



INTÉZMÉNYI TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI KONFERENCIA

2024. május 24.

Alternatív halszaporítási módszerfejlesztés

Development of alternative fish propagation method

Készítette: **Tóth András**
OCPC1K
Takarmányozási és takarmánybiztonsági mérnök,
mesterképzés
Nappali tagozat
Szent István Campus

Témavezetők: Prof. Dr. Müller Tamás, egyetemi tanár
MATE, AKI, Természetesvízi Halökológiai Tanszék
Horváth József István, PhD. hallgató
MATE, AKI, Természetesvízi Halökológiai Tanszék

Lehetséges OTDK szekció: Agrártudományi szekció

Gödöllő

2024.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések.....	3
2. Szakirodalmi áttekintés	5
2.1. A halak általános szaporodásbiológiája	5
2.1.1. Általános szaporodásbiológia	5
2.1.2. A here felépítése, spermiumok.....	5
2.1.3. A petefészek felépítése, oogenezis	6
2.2. A halak szaporításának módszerei	6
2.2.1. Természetes ívatás	6
2.2.2. Felmesterséges ívatás.....	7
2.2.3. Indukált szaporítás	7
2.2.4. Inszemináció.....	9
2.3. Az afrikai harcsa	10
2.3.1. Az afrikai harcsa bemutatása	10
2.3.2. Az afrikai harcsa szaporítása	11
2.3.3. Az afrikai harcsa magyarországi vonatkozásai	11
3. Anyag és módszer	13
3.1. Kísérleti körülmények bemutatása.....	13
3.2. Hormonkezelés I.....	14
3.3. Hipofízis eltávolítása, spermanyerés.....	15
3.4. Hormonkezelés II. és inszemináció	16
3.5. Termékenyítés, ikrainkubáció	17
3.6. Statisztikai elemzés	18
4. Eredmények	19
4.1. Termékenyülési, kelési és megmaradási arányok.....	19
5. Eredmények megvitatása.....	23
6. Összefoglalás.....	26
7. Irodalomjegyzék.....	28
8. Köszönetnyilvánítás	33
9. Melléklet.....	34

1. Bevezetés és célkitűzések

Napjainkban az emberiség megfelelő mennyiségű és minőségű táplálékkal való ellátása az egyik legfontosabb globális kihívás. Az akvakultúrának - a tengeri és édesvízi szervezetek kontrollált körülmények közötti termelésének - egyre fontosabb szerep jut a globális élelmezésben. Előrejelzések alapján az elkövetkezendő években az akvakultúra kulcsszerepet fog játszani az emberiség egészséges ételmszerrel történő ellátásában (http1). A szektor egyik legfontosabb részét a haltermelés képezi, hiszen a halhús könnyen emészthető, tápanyaggazdag táplálék, amely már jelenleg is az emberiség nagy részének az elsődleges fehérjeforrását jelenti. Az elmúlt évtizedekben felgyorsult az akvakultúrához kapcsolódó K+F munka. A termelés maximalizálása mellett egyre nagyobb szerep jut a fenntarthatósági és állatjóléti kérdésköröknek is. Az új technológiai elemek beépítésének nem csak az ételmszerellátásban, hanem a vízi ökoszisztémák megőrzésében is fontos szerepe lehet (Müller, 2022).

Az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) fontos szerepet tölt be a világ haltermelésében köszönhetően a tenyésztési szempontból előnyös tulajdonságainak: gyors növekedőképesség, nagymértékű technológiatűrő, környezeti paraméterek iránti tág tolerancia stb. Hazánk Európában piacvezető az afrikai harcsa előállításban, ezt a kedvező pozíciót csak folyamatos kutatómunkával, és a szaporítási technológiába történő új, innovatív elemek beépítésével lehet fenntartani (Lukácsik et al., 2021, FAO, 2022).

Munkacsoportunk egyik legfőbb kutatási területe egy új halszaporítási módszer, az inszeminációs eljárás technológiai fejlesztése különböző halfajok esetében. A módszer alapja az, hogy a külső megtermékenyítésű halfajok ikrásainak petefészke a feljuttatott (inszeminált) sperma biológiai aktivitását hosszú ideig fenntartja. Ikraszórásakor a gaméták együtt ürülnek (ikraszemek és a felszínükre felpadott spermiumokkal), majd a vízaktiváció hatására megtörténik a megtermékenyülés.

Az afrikai harcsa szaporítási technológiájának alapvető elemét képezi a hímek előlése, hiszen anatómiai okok miatt a hímek csak rendkívül nehezen fejhetőek. A spermanyerés a here műtéti úton történő eltávolításával, majd felvágásával és szűrőpapíron való átszűrésével történik (Péteri et al., 2015). Az indukált halszaporításban világszerte elterjedt hormonkezelési mód az úgynevezett hipofizálás. A hipofizálás során a korábban gyűjtött és acetonnal hipofízisekből (agyalapi mirigy) készítenek hormonszuspenziót, amelyet általában injekció segítségével juttatnak az anyahalba (Von Ihering és de Azavedo, 1936; Jaczó, 1953, 1955). Az elméletünk szerint érdemes volna fontolóra venni azt a lehetőséget, hogy amikor a tejest el kell

pusztítani a spermanyerés során, akkor egyidejűleg elvégezzük a hipofízis kimetszését is. Ennek az lenne az előnye, hogy ugyanazon hím ivarú hal biztosítaná az inszeminációhoz a sperma mintát, valamint az ikrás halak szaporításhoz szükséges hormon indukciót. Jelen kísérletünkben célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk: (i) a frissen gyűjtött afrikai harcsa hipofízisből készített hormonszusспенzióval történő kezelés hatásait az ikrások ovulációjára, (ii) a friss hipofízissel történő hormonindukció és az inszeminációs halszaporítási módszer együttes alkalmazásának lehetőségeit.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. A halak általános szaporodásbiológiája

2.1.1. Általános szaporodásbiológia

A valódi csontoshalak túlnyomó többsége ivaros szaporodással biztosítja a fennmaradásukat. A hímek (tejesek) és nőstények (ikrások) is ivarsejteket termelnek, melyek az ivarszervekben találhatóak. Az ivarszerveket gonádoknak, az ivarsejteket gamétának nevezzük. A halak életciklusainak, életfunkcióinak gyorsaságát meghatározza a külső környezet hőmérséklete, emiatt nevezzük őket változó testhőmérsékletű, azaz poikilotherm élőlényeknek. Mint minden állatnál, így a halaknál is a szaporodás csak a szükséges élettani körülmények biztosítása, illetve az ideális külső környezeti feltételek megléte esetén következik be (alapvető és kiváltó tényezők). Általánosságban jellemző a nagy mennyiségű ivartermék, mely a szintén magas kezdeti elhullási arányt hivatott ellensúlyozni (Horváth és Urbányi, 2000). A halfajok nagyobb része külső megtermékenyítésű, a szaporítóanyaguk a vízbe kerülve aktiválódik (Horváth és Magyary, 2007).

2.1.2. A here felépítése, spermiumok

A hím ivarú halak gonádja a here, amely páros szerv és a hasüreg háthoz közelebbi részén található. A herének két fő típusát különböztetjük meg, az egyik a lobuláris, másnéven lebenyes here, amely a gazdaságilag fontos halfajok nagyrésztére jellemző. A másik a tubuláris, azaz csöves here például az elevenszülő fogaspontyoknál fordul elő. A lobuláris here a felépítését tekintve egy bonyolult sokrétű csőrendszerhez hasonlít, benne kis lebenyekkel, úgynevezett lobulusokkal, melyeknek belső terében az érett spermiumok találhatóak. A spermiumsejtek innen fognak a spermavezetéken áthaladva a külvilág felé távozni. A tubuláris here egy nagy méretű belső üregből áll, benne a hímvarsejtek pedig csomókban, spermatozeugmákban helyezkednek el (Horváth, 2018).

A tejesek által termelt és kibocsátott ivarsejtek a vízzel történő érintkezés útján aktiválódnak. Az aktivációt követően a spermiumsejteknek körülbelül egy perc időtartam áll rendelkezésükre, hogy a petesejtbe jutva termékenyítsék azt. A spermiumok aktív helyváltoztatató mozgással és a petesejt által kibocsátott kémiai anyagok hatására találják meg a petesejtet. A spermiumsejt a peteburok felszínén található petenyíláson (úgynevezett mikropyle) keresztül jut be a petesejtbe. Amennyiben a megtermékenyítés nem történik meg

pár percen belül, a petesejt annyira megduzzad a vízzel történő érintkezés következtében, hogy a mikropyle csatorna elzáródik, így a termékenyülés meghiúsul (Horváth és Magyary, 2007).

2.1.3. A petefészek felépítése, oogenezis

A női ivarszervnek, másnéven petefészeknek a heréhez hasonlóan két fő típusa van a valódi csontoshalak esetében, az egyik típus a cystovarium, a másik a gymnovarium. A cystovarium típusnál egy hártyás tokon belül helyezkednek el a petesejtek a petefészek redőin. A petefészekhez egy tölcsérszerű csatorna kapcsolódik (petevezeték vagy oviductus), melynek célja, hogy az ovulációt követően az érett petesejteket a külvilágba kijuttassa (Horváth, 2018). A gymnovarium petefészek az ősi típus. Itt a petefészek és a benne található ivarsejtek a hasüregben szabadon helyezkednek el. Amikor az ikraszemek megérnek és leválnak a petefészekről, akkor közvetlenül a hasüregbe kerülnek, ahonnan egy tölcsérszerű vezetéken át távoznak a külvilágba az ivarnyíláson keresztül (Kagawa, 2013). Ez a típusú petevezeték található meg például a tokféléknél. A női ivarsejtek fejlődése, melyet oogenezisnek hívunk az őspetesejtek (oogóniumok) diploid őssejtekből való kialakulásával kezdődik. Az oogóniumokat számtartó osztódásukat követően a környezetükben található multipotens sejtek elkezdik körbe nőni, ezáltal létrehoznak egy egységes sejtréteget körülöttük, mely egyrétegű laphámsejtekből áll. Ezt a réteget granulosának vagy folliculáris rétegnek nevezzük. Ebben a stádiumban a petesejtnak primer oocyta, az őt körbenövő sejtréteggel együttesen pedig primer folliculus a hivatalos megnevezése. A szaporodási (oogonális) fázis a primer folliculusok kialakulásáig tart, ekkor a mitotikus sejt szaporodási szakasz is a végéhez ér (Horváth és Magyary, 2007; Horváth, 2018).

2.2. A halak szaporításának módszerei

2.2.1. Természetes ívatás

A természetes ívatás elve, hogy az íváshoz szükséges ideális körülményeket próbáljuk minél pontosabban lemásolni, így szaporodásra ösztönözve a felkészült halakat. Ezzel a módszerrel könnyen és gazdaságosan nagy mennyiségű halivadék állítható elő. Leggyakrabban pontyféléknél (cypriniformes) használt eljárás, amelynek lényege, hogy a magasabban fekvő, vízzel kis mélységben, lágy szárú növényzettel dúsan borított területre természetes módon leívnak az anyahalak (Horváth és Urbányi, 2000).

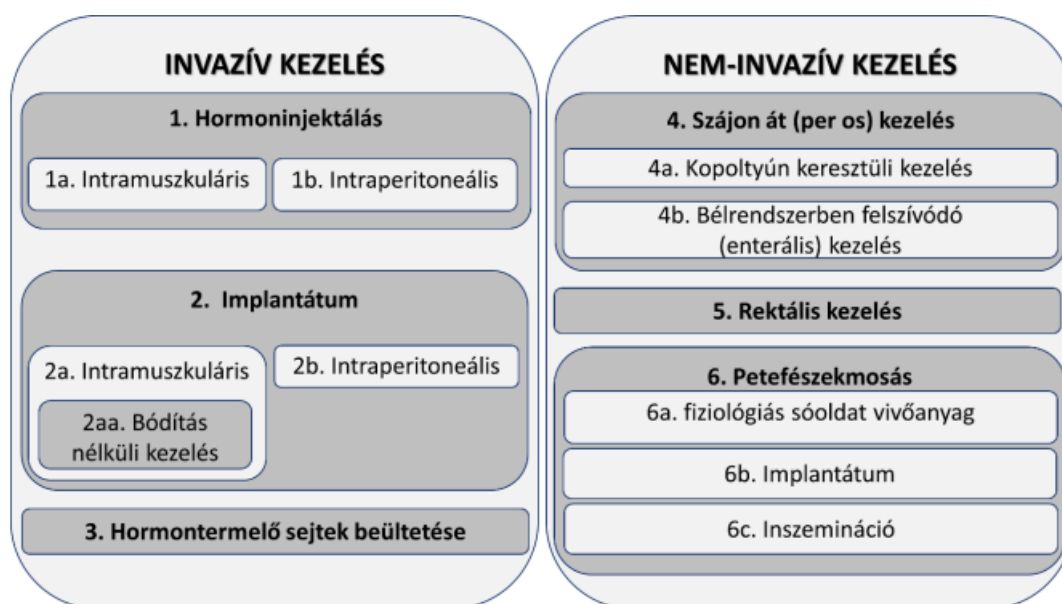
2.2.2. Félmesterséges ívatás

A félmesterséges ívatás használata során bizonyos faktorokat, mint például az ívás időpontja, valamint a kiváltó tényezők mesterségesen befolyásolják hormonkezeléssel. A kezelés után a halakat ívóhelyüket utánzó környezetbe helyezik vissza. Az ívási környezet megválasztása attól függ, hogy az adott faj utódainak túlélési aránya hogyan lesz a legoptimálisabb. A módszert jelenleg is használják tógazdaságokban például a süllő (*Sander lucioperca*) faj szaporításánál (Tamás et al., 2006; Demska-Zakes és Zakes, 2002).

2.2.3. Indukált szaporítás

A természetes ívatás és a félmesterséges ívatási módszerrel szemben az indukált szaporítás során az ívásra felkészült halakat hormonnal kezelik, ezzel kiváltva a szaporodáshoz elengedhetetlen környezeti tényezőket. Ennek eredményeképpen az ívási környezet imitálása feleslegessé válik, ami nagy könnyebbséget jelent egyes halfajok esetében, ahol ez nagyon nehezen vagy egyáltalán nem valósítható meg (Horváth és Magyary, 2007). A hormonkezelés után a halból kinyert ivarterméket használják fel termékenyítésre. A keltetés folyamata szintén mesterséges szabályozás alatt van a keltetőházban. A szaporítási módszer sikerességéhez szükség van a technológia precíz, szabályok szerinti végrehajtásához (Horváth és Urbányi, 2000). Amennyiben az adott hal nincs felkészülve az ívásra, lehetőség van hormonálisan indukált ivarérelésre. Első hormonkezelésekkel az ivarsejtképződést (gametogenezis) segítik elő, majd a több héten át tartó folyamat végén egy úgynevezett döntő adag bejuttatásával az ovuláció is megtörténik. A hormonkezelés csak ikrás egyedeknél történik, hiszen a tejeseknél a spermatermelés állandó. A módszer többnyire angolna fajok (*Anguilla spp.*) szaporításánál használatos (Ohta et al., 1995; Mordenti et al., 2014; Müller et al., 2012).

A halak esetében alkalmazott hormonkezelési eljárásokat két nagy csoportba sorolhatjuk: invazív és nem-invazív kezelések (1. ábra). Az invazív módszer használata során valamilyen szövetet sértünk, míg a nem-invazív kezelés során nem okozunk sebzést, helyette más módon juttatjuk be a hormont (Müller et al., 2020b).



1. ábra. Halak hormonkezelési módszereinek csoportosítása (Müller et al., 2020b nyomán módosítva)

Az invazív kezelések közé tartoznak a hormoninjektálás, az implantátum és a hormontermelő sejtek beültetése. A hormoninjektálás lényege, hogy az ovulációt kiváltó hormont tűvel az állatba juttassuk. Ezt megtehetjük a hasüregbe juttatva a hashártyán keresztül a hasúszó tövénél (intraperitoneálisan) megszúrva vagy pedig izomba a faroknyélbe, illetve hátizomba (intramuszkulárisan). A hasüregi injektálásnál fennállhat a veszély, hogy a hormon bekerülhet a tápcsatornába. Az implantátumnál a hormont egy vivőanyagba oldják fel és így kerül a hal szervezetébe. Ennek előnye, hogy a hormon folyamatosan fog felszabadulni hosszabb időn keresztül, így elég kevesebbszer kezelni a halat. Hátrányuk viszont, hogy nagyüzemi gyártásuk nem megoldott, valamint meghatározott mérettartomány alatti halak esetében nem ajánlott és antibiotikumos kezelésre is szükség van a beavatkozás után (Müller et al., 2020b).

A nem-invazív kezelések a szájon át (*per os*) történő kezelés, a rektális kezelés és a petefészekmosás. A szájon át történő kezelés a hormonnak a felszívódási helye alapján lehet kopolytún keresztül felszívódó és bélrendszerben felszívódó. A kopolytún keresztül felszívódó módszert leginkább kisebb halak szaporításánál használják. A hormon, amint a szájüregbe kerül, a hal száját és kopolytúit befogják egy kis ideig, amíg felszívódik. A bélrendszerben felszívódó azoknál a halfajoknál működőképes, ahol nincs sósavas-pepszines emésztés. A rektális kezelésnél a hormont a végbélnyíláson keresztül juttatják a bélcsatornába (Müller et al 2020b). A petefészekmosáskor egy katétert használnak, amit felvezetnek a petefészekbe és ezen keresztül adják be a hormonkezelést (Watson et al., 2009a,b; Kucska et al., 2022)

2.2.4. Inszemináció

A halak hímvarsejtjeinek aktivációja a vízzel érintkezve történik meg. A spermiumok vízaktivációját a sejteket körülvevő folyadék ozmolalitásának csökkenése okozza (Müller et al., 2020b). Korábban bizonyították, hogy a petefészekben termelt ovariális folyadék nem aktiválja a spermiumokat (Horváth et al. 2010). Az eljárás biológiai hátterét az képezi, hogy a spermiumsejtek a petefészek ozmokonform környezetében hosszabb ideig is „tárolhatóak” aktiváció nélkül. Az ovuláció bekövetkezésekor az oocitákra a follikuláris tokból kiszakadva rátapadnak a hímvarsejtek és együtt távoznak a hal petefészkéből, majd vízzel érintkezve aktiválódnak, és a spermiumok megtermékenyítik a petesejteket.

Az inszeminációs módszer során általában egy katéter segítségével a petefészekbe (a katéterrel tudjuk irányítani melyik petefészeklebenset kezeljük) injektáljuk be a tejes/tejesektől származó minősített spermaadagokat. Afrikai harcsa esetében az inszeminációt követő 36. órában is termékenyítőképesek maradtak a spermiumsejtek, azonban 48 óra után már jelentősen romlik a hímvarsejtek termékenyítőképessége (Müller et al., 2020b). Watson et al. (2009a,b) megfigyelték, hogy a petefészeklebensbe juttatott hormon a petefészekfalon keresztül is felszívódik, és ovulációt vált ki. Ezt felismerve Müller et al. (2018b) a szeminális plazmát, mint hormonvivő anyagot is használták; a spermában elkevert porított pontyhipofízist inszemináltak afrikai harcsa ikrásokba. A szeminális plazma a beérési idő alatt (10 óra) felszívódott a petefészekfalon keresztül, ezzel párhuzamosan elősegítették a hipofízisből származó gonadotrop hormonok bejuttatását a szisztémás vérkeringésbe. A gonadotrop hormon ovulációt váltott ki. Az ovulált ikraszemek fejésekor a felületükre tapadt spermiumsejtekkel együtt ürültek (nem volt belső megtermékenyülés!). Vízaktivációkor viszont már megtörtént a gamétaegyesülés. Ennél a szaporítási módszernél a hímvarsejt bejuttatás és a hormonkezelés egyszerre, egy kezeléssel történt (Müller et al. 2018b; Ittész et al. 2020). Az inszemináció nagy előnye, hogy a tejesek fizikai jelenléte nem feltétlenül szükséges az íváshoz, hiszen a petefészekbe fecskendezett spermium fogja a megtermékenyítést végezni sikeres ovuláció esetén (Gazsi et al., 2019). Süllő (*Sander lucioperca*) halfajban végzett inszeminációs kísérletek esetében azonban hátrányt jelentett, hogy elmaradt a tejesek által indukált násztánc, így az ikrákat egy helyre, egymásra halmozva tették le (Horváth, 2023; Varga et al., 2022). Magyarországon a legelterjedtebb szaporítási technológia a gazdaságilag jelentős halfajok esetében a száraz termékenyítési eljárás (*in vitro* fertilizáció) alapul, viszont Ázsia nagy részén még mindig az ívatásos módszert használják (Horváth et al., 2015). Az inszemináció nagymértékben megkönnyítheti a keresztezés irányíthatóvá tételét, lehetővé teszi több ikrás

egyidejű, nagyobb spermamennyiséggel történő megtermékenyítését, a több haltól származó sperma használatával javíthatja a genetikai változékonyságot, illetve segíthet a nehezen vagy jelenleg nem megoldható halfajok (pl.: pettyes farkashal (*Anarhichas minor*) szaporítási technológiájának fejlesztésében. (Kime és Tveiten, 2002). Az inszemináció a természetvédelmi célú halszaporításban és megőrzésben is szerepet játszhat, továbbá segíthet a beltenyésztett populációk genetikai diverzitásának növelésében (Gazsi et al, 2022b).

2.3. Az afrikai harcsa

2.3.1. Az afrikai harcsa bemutatása

Az afrikai harcsa (*C. gariepinus* Burchell, 1822; 2. ábra) a harcsafélék rendjének (Siluriformes) zacskóharcsafélék (Clariidae) családjába tartozó faj. Afrikában őshonos, de elterjedési területébe beletartozik Jordánia, Izrael, Libanon és Törökország is (Horváth és Urbányi, 2000; FAO, 2024). Csupasz, pikkelymentes teste a legtöbb harcsafajhoz hasonlóan megnyúlt és hengeres, nagyméretű, lapított fején 8 bajuszszál található. Hátúszója rendkívül hosszú, oldala márványozott, míg a hasi rész piszkosfehér színű (Harka és Sallai, 2004). Eredeti élőhelyén megtalálható a tavakban, folyókban, mocsarakban és egyéb vízfolyásokban is. Az optimális hőmérséklet 25-30°C a faj számára, a tartós hidegben (20°C alatti hőmérséklet) csökken a betegségek szembeni ellenállóképessége, intenzív rendszerekben 16°C alatt általában elpusztul. Speciális kisegítő légzőszervével az oxigénhiányos környezetet is képes elviselni, mivel képes a légköri oxigént is hasznosítani. Ivarérettségét megfelelő táplálékellátottság és ideális környezeti paraméterek mellett 6-8 hónapos korban éri el, a 8-9 hónapos egyedek általában már biztonsággal szaporíthatóak (Péteri et al., 1989; FAO, 2024).



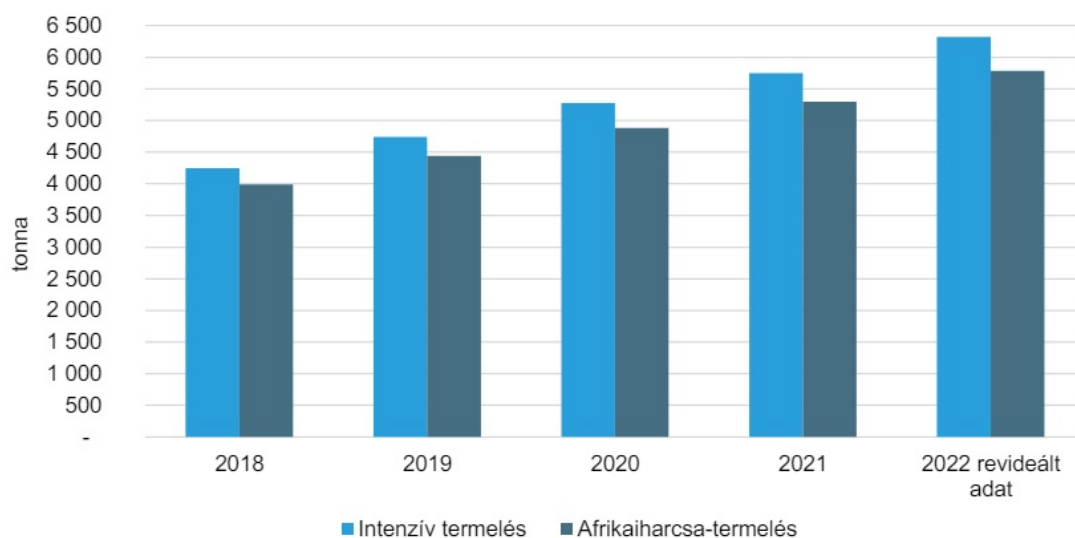
2. ábra: Az afrikai harcsa (fotó: Dr. Ferincz Árpád)

2.3.2. Az afrikai harcsa szaporítása

Az afrikai harcsát hagyományosan árasztásos tavakban tenyésztették-tenyésztik, ahol a kis méretű tavakban általában az éjszakai vízszintemeléssel (árasztással) serkentik ívásra az anyahalakat. Manapság a faj szaporítási technológiája teljes mértékben az indukált szaporításra épül, ahol számos hormonkészítmény áll rendelkezésre az anyahalak hormonindukciójára (hCG, hipofízis kivonatok, szintetikus GnRH-a készítmények, stb.). Az ikrások programozott ovulációját megelőzően a tejest előlik, és a here kiműtését követően közvetlenül a heréből gyűjtik a spermát. Ovulációkor az ikrásokat lefejik (hasfal masszírozása), és az így kinyert ikratételeket a gyűjtött spermával termékenyítik (Péteri et al., 1989; Péteri et al., 2015).

2.3.3. Az afrikai harcsa magyarországi vonatkozásai

A faj hazánkba teljesen véletlenül került be. Eredetileg Brazíliába szerettek volna eljuttatni afrikai harcsákat Hollandiából, de engedélyek hiányában Magyarországon ragadtak a halak. A Százhalombattán lévő halakkal ezután kísérletezni kezdtek, majd felismerve a fajban rejlő kiváló tenyésztési lehetőségeket, el is indult annak termelésbe vétele (Woynárovich, 1996). Jelenleg Magyarország az első helyen áll az európai afrikai harcsa termelésben. Az előállított halhús szinte kizárólag intenzív rendszerű egységekből származik, a faj képezi az ilyen módon megtermelt hal 93,6%-át (Lukácsik et al., 2021, 3. ábra).



Forrás: AKI ASIR

3. ábra. Afrikai harcsa termelés a 2018-2022-es időszakban (Kiss, 2023; forrás: AKI ASIR)

A fajjal kapcsolatos kutatómunkában a magyar szakemberek munkája kiemelkedő. Számos munka született az afrikai harcsa különböző hormonkészítményekkel történő indukált szaporításával kapcsolatban (Akpajia et al., 1996; Brzuska et al., 1999; Szabó et al., 2007; Rónyai et al., 2008; Szabó et al., 2010; Kucska et al., 2022). Az ivarsejtek mélyhűtésével – elsősorban a sperma mélyhűtése - kapcsolatos kutatások is egyre fontosabb szerephez jutottak az elmúlt években az akvakultúra ágazatban, ahol a hazai kutatók eredményei szintén jelentősek (Urbányi et al., 1997, 1999; Horváth és Urbányi, 2000; Miskolczi et al., 2005; Kovács et al., 2010; Müller et al., 2019).

3. Anyag és módszer

3.1. Kísérleti körülmények bemutatása

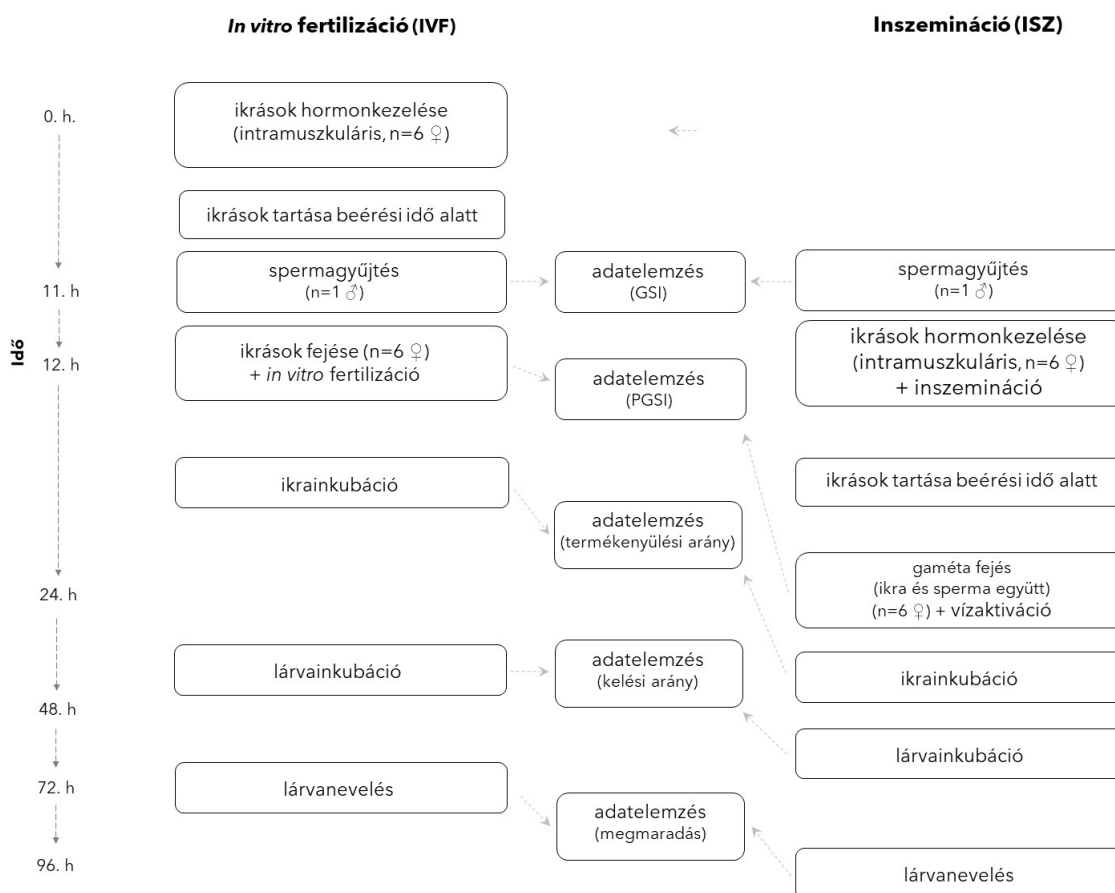
Kísérleteinket a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet Hallaboratóriumában végeztük. A kísérlethez használt afrikai harcsa ikrás anyahalak munkacsoportunk saját nevelésű állományából származtak (4. ábra). Az anyahalakat a kísérletet megelőzően a kihelyezéskori mérettől kezdődően (kb. 100 g) recirkulációs rendszerben tartottuk (200 × 45 × 145 cm, pufferkáddal kiegészített teljes hasznos térfogat kb. 1300 l) $26 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ -os hőmérsékleten, napi 1,5%/testtömeg kg takarmányadag (Aller Aqua Bona float 4,5 mm) és kb. 10%-os vízcserével. A kísérletbeállítás miatt – összehasonlíthatóság szempontja miatt a kísérlet alatt 1 tejestől származó agyalapi mirigyet és spermaadagokat használtunk – a szaporítási munkákhoz használt nagyobb méretű tejes egyedet a Bajcsfal Kft.-től szereztük be. A kísérlet előtt a vízhőmérsékletet $27 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ -ra emeltük.



4. ábra. Az anyahalak tartását szolgáló recirkulációs rendszer (fotó: Horváth József).

3.2. Hormonkezelés I.

A kísérlet egyes lépéseinek időbeli nyomon követéséhez az 5. ábra nyújt segítséget.

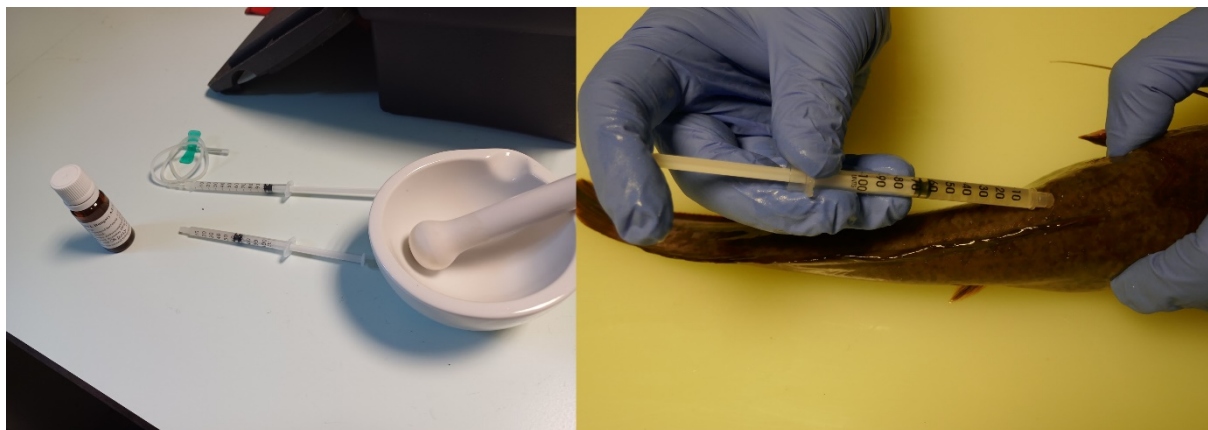


5. ábra. A kísérlet egyes lépéseinek és időbeli eloszlásának részletes bemutatása.

A munkához használt kísérleti ikrásokat teljesen véletlenszerűen ($n = 12, 249 \pm 32,1$ g) választottuk ki az állományból. A könnyebb kezelhetőség érdekében a halakat egyedileg a kísérlet egésze során úgynevezett keltető ketrecekben (Fyllen szennyestartó kosár, magasság: 50 cm, átmérő: 45 cm, térfogat: 79 l, léhisméret 0,75 mm) helyeztük el.

A kontroll csoport (*in vitro* fertilizáció) egyedeit ($n = 6, 249,33 \pm 36,41$ g) benzokainos bódítást követően a testtömegek meghatározása után 1 Ovopel pellet/testtömeg kg intramuszkulárisan (hátizomba) hormonkezeltek (6. ábra). Az Ovopel egy szintetikus hormonszert, amely 20 µg emlős GnRH-a-t (D-Ala6, Pro9NEt-mGnRH) és 10 mg

metoklopramidot (dopamin antagonistá vegyület) tartalmaz (Interfish Kft.). A kontroll csoport hormonkezelésének idejét a teljes egyedtől történő spermanyerés idejéhez optimalizáltuk, hogy friss sperma álljon rendelkezésre az ikrások programozott ovulációjának időpontjában.



6. ábra. Balra: Hormoninjekciók előkészítése, jobbra: intramuszkuláris hormonkezelés (fotók: saját képek).

3.3. Hipofízis eltávolítása, spermanyerés

A frissen gyűjtött hipofízissal történő hormonkezeléshez, valamint a spermanyeréshez használt tejest (3402 g) benzokainnal túlaltattuk. Ezt követően a spermát az afrikai harcsa szaporítási technológiájának megfelelően a here (36 g) műtéti úton történő eltávolításával nyertük (Péteri et al., 2015). Az inszemináció csoport ikrásainak hormonkezeléséhez frissen gyűjtött natív hipofízisből készített hormonsuszpenziót használtunk, amelyet a spermanyerés után a koponya felnyitását követően gyűjtöttünk (7. ábra).



7. ábra. Balra: Az agyalapi mirigy elhelyezkedése, jobbra: az eltávolított hipofízis (fotók: Horváth József).

A kiműtött agyalapi mirigyet (87,4 mg nedves tömeg) dörzsmozsár segítségével homogenizáltuk, majd ezt követően készítettük el a hormonsuszpenziót 0,9% NaCl fiziológias

sóoldat segítségével (8. ábra). A teljes hipofízist felhasználtuk a hormoninjekciók előkészítése során, a halankénti hormonadagokat a következő képlet segítségével számoltuk ki: (hipofízis tömege / halak össztömege) × egyed testtömege.



8. ábra. Balra: frissen gyűjtött hipofízist homogenizálók, jobbra: frissen gyűjtött hipofízisból készített hormonszuszpenziók. (fotó: Horváth József)

3.4. Hormonkezelés II. és inszemináció

Az inszemináció csoport ikrásait ($n = 6$, $248,67 \pm 30,66$ g) a testtömegek meghatározása után szintén egyedileg a már bemutatott keltető ketrecekben helyeztük el. A kísérletbe vont anyahalakat az inszeminációval egyidejűleg hormonkezeltük. Az inszeminációt a Müller et al. (2018a) bemutatott módon mindkét petefészeklebensbe egyenlően elosztva 1 ml sperma/testtömeg kg mennyiséggel végeztük. A katétert (hossz: 400 mm, külső átmérő: 1,3 mm, belső átmérő: 1 mm (GALMED Wytwórnia Sprzętu Medycznego®, Lengyelország) a lebenyek csúcsáig vezettük, és egy pontba végeztük az inszeminációt (9. ábra). Az ikrásokat ezt követően a már bemutatott keltető ketrecekben helyeztük el a beérési idő alatt.



9. ábra. Inszemináció (fotó: saját kép).

3.5. Termékenyítés, ikrainkubáció

Az *in vitro* fertilizáció csoport egyedeit közvetlenül a spermanyerés után, a 12 órás beérési időt követően termékenyítettük. A halak benzokainos bódítását követően az ikratételeket a keltetőházi gyakorlatban általánosan bevett fejéssel (hasfal maszírozása) nyertük ki. A fejt ikratömegek meghatározása után az ikratételek 3 különböző területéről 3 normál méretű petricsészébe (átmérő×magasság: 90 × 14,2 mm) 0,1 ml ikrát ($79,17 \pm 12,96$ ikraszem) helyeztünk, amelyeket 1 csepp spermával (kb. 5 mm³) *in vitro* termékenyítettünk.

Az inszemináció csoport esetében 12 órás petefészekbeli spermatárolást követően fejtük le az ikrásokat. A halakat először benzokainos oldatban bódítottuk, majd lefejtük a kevert gamétadagokat (sperma+ikra együtt). A lefejt ikratételek tömegének meghatározása után a már bemutatott módon anyahalanként 3 normál méretű petricsészébe adagoltuk ki a 0,1 ml térfogatú gamétatételeket ($87,06 \pm 11,54$ ikraszem), amelyeket ezután vízaktiváció segítségével termékenyítettük (10. ábra).



10. ábra. Balra: afrikai harcsa fejése, középen: kevert gamétaadagok kiadagolása, jobbra: vízaktivációval történő termékenyítés (fotók: Horváth József)

A kísérlet során a petricsészékben 12 óránként cseréltük a vizet, a vízcseréssel egyidejűleg a nem termékenyült ikraszemeket és az elhalt embriókat is eltávolítottuk. Kísérletünk során meghatároztuk a termékenyülési (a termékenyítéstől számított 12. órában), a kelési, és a 72. órában mért megmaradási értékeket is.

3.6. Statisztikai elemzés

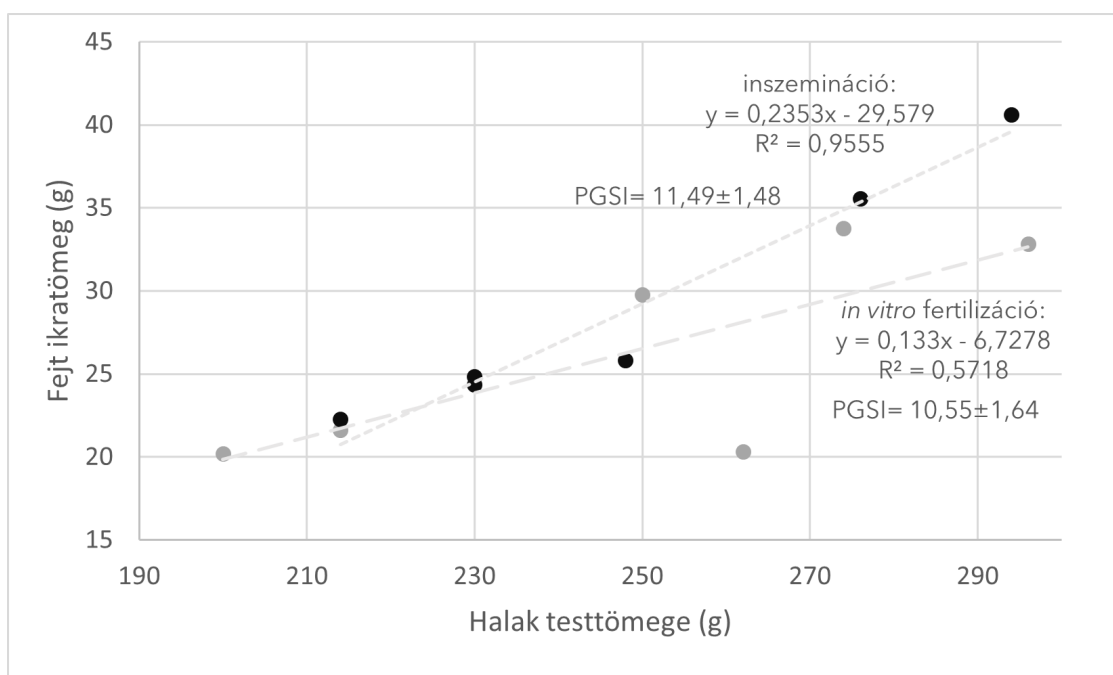
Eredményeink kiértékelését és az ábrakészítést a (Microsoft Corporation, Redmond, WA 98052, Egyesült Államok) programcsomag segítségével végeztük. A termékenyülési, kelési és megmaradási arányokat kétmintás t-próba nem-egyenlő szórásnégyzetekkel (Excel, ToolPak) $p < 0,05$ szignifikancia szinten elemeztük. A következő értékek meghatározása során az alábbi képleteket alkalmaztuk:

- $GSI (\%)$ (gonado-szomatikus index) = $(\text{gonád tömege (g)} / \text{hal testtömege (g)}) \times 100$
- $PGSI (\%)$ (pszeudo-gonado-szomatikus index) = $(\text{fejt ikratétel tömege (g)} / \text{hal testtömege (g)}) \times 100$
- $\text{termékenyülési arány} (\%) = (\text{termékenyült ikraszemek} / \text{összes ikraszem}) \times 100$
- $\text{kelési arány} (\%) = (\text{kikelt lárva száma} / \text{összes ikraszem}) \times 100$
- $\text{megmaradás} (\%) = (\text{a termékenyítéstől számított 72. órában élő lárvák} / \text{kikelt lárvák száma}) \times 100$

4. Eredmények

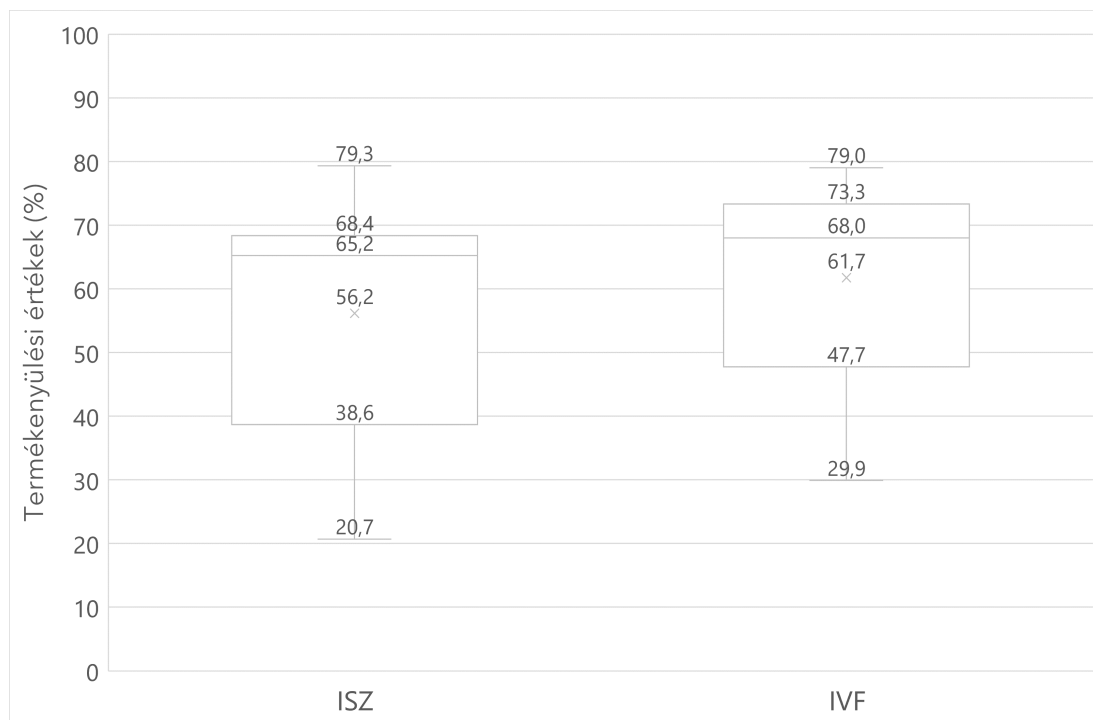
4.1. Termékenyülési, kelési és megmaradási arányok

A kezelési csoportok anyahalainak PGSI értékei között (*in vitro* fertilizáció: $10,55 \pm 1,64\%$, inszemináció: $11,49 \pm 1,48\%$) nem volt statisztikailag igazolható különbség (kétmintás t-próba, $p < 0,05$). A halak testtömege és a belőlük nyert ikratömeg között az inszeminációs csoportnál erős -, míg az *in vitro* fertilizáció csoportnál közepesen erős kapcsolat mutatkozott (egy szélső értéket mutató hal miatt, 11. ábra).



11. ábra. A kísérleti ikrások testtömegei és a lefejt ikratömegek összefüggései.

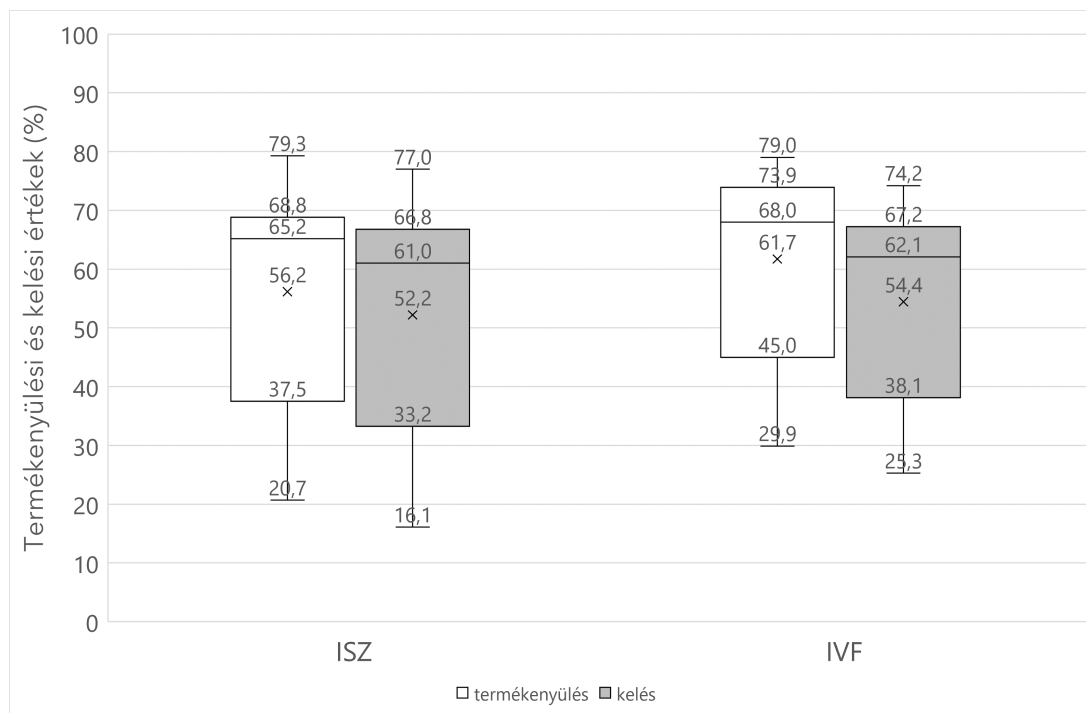
Az *in vitro* termékenyített ikratételek termékenyülőképessége statisztikailag igazolható módon nem különbözött az inszeminációs szaporításból származó ikratételekétől ($p > 0,05$, 12. ábra). Mindkét vizsgált csoport esetében a termékenyülési értékek nagy egyedi szórásokat mutattak.



12. ábra: Összesített termékenyülési értékek. ISZ: inszeminált csoport, IVF: *in vitro* fertilizáció csoport

(Box plot: a doboz alja az első kvartilis (Q1), a mező közepén található oszlop a medián vagy a második kvartilis (Q2), a doboz teteje a harmadik kvartilis (Q3), az interkvartilis tartomány a doboz magassága, vagyis a Q3 és Q1 közötti különbség, ×: átlag, felső talp: maximum érték, alsó talp: minimum érték, a körök a dobozokon kívül: szélsőértékek)

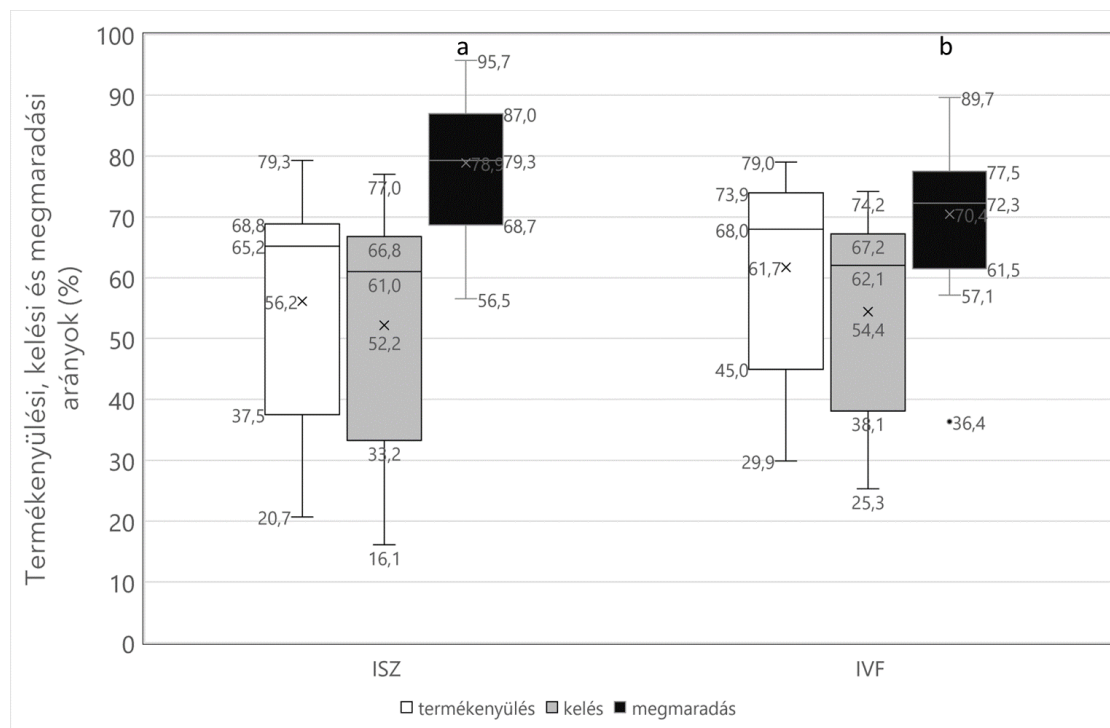
A kelési értékek tekintetében a két vizsgált csoport között nem volt statisztikailag igazolható különbség ($p > 0,05$, 13. ábra). Hasonlóan a termékenyüléshez, a kelési értékek is nagy szórást mutattak.



13. ábra. Termékenyülési és kelési értékeket összefoglaló dobozdiagram. ISZ: inszeminált csoport, IVF: *in vitro* fertilizáció csoport

(Box plot: a doboz alja az első kvartilis (Q1), a mező közepén található oszlop a medián vagy a második kvartilis (Q2), a doboz teteje a harmadik kvartilis (Q3), az interkvartilis tartomány a doboz magassága, vagyis a Q3 és Q1 közötti különbség, ×: átlag, felső talp: maximum érték, alsó talp: minimum érték, a körök a dobozokon kívül: szélsőértékek)

A termékenyítéstől eltelt 72. órában vizsgált megmaradási arányok nagy egyedi különbségeket mutattak mindkét csoport esetében (14. ábra). Az inszemináció csoportból származó utódok statisztikailag igazolhatóan jobb megmaradással bírtak, mint az *in vitro* fertilizációból származó egyedek ($p < 0,05$).



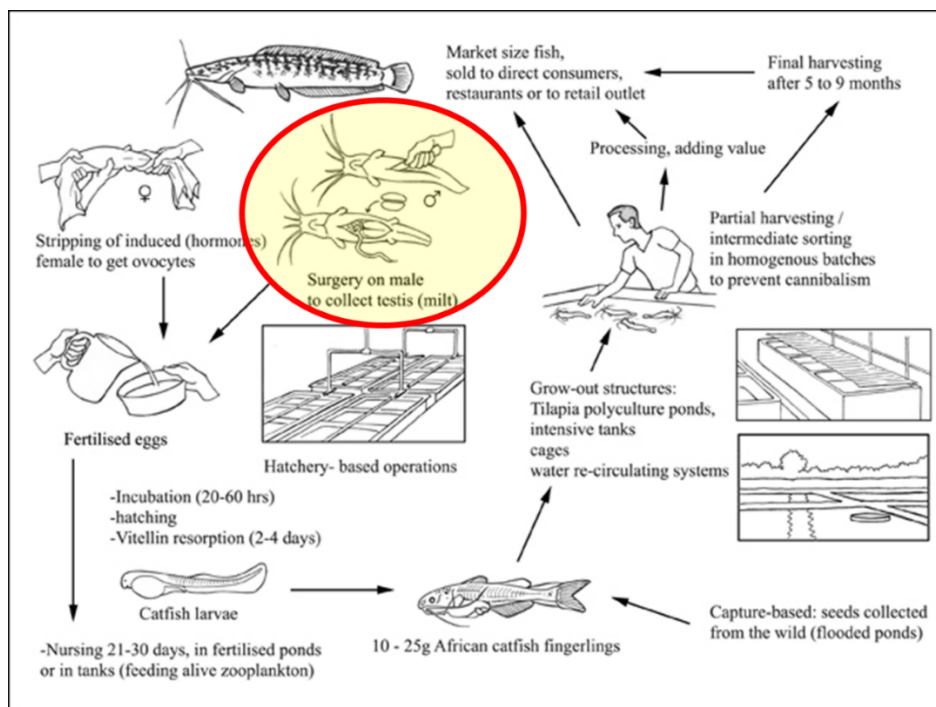
14. ábra. Összesített termékenyülési, kelési és megmaradási értékek. A különböző betűjelek az azonos paraméterek között mért statisztikailag igazolható különbséget jelölik ($p < 0,05$).

ISZ: inszeminált csoport, IVF: *in vitro* fertilizáció csoport

(Box plot: a doboz alja az első kvartilis (Q1), a mező közepén található oszlop a medián vagy a második kvartilis (Q2), a doboz teteje a harmadik kvartilis (Q3), az interkvartilis tartomány a doboz magassága, vagyis a Q3 és Q1 közötti különbség, ×: átlag, felső talp: maximum érték, alsó talp: minimum érték, a körök a dobozokon kívül: szélsőértékek)

5. Eredmények megvitatása

Az afrikai harcsa indukált szaporítása gazdag szakirodalommal rendelkezik, azonban a frissen gyűjtött (natív) hipofízissel történő hormonindukció kevésbé kutatott (Olaleye, 2005; Okomoda et al., 2017b; Mosha, 2018). Az ilyen módon történő mesterséges szaporítás a kevésbé fejlett infrastruktúrával rendelkező régiókban bevett gyakorlatnak számít, korábban már vizsgálták a különböző módon tárolt hipofízisek ovulációra gyakorolt hatását (Okomoda et al., 2017b; Szabó et al., 2023). Az afrikai harcsa szaporítás sajátos jellege miatt, azonban mindenképpen fel kell áldozni a hím ivart. A harcsafélék anatómiai jellege miatt nem lehet spermát fejni belőle, szemben a pontyfélékkel vagy a sügérfélékkel (perciformes). Ez annak köszönhető, hogy az ebbe a rendbe tartozó halakban a here és a spermavezeték között egy speciális ujszerű szerv helyezkedik el (szeminális vezikulum), ami a harcsafélék ívási sajátosságai miatt egy speciális, erősen viszkózus szekrétummal vonja be a spermiumsejteket. Ebből a szervből nem lehet spermát fejni, emiatt az afrikai harcsa -továbbá más harcsafélék, például az európai harcsa (*Silurus glanis*) is idetartozik- teljes egyedeit fel kell áldozni és belőlük sebészeti úton kell eltávolítani a herét. A kioperált heréből fogják majd a termékenyítéshez szükséges spermát kinyerni többnyire préselési technikával (15. ábra).



15. ábra. Az afrikai harcsa szaporításának főbb lépései (forrás: FAO, 2024; http2). Sárga körrel kiemelve, hogy leölt teljes kioperált heréjéből biztosítják a termékenyítéshez a spermát.

Kutatócsoportunk az elmúlt években kidolgozta az inszeminációs módszerű halszaporítást, melynek a lényege, hogy a már leölt afrikai harcsa tejeseből kinyert spermát ikrás halak petefészkébe juttatva (inszemináció), a beérési időszak alatt a spermiumsejtek megőrzik termékenyítőképességüket (9-12 óra). Ezt kihasználva gondoltuk úgy, hogy az inszeminációra feláldozott tejeseből ki lehetne nyerni a hipofízist és azt lehetne felhasználni az inszeminált ikrás hormonkezelésére is. Tudomásunk szerint munkacsoportunk használta először az inszemináció módszerű halszaporítási eljárást frissen gyűjtött afrikai harcsa hipofízis szuszpenzió hormonkezeléssel kombinálva.

Kísérletünk során az összes ikrás anyahal ovulált, a fejt ikratételek termékenyültek. Az inszemináció csoport esetében használt frissen gyűjtött hipofízissel történő hormonkezelés minden ikrás esetben sikeresen indukálta az ovulációt. A különböző csoportok halainak testtömegei és PGSI értékei statisztikailag nem különböztek egymástól. Az együttes PGSI értékek ($11,02 \pm 0,02\%$) hasonlóak voltak a munkacsoport által korábban leírtakkal $9,4 \pm 2,3$ (Müller et al., 2018b), $10,8 \pm 3,1\%$ (Müller et al., 2020b), $10,1 \pm 14,6$ (Kucska et al., 2022), azonban elmaradtak más szerzők által tapasztaltaktól: $17,03 \pm 2,22$; $16,96 \pm 2,11$ (Szabó et al., 2023).

A termékenyülési értékek között nem volt statisztikailag igazolható különbség (inszemináció: $56,2 \pm 18,03\%$; *in vitro* fertilizáció: $61,7 \pm 15,23\%$). Az inszeminált egyedeknél tapasztalt termékenyülési arányok elmaradtak a korábbi munkákban leírtakhoz képest: $74,7 \pm 18,4\%$ (Müller et al., 2018b), $57,9 \pm 8,8\%$ (10 órás sperma inkubációs idő, Müller et al., 2020), $93,0 \pm 3,57\%$ (24 órás spermatárolási idő, Okomoda et al., 2023). Afrikai harcsa halfaj esetében a hagyományos *in vitro* (száraz termékenyítési eljárás) termékenyített ikratételek termékenyülése átlagosan magas. Munkánk során az *in vitro* csoport esetében tapasztalt, a szakirodalmi adatokhoz képest alacsony értékek kiváltképp az anyahalak eltérő tartási körülményeiből adódhatnak. Az általunk használt egyedek kis testtömeggel (100-140 g) válnak ivaréretté, emellett takarmányozásuk kizárólag a kereskedelembe kapható takarmányok felhasználásával (nincsen vitamin és ásványi kiegészítés) történik. A kinyert ikratételek 10-15%-a már közvetlenül a fejéknél fehér (elhalt) állapotban volt, amelyeket az ikra-, és gamétatételek petricsészébe történő kiadagolásánál ugyanúgy felhasználtunk. Ezek az ikraszemek természetesen a későbbiekben nem termékenyülhettek, azonban a termékenyülési értékek meghatározásánál beletartoztak az összes ikraszembe.

Az inszeminációból származó utódok statisztikailag igazolhatóan jobb megmaradással rendelkeztek, mint az *in vitro* fertilizációból származó egyedek ($p < 0,05$). Korábban már Quyen et al. (2022) megfigyelték, hogy afrikai harcsa és vundu (*Heterobranchus longifilis*) hibridek

létrehozása során az inszemináció módszerű halszaporításból származó egyedek statisztikailag igazolhatóan magasabb megmaradási aránnyal rendelkeztek a 28 napos vizsgált időszakban, mint a hagyományos száraz termékenyítési eljárásból származó ivadék. Okomoda et al. (2023) munkájukban az inszeminált (24 órás petefészekbeli sperma inkubációs idő) anyahalaktól származó utódok túlélése meghaladta a kontroll csoportét, de a különbség nem volt szignifikáns. A kérdés pontos megválaszolására munkacsoportunk újabb kísérleteket folytatott le, amelyekben azonban nem sikerült bizonyítani, hogy az inszeminációs módszer életerősebb utódállományt eredményezne (Horváth, 2023).

További vizsgálatok szükségesek annak eldöntésére, hogy 3-4 testtömeg kg-os tejes halakból kinyerhető hipofízis mennyi élőtömegű ikrás hal beérésére elegendő (küszöbérték megállapítás), hogy az inszeminációs módszerű halszaporítással kombinálva gazdaságilag is jelentős utódállományt lehessen előállítani.

6. Összefoglalás

A MATE kutatói az elmúlt években kifejlesztettek egy új halszaporítási eljárást, az inszeminációt. A módszer a valódi külső megtermékenyítésű halfajok gonádjainak és ivarsejtjeinek a biológiai sajátosságain alapul. A spermiumok aktivációja a környezet ozmolalitás változásának (vízaktiváció) a következménye. Az inszemináció során a korábban kinyert spermiumok felinjektálva a petefészek ozmocomform környezetében hosszabb ideig képesek megőrizni termékenyítőképességüket. Az ovuláció bekövetkezésekor a gaméták együtt ürülnek, és a vízaktiváció hatására bekövetkezik a megtermékenyülés (Müller et al., 2018a).

Az afrikai harcsa (*Clarias*) egy gazdasági szempontból globális szinten is jelentős halfaj (FAO, 2022). Szaporítási technológiájának egyik fontos elemét képezi, hogy a kinyert ikratételek termékenyítéséhez a spermagyűjtés a teljes heréjének műtéti úton történő eltávolítása után történik, ami az egyed pusztulásával jár (Péteri et al., 2015; FAO, 2024). Munkacsoportunk elgondolása alapján célszerű lenne a here operációjával egyidejűleg a hal agyalapi mirigyét (hipofízis) is eltávolítani, amelyet alkalmazni lehetne az ikrások hormonkezelésére indukált szaporítás során. A hormonkezelést követően az inszeminációs módszer lehetőséget biztosítana a beérési idő alatt történő spermatárolásra. Munkánk során célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk: (i) a frissen gyűjtött afrikai harcsa hipofízisből készített hormonszuspenzióval történő kezelés hatásait az ikrások ovulációjára, (ii) a friss hipofízissel történő hormonindukció és az inszeminációs halszaporítási módszer együttes alkalmazásának lehetőségeit.

Kísérletünket a MATE, SZIC, AKI Hallaboratóriumában végeztük. Két csoportot hoztunk létre: *in vitro* fertilizáció (kontroll) és inszemináció csoportok. Az *in vitro* fertilizáció csoport (kontroll) esetében a kísérletbe vont ikrásokat ($n = 6, 249,33 \pm 36,41$ g) 1 Ovopel (GnRH-a + metoklopramid, Interfish Kft.) pellet/testtömeg kg intramuszkulárisan hormonkezeltük a spermanyerést 12 órával megelőzően. Közvetlenül a termékenyítés előtt a felhasznált tejest ($n = 1$, testtömeg 3402 g) elöltük, és a spermát a here műtéti úton történő eltávolítását követően nyertük. Az ikrások fejését követően az ikratételeket ($6 \times 3 = 18$ petricsésze) *in vitro* termékenyítettük. A teljes egyedtől az alsó állkapocs eltávolítását, valamint a koponya felnyitását követően kiműtöttük az agyalapi mirigyét is, amelyből hormonszuspenziót készítettünk. Az inszemináció csoport halait ($n = 6$; testtömeg $248,67 \pm 30,66$ g) a friss hipofízis szuszpenzió hormonkezeléssel egyidejűleg 1 ml

sperma/testtömeg kg inszemináltuk. Az inszeminációt követően 12 órával a halakat lefejtük, és így nyertük ki a kevert gamétaadagokat ($6 \times 3 = 18$ petricsésze), amelyeket víz hozzáadásával termékenyítettünk. A kísérlet során meghatároztuk a 12. órában mért termékenyülési, a kelési és a termékenyüléstől számított 72. órában mért megmaradási arányokat.

A kísérletbe vont összes ikrás ovulált, az inszemináció csoport esetében a friss hipofízissel történő hormonkezelés sikeresen indukálta az ovulációt. A termékenyülési és kelési arányokban nem volt szignifikáns különbség a két csoport között ($p > 0,05$), azonban az inszemináció csoportból származó utódok statisztikailag igazolhatóan jobb megmaradással bírtak, mint az *in vitro* csoport ivadéka ($p < 0,05$). A friss hipofízissel történő pontos testtömeg kilogrammonkénti hormonadagok (hatásküszöb) meghatározásához további kísérletek szükségesek.

7. Irodalomjegyzék

- Akpadja, C. R., Szabó, T., Radics, F., Barth, T., Horváth, L., 1996. Különböző GnRH vegyületek hatása az afrikai harcsa, *Clarias gariepinus* (Burchell) ovulációjára és a lefejt ikra minőségére. Halászat 88(4), 169-172.
- Brzuska, E. R., Ráczkevi, J., Adamek, J., Radics, F. 1999. Különböző hormonkezelések hatásának előzetes vizsgálata az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus* (Burchell)) ovulációjára, a termékenyülésre, illetve az embriók és a lárvák életképességére. Halászat 92(2), 88-92.
- Csorbai B., Urbányi B. (2018): A ponty (*Cyprinus carpio* L.) biológiája és tenyésztése. In Horváth L. (szerk.): A ponty szaporodásbiológiája és szaporítása (egyetemi tankönyv). Vármédia-Print Kft., Gödöllő, 203 p., 37-46. p
- Demska-Zakes, K., & Zakes, Z., 2002. Controlled spawning of pikeperch, *Stizostedion lucioperca*, in lake cages. Czech J. Anim. Sci, 47: 230-238
- FAO, 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. FAO, Rome.
- FAO, 2024. *Clarias gariepinus*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Pouomogne, V. In: Fisheries and Aquaculture. Rome.
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP, WHO. 2023. The State of Food Security and Nutrition in the World 2023. Urbanization, agrifood systems transformation and healthy diets across the rural-urban continuum. FAO, Rome.
- Gazsi, Gy., Berta, I., Ivánovics, B., Ruffilli, L., Szabó, T., Urbányi, B., Horváth, L., Müller, T., 2019. Külső megtermékenyítésű zebradánió (*Danio rerio*) ívatása teljes jelenléte nélkül, in: Halászati Kutatóintézet, Szarvas, pp. 92-93.
- Horváth L., Magyary I. (2007): A haszonhalak szaporítása. In Hancz Cs. (szerk.): Haltenyésztés, egyetemi jegyzet. Kaposvári Egyetem, Kaposvár, 262 p., 74-113. p.
- Horváth L., Urbányi B. (2000): Általános szaporodásbiológia. In Horváth L. (szerk.): Halbiológia és haltenyésztés (egyetemi tankönyv). Mezőgazda Kiadó, Budapest, 440 p., 168 -180. p.
- Horváth, Á., Páramo, S.M., Kovács, Á.I., Urbányi, B., Paz, H., 2010. Effect of ovarian fluid on the motility of fresh and cryopreserved sperm of the common carp (*Cyprinus carpio* 370 Linnaeus). Állattani Közlemények 95(1), 25-33.

- Horváth, Á., Urbányi, B., 2000. The effect of cryoprotectants on the motility and fertilizing capacity of cryopreserved African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) sperm. Aquacult. Res. 31(3), 317–324.
- Horváth, J., 2023. Afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) halfajban alkalmazott új halszaporítási módszer hatása a lárvák életképességére. TDK-dolgozat, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Gödöllő.
- Horváth, J., 2023. Halszaporítási technológia fejlesztés (indukált ivatás hím jelenléte nélkül süllő fajban). TDKdolgozat, in: Sütő, Z., (Ed.), 36. OTDK Programfüzet, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Kaposvár, pp. 26.
- Horváth, L., Tamás, G., Coche, A.G., Kovács, E., Moth-Poulsen, T., Woynarovich, A., 2015. Training manual on the advanced fry and fingerling production of carps in ponds. FAO.
- Ittész, I., Kronbauer, E. C., Szabó, T., Horváth, L., Urbányi, B., Müller, T., 2020. Propagation of jundia *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) by applying the ovarian sperm injection method. Aquac. Rep. 16, 100275.
- Kagawa, H., (2013): Oogenesis in teleost fish. Aqua BioSci. Monographs. 6, pp 99-127.
- Kime, D.E., Tveiten, H., 2002. Unusual motility characteristics of sperm of the spotted wolffish. J. Fish Biol. 61, 1549–1559.
- Kovács, É., Müller, T., Márián, T., Krasznai, Z., Urbányi, B., & Horváth, Á. 2010. Quality of cryopreserved African catfish sperm following post-thaw storage. J. Appl. Ichthyol. 26(5), 737-741.
- Kucska, B., Quyen, N. N., Szabó, T., Gebremichael, A., Alebachew, G. W., Bógó, B., Horváth, L., Csorbai, B., Urbányi, B., Kucharczyk, D., Keszte, Sz., Müller, T., 2022. The effects of different hormone administration methods on propagation successes in African catfish (*Clarias gariepinus*). Aquac. Rep. 26, 101311.
- Lukácsik, B. M., Kiss, G., György, Á. I., Lengyel, P., Csörgits, G., 2021. Magyarország tógazdasági és intenzív üzemi haltermelése 2020-ban. Halászat 114, 87–96.
- Miskolczi, E., Mihálffy, S., Várkonyi, E. P., Urbányi, B., & Horváth, Á., 2005. Examination of larval malformations in African catfish *Clarias gariepinus* following fertilization with cryopreserved sperm. Aquaculture 247(1-4), 119-125.
- Mordenti, O., Casalini, A., Mandelli, M., Di Biase, A., 2014. A closed recirculating aquaculture system for artificial seed production of the European eel (*Anguilla anguilla*): Technology development for spontaneous spawning and eggs incubation. Aquac. Eng. 58, 88–94.

- Mosha, S. S., 2018. Recent comparative studies on the performance and survival rate of African catfish (*Clarias gariepinus*) larval produced under natural and synthetics hormones: A review. *Journal of Aquaculture Research and Development* 9(3), 1-6.
- Müller, T., 2022. Keltetőházi halszaporítási gyakorlattól eltérő új-és újszerű módszertani eljárások. Doktori értekezés, Magyar Agrár-és Élettudományi Egyetem, Gödöllő.
- Müller, T., Ács, E., Beliczky, G., Makk, J., Földi, A., Kucska, B., Horváth, L., Ittész, A., Hegyi, A., Szabó, T., Urbányi, B., Quyến, N.N., Orbán, L., Havasi, M., 2020b. New observations about the fertilisation capacity and latency time of sperm inseminated into the ovary of African catfish (*Clarias gariepinus*), an oviparous model fish. *Aquaculture* 522, 735109.
- Müller, T., Horváth, Á., Takahashi, E., Kolics, B., Decsi, K., Bakos, K., Kovács, B., Taller, J., Bercsényi, M., Horváth, L., Urbányi, B., Adachi, S., Katsutoshi, A., Yamaha, E., 2012. Artificial hybridization of Japanese and European eel (*Anguilla japonica* × *A. anguilla*) by using cryopreserved sperm from freshwater reared males. *Aquaculture* 350-353, 130-133.
- Müller, T., Horváth, L., Szabó, T., Ittész, I., Bognár, A., Faidt, P., Ittész, Á., Urbányi, B., Kucska, B., 2018a. Novel method for induced propagation of fish: sperm injection in oviducts and ovary / ovarian lavage with sperm. *Aquaculture* 482, 124-129.
- Müller, T., Kucska, B., Horváth, L., Ittész, Á., Urbányi, B., Blake, C., Gutti, Cs., Csorbai, B., Kovács, B., Szabó, T., 2018b. Successful, induced propagation of African catfish (*Clarias gariepinus*) by ovarian lavage with sperm and hormone mixture. *Aquaculture* 485, 197-200.
- Müller, T., Kucska, B., Szabó, T., Horváth, L., Horváth, Á., Ittész, I., Havasi, M., Urbányi, B., 2020a. A magyar halszaporítás technológiai kutatások sarokkövei és egy új indukált szaporítási mód bemutatása = Milestones of Hungarian Fish Reproduction Technology Research and Introduction of a New Induced Reproduction Method. *Állattenyésztés és takarmányozás* 69(3), 305-316.
- Müller, T., Szabó, T., Kollár, T., Csorbai, B., Marinović, Z., Horváth, L., Kucska, B., Bodnár, Á., Urbányi, B., Horváth, Á. (2019): Artificial insemination of African catfish (*Clarias gariepinus*) using cryopreserved sperm. *Theriogenology* 123, 145-150.
- Ohta, H., Kagawa, H., Tanaka, H., Okuzawa, K., Iinuma, N., Hirose, K. 1997. Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Physiol. Biochem.* 17, 163-169.
- Okomoda, V. T., Amighty, R. O., Bem, T. M., Amaantimin, J., Nurizzati, I., Koh, I. C. C., Abol-Munafi, A. B., Ikhwanuddin, M., 2023. Ovarian lavage method as an alternative route for hormonal administration and short-term sperm storage in *Clarias gariepinus*. *Theriogenology* 198, 203-209.

- Okomoda, V.T., Tihamiyu, L.O., Kwaghger, D., 2017b. Spawning performance of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) induced with ethanol preserved and fresh catfish pituitary extract. *Zygote* 25, 376–382.
- Olaleye, V. F., 2005. A review of reproduction and gamete management in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). *Ife journal of Science* 7(1), 63-70.
- Péteri, A., Horváth, L., Radics, F., Puppáné, B. F., 1989. Az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) tenyésztése. *Halászat* 82(3), 86-91.
- Péteri, A., Mouth-Poulsen, T., Kovács, É., Tóth, I., Woynarovich, A., 2015. African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) production with special reference to temperate zones, FAO, Budapest.
- Quyến, N. N., Alebachew, G. W., Kucska, B., Kovács, G., Halasi-Kovács, B., Ferincz, Á., Staszny, Á., Horváth, L., Urbányi, B., Müller, T. 2022. Model experiment for practical application of inseminated sperm method for production of interspecific hybrids (*Clarias gariepinus* × *Heterobranchus longifilis*). *Aquac. Rep.* 27, 101418.
- Rónyai, A., Kakuk, Cs., Kondacs, J., 2008. Egy újabb szintetikus gonadotrop-releasing hormon, a Gonazon alkalmazhatósága a ponty (*Cyprinus carpio* L.) és az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus* Burchell) szaporításában. *Halászat* 101(2), 78-82.
- Szabó, T., Erdei, B., Urbányi, B., 2010. Delayed in vitro fertilization of African catfish (*Clarias gariepinus*) and common carp (*Cyprinus carpio*) eggs in ovarian fluid of African catfish and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *J. Appl. Ichthyol.*, 26. 823-825.
- Szabó, T., Radics, F., Barth, T., Horváth, L., 2007. In vivo activity of native GnRHs and their analogues on ovulation in the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). *Aquacult. Res.*, 38/2. 140-146.
- Szabó, T., Radics, F., Borsos, Á., Fodor, B., Müller, T., Urbányi, B., Horváth, L., 2023. Evaluation of the efficacy of acetone-dried common carp pituitary during induced breeding of African catfish (*Clarias gariepinus*) after an extremely long-term storage. *Aquaculture Reports* 33, 101762.
- Tamás, G., Csorbai, B., Kovács, É., Németh, I., Horváth, L., 2006. A süllő (*Sander lucioperca*) szaporítási technológiájának továbbfejlesztése. *Halászat* 99, 157-170.
- Urbányi, B., Horváth, Á., Varga, Z., Horváth, L., Magyary, I., Radics, F., 1999. Effect of extenders on sperm cryopreservation of African catfish. *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Aquacult. Res.*, 30. 145-151.
- Urbányi, B., Horváth, Á., Varga, Zs., Magyary, I., Horváth, I., 1997. Kísérletek az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) spermájának mélyhűtésére. *Halászatfejlesztés*, 20. 39-48.

- Varga, Á., Kucska, B., Horváth, J., Boros, A., Varju-Katona, M., Szabó, T., Ljubobratovic, U., Urbányi, B., Müller, T., 2022. A süllő ovulációjának ponty hipofízissel történő indukálásával kapcsolatos megfigyeléseink, valamint az inszeminált ikrások ikraszórása és termékenyülése, in: Halászatfejlesztés 39., Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halászati Kutató Központ, Szarvas, pp. 73-75 p.
- Von Ihering, R., de Azevedo, P. 1936. As piabas dos açudes nordestinos (Characidae, Tetragonopterinae). Arch. Znst. Biol. (Sao Paolo) 7, 75-110.
- Watson, C.A., Hill, J.E., Graves, J.S., Wood, A.L., Kilgore, K.H., 2009a. Use of a novel induced spawning technique for the first reported captive spawning of *Tetraodon nigroviridis*. Mar. Genomics 2, 143–146.
- Watson, C.A., Wood, A., Graves, J.S., 2009b. New technique for administration of human chorionic gonadotropin – Ovarian lavage, in: Aquaculture America 2009b. Seattle, USA, p. 394
- Wojnarovich, E., 1996. Hogyan került az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) Magyarországra? Halászat 89(1), 30.

Internetes hivatkozások

- http1: <https://www.weforum.org/agenda/2023/03/4-ways-to-ensure-the-future-of-aquaculture-is-sustainable/>
- http2: https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/clarias_gariepinus?lang=en

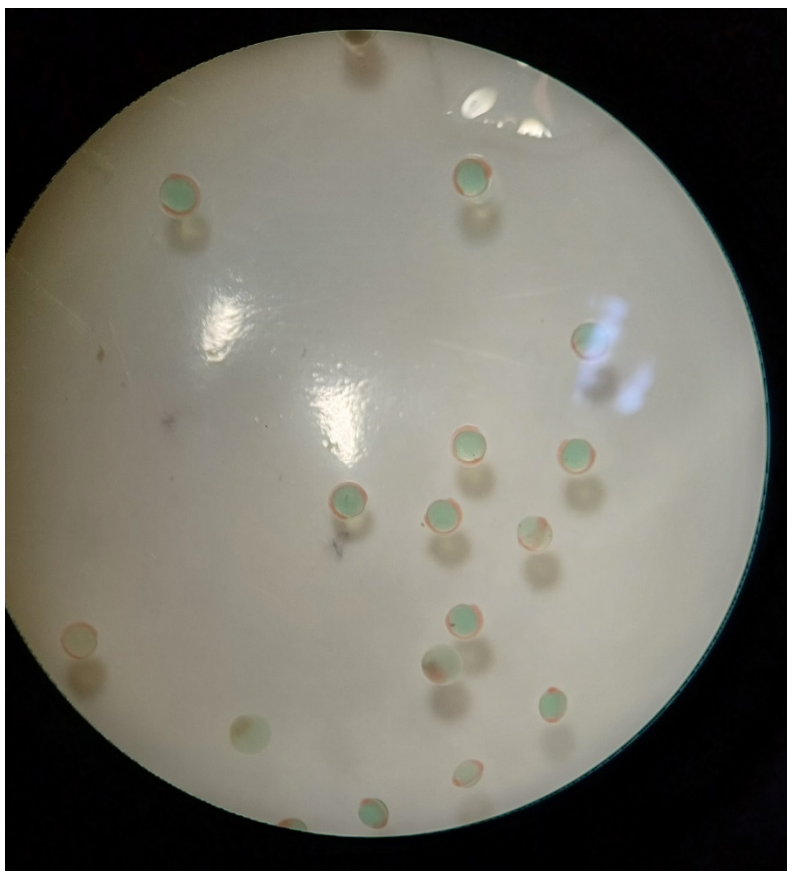
8. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, Prof. Dr. Müller Tamás egyetemi tanárnak és Horváth József István Phd. hallgatónak, akik hétköznapiakon és hétvégéken is nagyon sokat segítettek a dolgozat elkészítésében. Szeretnék köszönetet mondani a MATE Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézetnek, hogy biztosította a helyszínt a kísérletek elvégzéséhez. Munkánkat az NKFI Alap (NKFI_K_135824) és a 2020-1.2.4 TÉT Ipari TR (2021-00015) támogatta.

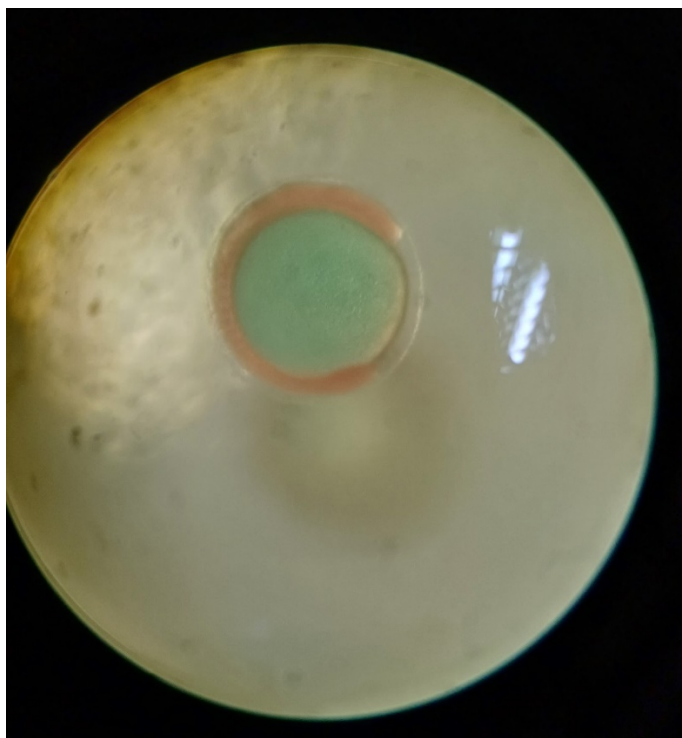
9. Melléklet



16. ábra: Afrikai harcsa mérése (fotó: saját felvétel)



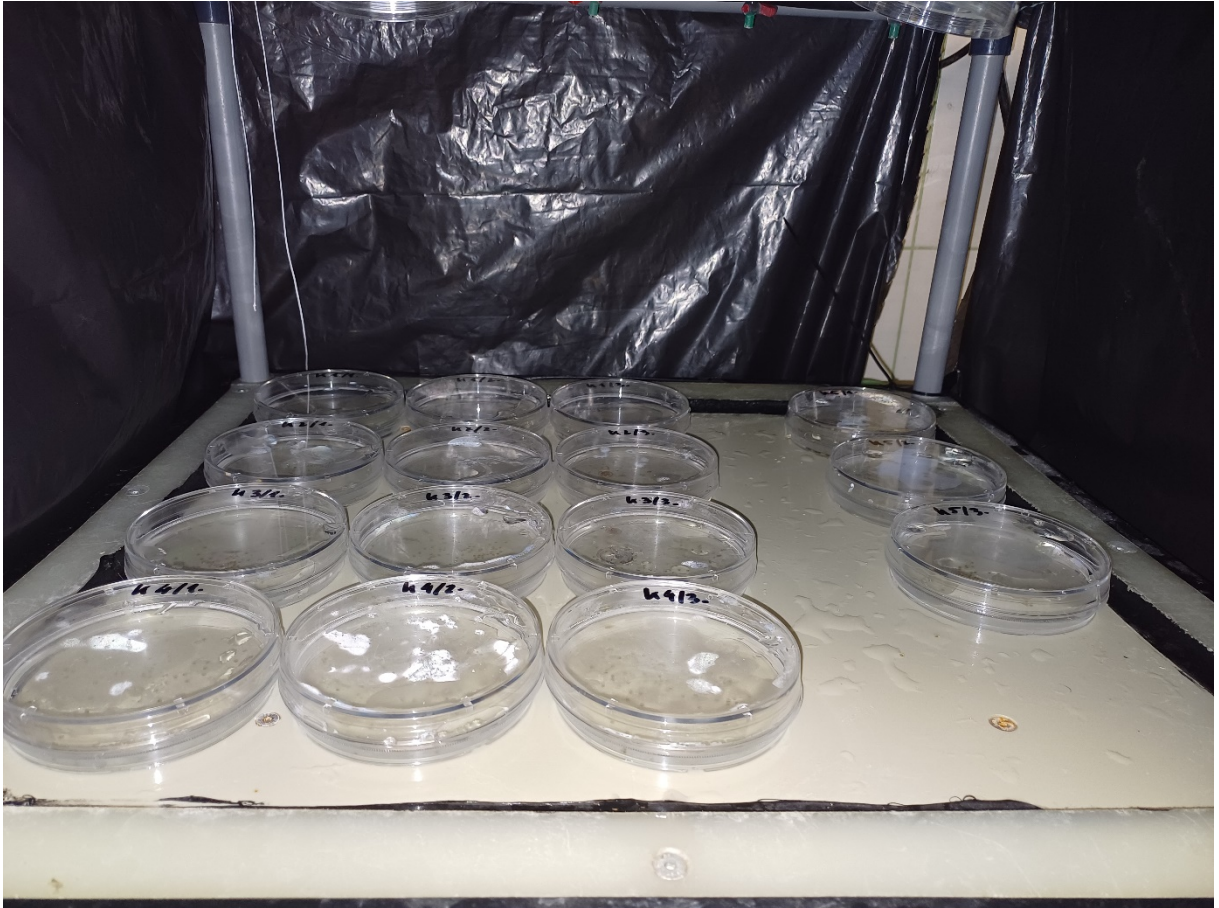
17. ábra: termékenyült ikraszemek (fotó: saját felvétel)



18. ábra: fejlődő embrió (fotó: saját felvétel)



19. ábra: kísérletbe vont ikrások egyedi elhelyezését szolgáló fyllen ketrecek (fotó: saját felvétel)



20. ábra: ikrainkubáció (fotó: saját felvétel)