

# DE VIS ALS PROEFDIER: RESULTATEN EN PERSPECTIEVEN

S.E. Wendelaar Bonga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Vakgroep Experimentele Dierkunde, Faculteit Natuurwetenschappen, Katholieke Universiteit Nijmegen.

Trefwoorden: fundamenteel en toegepast onderzoek, vissen, visteelt.

## Inleiding

Van alle diergroepen wordt aan zoogdieren het meeste onderzoek verricht, met de bevordering van de gezondheid van de mens en de belangen van de veeteelt als drijfveren. Vissen komen als groep op een goede tweede plaats, ver voor andere diergroepen zoals vogels en insecten. Terwijl het gebruik van proefdieren zich in het algemeen stabiliseert is er bij vissen nog steeds sprake van een sterke groei. De relatief grote en groeiende aandacht voor vissen als proefdieren heeft twee oorzaken: een fundamenteel wetenschappelijke en een commerciële. In dit artikel zal worden ingegaan op de aard van het onderzoek aan vissen en zal een globaal overzicht worden gegeven van de doelstellingen, resultaten en perspectieven ervan. Dit zal worden geïllustreerd door enkele voorbeelden uit zowel het fundamentele als het toepassingsgerichte onderzoek.

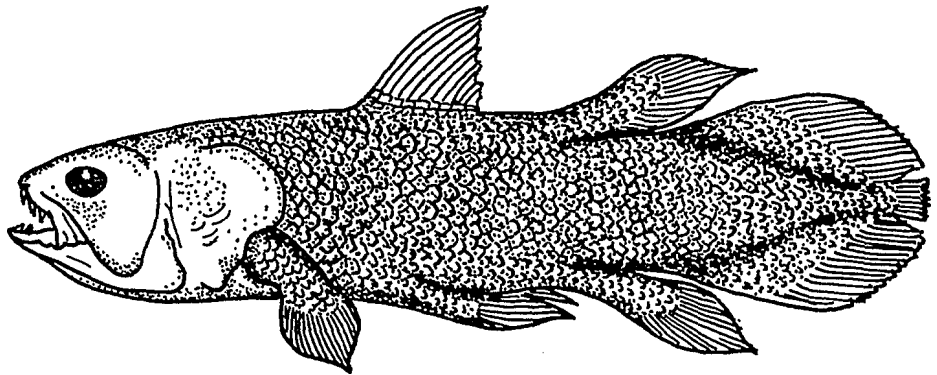
## Fundamenteel onderzoek

### Geschiedenis

De wetenschappelijke interesse in vissen heeft vooral te maken met het feit dat zij de oudste en in kwantitatief opzicht, de meest succesvolle gewervelde dieren zijn. Bijna een half miljard jaar geleden, in het Ordovicium, waren vissen al in een grote vormrijkdom aanwezig, lang voordat amfibieën, reptielen, vogels en zoogdieren op aarde verschenen. Er leven nog steeds vertegenwoordigers van groepen die honderden miljoenen jaren geleden al bestonden. Deze "levende fossielen", zoals prikken, longvissen en een kwastvinnige vis, de coelacanth (Afb. 1) vormen belangrijke objecten voor onderzoek naar de vroege evolutie van de gewervelde dieren, een ontwikkeling die uiteindelijk heeft geleid tot het ontstaan van de mens. Er zijn vele interessante overeenkomsten gevonden tussen vissen en de vroege ontwikkelingsstadia van de overige gewervelde dieren. Als voorbeeld kan worden genoemd het hormoon vasotocine. Dit wordt gevormd en afgegeven door de hypofyse bij vissen en amfibieën, waar het onder meer de productie van urine bevordert. Bij de mens en de andere zoogdieren wordt dit hormoon nog uitsluitend gevormd in de embryonale periode, wanneer de organismen zich nog ontwikkelen in de baarmoedervloeistof. Vlak voor de geboorte verdwijnt dit hormoon en wordt vervangen door het verwante hormoon vasopressine,

Afb. 1

De kwastvinnige coelacanth *Latimeria chalumnae*, een nog levende vertegenwoordiger van een verder uitgestorven groep van vissen die leefde van 400 tot 70 miljoen jaar geleden. De soort werd 50 jaar geleden ontdekt in de zee rond de Comoreneilanden. De kwastvinnigen zijn waarschijnlijk nauw verwant aan de vissen waaruit in de vroege evolutie de landdieren zich hebben ontwikkeld.



dat zich kennelijk in de loop van de evolutie op het land heeft ontwikkeld.

Aanpassingen aan uiteenlopende leefmilieu's Momenteel zijn er veel meer vissoorten (er zijn er meer dan 20.000 bekend) dan soorten van de overige gewervelde dieren samen. De grote verscheidenheid aan vissen hangt samen met de grote hoeveelheid water op aarde. Het water bedekt tweederde van het aardoppervlak en is sterk gevarieerd in temperatuur, diepte en zoutgehalte. Vissen beschikken over vele bijzondere eigenschappen die hen in staat stellen te leven onder de meest uiteenlopende omstandigheden. Zij komen voor onder het poolijs in water tot  $-2^{\circ}\text{C}$ , daartoe in staat gesteld door speciale antivries-eiwitten in het bloed en door vele andere aanpassingen zoals het bezit van enzymen die bij deze temperatuur kunnen functioneren. Vissen worden ook aangetroffen in warme en droge gebieden waar in de regentijd tijdelijk poelen ontstaan. Deze worden bevolkt door zich snel ontwikkelende vissen die zijn ontstaan uit droogtebestendige eieren die in het vorige seizoen door hun ouders in de bodem waren afgezet. Deze bevruchte eieren, waarin vaak al een embryo aanwezig is, hebben de tussenliggende periode, waarin de poelen veelal helemaal opdrogen, overleefd in een soort rusttoestand. Dit zijn slechts twee voorbeelden van de enorme variatie aanpassingen aan het milieu die bij vissen wordt aangetroffen en die belangrijk studiemateriaal vormt voor ecologen en adaptatiefysiologen. De mogelijkheden

voor biotechnologische toepassingen ervan, zoals bijvoorbeeld het gebruik van enzymen bij lage temperatuur, zijn nog nauwelijks onderzocht maar de aandacht hiervoor neemt de laatste jaren sterk toe (1,2).

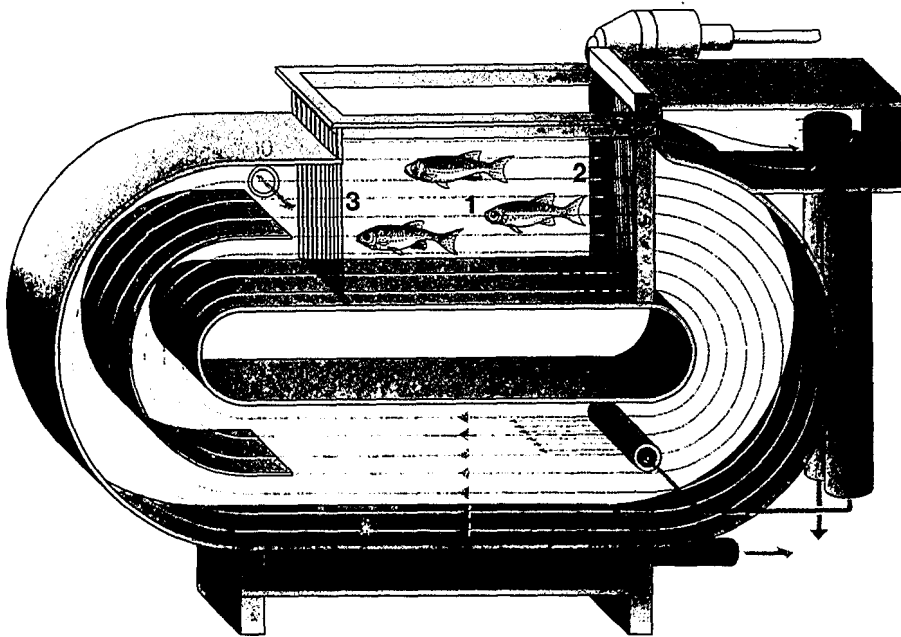
### Zintuigen

Vissen hebben uiterst gevoelige zintuigen. Vooral smaak en geur zijn sterk ontwikkeld. Een vis kan soms al reageren wanneer slechts één molecuul in contact is gekomen met een zintuigcel. Deze grote gevoeligheid verklaart bijvoorbeeld het verschijnsel dat de Pacifische zalmen, die jaren hebben doorgebracht in de oceaan, in staat zijn dezelfde paaigronden terug te vinden waar zij uit het ei zijn gekomen. Via oriëntatie op het magnetische veld van de aarde of anderszins - dit is nog niet geheel opgehelderd - kunnen de volwassen zalmen de kustgebieden bereiken. Afgaande op hun geur en smaakzin kunnen zij dan de juiste rivier en de juiste zijtak ervan terugvinden.

Vissen lopen gemakkelijk schade op aan hun kieuwen door verontreiniging van het water met zware metalen en chemische verbindingen. De sterk ontwikkelde smaak- en geurzin stelt vissen onder meer in staat dergelijke verontreinigingen al in zeer lage concentraties te signaleren. Hiervan wordt door bijvoorbeeld waterleidingbedrijven gebruik gemaakt - voorlopig nog experimenteel - om illegale giflozingen in rivieren te signaleren (3). Afb. 2 laat een bio-alarmsysteem zien waarbij windes worden gebruikt als zeer gevoelige "sensoren". Het onderzoek aan de zintuigsystemen van vis-

Afb. 2

Expositiegedeelte van een bio-alarmsysteem. De vissen worden geplaatst in een testruimte (1) afgesloten door roosters (2, 3), waarin met behulp van pompen een stroming wordt opgewekt. Wanneer het rivierwater dat door dit systeem wordt geleid schadelijke stoffen bevat zijn de vissen niet langer in staat zich te handhaven in de waterstroom en komen in aanraking met het achterste rooster (2). Bij herhaalde aanraking wordt automatisch een watermonster genomen voor verdere analyse. (Afb.: Kerren Umwelttechnik, Viersen, W. Duitsland).



sen heeft veel inzicht gegeven in het functioneren van zintuigen in het algemeen. Een goed voorbeeld hiervan vormt ook het onderzoek aan de elektrische organen van sidderoggen en sidderalen. Op de membranen die de elektrische impulsen uitzenden waarmee deze dieren hun prooi kunnen lokaliseren en verlammen zitten receptoren voor acetylcholine. Dit is een stof die prikkels overdraagt in het zenuwstelsel en, zoals in dit geval, van zenuwcellen op de gemodificeerde spiercellen die het elektrische orgaan vormen. Dergelijke receptoren komen ook op normale spieren voor en op veel plaatsen in het zenuwstelsel, maar in de elektrische organen is hun concentratie honderden malen groter. De uitgebreide bestudering van deze organen heeft veel inzicht gegeven in de wijze van prikkelgeleiding door zenuwcellen en heeft ook de karakterisering, isolatie en analyse van de structuur van de acetylcholine receptor mogelijk gemaakt (1).

#### Hormonen

Onderzoek aan de hormonen van vissen heeft onder meer geleid tot de ontdekking dat het calcitonine van zalmen, een hormoon dat de calciumstofwisseling regelt, sterk lijkt op het calcitonine van de mens. Maar het is bij de mens veel effectiever en veel langer werkzaam dan het eigen hor-

moon van de mens. Daarom wordt het zalmencalcitonine veel gebruikt bij de bestrijding van botziekten, zoals osteoporose, en als pijnbestrijdend middel.

#### Toegepast onderzoek Geschiedenis

Veel onderzoek aan vissen wordt toegepast genoemd omdat het direct of indirect te maken heeft met de grote betekenis van vissen als bron van eiwitten voor de mens. Visserij wordt al duizenden jaren bedreven als een vorm van jacht, waarbij de door de mens gevangen hoeveelheden vis gemakkelijk kon worden gecompenseerd door de natuurlijke aanwas. De overbevissing als gevolg van de ontwikkeling van verbeterde vismaterialen en grotere schepen, alsook de watervervuiling en het aantasten van de paaigebieden ten behoeve van de scheepvaart en grindwinning, hebben geleid tot een sterke achteruitgang van diverse soorten, ondanks de zeer hoge voortplantingscapaciteit van vissen. Dit proces is al eeuwen geleden begonnen in vooral het zoete water, maar doet zich de laatste decennia ook in zee voor.

Ter vervanging van natuurlijke vispopulaties is de aquacultuur opgekomen, waarschijnlijk als eerst in China. De oudst bekende beschrijving van de kweek van vis-

sen is 2400 jaar oud en heeft betrekking op de karperteelt. Daarin staan de principes beschreven van geïntegreerde viskweekmethoden die in China al duizenden jaren met veel succes worden bedreven. Hierbij wordt voor de voedselvoorziening van de vissen een optimaal gebruik gemaakt van opbrengst en afval van landbouw en veeteelt. Na de explosieve groei van de aquacultuur van de afgelopen jaren is de omvang van de viskwekerijen in China momenteel groter dan het oppervlak van Nederland, terwijl de opbrengst die van de hele Noordzeevisserij ver overtreft. Soortgelijke ontwikkelingen, zij het op kleinere schaal, hebben zich ook in West Europa voorgedaan. Hier is de visteelt nog maar een paar honderd jaar geleden begonnen met de kweek van forellen. Een zonder meer spectaculaire groei heeft zich de afgelopen tien jaar voorgedaan in de zalmteelt. Aanleiding hiervoor is de sterke teruggang van de natuurlijke zalm populaties in het hele Atlantische gebied door watervervuiling (met name verzuring) en vernieling van de paaigebieden. Deze dieren worden in hoge dichtheden gekweekt in grote gazen kooien langs de Noorse en Schotse kusten (Afb. 3). In Noorwegen vormt momenteel gekweekte zalm na de aardolie het belangrijkste exportproduct. De huidige jaarproductie van ongeveer 150.000 ton bedraagt het dertigvoudige van de jaarproductie in de bloeitijd van de visserij op natuurlijke zalm! Momenteel wordt op experimentele basis gewerkt aan de teelt van onder meer tarbot, heilbot en kabeljauw, wat geen overbodige voorzorg lijkt gezien de recente sterke achteruitgang van de visstand in de Noordelijke Atlantische oceaan.

#### Beheer van natuurlijke vispopulaties

Het toegepaste onderzoek aan vissen is geconcentreerd op twee terreinen: het beheer van natuurlijke vispopulaties en de visteelt. De verwerving van kennis nodig voor een efficiënt beheer van natuurlijke vispopulaties betreft in Nederland vooral de Noordzee en de aangrenzende delen van de Atlantische Oceaan. Door regelmatig monsters te nemen kan inzicht worden verkregen in de leeftijdsopbouw, de gezondheidstoestand en het voortplantingssucces. Dergelijk onderzoek, zoals plaatsvindt voor commercieel belangrijke soorten, is groot van opzet en vergt internationale samenwerking. Gegevens over de totale vangsten door de vissers zouden hiervoor uiterst waardevolle informatie kunnen opleveren, ware het niet dat de betrouwbaarheid van vangstgegevens zeer gering is door manipulaties om de quotabeperkingen te omzeilen (3). Indirecte bepalingen zijn echter ook mogelijk. Een voorbeeld hiervan vormt het bestandsonderzoek van de makreel (4; Afb. 4). Op grond hiervan worden jaarlijks de quoteringsregelingen en andere beheers-

Afb. 3  
Drijvende zalmkwekerij in een fjord nabij Austevoll (Noorwegen). De opbrengst bedraagt ongeveer 25 kg zalm per m<sup>3</sup> water per jaar. (Afb.: M.C. van Leeuwen, Den Haag).



maatregelen vastgesteld. Het gedeeltelijk herstel van de haringstand in de Noordzee na de ineenstorting ervan in de zestiger jaren heeft laten zien dat dergelijke maatregelen zowel noodzakelijk als effectief kunnen zijn. De gebrekkige naleving van de regelingen is er waarschijnlijk de oorzaak van dat de opbrengst van de Noordzeevisserij momenteel afneemt (5) en veel lager is dan bij optimaal beheer mogelijk wordt geacht.

#### Onderzoek t.b.v. de visteelt

Het onderzoek ten behoeve van de visteelt vergt een geheel andere, meer experimenteel gerichte opzet. Het gaat vooral om onderzoek naar groei, voortplanting en gezondheid. Voor een goede groei is niet alleen een goede voeding van belang met een evenwichtige samenstelling van onder meer mineralen, vitamines en sporenelementen, maar ook de leefomstandigheden, zoals huisvesting, de hoeveelheid vis per liter water, temperatuur, licht en waterkwaliteit. Elke soort stel voor optimale groei zijn eigen eisen (2). Van soorten als forel en karpers is hierover al vrij veel bekend. Voor diverse andere soorten die de laatste jaren veel worden gekweekt in vooral Zuid-Oost Azië en Afrika, zoals meervallen, tilapia's en milkfish, is nog veel onderzoek nodig. Dit geldt ook voor de selectie van snelgroeiende rassen. Een recente ontwikkeling op dit gebied is de productie van transgene vissen met behulp van moleculair-biologische

technieken. Na injectie van gekloneerd DNA in bevruchte visse-eieren en na integratie hiervan in het DNA van de celkern kunnen op deze wijze geïntroduceerde genen tot expressie worden gebracht. Zo worden momenteel door het overbrengen van extra genen voor de productie van groeihormoon vissen verkregen die veel sneller groeien en ook een veel hoger eindgewicht bereiken dan normaal.

Veel onderzoek is verder nodig voor de voortplanting. De meeste soorten planten zich in gevangenschap niet op natuurlijke wijze voort. De specifieke omstandigheden die daarvoor nodig zijn, zijn in viskwekerijen vrijwel niet te realiseren. Voor diverse vissoorten zijn de laatste jaren hormoonpreparaten ontwikkeld waarmee kuit en hom kunstmatig tot rijping worden gebracht en verzameld kunnen worden voor kunstmatige bevruchting. Andere soorten, zoals de Afrikaanse tilapia's, vertonen juist ongecontroleerde voortplanting in gevangenschap waardoor de groei al in een vroeg stadium stagneert. Voor dergelijke soorten zijn technieken ontwikkeld voor het verkrijgen van monosex populaties.

#### Visziekten

Het houden van dieren in grote hoeveelheden in een kleine ruimte - soms meer dan 30 kg vis per m<sup>3</sup> - houdt uiteraard grote risico's in voor de gezondheid. Infecties kunnen gemakkelijk optreden en zich verspreiden. Het natuurlijke afweersysteem kan on-

der kweekcondities gemakkelijk geremd zijn als gevolg van stress van allerlei aard. Het gezondheidsonderzoek van vissen is vergeleken met dat van landbouwhuisdieren nog maar gering ontwikkeld, zowel aan de diagnostische als aan de therapeutische kant. Als gevolg van de snelle groei van de visteelt begint hierin echter verandering te komen. Daarbij moeten vaak nieuwe technieken worden ontwikkeld. Omdat medicijnen aan vissen meestal via het water moeten worden toegediend zijn er grote hoeveelheden nodig die op zichzelf weer schadelijk kunnen zijn voor het milieu. Bij de zalmteelt worden bijvoorbeeld enorme hoeveelheden antibiotica en andere bestrijdingsmiddelen verbruikt die grotendeels wegspoelen in het zeewater vanuit de open kooien. In Schotland hebben zich al vergiftigingsgevallen voorgedaan door het consumeren van schaaldieren die waren gevangen in de buurt van zalmkwekerijen waar een zenuwgif was gebruikt voor de bestrijding van de zalmluis, een erg schadelijke parasiet. Voor de bestrijding van de zalmluis is onlangs een ingenieuze behandelingsmethode geïntroduceerd. Het bestrijdingsmiddel, in dit geval het biologisch afbreekbare pyrethrine, wordt niet in het water opgelost maar in een laagje olie aan het oppervlak, dat door een drijvende band rond de kooien op zijn plaats wordt gehouden. Doordat zalmen dagelijks diverse malen uit het water omhoogspringen worden ze effectief behandeld zonder dat daarvoor grote hoeveelheden schadelijke stoffen in zee terecht komen (Afb. 5).

#### Toxicologisch onderzoek

Verwant aan het gezondheidsonderzoek is het onderzoek naar de gevolgen van toxische stoffen. Dergelijke experimenten geven inzicht in de toxicologische gevolgen, voor vis en consument, van de lozing van giftige stoffen in het water die vandaar kunnen accumuleren in voedselketens. Sinds het van kracht worden van de wet Milieugevaarlijke stoffen enkele jaren geleden, is het aantal toxiciteitsexperimenten met dieren sterk toegenomen en dit geldt met name voor vissen.

#### Proefdiergebruik

Uit het bovenstaande moge duidelijk zijn waarom het gebruik van de vis als proefdier de laatste decennia sterk is toegenomen. Alleen al voor het fundamentele onderzoek is het gebruik in tien jaar verdubbeld. Deze groei zal naar verwachting aanhouden, met name met betrekking tot het onderzoek voor de visteelt. Het betreft vooral fysiologisch en biochemisch onderzoek waarvoor intacte dieren of verse organen nodig zijn. Het gebruik van alternatieven zoals weefselkweek is daarom slechts in zeer beperkte mate mogelijk. Wel vindt voortdurend verfijning plaats van de experimenten door

verbetering van analytische en statistische methoden. Hierdoor zal mogelijk de sterke groei van het proefdiergebruik afgeremd kunnen worden. Een verfijning die meer aandacht verdient is het gebruik van de larven van vissen voor het toxiciteitsonderzoek. Door het hoge metabolisme en de snelle ontwikkeling van larven in het ei en vlak na het uitkomen, zijn toxische effecten veel sneller en met minder lijden voor de dieren te traceren en te kwantificeren dan bij volwassen exemplaren.

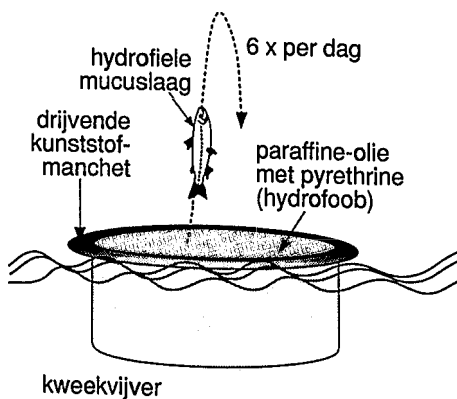
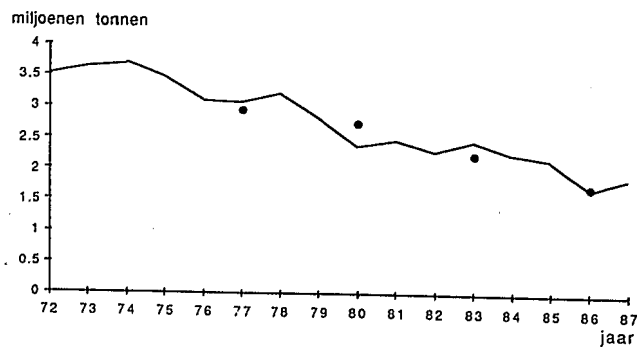
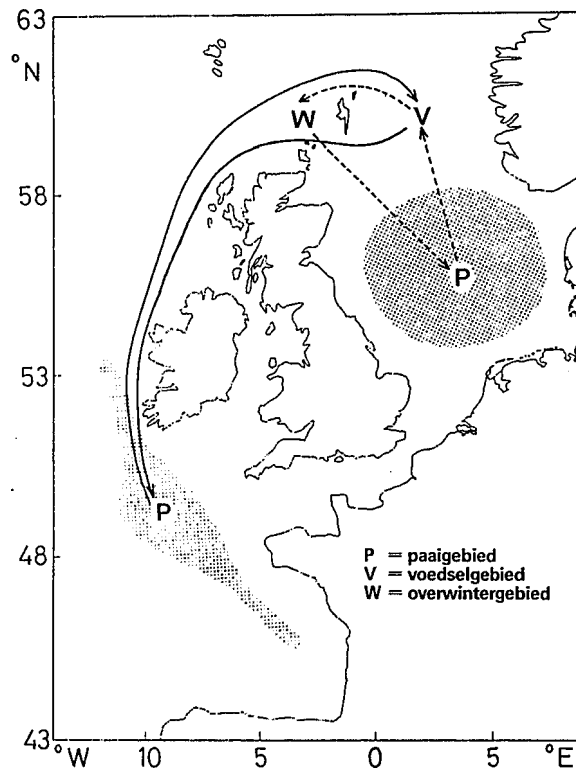
#### Literatuur

1. Powers D.A.: *Fish as model system*. *Science*, 1989; 246: 352-357.
2. Osse J.W.M., Zijlstra J. en van Emden H.M.: *Als een vis in het water*. Pudoc, Wageningen, 1988.
3. Botterweg J., van de Guchte C., en Van Breemen L.W.C.A.: *Biologische bewaking van de waterkwaliteit*. *Giftig*, 1990; 4: 2-9
4. Eltink A.T.G.W.: *Bestandsopnamen van makreel en horsmakreel*. *Biovisie Magazine*, 1989; 1: 7-12
5. *Feiten en cijfers. Kerngegevens van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij*, p. 34. Staatsdrukkerij, Den Haag, 1990.

#### Afb. 4a, b

De migratie van de westelijke en de Noordzeemakreel van paaigebied naar voedselgebied en overwinteringsgebied en terug (a). Het bestand van de makreel wordt elke 3 jaar geschat door op veel plaatsen in de paaigebieden het aantal geproduceerde eieren te bepalen, waaruit de omvang van de paaipopulaties kan worden afgeleid (b). De vier punten b zijn de resultaten van bepalingen in 1977, 1980, 1983 en 1986. De lijn geeft de berekende paaipopulatie in miljoenen tonnen van 1972-1987;

(Afb.: A.T.G.W. Eltink, *Biovisie Magazine* (1989) 1, 7-12)



#### Afb. 5

Bestrijding van de zalmuis. Doordat een zalm meermalen per dag uit het water pleegt te springen wordt de vis bedekt met een laagje paraffine-olie waarin pyrethrine is opgelost dat zich vooral bindt aan de hydrofobe cuticula van de parasiet.

(Afb.: *Biovisie* (1990) 7, 97)