



Schubben kunnen veel over stress vertellen.

Wat schubben vertellen

TEKST

Arno van 't Hoog

ILLUSTRATIES

Bram Bokkers, Janny Bosman,
Arno van 't Hoog en
Stephan Coburn

Geef hem een schub van bijvoorbeeld een karpers en Johan Aerts vertelt je meer over de stressniveaus die de vis heeft doorgemaakt. Het lab van de neuro-endocrinoloog is een nieuwe informatiebron voor viskwekers, waterbeheerders en sportvisserijorganisaties. "Schubben kunnen ons meer vertellen over hoe het met een vis gaat."

Elk aquarium met karpers in het StressChron laboratorium (stresschron.eu) van professor Johan Aerts op het Ostend Science Park van de Universiteit Gent heeft een zelfstandige, gesloten circulatie met automatische monitoring van alle waterparameters. Het volume in

elk systeem is tot op de milliliter bekend. Die precisie is noodzakelijk voor onderzoek naar de uitscheiding van hormonen. Het geconditioneerde water wordt bereid met een osmose-installatie die alle onzuiverheden uitfiltert. De karpers komen uit eigen kweek van een

kleine groep oudervissen. De jonkies groeien op volgens gestandaardiseerde protocollen met opeenvolgende soorten voer, waarvan de samenstelling en grootte tot in detail is vastgelegd. “Deze faciliteiten zijn uniek en laten ons toe om gedetailleerd naar stress en de effecten daarvan te kijken”, aldus Aerts.

Weten wat je meet

Het lijkt misschien overdreven, maar voor gedegen en reproduceerbaar onderzoek naar stressfactoren moet je volgens Aerts alle mogelijke bronnen van toevallige variatie zoveel mogelijk uitbannen. Want als stressniveaus kunnen variëren doordat bijvoorbeeld de water- of voerkwaliteit toevallig van week tot week varieert, dan weet je op een gegeven moment niet wat je meet. Dit wetenschappelijke principe geldt ook een etage hoger in het laboratorium, waar genexpressie wordt onderzocht en biochemische bepalingen worden gedaan op water, bloed, visseneitjes, larven en schubben. De meeste metingen vinden plaats in een ruimte waar drie zogenaamde UPLC-MS/MS-machines staan. Deze extreem gevoelige meetapparaten zijn in staat om een stresshormoonprofiel te maken uit minieme hoeveelheden biologisch materiaal. De labs zijn zeer gestructureerd, ogen klinisch schoon en volledig opgeruimd. Alles heeft een vaste plek en zelfs de kleinste handelingen zijn vastgelegd in protocollen. “Voor de internationale certificering die wij nastreven is dit een logische werkwijze”, aldus Aerts. “Ons onderzoek wordt bijvoorbeeld gebruikt door viskwekers en overheden, dus dan wil je kunnen garanderen dat de gerapporteerde waarde ten alle tijden accuraat en betrouwbaar is.”

Stressfysiologie

Aerts' laboratorium staat op het Ostend Science Park van de Universiteit Gent in Oostende, maar zijn onderzoeksgroep is verbonden aan de Universiteit Gent. Als neuro-endocrinoloog is Aerts gespecialiseerd in stressfysiologie, het vakgebied dat draait om de interactie tussen het zenuwstelsel en hormoonsystemen. Bij vissen gaat dat om de interactie tussen hypothalamus, hypofyse en interrenale cellen (ofwel de HPI-as) terwijl het systeem bij mensen en andere gewervelden wordt aangeduid met HPA-as. Bij vissen reguleert de HPI-as de reactie op stressvolle situaties waarbij de hersenen cellen aanzetten tot de aanmaak van hormoon cortisol. Cortisol speelt buiten stressreacties ook een onmisbare rol in het dag-nachtritme. “Cortisol is niet goed of slecht, want we kunnen gewoon niet zonder. Daarbij leidt stress tot een patroon van hormonale en fysiologische reacties. Een organisme dat stress ondervindt, reageert en past zich aan waar het kan.”

Het belang van stresshormonen blijkt uit het feit dat vrijwel alle cellen receptoren hebben voor glucocorticoiden, zegt Aerts. De binding van cortisol heeft gevolgen

voor een groot aantal biochemische en fysiologische processen in alle organen – van het vrijmaken van glucose, via invloed op de botvorming tot aan leer- gedrag en ontwikkeling van het geheugen. Bovendien zijn er enzymen die cortisol omzetten in intermediaire stoffen zoals cortisone, een inactieve vorm van cortisol. Die reactie kan ook worden omgekeerd, waardoor cortisone een snelle bron is voor de aanmaak van extra cortisol. Aerts: “Een vis heeft dus veel mogelijkheden om dat ene dominante hormoon – cortisol – tot in detail te reguleren.”

“Omdat cortisol wordt omgezet in allerlei metabolieten brengen wij die ook in beeld”, zegt Aerts. “Dat is vernieuwend in het onderzoek. Tot op heden wordt



In het StressChron wordt uniek onderzoek verricht naar stress bij vissen.



Een monster wordt klaargemaakt voor analyse in UPLC-MS/MS machine.



Johans Aerts: "Stresshormoonprofielen kunnen meer vertellen over hoe het met een vis gaat."



De karpers in het laboratorium worden onder extreem gecontroleerde omstandigheden gekweekt en gehouden.

immers vooral naar cortisol gekeken. Maar dat levert slechts een deel van de aanwezige informatie. Wij kijken altijd naar profielen van verschillende moleculen, want dat geeft meer diepgaandere informatie. Je kunt stresshormonen bepalen in bloed, maar dat geeft niet meer dan een momentopname. Sterker nog: als het vangen, hanteren en verdoven van de vis te lang duurt, dan is dat te zien in het hormoonprofiel."

Aerts publiceerde in 2015 een nieuwe methode die kijkt naar hormoonprofielen in schubben. Door deze te homogeniseren, de hormonen te extraheren, te zuiveren en vervolgens met UPLC-MS/MS te meten, ontstaat een accuraat beeld van de stressrespons over een lange tijd. Aerts: "Een schub is een botstructuur die vanaf de larvale fase geleidelijk groeit door de vorming van ringen. Als er meer stress is geweest, worden er meer stresshormonen gemeten. Zo kun je bijvoorbeeld over een periode van weken, maanden of jaren zien wat een vis heeft doorgemaakt."

Metten van stress

In een recent artikel laat Aerts zien dat vinbeschadigingen bij kweekforel – een regelmatig voorkomend verschijnsel – van invloed is op stressniveaus. "We zien bij forel een duidelijke relatie tussen vinschade en cortisolwaarden in de schubben. Dat laat zien dat schub-cortisolmetingen ons meer kunnen vertellen over het welzijn van vis."

Schubben die worden verwijderd groeien weer aan. Verwijder je de nieuw gegroeide schub opnieuw na bijvoorbeeld twee weken, dan kun je zien wat er in die periode exact is gebeurd. Daarmee is het meten van cortisol uit een schub dé manier om (chronische) stress over lange periodes bij vissen in aquacultuur te monitoren.

"In de aquacultuur is vaak precies bekend hoe hoog de dichtheden zijn geweest, welk voer de vissen hebben gehad, wat de waterkwaliteit is geweest enzovoorts. Zo kun je kijken naar correlaties tussen de leefomstandigheden en chronisch verhoogde stressniveaus. Als we daarin de niveaus zien stijgen, komt dat bijvoorbeeld door een langdurig slechte waterkwaliteit, een te hoge dichtheid of andere niet-optimale of zelfs nadelige omstandigheden."

Dat soort omstandigheden kunnen leiden tot chronische stress, waardoor de stressbestendigheid afneemt en de vis op een gegeven moment niet meer adequaat kan reageren op veranderingen en nieuwe prikkels – en uiteindelijk zelfs kan sterven.

In de zalmkweek is bijvoorbeeld voortijdige sterfte een probleem, zegt Aerts. Tijdens het kweekproces waarbij de zalmen een slachtgewicht van zes tot negen kilo bereiken, worden de vissen regelmatig ontluisd. "Een deel van die vissen is door herhaalde stress niet meer bekwaam om adequaat op veranderingen te reageren waardoor sterfte kan optreden."

Bandbreedte

Aerts' onderzoeksgroep heeft tot op heden van meer dan vijftien vissoorten – waaronder zalm, forel, zeebaars, zeebrasem, tilapia, karper en zebravis – vastgesteld wat de bandbreedte van schubcortisolwaarden is in niet-gestreste en gestreste exemplaren. "We zien duidelijk dat de ene soort sterker reageert op nieuwe prikkels dan de andere. Een karper kan bijvoorbeeld meer hebben dan een zeebaars."

Aquacultuur beweegt steeds meer richting gesloten recirculatiesystemen op land, met hoge dichtheden en intensieve waterzuivering. In zulke systemen gaan stresshormonen en -metabolieten een probleem vormen, want via de kieuwen en de ontlasting komen

deze moleculen ook in het water terecht. Vissen kunnen die stoffen ook weer uit het water opnemen. Gestreste vissen in één bassin kunnen zo via de watercirculatie niet-gestreste soortgenoten in dezelfde kwekerij negatief beïnvloeden.

“Dan ontstaat een vicieuze cirkel en dat heeft zeker invloed. Het wegvangen van cortisol en metaboliëten met een koolfilter lijkt voor de hand liggend, maar het is niet de oplossing. Je moet de oorzaak en niet de gevolgen aanpakken, dus ervoor zorgen dat de stressniveaus en stressbestendigheid verbeteren. Hetzelfde geldt voor ziektegevoeligheid ten gevolge van stress.” Misschien is de oplossing gewoon iets lagere dichtheden aan vis en het optimaliseren van de waterkwaliteit en het voederregime, zoals het toedienen van probiotica, zegt Aerts. Hij acht het zelfs voorstelbaar dat stressmonitoring in de toekomst leidt tot een nieuw keurmerk in de viskweek, waarvan zowel het welzijn van de vis als de bedrijfseconomie zullen profiteren. De monitoring van schubcortisol kan uitwijzen of en in welke mate een kweekvis tijdens zijn leven aan chronische stress is blootgesteld.

Haaien aaien

In de aquacultuur kan schubonderzoek ook worden gebruikt om kweeksystemen te vergelijken en te optimaliseren. Bijvoorbeeld door te variëren met visdichtheden, voederregime, voedingrediënten en waterparameters. “Maar denk ook aan dierentuinen waar kinderen de hele dag door haaien en roggen mogen aaien. Dat vinden bezoekers leuk, maar je kunt je afvragen hoe de vis dat ervaart. Of denk aan aquaria met verschillende watervolumes en dichtheden vis.” Tot slot kan onderzoek aan vis in de vrije natuur nieuwe inzichten opleveren, zegt Aerts. “We bepalen al decennia vervuiling met PCB's en PAK's, maar kunnen

Vinden roggen het fijn om te worden geaaid of levert het stress op?



Karpers zijn stressbestendige vissen.

ook de stress-levels van verschillende vissoorten monitoren en om daarmee als het ware een stressbeeld van het ecosysteem te krijgen. Wat zijn de gevolgen van klimaatverandering of menselijke activiteiten zoals lozingen en het geluid van scheepvaart?”

Wat Aerts betreft is dit soort monitoring ook een meerwaarde voor de sportvisserij, zoals bij visuitzettingen, visstandbeheer en -monitoring. Van een snoek, karper of blankvoorn kun je tijdens veldonderzoek eenvoudig en snel een schub afnemen. “Je kunt daarin stressniveaus monitoren en door de tijd kijken wat de gevolgen zijn van bijvoorbeeld veranderend beheer, het uitzetten van meer vis of introductie van nieuwe soorten. Stress speelt een rol in vissenwelzijn. Stresshormoonprofielen kunnen je meer vertellen over hoe het met een vis gaat. Dat is een manier waarop wij de vis – en dan formuleer ik het vanuit een menselijk perspectief – laten vertellen hoe hij of zij zich voelt.”

Aerts' advies is dan ook om naast bestandsopnames en lengtemetingen regelmatig schubben te onderzoeken op stresshormonen. “Wij zijn in staat om op heel kleine hoeveelheden materiaal een hormoonprofiel te bepalen. Bij een grote karper is één schub voldoende, bij een kleinere vissoort heb je er meerdere nodig – bijvoorbeeld 25 bij de zebravis. Omdat je een vis nooit kaal mag plukken, werken wij met de gevoeligste meetapparatuur. Afname van een schub duurt een seconde en daarvoor hoeft je de vis niet te verdoven of doden. We weten dat het afnemen van schubben geen invloed heeft op stressniveaus en een schub groeit gewoon weer terug.” ■

Geraadpleegde literatuur

Aerts J, Metz JR, Ampe B, Decostere A, Flik G, De Saeger S. (2015) Scales tell a story on the stress history of fish. PLoS One. 10(4): e0123411.

Weirup L, Schulz C, Seibel H, Aerts J (2021) Scale cortisol is positively correlated to fin injuries in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in commercial flow through systems. Aquaculture 543: 736924.