



INTÉZMÉNYI TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI KONFERENCIA

2024. november 20.

Indukált halszaporítási módszerfejlesztés afrikai harcsában (*Clarias gariepinus*)

Induced fish propagation method development in African catfish (*Clarias gariepinus*)

Készítette: Tóth András

OCPC1K

Takarmányozási és takarmánybiztonsági mérnök
mesterképzés

Nappali tagozat

Szent István Campus

Témavezetők:

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. Irodalmi áttekintés	4
2.1. A halak általános szaporodásbiológiája	4
2.2. A halak ivarszervei	4
2.3. Halszaporítási módszerek	6
2.3.1. Természetes ívatás	6
2.3.2. Fél mesterséges szaporítás vagy indukált ívatás	6
2.3.3. Indukált mesterséges vagy indukált keltetőházi szaporítási módszer	6
2.4. Az afrikai harcra	10
2.4.1. Általános bemutatás	10
2.4.2. Szaporítása	11
3. Anyag és módszer	14
3.1. Kísérleti körülmények bemutatása	14
3.2. Előkísérlet	15
3.3. Főkísérlet.....	17
3.3.1. Kontroll csoport (IVF) hormonkezelése.....	17
3.3.2. Hipofízis eltávolítása, spermanyerés	19
3.3.3. Spermaminőség-ellenőrzés.....	20
3.3.4. Kísérleti csoportok hormonkezelése	21
3.3.5. Termékenyítés, ikrainkubáció	22
3.3.6. Statisztikai elemzés.....	23
4. Eredmények	24
4.1. Előkísérlet	24
4.2. Főkísérlet.....	24
4.2.1. Spermaminőség-ellenőrzés.....	24
4.2.2. Testtömeg és fejt ikratömeg közötti összefüggések.....	24
4.2.3. Termékenyüléssel kapcsolatos vizsgálati eredmények	26
5. Eredmények megvitatása	28
6. Összefoglalás	31
7. Irodalomjegyzék	32
8. Köszönetnyilvánítás	40
9. Melléklet.....	41

1. Bevezetés és célkitűzések

A becslések alapján 2022-ben 691-783 millió embert érintett az éhezés globális szinten, ami körülbelül 122 millió fővel több, mint a COVID-19 világjárvány előtti állapot. Afrikában az élelmi krízisek 2010 óta növekvő tendenciát mutatnak, 2021-ről 2022-re Afrika összes régiójában nőtt az alultápláltság gyakorisága, valamint az alultáplált emberek száma is (millió főre vetítve) (FAO, 2023). Az akvakultúra – a tengeri és édesvízi szervezetek kontrollált körülmények között történő termelése az állati eredetű élelmiszerek globális előállításának jelentős részét teszi ki. A teljes globális akvakultúra termelés 204%-kal nőtt az elmúlt több mint 20 évben. 2000-ben össztermelés 43 millió tonna volt, míg ez 2022-ben 130,9 tonna. Afrikában a vízi állati szervezetek termelése azonban ugyanebben az időszakban közel 500%-kal (479,8%) nőtt (FAO, 2022; FAO, 2023; FAO, 2024). Könnyen belátható, hogy a kontinens élelmezésében az akvakultúrából származó táplálék egyre nagyobb szerephez fog jutni a jövőben.

A Clarias fajok – ideértve az afrikai harcsát (*Clarias gariepinus*) is, mint az egyik legfontosabb képviselőjét a genusnak – gazdasági jelentősége világszinten is jelentős, édesvízi haltermelésből származó 2,5%-os részarányának köszönhetően (FAO, 2022). Az Európai Unióban hazánk piacvezető a faj termelésében megelőzve Hollandiát (Lukácsik, 2021).

Az afrikai harcsa modern szaporítástechnológiája a különböző készítményekkel történő hormonindukción alapul (Péteri et al., 2015). Akadályozza a szintetikus hormonkészítmények (pl. Ovaprim, Ovatide, hCG, Fishspawn stb.) elterjedését egyes elmaradottabb afrikai és ázsiai régiókban a készítmények relatíve magas ára, valamint ezen készítményeknek és a gyűjtött spermának a felhasználásig történő megfelelő tárolása (0-4 °C; Okomoda et al., 2023). A frissen gyűjtött natív agyalapi mirigyből (hipofízis) készített hormonszuspenzió egyszerű és olcsó alternatívát jelenthet a szintetikus hormon készítményekkel szemben. Az inszeminációs módszer – a sperma petefészekbe történő bejuttatása, rövid idejű tárolása bódított ikrásokba a hormonkezelésükkel egyidejűleg.

Jelen munkánkban célul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy a két módszer (natív hipofízis injekció és inszemináció ugyanazon donor egyedtől) összevonva eredményesen alkalmazható-e az afrikai harcsa szaporításában. Fontos kiemelni, hogy nem kimondottan az afrikai harcsa szaporításának fejlesztése volt a célunk, hanem a fajt modell halfajként használtuk. Azoknál a halaknál, ahol a spermagyűjtés a teljes halak feláldozásával jár – elsősorban a harcsaalakúak rendjébe tartozó fajok esetében –, ez a módszer gyakorlati alkalmazási lehetőségeket kínálhat.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A halak általános szaporodásbiológiája

A csontoshalak (Osteichthyes) poikilotherm, vagyis változó testhőmérsékletű élőlények, szaporodásuk kizárólag ivarosán történik, és teljes mértékben vízhez kötött. Természetben történő szaporodásukat meghatározzák az alapvető és kiváltó tényezők. Ezek a külső környezeti feltételek, illetve a szükséges élettani körülmények elengedhetetlenek a szaporodás biztosításához. Ahhoz, hogy az ivarsejtképzés megfelelő legyen, az állat teljes szervezetének zökkenőmentesen kell működnie, hiszen ez a funkció az első melyet kedvezőtlen körülmények esetén a hal szervezete felfüggeszt. A valódi külső megtermékenyítésű (ovulipar) halfajokra – őshonos hazai halfajaink is ebbe a kategóriába tartoznak – jellemző a magas kezdeti elhullási arány, melyben nagy szerepet játszik a külső környezeti tényezőknek való jelentős kitettség is, melyet nagy mennyiségű ivartermékkel ellensúlyoznak (Horváth és Urbányi, 2000).

Hazánkban megtalálható halfajainkról összességében elmondható, hogy külső megtermékenyítésűek, illetve az utódgondozás fejlettségének mértéke és a peteszám között összefüggés fedezhető fel. A szaporodás során (ívás) az ivarsejtek a vízben aktiválódnak (vízaktiváció), majd pedig egyesülnek és megtörténik a termékenyülés (Horváth és Magyary, 2007).

2.2. A halak ivarszervei

A halak ivarszervei a gonádok (ivarmirigyek), melyek a csontoshalak esetében páros szervként vannak jelen. A csontoshalak ivarszervei a gononefrotom ventromediális részéről ventrálsan a genitális redőből fejlődnek. Itt találhatóak azok az ősvarsejtek, melyek tovább differenciálódnak az egyedfejlődés (ontogenezis) során (Kiss, 2000; Lubzens et al., 2009).

A hím ivarú halak páros szaporítószerve a here, amelynek a hagyományos besorolás alapján két fő típusát különítjük el, az egyik a lebenyes vagy lobuláris here. Ezzel a here típussal rendelkezik a gazdaságilag jelentős halfajok legnagyobb része. Felépítésében egy szerteágazó csőrendszerhez hasonló. Belsejében kis lebenykék helyezkednek el, melyekben érett spermiumok vannak. A másik típusú here a csöves vagy másnéven tubuláris here. Itt a spermiumok csomókban, úgynevezett spermatozeugmákban találhatóak (Billard et al., 1982).

A hímivarsejtek aktivációja a vízzel való érintkezés (környezet ozmolalitásának változása) útján történik. Az aktiváció bekövetkeztével a spermiumok kb. 60 másodpercig

termékenyítőképesek. A petesejt által kibocsátott kémiai anyagok segítségével a spermiumsejtek aktív helyváltoztató mozgással jutnak el a petesejtbe, megtermékenyítve azt. A peteburok külső felszínén egy petenyílás, másnéven mikropyle csatorna található, amely a spermiumsejtnak biztosít bejutást. A megtermékenyítésre pár perc áll rendelkezésre, utána a petesejt megduzzad a vízzel való érintkezés hatására, és a mikropyle csatorna elzáródik, megakadályozva a megtermékenyítést (Horváth és Magyary, 2007). A megtermékenyítés két főbb fázisa a spermiumok behatolása a petesejtbe (impregnatio), és a nukleuszoknak a fúziója (conjugatio) (Kiss, 2000). A herékben a spermiumokon kívül egyéb szomatikus sejtípusok is találhatóak, ezeket Sertoli-sejteknek és intersticiális sejteknek nevezik. Az intersticiális sejtek a szexuálissteroid-hormon termeléséért felelősek. A Sertoli-sejtekbe ágyazva történik a spermatogenezis. Fontos azonban megjegyezni, hogy a halaknál a ciszta-sejt elnevezés az elfogadottabb, ugyanis a Sertoli-sejt kifejezést elsősorban emlősök esetében használják (Horváth és Urbányi, 2000).

A női ivarszervet petefészeknek nevezik, amelynek részei az oogóniumok, az oociták, körülöttük a tüszőhámsejtek és egyéb szövetek (Nagahama, 1983). Az ivarsejtek és a táplálásukat szolgáló tüszőhámsejtek a petefészek falából kiváló lamellákból fűződnek le (Kiss, 2000). A petefészeknél az ivarnyílással való kapcsolat alapján három fő típust különböztetünk meg a csontoshalaknál. Az egyik a gimnovárium, ahol nincs kialakult petevezető (oviductus). Ez a petefészek típus például az angolnaalakúak (Anguilliformes) és a csíkfélék (Cobitidae) taxonjára jellemző. A másodlagos gimnovárium típus esetében már van petevezető, azonban ez nem kapcsolódik közvetlenül a petefészekhez (pl.: Acipenseriformes – tokalakúak). A harmadik típus a cisztovárium, ahol az ivarnyílás és a petefészek közötti kapcsolatot a petevezető hozza létre (pl.: pontyfélék, Cypriniformes) (Horváth és Urbányi, 2000; Kagawa, 2013; Müller, 2022).

A valódi külső megtermékenyítésű halfajok esetében alkalmazott másik csoportosítási rendszer az oociták fejlődési mintázata alapján kategorizálja a különböző típusokat. Az első a szinkron típusú, ahol homogén képet kapunk hiszen az oociták egy adott fejlődési fázisban vannak jelen. Ilyen található például a sügérben (*Perca fluviatilis*). A második a csoport-szinkron típus, ahol az oociták legább kettő, jól elkülönülő fejlettségi stádiumban láthatóak. Ez jellemző például az ezüstös tengeri pérre (*Mugil curema*). A harmadik az aszinkron vagy metachrone típus, itt az oociták minden fejlettségi állapota egyszerre van jelen. Erre a legáltalánosabb példa a ponty (*Cyprinus carpio*) (Wallace és Sellman, 1981; de Vlaming et al., 1982; Nagahama, 1983).

2.3. Halszaporítási módszerek

A következő bekezdésekben bemutatom a legfontosabb halszaporítási eljárásokat.

2.3.1. Természetes ívatás

A módszer lényege, hogy a természetes környezetben előforduló körülményeket lemásolva egy mesterségesen létrehozott környezetben készítjük ívásra a felkészült halakat. Előnye, hogy könnyen nagy mennyiségű ivadék előállítására van lehetőség. Leggyakrabban pontyfélék szaporítására használatos módszer, melynek működési elve, hogy a dús lágyszárú növényzettel borított területet kis mélységben vízzel elárasztva a halak természetes módon leívnak. Halgazdaságokban gyakran alkalmazott a Dubics-módszeren alapuló kistavas és nagytavas ívatás. A nagytavi ívatásnál ideális feltételek esetén elég nagy mennyiségben állítható elő ivadék (Horváth és Urbányi, 2000). A leggyakrabban labor körülmények között alkalmazott halfaj, a zebradánio szaporítására is ezt a módszert alkalmazzák (Nasiadka és Clark, 2012).

2.3.2. Félmesterséges szaporítás vagy indukált ívatás

A félmesterséges szaporítás vagy indukált ívatás során bizonyos tényezők, például az ívás időpontja vagy az azokat kiváltó tényezők mesterséges befolyásolására, helyettesítésére kerül sor hormonkezeléssel. A kezelés után az anyahalat természetes ívóhelyüket imitáló környezetbe helyezik vissza. Az ívási környezet kiválasztása során elsőrendű szempont az utódok minél nagyobb arányú megmaradása. Különböző halfajok esetében faji és egyedi különbségek befolyásolhatják a szaporodás és az utódok megmaradásának hatékonyságát (Horváth és Urbányi, 2000). A módszer széles körben elterjedt és jelenleg is használják tógazdasági körülmények között például süllő (*Sander lucioperca*) szaporításánál, illetve laborkörülmények között angolnafélék (*Anguilla spp.*) esetében (Tamás et al., 2006; Okamura et al., 2014).

2.3.3. Indukált mesterséges vagy indukált keltetőházi szaporítási módszer

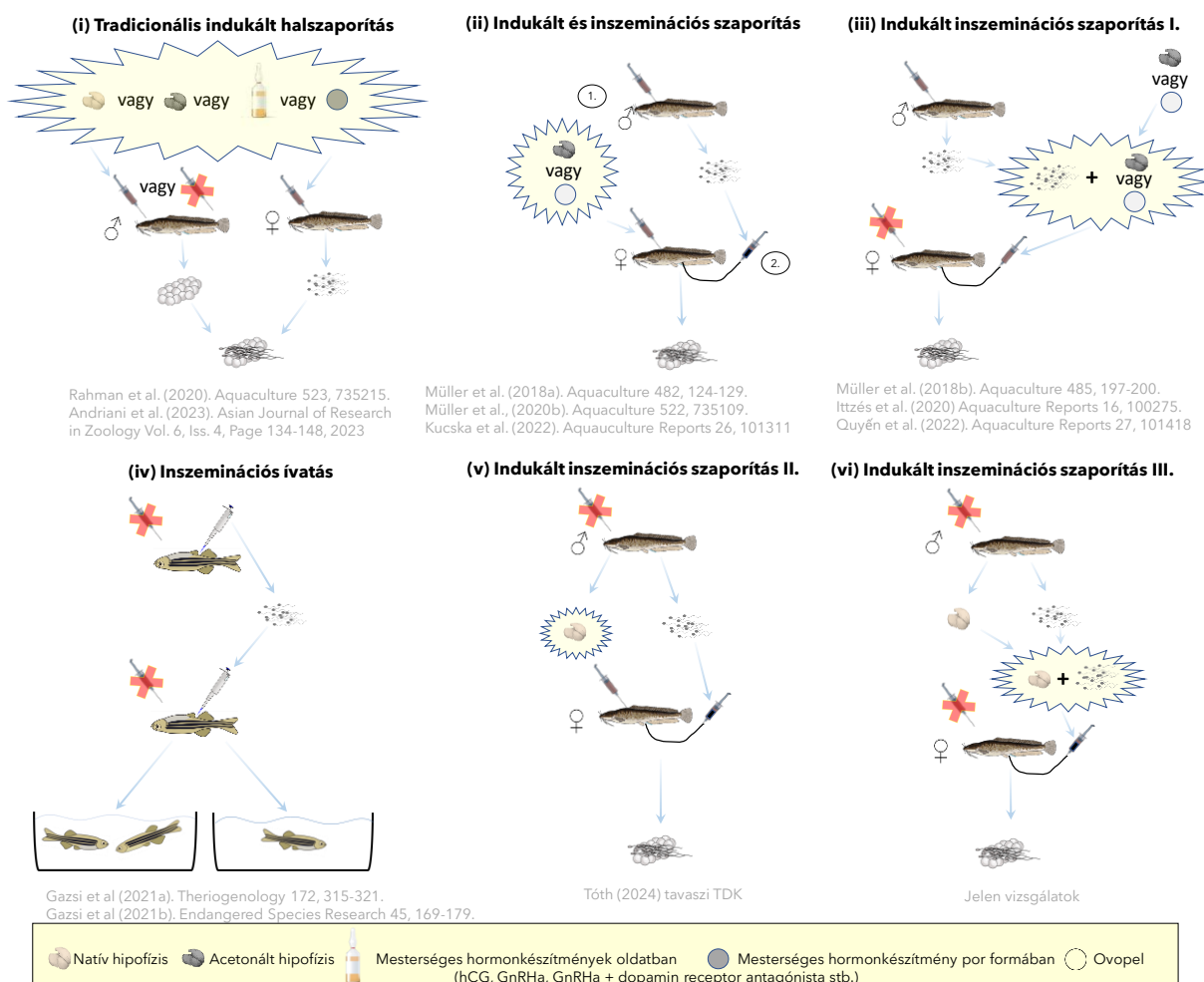
A szaporodáshoz szükséges környezeti tényezők kiváltása hormonkezeléssel történik az ívásra felkészült halaknál, így az ikraleválás folyamata és a spermatermelés az ívási feltételek hiányában is megtörténik. A módszernek köszönhetően az ívási környezet imitálására nincsen szükség. Ez jelentősen megkönnyíti azoknak a halfajoknak a szaporítását, ahol az ívási környezet lemásolása nagyon körülményesen vagy egyáltalán nem valósítható meg (Horváth és Magyary, 2007; Müller, 2022).

A hormonkezelést követően a halakból kinyert ivarterméket hasznosítják termékenyítés céljára. A keltetés mesterséges környezetben történik, így lehetőség van a megtermékenyített ikrák folyamatos kontroll alatt tartására. A módszer sikeres műveléséhez a technológia pontos, szakaszosan tagolt végrehajtása elengedhetetlen (Horváth és Urbányi, 2000). Gazdaságilag hasznosított halfajaink nagyobb részét ezzel a technológiával szaporítják, például ponty, afrikai harcsa, harcsa (*Silurus glanis*) vagy csuka (*Esox lucius*). Napjainkra viszont számottevően megnőtt az ezzel a módszerrel szaporított pontyfélék száma is. Ezek közé tartozik a jászkeszeg (*Leociscus idus*, Molnár et al., 2019) vagy a domolykó (*Squalius cephalus*, Bernáth et al., 2023).

Az ivásra fel nem készült halak esetében van lehetőség hormonálisan indukált ivarérelésre is. Ebben az esetben több hormonkezelés történik hosszabb időtávon keresztül. A tejesek esetében a folyamatos spermatermelés következtében erre nincs szükség. Ennek a kezelésnek kettő főbb lépcsőfoka van. Először egy több hetes hosszan elnyúló hormonkezelést alkalmaznak mindkét ivar esetében, melynek célja az ivarsejtképződés vagy gametogenezis elősegítése. Másodsorban a folyamat végén egy döntő adagú hormon bejuttatásával kiváltják az ovulációt az ikrásokban. A módszert gyakran alkalmazzák különböző angolnafajok szaporítása esetén (Ohta et al., 1997; Mordenti et al., 2014; Müller et al., 2012).

2.3.3.1. Inszeminációs halszaporítási módszer külső megtermékenyítésű halakban

A következőkben a kutatócsoportunk által kifejlesztett inszeminációs módszerű szaporítás főbb jellemzőit veszem át (1. ábra). A szaporítási sajátosságok fejlesztésének vázlatos áttekintése utal a mostani dolgozatban megfogalmazott célkitűzésekre.



1. ábra. Különböző indukált és inszeminációs halszaporítási módszerek (készítette: Dr. Müller Tamás)

Az indukált keltetőházi vagy tradicionális indukált halszaporítás (1. ábra (i)) során a szaporodásra kész halaknál hormonkezeléssel helyettesítik a természetes szaporodási környezetet befolyásoló tényezőket. Ennek következtében az ikrák leválása és a spermiumok felhalmozódása mesterséges környezetben, az ívási feltételek megléte nélkül is végbemegy. Ezáltal szükségessé válik az ívási környezet pontos rekonstrukciója, amely bizonyos halfajok esetében mesterséges körülmények között nem, vagy csak nehézkesen valósítható meg (Horváth és Magyary, 2007). A halakból kinyert ivartermékekkel termékenyítenek, majd a megtermékenyített ikrát ellenőrzött körülmények között keltetik. Ezen széles körben alkalmazott és hatékony szaporítási módszer sikeres alkalmazása speciális technikai feltételeket (pl. keltetőház) és precíz, szakaszokra bontott szaporítási technológiát igényel (Horváth és Urbányi, 2000). Gazdaságilag jelentős halainkat, mint a pontyféléket, a csukát (*Esox lucius*), a süllőt és a harcsát, jelenleg ezzel a módszerrel szaporítják. A különböző szaporítási

módszerekről részletes magyar és angol nyelvű leírások találhatók Horváth et al. (1984, 1985, 2000, 2015) munkáiban.

Indukált és inszeminált módszer (1. ábra (ii)) A mesterséges spermafelhelyezés (inszemináció) módszer alapja, hogy a spermiumok biológiai aktivitásukat megtartva hosszabb ideig „tárolhatók” a petefészek lebenyben az indukált szaporítás (vagy szaporodás) előtt, valódi külső megtermékenyítésű halfajokban. Íváskor (ovulációkor) ilyen esetben a gaméták együtt ürülnek és vízaktivációkor bekövetkezik az ivarsejt egyesülés, azaz a termékenyülés. A módszer egyszerű a programozott íváásra felkészített és bódított ikrások petefészke lebenyébe fecskendően rögzített szonda vagy katéter segítségével juttatjuk az előzőleg gyűjtött és minőségellenőrzésen átesett, egy-vagy több hím-től származó, kevert sperma adagot/adagokat egyidőben a döntő adagú injektált hormonkezeléssel (Müller et al., 2018a; Müller et al., 2020a; Müller et al., 2020b; Kucska et al., 2022; Quyén et al., 2022).

Az Indukált inszeminációs szaporítás I. (1. ábra (iii)) abban különbözik az előző módszertől, hogy a spermába szuszpendált acetonnal hipofízis vagy Ovopel (mGnRh + metoklopramid) keveréket egy menetben juttatják fel a petefészkelebe. A beérési idő alatt a szeminális plazma felszívódásával a spermába kevert hormon átjut a petefészke szisztémás keringésébe és indukálja az oociták végső beérését. Ezalatt a spermiumsejtek sem károsodnak és vízaktivációt követően megtermékenyíteni tudják az ovulált ikrásokat nagy hatékonysággal (Müller et al., 2018b, Ittész et al (2020), Kucska et al, 2022).

Az Inszeminációs ívatáskor (1. ábra (iv)) hormonkezelés nélkül, csak sperma injektálást követő fényprogram alkalmazásával sikerült spontán ikrászórásra bírni labor körülmények között zebradanio (*Danio rerio*) ikrásokat (parciális ovuláció következett be). Az ikrások petefészkebe injektált és ott tárolt sperma feltétlenül szükséges, de egyidejűleg ívó tej jelenléte már nem feltétel a sikeres utódlétrehozáshoz, amennyiben (akár részleges, vagy teljes) ovulációra lehet bírni az ikrásokat (Gazsi et al., 2021a,b).

Az Indukált inszeminációs szaporítás II. (1. ábra (v)) ugyanabból a tejesből származó natív hipofízis biztosítja az indukált hormonkezelést, valamint az inszeminációhoz szükséges spermát is, amelyet ebből a halból gyűjtenek össze, a két kezelést egyidőben, de két menetben oldják meg. Ebben a szaporítási módszerben a tejeseket már nem hormon kezeljük, hogy a hipofízisben tárolódó GtH hormon tartalom ne veszítsen hatóanyagot (Horváth et al., 2024; Tóth, 2024).

Az Indukált inszeminációs szaporítás III. (1. ábra (vi)), valójában ennek a dolgozatnak a célkitűzése is egyben, hogy ugyanabból a tejesből származó natív hipofízis és sperma keveréke eredményesen szaporítás alapja lehet-e?

2.4. Az afrikai harcsa

Afrikai harcsa fajt választottunk a szaporításfejlesztéshez.

2.4.1. Általános bemutatás

Az afrikai harcsa (*C. gariepinus* Burchell, 1822) (2. ábra) a harcsafélék rendjének (Siluriformes) és a zacskóharcsafélék (Clariidae) családjának tagja több mint 100 másik fajjal egyetemben. Őshazája Afrika, ahol a kontinens egészen megtalálható, ezenkívül Izrael, Törökország déli része, Jordánia és Libanon területein is őshonosnak mondható. Élőhelyét tekintve mocsarakban, tavakban, folyókban, valamint egyéb vízfolyásokban is előfordul (Péteri et al., 1989; Horváth és Urbányi, 2000). Feje nagy méretű, felülről lapított, rajta testméretéhez képest apró szemek és 8 bajusszál található, teste hengerszerű, hosszúra nyúlt. Bőre csupasz, pikkelytelen, szürkés-márványos háti és piszkosfehér hasi színezettel. Háta tetején hosszan elhelyezkedő hátúszó figyelhető meg (Harka és Sallai, 2004). Környezeti feltételeit tekintve a viszonylag magas 25 és 30°C közötti víz hőmérséklet az optimális, 20°C alatt immunrendszere legyengül és fogékonyabb lesz a betegségekkel szemben, 16 °C alatt pedig hosszabb távon elpusztul. 39-40 °C az a víz hőmérséklet, amit az állat még képes tolerálni. A faj rendelkezik egy kisegítő légzőszervvel, mely a kopolytűüregben található, és ennek segítségével képes az oxigénhiányos környezet elviselésére és a légköri oxigén hasznosítására. Ivarérettségét ideális környezeti paraméterek esetén viszonylag hamar eléri, akár már 6 hónapos korban is, de 8-9 hónapos állatok már általában szaporodóképesek (Péteri et al., 1989; Radics, 1990).



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

Hazánkba kerülése csupán a véletlennek köszönhető. Eredetileg Hollandiából akartak Brazíliába halakat exportálni, viszont megfelelő engedélyek nélkül a szállítmány Magyarországon ragadt. A harcsákkal történő kísérletezések során felismerték a fajban rejlő lehetőségeket és elindult a termelésbe vétel (Woynarovich, 1996). Az édesvízi haltermelésben a Clarias nembe tartozó fajok (*Clarias* spp.) össztermelése eléri az 1,249 millió tonnát, amivel

10. helyen szerepelnek világszinten (FAO, 2022). Az elmúlt 20 év során az afrikai harcsa termelési mennyisége folyamatosan növekedett, 2021-es év során elérte a 239 ezer tonnát. Tenyésztése jelenleg is több mint 50 országban folyik, Európában Hollandia és Magyarország állítja elő legnagyobb mennyiségben, világszinten Nigéria a legnagyobb termelő. Magyarországon az intenzív haltermelés döntő részét az afrikai harcsa adja, 2022-es évben az ilyen módon előállított halhúsnek a 93,6%-át adta, ami szám szerint 5778 tonnának felelt meg (Srimai et al., 2020; FAO, 2021; Kiss 2023).

2.4.2. Szaporítása

Az afrikai harcsa szaporítása eredeti élőhelyén hagyományosan árasztásos tavakban történik. Ezekben a rendszerint kis méretű tavakban vagy medencékben a vízszint éjszakai megemeléssel váltják ki az ívást. Napjainkra az indukált mesterséges szaporítás lett a legelterjedtebb. Intenzív tartási körülmények között a halaknál (kizárólag női ivar) az ivari ciklus szezonális megszűnik, így ideális környezeti feltételeket teremtve akár havonta is lehetőség van a szaporításukra. A szaporítási technológia alapja az anyahalak hormonindukciójára épül, így készítve ovulációra őket. (Különböző hormonindukciós kezelések az 1. táblázatban szerepelnek.) Általában csak a nőstényeket hormonkezelik, a hímeket nem. Az ovuláció után a nőstényekből hasfal masszírozásával lefejt ikraadag megtermékenyítése a hím egyedből, előlése után kiműtött herékből kinyert spermával történik (Péteri et al., 2015).

Érdemes megemlíteni a magyar szakemberek figyelemfelkeltő kutatómunkáit is a faj vonatkozásában. Nagyszámú kutatás, cikk keletkezett különböző hormonkészítményekkel történt indukált szaporítással kapcsolatban (Akpadda et al., 1996; Brzuska et al., 1999; Szabó et al., 2007; Rónyai et al., 2008; Szabó et al., 2010; Kucska et al., 2022; Varga et al., 2024). A spermamélyhűtéssel kapcsolatos kutatómunkák is egyre nagyobb figyelmet kaptak az akvakultúrában az elmúlt időben (Urbányi et al., 1997, 1999; Horváth és Urbányi, 2000; Miskolczi et al., 2005; Kovács et al., 2010; Müller et al., 2019).

1. táblázat. Adatok az afrikai harcsa indukált szaporítás során ikrásokban alkalmazott különböző hormonkészítményekről (Quyen, 2023 és Horváth, 2023 nyomán módosítva).

Hormon	mód	vívőanyag	dózis/ttkg	O(%)	Irodalom
LHRHa + PIM	IP	0.8% NaCl oldat 0.1% SMBS-sel és 0.25% BSA	0,05 mg + 5 mg	100	De Leeuw et al., 1985
LHRHa + PIM	IP	0.8% NaCl oldat 0.1% SMBS-sel és 0.25% BSA	0,05 mg + 5 mg	100	
17 α -OHP	IM	dimetil-izoszorbid	4 mg	100	Richter et al., 1987
hCG	IM	0.7% NaCl oldat	6900 IU	93	
varangy HK	IM	2 ml 0.9% NaCl oldat	4 mg	100	Inyang és Hettiarachchi, 1994
	IM	2 ml 0.9% NaCl oldat	6 mg	100	
béka HK	IM	2 ml 0.9% NaCl oldat	4 mg	100	
	IM	2 ml 0.9% NaCl oldat	6 mg	100	
hCG	IM	2 ml 0.9% NaCl oldat	2000 IU	100	
harcsa HK	IM	2 ml 0.9% NaCl oldat	4 mg	100	
	IM	2 ml 0.9% NaCl oldat	6 mg	100	
harcsa HK	IM	2 ml 0.9% NaCl oldat	1 gland	100	
mGnRHa+MET	IP	0,7% NaCl oldat	0,05 mg + 10 mg	100	Akpajia et al., 1996
cGnRH-II+MET	IP	0,7% NaCl oldat	0,05 mg + 10 mg	100	
cGnRH-I+MET	IP	0,7% NaCl oldat	0,05 mg + 10 mg	0	
sGnRH+MET	IP	0,7% NaCl oldat	0,05 mg + 10 mg	80	
mGnRH+MET	IP	0,7% NaCl oldat	0,05 mg + 10 mg	35	
PH	IP	0,05 mg + 10 mg	4 mg	100	
GnRHa+pimozid	IP			100	Brzuska et al., 1999
GnRHa+pimozid	IP	NaCl oldat	0,02 mg + 0,002 mg	100	
GnRHa+pimozid	IP	NaCl oldat	0,02 mg + 0,001 mg	100	
PH	IM	NaCl oldat	4 mg	100	
Biogonadyl 500	IP	NaCl oldat	800 IU	100	
PH	IP	NaCl oldat	4 mg	100	Brzuska, 2004
GnRHa + DOM (Aquaspawn)	IP	NaCl oldat	20 μ g + 50 mg	87.5	
PH	IP	0.9% NaCl oldat	4 mg	90	
mGnRHa+MET (Ovopel)	IP	0.9% NaCl oldat	25 μ g + 20 mg	100	Ude et al., 2005
LHRHa	IM	0.9% NaCl oldat	10 μ g	68	
LHRHa	IM	0.9% NaCl oldat	30 μ g	73	
LHRHa	IM	0.9% NaCl oldat	50 μ g	82	
LHRHa	IM	0.9% NaCl oldat	70 μ g	85	
PH	IP	0.9% NaCl oldat	4 mg	90	
GnRHa (Gonazon)	IM	gyártó által mellékelt oldatban felhígítva	20 μ g	100	Rónyai et al., 2008
GnRHa (Gonazon)	IM	gyártó által mellékelt oldatban felhígítva	40 μ g	100	
GnRHa (Gonazon)	IM	gyártó által mellékelt oldatban felhígítva	80 μ g	100	
PH	IM	0,65 % NaCl oldat	4 mg	100	Brzuska, 2011
PH	IP	NaCl oldat	4 mg	100	
mGnRHa+MET (Ovopel)	IP	NaCl oldat	25 μ g + 20 mg	83	Sharaf, 2012
17 α -OHP	IM	dimetil-izoszorbid	4 mg	100	
GnRHa	IM		40 μ g	20	
	IM	NaCl oldat	20 μ g	60	
GnRH + PIM	IM	NaCl oldat + DMSO	20 μ g +4 mg	90	
	IM	NaCl oldat + DMSO	30 μ g +8 mg	98	Ndimele és Owodeinde, 2012
	IM	NaCl oldat + DMSO	40 μ g +16 mg	100	
sGnRHa +DOM (Ovaprim)	IM	0.6% NaCl oldat	10 μ g + 5 mg	100	Okomoda et al., 2017
tartósított HM	IM	0.9 g/ml NaCl oldat	0.9 g	100	
friss HM	IM	0.9 g/ml NaCl oldat	0.9 g	100	
sGnRHa +DOM (Ovaprim)	IM	-	10 μ g + 5 mg	100	Marimuthu et al., 2015
sGnRHa +DOM (Ovaprim)	IM	5 mL NaCl oldat	8 μ g + 4 mg	100	
	IM	5 mL NaCl oldat	10 μ g + 5 mg	100	
	IM	5 mL NaCl oldat	12 μ g + 6 mg	100	El-Hawarry et al., 2016
PH	IM	0.9% NaCl oldat	4 mg	88	
PH+DOM	IM	0.9% NaCl oldat	4 mg + 10 mg	100	Müller et al., 2018b
LHRHa+DOM	IM	0.9% NaCl oldat	50 μ g + 10 mg	100	
GnRHa+DOM	IM	0.9% NaCl oldat	40 μ g + 10 mg	100	
PH	PM	0.9% NaCl oldat	5 mg	100	
		sperna	5mg		

PH	IP	0,9% NaCl oldat	5 mg	100	Müller et al., 2019
sGnRHa +DOM (Ovaprim)	IM	-	10 µg + 5 mg	100	Kucharczyk et al., 2019
LHRHa + DOM		-	25 µg + 5 mg	100	Srimai et al., 2020
harcsa HK	IM	2 ml 0,9% NaCl oldat	1 mirigy	100	Amoah et al., 2020
hCG	IM	0,9% NaCl oldat	500 IU	100	Zidan et al., 2020
	IM	0,9% NaCl oldat	1500 IU	100	
	IM	0,9% NaCl oldat	3000 IU	100	
	IM	0,9% NaCl oldat	6000 IU	100	
PH	IP	0,9% NaCl oldat	5 mg	100	Müller et al., 2020b
mGnRHa+MET (Ovopel)	IP, IM, PM	0,65% NaCl oldat	25 µg + 20 mg	100	Kucska et al., 2022
sGnRHa +DOM (Ovaprim)	IP, IM, PM	0,9% NaCl	10 µg + 5 mg	100	Okomoda et al., 2023
PH	IP	0,7% NaCl oldat	4 mg	100	Szabó et al., 2023
mGnRHa+MET (Ovopel)	R	0,9% NaCl oldat	5×(25 µg + 20 mg)	100	Quyen et al., (2023)
Ovulin	IM		0,5 ml	100	Alo et al., (2023)
sGnRHa +DOM (Ovaprim)	IM	0,9% NaCl oldat	0,3 ml	100	Andriani et al., (2023)

Megjegyzések: O(%)-ovulációs ráta; *mód*-hormonbejuttatás módja, *PH*-pontyhipofízis; *HK*-hipofízis kivonat; *Aquaspawn*- 20 µg GnRHa + 100 mg DOM; *Ovaprim*- [20 µg (D-Agr6, Pro9-NET) sGnRHa] + 10 mg DOM; *Ovopel*-[25 µg (D-Ala6,Pro9NET) mGnRHa]+ 20 mg MET; *IU*- nemzetközi egység; *DMSO*-dimetil-szulfoxid; *BSA*- borjú eredetű szérum albumin; *SMBS*-nátrium metabiszulfid; mGnRHa-*emlős GnRHa analóg*; sGnRHa-*lázac GnRH analóg*; *IM*-intramuszkuláris; *IP*-intraperitoneális, *PM*-petefészekmosás; *R*-rektális

3. Anyag és módszer

3.1. Kísérleti körülmények bemutatása

Munkánkat a Magyar Agár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Természetesvízi Halökológiai Tanszék Hallaboratóriumában végeztük. A kísérletekhez használt ikrás afrikai harcsák munkacsoportunk saját nevelésű állományából, míg a hímek egy része a MATE Georgikon Campus keszthelyi hallaboratóriumból, valamint saját állományunkból származtak. A saját nevelésű anyahalakat a kísérletet megelőzően recirkulációs rendszerekben $26 \pm 1^\circ\text{C}$ -os hőmérsékleten, napi 1,5%/testtömeg kg takarmányadag (Aller Aqua Bona float 4,5 mm) és kb. 10%-os vízcserével tartottuk (3. ábra). A recirkulációs rendszerek mérete: $200 \times 45 \times 145$ cm, pufferkádokkal kiegészített teljes hasznos térfogat kb. 1300 liter. A kísérlet előtt a víz hőmérsékletet $27 \pm 1^\circ\text{C}$ -ra emeltük.

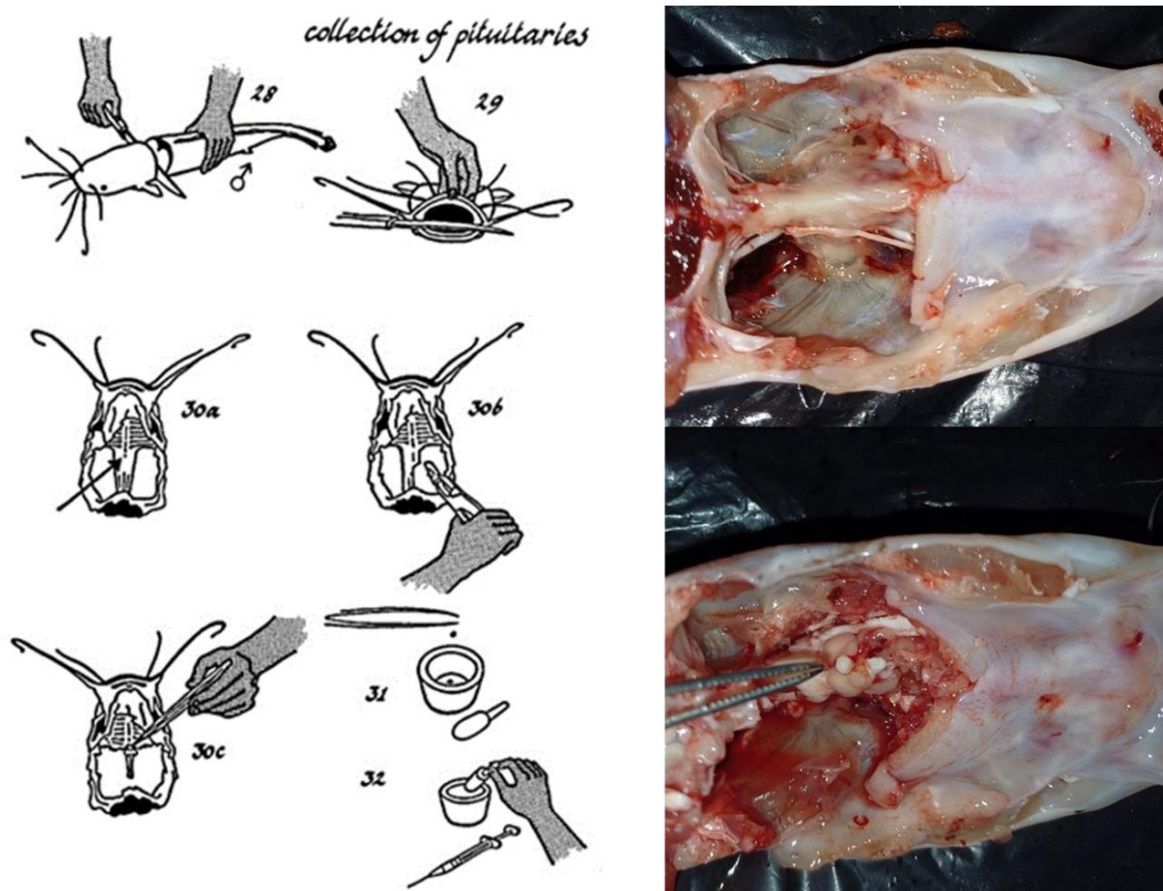


3. ábra. Az anyahalak tartását szolgáló recirkulációs rendszer (fotó: Horváth József).

3.2. Előkísérlet

Korábbi vizsgálatunk során bizonyítottuk, hogy a frissen gyűjtött afrikai harcsa hipofízissel történő intramuszkuláris hormonkezeléssel és inszeminációval sikeresen szaporítható az afrikai harcsa (Horváth et al., 2024; Tóth, 2024). Jelen munkánk során vizsgáltuk, hogy a spermába kevert homogenizált frissen gyűjtött natív hipofízissel (sperma szeminális plazma, mint vivőanyag) is lehetséges-e termékenyült ikratételeket nyerni. A későbbi kísérletbeállításhoz előkísérletet folytattunk. Az előkísérlet során 2 tejest (155 és 169 g), és 2 ikrást (144 és 156 g) használtunk fel. A hímeket a spermanyerést közvetlenül megelőzően benzokainos oldatban [100 mg/l benzokain oldatban (etil 4-126 aminobenzoát, Norcaine)] túltattuk (min. 10 perce nincs kopolyúmozgás), ezt követően a nyaki tájékon a gerinc átvágásával elöltük a kísérletbe vont egyedeket. Megmértük a testtömegüket, és műtéti úton eltávolítottuk a heréket. Először megmértük a here tömegét (GSI meghatározás), majd a herékből spermát gyűjtöttünk (Péteri et al., 2015). Ezt követően a koponyát leválasztottuk a törzsből, majd Viveen et al (1985) leírása alapján (4. ábra) kiemeltük az agyalapi mirigyeket.

A gyűjtött hipofízisek nedves natív tömegét Mettler Toledo AB204-S típusú analitikai mérlegen lemértük (n=2, 15,9 és 18 mg). A hipofíziseket ezt követően dörzsmozsár segítségével homogenizáltuk, majd óvatosan összekevertük a poolozott spermamintával (5. ábra). Az ikrásokat ezt követően 1 ml sperma (+homogenizált hipofízis)/testtömeg kg inszemináltuk mindkét petefészeklebensbe egyenlően elosztva (Müller et al., 2018a,b). Az inszeminációhoz használt katétert (hossz: 400 mm, külső átmérő: 1,3 mm, belső átmérő: 1 mm (GALMED Wytwórnia Sprzętu Medycznego®, Lengyelország) óvatosan a petefészek lebenyeinek csúcsáig vezettük és jutattuk oda egy pontba a spermát, bízva abban, hogy a 12 órás beérési idő alatt a spermiumok egyenletesen eloszlanak el a petefészeküregben. A két vizsgálatba vont halat a 12 órás beérési idő után lefejtük, majd a lefejt kevert gaméta adagok 3 különböző részéről (fejt ikratétel elülső harmadából, közepéből és utolsó harmadából) mintákat gyűjtöttünk, majd víz hozzáadásával a gamétákat aktiváltuk (termékenyítés).



4. ábra. Balra: hipofízis gyűjtés folyamatábrája; A donorállatok elpusztítása és lefejezése a hipofízis gyűjtése előtt történik, legkorábban egy órával a nőstény hormonkezelésének beadása előtt (28. ábra). A fejjel lefelé fordított fej alsó állkapcsának eltávolításával kezdődik a folyamat (29. ábra). Az agyalapi mirigy a koponya belsejében található (30a. ábra). A szájpádlás megfelelő ponton történő feltárása fogóval történik (30b. ábra), ahol az agyalapi mirigy, egy rózsaszínes-fehér, gömbszerű szerv, az agy ventrális oldalán helyezkedik el (30c. ábra). A hipofízist csipesszel emelik ki a donor egyedekből, és 2 ml fiziológiás sóoldatot tartalmazó mozsárba helyezik (31. ábra). A fiziológiás sóoldatot 9 g konyhasó 1 liter szűrt vízben való oldásával állítják elő. A hipofízist azonnal összeuzzák a mozsárban (32. ábra), majd a keletkező hipofízis szuszpenziót fecskendőbe szívják fel. A frissen előállított hipofízis szuszpenziót a lehető leghamarabb be kell adni. Viveen et al. (1985). Jobbra fent: kísérletbe vont hím koponyájának felnyitása, jobbra alul: a hipofízis elhelyezkedése (csipesz hegyével jelölt gömb alakú fehér mirigy, fotók: Horváth József).

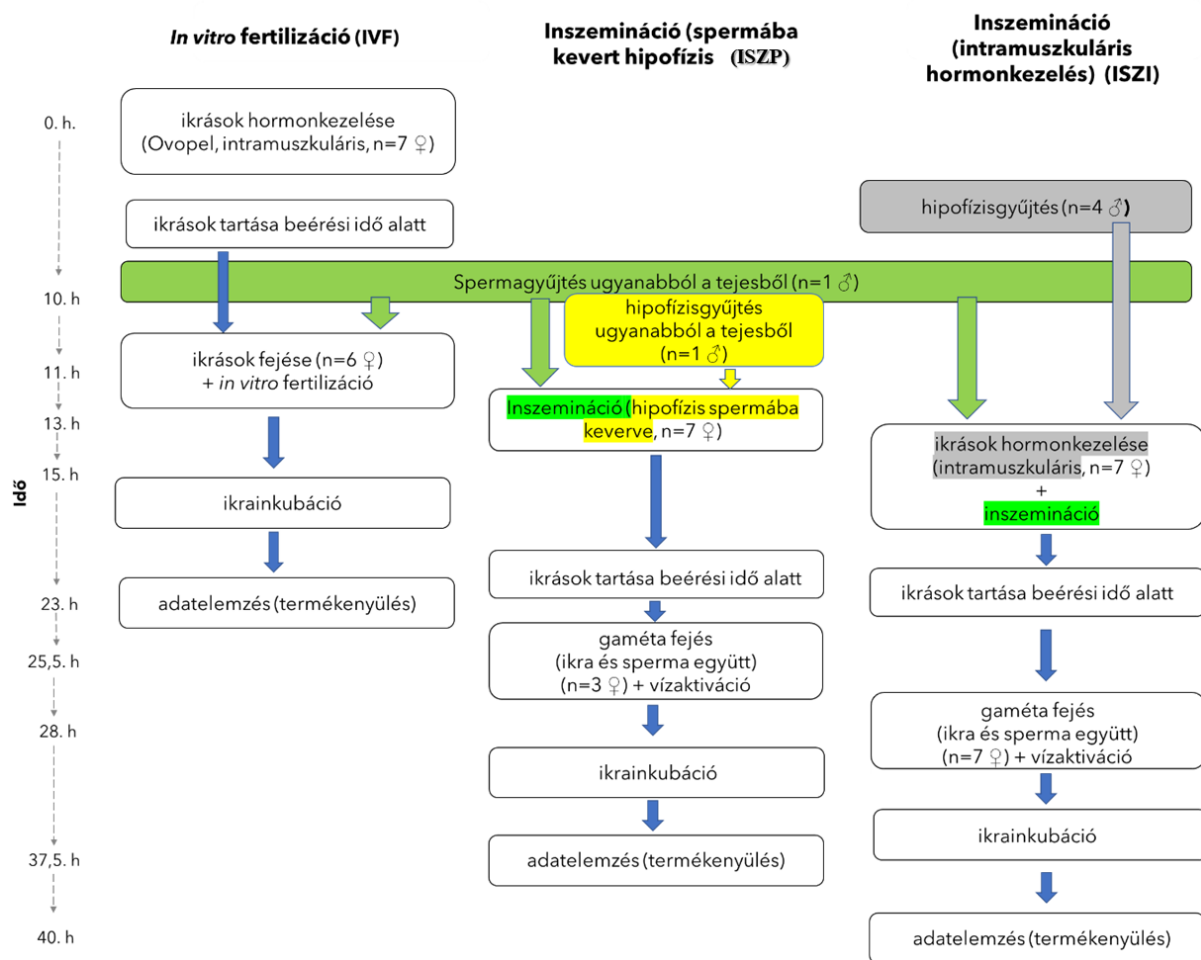


5. ábra. Az inszeminációhoz használt sperma és hipofízisek elegye (fotó: Horváth József).

3.3. Főkísérlet

3.3.1. Kontroll csoport (IVF) hormonkezelése

Jelenlegi kísérletünk egy korábbi munkánk folytatása (Tóth, 2024). A kísérlet egyes lépéseinek időbeli nyomon követéséhez a 6. ábra nyújt segítséget. A kísérletbe összesen 21 ikrást ($n=21$, $254,79 \pm 24,19$ g) választottunk ki véletlenszerűen a saját nevelésű állományunkból. A kísérlet során a halakat egyedileg hegyeztük el úgynevezett „svéd vagy szaporító ketrecekben” (Fyllen szennyestartó kosár, magasság: 50 cm, átmérő: 45 cm, térfogat: 79 l, léhisméret: 0,75 mm). A szaporító ketrecek az előkísérletben is bemutatott két recirkulációs kádba telepítettük fel.



6. ábra. A kísérlet egyes lépéseinek és időbeli eloszlásának részletes bemutatása (az időskála nem részarányos, demonstratív jellegű).

A kontroll csoport (*in vitro* fertilizáció, IVF) egyedeit ($n = 7$, $256,96 \pm 31,06$ g) benzokainos oldatban bódítottuk [(100 mg/l benzokain oldatban (etil 4-126 aminobenzoát, Norcaine)], ezt követően meghatároztuk a testtömegüket, majd 1 Ovopel pellet/testtömeg kg intramuszkulárisan hormonkezeltek. 1 Ovopel pellet 25 µg emlős GnRH analógot (D-Ala⁶, Pro⁹ NEt-mGnRH_a) és 20 mg metoklopramidot, mint dopamin receptor antagonistá vegyületet tartalmaz (Interfish Kft., Magyarország, 7. ábra).



7. ábra. Bódított afrikai harcsa ikrás intramuszkuláris-, izomközi hormonkezelése Ovopel szuszpenzióval (fotó: saját kép).

3.3.2. Hipofízis eltávolítása, spermanyerés

A szaporítási munkákhoz, valamint a hipofízisek kinyeréséhez használt hímeket (n=5) benzokainos oldatban [100 mg/l benzokain oldatban (etil 4-126 aminobenzoát, Norcaine)] túlaltattuk, majd a koponya mögötti nyaktájékon gerincátvágásával előltük. A spermát a here eltávolítása után közvetlenül a here megvágásával és préseléssel gyűjtöttük (Péteri et al., 2015, 8. ábra).



8. ábra. Spermagyűjtés (fotó: saját kép).

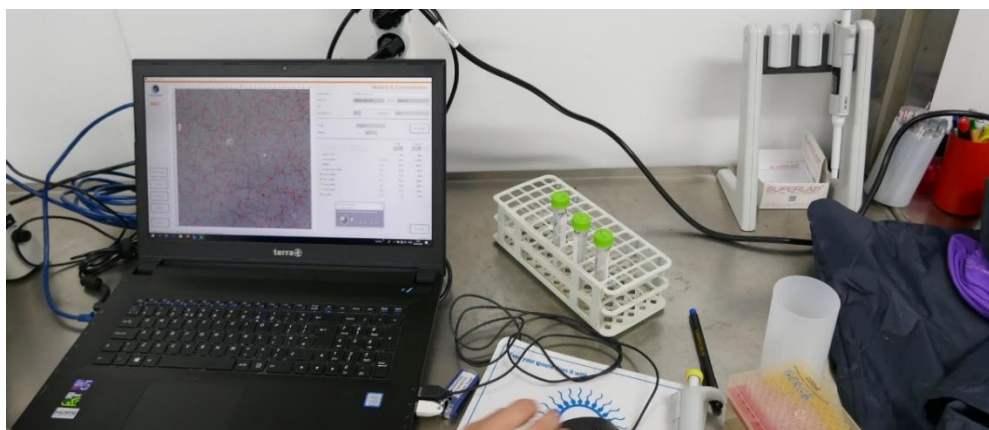
A későbbiekben a szaporítási munkákhoz kizárólag a legnagyobb méretű hímtől (3535 g) származó spermamintákat használtuk. A hormonindukcióhoz szükséges hipofíziseket a spermagyűjtést követően gyűjtöttük (9. ábra).



9. ábra. Hipofízis kinyerése (fotó: saját kép).

3.3.3. Spermaminőség-ellenőrzés

A spermaminőség ellenőrzése számítógépes spermavizsgáló rendszerrel (CASA) történt (10. ábra). A rendszer adatai: szoftver: AndroVision®, gyártó: Minitüb GmbH, gyártás helye: Tiefenbach, Germany. A spermagyűjtés a gonád 3 különböző területéről történt, hogy a későbbi munkákhoz az előzetes ellenőrzést követően a lehető legjobb minőségű (esetleges kontamináció elkerülése stb.) sperma kerüljön felhasználásra. Az ellenőrzés során meghatározásra kerültek a motilitási (%), progresszív motilitási értékek (%).



10. ábra. Spermaminőség-ellenőrzés CASA rendszerrel (fotó: saját kép).

3.3.4. Kísérleti csoportok hormonkezelése

A spermába kevert hipofízissel kezelt csoport (ISZP) esetében kizárólag a legnagyobb méretű tejestől származó agyalapi mirigyet ($n=1$, 30 mg nedves tömeg) használtuk fel. A hipofízist az „Előkísérlet” fejezetben bemutatott módon kevertük a spermával. A csoportba tartozó ikrásokat ($n=7$, $252,3 \pm 24,31$ g) a benzokainos bódítást követően, valamint a testtömegek meghatározása után 1 ml sperma (+ hipofízis)/testtömeg kg inszemináltuk mindkét petefészeklebe egyenlően elosztva a Müller et al. (2018a,b) leírt módon (11. ábra). A munka során használt katéter és az inszemináció módja megegyezett az „Előkísérlet” fejezetben bemutatottakkal.

A friss hipofízissel történő intramuszkuláris hormonkezeléssel és inszeminációval kezelt csoport (ISZI) esetében a kisebb méretű ($n=4$, min.-max.: 519-660g) tejesektől származó hipofíziseket (hipofízisek össztömege: 82,9 mg) használtuk fel a hormonszuspenziók elkészítéséhez. A csoport ikrásait ($n= 7$, $255,1 \pm 19,56$ g) benzokainos oldatban bódítottuk, majd ezt követően megmértük a testtömegüket. Az inszeminációt ebben az esetben is a már korábban bemutatott módon végeztük (1 ml sperma/testtömeg kg; Müller et al., 2018a,b). A hátizomba történő hormonkezelést (hipofízis össztömeg/ikrások össztömege) $\times$ egyed testtömege) az inszeminációval egyidejűleg végeztük.



11. ábra. Bódított afrikai harcsa ikrás inszeminációja spermába kevert natív hipofízis szubsztrátummal. A katétert az urogenitális nyíláson át-, a petevezetőn keresztül a petefészlebe nyak csúcsáig vezettük. Ez hozzávetőlegesen 10-15 cm katéterhosszt jelent egy 180-220 g-os egyed esetében (fotó: Horváth József).

3.3.5. Termékenyítés, ikrainkubáció

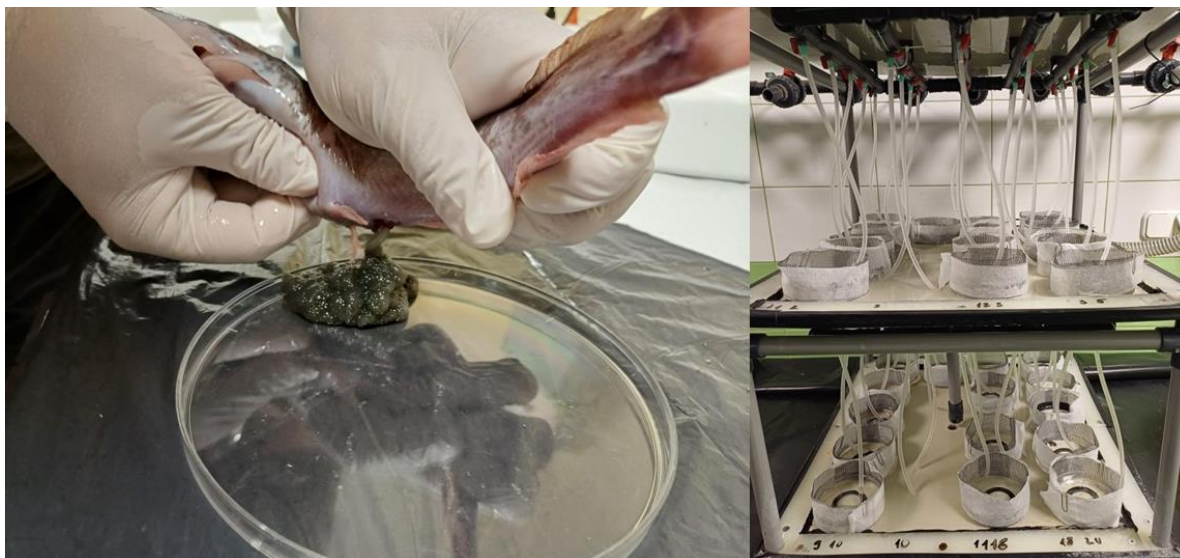
Az IVF csoport ikráit 11 órás beérési időt követően bódítottuk, az ikrások testtömegét lemértük (12. ábra, bal oldali kép), majd ezt követően a hasfal masszírozásával lefejtük az ikrakészletüket. A fejt ikratételek tömegének meghatározása után anyaghalanként az ikraadagok 3 különböző területéről 3 normál méretű Petri-csészébe (átmérő×magasság: 90 × 14,2 mm) 0,1 ml ikramennyiséget ($57,17 \pm 7,98$ ikraszem) adagoltunk ki Petri-csészénként, amelyeket egy inzulinos fecskendőbe felszívott sperma segítségével *in vitro* termékenyítettünk (1 csepp sperma/ikratétel; 12. ábra, jobb oldali kép). 1 csepp sperma térfogata kb. 5 mm³ volt.



12. ábra. Balra: ikrás testtömegének meghatározása, jobbra: *in vitro* fertilizáció (fotók: saját képek).

A spermába kevert friss hipofízissel inszeminált csoport (ISZH), valamint a friss hipofízissel történő intamuszkuláris hormonkezeléssel és inszeminációval kezelt csoport (ISZI) esetében 12 órát meghaladó (ISZP: kb. 12,5 órás, ISZI: kb. 13 óra) petefészekbeli spermatárolást követően fejtük le az ikrásokat. Ebben az esetben is minden egyes ikrás tömegét megmértük, majd lefejtük a kevert gaméta adagokat (sperma + ikrá együtt, 13. ábra bal oldali kép). Meghatároztuk a lefejt tételek tömegét, majd a már bemutatott módon ikrásonként 3 normál méretű Petri-csészébe adagoltuk ki a 0,1 ml térfogatú (ISZP: $68,56 \pm 13,76$ ikraszem, ISZI: $60,38 \pm 10,53$) kevert gaméta adagokat, ezt követően a Petri-csészékhez vizet adva a gamétákat aktiváltuk, amivel megtörtént a termékenyülés. Az ikrainkubációhoz a munkacsoportunk szaporító és nevelő rendszerére kötött csepegtető rendszert használtuk (vízfolyás sebessége: 200 ml/csepegtető egység/óra; 13. ábra jobb oldali kép). A Petri-csészéket teljesen véletlenszerűen osztottuk el a csepegtető rendszer tálcáin. A termékenyülési értékeket gerinchúros állapotban a termékenyítésektől számított 12. órában határoztuk meg. A rendszer mért vízminőségi paraméterei az ikrainkubációs időszakban a következők voltak (min.-max.): hőmérséklet:

27,9-28,0 °C, pH: 8,2-8,25, oldott oxigén: 7,32-7,40 mg/l, nitrit-ion: 0,137-0,184 mg/l, nitrát-ion: 1,5-5,2 mg/l, ammónium-ion: 0,01-0,04 mg/l, szabad ammónia: 0,03-0,05 mg/l, ortofoszfát-ion: 0,15-0,27 mg/l.



13. ábra. Balra: inszeminált ikrás gaméta fejése (ikra és spermium egyben), jobbra: kísérleti csepegtető rendszer (fotók: Horváth József).

3.3.6. Statisztikai elemzés

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

- gonado-szomatikus index (GSI, %) = $\{ \text{gonád tömege (g)} / \text{hal testtömege (g)} \} \times 100$
- pszeudo-gonado-szomatikus index (PGSI, %) = $\{ \text{fejt gaméta tömege (g)} / \text{hal testtömege (g)} \} \times 100$
- termékenyülési arány (%) = $\{ \text{termékenyült ikraszemek (db)} / \text{összes ikraszem (db)} \} \times 100$

4. Eredmények

4.1. Előkísérlet

A termékenyítést követő 12. órában mért termékenyülési arányt (gerinchúros állapot) átlagosan 60-70%-ra becsültük. Az előkísérlet eredményei alapján a natív hipofízis spermiummal történő elkeverése és inszeminációs módszerrel végzett kezelése (ahol a sperma szeminális plazma natív hipofízisből származó GtH hormonvívőanyagként szolgált) sikeres ovulációt és termékeny ikratételeket eredményezett. Ezen megfigyelések alapján terveztük meg a főkísérletet.

4.2. Főkísérlet

4.2.1. Spermaminőség-ellenőrzés

Hormonkezelés nélkül-, kioperált heréből gyűjtött sperma mozgóképessége (összes sejtre vetítve) $93,7 \pm 6,8 \%$ volt, míg a progresszív motilitás (egyenes vonalú mozgóképességgel rendelkező spermiumok aránya) már alacsonyabb értéket és nagyobb mintánkénti különbséget mutatott ($74,9 \pm 16\%$). Az azonos egyedtől származó, de különböző minták mért értékeit a 2. táblázat mutatja.

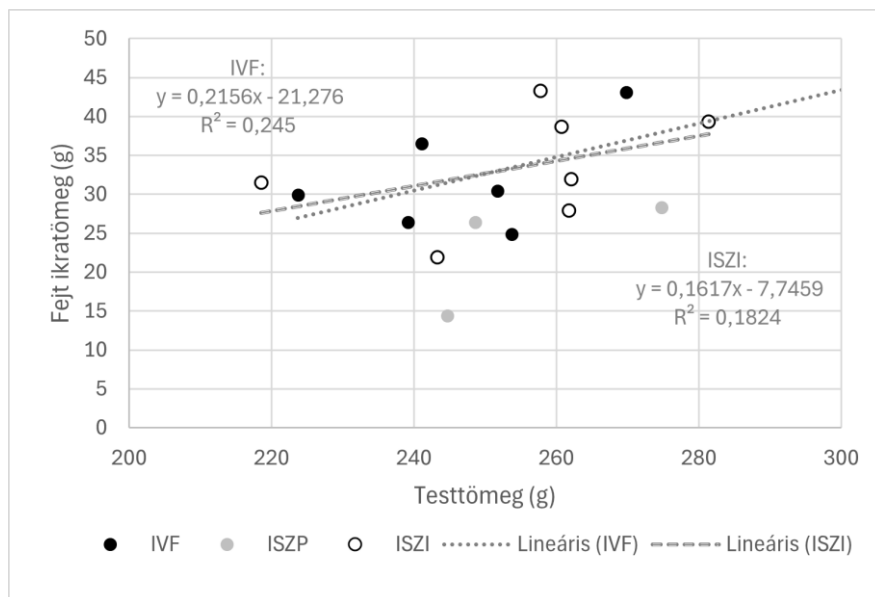
2. táblázat. A termékenyítési munkákhoz felhasznált nagyobb méretű afrikai harcsa tejestől gyűjtött sperma CASA rendszerben mért mozgóképesség vizsgálata.

Donor	Motilitás (%)	Progresszív motilitás (%)
Tejes 1. minta	98,56	88,18
Tejes 2. minta	96,49	79,36
Tejes 3. minta	85,93	57,14

4.2.2. Testtömeg és fejt ikratömeg közötti összefüggések

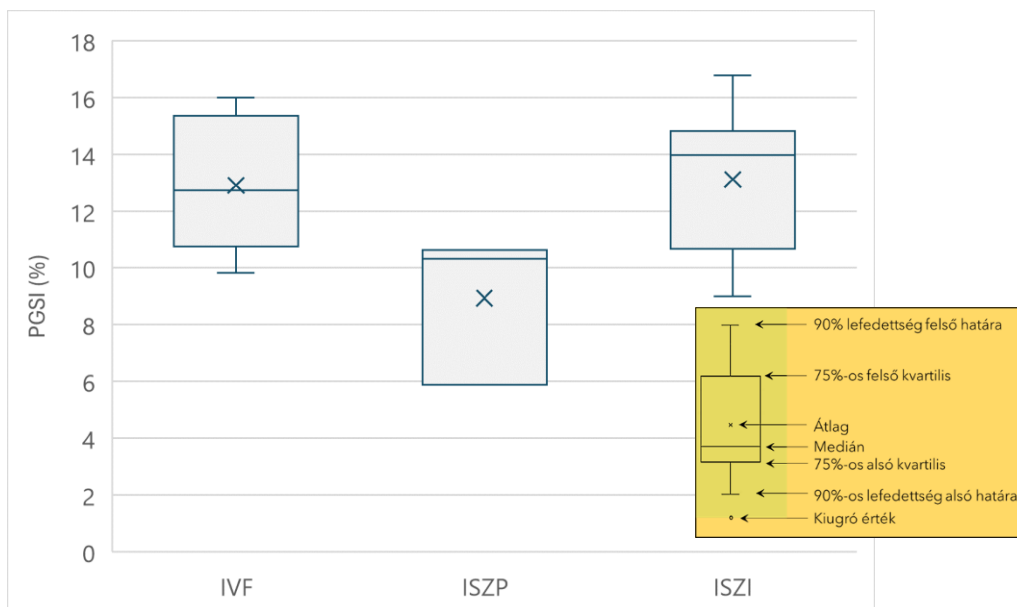
Kísérletünk során az *in vitro* fertilizáció csoport (IVF) esetében a kísérletbe vont 7 egyedből 6 ovulált, 1 egyed esetében túlrejt ikraszemeket fejtünk. A spermába kevert hipofízissel indukált csoport (ISZP) esetében a csoportba tartozó 7 ikrás közül 3 ovulált, ezen 3 hal közül 2 parciális ovulációt mutatott. A harmadik csoport (ISZI) esetében minden egyes halat sikerrel tudtunk lefejni ($n=7$), a fejt ikratételek termékenyültek. A kísérleti halak

testtömegei között nem volt statisztikailag igazolható különbség (kétmintás t-próba, $p > 0,05$). A testtömegek és a fejt ikratömegek között nem találtunk szoros összefüggést (14. ábra).



14. ábra. A kísérleti halak testtömegei és fejt ikratételei közötti összefüggések. IVF: *in vitro* fertilizáció csoport, ISZP: spermába kevert hipofízis csoport, ISZI: intramuszkuláris hormonkezelés és inszemináció csoport.

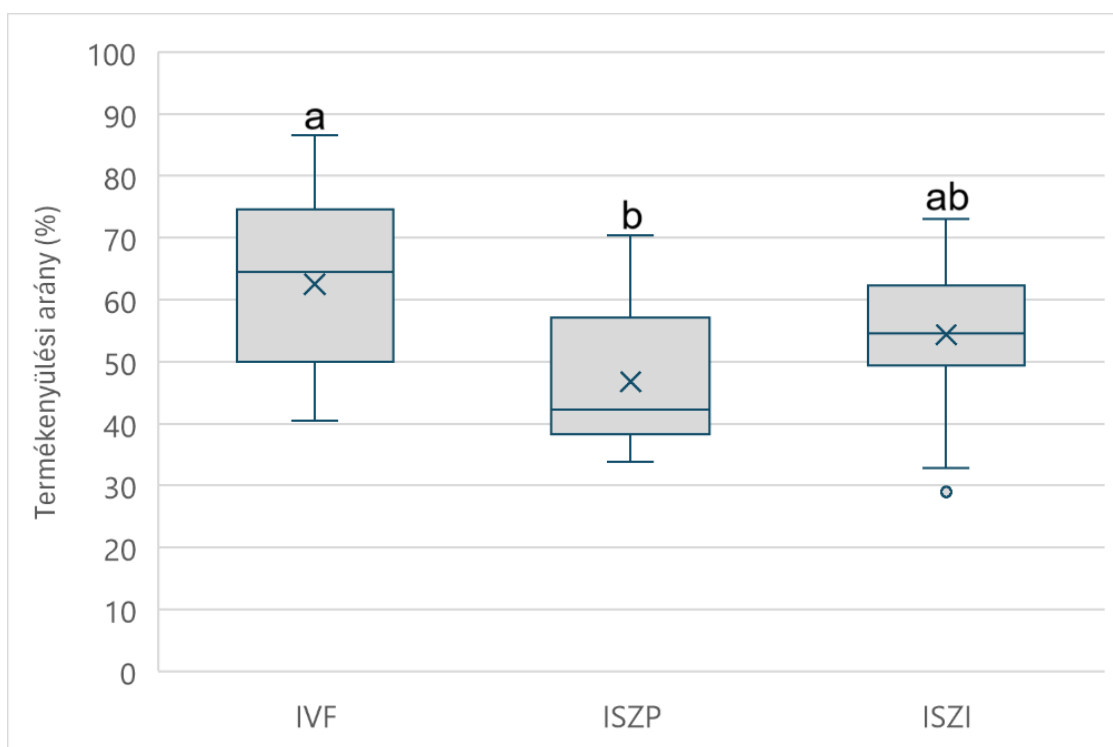
A vizsgált csoportokban (IVF és ISZI) a PGSI értékek (IVF: $12,46 \pm 2,37\%$, ISZI: $13,12 \pm 2,67\%$) statisztikailag nem különböztek egymástól (kétmintás t-próba, $p > 0,05$). Az ISZP az alacsony elemszám miatt kizárásra került a vizsgálatból. A különböző csoportok PGSI értékeit az 15. ábra mutatja.



15. ábra. A különböző csoportok PGSI értékei. IVF: *in vitro* fertilizáció csoport, ISZP: spermába kevert hipofízis csoport, ISZI: intramuszkuláris hormonkezelés és inszemináció csoport

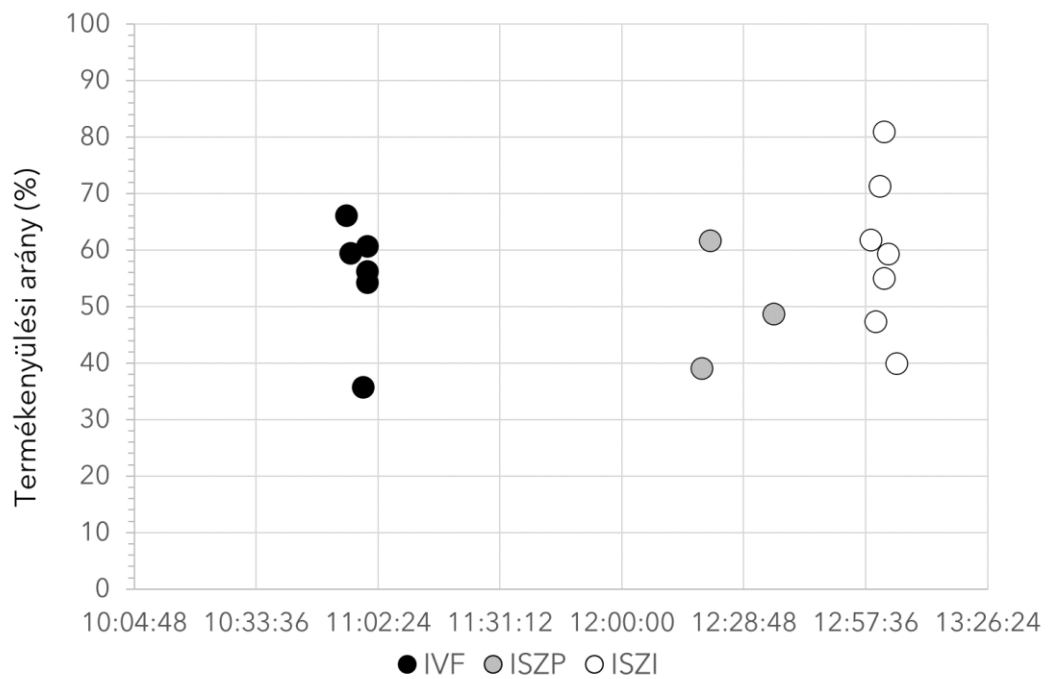
4.2.3. Termékenyüléssel kapcsolatos vizsgálati eredmények

Az *in vitro* termékenyített (úgynevezett „száraz termékenyítés”) ikratételek statisztikailag igazolhatóan magasabb termékenyülést (IVF: $62,56 \pm 14,34\%$) értek el, mint a spermába kevert hipofízissel kezelt csoportból származó minták (ISZP: $46,79 \pm 12,22\%$, kétmintás t-próba, $p < 0,05$). A két friss hipofízissel kezelt csoport (ISZI és ISZP) termékenyülési értékeiben azonban nem volt statisztikailag igazolható különbség (ISZI: $54,36 \pm 10,86\%$, kétmintás t-próba, $p > 0,05$). Az összesített termékenyülési értékeket a 16. ábra mutatja. Az intramuszkuláris hormonkezeléssel és inszeminációval kezelt csoport (ISZI) esetében a termékenyülési értékek kisebb szórással bírtak, mint az *in vitro* fertilizáció (IVF) és spermába kevert hipofízissel kezelt csoportok (ISZP).



16. ábra: Összesített termékenyülési értékek. IVF: *in vitro* fertilizáció csoport, ISZP: spermába kevert hipofízis csoport, ISZI: intramuszkuláris hormonkezelés és inszemináció csoport. A különböző betűjelek statisztikailag igazolható különbséget jelölnek $p < 0,05$ szinten.

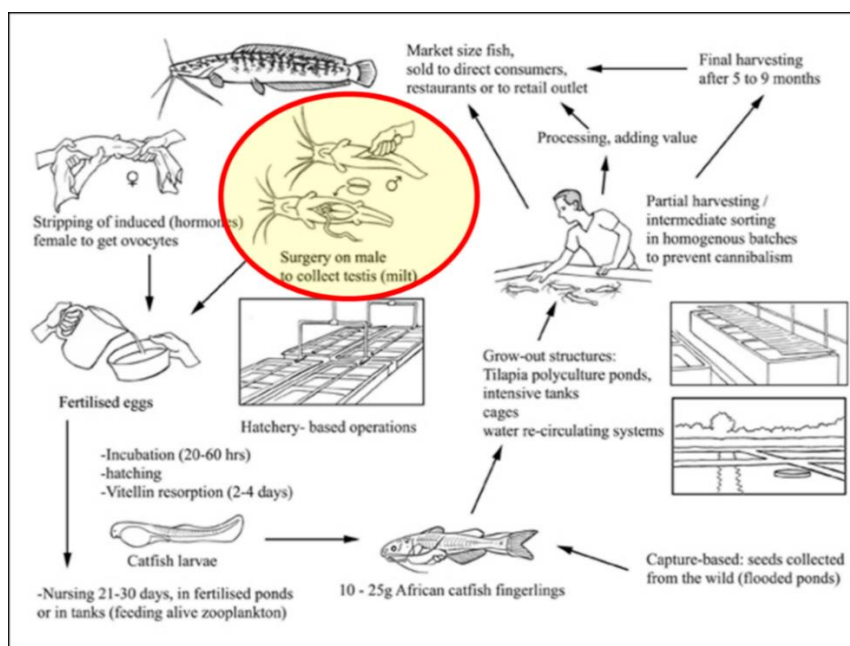
A termékenyülési arány és a beérési időpont között a különböző csoportok között nem találtunk különbséget (17. ábra). Az IVF és ISZI között (az ISZP alacsony elemszám miatt kizárásra került a vizsgálatból) statisztikailag igazolható különbség nem volt ($p > 0,05$). Fontos kiemelni, hogy az eltérő beérési időszakok nem módszertani hibából adódtak, hanem az eltérő kezelések eltérő hatással voltak az ovuláció kiváltásában.



17. ábra. A különböző csoportok PGSI értékei. IVF: *in vitro* fertilizáció csoport, ISZP: spermába kevert hipofízis csoport, ISZI: intramuszkuláris hormonkezelés és inszemináció csoport.

5. Eredmények megvitatása

Az afrikai harcsa különböző hormonkészítményekkel történő indukált szaporítása széleskörűen dokumentált a szakirodalomban, azonban a frissen gyűjtött (natív) hipofízissel végzett hormonindukció viszonylag kevésbé kutatott terület (Olaleye, 2005; Ayoola et al., 2012; Okomoda et al., 2017; Mosha, 2018). Más szerzők munkáiban általában adott tömegű hím(ek)től származó hipofízis azonos tömegű ikrás egyed(ek) indukációjára elegendő (Ayoola et al., 2012; Ibrahim et al., 2019). Ez a módszer különösen elterjedt a kevésbé fejlett infrastruktúrájú régiókban, ahol ezek a hormonkészítmények - részben a relatíve magas árak miatt (pl.: Ovaprim 10 ml – 76,23 \$) - nehezen elérhetőek és tárolhatóak. Korábbi kutatások már foglalkoztak a különböző módon tárolt hipofízisek ovulációra gyakorolt hatásával is (Okomoda et al., 2017; Szabó et al., 2023; Horváth et al., 2024; Tóth, 2024). Az afrikai harcsa sajátos szaporodási jellemzői miatt azonban a hím egyedeket fel kell áldozni. Mivel a harcsafélék anatómiája eltér a ponty- és sügérféléktől, nem lehet spermát fejni belőlük. Ennek oka, hogy a harcsákban a here és a spermavezeték között egy speciális ujszerű szerv, a szeminális vezikulum, amely a szaporodás során sűrű, viszkózus váladékkal vonja be a spermiumokat. Ebből a szervből nem lehetséges a mesterséges termékenyítéshez megfelelő mennyiségű sperma fejése. Emiatt az afrikai harcsa (és más harcsafélék, mint például az európai harcsa) tejes egyedeit túllaltatják, és sebészeti úton távolítják el a heréket, melyekből préseléssel nyerik ki a termékenyítéshez szükséges spermát (18. ábra.).



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

Elgondolásunk alapján a spermagyűjtéshez feláldozott hímtől célszerű lenne a hipofízist is kinyerni, amely felhasználható lenne az ikrás egyedek hormonkezelése során. Az inszeminációs módszer lehetőséget biztosít a sperma rövid idejű – akár 36 h is lehet - petefészekbeli tárolására is, ezáltal a feláldozott hím a sperma mellett a beérleléshez szükséges hormonmennyiséget is biztosítaná. A kidolgozott módszertannal nincs szükség sem a sperma, sem a hormon hosszabb ideig történő tárolására, hiszen egyidejűleg gyűjthető és felhasználható. Korábbi munkáink során már bizonyítottuk, hogy a spermanyeréshez feláldozott hím egyedtől származó friss hipofízis hormonkezeléssel és a sperma petefészekbe történő injektálásával kiváltható ovuláció, valamint a fejt kevert gamétaadagok életképes embriókat eredményeztek (Horváth et al., 2024; Tóth, 2024).

Kísérletünk során a spermába kevert hipofízissel indukált csoport (ISZP) esetében a kísérletbe vont 7 ikrás közül 3 egyed ovulált, ezek közül pedig 2 egyed parciális ovulációt mutatott. Ennek a feltételezhető oka, hogy a bejuttatott hormonmennyiség (kb. 17 mg nedves hipofízis/testtömeg kg) ebben az esetben nem lépte át azt a hormonküszöb értéket, ami teljes ovuláció kiváltására lett volna elegendő. Az előkísérletben, ahol relatív nagyobb mennyiségben alkalmaztunk hipofízist (113 mg nedves hipofízis/testtömeg kg), feltételezhetően a relatív nagyobb GtH hormonszint elégséges volt az ovuláció kiváltására. Ez a megfigyelés rávilágít arra, hogy a donor egyed – ebben az esetben egyetlen hímtől származó hipofízissel történt a hormonindukció – szaporodásbiológiai állapota alapvetően meghatározza a friss hipofízissel történő indukált szaporítás sikerességét. Korábbi munkánk során (Horváth et al., 2024; Tóth, 2024) a felhasznált 3402 g-os hímtől származó 87,4 mg nedves tömegű hipofízisből készített szuszpenzióval (kb. 29 mg nedves hipofízis/testtömeg kg) sikeresen lehetett indukálni közel 2988 g össztömegű ikrás anyahalat ($n=12$, $249 \pm 32,1$ g). Jelen esetben az ehhez a csoporthoz használt 3535 g-os hímtől származó jelentősen kisebb nedves tömeggel rendelkező 30 mg-os hipofízissel nem sikerült az 1766 g össztömegű 7 ikrás egyednél ovulációt kiváltani (kb. 17 mg nedves hipofízis/testtömeg kg) (Horváth et al., 2024; Tóth, 2024). Az ISZI csoport esetében a 4 kisebb méretű hímtől (min.-max.: 519-660 g) származó 82,9 mg nedves tömegű hipofízisből készített szuszpenzióval eredményesen lehetett 1786 g össztömegű ikrásnál ovulációt indukálni, ami kb. 46,4 mg/testtömeg kg dózist jelent.

A csoportok halainak testtömegei statisztikailag nem különböztek egymástól. Az *in vitro* fertilizáció csoport (IVF), valamint az intramuszkuláris hormonkezeléssel és inszeminációval kezelt csoport PGSI értékei statisztikailag igazolhatóan felülmúlták a spermába kevert hipofízissel kezelt csoportét. Ez a csoportba tartozó 2 egyed parciális ovulációjának eredménye. A csoportok átlagolt PGSI értékei ($12,26 \pm 2,9\%$) minimálisan magasabbak voltak a

munkacsoport korábbi kísérleteiben tapasztaltaknál: $11,02 \pm 0,02\%$ (Horváth et al., 2024), $9,4 \pm 2,3$ (Müller et al., 2018b), $10,8 \pm 3,1\%$ (Müller et al., 2020b), $10,1 \pm 14,6$ (Kucska et al., 2022), de elmaradtak a más szerzők által leírtaktól: $17,03 \pm 2,22$; $16,96 \pm 2,11$ (Szabó et al., 2023).

Az *in vitro* termékenyített ikratételek statisztikailag igazolhatóan magasabb termékenyülést ($62,56 \pm 14,34\%$) értek el, mint az inszeminációs szaporításokból származó (ISZP, ISZI) adagok (ISZP: $46,79 \pm 12,22\%$; ISZI: $54,36 \pm 10,68\%$; kétmintás t-próba, $p < 0,05$). A csoportokban (kiváltképp az *in vitro* fertilizáció csoportban) tapasztalt, a szakirodalmi adatokhoz képest alacsony termékenyülési arány, valamint a nagy szórás a kísérleti halak eltérő individuális szaporodásbiológiai állapotának és az egyhangú tartási körülményeknek (kizárólag kereskedelembe kapható takarmányok, mesterséges fény stb.) a következménye. Az IVF csoport termékenyülési értékei nagy mértékben elmaradtak a más szerzők által tapasztaltakhoz képest $89,00 \pm 1,00\%$ (Okomoda et al., 2017), míg az inszeminációs csoportok termékenyülési értékei minimálisan 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).

További vizsgálatok szükségesek a natív hipofízis mennyiségének meghatározására (figyelembe véve az eltérő egyedi jellegzetességeket is – például szaporodásbiológiai állapot), hogy az ovuláció kiváltását megbízható módon el lehessen érni. Kutatásainkat ennek irányában folytatjuk.

6. Összefoglalás

Az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*). Szaporítástechnológiája a különböző hormonkészítményekkel történő mesterséges indukált szaporításon alapul. A kevésbé fejlett területeken a hormonkészítmények és a sperma felhasználásig történő megfelelő tárolása általában nehézkesen megoldható. Az inszeminációs módszer lehetőséget biztosít a donor tejestől származó sperma ovuláció előtti tárolására a recipiens ikrás petefészkében, míg ugyanazon donor tejestől gyűjtött hipofizisból készített szuszpenzióval elvégezhető az ikrás hormonkezelése is. Célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk: (i) lehetséges-e a frissen gyűjtött és homogenizált hipofízis és sperma eleggyel történő petefészkekkezeléssel ovulációt kiváltani és termékeny ikratételeket nyerni, (ii) pontosítani a korábbi munkáink során a hormonkezeléshez meghatározott testtömegre vetített hipofizismennyiségeket.

A munka során két kísérletet folytattunk le. Az előkísérletben két tejes egyedről származó friss hipofíziseket elegyítettünk a spermával, majd ezt injektáltuk két ikrás egyed petefészkébe. A főkísérlet során 3 csoportot hoztunk létre: IVF (*in vitro* fertilizáció, $n=7$), ISZP (spermába kevert hipofízis kezelés, $n=7$), ISZI (inszemináció + intramuszkuláris hormonkezelés, $n=7$) csoportok. Az IVF csoport esetében 1 Ovopel pellet/testtömeg kg intramuszkulárisan hormonkezeltünk. A két kezelési (ISZP, ISZI) csoport kezelése előtt a kísérletbe vont tejes egyedeket ($n=5$) elöltük, majd ezt követően gyűjtöttük a hipofíziseket. A spermát egyetlen nagyméretű hímről gyűjtöttük. Az IVF csoport egyedeit lefejtük, majd az ikratételeket termékenyítettük. A termékenyítést követően az ISZP csoport egyedeit a nagyméretű tejestől nyert hipofízisből és spermából készített eleggyel 1 ml sperma/testtömeg kg inszemináltuk. Az ISZI csoport ikrásait a kisebb méretű tejesektől nyert hipofízisekből ($n=4$) készített szuszpenzióval intramuszkulárisan hormonkezeltük, és 1 ml sperma/testtömeg kg inszemináltuk. A beérési időket követően a halakat lefejtük (kevert gamétaadagok), majd víz hozzáadásával termékenyítettünk. A kísérlet során minden csoport esetében meghatároztuk a termékenyülési értékeket.

Az előkísérlet során mindkét ikrás ovulált, a fejt ikratételek termékenyültek. A főkísérlet során az IVF ikratételek statisztikailag igazolhatóan magasabb termékenyülést értek el, mint az ISZP csoportból származók ($p<0,05$). Az ISZI és ISZP ikratételek termékenyülési értékeiben nem volt szignifikáns különbség ($p>0,05$). A különböző kezelések eltérő beérési időt eredményeztek. A kísérlet rávilágított arra, hogy a hipofízist nyújtó donor egyed szaporodásbiológiai állapota alapvetően meghatározza az ilyen módszerű szaporítás sikerességét.

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.
- Alo, O. F., Adebayo, O. T., 2023. Efficacy of Tannin Extract from Cape Gooseberry Root *Physalis peruviana* L. as Egg De-Adhesion Agent during Artificial Propagation of African Catfish *Clarias gariepinus* Burchell. Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research 25(6), 67-76.
- Amoah, K., Adu-Asiamah, P., Dong, X.-H., Ampofo-Yeboah, A., Abarike, E.D., 2020. A 80 comparative study on the hatchability and survival rate of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), induced with catfish's pituitary gland hormone from farmed and wild sources. Aquaculture International 28, 2221–2234.
- Andriani, Y., Pratama, R. I., Zidni, I., 2023. Artificial Spawning Techniques for Catfish (*Clarias gariepinus*) at the Cultivated Fisheries Production Business Service Center, Karawang, Indonesia. Asian Journal of Research in Zoology 6(4), 134-148.
- Ayoola, S. O., Kuton, M. P., Chukwu, S. C., 2012. Comparative study of piscine and non-piscine pituitary extract and ovulin for inducing spawning in catfish (*Clarias gariepinus*). African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development 12(6), 6809-6822.
- Bernáth, G., Csorbai, B., Nagy, B., Csókás, E., Molnár, J., Bartucz, T., Láng, L. Z., Gyurcsák, M., Hegyi, Á., Kobolák, J., Griffiths, J. D., Ferincz, Á., Urbányi, B., Bokor, Z., 2023. The investigation of post-thaw chilled storage and the applicability of large-scale cryopreservation in chub (*Squalius cephalus*) sperm. Cryobiology, 104588.
- Billard, R., Fostier, A., Weil, C., Breton, B., 1982. Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 39, 65–79.
- 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.
- Brzuska, E., 2004. Artificial propagation of African catfish (*Clarias gariepinus*): The application of a single dose of pellets containing D-Ala6,Pro 9NEt-mGnRH and dopamine inhibitor metoclopramide. Czech Journal of Animal Science 48, 181–190.

- Brzuska, E., 2011. Stimulation of ovulation in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) following treatment with carp pituitary homogenate, ovopel or dagin. Polish Journal of Natural Sciences 26, 121–137.
- 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
- Dauda, A. B., Natrah, I., Karim, M., Kamarudin, M. S., Bichi, A. U. H., 2018. African catfish aquaculture in Malaysia and Nigeria: Status, trends and prospects. Fisheries and Aquaculture Journal 9(1), 1-5.
- De Leeuw, R., Goos, H.J.T., Richter, C.J.J., Eding, E.H., 1985. Pimozide-LHRHa-induced breeding of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). Aquaculture 44, 295–302.
- de Vlaming, V., Grossman, G., Chapman, F., 1982. On the use of the gonosomatic index. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 73(1), 31-39.
- El-Hawarry, W.N., Abd El-Rahman, S.H., Shourbela, R.M., 2016. Breeding response and larval quality of African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) using different hormones/hormonal analogues with dopamine antagonist. Egyptian Journal of Aquatic Research 42, 231–239.
- FAO, 2021. Fisheries & Aquaculture - Cultured Aquatic Species Information Programme - *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). FAO, Rome.
- FAO, 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. FAO, Rome.
- FAO, 2024. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024 – Blue Transformation in action. 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., Butts, I.A., Zadmajid, Ivánovics, B., V., Ruffili, L., Urbányi, B., Csenki, Zs., Müller, T., 2021b. Ovarian inseminated sperm impacts spawning success in zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822) even in the absence of a male stimulus. Theriogenology 172, 315-321.
- Gazsi, Gy., Ivánovics, B., Berta, I., Szabó, T., Zarski, D., Kucska, B., Urbányi, B., Horváth, L., Müller, F., Müller, T., 2021a. Artificial sperm insemination in external fertilised fish as a novel tool for ex situ and in situ conservation of valuable populations. Endangered Species Research 45, 169-179.

- Harka, Á., Sallai, Z., 2004. Halaink és elterjedésük, in: Harka, Á., Sallai, Z., (Eds.), Magyarország halfaunája, Nimfea Természetvédelmi Egyesület, Szarvas, pp. 222-223.
- 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, J., 2023. Afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) halfajban alkalmazott újszerű halszaporítási módszer hatása a lárvák életképességére. 2023. őszi intézményi TDK dolgozat, Haltudományok szekció, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Gödöllő.
- Horváth, J., Tóth, A., Varga, Á., Ivánovics, B., Kalocsai, L., Urbányi, B., Müller, T., 2024. Inszemináció módszerű afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) szaporítás alternatív hormonkezeléssel (előzetes eredmények). Halászatfejlesztés 41, 101-105.
- Horváth, L., Tamás, G., Coche, A.G., 1985. Common carp, part 1: mass production of eggs and early fry, FAO Training Series No. 8.
- Horváth, L., Tamás, G., Coche, A.G., Kovács, E., Moth-Poulsen, T., Woyanovich, A., 2015. Training manual on the advanced fry and fingerling production of carps in ponds. FAO.
- Horváth, L., Tamás, G., Tölg, I., 1984. Special method in pond fish husbandry. Halver Corporation, Budapest, Akadémia Kiadó.
- Ibrahim, J. Z., Ovie, S. O., Maradun, H. F., Asuwaju, F. P., Mohammed, Y. S., Sahabi, A. M., Umar, F., 2019. Breeding response of *Clarias gariepinus* induced with pituitary gland and synthetic hormone (Ovulin) and the effect on growth performance of its hybrid in New Bussa, Nigeria. Asian Journal of Research in Animal and Veterinary Sciences 4(3), 1-7.
- Inyang, N.M., Hettiarachchi, M., 1994. Efficacy of human chorionic gonadotropin (hCG) and crude pituitary extract of fish and frog in oocyte maturation and ovulation in African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell, 1822 and *Clarias anguillaris* L., 1762. Aquaculture Research 25, 245–258.
- 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. Aquaculture Reports 16, 100275.
- Kagawa, H., 2013. Oogenesis in teleost fish. Aqua-BioScience Monographs. 6, pp. 99-127.
- Kiss I., 2000. Az ivarszervek felépítése. In Horváth L. (szerk.): Halbiológia és haltenyésztés (egyetemi tankönyv). Mezőgazda Kiadó, Budapest, 440 p., 45-80. p.

- Kiss, G., 2023. Statisztikai jelentések – Lehalászás jelentés, NAIK Agrárgazdasági Kutatóintézet, Budapest.
- Kovács, É., Müller, T., Márián, T., Krasznai, B., Urbányi, B., Horváth, Á., 2010. Quality of cryopreserved African catfish sperm following post-thaw storage. *Journal of Applied Ichthyology* 26, 737-741.
- Kucharczyk, D., Kucharczyk, D.J., Nowosad, J., Omirzhanova, N., 2019. Optimization of artificial insemination outcomes of African catfish (*Clarias gariepinus*) with differing hatchery conditions. *Animal Reproduction Science*. 211, 106222.
- 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*). *Aquaculture Reports* 26, 101311.
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., Cerdá, J., 2009. Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. *General Comparative Endocrinology* 165(3), 367-389.
- 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.
- Marimuthu, K., Satthiyasilan, N., Rahman, M.A., Arshad, A., Raj, M.G., Arockiaraj, J., 2015. Induced ovulation and spawning of African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) using ovaprim. *Journal of Environment and Biotechnology Research* 1, 2–9.
- 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, 119–125.
- Molnár, J., Csorbai, B., Bernáth, G., Várkonyi, L., Urbányi, B., Bokor, Z., 2019. Optimizing fish structure in angling ponds focusing on white fish. *Acta Agraria Debreceniensis* (1), 33-36.
- 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. *Aquacultural Engineering* 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. MTA 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., Quyén, 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, 735-109.
- 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., Guti, 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.
- Nagahama, Y., 1983. The functional morphology of teleost gonads. In: Hoar, W.S., Randal, D.J. and Donaldson (eds.): *Fish Physiology*, vol. IX. Reproduction. E.M. Academic press, Orlando, 223-276. p.
- Nasiadka, A., Clark, M. D., 2012. Zebrafish breeding in the laboratory environment. *ILAR J.* 53(2), 161-168.
- Ndimele, P.E., Owodeinde, F.G., 2012. Comparative reproductive and growth performance of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) and its hybrid induced with synthetic hormone and pituitary gland of *Clarias gariepinus*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12, 619–626.

- 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 Physiology and Biochemistry 17, 163-169.
- Okamura, A., Horie, N., Mikawa, N., Yamada, Y., Tsukamoto, K., 2014. Recent advances in artificial production of glass eels for conservation of anguillid eel populations. Ecology of Freshwater Fish 23(1), 95-110.
- Okere, E., Erondue, E. S., Zabbey, N., 2015. Evaluating the efficacy of pituitary gland extracts and ovaprim in induced breeding and fry quality of *Clarias gariepinus*, Burchell (Pisces: Claridae). Agriculture, Forestry and Fisheries 4(2), 71-76.
- 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., Tiamiyu, L.O., Kwaghger, D., 2017. 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*). Aquaculture Reports 27, 101418.
- Quyến, N. N., Varga, Á., Tâm, N. T., Horváth, J., Urbányi, B., Müller, T., 2023. Afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) indukált szaporítása alternatív hormonkezeléssel (előzetes eredmények), in: Halászatfejlesztés 38., Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halászati Kutató Központ, Szarvas, pp. 157-160.
- Radics, F., 1990. Az afrikai harcsa szaporításának és nevelésének hazai tapasztalatai. Halászat 83(4), 125-128.

- Rahman, M. A., Ullah, M. R., Kabir, M. A., Alam, M. A., Rahman, M., Hossen, M. F., 2020. Artificial propagation of indigenous yellowtail catfish (*Pangasius pangasius*): Experiences and challenges. *Aquaculture* 523, 735215.
- Richter, C.J.J., Eding, E.H., Goos, H.J.T., De Leeuw, R., Scott, A.P., Van Oordt, P.G.W.J., 1987. The effect of pimozide/LHRHa and 17 α -hydroxyprogesterone on plasma steroid levels and ovulation in the African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture* 63, 157–168.
- Rónyai, A., Kakuk, Cs., Kondacs, J., 2008. Egy újabb szintetikus gonadotrop-releasing hormon, a Gonazon alkalmazhatósága a ponty (*Cyprinus carpio* L.) és az afrikai harsca (*Clarias gariepinus* Burchell) szaporításában. *Halászat* 101(2), 78-82.
- Salami, A.A., Fagbenro, O.A., Edibite, L., Fagbemiro, S.O., 1994. Induced Spawning of the African Catfish *Clarias gariepinus* Using Non-Piscine Pituitary Extracts. *Journal of World Aquaculture Society* 25, 166–168.
- Sharaf, S.M., 2012. Effect of GnRHa, pimozide and Ovaprim on ovulation and plasma sex steroid hormones in African catfish *Clarias gariepinus*. *Theriogenology* 77, 1709–1716.
- Srimai, W., Koonawootrittriron, S., Chaivichoo, P., Manee-aphai, W., Phu-onnim, A., Koolboon, U., Na-Nakorn, U., 2020. Selection response and genetic parameters for growth in North 93 African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Aquaculture* 518, 734843.
- 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*). *Journal of Applied Ichthyology* 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). *Aquaculture Research*, 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.
- Tóth, A., 2024. Indukált halszaporítási módszerfejlesztés afrikai harsában (*Clarias gariepinus*) TDK dolgozat, 2024. évi tavaszi intézményi TDK, Állattenyésztési szekció, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Gödöllő

- Ude, E.F., Ugwu, L.L.C., Mgbenka, B.O., 2005. Homestead Artificial Propagation, Growth And Morphometric Characteristics Of The African Catfish (*Clarias gariepinus*, Pisces: Clariidae). *Animal Research International* 2(3), 377-381.
- 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). *Aquaculture Research* 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., Tóth, A., Nyabuto, K., Horváth, J., 2024. Az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) indukált szaporítástechnológiájának magyar vonatkozású kutatási eredményei = Hungarian research results of the technology of induced propagation of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Állattenyésztés és Takarmányozás* 73(3), 200-218.
- Viveen, W.J., Richterm, C.J., Van Oodot, P.G., Janssen, J.A. and Huisman, E.A., 1985. Practical manual for the culture of the African catfish, *Clarias gariepinus*. Section for Research and Technology, Ministry for Development Cooperation, The Hague, Netherlands, 128 pp.
- Wallace, R.A., Selman, K., 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in Teleosts. *American Zoologist* 21(2), 325–343.
- Woynarovich, E., 1996. Hogyan került az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) Magyarországra? *Halászat* 89(1), 30.
- Zidan, S.R.S., Saleh, H.H.E., Semaida, A.I., Abou-Zied, R.M., Allam, S.M., 2020. Effect of different doses of human chorionic gonadotropin (hCG) hormone on stripping response and reproductive performance of the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 24, 225–242.

8. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet vezetőségének megköszönni, hogy biztosították a helyszínt kísérleteink elvégzéséhez. Szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, Dr. Müller Tamás egyetemi tanárnak és Horváth József István PhD. hallgatónak, akik mindvégig segítettek a dolgozat elkészítésében. Továbbá szeretném megköszönni Varga Ádámnak hallgatónak és Nagy Borbálának, akik önzetlenül segítettek munkámat. Munkánkat az itt felsorolt pályázatok támogatták: NKFI Alap (NKFI_K_ 135824), 2020-1.2.4 TÉT Ipari TR (2021-00015), NTP-SZKOLL-24-0055 és MATE-K/3027-2/2024. A Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-MATE/2024/25/M kódszámú Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.



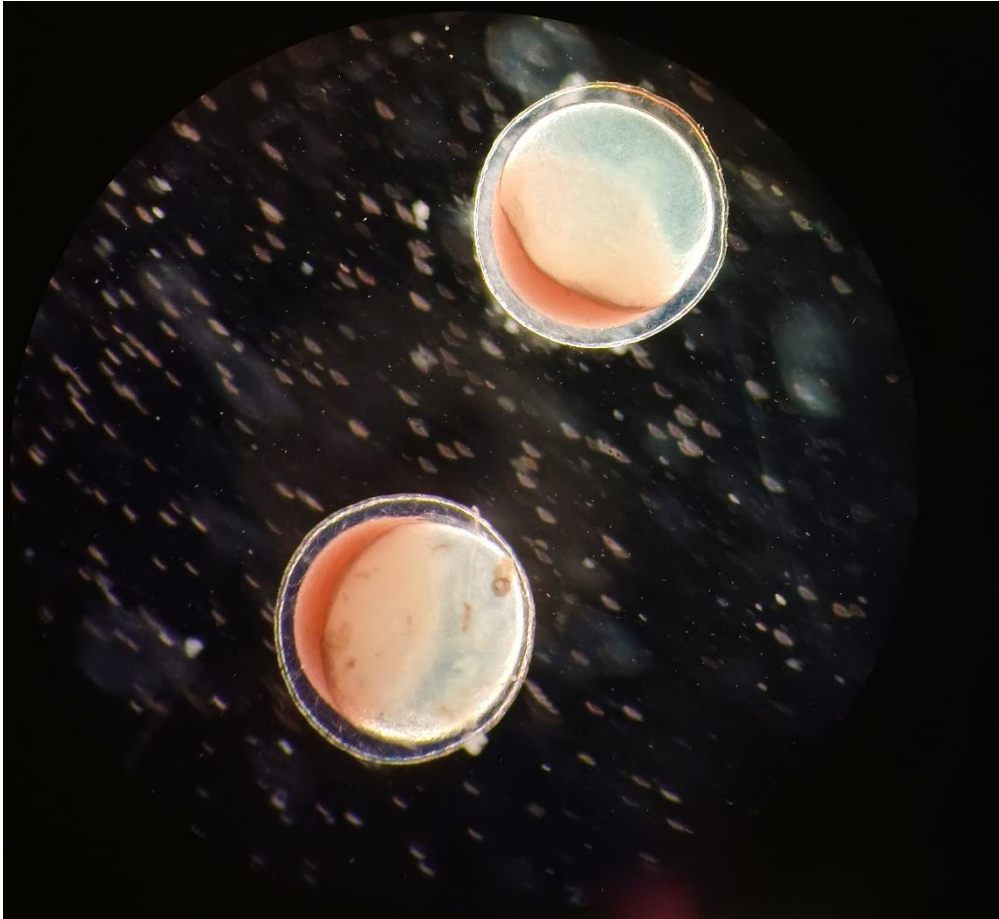
9. Melléklet



19. ábra. Ovipel hormoninjekciók előkészítése (fotó: Horváth József).



20. ábra. A kisebb méretű tejesektől gyűjtött hipofízisek (fotó: Horváth József).



21. ábra. Fejlődő embriók (fotó: Horváth József).



22. ábra. Csepegtető rendszert beüzemelése (fotó: Horváth József).