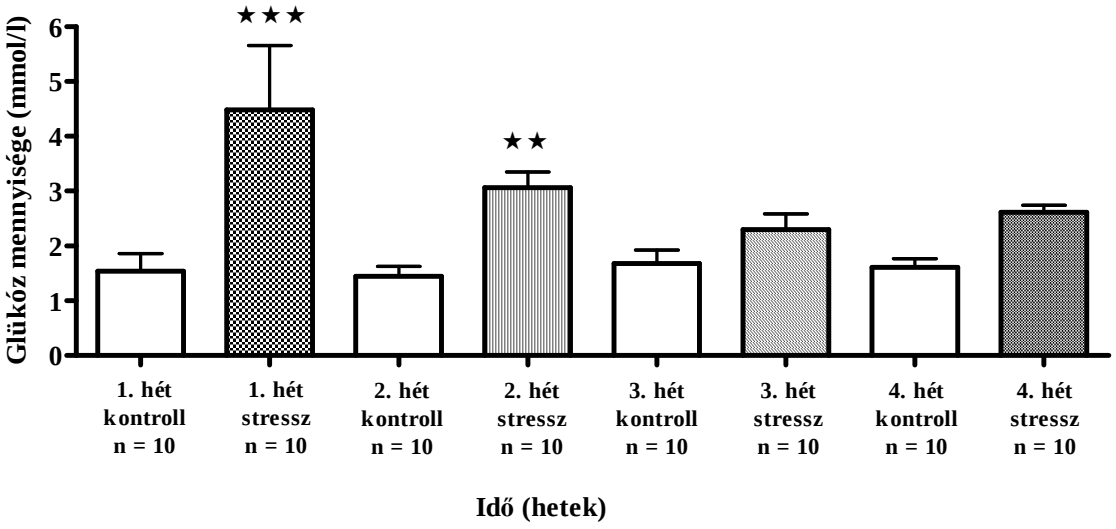
A hőmérséklet emelésével a halak vérglükóz szintjei alig változtak az ezüstkárász esetében (P = 0,0246, r^2 = 0,2672) (27. ábra). Az adatsorokon végzett statisztikai vizsgálatokkal szignifikáns különbségeket nem kaptam a kontrollhoz képest (P > 0,05) egyik időpontban sem. A stresszelési időszakban sem volt statisztikai különbség az egyes vérvételek közötti glükóz mennyiségekben.



28. ábra A hőmérséklet mesterséges emelésének hatása ezüstkárászon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

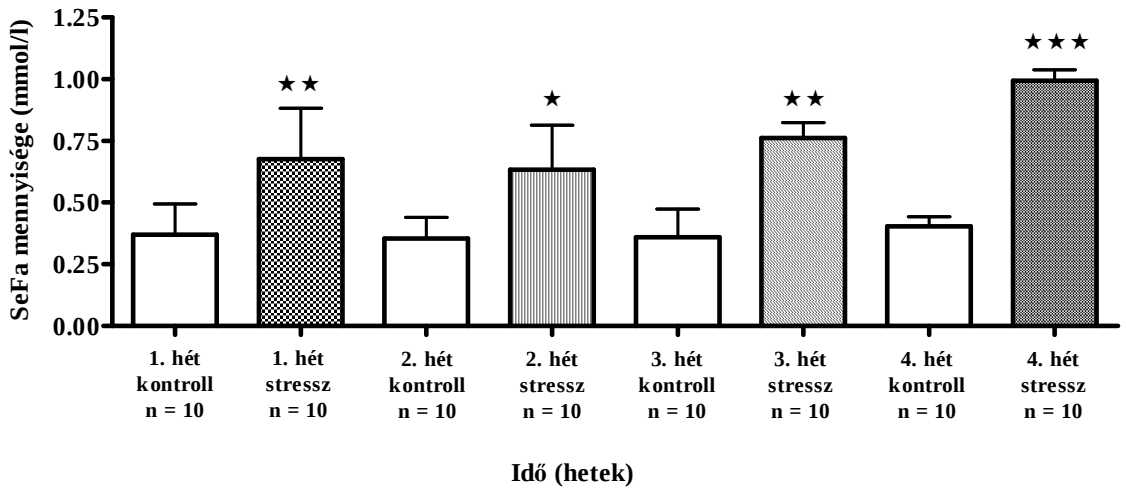
Az ezüstkárász SeFa mennyiségeit a következő ábra szemlélteti ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,6233$) (28. ábra). Egyenletesen növekvő SeFa mennyiségeket kaptam a négy hetes kísérlet alatt. Hétről-hétre egyre nagyobb értékeket kaptam a kontrollhoz képest, de csak a 3. héttől volt szignifikáns a különbség ($P < 0,001$). Lineáris ($R^2 = 0,9675$) és exponenciális ($R^2 = 0,9863$) trendhez viszonyítva a SeFa mennyisége egyenletesen változott (2. melléklet).

4.4.1.2. Hőmérsékleti stressz vizsgálatok pontyon



29. ábra A hőmérséklet mesterséges emelésének hatása pontyon. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

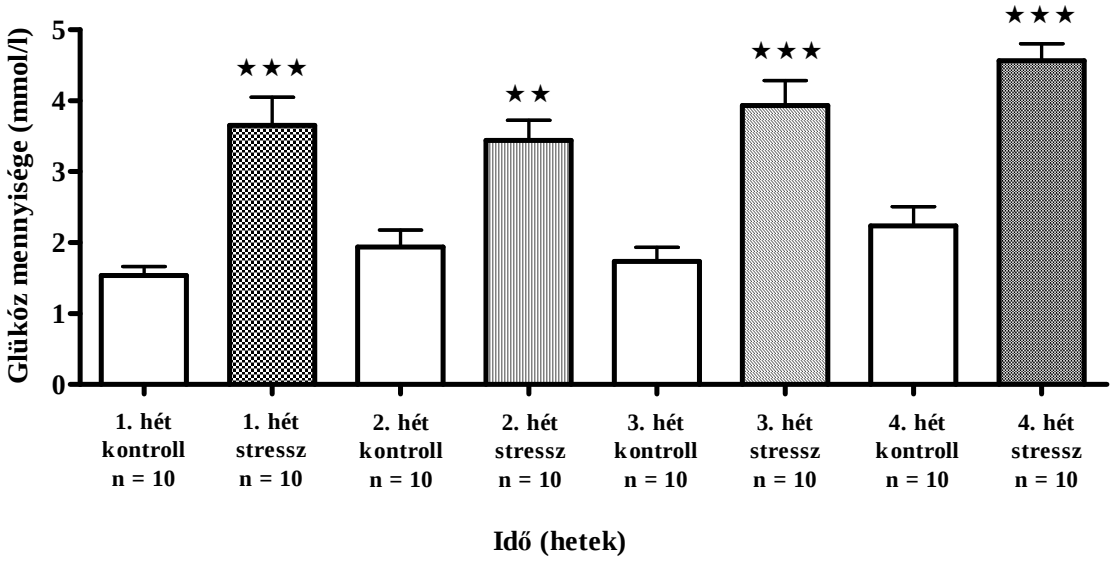
A pontyon elvégzett azonos vizsgálatnál már volt szignifikáns eltérés (29. ábra) a glükóz mennyiségében ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,7042$), de csak az első ($P< 0,001$) és a második héten ($P < 0,05$), majd csökkentő tendenciát kaptam. A kísérlet utolsó szakaszában már nem volt szignifikáns különbség a glükóz mennyiségében a kontrollhoz viszonyítva ($P > 0,05$).



30. ábra A hőmérséklet mesterséges emelésének hatása pontyon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

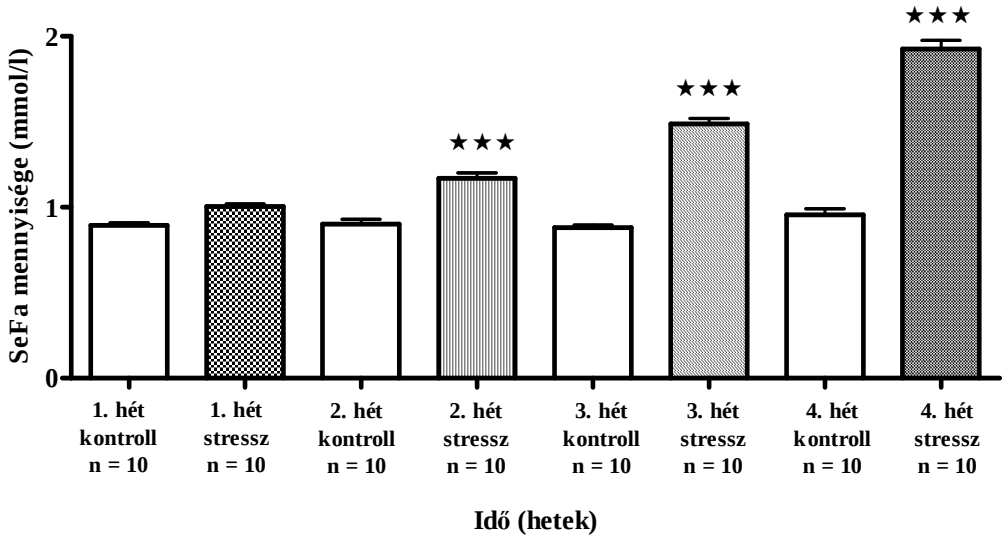
A ponty SeFa mennyisége hasonlóan egyenletesen növekvő eredményt hozott ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,6489$) (30. ábra), mint az ezüstkárász esetében. Míg az ezüstkárásznál csak a 4. héten, a pontynál már a 1. héten kaptam szignifikáns eltérést a SeFa mennyiségében ($P < 0,01$). A 4. héten a szignifikancia még magasabb volt ($P < 0,001$). A 2. héten kis visszaesés volt a SeFa mennyiségében, de így is szignifikáns ($P < 0,05$) volt a különbség a kontroll SeFa-szintjéhez viszonyítva. Lineáris ($R^2 = 0,8574$) és exponenciális ($R^2 = 0,8211$) trendvonalat figyelembe véve a SeFa mennyiségének növekedése egyenletes volt (2. melléklet).

4.4.1.3. Hőmérsékleti stressz vizsgálatok amuron



31. ábra A hőmérséklet mesterséges emelésének hatása amuron. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

Az amuron végzett hőmérsékleti sokk vércukor eredményeit az 31. ábra szemlélteti ($P < 0{,}0001$, $r^2 = 0{,}5178$). A stresszor megjelenése után az első vérvételnél már szignifikáns különbség ($P < 0{,}001$) volt a kontroll csoporthoz viszonyítva. A második heti vérvétel alkalmával csökkent ez a mennyiség, de nem számottevően ($P < 0{,}01$). A csökkenés is szignifikáns volt ($P < 0{,}01$) a kontroll csoporthoz képest. Az ezt követő mintavételek után növekvő ($P < 0{,}001$) glükóz mennyiségeket mértem.

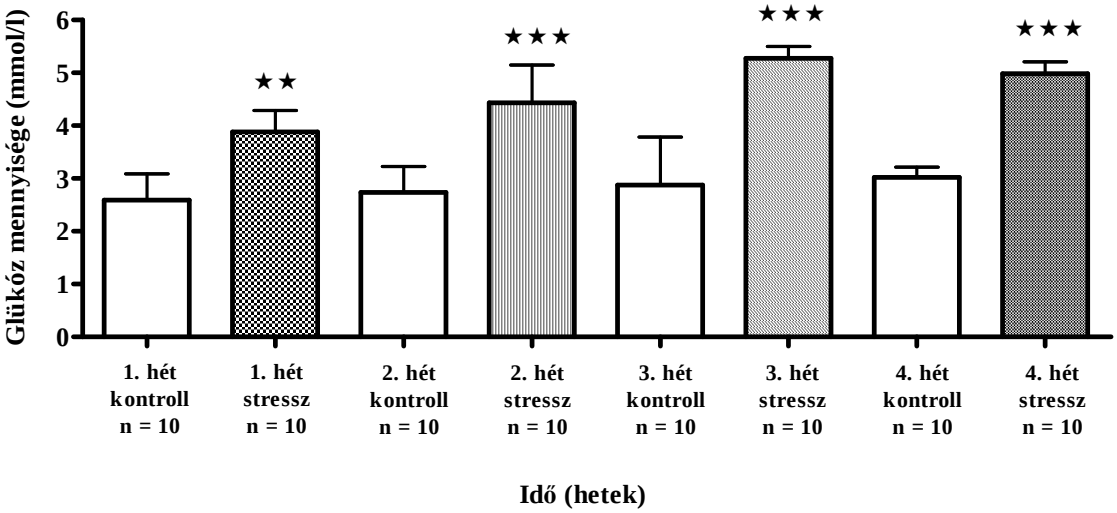


32. ábra A hőmérséklet mesterséges emelésének hatása amuron. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

Az amurnál mért SeFa mennyiségeket az 32. ábra mutatja ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,9429$). Jól érzékelhető a stresszor állandósult jelenléte, hiszen a SeFa mennyisége folyamatosan növekedett. Az első mintavétel alkalmával nem volt szignifikáns eltérés, de a második vérvételtől szignifikáns eltérést találtam ($P < 0,001$) az idő előrehaladtával. Az utolsó két vérvételi időpontban folyamatosan növekvő SeFa volt megfigyelhető, amely eredmények szignifikánsan eltértek ($P < 0,001$) voltak a kontroll csoporthoz viszonyítva. Lineáris ($R^2 = 0,9367$) és exponenciális ($R^2 = 0,9778$) trendeket vizsgálva hasonlóan szoros összefüggést kaptam (2. melléklet).

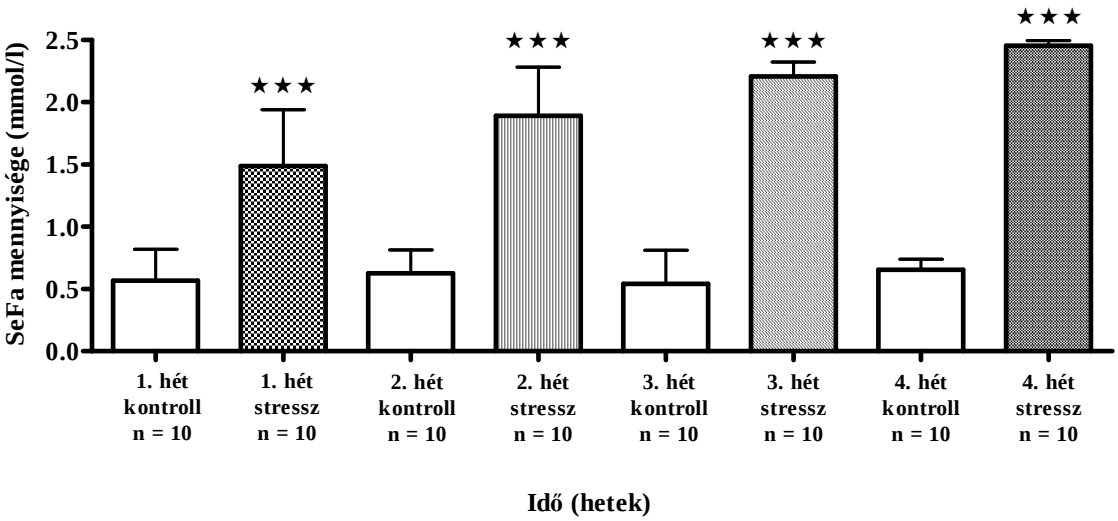
4.4.2. Az élettér csökkentése által kiváltott stressz vizsgálatok

4.4.2.1. Élettér csökkentési stressz vizsgálatok ezüstkárászon



33. ábra Az élettér csökkentésének hatása ezüstkárászon. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

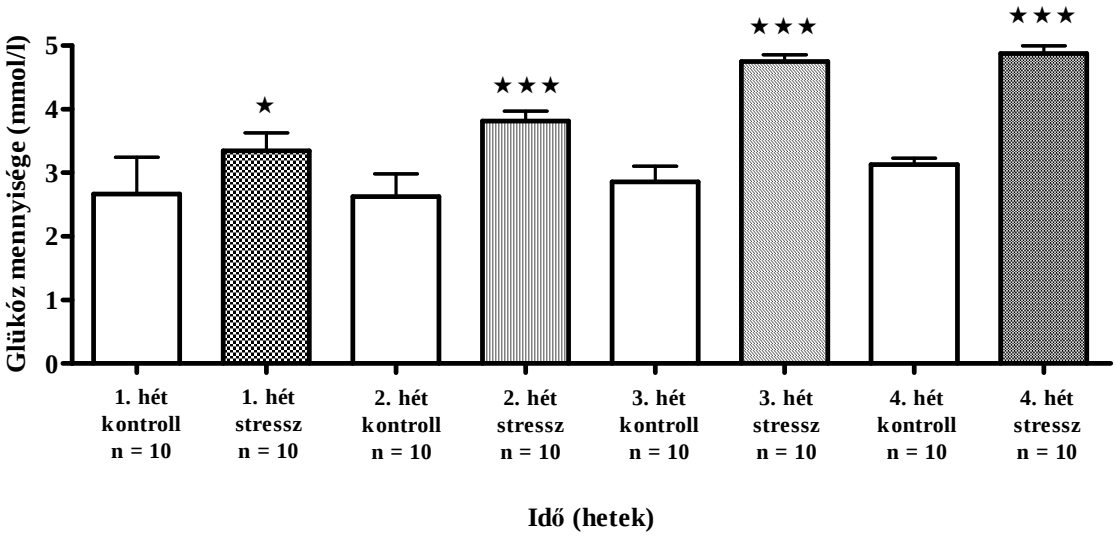
Az ezüstkárászok életterét lecsökkentve az alábbi vérplazmaglükóz eredményeket kaptam ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,7427$) (33. ábra). Egyenletesen növekedett a glükóz mennyisége a kísérlet előrehaladtával, de a kísérlet végén csökkenést tapasztaltam. A kontrollhoz képest az 1. héten $P < 0,01$ és a további vérvételek alkalmával pedig $P< 0,001$ szignifikánsan eltérő eredményt kaptam. A stresszelési időszakában nem volt eltérés az egyes vérvételek között.



34. ábra Az élettér csökkentésének hatása ezüstkárászon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

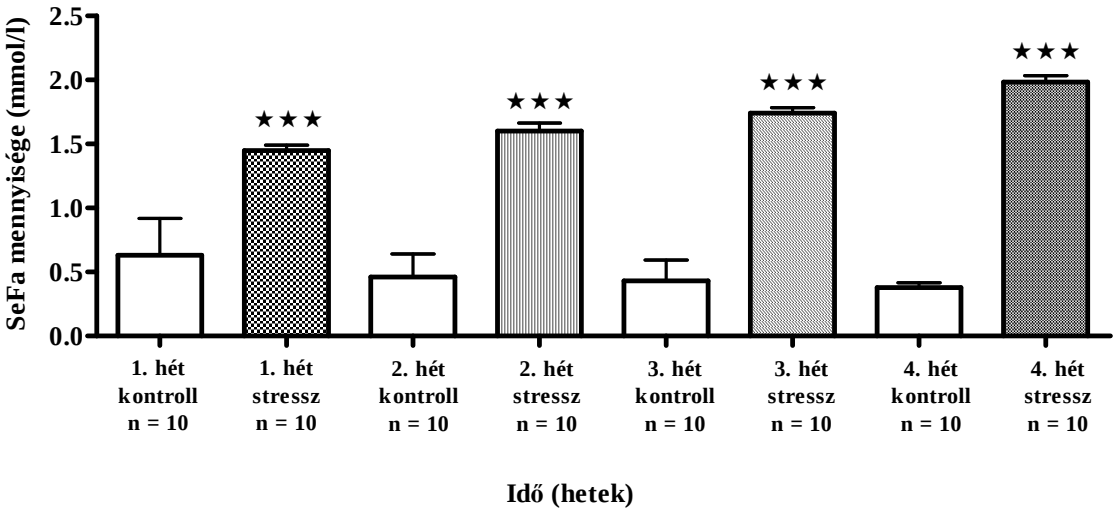
Ha a SeFa mennyiségét vizsgáljuk az ezüstkárásznál, akkor a következő eredményeket láthatjuk az élettér csökkentése esetén ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,8279$) (34. ábra). A kontroll értékhez képest a stresszelési időszakokban mért SeFa mennyisége már az 1. héttől szignifikánsan eltérő volt ($P < 0,001$). A SeFa mennyiségének növekedése lineáris ($R^2 = 0,9232$) és logaritmikus ($R^2 = 0,9966$) trendhez szorosan illeszkedett (2. melléklet).

4.4.2.2. Élettér csökkentési stressz vizsgálatok pontyon



35. ábra Az élettér csökkentésének hatása pontyon. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

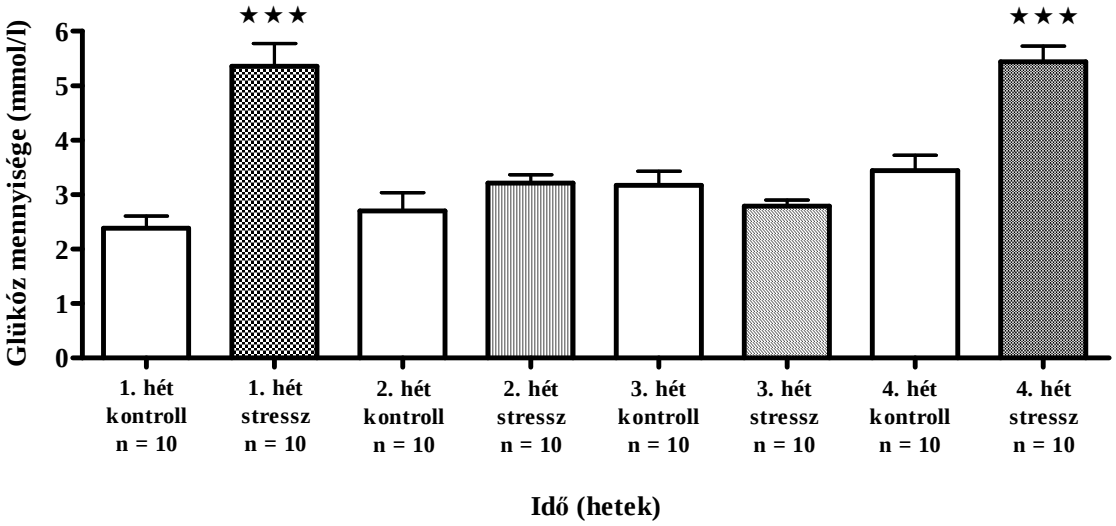
A pontynál elvégzett élettér csökkentése szinte azonos eredményt hozott ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,8665$) (35. ábra), mint az ezüstkárász esetében. Ekkor is a három utolsó héten mértem $P < 0,001$ szignifikánsan különböző mennyiségeket a kontroll egyedeinek vérglükóz szintjéhez képest. A kezelés első hetében viszont kisebb különbséget találtam ($P < 0,05$). Megegyezően a ponty esetében is a stresszelés időszakában nem volt szignifikáns különbség az egyes vérvételek között.



36. ábra Az élettér csökkentésének hatása pontyon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

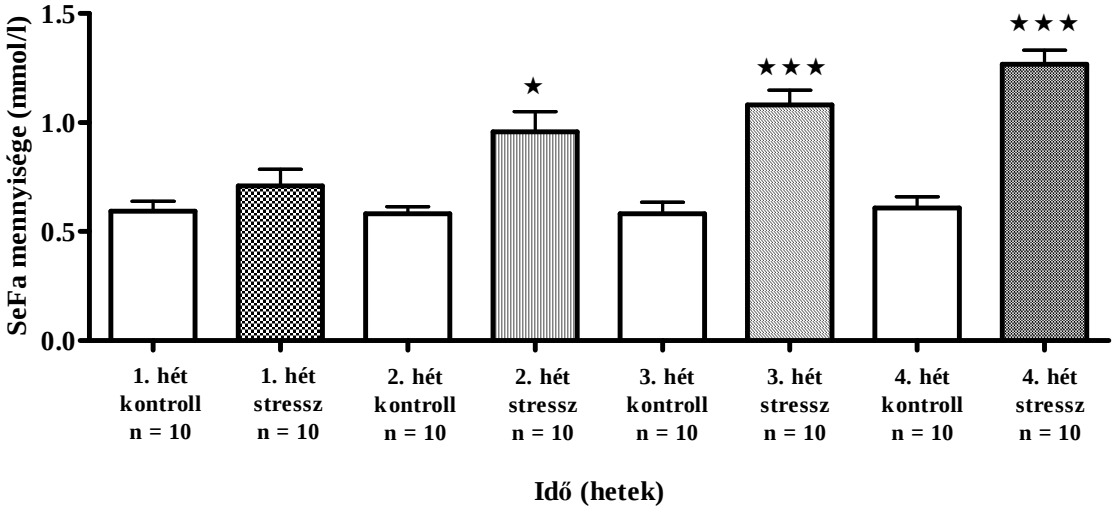
Ha az élettér csökkentését ponty esetében is megvizsgáljuk ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,9143$) (36. ábra), akkor a kezelés időszakában mért SeFa ekkor is fokozatosan nőtt, de nem olyan mértékben, mint az ezüstkárásznál. A kontrollhoz viszonyított különbségek tekintetében pedig ugyanolyan szignifikáns eltéréseket kaptam ($P < 0,001$). A SeFa fokozatos növekedése lineáris ($R^2 = 0,8494$) és logaritmikus trendhez ($R^2 = 0,9565$) szoros összefüggést mutatott (2. melléklet).

4.4.2.3. Élettér csökkentési stressz vizsgálatok amuron



37. ábra Az élettér csökkentésének hatása amuron. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

Az amurnál az élettér csökkentése eltérő vérplazma glükóz eredményeket hozott az egyes vérvételek alkalmával ($P < 0{,}0001$, $r^2 = 0{,}7816$) (37. ábra). A kísérlet megkezdése után az első és negyedik mintavételkor magas glükóz értéket kaptam ($P < 0{,}001$), de a kísérlet közepén a kontrollhoz hasonló eredményeket mértem, amelyek nem voltak szignifikánsan eltérőek.

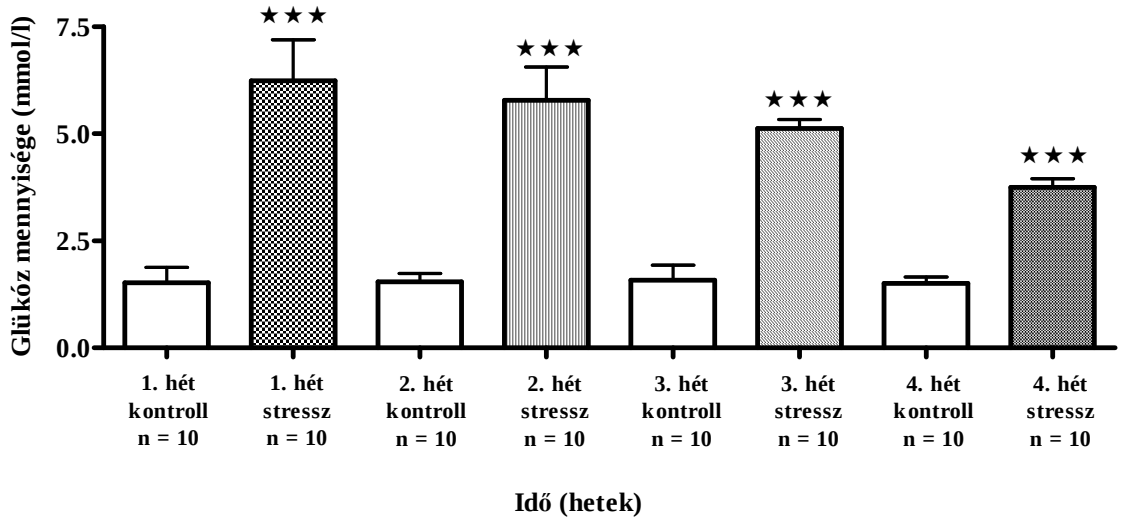


38. ábra Az élettér csökkentésének hatása amuron. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

Ugyanezen stresszor alkalmazásakor mért SeFa mennyiségeket a 38. ábra szemlélteti ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,6097$). A három vizsgált pontyféle közül az amurnál mértem a legegyenletesebben növekedő SeFa mennyiségeket. A folyamatosan két hétig tartó stressz eredményezett először szignifikáns különbséget ($P < 0,05$), majd az utolsó két vérvételi időpontban már $P < 0,001$ szignifikancia szintet regisztráltam. A SeFa mennyiségének növekedése mind lineáris ($R^2 = 0,9887$, mind pedig exponenciális ($R^2 = 0,9797$) trendvonalhoz viszonyítva szoros összefüggéseket találtam (2. melléklet).

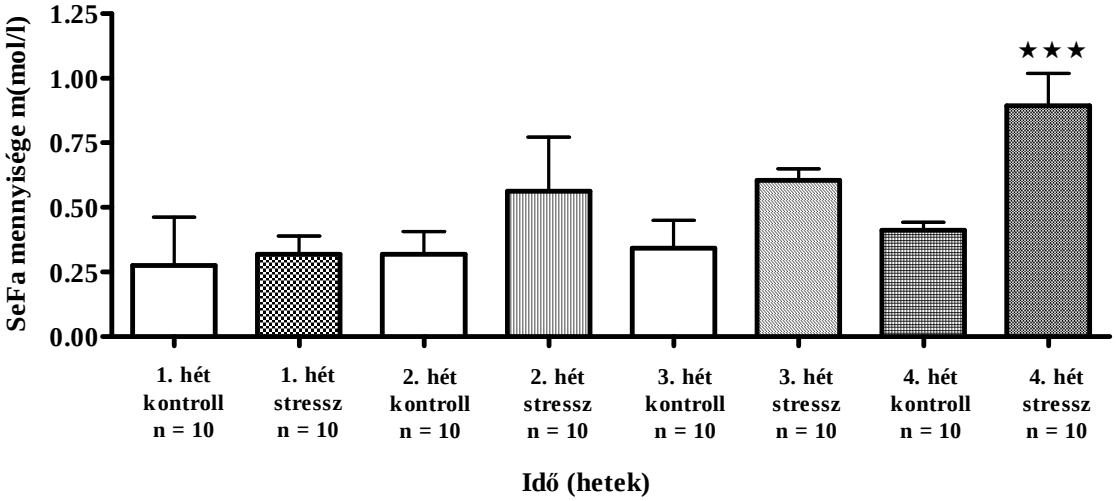
4.4.3. Oxigénhiány által kiváltott stressz vizsgálatok

4.4.3.1. Oxigénhiányos stressz vizsgálatok ezüstkárászon



39. ábra Az oxigénhiány hatása ezüstkárászon. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

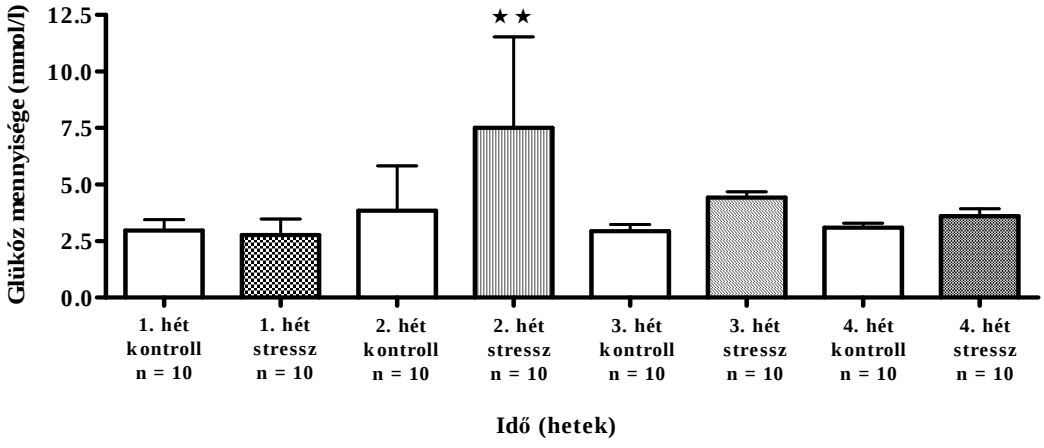
Az ezüstkárásznál kialakított oxigénhiányos környezet hatására termelődő vérglükóz eredményeket a 39. ábra szemlélteti ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,8899$). A kísérlet megkezdése után az első vérvételkor mértem a legmagasabb glükóz koncentrációt, mely folyamatosan csökkent a kísérlet végéig. A kontrollhoz viszonyítva minden vérvétel alkalmával szignifikáns, különbségeket kaptam ($P < 0,001$).



40. ábra Az oxigénhiány hatása ezüstkárászon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

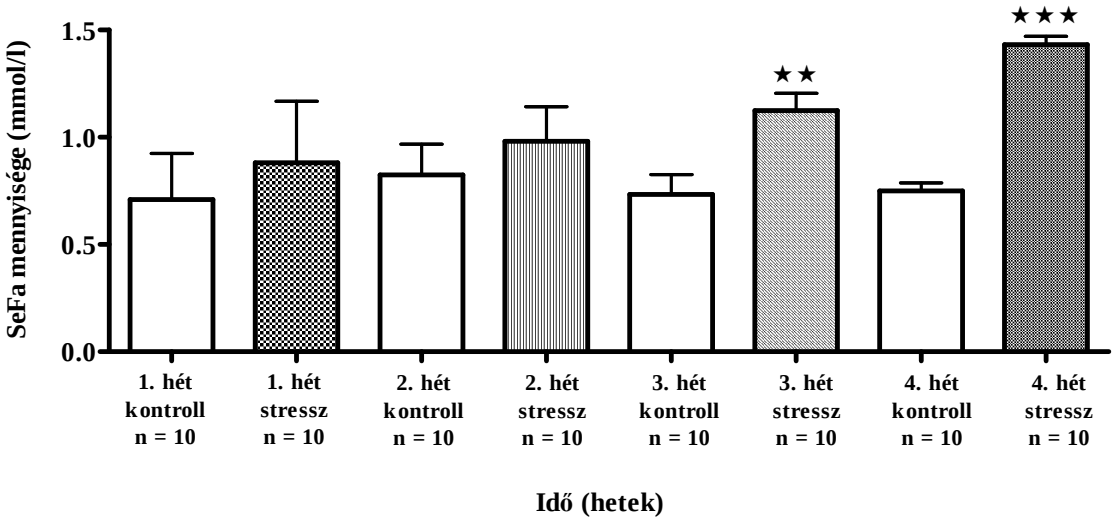
Az ezüstkárász SeFa értékeit oxigénhiányos környezetben a 40. ábra mutatja ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,6112$). Hétről – hétre egyenletes növekedést tapasztaltam, csak a negyedik héten kaptam statisztikailag szignifikáns különbséget ($P < 0,001$). A többi vérvétel alkalmával viszont nem volt szignifikáns különbség $P > 0,05$. A SeFa mennyisége a kontrollnál és a második, harmadik hétnél szinte azonos volt. A SeFa termelődésének foka és a lineáris ($R^2 = 0,93369$) vagy exponenciális ($R^2 = 0,9529$) trendvonal között szoros kapcsolatot találtam (2. melléklet).

4.4.3.2. Oxigénhiányos stressz vizsgálatok pontyon



41. ábra Az oxigénhiány hatása pontyon. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

A pontynál elvégzett oxigénhiányos vizsgálatokat a 41. ábra szemlélteti vérplazma glükózra vonatkoztatva ($P = 0{,}0002$, $r^2 = 0{,}4654$). Az ezüstkárászhoz képest teljesen más eredményeket kaptam. A kontrollhoz képest csak a második héten figyelhettem meg szignifikáns eltérést ($P < 0{,}01$). A többi vérvételkor a kontrollhoz hasonló eredményeket kaptam ($P > 0{,}05$).

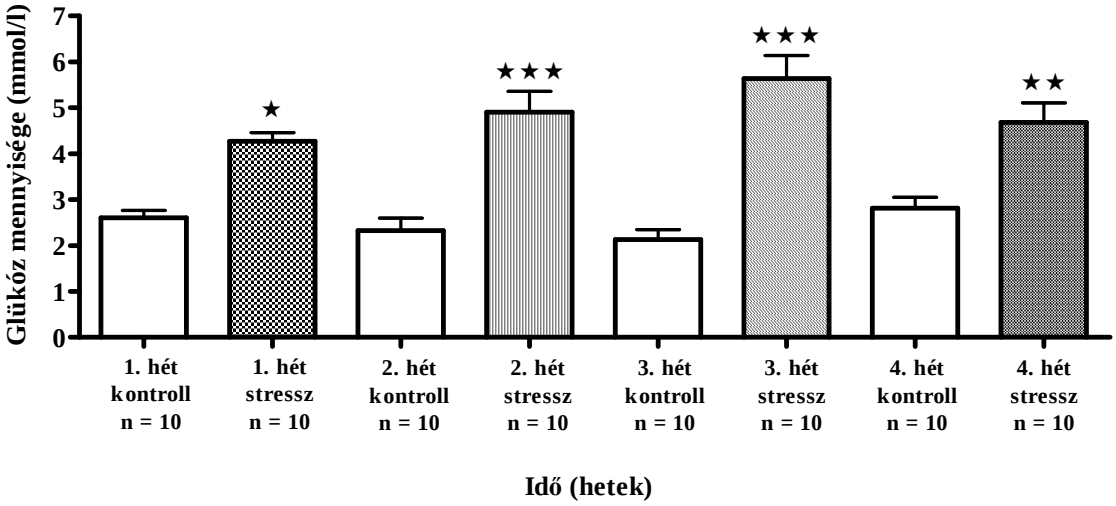


42. ábra Az oxigénhiány hatása pontyon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

Az oxigénhiányos környezetben termelődő SeFa mennyiségét pontynál a 42. ábra mutatja ($P < 0{,}0001$, $r^2 = 0{,}6102$). A kontrollhoz képes minden vérvétel alkalmával egyre magasabb SeFa szintet mértem. A legmagasabb SeFa szintet a negyedik héten kaptam. A kísérlet első két hete alatt nem találtam statisztikai összefüggést ($P > 0{,}05$). Az egyenletes SeFa képződés statisztikailag csak a harmadik ($P < 0{,}01$) és negyedik héten volt szignifikáns ($P < 0{,}001$). Abban az esetben, ha lineáris ($R^2 = 0{,}9579$) és exponenciális ($R^2 = 0{,}9818$) trendfüggvényhez viszonyítjuk a SeFa termelődését, akkor szoros kapcsolatokat találunk (2. melléklet).

4.4.3.3. Oxigénhiányos stressz vizsgálatok amuron

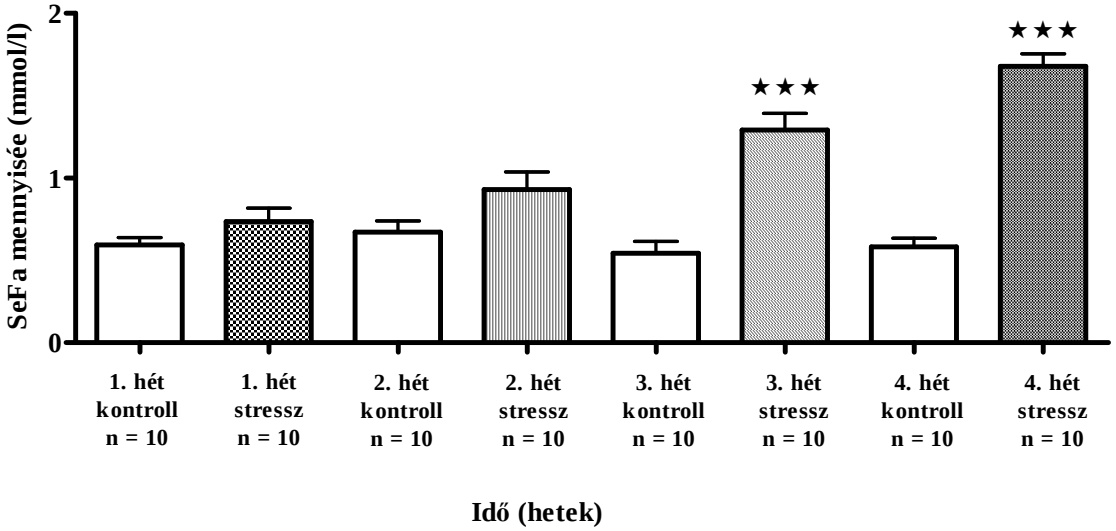
Oxigénhiányos környezetben az amur halfajon vizsgált vérplazma glükóz értékeit az 43. ábra mutatja be ($P < 0{,}0001$, $r^2 = 0{,}6934$).



43. ábra Az oxigénhiány hatása amuron. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

A kísérleti idő múlásával egyre nőtt a vércukor mennyisége a kontroll csoport értékeihez képest és már az első héttől szignifikánsan is eltért attól ($P < 0,05$), majd a kísérlet utolsó mintavételekor kissé csökkenő tendenciát mutatott. A kísérlet közepén mértem a legnagyobb vérglükóz mennyiségeket, így természetesen a statisztikai eltérés ekkor volt a legnagyobb ($P < 0,001$).

Ezen kísérletben szereplő amurok SeFa szintjét az 44. ábra szemlélteti ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,8442$).

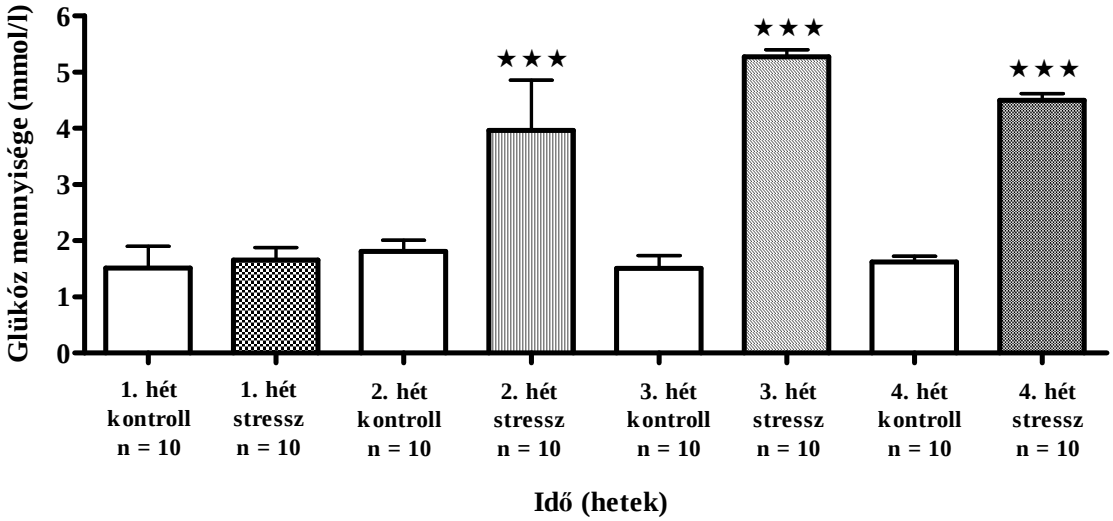


44. ábra Az oxigénhiány hatása amuron. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

A SeFa szintje folyamatosan és egyenletesen növekedett a kísérleti idő előrehaladtával. A kísérlet kezdetén a növekedés nem volt statisztikailag kimutatható ($P < 0,05$). A SeFa mennyisége a harmadik és negyedik mintavételi időpontban volt szignifikáns a kontroll értékéhez képest ($P < 0,001$). A növekedés intenzitása lineáris ($R^2 = 0,9584$) és exponenciális ($R^2 = 0,9940$) trendvonalhoz viszonyítva szoros összefüggést találtam (2. melléklet).

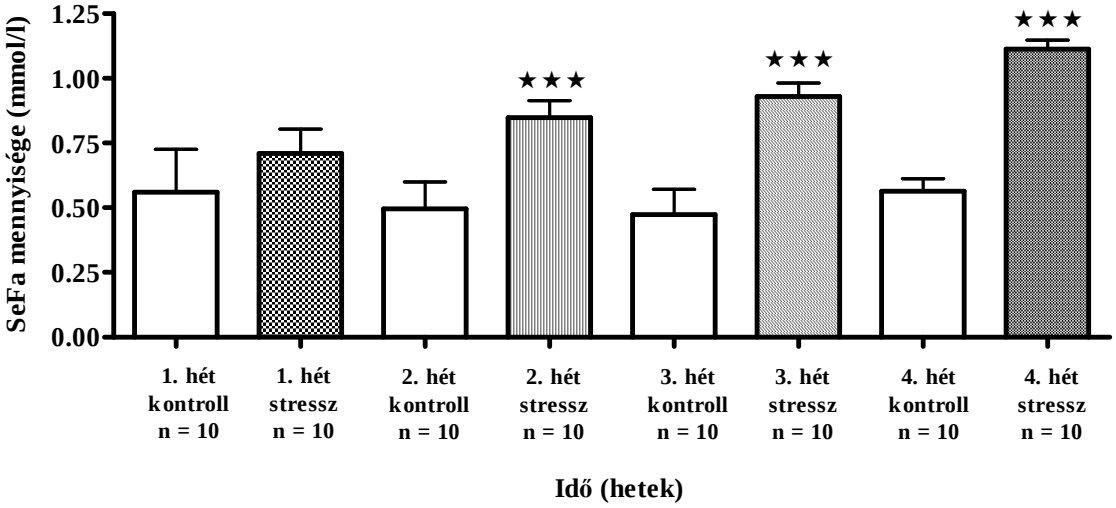
4.4.4. Ragadozó jelenléte által kiváltott stressz vizsgálatok

4.4.4.1. Ragadozóval előidézett stressz vizsgálatok ezüstkárászon



45. ábra A ragadozó által kiváltott stressz hatása ezüstkárászon. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

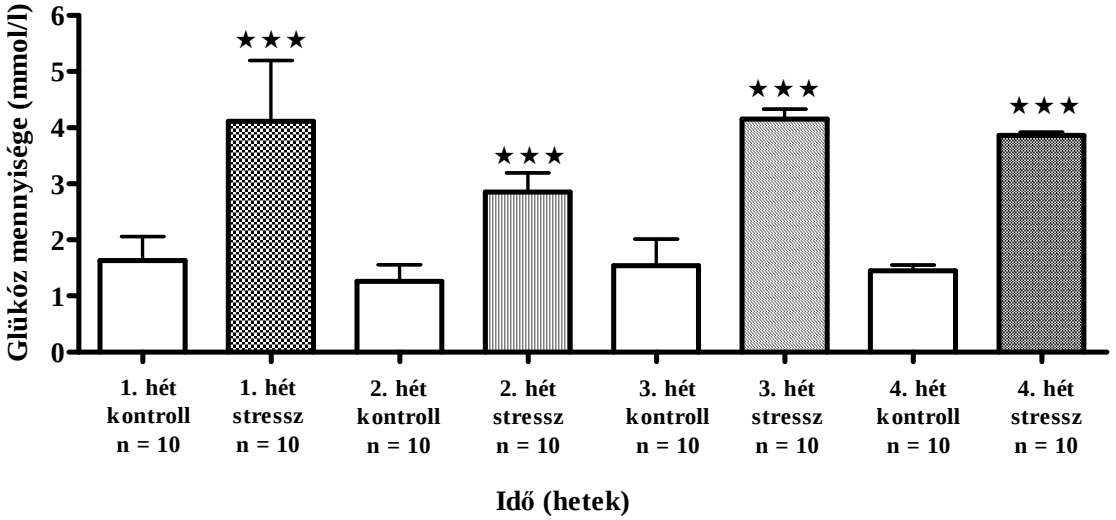
A ragadozó jelenléte esetén a következő vérplazma glükóz eredményeket kaptam az ezüstkárász halfajnál ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,9085$) (45. ábra). A kontrolhoz viszonyítva az első héten nem volt különbség a glükóz mennyiségében ($P > 0,05$). A többi vérvételi időpontban minden esetben szignifikáns különbséget kaptam ($P < 0,001$).



46. ábra A ragadozó által kiváltott stressz hatása ezüstkárászon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

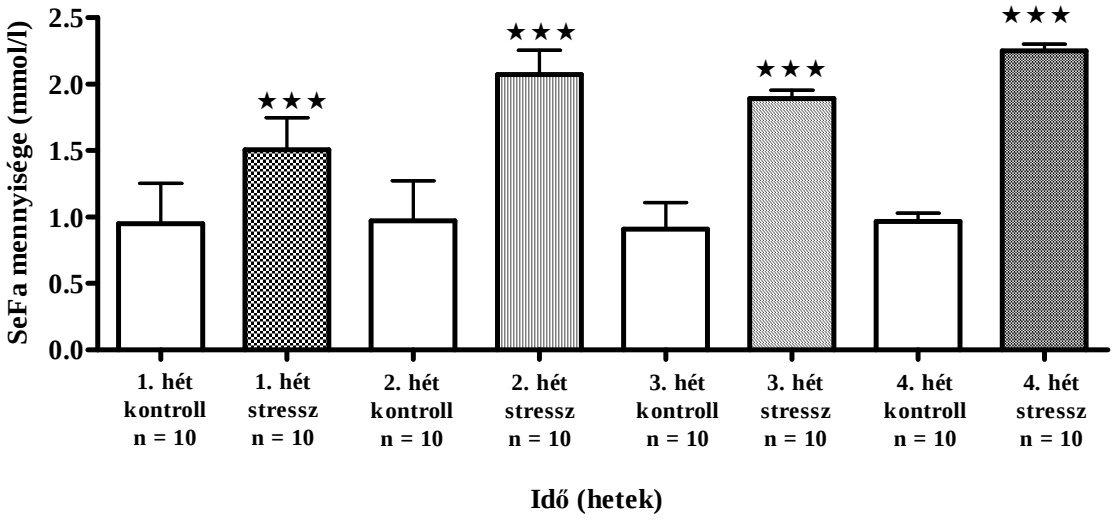
Az ezüstkárásznál mért SeFa mennyiségeket a 46. ábra mutatja ragadozó jelenléte esetén ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,7130$). Az első hét után mért SeFa mennyisége nem volt a kontrollhoz képes statisztikailag igazolható különbség ($P > 0,05$). A 2. héttől viszont már statisztikailag igazolható különbséget kaptam ($P < 0,001$). Lineáris ($R^2 = 0,9895$) és exponenciális ($R^2 = 0,9897$) trendvonalat a grafikonra illesztve szoros összefüggést találtam a trendvonalak és a SeFa szintjének emelkedése között (2. melléklet).

4.4.4.2. Ragadozóval előidézett stressz vizsgálatok pontyon



47. ábra A ragadozó által kiváltott stressz hatása pontyon. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

Hasonló körülményekre a ponty válaszreakcióit a 47. ábra szemlélteti ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,7703$). A ragadozó jelenléte mind a négy kezelt időpontban történt vérvételnél $P < 0,001$ szignifikancia-szintet eredményezett. A kezelések közül a második heti vérvételnél alacsonyabb értéket kaptam, mint az összes többi esetén. Ha az első és harmadik vérvételt összehasonlítjuk a második vérvétellel, akkor $P < 0,01$, a negyedik és második mintavétel összehasonlítása során pedig $P < 0,05$ szignifikáns a különbséget találunk.

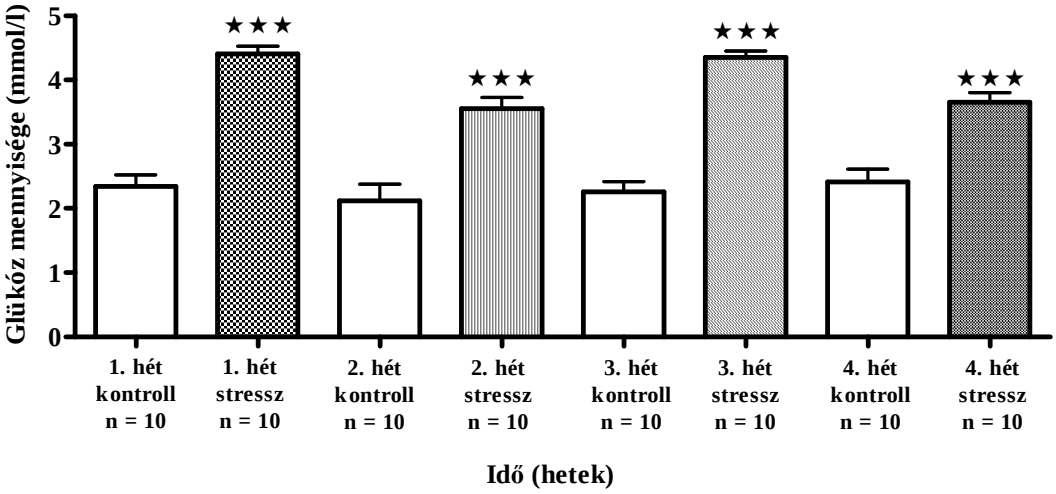


48. ábra A ragadozó által kiváltott stressz hatása pontyon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

A pontynál mért SeFa mennyiségeket a 48. ábra mutatja ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,8352$). A kontrollhoz képest már az első héten szignifikáns volt az eltérés ($P < 0,001$), majd ez a különbség a kísérlet ideje alatt meg is maradt. A harmadik héten alacsonyabb SeFa értéket kaptam, de szignifikánsan nem volt eltérő a második és negyedik vérvételhez képest. A trendvonalak (lineáris $R^2 = 0,8321$, logaritmikus $R^2 = 0,9213$) és a SeFa szintje között szintén szoros összefüggést volt megfigyelhető (2. melléklet).

4.4.4.3. Ragadozóval előidézett stressz vizsgálatok amuron

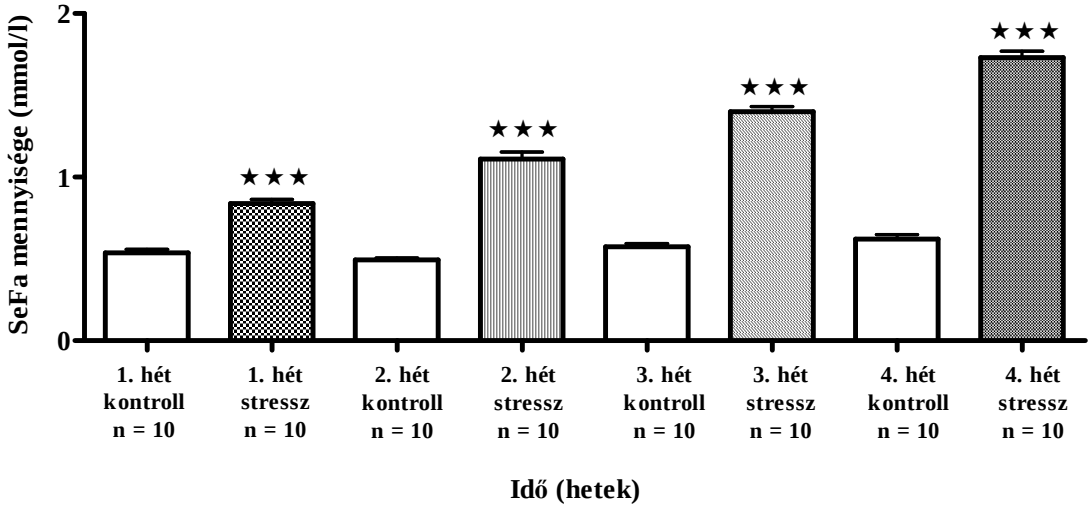
A ragadozó jelenléte az amurnál is jelentős eltéréseket eredményezett a vércukor mennyiségében ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,7362$) (49. ábra).



49. ábra A ragadozó által kiváltott stressz hatása amuron. A vérplazmaglükóz átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

Az amur halfajnál a vérglükóz szint magasabb volt minden mért időpontban a kontroll értékeihez viszonyítva, szignifikáns eltérést már az első mintavétel alkalmával kaptam ($P < 0,001$), amely a kísérleti idő végéig megmaradt. A második és negyedik heti vérmintavétel glükóz mennyiségei alacsonyabbak voltak az első és a harmadik héten mért mennyiségeknél, melyek egymáshoz viszonyítva szignifikánsan is eltértek egymástól. Az első héthez viszonyítva a 2. és 4. heti mintavételt, mindkét esetben $P < 0,01$, a harmadik heti vérvételhez képest pedig a 2. és 4. heti eredmények $P < 0,01$ és $P < 0,05$ eltérést mutatnak.

A SeFa mennyisége egyenletesen növekvő szintet mutatott a kísérlet folyamán minden vérvételi időpontban 50. ábra ($P < 0,0001$, $r^2 = 0,9494$).



50. ábra A ragadozó által kiváltott stressz hatása amuron. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és szórása a kontroll halakban és a stressznek kitett egyedekben

A ragadozó jelenlétben amur halfajnál tapasztaltam a legegyenletesebb növekedést. Egy hét elteltével is már jelentős statisztikailag mérhető különbséget kaptam ($P < 0,001$), majd a további hetek elteltével is megmaradt ez a tendencia. A SeFa termelődésének egyenletességének igazolására lineáris trendvonalat illesztettem a grafikonra és rendkívül szoros ($R^2 = 0,9989$) összefüggés volt megfigyelhető (2. melléklet).

5. Következtetések és javaslatok

A következtetések levonása nehéz, hiszen a glikált fehérjék (SeFa) vizsgálata szinte teljesen hiányzik a poikilotherm halakban. Állatorvosi vonatkozásban is csak egyes gazdasági használlatokban mutatták ki ezen fehérjék mennyiségét.

5.1. Az előkísérletek eredményeiből levonható következtetések

Az előkísérletekkel megállapítottam, hogy a mesterségesen, több egyidejű stresszor által kiváltott stressz alkalmazása megterhelő volt az állatok számára az egyes vérplazmaalkotókat tekintve. Megállapítottam, hogy az ezüstkárász esetében ezek a stresszorok nem voltak hatással a vérplazma albumin, összfehérje mennyiségére és a malondialdehid szint sem emelkedett jelentősen. A vérplazmában lévő glükóz és a redukált glutation mennyisége, valamint a vörösvérsejt hemolizátumban található redukált glutation mennyisége és a glutation peroxidáz enzim aktivitása közel azonos tendenciát mutatott. Jellemző volt ezekre az összetevőkre a hirtelen megemelkedés és az azt követő gyors csökkenés, amely a G. A. S görbéjével könnyen magyarázható.

Az előkísérletek által kiváltott, elhúzódó stresszt a SeFa mennyiségi változása mutatta a legjobban, ugyanis egyenletesen és fokozatosan emelkedett a vérplazmában.

Mindezek mellett ezzel az előkísérlettel megállapítottam, hogy a vérplazma **SeFa mennyisége mérhető a változó testhőmérsékletű gerinceseknél** is. A homeiotherm állatoknál a SeFa szintje viszonylag állandó. A szarvasmarhák átlagos SeFa szintje 2,48 ± 0,73 mmol/l, a lovaké 2,55 ± 0,24 mmol/l (OPPEL et al. 2000c) a nyulaké pedig 3,69 ± 0,15 mmol/l (OPPEL et al. 2000d). Ehhez képest a halakban nagy eltéréseket találtam a különböző évszakokban. Tavi körülmények között 0,21 – 2,17 mmol/l, akváriumi tartás mellett pedig 0,17 – 1,32 mmol/l volt a SeFa mennyisége az ezüstkárász halfajnál a vérplazmában.

5.2. A kontroll-kísérletek eredményeiből levonható következtetések

A kontroll kísérletekkel megállapítottam, 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 mértem. Ekkor már a halállomány két hetet töltött akváriumokban. Mindkét alkísérletben az ezt követő vérvételekkor sem kaptam 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 kaptam ($P < 0,05$).

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 kaptam 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 megállapítottam, hogy **a kifogásnak és a vérvételnek nem volt szignifikáns hatása a vérplazma glükóz és a SeFa mennyiségeire**.

5.3. A szérum/plazma fruktózamin (SeFa)-szint évszakos változásának eredményeiből levonható következtetések

5.3.1. Tavi vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések

A SeFa mennyiségének változásában periodikus ismétlődést fedeztem fel, ami közepes negatív korrelációban állt a víz hőmérsékletével. Valószínűleg összefüggés van a vérplazma SeFa szintje és a máj glikogén tartalma között, hiszen hasonló faj esetén október végén a máj nagysága 2-15 %-kal nőtt a nyári állapothoz képest, a májra vonatkozó glikogén térfogat pedig 3 és 35 %-kal növekedett (HYVÄRINEN et al. 1985). Statisztikai módszerrel megállapítottam, hogy a **SeFa mennyiségének periodicitása valamivel több, mint egy év** volt vizsgálataim időtartam alatt.

A tavi kísérleteknél nem találtam évszakhoz kötődő összefüggést a vérplazma glükóz-szintjében. Ez a megállapítás nem meglepő, hiszen a vízből való kifogáskor nem lehetett előre tudni, hogy az adott egyedek mikor táplálkoztak, vagy milyen fizikai tényezők (ragadozó) érték az állatokat közvetlenül a kifogás előtt.

5.3.2. Laboratóriumi vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések

A laboratóriumi vizsgálatok során a SeFa mennyisége ugyancsak periodikusan változott, de a minimum és maximum értékek eltértek a tavi vizsgálatok során leírtaktól, melynek oka a kiegyenlítettebb vízhőmérséklet volt. **A SeFa értékei szintén negatív korrelációban voltak a víz hőmérsékletével**. A szezonalitás egyenletesebb volt az akváriumi tartás során, a természetes vízi vizsgálatok eredményeihez képest. **A ciklusok időtartamát tekintve azonos eredményeket kaptam**, egy ciklus hossza mindkét esetben 1,2 év volt.

Lényeges eredményt kaptam a vérplazma glükóz és a SeFa összehasonlítása során. A tavi vizsgálatok alkalmával nem találtam összefüggést, de a laboratóriumban tartott egyedeknél igen. Ebben az összehasonlításban pozitív korrelációs összefüggést találtam.

5.4. Laboratóriumi kísérletek, a mesterségesen előidézett stressz mértékének megállapítására irányuló vizsgálatokból levonható következtetések

5.4.1. Hőmérsékleti sokk által kiváltott stressz vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések

A hőmérséklet 13 °C-os emelése, mint stresszor jelentős hatással volt mindhárom halfajra. Az ezüstkárásznál nem találtam statisztikailag értékelhető különbségeket a vércukor mennyiségét tekintve, ami az ezüstkárász ellenállóságát bizonyítja. A pontynál egy hirtelen emelkedést tapasztaltam, majd a Selye-féle általános adaptációs szindróma szerinti kimerülési állapotot figyeltem meg. A vérplazmaglükóz mennyisége az amurnál viszonylag egyenletesen növekedett és jelentős különbségeket figyeltem meg a kontroll csoporthoz viszonyítva. HSIEH és CHIN (2002) amurnál 10 °C-os hőmérséklet emelést alkalmazva ugyancsak egyenletesen, de különböző mértékben növekedő vérplazma-glükóz szinteket regisztráltak.

A SeFa értéke mindhárom esetben fokozatosan és egyenletesen növekedett, de eltérő intenzitással az egyes halfajoknál. Az ezüstkárásznál volt a legkisebb növekedés, ami ugyancsak az ezüstkárász ellenállóságát bizonyítja. A pontynál és az amurnál a kísérlet végére a glükóz mennyisége a legnagyobb statisztikai különbséget ($P < 0,001$) mutatta a kontrollhoz képest.

5.4.2. Az élettér csökkentése által kiváltott stressz vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések

Az élettér csökkentése, mint stresszor alkalmazása esetén az ezüstkárászon és a pontyon folyamatos vércukor növekedést figyeltem meg, azzal a különbséggel, hogy az ezüstkárásznál az utolsó vérvételkor csökkenő tendenciát kaptam, ami a kimerülési fázis első

jele volt. Az amur ettől eltérő glükóz mennyiségekkel válaszolt az állomány összesűrítésének hatására. Az amurnál már a 2. vérvételnél megfigyeltem a kimerülési fázist, tehát jelentősen csökkent a vércukor mennyisége. Irodalmi adatok alapján a szivárványos pisztrángnál (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) az állomány sűrítés ugyancsak a vércukor emelkedését okozta (PROCARIONE et al. 1999). A tengeri sügérnél (*Pagrus pagrus* L. 1758) a három hétig tartó túlzsúfoltság nem növelte számottevően a glükóz mennyiségét (ROTLLANT és TORT 1997).

A SeFa termelődése a vérplazmában erőteljesebb volt, mint a hőmérséklet emelése esetén. Mindhárom halfajnál az élettér csökkentése a 4. heti vérvételkor $P < 0,001$ szignifikáns eltérést eredményezett. Erre a stresszorra a ponty reagált a legerőteljesebben a SeFa-t tekintve, majd az ezüstkárász és végül az amur.

5.4.3. Oxigénhiány által kiváltott stressz vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések

Az oxigénhiányos kísérletek eltérő glükóz szinteket eredményeztek a három vizsgált halfajnál. Az ezüstkárász esetében egy hirtelen megemelkedés, az amur fajnál fokozatos növekedés volt tapasztalható a kontroll értékekhez viszonyítva. A pontynál mért glükóz mennyisége a kísérlet folyamán egyenletes volt, de a második vérvételkor a stresszelt állományban hirtelen szignifikáns különbség volt megfigyelhető. VAN GINNEKEN és munkatársai (1998) az alacsony levegő telítettség hatásait szintén a ponty (*Cyprinus carpio* L. 1758) halfajon vizsgálták és a glükóz mennyisége hasonlóképpen változott, mint a saját vizsgálataim esetén. A szubletális (1 mg/l) oldott vízoxigén mennyiség hatására a vérglükóz szintén szignifikáns ($P < 0,001$) növekedést mutatott a nílusi tilápiánál (*Oreochromis niloticus* L. 1758) is (EVANS et al. 2003). Különböző tengeri fajoknál (*Scorpaena porcus* L. 1758, *Diplodus annularis* L.1758, *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956) a vérplazma glükóz mennyisége ugyancsak emelkedett volt a hypoxiás állapotban (SILKIN és SILKINA 2005).

A SeFa ennél a kísérletsorozatnál is egyenletesen növekvő eredményeket hozott. Az oxigénhiányt az ezüstkárász tolerálta a legjobban, melyet a SeFa termelődésének alacsonyabb mértéke is bizonyít. A másik két fajnál szignifikánsan magasabb volt a SeFa szintje a kontroll csoport egyedeihez viszonyítva.

5.4.4. Ragadozó jelenléte által kiváltott stressz vizsgálatok eredményeiből levonható következtetések

Mindhárom halfajnál a stresszor hatására megnőtt a vérben a glükóz koncentrációja, de a stresszor jelenlétének ideje és a glükóz mennyisége között nem találtam összefüggést. Az ezüstkárász vércukorszintje csak a második, a másik két halfaj esetén már az első vérvételi időpontban jelentős volt a glükóz koncentrációjának emelkedése.
Az előzőekben leírt kísérletekhez hasonlóan változott a SeFa mennyisége az idő elteltével. A SeFa mennyisége lassan és egyenletesen növekedett, amelyeket a trendvonal elemzések is jó mutatnak. A legegyenletesebb növekedést az amur és az ezüstkárász eredményezte, a pontynál végzett vizsgálatok során a SeFa-szint növekedésében törést tapasztaltam.

5.5. Javaslatok

A SeFa mennyiségének meghatározását több gazdasági halfajon is célszerű lenne elvégezni természetes vízi körülmények között. Különösen fontos ez azoknál a halfajoknál, melyeket intenzív körülmények között tenyésztünk, hiszen ezeknek a fajoknak állandó vízhőmérsékletre van szükségük életfolyamataikhoz.

Mivel a világ halfogyasztásának nagy százalékát a tengeri halak teszik ki, fontos lenne a SeFa mérési metodikát ezekre a fajokra kiterjeszteni.

A SeFa szint meghatározásával képet kaphatunk a halak általános egészségi állapotáról, ezért is javasolt ennek a vérplazma-összetevőnek vizsgálata a haltermelés szinte bármely időszakában.

A SeFa szint kimutatásához nagy mennyiségű vérplazmára van szükség. Ebből kifolyólag javasolt olyan mérési metodika kidolgozása is, amely lehetővé teszi olyan halfajok (pl. zebradánió *Danio rerio* Hamilton, 1822) vizsgálatát is, melyekből csak kis mennyiségű vér nyerhető.

A SeFa mennyisége negatív korrelációban áll a víz hőmérsékletével. A víz hőmérséklete mellett a máj glikogén tartalmát is célszerű lenne megvizsgálni évszakos szinten. Annál is inkább, mert irodalmi adatok alapján az feltételezhető, hogy a máj glikogén tartalma és a SeFa szint között pozitív korreláció áll fenn.

5.6. Az eredmények gyakorlati hasznosítási lehetőségei

Mivel a halaknál is ismert a cukorbetegség ténye, így – a humán diabeteszhez hasonlóan – a betegség ténye a SeFa vizsgálatával könnyebben előre jelezhető.

Egyes környezeti tényezők tartós megváltozását (pl. oxigénhiány, rossz telepítési sűrűség) könnyen detektálhatjuk a vérplazma egyes összetevőinek vizsgálatával.

Egy esetleges termelés-visszaesés okainak vizsgálatakor érdemes a SeFa szintet is megvizsgálni, hiszen a vérplazma SeFa mennyiségének vizsgálatakor következtethetünk a stressz nagyságára.

A SeFa vizsgálatok kiszélesítésével következtethetünk az egyes fajok stressz érzékenységére is.

A plazma fruktózamin meghatározással és megfelelő szelekciós technikával stressztűrő vonalak hozhatók létre, melyekkel jobb és eredményesebb termelési mutatók érhetőek el.

6. Új tudományos eredmények

1. A humán diabetes-vizsgálatokban alkalmazott szérum/plazma fruktózamin (SeFa) mérési metódust elsőként sikerült átültetnem a változó testhőmérsékletű halfajokra, ezáltal a hosszútávú stressz mérésére egy stabil, meggyőző és a gyakorlatban jól alkalmazható módszerhez jutottam.

2. Kimutattam, hogy a halak kifogása és az azt követő vérvétel nem befolyásolja a hosszútávú stressz mérésére alkalmas vérplazma-összetevők mennyiségének változását, ezáltal a módszer széles körben alkalmazható a gyakorlatban.

3. Kimutattam, hogy a halvér szérum/plazma fruktózamin mennyiségének szabályos évszakos váltakozása van, amely szignifikánsan negatív korrelációban áll a vízhőmérséklet változásával.

4. Vizsgáltam az eltérő típusú, a természetes körülmények között is előforduló stresszorok hatását több halfajon és megállapítottam, hogy a szérum fruktózaminnal lehet a hosszútávú stresszválasz mértékét kimutatni.

7. Összefoglalás

Kutatási céljaimat négy pontban fogalmaztam meg, melyből az első az volt, hogy megállapítsam, mely vérplazma-alkotó, illetve vörösvérsejt hemolizátum összetevő alkalmas a hosszabb távú folyamatos stressz kimutatására halakban. Az elhúzódó, hosszú ideig tartó stressz kutatása rendkívül szegény ebben a tudományágban, elsősorban az egyszerű vizsgálati módszer hiányából adódóan. Az általam vizsgált vérplazma-összetevők az albumin, a glükóz, az összfehérje, a szérum/plazma fruktózamin és a redukált glutation volt. A vörösvérsejt hemolizátumból pedig a redukált glutation és a malondialdehid mennyiségét, valamint a glutation-peroxidáz aktivitás szintjét határoztam meg. A hosszú idejű stressz kimutatására a szérum/plazma fruktózamin (SeFa) bizonyult a legmegbízhatóbbnak. A SeFa mennyisége a kombinált, több stresszor által kiváltott súlyos stressz alkalmazásakor fokozatosan és egyenletesen nőtt és a kísérlet közepétől szignifikánsan ($P < 0,001$) is eltért a kontroll csoport eredményeitől. Ezzel az előkísérlettel továbbá megállapítottam, hogy a vérplazma SeFa mennyisége mérhető a változó testhőmérsékletű gerinceseknél is.

Már az előkísérletek tervezése során felmerült a klasszikus módszertani probléma: milyen mértékben torzítják a kísérletek során alkalmazott módszerek a kísérletek végeredményét. Ezért második célkitűzésem az volt, hogy a kontroll kísérlettel megvizsgáljam: a mesterséges körülmények (akváriumi tartás) és maguk a vizsgálatok (kiemelés az akváriumból és elsősorban a vérvétel) milyen mértékű stresszt okoznak a kísérleti állományban. A kísérlet végén világossá vált, hogy az akváriumi kísérletek során a vizsgálatokhoz szükséges munkafolyamatok sem a SeFa, sem pedig a vércukor mennyiségét nem befolyásolták. Így megállapítható tehát, hogy a további akváriumi kísérletek során a kapott vérplazma-összetevők mennyiségének változása kizárólag a kezelés (stressz) eredménye.

Az előkísérletek során kapott szérum/plazma fruktózamin (SeFa) szintek eredményeiből adódóan felvetődött a kérdés, hogy hogyan változik az ezüstkárász-vér SeFa-szintje természetes és mesterséges körülmények között? Célom volt tehát ennek a kérdésnek a tisztázása. 2003 áprilisától, kezdetben havonta, majd 2006 januárjától két hetente vizsgáltam ezüstkárászok SeFa mennyiségét természetes körülmények között, a Gödöllő-Isaszgei tórendszer I. taván. A kapott eredmények azt mutatták, hogy a SeFa-nak éves periodikus változása van, a téli hónapokban magasabb, a nyári hónapokban viszont alacsonyabb volt a SeFa szintje. Több meteorológiai és vízkémiai komponenssel kerestem összefüggést, de korrelációt csak a víz hőmérsékletével sikerült kimutatnom. A víz hőmérséklete és az

ezüstkárászok SeFa szintje negatív korrelációban állt egymással. A kapcsolat erőssége évről-évre változott, hol erős, hol pedig közepes korreláció volt a vizsgált két paraméter között. Az ezüstkárász mellett, vizsgáltam több őshonos halfaj szérum fruktózamin szintjét is, hogy kizárjam azt, hogy ez a jelenség csak az ezüstkárászra, mint betelepített fajra igaz. Kora tavasszal, illetve nyáron sikerült több őshonos halfajtól, mint a bodorkától, a dévérkeszegtől, a sügértől, a süllőtől és a harcsától vérmintákat gyűjtenem és ott is hasonló tendencia volt megfigyelhető, mint az ezüstkárász esetén.

Az irodalmi adatok alapján valószínűleg kapcsolat áll fenn a máj glikogén tertalma és a SeFa szint között, hiszen mindkét esetben a téli és a kora tavaszi időpontban magas, a nyári hónapokban viszont alacsony tendencia figyelhető meg.

A tavi vizsgálat után egy évvel akváriumi tartás mellett is vizsgáltam az ezüstkárászok SeFa mennyiségét. A vérvételek minden esetben a tavi vérvételek napján történetek, az eredmények összehasonlíthatósága érdekében. A kapott eredmények hasonlóak voltak a tavi körülmények között kapott eredményekhez, azzal a különbséggel, hogy a minimum és maximum értékek eltértek a tavi vizsgálatok során leírtaktól, melynek oka a kiegyenlítettebb vízhőmérséklet volt. Ebben az esetben is negatív korrelációt találtam a víz hőmérséklete és a vér SeFa szintje között.

A negyedik és egyben utolsó célkitűzésem az volt, hogy megállapítsam: az adaptált mikromódszeres SeFa meghatározás alkalmas a gyakorlatban előforduló, gyakori stresszorok hatásának kimutatására akváriumi körülmények között is. A kísérletek során három halfajnál (ezüstkárász, ponty, amur) vizsgáltam négy különböző (hőmérsékleti sokk, élettér csökkentése, oxigénhiány, ragadozó jelenléte) stresszor hatásait. A stressz mértékét két vérplazma-összetevő, a glükóz és a SeFa mennyiségén keresztül követtem nyomon. Minden akváriumi kísérlet 4 hétig tartott és a vérvételek hetente történtek.

A hőmérsékleti sokk alkalmazásakor a víz hőmérsékletét 24 óra alatt 13 °C-kal emeltem, majd a négy hétig tartó kísérlet alatt ezt a magas hőmérsékletet egyenletesen tartottam. A glükóz mennyisége csak a ponty és az amur esetén volt szignifikánsan különböző a kontroll értékeihez képest. A ponty halfajnál az első mintavételi időpontban kiugró értéket kaptam, majd ez az emelkedett glükóz szint folyamatosan csökkent a kísérlet végére. Az amur esetén pedig folyamatosan emelkedett volt a vércukor szint ($P < 0,01$, $P < 0,001$). A SeFa mennyisége folyamatosan növekedett a kísérlet ideje alatt, mindhárom fajnál.

Az élettér csökkentésekor a kísérleti halállományt ötször kisebb térbe helyeztem egy esetleges rossz telepítést modellezve. Az ezüstkárásznál és a pontynál nőtt a glükóz mennyisége, majd a két utolsó mintavételkor állandósult ez a magas vércukor szint. Az amur

vérglükóz szintje kezdetben hirtelen kétszeresére nőtt, azután felére csökkent, majd a vizsgálat utolsó időpontjában újra a kétszeresére növekedett. A SeFa mennyisége ennél a stresszornál is folyamatosan és egyenletesen nőtt a kísérleti idő előrehaladtával, mindhárom halfajban.

A vízoxigén mennyiségének csökkentésekor az ezüstkárásznál a glükóz mennyisége hirtelen megemelkedett, majd fokozatosan csökkent, de az egész kísérlet alatt szignifikánsan eltérő volt a kontroll csoport egyedeihez képest ($P < 0,001$). A pontynál mért vércukor mennyisége csak a második héten volt magas ($P < 0,01$), a többi vérvétel alkalmával viszont nem találtam különbséget a kontroll egyedeihez képest ($P > 0,05$). Az amur vérglükóz értéke folyamatosan növekedett, majd az utolsó mintavételkor csökkent a mennyisége. Az egész vizsgálati időben, minden mintavételkor szignifikánsan magasabb volt a glükóz mennyisége ($P < 0,05$, $P < 0,001$, $P < 0,01$). A SeFa szintje ennek a stresszornak az alkalmazásakor is folyamatosan és egyenletesen növekedett. Az ezüstkárásznál csak a negyedik, a pontynál és az amurnál már harmadik vérvételkor szignifikánsan nagyobb volt a SeFa mennyisége a kontroll csoporthoz képest.

A ragadozó jelenléte a békés halaknál jelentős glükóz koncentráció emelkedést okozott. Az ezüstkárásznál a második héten volt kimutatható a magas vércukor szint ($P < 0,001$), mely a kísérlet végéig meg is maradt. A ponty és amur halfajnál minden mintavételkor emelkedett volt a vércukor mennyisége ($P < 0,001$) a kontroll csoporthoz viszonyítva, de a glükóz-szintek hétről-hétre eltértek egymástól. Hol alacsonyabb, hol pedig magasabb szinteket mértem, amelyek legtöbbször statisztikailag is igazolhatóan is különböztek egymástól. A fruktózamin mennyisége a fent említett három stresszorhoz hasonlóan ugyancsak egyenletesen növekedett és statisztikailag jelentősen eltért a kontroll értékeihez képest.

8. Summary

Of the four research objectives, the first was to allocate which plasma-component and which red blood cell hemolysate component is appropriate to detect long-term and continuous stress in fish. The research of long-term stress is extremely poor in this discipline; the cause is the absence of a simple analytical method. I have analyzed several blood plasma components, such as albumin, glucose, total protein, serum/plasma fructosamine, and reduced glutation. I have also examined reduced glutation and malondialdehid quantity and glutation-peroxidase activity level from red blood cell hemolysate. Serum/plasma fructosamine (SeFa) seemed to be the most reliable component to detect long-term stress. The quantity of SeFa was increasing gradually and steadily, when four stressors were used in the same time and in the second half of the experiment its quantity has differed significantly ($P < 0.001$) from the results of the control group. Furthermore, I have allocated that the SeFa quantity of blood plasma is measurable in ectothermic vertebrates, as well.

A classic methodological problem has occurred already during the design of preliminary experiments, such as the rate of distortion of the data related to methods used during the experiments. Therefore, the second objective of the control experiment was to analyze the rate of stress caused by artificial conditions (keeping of fish in tanks) and the tests (removal from tanks and taking blood samples) in the experimental population. At the end of experiment, it became clear that the workflow of tests has influenced neither the SeFa level, nor the blood-glucose quantity. It was established that the changes in quantity of blood plasma components taken during the further experiments in tanks can be attributed to the treatment (stress) solely.

During the preliminary experiments results of serum/plasma fructosamine (SeFa) levels raised a question: how does the SeFa level in the blood of silver prussian carp change within natural and artificial conditions? My aim was to clarify this issue. Since April of 2003, I have analyzed the blood of prussian carp every month, then from January, 2006 every two weeks in pond I. of the Gödöllő-Isaszeg pond-system within natural conditions. The final results show that SeFa changes periodically every year, the level of SeFa was rising during winter and it was lower in the summer. There was no relationship between meteorology and water chemistry parameters; however, the water temperature showed a negative correlation with SeFa levels of prussian carp individuals. The intensity of coherence changed annually, sometimes there was strong, other times there was medium correlation between these two parameters. Beside silver prussian carp, I have analyzed serum fructosamine level of five

native fish species to exclude that these phenomena are true only for non-native fish species, i.e. the prussian carp. During early spring and summer it was possible to take samples from more native species, such as roach, bream, perch, pikeperch and catfish, and the same trend was found as in the prussian carps.

According to the literature there is probably a relationship between the quantity of liver glycogen and SeFa level, as both display an increase during winter and early spring and there was a tendency of decrease in the summer.

I have investigated the concentration of SeFa in prussian carps kept in ponds after the laboratory experiments. The blood samples were taken on the days when the blood sampling was conducted on a regular basis, just to compare the results. The given results were similar to the results of pond fish, but the minimum and maximum rates were different from the pond results, the reason was the balanced temperature. In this case I have found negative correlation between the water temperature and the level of SeFa, also.

The fourth and the last objective was to verify that determination of SeFa levels with adopted micro methods is appropriate for demonstration of common stressors occurring in practice in laboratory conditions as well. During experiments, I have investigated the effect of four different stressors (temperature shock, confinement, oxygen deficit, presence of predator) on three fish species (prussian carp, carp, and grass carp). The rate of stress was assessed by two blood plasma components, the quantity of glucose and SeFa. Every laboratory experiment took four weeks and blood samples were taken once per a week.

When temperature was used as a shock, temperature of the water was raised by 13 °C during 24 hours, then this high temperature remained steady for four weeks. The quantity of glucose was significantly different to the control rate in case of grass carp and carp. The rate of carp in the first sample date was an outlier, and then the high level was constantly decreasing at the end of experiment. In case of grass carp the level of blood sugar was permanently rising ($P < 0,01$, $P < 0,001$). In every species the SeFa quantity was continuously increasing during the experiment.

The fish were moved to a five times smaller place, hence a possible incorrect stocking rate could be modeled with the decrease of life territory. In this experiment the blood glucose concentration was estimated in case of prussian carp and carp. Both species had increased glucose levels, and then the last two sampling had a constant high rate in blood glucose concentration. At first, grass carp had a sudden doubled blood glucose level, later it decreased to half, and then it doubled again towards the end of the experiment. During the experiment

quantity of SeFa was steadily and continually growing during the use of this stressor as well in every fish species.

When oxygen concentration in water was lowered, glucose in prussian carp has suddenly increased, then it gradually decreased, however, it was significantly different from control individuals during the whole experiment ($P < 0.001$). The measured blood glucose level in carp was high only on the second week ($P < 0.01$), but there no more differences were found compared to control individuals at the other blood sampling ($P > 0.05$). Blood glucose level of grass carp was gradually increasing, the concentration decreased at the last sample collection. In the total investigation time the level of glucose was higher at every sampling ($P < 0.05$, $P < 0.001$, $P < 0.01$). Concentration of SeFa was steadily and continually growing during the use of this stressor as well. The SeFa level was significantly higher compared to control group at the fourth blood sampling in prussian carp, at the third sampling in carp and in grass carp.

Appearance of predators caused rise in glucose concentration at cyprinids. On the second week high blood sugar level ($P < 0.001$) was observed in prussian carp, which remained until the end of experiment. At every sampling blood sugar level was high in carp and grass carp ($P < 0.001$) compared to control group, but the rate of levels differed from each other from week to weeks. Varying values were recorded, statistically there were differences. Level of fructose-amine was growing steadily like the above mentioned three stressors, and it significantly differed from control values.

9. Irodalomjegyzék (1. sz melléklet)

AZNAR J., SANTOS M. T., VALLES J., SALA J. (l983): Serum malondialdhyde-like material (MDA-LM) in acute myocardial infarction. *Journal Clinical Pathology*, 36 (7) 12-15. p.

ÁDÁM V. (Szerk) (2001): A lipidek anyagcseréje. *Orvosi biokémia*. Budapest: Medicina Könyvkiadó, 210-216. p.

BAGNI M., ROMANO N., FINOIS M. G., ABELLI L., SCAPIGLIATI P. G., TISCAR P. G., SARTI M., MARINO G. (2005): Short- and long-term effects of a dietary yeast beta-glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish and Shellfish Immunology*, 18 (4) 311-325. p.

BARCELLOS L. J. G., NICOLAIEWSKY S., DE SOUZA S. M. G., LULHIER F. (1999): The effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture Research*, 30 (11-12) 887-892. p.

BARCELLOS L. J. G., KREUTZ L.C., QUEVEDO R. M., FIOREZE I., CERICATO L., SOSO A. B., FAGUNDES M., CONRAD J., BALDISSERA R. K., BRUSCHI A., RITTER F. (2004): Nursery rearing of jundia, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. *Aquaculture*, 232 (1-4) 383-394. p.

BAUER C., SCHLOTT G. (2006): Reaction of common carp (*Cyprinus carpio*, L.) to oxygen deficiency in winter as an example for the suitability of radio telemetry for monitoring the reaction of fish to stress factors in pond aquaculture. *Aquacultura Research*, 37 (3) 248-254. p.

BAYNES J. W., THORPE S. R., MURTIASHAW M. H. (1984): Nonenzymatic glucosylation of lysine residues in albumin. *Methods in Enzymology*, 106 88-98. p.

BEITINGER T. L. (1990): Behavioral reactions for the assessment of stress in fishes. *Journal of Great Lakes Research*, 16 (4) 495-528. p.

BILODEAU A. L., SMALL B. C., WISE D. J., WOLTERS W. R. (2005): Pathogen levels, lysozyme, and cortisol response in channel catfish with susceptibility differences to *Edwardsiella ictaluti*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 17 (2) 138-146. p.

BISSÉ E., SCHAUBER C., ZORN N., EPTING T., EIGEL A., DORSSEALAER A., WIELAND H., KISTER J., KIGER L. (2003): Hemoglobin görwhil ($\alpha_2\beta_2$5(A2)Pro→Ala), an electrophoretically silent variant with impaired glycation. *Clinical Chemistry*, 49 (1) 137-143. p.

BITTER I. (Szerk.) (1996): Szorongásos kórképek. Budapest, Springer Hungarica Kiadó. 44. p.

BRETT J. R. (1958): Implications and assessments of environmental stress. In: LARKIN P. A. (Editor): *Investigations of Fish-Power Problems*, University of British Columbia. 69-83. p.

BRODEUR J. C., SHERWOOD G., RASMUSSEN J. B., HONTELA A. (1997): Impaired cortisol secretion in yellow perch (*Perca flavescens*) from lakes contaminated by heavy metals: in vivo and in vitro assessment. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54 (12) 2752-2758. p.

BUDAHÁZI A,. BÓDIS M., MERTH J., BERCSÉNYI M., BAKOS J., JENEY ZS. (2005): Stressz érzékenység öröklődése pontynál. *Halászatfejlesztés*, 31 17-25. p.

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. p.

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. p.

CARBALLO M., JIMENEZ J. A., de la TORRE A., ROSET J., MUNOZ M. J. (2005): A survey of potential stressor-induced physiological changes in carp (*Cyprinus carpio*) and barbel (*Barbus bocagei*) along the Tajo River. *Environmental Toxicology*, 20 (2) 119-125. p.

CARDIOSCAN CARDIOVASCULAR CONSULTANTS, P. C. (2007): CardioScan. All Rights Reserved. http://www.cardioscan.net/Technology/Index.asp?IdS=0000F5-F11F970

CARRAGHER J. F., REES C. M. (1994): Primary and secondary stress responses in golden perch, *Macquaria-ambigua*. *Comparative Biochemsitry and Physiology A-Physiology*, 107 (1) 49-56. p.

CARRAGHER J. F., SUMPTER J. P. (1990): The effect of cortisol on the secretion of sex steroids from cultured ovarian follicles of rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 77 (3) 403-407. p.

CASILLAS E., SMITH L. S. (1977): The effect of stress on blood coagulation and haematology in rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 10 (5) 481-491. p.

CHANCE B., SIES C. H., BOVERIS A. (1979): Hydropoeroxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Review*, 59 527-605. p.

CLEMENT T. S., PARIKH V., SCHRUMPF M., FERNALD R. D. (2005): Behavioral coping strategies in a cichild fish: the role of social status and acute stress response in direct and displaced aggression. *Hormones and Behavior*, 47 (3) 336-342. p.

COMPORTI M. (1985): Biology of disease lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Journal of Biologyial Chemistry*, 53 599−623. p.

CORREA S. A., FERNANDES M. O., ISEKI K. K., NEGRAO J. A. (2003): Effect of the establishment of dominance relationships on cortisol and other metabolic parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Brazilian Journal of Madical and Biological Research*, 36 (12) 1725-1731. p.

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.

CZESNY S., RINCHARD J., ABIADO M. A. G., DABROWSKI K. (2003): The effect of fasting, prolonged swimming, and predator presence on energy utilization and stress in juvenile walleye (*Stizostedion vitreum*). *Physiology and Behavior*, 79 (4-5) 597-603. p.

CSERMELY P. (2001a): Mire jók a stresszfehérjék? Régi és új elképzelések. *Magyar Tudomány*, 108 129–135. p.

CSERMELY P. (2001b): Stresszfehérjék. [Budapest Vince Kiadó] 41. p. (Tudomány-Egyetem sorozat ISBN 963 9192 80/ISSN 1417-6114).

DALLE-DONNE I., ROSSI R., COLOMBO R., GIUSTARINI D., MILZANI A. (2006): Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*, 52 (4) 601–623. p.

DALLOS T. J. (2001): A beavatkozó tűzoltók és a stressz. Megelőzés, stresszkezelés. Pécsi Tudományegyetem, Pollack Mihály Műszaki Főiskolai Kar, Pedagógia Tanszék. *Diplomamunka*, 23-34. p.

DAY J. F., THORPE S. R., BAYNES J. W. (1979): Nonenzymatically glucosylated albumin: In vitro preparation and isolation from human serum. *Journal of Biological Chemistry*, 254 595-597. p.

DELONGIS A., FOLKMAN S., LAZARUS R. S. (1988): The impact of daily stress on health and mood: Psychological and social resources as mediators. *Journal of Personality and Social Psychology*, 54 (3) 486-95. p.

DEMERS N. E., BAYNE C. J. (1997): The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Developmental and Comparative Immunology*, 21 (4) 363-373. p.

DENEKE S. M., FANBURG B. L. (1989): Regulation of cellular glutathione. *American Journal of Physiology*, 257 (4) L163-L173. p.

DOMINGUEZ M., TAKEMURA A., TSUCHIYA M., NAKAMURA S. (2004): Impact of different environmental factors on the circulating immunoglobulin levels in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 241 (1-4) 491-500. p.

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. p.

ELLIS R. J., VAN DER VIES S. M. (1991): Molecular chaperones. *Annual Review of Biochemistry*, 60 321-347. p.

ENGELSMA M. Y., HOUGEE S., NAP D., HOFENK M., ROMBOUT J. H., VAN MUISWINKEL W. B., LIDY VERBURG-VAN KEMENADE (2003): Multiple acute temperature stress affects leucocyte populations and antibody responses in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Fish and Shellfish Immunology*, 15 (5) 397-410. p.

ERIKSEN M. S., ESPMARK A., BRAASTAD B. O., SALTE R., BAKKEN M. (2007): Long-term effects of maternal cortisol exposure and mild hyperthermia during embryogeny on survival, growth and morphological anomalies in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* offspring. *Journal of Fish Biology*, (2) 462-473. p.

EVANS J. J., SHOEMAKER C. A., KLESIUS P. H. (2003): Effects of sublethal dissolved oxygen stress on blood glucose and susceptibility to *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 15 (3) 202-208. p.

FAGERLUND U. H. M., DONALDSON E. M. (1970): Dynamics of cortisone secretion in sockeye salmon *(Oncorhynchus nerka*) during sexual maturation and after gonadectomy. *Journal of the Fisheries* Research *Board of Canada*, 27 2323-2331. p.

FERNALD R. D. (2003) How does behavior change the brain? Multiple methods to answer old questions. *Integrative and Comparative Biology*, 43 (6) 771-779. p.

FOLMAR L. C., DICKHOFF W. W. (1980): The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids. *Aquaculture*, 21 (1) 1-37. p.

FRYER J. N. (1975): Stress and adrenocorticosteroid dynamics in the goldfish *Carassius auratus*. *Canadian Journal of Zoology*, 53 1012-1020. p.

GEBHART S. S., WHEATON R. E., MULLINS R. E., AUSTIN G. E. (1995): A comparison of home glucose monitoring with determinations of hemoglobin A1c, total glycated hemoglobin, fructosamine, and random serum glucose in diabetic patiens. *Archives of Internal Medicine*, 151 (6) 1133. p.

GENSIC M., WISSING P. J., KEEFE T. R., MUSTAFA A. (2004): Effects of iodized on stress modulation in steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 35 (12) 1117-1121. p.

GHOSH D., DATTA S., BHATTACHARYA S., MAZUMDER S. (2007): Long-term exposure to arsenic affects head kidney and impairs humoral immune responses of *Clarias batrachus*. *Aquatic Toxicology*, 81 (1) 79-89. p.

GILCHRIEST B. J., TIPPING D. R., HAKE L., LAVY A., BAKER B. I. (2000): The effects of acute and chronic stresses on vasotocin gene transcripts in the brain of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Neuroendocrinology*, 12 (8) 795-801. p.

GILMOUR K. M., DIBATTISTA J. D., THOMAS J. B. (2005): Physiological causes and consequences of social status in salmonid fish. *Integrative and Comparative Biology*, 45 (2) 263-273. p.

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. p.

GOPALKRISHNAPILLAI B., NADANATHANGAM V., KARMAKAR N., ANAND S., MISRA A. (2003): Evulation of autofluorescent property of hemoglobin advanced glycation end pruduct as a long term glycemic index of diabetes. *Diabetes*, 52 (4) 1041-1046. p.

GRAY R. H. (1992): An epidemiological perspective. In: SHEPPARD K. E., BOUBLIK J. H., FUNDER J. W. (Editors): *Stress and Reproduction*, 219-228. p.

GREINER B., LEITNER K. (1989): The RHIA-Instrument. In: LANDAU K., ROHMERT W. (Editors): *Assessment of Job Stress*, 53-66. p.

GREINER, B. (1994): Work Analysis Instrument to Identify Objective Stress Factors In: Urban Transit Operators. Muni Health and Safety Project School of Public Health Berkeley. 144. p.

GUTTERIDGE J. M. C. (1995): Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41 (12B) 1819-1828. p.

HALLARE A. V., KOHLER H. R., TRIEBSKORN R. (2004): Development toxicity and stress protein responses in zebrafish embryos after exposure to diclofenac and its solvents, DMSO. *Chemosphere*, 56 (7) 659-666. p.

HALLIWELL B., GUTTERIDGE J. M. C. (1989): Free radicals in biology and medicine, 2 nd ed. New York: Oxford University Press (Clarendon)

HANCZ CS., BERCÉNYI M., MAGYARY I., MOLNÁR T. (1999): A stressztűrő képességre történő szelekció lehetőségei a pontynál. *Halászatfejlesztés*, 22 100-105. p.

HANCZ CS., BERCÉNYI M., MAGYARY I., MOLNÁR T., KNOCH L., MÜLLER T., HORN P. (2000): Comparison of stress response of two different carp (*Cyprinus carpio* L.) genotypes. *Acta Agraria Kaposváriensis*, 4 (1) 35-40. p.

HARMON G. J., JOHNSON D. L. (1980): Physiological responses of Lake Erie freshwater drum to capture by commercial shore seine. *Trans American Fisheries Society*, 109 544-551. p.

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. p.

HEGYI Á., BÉRES T., TÓTH B., OPPEL K., HORVÁTH Á. (2005): Changes in serum/plasma fructosamine concentration in some cyprinids induced by exposure to cadmium. *Hungarian Agricultural Research*, 4 8-11. p.

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. p.

HOLMES T.H., RAHE R.H. (1967): The social readjustment rating scale. *Journal of Psychosomatic Research*, 11 213-218. p.

HORI O., YAN S. D., OGAWA S., KUWABARA K., MATSUMOTO M., STERN D, SCHMIDT A. M. (1996): The receptor for advanced glycation end-products has a central role in mediating the effects of advanced glycation end-products on the development of vascular disease in diabetes mellitus. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 11 (5) 13-16. p.

HSIEH S. L., CHIN H. C. (2002): Effects of temperature shock ont he energy distribution in grass carp. *International Congress on the Biology of Fish*, 67-68. p.

HUMAD S., ZARLING E. J., SKOSEY J. L. (1985): Lipid peroxidation in rheumatiod arthritis: measurernent of pentane in breath samples by gas chromatography (Abstract). *Clinical Research*, 33 (4) 919A. p.

HUSVÉTH F. (Szerk.) (1994): A táplálóanyagok felszívódása és közti anyagcseréje. *A háziállatok élettana és anatómiája*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 418-422. p.

HYVÄRINEN H., HOLOPAINEN I. J., PIIRONEN J. (1985): Anaerobic wintering of Crucian carp (*Carassius carassius* L.). 1. Annual dynamics of glycogen reserves in nature. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology*, 82 (4) 797-803. p.

ISHIBASHI Y., EKAWA H., HIRATA H., KUMAI H. (2002): Stress response and energy metabolism in various tissues of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to hypoxic conditions. *Fisheries Science*, 68 (6) 1374-1383. p.

ISRAELI D., KIMMEL E. (1996): Monitoring the behavior of hypoxia-stressed *Carassius auratus* using computer vision. *Aquacultural Engineering*, 15 (6) 423-440. p.

IWAMA G. K., AFONSO L. O. B., TODGHAM A., ACKERMAN P., NAKANO K. (2004): Are hsps suitable for indicating stressed states in fish? *Journal of Experimental Biology*, 207 (1) 15-19. p.

JAKAB L. (Szerk.) (1983): A plazmaproteinek és a glikoproteinek kórélettani, klinikai jelentősége. Budapest: Medicina Könyvkiadó, 31. p.

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. p.

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. p.

JI L.L., FU R. G., MITCHELL E. W. (1992): Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal-muscle effects of fiber type and exercise intensity. *Journal of Applied Physiology*, 73 (5) 1854-1859. p.

JI L.L. (1995): Exercise and *oxidative stress: Role of the cellular antioxidant systems. In: HOLLOSZKY J. O. (Editor): Exercise Sports Science Reviews,* 135-166. p.

JI L. L., HOLLANDER J. (2000): Antioxidant defense: Effects of agning and exercise. In: RADAK ZS. (Editor): *Free Radicals in Exercise and Aging*, Human Kinetics Chapter 2, 35-72. p.

JUHÁSZ Á. (2002): Munkahelyi stressz, munkahelyi egészségfejlesztés. Budapesti Műszaki és gazdaságtudományi Egyetem, Budapest, *Oktatási segédanyag*, 4-5. p.

KAGAWA N., RYO K., MUGIYA Y. (1999): Enhanced expression of stress protein 70 in the brains of goldfish, *Carassius auratus*, reared with bluegills, *Lepomis macrochirus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21 (2) 103-110. p.

KAGAWA N., MUGIYA Y. (2000): Title: Exposure of goldfish (*Carassius auratus*) to bluegills (*Lepomis macrochirus*) enhances expression of stress protein 70 mRNA in the brains and increases plasma cortisol levels. *Zoological Science*, 17 (8) 1061-1066. p.

KAGAWA N., MUGIYA Y. (2002): Brain HSP70 mRNA expression is linked with plasma cortisol levels in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to a potential predator. *Zoological Science*,19 (7) 735-740. p.

KAHN R. L., BYOSIERE P. (1992): Stress in organizations. In: DUNNETTE M. D., HOUGH L. (Editors): *Handbook of industrial and organizational psychology*, 2. edition. Consulting Psychologists Press: Palo Alto CA. 571-650. p.

KAKUTA I., MURACHI S. (1992): Renal response to hypoxia in carp, *Cyprinus Carpio* – changes in glomerular-filtration rate, urine and blood properties and plasma-catecholamines of carp exposed to hypoxic conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology*, 103 (2) 259-267. p.

KIKUCHI K., WATABE S., SIZUKI Y., AIDA K., NAKAJIMA H. (1993): The 65-kda cytosolic protein associated with warm temperature-accumulation in goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical systemic and Environmental Physiology*, 163 (5) 349-354. p.

KIKUCHI K., WATABE S., AIDA K. (1998): Isolation of a 65-kDa protein from white muscle of warm temperature-acclimated goldfish (*Carassius auratus*). *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry and Molecular Biology*, 120 (2) 385-391. p.

KNIGHT J. A., SMITH S. E., KINDER V. E., ANSTALL H. B. (1987): Reference intervals for plasma lipoperoxides: age, sex, and specimen-related variations. *Clinical Chemistry*, 33 (12) 2289-2291. p.

KOSCHINSKY T., HE C. J., MITSUHASHI T., BUCALA R., LIU C., BUENTING C., HEITMANN K., VLASSARA, H. (1997): Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): An enviromental risk factor in diabetic nephropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94 (12) 6474-6479. p.

KUBOKAWA K., WATANABE T. YOSHIOKA M., IWATA M. (1999): Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during the breeding season. *Aquaculture*, 172 (3-4) 335-349. p.

KUBOKAWA K., YOSHIOKA M., IWATA M. (2001): Sex-specific cortisol and sex steroids responses in stressed sockeye salmon during spawning period. *Zoological Science*, 18 (7) 947-954. p.

KUO C. M., HSIEH S. L. (2006): Comparisons of physiological and biochemical responses between milkfish (*Chanos chanos*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) to cold shock. *Aquaculture*, 251 (2-4) 525-536.p .

LAKNER H., OPPEL K., BÁRDOS L. (2001): A glikált fehérjék (glikált hemoglobin és szérumfruktózamin) metabolizmusa szarvasmarhában. 2. A glikált fehérjék és a foetalis hemoglobin borjakban, a születés utáni időszakban. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 123 (2) 112-118. p.

LAPPIVAARA J., MARTTINEN S. (2005): Effects of waterborne iron overload and simulated winter conditions on acute physiological stress response of whitefish, Coregonus lavaretus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60 (2) 157-168. p.

LAZARUS R. H. (1977): Cognitive and Coping Processes on Emotions, In: MONAT A., LAZARUS R. S. (Editors): *Stress and Coping*, Columbia University Press, New York. 241. p.

LEEUWENBURGH C., HOLLANDER J., LEICHTWEIS S., GRIFFITHS N., GORE M., JI L.L. (1997): Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *American Journal of Physiology-Reulatory Integrative and Comparative Physiology*, 272 (1) R363-R369. p.

LINDSTROMSEPPA P., ROY S., HUUSKONEN S, TOSSAVAINEN K., RITOLA O., MARIN E. (1996): Biotransformation and glutathione homeostasis in rainbow trout exposed to chemical and physical stress. *Marine Environmental Research*, 42 (1-4) 323-327. p.

LUSHCHAK V. I., LUSHCHAK L. P., MOTA A. A., HERMES-LIMA M. (2001): Oxidative stress and antioxidant defenses in goldfish *Carassius auratus* during anoxia and reoxygenation. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 280 (1) 100-R107. p.

LUSHCHAK V. I., BAGNYUKOVA T. V., LUSHCHAK O. V., STOREY J. M., STOREY K. B. (2005): Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *International Journal of Biohemistry and Cell Biology***,** 37 (6) 1319-1330. p.

LYYTIKAINEN T., PYLKKO P., RITOLA O., LINDSTROM-SEPPA P. (2002): The effect of acute stress and temperature on plasma cortisol and ion concentrations and growth of Lake Inari Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Environmental Biology of Fishes*, 64 (1-3) 195-202. p.

MATKOVICS B., SZABÓ L., VARGA I. (1988): Lipidperoxidáció és redukált glutation anyagcsere enzimek aktivitás meghatározása biológiai mintákban. *Laboratóriumi diagnosztika*, 15 248-250. p.

MAZEAUD M. M., MAZEAUD F., DONALDSON E. M. (1977): Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Transactions of the American Fisheries Society*, 106 (3) 201-212. p.

MAZEAUD M. M., MAZEAUD F. (1981): Adrenergic responses to stress in fish. In: PICKERING A. D. (Editor): *Stress and Fish*. Academic Press, London, 47-68. p.

MCEWEN B. S. (1998): Protective and damaging effects of stress mediators. *The New England Journal of Medicine*, 338 (3) 171-179. p.

MCNEIL D. G., CLOSS G. P. (2007): Behavioural responses of a south-east Australian floodplain fish community to gradual hypoxia. *Freshwater Biology*, 52 (3) 412-420. p.

MONTERO D., IZQUIERDO M. S., TORT L., ROBAINA L., VERGARA J. M. (1999): High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20 (1) 53-60. p.

MONTPETIT C. J., PERRY S. F. (1998): The effects of chronic hypoxia on the acute adrenergic stress response in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Physiological Zoology*, 71 (4) 377-386. p.

NIELSEN M. E., BOESGAARD L., SWEETING R. M. Mc KEOWN B.A., ROSENKILDE P. (2000): Physiological and endocrinological responses during prolonged exercise in hatchery-reared rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Veterinaria Scandinavica*, 41 (2) 173-184. p.

NOGA E. J., WANG C.J., GRINDEM C. B., AVTALION R. (1999): Comparative clinicopathological responses of striped bass and palmetto bass to acute stress. *Transactions of the American Fisheries Society*, 128 (4) 680-686. p.

NOLAN D. T., SPANINGS F. A. T., RUANE N. M., HADDERINGH R. H., JENNER H. A., BONGA S. E. W. (2003): Exposure to water from the lower Rhine induces a stress response in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45 (2) 247-257. p.

OLLA B. L., DAVIS M. W., SCHRECK C. B. (1992): Comparison of predator avoidance capabilities with corticosteroid levels induced by stress in juvenile coho salmon. *Transactions of the American Fisheries Society*, 121 (4) 544-547. p.

OLSEN R. E., SUNDELL K., HANSEN T., HEMRE G. I., MYKLEBUST R., MAYHEW T. M., RINGO E. (2002): Acute stress alters the intestinal lining of Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: An electron microscopical study. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26 (3) 211-221. p.

OPPEL K., BÁRDOS L., FEKETE S., ZOMBORSZKYNÉ KOVÁCS M., GYÖRKÖS I., KARCHESZ K. (2000a): A glikált fehérjék (glikált hemoglobin és szérumfruktózamin) metabolizmusa szarvasmarhában. 1. Tejelő tehenek vizsgálata az ellés körüli időszakban. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 122 (11) 689-702. p.

OPPEL K., KULCSÁR M., BÁRDOS L., FERENCZ A., LAKNER H., SIMON J., TEMESVÁRY K., KARCHESZ K. (2000b): A new, modern, cost-saving micro/macro method for the determination of serum frutosamine. *Acta Veterinaria Hungarica*, 48 (3) 285-291. p.

OPPEL K., BÁRDOS L., LAKNER H., TEMESVÁRY K., BÖLCSHÁZY G., KULCSÁR M., FERENCZ A., SIMON J. (2000c): A glikált (glucosilált) fehérjék és vizsgálatuk jelentősége háziállatainkban. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 122 (2) 106-111. p.

OPPEL K., PALLÓS L., TEMESVÁRY K., LAKNER H. (2000d): Az ismételt vérvételek szénhidrát anyagcserére gyakorolt hatásának vizsgálata a glikált fehérjék és a vérglükózszintek meghatározásával házinyúlban. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 122 (8) 486-492. p.

OPPEL K., TEMESVÁRY K. (2001): Metabolism of glycated proteins in the rabbit. 1. Glycated hemoglobin and blood plasma glucose levels during some weeks after a single blood taking. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 123 (4) 233-237. p.

OPPEL K., TEMESVÁRY K., HIDAS A. (2001): Metabolism of glycated proteins in the rabbit. 3. The glycated hemoglobin levels and the changes in fetal hemoglobin after births. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 123 (5) 302-306. p.

PANKHURST N. W., VAN DER KRAAK G. (2000): Evidence that acute stress inhibits ovarian steroidogenesis in rainbow trout in vivo, through the action of cortisol. G*eneral and Comparative Endocrinology*, 117 (2) 225-237. p.

PEI D., CHEN T. W., KUO Y. L., HUNG Y. J., HSIEH C. H., WU L. Y., CHANG J. B., CHOU T. C., CHEN Y. D. I., KUO S. W. (2003): The effect of surgical stress on insulin sensitivity, glucose effectiveness and acute insulin response to glucose load. *Journal of Endocrinnologica Investigation*, 26 (5): 397-402. p.

PENTTINEN O. P., HOLOPAINEN I. J. (1992): Seasonal feeding activity and ontogenetic dietary shifts in Crucian carp, *Carassius carassius*. *Environmental.Biology Fishes*, 33 (1-2) 215-221. p.

PICKERING A. D. (1993): Husbandry and stress. In: Muir J. F., Roberts R. J. (Editors): *Recent Advances in Aquaculture*. Blackwell Science, Oxford, 340. p.

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.

PIIRONEN J., HOLOPAINEN I. J. (1986): A note on the seasonality in anoxia tolerance of Crucian carp (*Carassius carassius* L.) in the laboratory. *Annales Zoologici Fennici*, 23 (3) 335-338. p.

PLACER Z. A., CUSHMAN L. L., JOHNSON B. C. (1966): Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, 16 359-364. p.

POTTINGER T. G., PICKERING A. D. (1992): The influence of social-interaction on the acclimation of rainbow-trout, *Oncorhynchus-mykiss* (Walbaum) to chronic stress. *Journal of Fish Biology*, 41 (3) 435-447. p.

POTTINGER T. G., MORAN T. A., CRANWELL P. A. (1992): The biliary accumulation of corticosteroids in rainbow-trout, *Oncorhynchus-mykiss*, during acute and chronic stress. *Fish Physiology and Biochemistry*, 10 (1) 55-66. p.

PROCARIONE L. S., BARRY T. P., MALISON J. A. (1999): Effects of high rearing densities and loading rates on the growth and stress responses of juvenile rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture*, 61 (2) 91-96. p.

PULSFORD A. L., LEMAIREGONY S., TOMLINSON M., COLLINGWOOD N, GLYNN P. J. (1994): Effects of acute stress on the immune-system of the dab, *Limanda-limanda*. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, 109 (2) 129-139. p.

PUTNAM F. W. (Editor) (1975): Alpha, beta, gamma, omega, the roster of the plasma proteins. *The plasma proteins*. New York: Academic Press, 57-131. p.

RANDALL D. J. (1970): The circulatory system. In: Hoare W. S., Randall D. J. (Editors): *Fish Physiology*. Academic Press, London, 133-172. p.

RITOLA O., KIURU T., KOPONEN K., MOLSA H., HANNINEN O., LINDSTROM-SEPPA P. (1999): Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to oxygen supersaturation and handling stress: Plasma cortisol and hepatic glutathione status. *Acta Biologica Hungarica*, 50 (1-3) 215-227. p.

ROCHE T. E. (1989): Fructosamine test. Basel, Schwitzerland

ROSS B., ROSS L. G. (1983): The oxygen requirements of *Oreochromis niloticus* under adverse conditions. *Proceedings of the First International Symposium on Tilapia in Aquaculture Nazareth, Israel*, 134-143. p.

ROSS L. G., ROSS B. (Editors) (1999): Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals, 2. edition. Oxford: Blackwell Science 5-6. p.

ROTLLANT J., TORT L. (1997): Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *Journal of Fish Biology*, 51 (1) 21-28. p.

RUANE N. M., NOLAN D. T., ROTLLANT J., TORT L., BALM P. H. M., BONGA S. E. W. (1999): Modulation of the response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) to confinement, by an ectoparasitic (*Argulus foliaceus* L.) infestation and cortisol feeding. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20 (1) 43-51. p.

RUANE N. M., HUISMAN E. A., KOMEN J. (2001): Plasma cortisol and metabolite level profiles in two isogenic strains of common carp during confinement. *Journal of Fish Biology,* 59 (1) 1-12. p.

RUANE N. M., KOMEN H. (2003): Measuring cortisol in the water as an indicator of stress caused by increased loading density in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 218 (1-4) 685-693. p.

RUDAS P., FRENYÓ V. L. (Szerkesztők) (1995): Az állatorvosi élettan alapjai. Budapest: Springer Hungarica Kiadó 223-288. p.

SCHLEICHER E. D., VOGT B. W. (1990): Standardization of serum fructosamine assays. *Clinical Chemistry*, 36 (1) 136-139. p.

SCHMIDT H., POSTHAUS H., BUSATO A., WAHLI T., MAIER W., BURKHARDT-HOLM P. (1998): Transient increase in chloride cell number and heat shock protein expression (Hsp70) in brown trout (*Salmo trutta fario*) exposed to sudden temperature elevation. *Biological Chemistry,* 379 (10) 1227-1233. p.

SEDLAK I., LINDSAY R. H. (1968): Estimation of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissues with Ellmann's reagent. *Analytical Biochemistry*, 25 192-205. p.

SELYE J. (1936): A Syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature,* 138 32. p.

SELYE J. (Szerk.) (1956): The Stress of Life. 21-101. p.

SELYE J. (Szerk.) (1974): Stress without Distress. 36-39. p.

SHAMBERGER R. J., ANDREONE T. L., WILLIS C. E. (1974): Antioxidants and cancer. *IV.* Initiating activity of malonaldehyde as a carcinogen. *Journal of the National Cancer Institute*, 1771. p.

SHRIMPTON J. M., ZYDLEWSKI J. D., MCCORMICK S. D. (2001): The stress response of juvenile American shad to handling and confinement is greater during migration in freshwater than in seawater. *Transactions of the American Fisheries Society*, 130 (6) 1203-1210. p.

SIES H. (Editor) (1985): Oxidative stress: introductory remarks. *Oxidative stress*. London: Academic Press, 1-8. p.

SILKIN Y. A., SILKINA E. N. (2005): Effect of hypoxia on physiological-biochemical blood parameters in some marine fish. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 41 (5) 527-532. p.

SINGLY J. A., CHAVIN W. (1975): The adrenocortical-hypophysical response to saline stress in the goldfish *Carassius auratus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 51A 749-756. p.

SMITH L. S. (1982). Introduction to fish physiology. New Jersey: Tetra press, 352 p.

SOIVIO A., OIKARI A. (1976): Hematological effects of stress on a teleost, *Esox lucius* L. *Journal of Fish Biology*, 8 (5) 397-411 1976. p.

SOIVIO A., NYHOLM K., HUHTI M. (1977): Effects of anaesthesia with MS222, neutralised MS222 and benzocaine on the blood constituents of Rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 10 (1) 91-101. p.

SPRAGUE J. B. (1971): Measurement of pollutant toxicity to fish. III. Sublethal effects and "safe" concentrations. *Water Research*, 5 245-266. p.

SUEMATSU T., ABE H. (l982): Liver and serum lipid peroxide levels in patients with liver disease. In: YAGI K. (Editor): *Lipid peroxides in medicine and biology*. New York: Academic Press, 285-293. p.

SUHONEN L., STENMAN U. H., KOIVISTO V., TERAMP K. (1989): Correlation of HbA1C, glycated serum proteins and albumin, and fructosamine with the 24-h glucose profile of insulin-dependent pregnant diabetics. *Clinical Chemistry*, 35 (6) 922-925. p.

SZILÁGYI A. (2003): Állatorvosi klinikai laboratórium. 56-57. p.

SZWERGOLD B. S. (2005): Intrinsic toxicity of glucose, due to non-enzymatic glycation, is controlled *in vivo* by deglycation systems including: FN3K-medi-ated deglycation of fructosamines and transglycation of aldosamines. *Medical Hypotheses*, 65 (2) 337-348. p.

TANCK M. W. T., BOOMS G. H. R., EDING E. H., BONGA S. E. W., KOMEN J. (2000): Cold shocks: a stressor for common carp. *Journal of Fish Biology*, 57 (4) 881-894. p.

TILDERS F. J. H., BERKENBOSCH F., VERMES I., LINTON E. A., SMELIK P. G. (1985): Role of epinephrine and vasopressin in the control of the pituitary-adrenal response to stress. *Federation Proceedings*, 44 (1): 155-160. p.

TORT L., KARGACIN B., TORRES P., GIRALT M., HIDALGO J. (1996): The effect of cadmium exposure and stress on plasma cortisol, metallothionein levels and oxidative status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology*, 114 (1) 29-34. p.

TSUCHIDA M., MIUA T., MIZUTANI K., AIBARA K. (1985): Fluorescent substances in mouse and human sera as a parameter of in vivo lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 834 (2) 196-204. p.

UDOMKUSONSRI 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. p.

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. p.

VAN ANHOLT R. D., SPANINGS E. A. T., KOVEN W. N., NIXON O., BONGA S. E. W. (2004): Arachidonic acid reduces the stress response of gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Journal of Experimental Biology*, 207 (19): 3419-3430. p.

VAN GINNEKEN V. J. T., VAN CAUBERGH P., NIEVEEN M., BALM P., VAN DEN THILLART G. E. E. J. M, ADDINK A. (1998): Influence of hypoxia exposure on the energy metabolism of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Netherlands Journal of Zoology***,** 48 (1) 65-82. p.

VAN HAM E. H., VAN ANHOLT R. D., KRIUTWAGEN G., IMSLAND A. K., FOSS A., SVEINSBO B. O., FITZGERALD R., PARPOURA A. C., STEFANSSON S. O., BONGA S. E. W. (2003): Environment affects stress in exercised turbot. *Comperative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology*, 136 (3) 525-538. p.

VAN RAAIJ M. T. M., VIANEN G. J., VAN DEN THILLART G. E. E. J. M. (1996): Blood gas parameters and the responses of erythrocytes in carp exposed to deep hypoxia and subsequent recovery. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology*, 166 (7) 453-460. p.

VERMES I., TELEGDY G., LISSAK K. (1973): Correlation between hypothalamic serotonin content and adrenal function during acute stress-effect of adrenal corticosteroids on hypothalamic serotonin content. *Acta Physiologica Hungarica*, 43 33-42. p.

VIANEN G. J., VAN DEN THILLART G. E. E. J. M., VAN KAMPEN M., VAN HEEL T. I., STEFFENS A. B. (2001): Plasma lactate and stress hormones in common carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during stepwise decreasing oxygen levels. *Netherlands Journal of Zoology*, 51 (1) 33-50. p.

VINCZER P. (1995): Szabad gyökök szerepe a szervezet biológiai egyensúlyában. *Természetgyógyász Magazin*, november-december. 25. p.

VORNANEN M. (1994): Seasonal adaptation of Crucian carp (*Carassius carassius* L.) heart glycogen stores and lactate-dehydrogenase activity. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne de Zoologie*, 72 (3) 433-442. p.

WANG J., RAO H., WETMORE G. S., FURLAN P. M., KORCZYKOWSKI M., DINGERS D. F., DETRE J. A. (2005): Ferusion fMRI reveals cerebral blood flow patterrn under psyhological stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences Of USA*, 102 17804-17809. p.

WARDLE C. S. (1972): The changes in blood glucose in *Pleuronectes platessa* following capture from the wild: a stress reaction. *Joumal of the Marine Biological Association of the U. K.*, 52 635-651. p.

WARDLE C. S., KANWISHER J. W. (1974): The significance of heart rate in free-swimming cod, *Gadus morhua:* some observations with ultrasonic tags. *Marine Behaviour and Physiology*, 2 311-324. p.

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. p.

WATABE S., KIKUCHI K., AIDA K. (1993): Cold-temperature and warm-temperature acclimation induces specific cytosolic protein sin goldfish and carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59 (1) 151-156. p.

WEDEMEYER G. (1969): Stress-induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 29 1247-1251. p.

WEDEMEYER G. (1970): The role of stress in the disease resistance of fishes. In: SNIESZKO S. F. (Editor): *A symposium on diseases of fishes and shellfishes. American Fisheries Society Special Publication*, 5: 30-35. p.

WEDEMEYER G. (1972): Some physiological consequences of handling stress in the juvenile coho salmon and steelhead trout. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 29 (12) 1780-1783. p.

WEDEMEYER G. (1976): Physiological response of juvenile coho salmon and rainbow trout to handling and crowding stress in intensive fish culture. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 33 (12) 2699-2702. p.

WEICHSELBAUM T. E. (1946): An accurate and rapid method for the determination of protein in small amounts of serum and plasma. *American Journal of Clinical Pathology*, 16 40-43. p.

WILLIAMS J. H., FARAG A. M., STANBURY M. A., YOUNG P. A., BERGMAN H. L., PETERSEN N. S. (1996): Accumulation of hsp70 in juvenile and adult rainbow trout gill exposed to metal-contaminated water and/or diet. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15 (8) 1324-1328. p.

WINGFIELD J. C., SAPOLSKY R. M. (2003): Reproduction and resistance to stress: When and how? *Journal of Neuroendocrinology*, 15 (8) 711-724. p.

WITTMANN I. (2006): Az albuminuria és az előrehaladott glikációs végtermék-receptor (RAGE) szerepe az atherosclerosis kialakulásában. *Motesz Magazin*, 2 32-36. p.

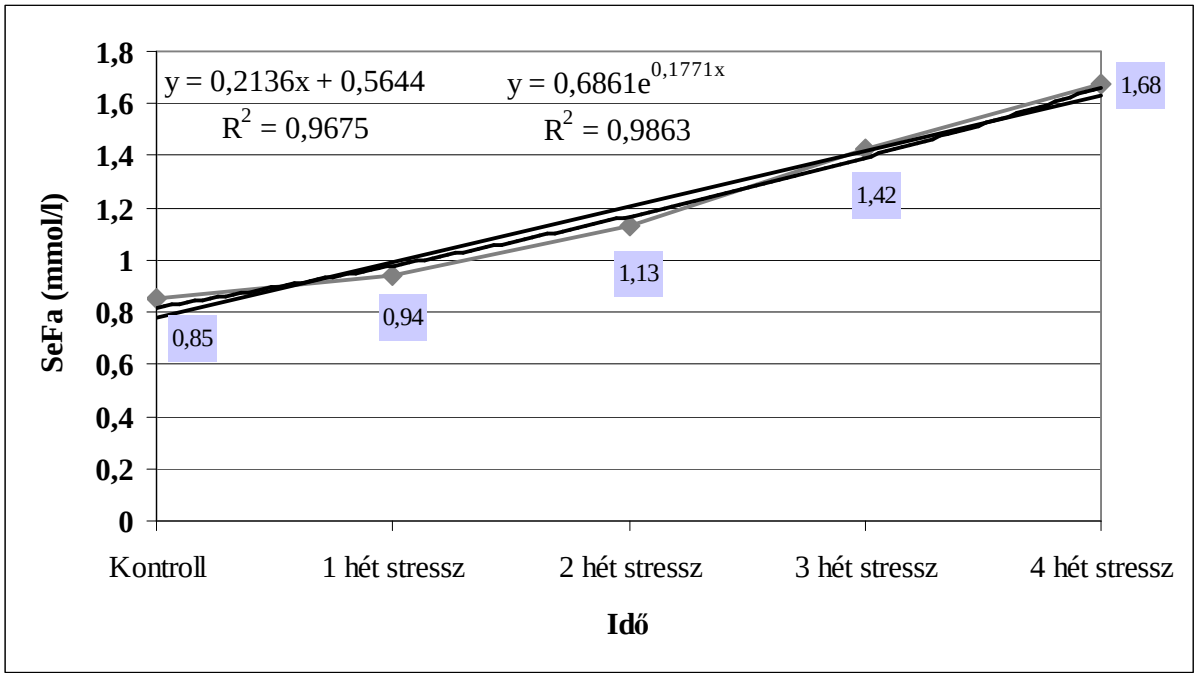
WOO J., WEINSTOCK R. S. (1987): Glycated albumin by affinity chromatography and radioimmunoassay in the management of diabetes mellitus. *Journal Clinical Laboratory Analysis*, 1 (2) 163-169. p.

XU J. Y., LIU Y., CUI S. R., MIAO X. W. (2006): Behavioral responses of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to acute fluctuations in dissolved oxygen levels as monitored by computer vision. *Aquacultural Engineering*, 35 (3) 207-217. p.

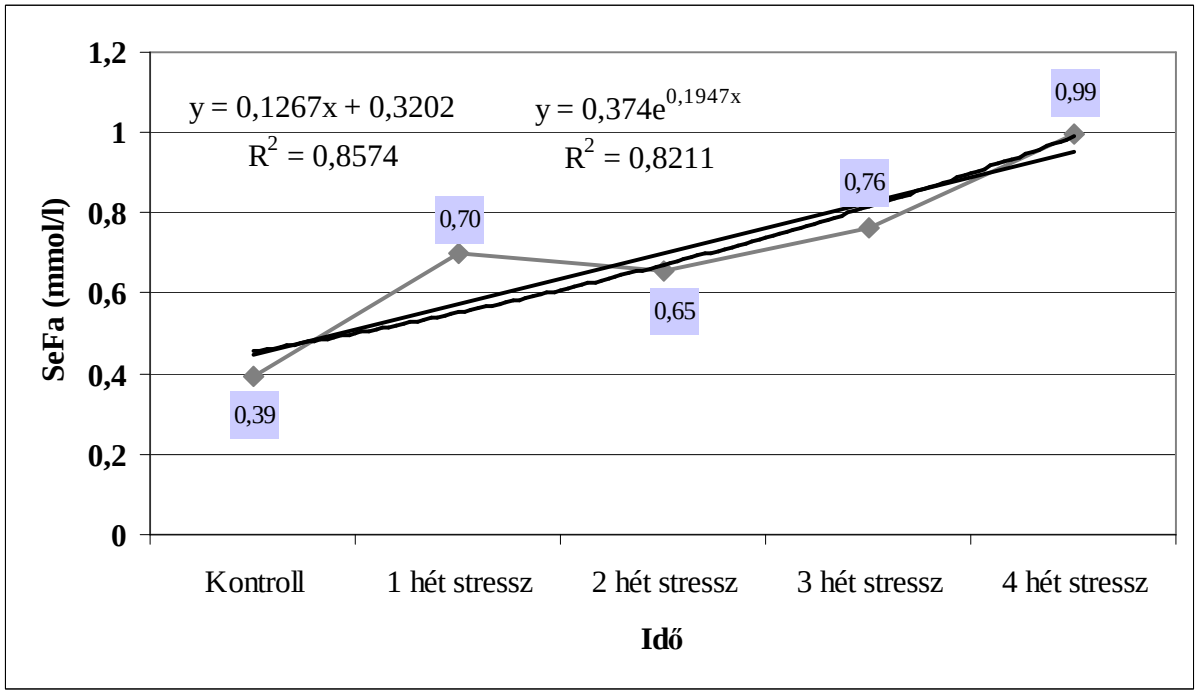
YAGI K. (Editor) (1982): Assay for serum lipid peroxide level and its clinical significance. *Lipid peroxides in biology and medicine*. New York: Academic Press, 223. p.

YARON Z., ILAN Z., BOGOMOLNAYA J., VERMAAK P. (1983): Steroid hormones in two tilapia species *Oreochromis niloticus*. *Proceedings of the First International Symposium on Tilapia in Aquaculture Nazareth, Israel,* 444. p.

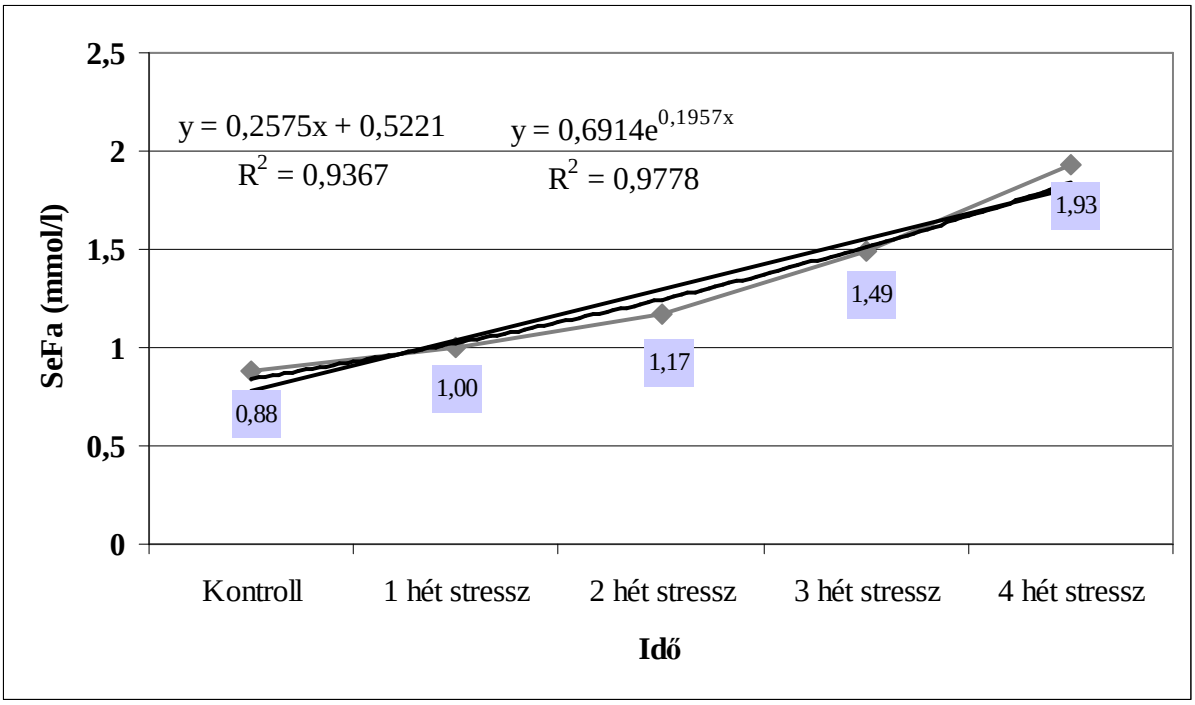
10. 2. sz. melléklet



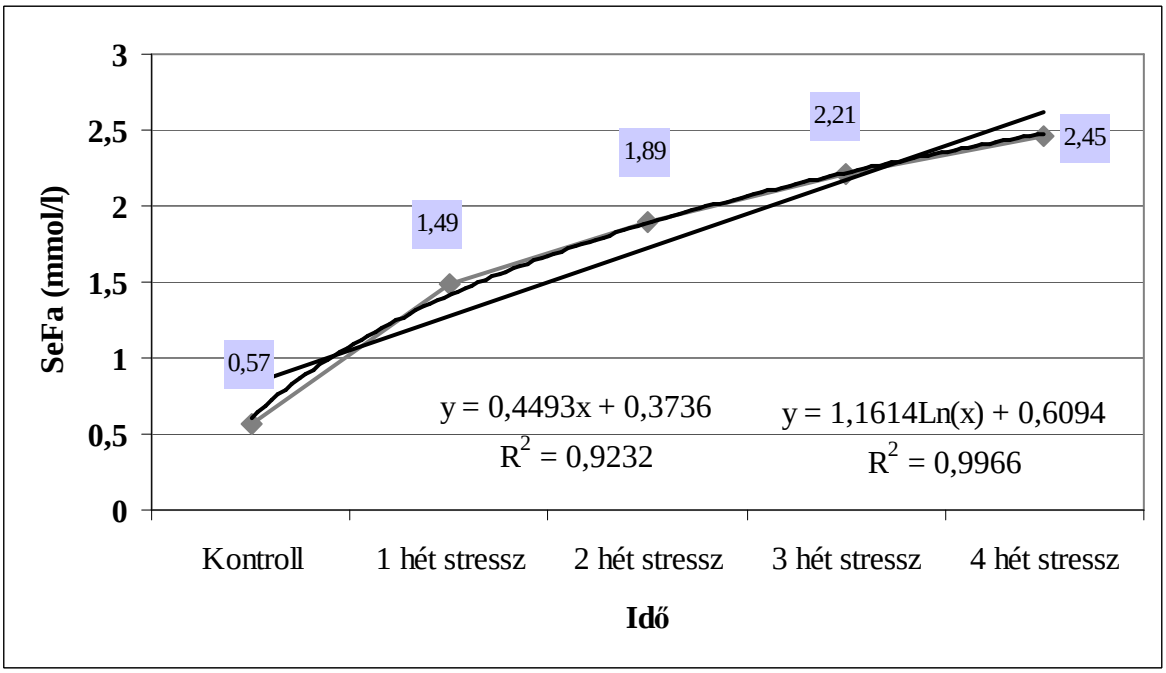
A hőmérséklet mesterséges emelésének hatása ezüstkárászon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve az exponenciális trendvonal összefüggése



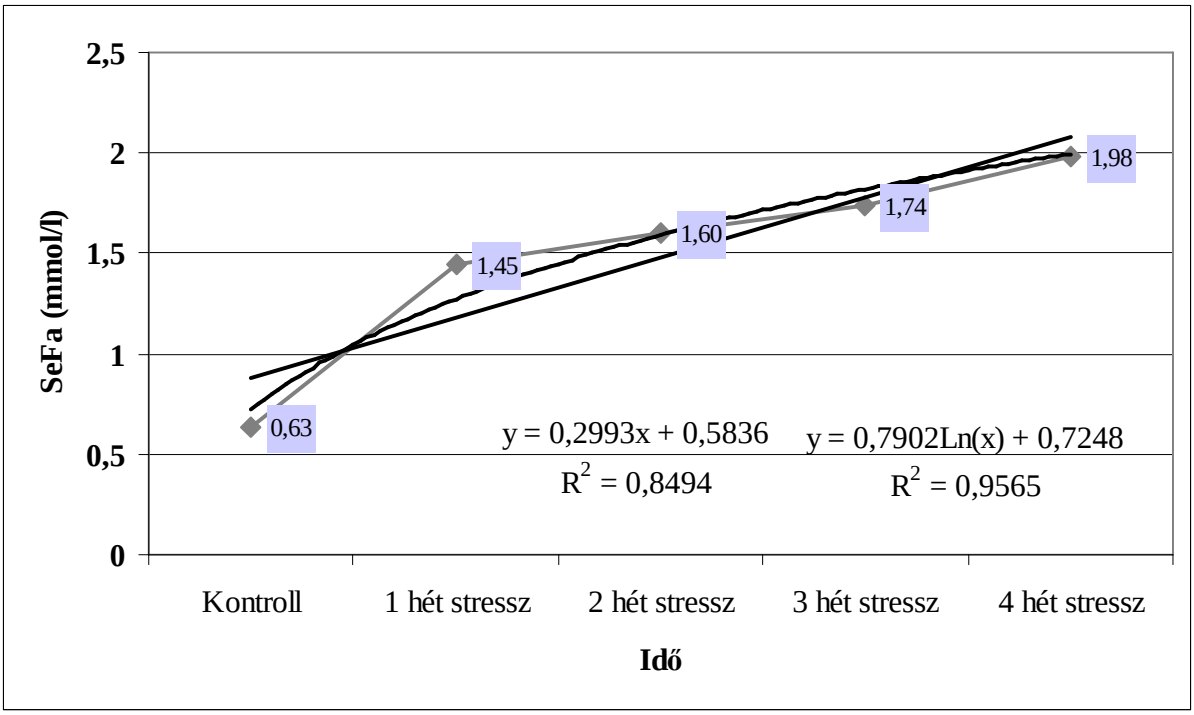
A hőmérséklet mesterséges emelésének hatása pontyon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve az exponenciális trendvonal összefüggése



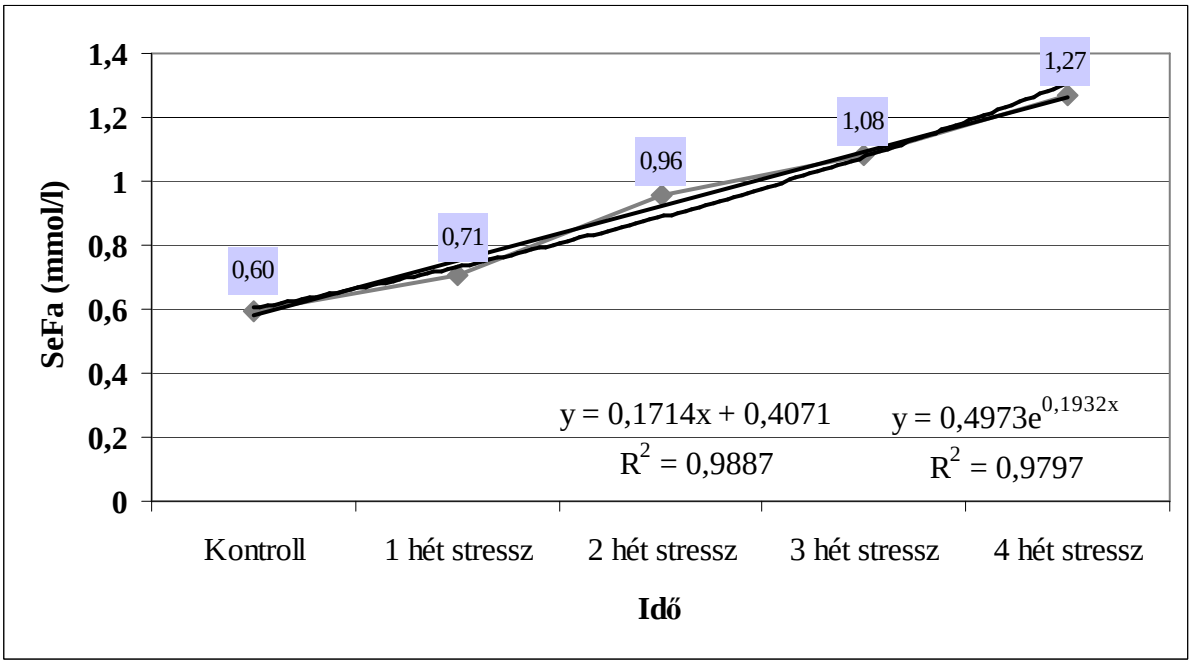
A hőmérséklet mesterséges emelésének hatása amuron. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve az exponenciális trendvonal összefüggése



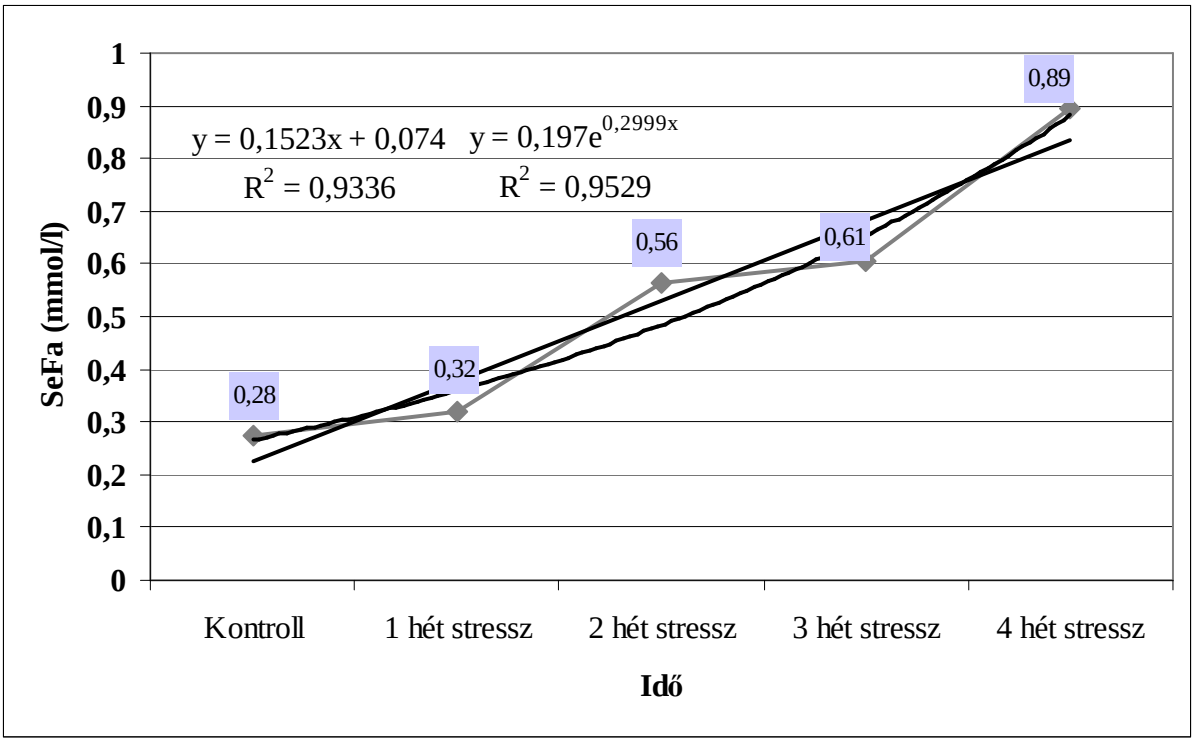
Az élettér csökkentésének hatása ezüstkárászon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve a logaritmikus trendvonal összefüggése



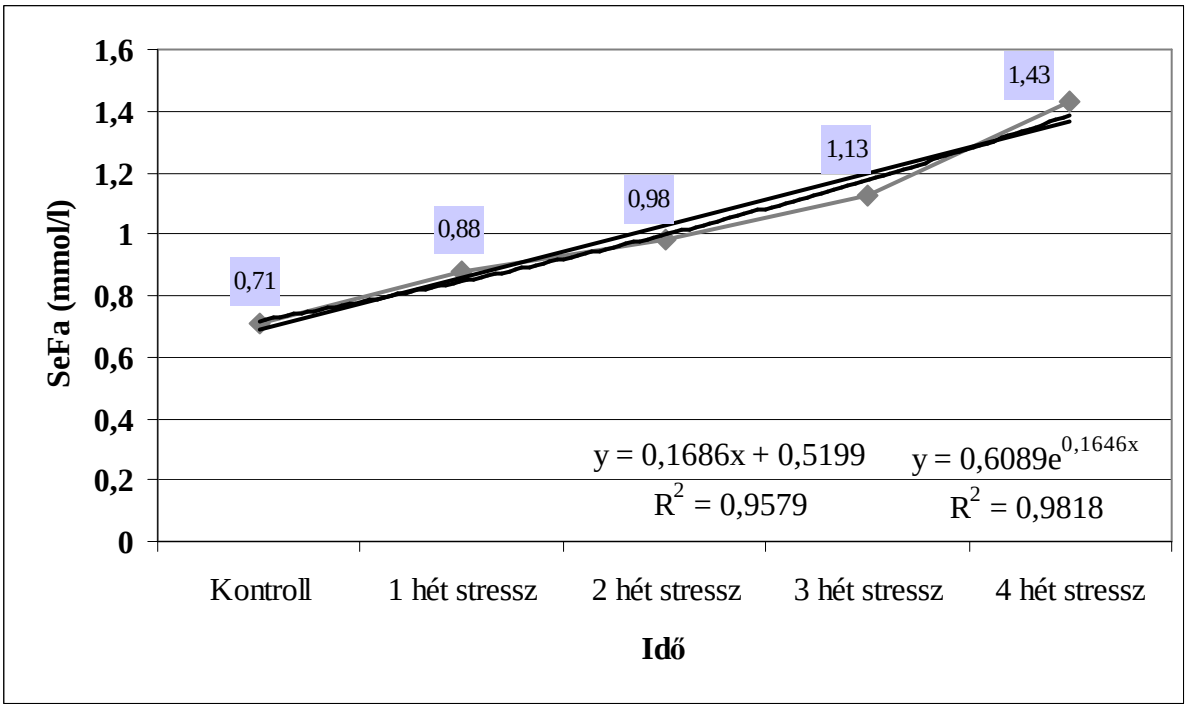
Az élettér csökkentésének hatása pontyon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve a logaritmikus trendvonal összefüggése



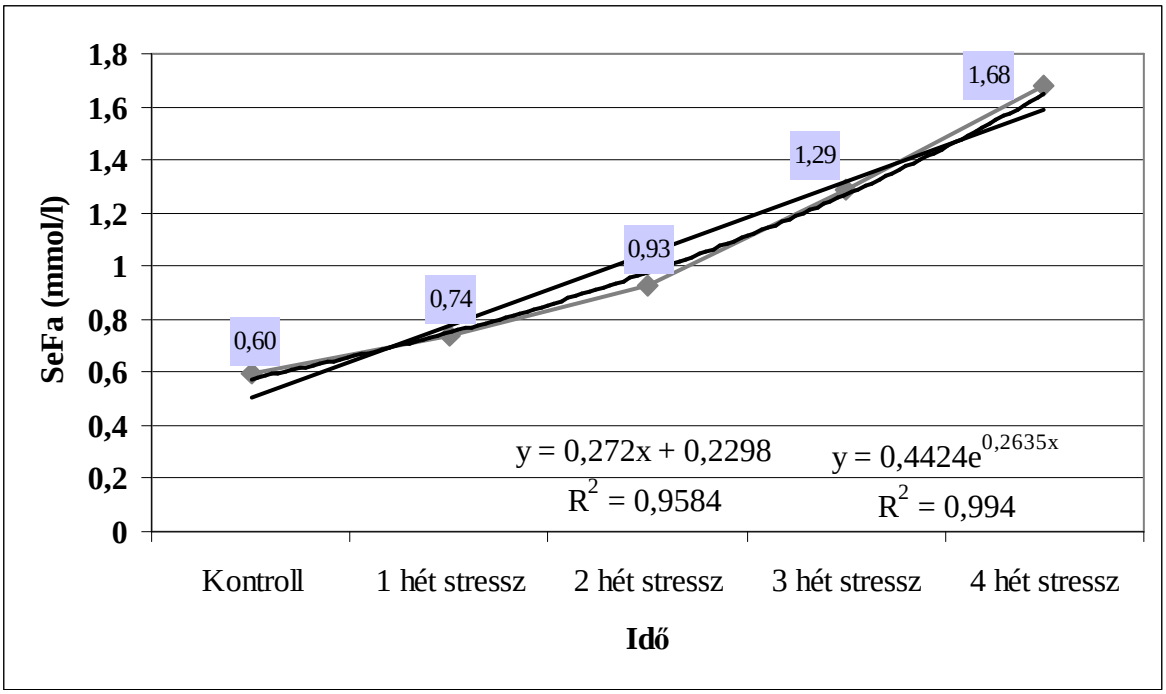
Az élettér csökkentésének hatása amuron. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve az exponenciális trendvonal összefüggése



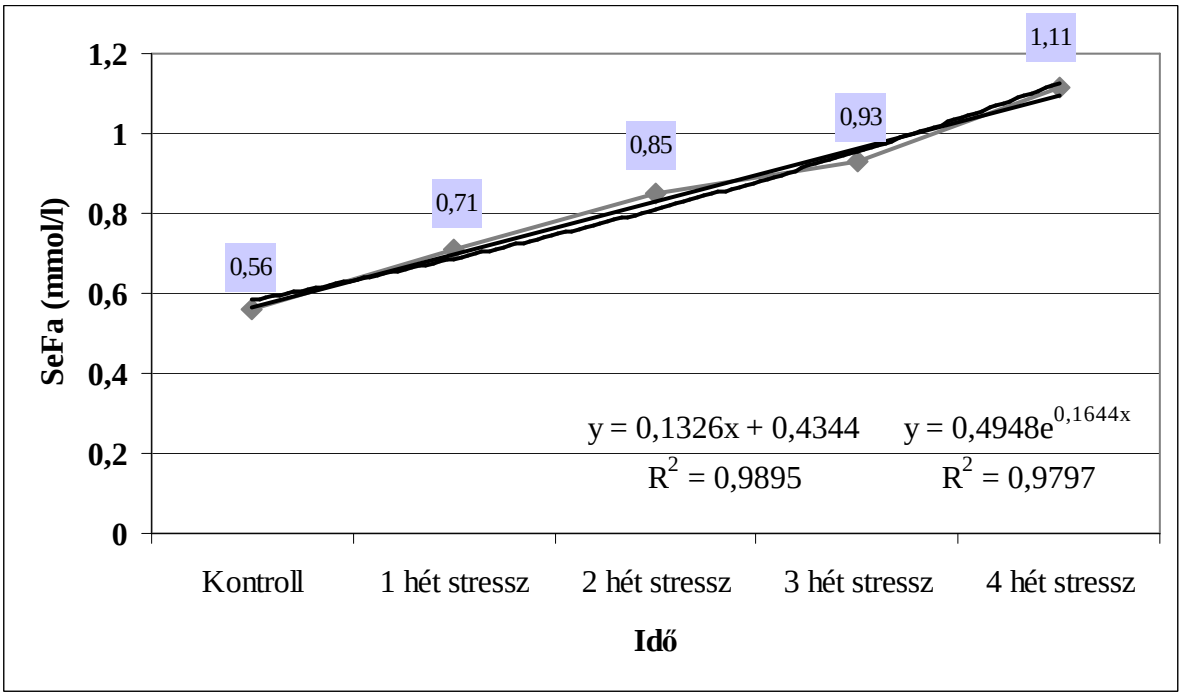
Az oxigénhiány hatása ezüstkárászon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve az exponenciális trendvonal összefüggése



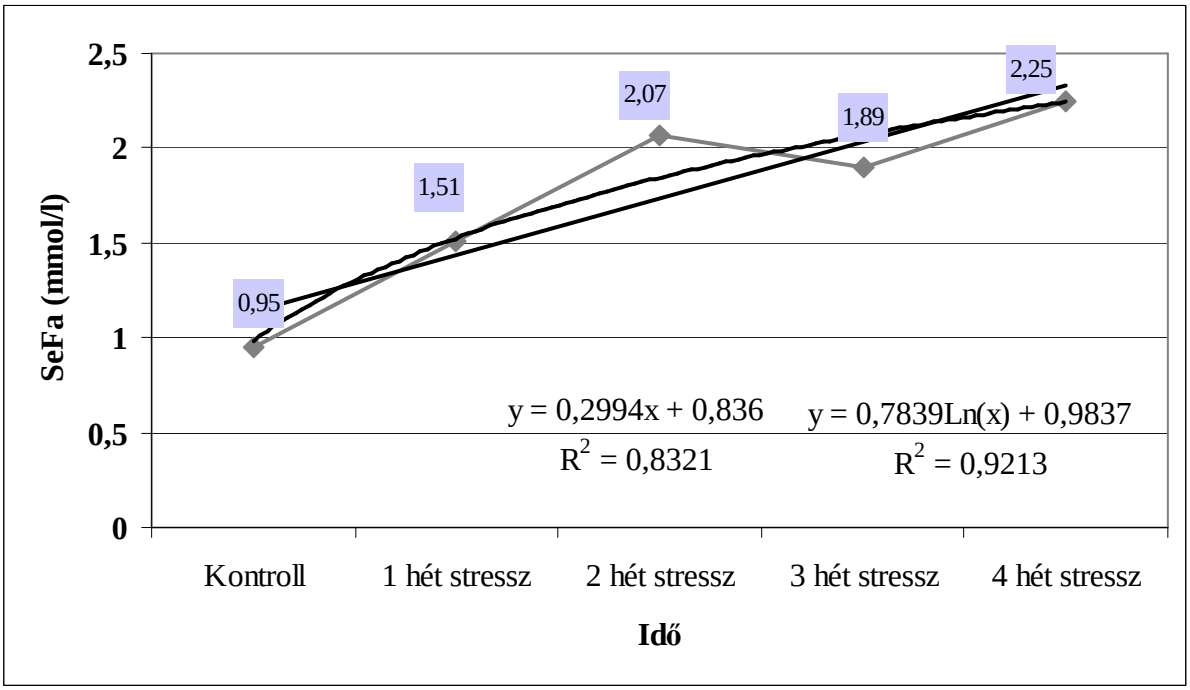
Az oxigénhiány hatása pontyon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve az exponenciális trendvonal összefüggése.



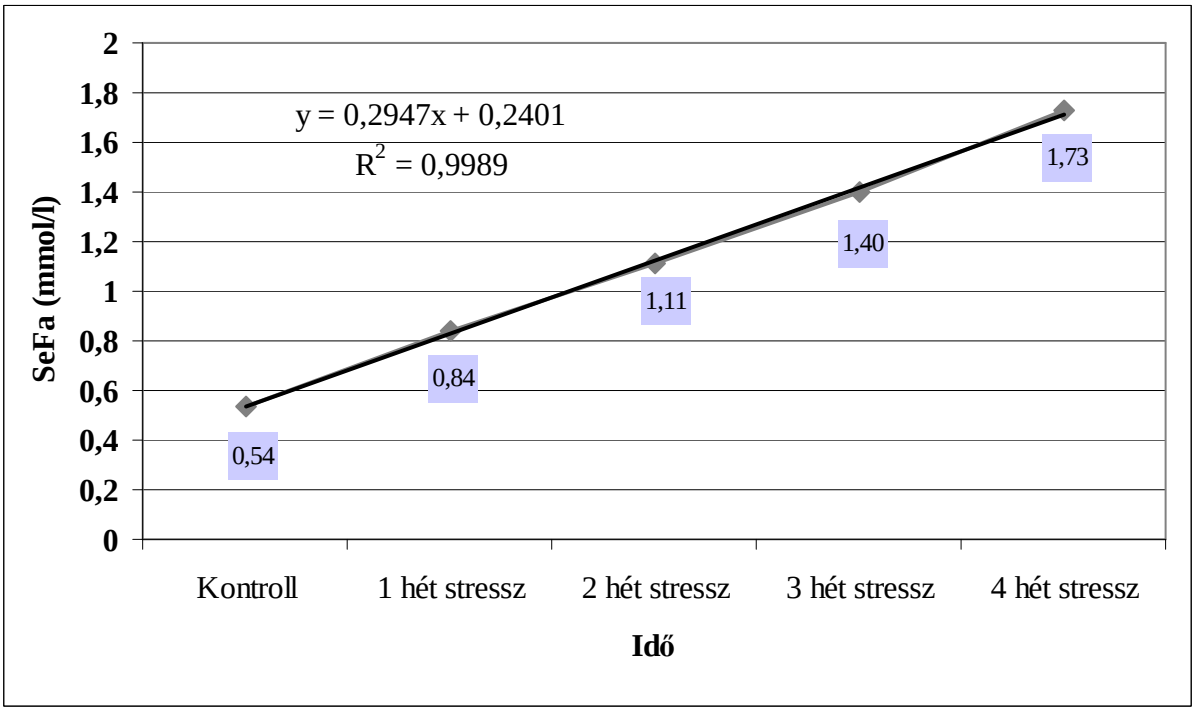
Az oxigénhiány hatása amuron. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve az exponenciális trendvonal összefüggése



A ragadozó által kiváltott stressz hatása ezüstkárászon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve az exponenciális trendvonal összefüggése



A ragadozó által kiváltott stressz hatása pontyon. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris illetve a logaritmikus trendvonal összefüggése



A ragadozó által kiváltott stressz hatása amuron. A SeFa átlagos mennyiségi változása (mmol/l) és a lineáris trendvonal összefüggése

11. 3. sz. melléklet

11. 1. Előkísérletek vízminőségi paraméterei

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet kezdete Kontroll	Kísérlet közepe Kontroll	Kísérlet vége Kontroll
Vízhőmérséklet (°C)	13,1	13,1	13,0
pH	7,44	7,49	7,55
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,85	6,77	6,68
Lúgosság (nk°)	17	19	19
Ammónium (mg/l)	0,08	0,09	0,09
Nitrit (mg/l)	0,05	0,06	0,07
Nitrát (mg/l)	6,1	6,1	6,2
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,10	0,18	0,23
Foszfor (mg/l)	0,40	0,49	0,57
Vezetőképesség (µS)	510	550	560
Sótartalom (g/l)	344	347	359

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet kezdete 1. akvárium	Kísérlet közepe 3. akvárium	Kísérlet vége 5. akvárium
Vízhőmérséklet (°C)	16,1	26,2	25,9
pH	7,34	7,68	7,91
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,72	0,9	0,68
Lúgosság (nk°)	22	25	24
Ammónium (mg/l)	0,1	0,16	0,23
Nitrit (mg/l)	0,10	0,19	0,31
Nitrát (mg/l)	6,0	6,3	6,1
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,14	0,23	0,28
Foszfor (mg/l)	0,51	0,57	0,66
Vezetőképesség (µS)	500	580	620
Sótartalom (g/l)	335	373	413

11. 2. Kontroll kísérletek vízminőségi paraméterei

A vizsgálat

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet kezdete 1. csoport	Kísérlet közepe 1. csoport	Kísérlet vége 1. csoport
Vízhőmérséklet (°C)	10,8	16,2	20,0
pH	7,32	7,24	7,41
Oxigén mennyiség (mg/l)	7,20	7,11	6,9
Lúgosság (nk°)	22	24	28

Ammónium (mg/l)	0,07	0,10	0,10
Nitrit (mg/l)	0,13	0,17	0,22
Nitrát (mg/l)	5,8	5,9	6,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,23	0,26	0,34
Foszfor (mg/l)	0,44	0,53	0,56
Vezetőképesség (µS)	431	443	457
Sótartalom (g/l)	310	325	335

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet vége 2. csoport**	**Kísérlet vége 3. csoport**	**Kísérlet vége 4. csoport**	**Kísérlet vége 5. csoport**
Vízhőmérséklet (°C)	13,1	16,3	18,4	19,9
pH	7,33	7,36	7,45	7,69
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,53	6,38	7,11	6,84
Lúgosság (nk°)	25	25	31	26
Ammónium (mg/l)	0,11	0,06	0,15	0,20
Nitrit (mg/l)	0,15	0,21	0,14	0,19
Nitrát (mg/l)	6,3	6,12	6,34	6,37
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,22	0,26	0,30	0,33
Foszfor (mg/l)	0,32	0,42	0,45	0,44
Vezetőképesség (µS)	441	444	468	453
Sótartalom (g/l)	322	324	334	333

B vizsgálat

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete 1. csoport**	**Kísérlet közepe 1. csoport**	**Kísérlet vége 1. csoport**
Vízhőmérséklet (°C)	10,6	15,8	19,6
pH	7,20	7,41	7,53
Oxigén mennyiség (mg/l)	7,12	7,21	7,05
Lúgosság (nk°)	20	24	26
Ammónium (mg/l)	0,07	0,17	0,20
Nitrit (mg/l)	0,16	0,18	0,24
Nitrát (mg/l)	6,2	6,3	6,7
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,22	0,22	0,27
Foszfor (mg/l)	0,47	0,57	0,66
Vezetőképesség (µS)	432	425	475
Sótartalom (g/l)	300	311	325

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet vége 2. csoport	Kísérlet vége 3. csoport	Kísérlet vége 4. csoport	Kísérlet vége 5. csoport
Vízhőmérséklet (°C)	13,1	16,3	18,4	19,9
pH	7,33	7,36	7,45	7,69
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,53	6,38	7,11	6,84
Lúgosság (nk°)	25	25	31	26
Ammónium (mg/l)	0,11	0,06	0,15	0,20
Nitrit (mg/l)	0,15	0,21	0,14	0,19
Nitrát (mg/l)	6,3	6,12	6,34	6,37
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,22	0,26	0,30	0,33
Foszfor (mg/l)	0,32	0,42	0,45	0,44
Vezetőképesség (µS)	441	444	468	453
Sótartalom (g/l)	322	324	334	346

11. 3. SeFa-szint évszakos vizsgálatának vizsgálata, tavi vízminőségi paraméterek

Időpontok	Vízhőmér-séklet (°C)	Oldott oxigén (mg/l)	pH	PO_4 (ppm)	NO_2 (ppm)	NH_4 (ppm)	TDS (µS)	Sótartalom (mg/l)
2003. 04. 03.	10,4	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 04. 29.	11,3	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 05. 16.	20,4	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 05. 29.	24	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 07. 01.	29,1	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 07. 08.	23,4	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 08. 11.	27,2	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 09. 02.	19,8	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 09. 11.	19,2	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 09. 24.	17,8	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 10. 15.	10,4	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 10. 22.	9,3	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2003. 12. 05.	3,1	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 01. 23.	2,2	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 02. 19.	1,8	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 03. 19.	8,4	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 04. 28.	15,7	6,8	7,77	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 05. 18.	21,4	7,5	7,98	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 06. 08.	25,1	5,2	7,13	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 07. 14.	26	13	7,32	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 08. 05.	26,6	15,2	9,4	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 08. 19.	25,4	16,6	9,55	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 10. 15.	10,8	16,7	8,04	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 11. 27.	5,9	16,1	8,62	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 01. 23.	4	13,6	8,11	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.

2005. 03. 28.	10,8	17,2	8,23	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 04. 27.	16,6	12,7	8,45	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 05. 11.	16,4	14,2	7,65	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 06. 18.	25,4	11,3	8,99	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 06. 28.	27,7	8,4	9,25	<1	0,1	0,25	6,64	3,32
2005. 07. 06.	22,6	7,7	8,97	<1	0,1	0,25	5,11	2,41
2005. 07. 28.	30,2	4,2	9,09	<1	0,1	0,25	8,32	4,21
2005. 09. 18.	19,2	17,4	8,65	<1	0,2	0,25	11,25	5,56
2005. 10. 13.	14,4	10,8	8,45	2	0,1	<0,25	11,92	5,94
2005. 12. 09.	5,4	10,5	7,88	<1	0,2	0,75	11,88	5,97
2006. 01. 04.	4,1	9,6	7,23	2	0,1	1	14,4	7,22
2006. 01. 18.	4,5	7,1	7,64	<1	0,05	<1	12,26	6,66
2006. 02. 01.	5,1	10	7,63	2	0,2	0,75	10,41	5,18
2006. 02. 22.	4,2	11,1	7,63	2	0,2	0,75	11,76	5,81
2006. 03. 07.	1,5	16,7	7,9	2	0,2	<0,25	10,72	5,22
2006. 03. 22.	11,3	10,4	7,39	<1	0,1	<0,25	8,77	4,39
2006. 04. 05.	14,5	19,6	8,11	3	0,1	0,25	9,92	4,44
2006. 04. 19.	16,3	22	7,4	2	0,1	0,25	8,74	3,71
2006. 04. 25.	18,2	16,4	7,6	1	0,2	0,25	9,77	4,81
2006. 05. 03.	17,2	18,3	8,19	1	0,2	<0,25	16,05	7,93
2006. 05. 18.	22,3	11,6	8,48	1	0,1	0,25	11,71	5,95
2006. 05. 30.	18,4	16,6	6,95	3	0,2	0,25	11,65	5,77
2006. 06. 14.	24,7	19,9	8,52	1	0,2	0,25	9,29	4,61
2006. 06. 29.	27,6	19,1	8,81	2	0,2	0,25	7,29	3,52
2006. 07. 12.	30,2	22,4	9,17	1	0,4	0,5	8,25	4,09
2006. 07. 26.	33,5	18,3	7,88	1	0,2	0,75	9,09	4,56
2006. 08. 09.	22,7	23,8	8,62	<1	0,1	0,25	7,07	3,45
2006. 08. 23.	22,4	15,2	8,48	<1	0,1	0,25	90,5	45,5
2006. 09. 06.	22	21,1	8,53	<1	0,2	0,5	9,13	4,56
2006. 09. 20.	20,8	13,5	8,16	1	0,1	0,5	7,44	3,68
2006. 10. 04.	19,4	12,2	8,1	<1	0,2	0,25	10,51	5,23
2006. 10. 18.	12,6	15,6	8,64	<1	0,1	0,25	39407	5,53
2006. 11. 01.	8,8	16,8	8,09	<1	0,1	0,25	12,32	6,19
2006. 11. 15.	10,4	18,8	8,46	<1	0,1	0,25	11,26	5,66
2006. 11. 29.	8,8	20,2	8,14	<1	0,1	0,25	12,7	6,31
2006. 12. 13.	4,7	13,8	8,1	1	0,1	0,25	14,63	7,28
2006. 12. 28.	3,7	17,1	7,97	<1	0,05	0,25	13,77	6,83
2007. 01. 10.	6,2	18,2	7,88	<1	0,1	0,25	6,72	3,45
2007. 01. 24.	5,9	14,2	8,13	<1	0,1	0,5	13,82	6,95
2007. 02. 07.	5,5	14,7	8,14	<1	0,05	0,25	12,43	6,2
2007. 02. 21.	5,7	17,1	8,07	<1	0,1	0,25	12,8	6,38
2007. 03. 07.	9,5	16,1	8,25	1	0,1	0,25	12,1	6,1
2007. 03. 20.	10,5	13,2	8,49	<1	0,4	0,25	11,13	5,58
2007. 04. 03.	13,4	19,9	7,13	<1	0,2	0,25	13,16	6,46

11. 4. SeFa-szint évszakos vizsgálatának vizsgálata, akváriumi vízminőségi paraméterek

Időpontok	Vízhőmérséklet (°C)	Oldott oxigén (mg/l)	pH	PO_4 (ppm)	NO_2 (ppm)	NH_4 (ppm)	TDS (µS)	Sótartalom (mg/l)
2004. 04. 28.	16,1	6,1	6,99	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 05. 18.	19,3	5,6	7,17	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 06. 08.	21	5,7	8,05	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 07. 14.	21	5,3	7,52	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 08. 05.	22,9	5,1	7,94	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 08. 19.	22,3	4,5	7,17	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 10. 15.	11,8	8,4	8,16	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2004. 11. 27.	7,1	10,4	8,02	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 01. 14.	7,3	9,1	7,52	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 03. 28.	10,9	9,1	7,96	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 04. 27.	16,5	7,9	8,23	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 05. 11.	16,9	12	7	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 06. 18.	21,1	8,6	7,14	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
2005. 06. 28.	21,8	6,6	7,56	5	0,05	0,25	6,3	3,17
2005. 07. 06.	20,9	7,3	7,97	5	<0,05	0,25	5,4	2,1
2005. 07. 28.	23,7	5,1	7,65	5	0,1	<0,25	8,32	4,21
2005. 09. 18.	19,1	6,9	7,92	3	<0,05	<0,25	7,91	3,42
2005. 10. 13.	15,2	8,4	8,11	3	<0,05	<0,25	8,09	3,98
2005. 12. 09.	7,4	9,1	7,11	<1	0,05	<0,25	7,49	3,76
2006. 01. 04.	5	11,2	7,41	2	1,5	0,75	7,57	3,84
2006. 01. 18.	4,2	5,9	7,64	1	1,5	<1	11,82	6,12
2006. 02. 01.	1,8	12,9	7,98	1	0,05	<0,25	11,18	5,22
2006. 02. 22.	6,3	6,4	7,75	1	0,05	<0,25	10,44	4,7
2006. 03. 07.	5,4	4,7	7,81	2	0,1	<0,25	11,02	5,49
2006. 03. 22.	8,8	8,9	7,5	<1	0,05	<0,25	10,41	3,64
2006. 04. 05.	5,9	5,9	7,52	1	0,1	0,25	10,09	4,49
2006. 04. 19.	15,3	7,2	7,66	1	0,1	0,25	9,81	4,38
2006. 05. 03.	17,2	8,7	7,4	2	0,1	<0,25	8,2	4,15
2006. 05. 18.	20	4,9	7,68	5	0,6	4	8,66	4,3
2006. 05. 30.	16,6	6,7	7,53	2	0,2	0,75	7,75	3,92
2006. 06. 14.	18,4	4,3	7,54	3	0,6	0,25	8,21	4,07
2006. 06. 28.	23,8	4	7,74	5	0,05	8	8,43	3,93
2006. 07. 12.	24,5	7,3	8,19	2	0,05	<0,05	7,36	3,68
2006. 07. 26.	24,8	6,6	7,48	7,5	0,8	0,5	7,5	3,62
2006. 08. 09.	20,9	7,6	7,74	2	0,2	0,25	7,01	3,54
2006. 08. 23.	20,5	8,3	7,85	4	0,1	0,25	8,1	4,06
2006. 09. 06.	22,5	6,5	8,04	3	0,1	0,25	8,02	4,03
2006. 09. 20.	19,9	5,9	8,03	3	0,1	0,25	8,08	4,08
2006. 10. 04.	21,3	6,2	7,97	2	0,2	0,5	8,07	4,01
2006. 10. 18.	15,9	9,9	8,13	1	0,05	0,25	7,72	3,9
2006. 11. 01.	12,7	10,5	8,2	1	0,05	0,25	6,46	3,45
2006. 11. 15.	13,7	8,8	7,97	1	0,05	0,25	7,89	3,97
2006. 11. 29.	13,2	6,1	7,38	2	0,4	0,25	7,08	4,08

2006. 12. 13.	11,4	8,1	7,35	1	0,1	0,25	8,01	3,86
2006. 12. 28.	6,8	9,1	7,59	1	0,1	0,25	7,53	3,81
2007. 01. 10.	12	5,7	7,5	1	0,2	0,25	14,62	7,24
2007. 01. 24.	14,5	7,1	7,69	2	0,05	0,25	7,34	3,69
2007. 02. 07.	10,6	5,9	7,5	3	0,4	0,25	7,34	3,71
2007. 02. 21.	9,9	7	7,37	1	0,2	0,25	6,97	3,51
2007. 03. 07.	12,2	5,6	7,62	2	0,8	0,25	7,38	3,74
2007. 03. 20.	12,8	5,8	8,14	2	0,4	0,25	7,73	3,87
2007. 04. 03.	14,2	5,9	7,56	1	0,2	0,25	7,57	3,72

11. 5. Laboratóriumi kísérletek vízminőségi paraméterei

Hőmérsékleti sokk, ezüstkárász

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kontroll**	**Kísérlet közepe Kontroll**	**Kísérlet vége Kontroll**
Vízhőmérséklet (°C)	13,0	13,7	15,1
pH	7,64	7,62	7,73
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,8	6,8	6,9
Lúgosság (nk°)	18	18	19
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,03
Nitrit (mg/l)	0,05	0,06	0,06
Nitrát (mg/l)	6,3	6,3	6,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,23	0,28	0,33
Foszfor (mg/l)	0,56	0,64	0,76
Vezetőképesség (µS)	440	450	460
Sótartalom (g/l)	257	283	315

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kezelt**	**Kísérlet közepe Kezelt**	**Kísérlet vége Kezelt**
Vízhőmérséklet (°C)	13,1	25,8	26,0
pH	7,98	7,78	7,74
Oxigén mennyiség (mg/l)	5,4	5,5	5,8
Lúgosság (nk°)	20	21	20
Ammónium (mg/l)	0,02	0,03	0,03
Nitrit (mg/l)	0,03	0,05	0,05
Nitrát (mg/l)	6,2	6,2	6,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,20	0,23	0,30
Foszfor (mg/l)	0,43	0,52	0,66
Vezetőképesség (µS)	470	540	590
Sótartalom (g/l)	312	324	355

Hőmérsékleti sokk, ponty

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet kezdete Kontroll	Kísérlet közepe Kontroll	Kísérlet vége Kontroll
Vízhőmérséklet (°C)	13,1	13,8	14,8
pH	7,63	7,32	7,92
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,6	6,7	6,6
Lúgosság (nk°)	17	14	18
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,03
Nitrit (mg/l)	0,05	0,05	0,05
Nitrát (mg/l)	5,6	5,7	5,8
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,21	0,22	0,23
Foszfor (mg/l)	0,44	0,52	0,56
Vezetőképesség (µS)	365	420	440
Sótartalom (g/l)	293	386	340

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet kezdete Kezelt	Kísérlet közepe Kezelt	Kísérlet vége Kezelt
Vízhőmérséklet (°C)	12,9	25,9	26,3
pH	7,22	7,42	7,32
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,0	5,8	5,7
Lúgosság (nk°)	16	07	17
Ammónium (mg/l)	0,02	0,03	0,03
Nitrit (mg/l)	0,03	0,04	0,04
Nitrát (mg/l)	5,8	5,9	6,0
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,32	0,35	0,41
Foszfor (mg/l)	0,63	0,71	0,80
Vezetőképesség (µS)	570	610	670
Sótartalom (g/l)	332	422	468

Hőmérsékleti sokk, amur

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet kezdete Kontroll	Kísérlet közepe Kontroll	Kísérlet vége Kontroll
Vízhőmérséklet (°C)	13,0	13,8	14,9
pH	7,83	7,72	7,62
Oxigén mennyiség (mg/l)	7,2	7,0	6,8
Lúgosság (nk°)	23	22	22
Ammónium (mg/l)	0,01	0,02	0,02
Nitrit (mg/l)	0,03	0,03	0,03
Nitrát (mg/l)	5,4	5,4	5,5
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,13	0,21	0,28
Foszfor (mg/l)	0,66	0,72	0,76

Vezetőképesség (µS)	610	650	720
Sótartalom (g/l)	377	387	354

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kezelt**	**Kísérlet közepe Kezelt**	**Kísérlet vége Kezelt**
Vízhőmérséklet (°C)	13,1	26,2	26,1
pH	7,25	7,24	7,57
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,2	5,4	5,9
Lúgosság (nk°)	26	24	23
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,02
Nitrit (mg/l)	0,02	0,03	0,03
Nitrát (mg/l)	5,0	5,3	5,5
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,20	0,29	0,37
Foszfor (mg/l)	0,76	0,74	0,79
Vezetőképesség (µS)	460	490	560
Sótartalom (g/l)	347	383	365

Élettér csökkentése, ezüstkárász

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kontroll**	**Kísérlet közepe Kontroll**	**Kísérlet vége Kontroll**
Vízhőmérséklet (°C)	13,3	13,5	12,1
pH	7,92	7,89	7,83
Oxigén mennyiség (mg/l)	7,4	7,2	7,4
Lúgosság (nk°)	19	18	17
Ammónium (mg/l)	0,02	0,03	0,03
Nitrit (mg/l)	0,05	0,05	0,05
Nitrát (mg/l)	6,2	6,3	6,5
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,12	0,18	0,25
Foszfor (mg/l)	0,36	0,33	0,54
Vezetőképesség (µS)	370	410	400
Sótartalom (g/l)	347	393	471

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kezelt**	**Kísérlet közepe Kezelt**	**Kísérlet vége Kezelt**
Vízhőmérséklet (°C)	13,4	13,5	12,2
pH	7,45	7,65	7,77
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,6	6,8	6,5
Lúgosság (nk°)	18	21	22
Ammónium (mg/l)	0,01	0,02	0,03
Nitrit (mg/l)	0,03	0,06	0,07
Nitrát (mg/l)	6,4	6,4	6,6
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0

Ortofoszfát (mg/l)	0,30	0,42	0,38
Foszfor (mg/l)	0,75	0,79	0,94
Vezetőképesség (µS)	550	630	670
Sótartalom (g/l)	432	417	532

Élettér csökkentése, ponty

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kontroll**	**Kísérlet közepe Kontroll**	**Kísérlet vége Kontroll**
Vízhőmérséklet (°C)	14,1	13,9	12,6
pH	7,35	7,46	7,53
Oxigén mennyiség (mg/l)	7,1	7,5	7,3
Lúgosság (nk°)	19	18	18
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,03
Nitrit (mg/l)	0,07	0,07	0,09
Nitrát (mg/l)	6,3	6,3	6,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,24	0,33	0,39
Foszfor (mg/l)	0,34	0,91	0,96
Vezetőképesség (µS)	640	690	580
Sótartalom (g/l)	312	363	225

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kezelt**	**Kísérlet közepe Kezelt**	**Kísérlet vége Kezelt**
Vízhőmérséklet (°C)	13,9	14,2	12,8
pH	7,45	7,34	7,83
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,2	6,3	5,9
Lúgosság (nk°)	20	22	22
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,02
Nitrit (mg/l)	0,08	0,08	0,09
Nitrát (mg/l)	5,8	6,2	6,2
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,11	0,25	0,34
Foszfor (mg/l)	0,65	0,74	0,86
Vezetőképesség (µS)	240	370	410
Sótartalom (g/l)	314	357	389

Élettér csökkentése, amur

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kontroll**	**Kísérlet közepe Kontroll**	**Kísérlet vége Kontroll**
Vízhőmérséklet (°C)	13,0	12,8	12,2
pH	7,82	7,63	7,76
Oxigén mennyiség (mg/l)	8,3	8,0	7,9
Lúgosság (nk°)	16	16	18
Ammónium (mg/l)	0,01	0,01	0,02

Nitrit (mg/l)	0,1	0,09	0,1
Nitrát (mg/l)	5,3	5,5	5,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,35	0,54	0,51
Foszfor (mg/l)	0,67	0,78	0,93
Vezetőképesség (µS)	530	550	680
Sótartalom (g/l)	242	264	322

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kezelt**	**Kísérlet közepe Kezelt**	**Kísérlet vége Kezelt**
Vízhőmérséklet (°C)	13,1	12,8	12,0
pH	7,93	7,98	7,84
Oxigén mennyiség (mg/l)	7,5	7,2	7,3
Lúgosság (nk°)	17	17	19
Ammónium (mg/l)	0,01	0,02	0,02
Nitrit (mg/l)	0,06	0,06	0,07
Nitrát (mg/l)	6,2	6,2	6,3
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,41	0,47	0,67
Foszfor (mg/l)	0,64	0,74	0,79
Vezetőképesség (µS)	580	600	660
Sótartalom (g/l)	374	423	445

Az élettér csökkentésekor mért vízhőmérsékletek (°C)

	Kontroll	**1 hét stressz**	**2 hét stressz**	**3 hét stressz**	**4 hét stressz**
Ezüstkárász élettér csökkentése	1. hét 13,4 °C 2. hét 13,5 °C 3. hét 12,7 °C 4. hét 12,1 °C	13,6 °C	13,5 °C	12,6 °C	12,2 °C
Ponty élettér csökkentése	1. hét 13,8 °C 2. hét 13,9 °C 3. hét 13,1 °C 4. hét 12,6 °C	14,0 °C	14,2 °C	13,3 °C	12,8 °C
Amur élettér csökkentése	1. hét 13,0 °C 2. hét 12,8 °C 3. hét 12,2 °C 4. hét 12,2 °C	12,8 °C	12,8 °C	12,3 °C	12,0 °C

Oxigénhiány, ezüstkárász

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kontroll**	**Kísérlet közepe Kontroll**	**Kísérlet vége Kontroll**
Vízhőmérséklet (°C)	22,7	22,1	20,8
pH	7,94	7,65	7,68

Oxigén mennyiség (mg/l)	8,6	8,0	7,9
Lúgosság (nk°)	18	16	19
Ammónium (mg/l)	0,01	0,01	0,01
Nitrit (mg/l)	0,05	0,06	0,06
Nitrát (mg/l)	6,3	6,3	6,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,20	0,38	0,45
Foszfor (mg/l)	0,76	0,88	0,91
Vezetőképesség (µS)	360	410	400
Sótartalom (g/l)	371	356	401

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kezelt**	**Kísérlet közepe Kezelt**	**Kísérlet vége Kezelt**
Vízhőmérséklet (°C)	22,6	22,2	20,9
pH	7,34	7,24	7,13
Oxigén mennyiség (mg/l)	5,8	2,5	0,5
Lúgosság (nk°)	17	17	18
Ammónium (mg/l)	0,01	0,02	0,02
Nitrit (mg/l)	0,07	0,06	0,07
Nitrát (mg/l)	5,4	6,0	6,2
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,52	0,68	0,66
Foszfor (mg/l)	0,75	0,89	0,97
Vezetőképesség (µS)	320	370	410
Sótartalom (g/l)	196	266	275

Oxigénhiány, ponty

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kontroll**	**Kísérlet közepe Kontroll**	**Kísérlet vége Kontroll**
Vízhőmérséklet (°C)	13,9	13,4	12,0
pH	7,40	7,49	7,46
Oxigén mennyiség (mg/l)	7,7	7,4	7,6
Lúgosság (nk°)	19	19	19
Ammónium (mg/l)	0,01	0,01	0,01
Nitrit (mg/l)	0,08	0,08	0,09
Nitrát (mg/l)	5,3	5,7	6,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,09	0,13	0,20
Foszfor (mg/l)	0,28	0,33	0,44
Vezetőképesség (µS)	350	350	390
Sótartalom (g/l)	246	268	341

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet kezdete Kezelt	Kísérlet közepe Kezelt	Kísérlet vége Kezelt
Vízhőmérséklet (°C)	13,8	13,6	12,2
pH	7,24	7,16	7,43
Oxigén mennyiség (mg/l)	8,6	2,2	0,9
Lúgosság (nk°)	18	20	21
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,03
Nitrit (mg/l)	0,1	0,12	0,12
Nitrát (mg/l)	6,3	6,3	6,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,25	0,38	0,48
Foszfor (mg/l)	0,75	0,70	0,76
Vezetőképesség (µS)	330	320	360
Sótartalom (g/l)	357	264	256

Oxigénhiány, amur

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet kezdete Kontroll	Kísérlet közepe Kontroll	Kísérlet vége Kontroll
Vízhőmérséklet (°C)	13,9	13,4	12,0
pH	7,24	7,54	7,32
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,5	6,4	6,7
Lúgosság (nk°)	18	18	17
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,02
Nitrit (mg/l)	0,06	0,06	0,08
Nitrát (mg/l)	7,3	7,4	7,6
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,23	0,26	0,38
Foszfor (mg/l)	0,44	0,43	0,45
Vezetőképesség (µS)	650	570	560
Sótartalom (g/l)	234	275	241

Vízminőségi paraméterek	Kísérlet kezdete Kezelt	Kísérlet közepe Kezelt	Kísérlet vége Kezelt
Vízhőmérséklet (°C)	13,8	13,5	12,3
pH	7,42	7,20	7,35
Oxigén mennyiség (mg/l)	7,9	2,1	1,0
Lúgosság (nk°)	18	19	19
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,03
Nitrit (mg/l)	0,04	0,04	0,05
Nitrát (mg/l)	5,3	5,8	6,1
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,11	0,40	0,55
Foszfor (mg/l)	0,46	0,52	0,84
Vezetőképesség (µS)	640	670	660

Sótartalom (g/l)	345	368	391

Az oxigénhiány alkalmazásakor mért vízhőmérsékletek (°C)

	Kontroll	**1 hét stressz**	**2 hét stressz**	**3 hét stressz**	**4 hét stressz**
Ezüstkárász O_2 hiány	1. hét 22,6 °C 2. hét 22,1 °C 3. hét 21,6 °C 4. hét 20,8 °C	22,6 °C	22,2 °C	21,8 °C	20,9 °C
Ponty O_2 hiány	1. hét 13,7 °C 2. hét 13,4 °C 3. hét 12,6 °C 4. hét 12,0 °C	13,8 °C	13,6 °C	12,7 °C	12,2 °C
Amur O_2 hiány	1. hét 13,7 °C 2. hét 13,5 °C 3. hét 12,8 °C 4. hét 12,2 °C	13,6 °C	13,5 °C	12,5 °C	12,3 °C

Ragadozó jelenléte, ezüstkárász

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kontroll**	**Kísérlet közepe Kontroll**	**Kísérlet vége Kontroll**
Vízhőmérséklet (°C)	21,1	21,7	22,1
pH	7,24	7,51	7,42
Oxigén mennyiség (mg/l)	5,4	5,8	5,5
Lúgosság (nk°)	20	20	21
Ammónium (mg/l)	0,01	0,02	0,03
Nitrit (mg/l)	0,02	0,02	0,03
Nitrát (mg/l)	4,3	4,5	5,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,35	0,38	0,36
Foszfor (mg/l)	0,66	0,78	0,76
Vezetőképesség (µS)	540	620	590
Sótartalom (g/l)	212	235	231

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kezelt**	**Kísérlet közepe Kezelt**	**Kísérlet vége Kezelt**
Vízhőmérséklet (°C)	21,4	21,8	22,2
pH	7,13	7,13	7,35
Oxigén mennyiség (mg/l)	5,2	5,1	5,3
Lúgosság (nk°)	22	22	23
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,02
Nitrit (mg/l)	0,06	0,06	0,06
Nitrát (mg/l)	5,7	5,7	6,1
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0

Ortofoszfát (mg/l)	0,15	0,22	0,28
Foszfor (mg/l)	0,34	0,34	0,47
Vezetőképesség (µS)	390	410	400
Sótartalom (g/l)	311	324	362

Ragadozó jelenléte, ponty

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kontroll**	**Kísérlet közepe Kontroll**	**Kísérlet vége Kontroll**
Vízhőmérséklet (°C)	21,2	21,7	22,2
pH	7,73	7,69	7,52
Oxigén mennyiség (mg/l)	6,6	6,3	6,0
Lúgosság (nk°)	18	17	18
Ammónium (mg/l)	0,02	0,03	0,03
Nitrit (mg/l)	0,08	0,08	0,1
Nitrát (mg/l)	4,8	5,3	5,4
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,37	0,48	0,55
Foszfor (mg/l)	0,68	0,88	0,96
Vezetőképesség (µS)	630	530	560
Sótartalom (g/l)	232	246	361

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kezelt**	**Kísérlet közepe Kezelt**	**Kísérlet vége Kezelt**
Vízhőmérséklet (°C)	21,0	21,6	22,0
pH	7,33	7,54	7,54
Oxigén mennyiség (mg/l)	5,4	5,0	5,2
Lúgosság (nk°)	18	19	18
Ammónium (mg/l)	0,01	0,02	0,02
Nitrit (mg/l)	0,07	0,06	0,07
Nitrát (mg/l)	5,5	5,6	6,2
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,32	0,28	0,42
Foszfor (mg/l)	0,66	0,75	0,66
Vezetőképesség (µS)	460	480	430
Sótartalom (g/l)	332	335	360

Ragadozó jelenléte, amur

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kontroll**	**Kísérlet közepe Kontroll**	**Kísérlet vége Kontroll**
Vízhőmérséklet (°C)	20,8	21,5	22,2
pH	7,44	7,85	7,82
Oxigén mennyiség (mg/l)	4,4	4,6	4,4
Lúgosság (nk°)	18	18	18
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,02

Nitrit (mg/l)	0,02	0,05	0,07
Nitrát (mg/l)	6,4	6,6	6,8
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,40	0,48	0,55
Foszfor (mg/l)	0,82	0,97	0,11
Vezetőképesség (µS)	512	570	560
Sótartalom (g/l)	302	341	377

Vízminőségi paraméterek	**Kísérlet kezdete Kezelt**	**Kísérlet közepe Kezelt**	**Kísérlet vége Kezelt**
Vízhőmérséklet (°C)	21,6	21,8	21,9
pH	7,42	7,65	7,78
Oxigén mennyiség (mg/l)	4,7	4,5	4,4
Lúgosság (nk°)	19	20	22
Ammónium (mg/l)	0,02	0,02	0,03
Nitrit (mg/l)	0,04	0,04	0,07
Nitrát (mg/l)	6,8	7,6	7,8
Szulfid (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Kénhidrogén (mg/l)	0,0	0,0	0,0
Ortofoszfát (mg/l)	0,21	0,38	0,47
Foszfor (mg/l)	0,71	0,85	0,96
Vezetőképesség (µS)	310	380	360
Sótartalom (g/l)	317	348	305

A ragadozó alkalmazásakor mért vízhőmérsékletek (°C)

	Kontroll	**1 hét stressz**	**2 hét stressz**	**3 hét stressz**	**4 hét stressz**
Ezüstkárász ragadozó	1. hét 21,3 °C 2. hét 21,7 °C 3. hét 21,4 °C 4. hét 22,1 °C	21,1 °C	21,8 °C	21,5 °C	22,2 °C
Ponty ragadozó	1. hét 21,2 °C 2. hét 21,7 °C 3. hét 21,4 °C 4. hét 22,2 °C	21,1 °C	21,6 °C	21,4 °C	22,0 °C
Amur ragadozó	1. hét 21,0 °C 2. hét 21,5 °C 3. hét 21,3 °C 4. hét 22,2 °C	21,4 °C	21,8 °C	21,4 °C	21,9 °C

12. Köszönetnyilvánítás

Ezúton kívánok köszönetet mondani mindenkinek, aki közvetve vagy közvetlenül, bármilyen formában hozzásegítettek eredményeim eléréséhez, ezen dolgozat megvalósulásához. Mivel név szerint nem áll módomban valamennyiüket megemlíteni, így az alábbiakban a legfontosabb személyeket, intézményeket emelem ki.

Köszönettel tartozom **Dr. Horváth László** professzor úrnak, aki óriási odaadással vezette az általa alapított Halgazdálkodási Tanszéket. Szakmai tudása és emberi nagysága előtt fejet hajtva boldog vagyok, hogy az ő irányítása mellett sajátítottam el egyetemi, majd doktori tanulmányaim során a szakma rejtelmeit.

Szakmai vezetőim közül elsőként **Dr. Váradi László**nak szeretnék köszönetet mondani, aki a doktori képzés elkezdésére ösztönzött.

Köszönetet szeretnék mondani korábban az Állatélettani és Állat-Egészségtani Tanszék, később az Élettani és Biokémiai Tanszék munkatársának **Dr. Oppel Klárá**nak, aki bevezetett a fotometriás eljárások rejtelmeibe.

A Takarmányozástani Tanszék dolgozójának **Dr. Balogh Krisztián**nak is hálával tartozom, aki a lipid peroxidációs folyamatok feltárásában nyújtott segítséget.

A Magyar Országos Horgász Szövetségének munkatársát **Dr. Papp Károlyné, Zsizsikét** is feltétlenül meg kell említenem, hiszen a vízélettani kérdésekben óriási segítséget nyújtott és az együtt eltöltött munkaórák feledhetetlen élmények számomra.

Az új hosszútávú stresszmérési eljárás megvalósításában a Szabolcs utcai Országos Gyógyintézeti Központ két dolgozójának, **Dr. Simon Judit**nak és **Kéri Pálné Julikán**ak is szeretnék ezúton köszönetet mondani.

Köszönöm **Szabó Krisztián**nak, hogy az általa vezetett Haltermelők Országos Szövetségének Dinnyési Ivadéknevelő Gazdaságában évről évre halállományokkal látott el, hogy kísérleteimet megvalósíthassam. Ugyanígy köszönettel tartozom **Imre Ferenc**nek és **Oláh Károly**nak (Béke Horgászegyesület), akik lehetőséget adtak a halászatokra, halgyűjtésekre és vérvételekre.

A Halgazdálkodási Tanszék kollektívája az évek során baráti közösségé vált, melyben mindenkor számíthattam a többiek önzetlen segítségére. Köszönöm mindannyiuknak, hogy az a 10 év, melyet a Tanszéken töltöttem, nem fásult munkahelyi hangulatban, hanem vidám, jókedvű társaságban telt.

Hálával tartozom a Halgazdálkodási Tanszék tanszékvezetőjének, **Dr. Urbányi Béla**nak, aki a doktori tanulmányaim során mindig önzetlenül támogatott. Számára nem létezett lehetetlen, ha egy szakmai vagy pénzügyi kérdés megoldásra várt. Mindig, mindenhez megteremtette a feltételeket és így öröm volt dolgozni. Bármilyen problémával fordultam hozzá, biztos lehettem benne, hogy kitűnő és gyors megoldást ajánl. Az ő tanszékvezetői irányítása alatt több projektbe és pályázati munkába is bekapcsolódhattam, ami néha embertpróbáló volt, de úgy érzem megérte, hiszen olyan tárgyalásokon, szakmai megbeszéléseken vehettem részt, amellyel láthattam a szakma problémáit és megvalósításra váró feladatait.

Köszönettel tartozom **Dr. Horváth Ákos**nak is. Önzetlen segítségére mindenkor számíthattam. És itt ragadnám meg az alkalmat, hogy elnézést is kérjek tőle, hiszen minden apró-cseprő kérdésemmel és gondommal őt „zaklattam".

Külön köszönetet szeretnék mondani **Béres Tibor**nak és **Tóth Balázs**nak a türelmes délutánokért, estékért, melyeket együtt töltöttünk a laborban. Fáradtságot nem kímélve beszéltük át a kísérleteket, lehetőségeket és a megoldásokat. Már-már tiszteletbeli témavezetőként tekintek rájuk.

Sokat köszönhetek egykori diáktársaimnak, akik ma is a Tanszéken dolgoznak. Név szerint **Csenki Zsolt**nak**, Csorbai Balázs**nak **és Kovács Éva**nak.

Olyan személyeket is köszönet illet név szerint, akik nem közvetlenül egy-egy kísérletben vagy módszertani kérdésekben nyújtottak segítséget, hanem bíztattak és hittek bennem. Név szerint **Balázs Tamás**, **Krupiczer Ferenc** és **Szabó Sándor** (Szaki).

Végül, de nem utolsósorban **Szüleimnek, Bátyámnak és családjának valamint Páromnak** is hálával tartozom**,** akik támogatása, ösztönzése nélkül nehezen vészeltem volna át a néha nehéz, monoton, embert próbáló hétköznapokat, melyből bőven akadt tanulmányaim során. Szüleim gyermekkorom óta arra neveltek, hogy a kitűzött céljaimat megvalósítsam és ennek elérésében maximálisan mellettem álltak.